

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18390482
 研究課題名（和文） 急性期脊髄損傷に対する培養自家骨髄間質細胞移植による脊髄再生治療
 研究課題名（英文） Spinal cord regenerative treatment with incubated autologous bone marrow stromal cell transplantation for acute spinal cord injury
 研究代表者
 中谷 壽男（NAKATANI TOSHIO）
 関西医科大学・医学部・教授
 研究者番号 70188978

研究成果の概要：

脊髄損傷の受傷直後に脊椎固定手術を必要とする患者において、補強のために腸骨を採取する。その際にわずかの骨髄を採取し、培養増殖した間質細胞を腰椎穿刺して髄液中に移植することにより脊髄再生を図る方法を開発した。本法では、自己の細胞を用いるため倫理的、免疫学的問題はなく、骨髄採取と培養細胞移植に再度の手術を要しない点で、画期的な方法である。臨床試験を行った症例では、明らかな症状の改善を示すと共に、何らの副作用も生じていない。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	6,400,000	0	6,400,000
2007年度	2,955,826	1,440,000	4,395,826
2008年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
年度			
年度			
総計	13,355,826	2,640,000	15,995,826

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・救急医学

キーワード：移植・再生医療、再生医学、脊髄再生、脊髄損傷、脳・神経、骨髄間質細胞

1. 研究開始当初の背景

脊髄損傷では、損傷した脊髄神経の支配領域以下に運動・知覚麻痺と膀胱直腸障害を生じる。胸腰髄損傷による対麻痺や、頸髄損傷による四肢麻痺のために生涯を車椅子やベッド上生活が強いられ、時には高位頸髄損傷では人工呼吸器すら外せない生活が生涯続く。

損傷された中枢神経は再生することはない。これが従来からの医学的常識であり、治療は

残存している機能をいかに引き出すかという点に主眼がおかれ、脊椎の骨折や脱臼に対する固定と、脊髄の二次損傷の防止、リハビリテーションを中心に治療が行われて来た。

脊髄を再生させるために多くの研究がなされてきたが、その多くが幹細胞を用いるものである。神経幹細胞を用いる場合には、自己組織からの採取は困難で、ES細胞（胚性幹細胞）を使った治療が脚光を浴びてきたが、胎

児から採取するという倫理的問題、他人の細胞であることから生じる免疫学的問題と、無制限に増殖して腫瘍化する恐れのある幹細胞の増殖を如何に抑制するかという問題がつきまとう。最近では iPS 細胞（誘導多能性幹細胞）がにわかに脚光をあび、多くの研究者が iPS 細胞の臨床応用に向けて研究を活発にしているが、解決しなければならない問題も残っている。

近年、骨髄間質細胞を移植することにより中枢神経を修復させようとする試みが報告されてきた。連携研究者である鈴木、井出らの研究グループもラットから採取した骨髄間質細胞を分離培養し、胸髄に挫滅損傷を加えた別のラットへ移植する実験を行い、急性期に損傷部へ直接、骨髄間質細胞移植を行った群で歩行の著明な改善と組織学的にも脊髄壊死による空洞形成が少ない結果を得た。しかし、臨床応用では、損傷した脊髄に細胞を注入するのは副損傷を発生させる可能性がある。そこで、鈴木、井出らは細胞を脳脊髄液中に投与して損傷部に到達させることを検討し、ラット骨髄間質細胞を第四脳室内に投与して、神経学的な回復とともに、組織学的にも脊髄損傷の程度が軽く空洞形成が少ない結果を得た。これを臨床応用すべく、霊長類において髄液内に骨髄間質細胞を投与し、異常増殖などの合併症が起きないことを 2 年以上にわたって観察してきた。これらの基礎研究を元に、臨床応用を目指した。

2. 研究の目的

次の段階として臨床応用を目指すこととし、第 I - II 相臨床試験として急性期脊髄損傷患者に対し培養自家骨髄間質細胞を髄液中に移植することによって脊髄再生を図り、その安全性と効果を検討することとした。

第 I 相試験として明らかにしたいことは、髄液注入後の自家骨髄間質細胞が、患者に対して注入後に副作用を生じないこと、異常な増殖を来さないこと、石灰化などを生じないことを追跡調査する。第 II 相試験としては、その効果を確認することが、最大

の目的となる。臨床的に脊髄神経機能を国際的な最新の詳細な評価基準である

ISCSCI (International Standards for Neurological and Functional Classification of Spinal Cord Injury ; 脊髄損傷の神経学および機能分類に関する国際標準) にて 6 ヶ月間にわたり評価し、本治療法の脊髄再生に於ける有効性について、財団法人先端医療振興財団臨床研究情報センターに症例を登録して解析する。安全性と有効性の判断については、外部の神経内科医を委員長として、外部委員を含む効果・安全性評価委員会を設置しており、その委員会で評価を行うこととしており、今回、本助成金を得て実施し得た臨床症例に対して、外部委員を含めて、症例検討や安全性の検討を行った。

3. 研究の方法

本臨床試験は、関西医科大学高度救命救急センターに収容された脊髄損傷患者のうち、受傷直後に圧迫解除などの理由で、緊急あるいは準緊急的に脊椎固定手術を行い、かつ手術に際して補強のための骨片を腸骨から採取する必要のある患者を対象とする。腸骨採取の際に、骨髄海綿骨を採取する事によって患者に余分な手術侵襲を加えない。採取した骨髄から骨髄間質細胞を分離培養する。細胞の培養は、ヒトの細胞治療に使用する細胞培養施設としての基準を満たす財団法人先端医療センターにて培養増殖し、これを関西医科大学高度救命救急センターにおいて患者に移植する。細胞移植に際しても、患者に再度の手術による損傷部の剥離や露出と言った操作侵襲を加えないために、腰椎穿刺の手技にて脳脊髄液中に投与する。このように、再度の手術侵襲を加えることなく髄液内投与し、自己の骨髄間質細胞が患者自身の神経幹細胞に作用して脊髄再生を図ろうとする世界初の画期的な試みである。このように患者に新たな手術侵襲を加えずに再生療法を行うために、適応条件は厳しくなり、以下のように急性期に手術を要し、かつ評価・追跡を行えるもの

に限られる。

【一次登録適格基準】

以下のすべてを満たす。

1. 脊髄損傷がMRIにより確認されている
2. ASIAスコアがA、B、Cのいずれか
3. ISCSIによる運動機能の評価が可能
4. NASCIS IIによるメチルプレドニゾロン療法を受傷8時間以内に開始した
5. 骨髄間質細胞の培養が受傷後72時間以内に開始できる
6. 年齢は15-60歳
7. 同意が書面で得られること

【除外基準】

以下のすべてに該当しない。

- 1) 脊髄の完全断裂
- 2) 中心性脊髄損傷
- 3) 受傷前に脊柱管狭窄症のあるもの
- 4) 受傷前に脳や脊髄疾患のあったもの
- 5) SOFAスコア12点以上の多臓器障害
- 6) 脊髄損傷の他に、AIS4以上の損傷を体の2部位以上に受傷した多発外傷
- 7) 血清のHBs抗原、HCV抗体、HIV抗体、HTLV-1抗体のいずれかが陽性
- 8) 妊婦

【二次登録適格基準】

以下のすべてを満たす。

- 1) 培養で細胞数 10^6 以上の骨髄間質細胞が得られたもの
- 2) 受傷3週間以内に移植が可能である
- 3) 移植前3日以内にASIAスコアがA、B、またはCであること
- 4) 細胞移植のための第2回目の同意が文書で得られたもの

4. 研究成果

本補助金による研究期間中に入院した脊髄損傷患者は68例で、そのうち手術の対象となったのは26例である。登録適格基準が厳しいため、そのうち一次登録適格基準を満たし、除外基準に該当しなかったのは4症例である。これらに対し、インフォームドコンセ

ントを得て手術、細胞培養を行ったが、うち2症例では二次登録適格基準を満たさず、培養が出来たものの移植を断念した。移植を行えたのは次の2症例に留まった。しかしながら、第一症例では、従来のリハビリなどで長期間をかけて回復し得た症例の改善度合いを文献などから得た限り、最大の改善を示した症例と同程度の回復を半年の間に示した。また、第2症例では、受傷後から手術、移植を通して全く回復が見られなかったものが、移植後10日頃から劇的な回復を示し、6ヶ月後には自立歩行が可能なまでに回復しており、両症例とも移植による合併症を認めていない。以下に両症例の概要を紹介する。

第一例は30代の男性。高所より墜落し四肢麻痺を認めたため、当救命センターに搬送された。初診時、バイタルサインは安定しており徐脈を認めず。神経学的所見として徒手筋力テストでは、脊椎固定術から約10日を経過した細胞移植直前の運動機能では、三角筋・上腕二頭筋は3/5以下は0/5であった。すなわち、辛うじて肘関節の屈曲は可能であるものの、伸展や手関節の運動は不可能であった。知覚は第5頸髄領域から鈍麻、第7頸髄領域以下の完全脱失、ASIA機能障害尺度はAであった。単純レントゲン・CTにて第4・5頸椎に脱臼および骨折を認め、MRIではT2強調画像で第4～6頸髄レベルに高信号と低信号の混在を認めた。第3病日に、第4～6頸椎前方除圧固定・自家骨移植術を施行し、細胞が順調に増殖したため、第12病日に髄液中に骨髄間質細胞移植を施行した。

移植後6ヶ月までのASIA機能障害評価法では、受傷2週目の移植時と比べて、運動機能で9点の回復を示した[10]。24ヶ月を経過した執筆時点では、運動機能は12点の回復を認め小さなものを摘み所定の位置に収める作業や、車いすを自分で押すことも可能であり、長時間の座位の保持が可能になっている。

第二症例は50代の男性。階段より重量物とともに転落し受傷。神経学的所見では受傷後から移植前まで変化なくC5でMMTが2および3、以下は0/5であった。知覚は下位まで比較

的良く保たれ、ASIA 分類の B であった。MRI では T2 強調画像で第 3～4 頸髄に高信号を認めた。第 3 病日に椎弓形成術、自家骨移植術を施行し、採取した細胞を増殖後、第 11 病日に髄注した。移植後もしばらく神経学的に変化はなかったが、移植 10 日頃より著明に運動機能が回復し、移植 40 日後には運動機能で約 40 点もの劇的な改善を認めて立位を保持出来るまでになっている。

移植前の症例検討会、移植後に外部委員からなる効果・安全性評価委員会を開催して、効果と安全性について評価を受けている。現時点では、まだ、症例数も少なく、機能は確実に回復しているものの、これが本臨床試験の効果によるものか否かについてはわれわれも委員会も言及していない。しかしながら、安全性に関しては、1 例目は細胞の髄内投与から 2 年以上が経過し、2 例目においても 2 ヶ月が経過した現時点に於いて、移植直後の髄膜炎や、あるいは長期経過後の異常増殖や石灰化などの不都合な問題は全く発生していない。

脊髄損傷が治癒するならば、これは夢のような話であるが、たとえ機能の一部だけでも回復すれば、神経学的な機能予後は多に改善し、生活の質は向上して、本人、家族の肉体的、精神的、経済的負担は軽減され、ひいては医療資源の節約、国民の保険負担の軽減など大きな社会的貢献が期待される場所である。本研究は以上のごとく安全性を確認するという成果を得たが、臨床試験全体としては更に症例を重ねて、効果や安全性を観察してゆくことが重要である。

5. 主な発表論文等（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 7 件）

- ① 中谷壽男、脊髄損傷に対する自己骨髄間質細胞の髄液内投与による治療、*Clinical Engineering*、20、19-26、2009、査読無
- ② Saito F、Nakatani T、Iwase M、Maeda Y、Hirakawa A、Murao Y、

Suzuki Y、Onodera R、Fukushima M、Ide C、Spinal cord injury treatment with intrathecal autologous bone marrow stromal cell transplantation: The first clinical trial case report、*J Trauma*、64、53-59、2008、査読有

- ③ 齊藤福樹、中谷壽男、岩瀬正顕、急性期脊髄損傷に対する自家骨髄間質細胞移植、*Jpn J Rehabil Med*、45、349-352、2008、査読有
- ④ Kato H、(2-14 番 13 名中略) Nakatani T、Iwase M、Fudoji J、Kasai T、Cervical Spinal Cord Injury Without Bony Injury: A Multicenter Retrospective Study of Emergency and Critical Care Centers in Japan、*J Trauma*、65、373-379、2008、査読有
- ⑤ 中谷壽男、脊髄損傷の再生治療、*救急医学*、31、1785-1789、2007、査読無
- ⑥ 中谷壽男、脊髄損傷再生臨床試験について。関西医科大学高度救命救急センターから、*脊椎脊髄ジャーナル*、20、1263-1267、2007、査読無
- ⑦ 中谷壽男、鈴木義久、井出千束、福島雅典、脊髄損傷の再生医療、*臨床スポーツ医学* 23、1081-1085、2006、査読無

〔学会発表〕（計 26 件）

- ① 前田裕仁、岩瀬正顕、齊藤福樹、津田雅庸、中谷壽男、平川昭彦、藤原弘佳、村尾佳則、宮崎秀行、下戸学、土屋洋之、自家骨髄間質細胞移植による脊髄再生治療の開始 第 2 報、第 36 回日本救急医学会、2008 年 10 月 15 日、札幌。
- ② 齊藤福樹、岩瀬正顕、中谷壽男、津田雅庸、前田裕仁、平川昭彦、村尾佳則、鈴木義久、井出千束、人工コラーゲンを用いた脊髄再生の試み、第 36 回日本救急医学会、2008 年 10 月 13 日、

- 札幌.
- ③ 岩瀬正顕、前田裕仁、齊藤福樹、中谷壽男、河本圭司、急性期脊髄損傷に対する培養自家骨髄間質細胞移植による臨床試験、第 67 回日本脳神経外科学会、2008 年 10 月 2 日、盛岡.
- ④ Saito F, Nakatani T, Iwase M, (4-7 番 4 名中略) Suzuki Y, Ide C, Two-year follow-up of the effects of intrathecal bone marrow stromal cell administration treatment in a patient with spinal cord injury, American Association for the Surgery of Trauma 67th Meeting, 2008 年 9 月 27 日、Maui、USA.
- ⑤ Maeda Y, Ishii N, Iwase M, Nakatani T, Saito F, Spinal Cord Injury Treatment with Intrathecal Autologous Bone Marrow Stromal Cell Transplantation. A Case Report. 5th European Congress on Emergency Medicine 3rd Annual Meeting of the DGINA, 2008 年 9 月 16 日、Munich、Germany.
- ⑥ Nakatani T, Iwase M, (3-7 番 5 名中略) Suzuki Y, Ide C, Fukushima M, Onodera R, Report of the first clinical trial of spinal cord injury treatment with autologous bone marrow stromal cells intrathecal transplantation. 2007 Annual Meeting of Korean Society of Emergency Medicine; Korea-Japan joint session, 2007 年 11 月 16 日、ソウル、韓国.
- ⑦ 齊藤福樹、岩瀬正顕、中谷壽男、(4-11 番 8 名後略)、急性期脊髄損傷に対する培養自家骨髄間質細胞移植. 第 35 回日本救急医学会、2007 年 10 月 17 日、大阪.
- ⑧ Nakatani T, Saito F, Iwase M, Suzuki Y, Hirakawa A, Murao Y, Ide C, Spinal Cord Regeneration with Bone Marrow Stromal Cell Administration in the Cerebro-Spinal Fluid: Report of the First Case at 6 Months. 66th American Association for the Surgery of Trauma, 2007 年 9 月 27 日、Las Vegas、USA.
- ⑨ 齊藤福樹、岩瀬正顕、中谷壽男、(4-8 番 5 名後略)、急性期脊髄損傷に対する培養自家骨髄間質細胞移植. 第 44 回日本リハビリテーション医学会、2007 年 6 月 6 日、神戸.
- ⑩ 中谷壽男、急性期脊髄損傷に対する培養自家骨髄間質細胞移植による脊髄再生臨床経験、第 21 回日本外傷学会、2007 年 5 月 25 日、千葉.
- ⑪ 鈴木義久、岩瀬正顕、中谷壽男、井出千束、骨髄細胞を用いた脊髄損傷治療、第 27 回日本脳神経外科コンgres、2007 年 5 月 19 日、仙台.
- ⑫ Saito F, Nakatani T, Iwase M, Report of a half-year posttransplantation course of the first clinical case of spinal cord regeneration trial with a novel method of bone marrow stromal cell administration into cerebrospinal fluid by the lumbar puncture technique. Shanghai International Conference on Emergency Medicine and Trauma, 2007 年 5 月 14 日、上海、中国
- ⑬ Nakatani T, Suzuki Y, Ide C, Saito F, Iwase M, (6-11 番 6 名後略)、Clinical trial of spinal cord regeneration with bone marrow stromal cell transplantation by lumbar puncture. Shanghai International Conference on Emergency Medicine and Trauma, 2007 年 5 月 13 日、上海、中国
- ⑭ 岩瀬正顕、齊藤福樹、前田裕仁、吉岡正太郎、中谷壽男、河本圭司、自家骨髄間質細胞移植による脊髄再生の開始、第 12 回日本脳神経外科救急学会、

2007年1月20日、東京.

- ⑮ 中谷壽男：特別報告、脊髄損傷に対する自家骨髄間質細胞移植による再生治療の試み -6ヶ月の長期経過-、第16回近畿外傷フォーラム、2006年12月16日、橿原.
- ⑯ Nakatani T, Iwase M, (3-10番8名中略) Suzuki Y, Fukushima M, Ide C、Report of the First Clinical Trial of Spinal Cord Regeneration with Bone Marrow Stromal Cell Transplantation by Lumbar Puncture、The 8th Asia Pacific Conference on Disaster Medicine、2006年11月22日、東京.
- ⑰ 齊藤福樹、中谷壽男、岩瀬正顕、平川昭彦、村尾佳則、自家骨髄間質細胞移植による脊髄再生治療の開始、第34回日本救急医学会、2006年10月31日、福岡.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中谷 壽男 (NAKATANI TOSHIO)
関西医科大学・医学部・教授
研究者番号 70188978

(2) 研究分担者 (2006~2007年度)

岩瀬 正顕 (IWASE MASAAKI)
関西医科大学・医学部・講師
研究者番号 30247902
鈴木 義久 (SUZUKI YOSHIHISA)
財団法人田附興風会医学研究所・第3研究部・研究主幹
研究者番号 30243025
井出 千束 (IDE CHIZUKA)
藍野大学・医療保健学部・教授
研究者番号 70010080

(3) 連携研究者 (2008年度)

岩瀬 正顕 (IWASE MASAAKI)
関西医科大学・医学部・講師
研究者番号 30247902
鈴木 義久 (SUZUKI YOSHIHISA)

財団法人田附興風会医学研究所・第3研究部・研究主幹

研究者番号 30243025

井出 千束 (IDE CHIZUKA)

藍野大学・医療保健学部・教授

研究者番号 70010080

(4) 研究協力者

村尾 佳則 (MURAO YOSHINORI)

関西医科大学・医学部・准教授

平川 昭彦 (HIRAKAWA AKIHIKO)

関西医科大学・医学部・講師

前田 裕仁 (MAEDA YUJI)

関西医科大学・医学部・助教

齊藤 福樹 (SAITO FUKUKI)

関西医科大学・医学部・大学院生