4. 神経疾患と神経再生：パーキンソン病と脳虚血を中心に

伊達 勲

Key words : 神経再生, 細胞移植, パーキンソン病, 脳虚血

(日老医誌 2007; 44: 72-75)

はじめに

脳・脊髄は、体の中で再生が最も困難な領域の一つと考えられ、心臓・腎臓・肝臓・肺などの他臓器の研究に比べて、細胞移植や再生に関する研究の歴史は比較的新しいものである。1970 年代の後半から 1980 年代にかけて、パーキンソン病のモデル動物の作成が可能になったことをきっかけに、ドパミンを産生する胎児黒質細胞などを脳内に移植する研究が行われるようになったのであるが、現在では、21 世紀の医学の中心である再生医学・遺伝子治療などの対象疾患としてパーキンソン病、脳虚血などの神経疾患は重要なものとして研究が進んでいる。

パーキンソン病に対する細胞移植・再生療法関連の臨床研究

パーキンソン病に対する最初の細胞移植の報告は自己クロム親和細胞をドナーとした Backlund の報告である¹⁾。さらにその数年後に胎児黒質細胞の脳内移植が報告²⁾されて以来、様々なドナー細胞を用いた細胞移植、あるいは神経栄養因子を用いた臨床研究が行われている(表 1)。胎児黒質細胞をドナーとして米国で行われた 2 つの二重盲検の報告^{3,4)}では、移植後の神経細胞の生存やドパミン取り込み能の改善は示されたものの、機能改善の得られた治療群は限定されており(60 歳以下の群、4 体の胎児から移植細胞を得た群)、今後はより pure な細胞のソースとして細胞株や神経幹細胞に期待がかかっている。

細胞移植の担い手の一つとして、自己の細胞による脳

内移植の臨床応用も報告されている^{5)~7)}。交感神経節細胞移植⁵⁾やクロム親和細胞と末梢神経の同時移植⁶⁾がおこなわれ、移植による効果のメカニズムの解明などに大きな役割を果たしてきた。2003 年には Arjona らが自己 carotid body cell (頸動脈小体) をパーキンソン病患者に移植し有効であったとするパイロットスタディを報告している⁷⁾。この細胞は副腎髄質クロム親和細胞と同じく神経提由来のパラニューロンである。

神経栄養因子を用いた最近の臨床応用の話題として、5 人のパーキンソン病患者に対する glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) の線条体内直接持続注入が有効であったとする Gill らの報告がある⁸⁾。この報告では、副作用は 1 例も生じておらず、患者の日常生活動作およびドパミン代謝を有意に改善している。GDNF の線条体内注入の方が、側脳室内注入に比べて効果が高いということは筆者らもすでに動物実験で証明してきているところであり⁹⁾、このことが臨床応用でも証明されたといえる。さらに 2005 年には Slevin らによる GDNF の線条体内注入の臨床応用の有効性が発表されている¹⁰⁾。一部の患者の中に GDNF 抗体が見つかったため、この臨床研究は現在中止されているが、神経栄養因子投与の臨床応用の有用性が示されたことは大いに意義があると考えられる。

パーキンソン病に対する細胞株の脳内移植

細胞株をドナーとして用いる利点は、理論的に供給源として無限である点と、遺伝子操作が行いやすい点である。高分子半透膜製のカプセルに細胞株を封入して移植することにより、免疫反応や腫瘍化を制御することができ、臨床的には癌性疼痛、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症に既に応用がなされている¹¹⁾。筆者らはパーキンソン病モデル動物への神経伝達物質産生細胞株¹²⁾や神経栄養因子産生細胞株¹³⁾の脳内移植の有効性に

表1 パーキンソン病, 脳虚血*に対する細胞移植・再生療法の臨床研究

著者	発行年	文献	ドナー細胞, 栄養因子など
Backlund	1985	J Neurosurg	自己クロム親和細胞
Lindvall	1988	Lancet	ヒト胎児黒質細胞
Itakura	1994	Neurosurgery	自己交感神経節細胞
Date	1996	J Neurosurg	末梢神経とクロム親和細胞 cograf
Ellias	1998	Nat Med	ブタ胎仔黒質細胞
Kondziolka *	2000	Neurology	hNT 細胞
Freed	2001	N Eng J Med	ヒト胎児黒質細胞二重盲検
Arjona	2003	Neurosurg	自己頸動脈小体
Olanow	2003	Ann Neurol	ヒト胎児黒質細胞二重盲検
Gill	2003	Nat Med	GDNF 持続注入
Slevin	2005	J Neurosurg	GDNF 持続注入
Bang *	2005	Ann Neurol	自己間葉系幹細胞
Kondziolka *	2005	J Neurosurg	hNT 細胞, phase II

ついて報告してきた。この方法の有効性を高め、さらにパーキンソン病以外の神経疾患にも応用できるよう種々の工夫を検討している。一つは、移植する細胞株に Tet off システムとよばれるものを遺伝子導入し、移植した後もテトラサイクリンを内服することによって、移植された細胞株からのドパミンなどの産生を調節する方法である¹⁴⁾。また、最近注目されている栄養因子に Vascular endothelial growth factor (VEGF) がある。VEGF は脳虚血に対する保護効果を有することが知られているが、VEGF の脳内ドパミン系への神経保護作用にも着目し、VEGF 産生細胞株を作製してパーキンソン病モデル動物への移植を行ったところ、組織学的、行動学的に有効であることが明らかとなった¹⁵⁾。種々の神経栄養因子産生細胞株の作製が可能になっており、カプセル化して移植することにより、治療を目的とする研究を種々の神経疾患に対して行うことができる。

パーキンソン病に対する神経幹細胞の移植

神経幹細胞は、自己複製能と、脳を構成する細胞であるニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトに分化できる多分化能を有する細胞である。神経幹細胞は、胎児脳のみでなく成体脳の脳室周囲、脊髄の中心管周囲などからも分離、同定され、epidermal growth factor (EGF) や fibroblast growth factor (FGF)-2 などの存在下で増殖させることができ、また種々の神経栄養因子などの存在下で様々なタイプの神経細胞に分化できる。成体動物において、側脳室周囲の神経幹細胞が嗅球に移動し、それらの一部がドパミン神経になることが報告されている。側脳室周囲から取り出した神経幹細胞を、EGF 存在下にて培養し数回継代培養後、EGF および血清がない状態で、TH 誘導カクテル下で分化誘導すると、約

40% がドパミン神経に分化する。これら神経幹細胞から分化したドパミン神経をドナー細胞とする脳内細胞移植をパーキンソン病モデル動物に対して行くと、ドパミン神経が生着し、機能的回復が認められた。また、成体サルの上脳室周囲からも同様の方法で神経幹細胞を取り出し、ドパミン神経へ分化させることに成功している。成体由来の神経幹細胞を特定のニューロンに分化させた後に移植に用いる方法では、自己移植を可能にする点で今後の発展がさらに期待される¹⁶⁾。

脳内細胞移植による脳虚血の治療

脳虚血に対する細胞移植のめざす理想としては、1) 失われたニューロンと同じ表現型 (phenotype) のニューロンを虚血部位に移植、2) 移植されたニューロンが生着するための血管新生がおこる、3) 移植されたニューロンから神経突起が伸長し、二次性ニューロンに到達しシナプスを形成する、4) 移植されたニューロンを支持しミエリンを形成するためにグリア細胞が存在する、などの条件が満たされ、機能回復が行われることである。しかしながら、実際には、傷害されたニューロンを完全に置き換えるのではなく、移植されたニューロンから新しい神経突起を伸長させて (sprouting) 新しい神経回路を作ったり、神経栄養因子を産生する細胞を移植することによって、虚血によるニューロンの細胞死を保護する、などの方法によって脳虚血の治療を目指すことが多い。

脳虚血に対する神経栄養因子産生細胞株の脳内移植

細胞株を脳内移植のドナー細胞として用いる利点などについては、パーキンソン病に対する移植のところで前

述した。VEGF は強い angiogenesis 作用を有し、さらに神経保護効果、神経再生効果を呈することが報告され、脳虚血への治療効果が期待されている因子である。遺伝子操作によって VEGF 産生細胞を作成し、カプセル化の後、ラット右線条体に移植した。その6日後に同側の中大脳動脈を閉塞し、脳梗塞モデルを作成、24時間後に屠殺し脳梗塞の大きさを測定した。VEGF 産生細胞を移植した群ではコントロール群に比べて脳梗塞巣の大きさが約40%減少していた。VEGF 産生細胞移植部位の周辺では新生血管の増生がみられ、ペナンプラ領域でのアポトーシス細胞の数が減少していた。これらから、虚血脳への VEGF 産生細胞の移植は、血管新生と神経保護の両面から治療効果を発揮するものと考えられる¹⁷⁾。今後は、VEGF 産生細胞の移植時期（特に脳虚血が発症してからどのくらいの time window まで治療効果を発揮しうるか）、そして移植の効果は長期に持続するかについて検討する必要がある。

脳虚血に対する成体由来神経幹細胞の脳内移植

成体脳由来の神経幹細胞を再生医療の目的に用いる大きな長所は自家移植が可能になることである。筆者らはこれまで、成体脳室下帯由来の神経幹細胞の自家移植は、同種異系移植に比べて生着率が高く、より organize された生着形態を示すことを海馬内への移植によって証明してきた¹⁸⁾。この成体脳室下帯由来の神経幹細胞を中大脳動脈閉塞モデルの線条体に移植したところ、コントロール群と比して、有意に脳梗塞巣の体積が減少し、accelerating rotarod test で示される機能的評価でも改善が認められた¹⁶⁾。さらにこの神経幹細胞に GDNF などの神経栄養因子産生能を持たせることで、より移植による効果を高めることが期待される。

脳虚血に対する細胞移植の臨床報告

ヒト胎児 teratocarcinoma 由来の細胞株である hNT 細胞は、レチノイン酸を添付することで分化誘導され、純粋で post-mitotic なヒトニューロン (LBS-Neuron, Layton Bioscience, Sunnyvale, CA) へ分化することが可能な細胞である。基礎研究結果に基づき、米国において FDA 認可のもと、LBS-Neuron のヒトの脳梗塞患者に対する脳内移植が12人に対して行われた。患者は、発症後6カ月以上経過した基底核部の脳梗塞患者で、梗塞部位に一人の患者あたり200万個以上の LBS-Neuron を移植した。移植に伴う副作用はなく、神経症状をあらわす European Stroke Scale のスコアは24カ月以上有意に改善し、600万個の LBS-Neuron を移植された患者

は、200万個の細胞を移植された患者と比べて神経症状がよく改善する傾向があった¹⁹⁾。また、移植6カ月後の PET scan では移植部位での fluorodeoxyglucose の取り込みが上昇しており、移植された細胞が機能していることを示している。手術後27カ月で死亡した1例に対して剖検を行っているが、移植された LBS-Neuron は、脳梗塞部位に neurofilament 陽性細胞として存在し、腫瘍化することなく生着していたと報告されている。LBS-Neuron の脳梗塞部への移植による神経症状の改善のメカニズムは、その細胞から分泌される神経栄養因子（特に GDNF）や神経伝達物質、部分的な神経回路の再構築、あるいは梗塞部の酸素濃度の改善などが考え得るがまだはっきりしていない。しかし、この臨床研究が脳梗塞に対する細胞移植の有用性を示しているのは確かであろう。

ヒト骨髄間葉系幹細胞を中大脳動脈閉塞症患者に静脈内自家移植した臨床例が報告されている²⁰⁾。一側の中大脳動脈領域の梗塞患者で高度の神経脱落症状を呈した患者に 1×10^8 個の自己骨髄間葉系幹細胞を移植（静脈投与）し、1年後の検討をしたところ、Barthel index, modified Rankin Score とも有意な改善効果があったと報告されている。MRI の検討では脳梗塞の体積は減少していないが、脳萎縮を有意に減少させたという。発症5週後、7週後の移植でありながら静脈投与を用いている点など、今後検討すべき課題は多いが、基礎研究が臨床応用へ発展した報告として注目に値する。

おわりに

脳内細胞移植について、パーキンソン病と脳虚血を中心に研究と臨床の現状と展望をまとめた。まだ動物モデルを用いた基礎研究の段階にある治療法もかなり含まれているが、これまでの臨床応用の経過からは、基礎研究の結果が臨床応用に結びつくことが多いことが示されており、今後の展開が期待される。種々の幹細胞については、その生物学的特性が次々と明らかになりつつあり、パーキンソン病、脳虚血のみならず、多くの神経疾患に細胞移植という方法で治療に応用されていくものと思われる。

文 献

- 1) Backlund EO, Granberg PO, Hamberger B, Knutsson E, Martensson A, Sedvall G, et al: Transplantation of adrenal medullary tissue to striatum in parkinsonism. First clinical trials. J Neurosurg 1985; 62: 169-173.
- 2) Lindvall O, Rehncrona S, Gustavii B, Brundin P, Astedt B, Widner H, et al: Fetal dopamine-rich mesencephalic

- grafts in Parkinson's disease. *Lancet* 1988; 2: 1483-1484.
- 3) Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, et al.: Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2001; 344: 710-719.
 - 4) Olanow CW, Goetz CG, Kordower JH, Stoessl AJ, Sossi V, Brin MF, et al.: A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003; 54: 403-414.
 - 5) Itakura T, Komai N, Ryujin Y, Ooiwa Y, Nakai M, Yasui M: Autologous transplantation of the cervical sympathetic ganglion into the parkinsonian brain. *Neurosurgery* 1994; 35: 155-157.
 - 6) Date I, Imaoka T, Miyoshi Y, Ono T, Asari S, Ohmoto T: Chromaffin cell survival and host dopaminergic fiber recovery in a patient with Parkinson's disease treated by cogafts of adrenal medulla and pretransected peripheral nerve. *J Neurosurg* 1996; 84: 685-689.
 - 7) Arjona V, Minguez-Castellanos A, Montoro RJ, Ortega A, Escamilla F, Toledo-Aral JJ, et al.: Autotransplantation of human carotid body cell aggregates for treatment of Parkinson's disease. *Neurosurgery* 2003; 53: 321-330.
 - 8) Gill SS, Patel NK, Hotton GR, O'Sullivan K, McCarter R, Bunnage M, et al.: Direct infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med* 2003; 9: 589-595.
 - 9) Aoi M, Date I, Tomita S, Ohmoto T: GDNF induces recovery of the nigrostriatal dopaminergic system in the rat brain following intracerebroventricular or intraparenchymal administration. *Acta Neurochir* 2000; 142: 805-810.
 - 10) Slevin JT, Gerhardt GA, Smith CD, Gash DM, Kryscio R, Young B: Improvement of bilateral motor functions in patients with Parkinson disease through the unilateral intraputaminar infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor. *J Neurosurg* 2005; 102: 216-222.
 - 11) Aebischer P, Schluep M, Deglon N, Joseph JM, Hirt L, Heyd B, et al.: Intrathecal delivery of CNTF using encapsulated genetically modified xenogeneic cells in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Nature Med* 1996; 2: 696-699.
 - 12) Date I, Shingo T, Yoshida H, Fujiwara K, Kobayashi K, Takeuchi A, et al.: Grafting of encapsulated dopamine-secreting cells in Parkinson's disease: long-term primate study. *Cell Transplantation* 2000; 9: 705-709.
 - 13) Shingo T, Date I, Yoshida H, Ohmoto T: Neuroprotective and restorative effects of intrastriatal grafting of encapsulated GDNF-producing cells in a rat model of Parkinson's disease. *J Neurosci Res* 2002; 69: 946-954.
 - 14) Kobayashi K, Yasuhara T, Agari T, Muraoka K, Kameda M, Wenji Y, et al.: Control of dopamine-secretion by Tet-Off system in an *in vivo* model of parkinsonian rat. *Brain Res*, in press.
 - 15) Yasuhara T, Shingo T, Kobayashi K, Takeuchi A, Yano A, Muraoka K, et al.: Neuroprotective effects of vascular endothelial growth factor (VEGF) upon dopaminergic neurons in a rat model of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci* 2004; 19: 1494-1504.
 - 16) Date I, Shingo T, Yasuhara T, Takahashi K, Muraoka K: Neuroprotection and repair by using adult-derived neural stem cell grafting for neurological disorders, In: Minimally Invasive Neurosurgery and Multidisciplinary Neurotraumatology, Kanno T, Kato Y (eds), Springer-Verlag, Tokyo, 2006, p131-137.
 - 17) Yano A, Shingo T, Takeuchi A, Yasuhara T, Kobayashi K, Takahashi K, et al.: Encapsulated vascular endothelial growth factor-secreting cell grafts have neuroprotective and angiogenic effects on focal cerebral ischemia. *J Neurosurg* 2005; 103: 104-114.
 - 18) Muraoka K, Shingo T, Yasuhara T, Kameda M, Wenji Y, Hayase H, et al.: The high integration and differentiation potential of autologous neural stem cell transplantation compared with allogeneic transplantation in adult rat hippocampus. *Exp Neurol*, in press.
 - 19) Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, Meltzer C, Thulborn KR, Gebel J, et al.: Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology* 2000; 55: 565-569.
 - 20) Bang OY, Lee JS, Lee PH, Lee G: Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann Neurol* 2005; 57: 874-882.
-