

■Working 2 Walk シンポジウム 報告【せきずい基金事務局】

2015年9月27～28日 メリーランド州ベセスダにて



■**脊髄損傷後の運動機能回復のための神経補装具**

Gregoire Courtine 博士（スイス連邦工科大学）

この10年の間、Courtine博士のグループはげっ歯類動物を使って重傷脊髄損傷後に後肢運動を改善し脊髄機能を回復する実用的治療法（電気化学的神経調節によって神経接合の可塑性を促進させ、意志の力によるトレーニング療法やロボットアシストを使った治療法）を開発してきた。

彼らは最近、運動による背骨の屈曲に耐えられる柔軟性のある電極(e-dura)を開発した。それを脊柱管内に電極を埋込み、電気刺激（硬膜外電気刺激）を行う。そして、動作に必要な適切な量の電気を制御する為のコンピューターシミュレーションを開発した。これらを組み合わせることで、「時空間的」な電気刺激が可能と成る。彼らの治療法は、次の3ステップから成る：①ドーパミンやセロトニンのアゴニスト（受容体を活性化する物質）を脊髄に注入する、②電極を脊柱管に埋込み、脊髄の後根側にセットする、③リハビリ専用の特殊なロボットアシスト装置を作り、トレーニングさせる。

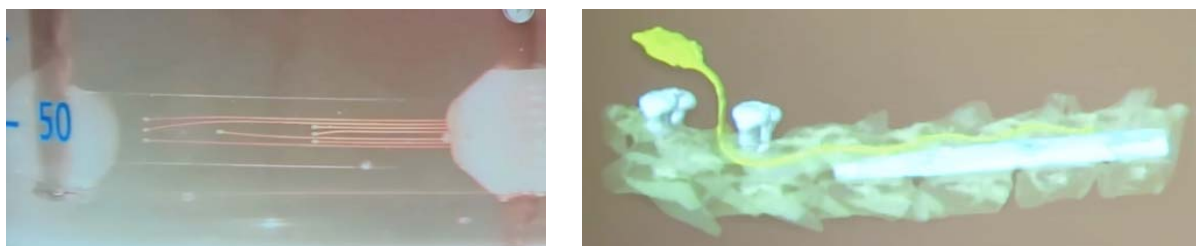


図1. (左) Courtine博士らが開発した硬膜外電気刺激用の電極 e-dura。柔軟性があり、伸縮、ねじれにも対応できる。(右) この電極（黄色）を、脊髄の後根を刺激できるように脊柱管内部にセットする。

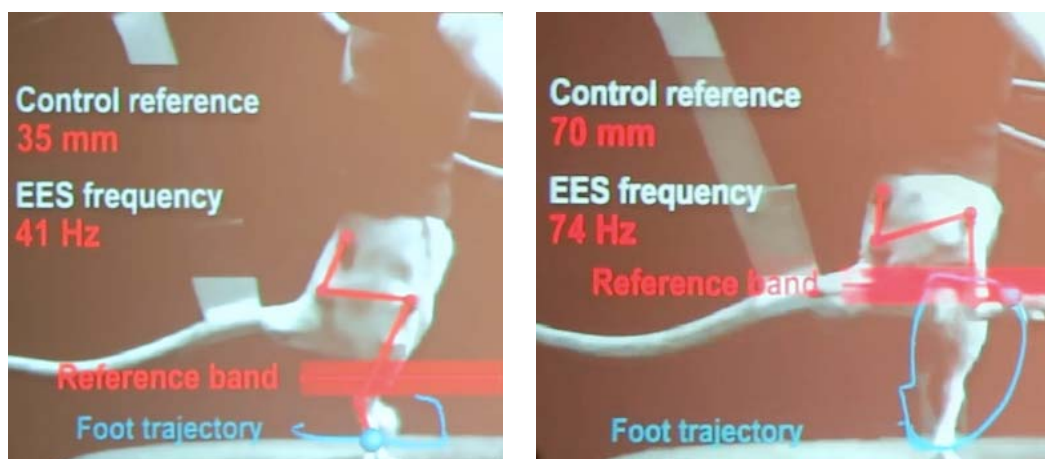


図2. 刺激電気の周波数が低い状態ではラット後肢の動作も小さいが（左）、周波数を上げると後肢の動作は顕著に大きくなった（右）。

電極を取り付けただけで電気を流さない時は、ラットの後肢は全く動かなかった。一定の固定した電気を流すと後肢は少し動いた。電気を流す場所を時間と共に変化させて流す（時空間的制御）とラットの後肢は大きく動作し始めた。更に、時空間的電気刺激でも流す電気の周波数に依存してラット後肢の動作の大きさは変わった。

彼らは、ラットを使って得られたこの成果を次は霊長類動物やヒトで試験することを試みた。ヨーロッパやアメリカでは規制があるので、中国でサルを使った実験を行った。サルに適合するように電極を改良し、更に脳の活動を自動で読み取る装置を脳に移植し、その情報をワイヤレスで受信できる装置を電極につなぐことで、脳の信号を損傷部以下の脊髄が自動的に受信できるようにした。装置の電源を切った状態ではサルの右側の足は動かなかったが、装置の電源を入れると足が動くようになった。

以上の結果をふまえて、次はヒトで試験を行った。被検者はマリアという名前の62歳の女性でC6/C7のヘルニアで緊急手術をし、感覚レベルはT4である。受傷1年後に試験を行った。一人で立てない為、70%体重サポート装置を使って歩行することで運動機能を評価した。電極移植50日後で、電気刺激を加えると加えない時と比べて歩行が早くなった。3ヶ月後には30%体重サポートでも十分歩行ができるようになった。8ヶ月後には、電気刺激無しで体重サポートも使わずに歩行できるようになった。彼らのグループはASIA-Cの患者を対象にした臨床試験を計画している。



電極移植後3ヶ月の歩行訓練の様子。当初は70%体重サポートを使ってやっと動ける程度だったが、体重サポートを30%に落としても前よりスムーズに歩行できるようになった。

【事務局より】この硬膜外電気刺激用電極 e-dura は今年になって著名科学誌に報告されたばかりの非常に新しい技術である。体内に直接埋め込んで電気刺激をかけるので、脊髄への刺激も十分に行われていると考えられ効果の信憑性も期待される。しかし、埋め込み型電極は長期間埋め込んだ際の影響について不明な点が残っており、慎重に検討しなくてはならない。最近の経皮的電気刺激による運動機能改善の報告など、他の電気刺激の研究も活発になってきているので、併せて注視していきたい。

\*Courtine博士がラットで行った電気刺激試験について2013年のTED conferenceで発表している。実験の詳細が動画で説明されているので、興味があれば是非参照頂きたい：  
[https://www.ted.com/talks/gregoire\\_courtine\\_the\\_paralyzed\\_rat\\_that\\_walked?language=ja](https://www.ted.com/talks/gregoire_courtine_the_paralyzed_rat_that_walked?language=ja)

## ■ 亜急性期脊髄損傷患者に対するヒト胚性幹細胞由来オリゴデンドロサイト前駆細胞 (AST-OPC1) の初期臨床試験

Edward D. Wirth III 博士 (Asterias Biotherapeutics)



このAsterias Biotherapeutics社の臨床試験は、Geron社が着手して2011年に資金的な問題により途中でストップした、世界初のヒト胚性幹細胞由来細胞(オリゴデンドロサイト前駆細胞)を使った脊髄再生治療を引き継いだものである。Wirth博士はその臨床試験の責任者であった。

オリゴデンドロサイトとは、ニューロンの軸索を覆うミエリン鞘を形成する細胞である。これはニューロンの電気信号を適切に送信する役割を持っている。また、成長因子、軸索伸長因子や組織マトリックスを産生するはたらきも有しており、様々なニューロンの保護作用を担っている。この試験で使われるオリゴデンドロサイト前駆細胞を作る元となる胎児組織は人工妊娠中絶から得ることができ、大きな倫理的問題をはらんでいる(そのため、日本では胚由来細胞を使った試験は認められていない)。胎児組織から得られた胚性幹細胞を分化させることでオリゴデンドロサイト前駆細胞を得ることが出来る。この細胞を使った前臨床試験(動物実験)は2000年代初期に行われ、安全性や有効性が確かめられてきた。

Asterias社はヒト胚性幹細胞からAST-OPC1を樹立し、マウス、ラット、サルやブタで安全性と機能評価を行った。移植後の有害性は認められず、損傷による空隙形成はAST-OPC1移植により減少し、ミエリン鞘形成が確認され、運動機能も若干だが回復した。その他は、移植細胞は脊髄の5cm以内に留まり中枢神経外には拡散しない、奇形種形成しない、免疫応答には影響しない等が確かめられた。

ヒトを対象にした第1相臨床試験では、神経学的に完全に損傷した5名(21歳男性T6損傷、23歳男性T8損傷、32歳男性T6損傷、31歳男性T7損傷、23歳女性T3損傷)の胸髄損傷患者に対して損傷7日から14日の間に、Asterias社が樹立した200万個のオリゴデンドロサイト前駆細胞(AST-OPC1)が移植された。移植では、専用のシリンジ位置調整装置を使って脊髄の損傷部の空隙に200万個の細胞が一度に移植され、一時的に免疫抑制剤が投与された。現在まで、5名の被検者全てを3年以上にわたって追跡調査し、免疫抑制剤に関連すると考えられる複数の有害事象(吐き気、尿路感染や血中マグネシウム量の低下)が見られたが、AST-OPC1や移植手術を含め全体的には安全性の問題は起こっていない。連続MRIスキャンから、AST-OPC1を移植した後の損傷部の空洞形成は5名中4名の被検者で顕著に減少していた。しかし、臨床学的所見で神経学的機能が有為に変化した被検者はいなかった。彼らは、機能改善が見られないのは移植細胞が少ないせいであると考え、現在はより多く(1000万~2000万)のAST-OPC1を移植する試験が2015年5月から始まった(FDA治験ID:NCT02302157)。この試験は非盲検(被検者にプ

ラセポと本物のどちらが割り当てられたか医師、被検者やスタッフ全員が分かっている)で行われ、C5-C7の頸髄損傷者を対象にする。現在までに3名の被検者に移植が行われた。

【事務局より】Geron社のオリゴデンドロサイト前駆細胞を使った細胞治療法はヒト胚性幹細胞を使った世界初の臨床試験として、かつて世界中から注目され、その中断は大きな失望を与えた。その試験を継続した今回の発表はヒト胚性幹細胞を使った治療の可能性を知るために非常に重要な結果の一つであり、より多くの細胞を使った新しい治療は今後も注目すべき臨床試験であると考えている。現在ではStem Cells社やNeuralstem社など他にも複数の企業がヒト胎児組織由来神経前駆細胞を使った治療を進行中であり、これらの結果を併せて考慮することで、脊髄損傷に対する神経幹細胞移植の効果の程度やその限界が把握できてくるのではないかと思う。

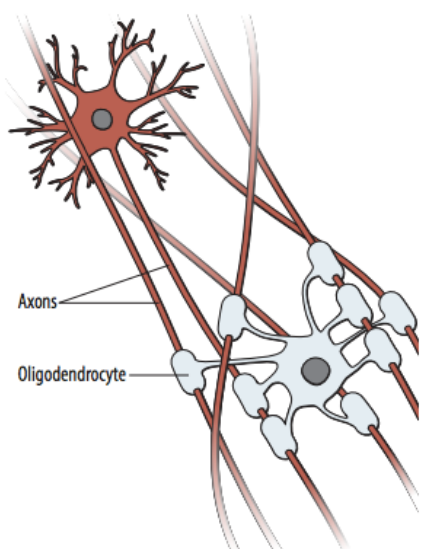


図. オリゴデンドロサイト（白）は軸索（赤）を包み、ミエリン鞘を形成する。このミエリン鞘のおかげで軸索を伝って送信される電気信号を短絡させずに目的の場所まで送り届けることができる。

（絵：Kate Willette「Don't call it a miracle: The Movement to Cure Spinal Cord Injury」より抜粋）

図. 凍結保存用チューブに入ったAST-OPC1。  
オリゴデンドロサイト前駆細胞をはじめ、ニューロン前駆細胞、少量の成熟ニューロンやその他の希少細胞を含んでいる。ヒト胚性幹細胞由来。





## ■ダイレクト・リプログラミングされた自己神経幹細胞 (DrSC<sup>®</sup>神経細胞) と Regeneration Matrix<sup>™</sup> (再生マトリックス) のヒト初回臨床試験 Jan-Eric Ahlfors 博士 (New World Laboratories, Inc.)



Ahlfors 博士は神経科医として医学の世界に入ってきたが、それは必ずしも順風満帆といえるものではなかった。病院の現場での現実、更には博士学生やポストクの時代も満足できる環境ではなかった。彼が本当に自分の進む道を見つけたのは New World Laboratories 社に入ってからである。彼はそこで神経再生の鍵と成る細胞と材料を開発し、脊髄損傷の治療に応用している。まずはその細胞と材料について説明する。

ウーパールーパーは、脳や心臓でも再生できる驚異的な能力を持つ。組織が損傷すると幹細胞や特殊なマトリックスを含む芽胞 (未分化細胞の塊) を形成する。彼はヒトでもこの特殊な細胞とマトリックスができないか調べた。まず、マトリックスの方を開発し、RMx<sup>™</sup> と名付けた。この RMx<sup>™</sup> を脊髄損傷ラットの脊髄に埋め込むと脊髄組織が再生し、軸索の伸張が促され、運動機能も回復した。ブタの脊髄損傷モデルにも使うと、損傷部にオリゴデンドロサイト前駆細胞が集まってくるのを確認した。どの試験でも腫瘍の形成は見られなかった。次に、脊髄再生のための細胞の開発を行った。ウーパールーパーは外傷を受けると残った細胞をダイレクトリプログラミングさせる能力を持つ。彼らは 15 年もの間、100 名以上の研究者が開発してきた技術を用いて、体細胞から直接神経細胞を作ることに成功した。このようにして得られた神経細胞を彼らは DrSC<sup>®</sup> と名付けた。この DrSC<sup>®</sup> を脊髄損傷ラットに移植すると運動機能が改善し、効果はヒト胎児由来神経前駆細胞よりも高かった。そして RMx<sup>™</sup> と同様に腫瘍形成は見られなかった。この DrSC<sup>®</sup> の作製には胎児組織を使わないので倫理的問題は回避できる。

では、この RMx<sup>™</sup> と DrSC<sup>®</sup> を使ったヒト臨床試験について報告する。この臨床試験はロシア連邦医学生物学省の連邦研究臨床センターで行われている (詳細は次の URL に掲載: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02326662?term=spinal+cord+injury+chronic&rank=20>)。流れは主に次の 5 工程から成る: ①被検者から骨髄を採取する、②骨髄細胞をダイレクトリプログラミングで神経前駆細胞 (DrSC<sup>®</sup>) にする (約 10 週間)、③被検者のいる病院へ届ける、④DrSC<sup>®</sup> を被検者に移植する (1~10 回)、⑤リハビリテーショントレーニングを行う (半年~2 年半)。これまでに臨床試験に参加した被検者は 4 名、受傷から 1~2 年経った T5-9 の胸髄慢性損傷患者である。これらの被検者に 1~3 回に分けて DrSC<sup>®</sup> を髄腔内に 2500 万~1 億個移植した。内 1 名は手術中に誤って手術器具で脊髄を貫通させてしまうという事故が発生した。程度に差はあるが、全ての被検者で感覚・運動レベルが共に改善した。また、移植 1 ヶ月後に脳からの電気信号が足に伝達され

ていることを確認した。被検者の一人はインタビューで、以前は感覚がなかった場所に感覚が戻り、足も曲げられるようになったこと、そしてトイレに行けるようになり性機能も回復したことを述べた。彼は実際に座ったり寝転びながら足を動かし、筋肉が動いていることを実証した。移植半年後で足の運動機能の値（ISNCSCI lower extremity score）が0から&sim;14まで回復し、この回復度合いは移植細胞数に比例していた。その他に発汗、鳥肌、膀胱・肛門のコントロールにも改善が見られた。この臨床試験は現在も継続中であり、ロシア国民のみが参加可能である。将来的にはこの治療法をパーキンソン病などの他の神経変性疾患に応用していく予定である。

\*Ahlfors 博士が発表したスライドは全て confidential（秘密）のため、文章のみでの説明に留める。

\*New World Laboratories 社の URL は次の通り：<https://nwl.net/en>

【事務局より】この治療法の目玉となるのは、再生能力の促進効果を持つ RMx™ と体細胞をダイレクトリプログラミングさせて得られる DrSC® である。特に DrSC® は自分の細胞から作れるので免疫抑制剤を使う必要がなく、患者への負担を軽減できる。効果もヒト ES 細胞由来神経細胞よりも高いと示されており、一見すると非常に有望な治療法と見ることができる。しかし、ロシアで臨床試験を行っている理由が明確でないこと、機能評価の客観性の問題、なによりも RMx™ と DrSC® について詳細な作製工程が示されておらず、神経マーカー分子の発現確認による特徴付けや安全性が明示されていない等、疑問点は数多く残る。今後、治験の場がヨーロッパやアメリカに移れば、このような疑問点の回答が得られるだろう。

## ■我々はどのようにしてペット犬から脊髄損傷の新しい治療法の価値を理解することができるのか？

Nicholas Jeffery 博士 (アイオワ州立大学)



脊髄損傷の動物実験では主にラットが用いられる。しかし、傷害を人工的に加えているので、それが必ずしもヒトの病態を忠実に再現できているかは疑問の余地がある。一方、主に多くの小型犬種は椎間板の変性が起こり易く、ヘルニアを起こし脊髄を傷つける原因と成るため、一般的にペット犬は脊髄損傷を受傷しやすい。犬を用いることは、いくつかの利点がある：まず、実験モデルのスケールアップができる。ラット脊髄ではヒトに応用するには非常に小さく、ラット脊髄で効果が現れてもヒトで機能しないことはよくある。そして、病態の過程がヒトと類似していることである。犬を用いる場合、実生活で受傷した犬を用いるが、ちょうどヒトと同じように年齢、体重、受傷メカニズム、機能喪失のパターンや遺伝など様々な条件が存在する。実際、獣医師は受傷した犬をヒトと非常によく似た方法で治療する。ほとんどのケースで機能が改善するが、場合によっては失禁状態が続き後肢が麻痺したままの犬もいる。慢性期では、犬の胴体の真ん中に小さな「いす」を付けて動き回れるようにする。犬にはヒトと同じように、受傷の深刻度を表わすスケールがある。ヒトでは ASIA、犬では TL と呼ばれる。

Jeffery 博士は 2 つの臨床試験を紹介した。最初に紹介した試験は、2012 年に既に論文発表されている嗅神経鞘細胞を用いた試験である。T3-L3 の受傷犬を 2 つのグループ（細胞移植するグループと細胞を移植しないグループ）に分け移植手術を施した後、半年の間、機能評価を行った。移植数ヶ月後には前肢と後肢の協調運動が改善する等のある程度の回復が見られた（論文の URL：<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3501977/>）。もう一つの試験は、現在進行中であるコンドロイチナーゼ ABC の臨床試験である。コンドロイチナーゼ ABC (ChABC) は、グリア瘢痕を構成するマトリックスであり軸索伸長を阻害する成分であるコンドロイチン硫酸プロテオグリカンを分解する酵素であり、これを用いることで神経細胞の軸索が損傷部の間を再び接続できるようになると期待されている。

Jeffery 博士のグループは熱安定性の ChABC (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2840440/>)を用いて現在までに約 40 匹の脊髄損傷犬を登録させている。ChABC を受傷部に投与した後、様々なリハビリトレーニング（雪上や水中での歩行訓練など）をさせている。この試験はまだ進行中のため結果は開示されなかった。詳細についてはアイオワ州立大学の HP

(<http://vetmed.iastate.edu/vmc/small-animal/clinical-trials/chondroitinase-clinical-trial-0>) に掲載されている。

【事務局より】コンドロイチナーゼ ABC (ChABC) は軸索伸長を阻むグリア瘢痕組織を

分解することのできる酵素として注目されている。現在、臨床試験に向けて最も進んでいるのが、このアイオワ州立大学のグループが犬で行っている前臨床試験である。ChABC は神経幹細胞や iPS 細胞の移植と併用して使用することができ、細胞移植療法の効果を高める可能性を有している。一日でも早くヒト臨床試験に進むことを期待している。ChABC を使った脊髄損傷治療の詳細については、2014 年の Walk Again で講演した James Fawcett 博士の講演内容の記録があるので興味があれば参照頂きたい

([http://www.jscf.org/publication/pdf/15th\\_anniversary.pdf](http://www.jscf.org/publication/pdf/15th_anniversary.pdf))。