



Title	脳卒中に対する骨髄間質細胞移植研究の現状と課題
Author(s)	黒田, 敏; 七戸, 秀夫; 杉山, 拓 他
Description	第35回日本脳卒中学会 シンポジウム1 総説
Citation	脳卒中, 32(6), 532-537 https://doi.org/10.3995/jstroke.32.532
Issue Date	2010-11-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70920
Type	journal article
File Information	J2_32_532.pdf



<総 説>

脳卒中に対する骨髄間質細胞移植研究の現状と課題

黒田 敏¹⁾ 七戸 秀夫¹⁾ 杉山 拓¹⁾ 伊東 雅基¹⁾ 川堀 真人¹⁾
 千葉 泰弘¹⁾ 長内 俊也¹⁾ 丸一 勝彦¹⁾ 宝金 清博¹⁾ 岩崎 喜信¹⁾

Key words : cerebral infarct, bone marrow stromal cell, transplantation
 (脳卒中 32 : 532-537, 2010)

はじめに

最近 10 年間あまりの研究成果によって、さまざまな幹細胞を利用した細胞移植療法は脳梗塞に対する新たな治療法として現実のものとなりつつある。この背景には、幹細胞に関する知見が急速に増加することと平行して、脳梗塞によって失われた神経機能をなんとか回復させようという気運が国内外で高まってきたためと考えられる。なかでも、骨髄間質細胞(bone marrow stromal cells; BMSC)は本来、中胚葉由来の細胞ではあるものの 1998 年に神経系の細胞へも分化することが報告されてから、数多くの注目を集めるようになった細胞と言える¹⁾²⁾。BMSC は患者自身の骨髄から採取・培養が可能で、ES 細胞や神経幹細胞などに比べると医療倫理や免疫反応などの問題がそれほど大きくないという利点も臨床応用を考える上で重要である。数多くの基礎研究によって BMSC 移植は脳梗塞や脊髄損傷後の神経症状の回復を有意に促進することが証明されている。すなわち、中枢神経に移植された BMSC は中枢神経内に生着して活発に増殖をしながら、病変部に向かって遊走すること、病変周囲において神経細胞やグリア細胞の表現型を獲得しうること、神経組織の保護や修復効果をもつ数多くの液性因子を産生すること、損傷された神経回路の再生を促進することなどが明らかとなっており、BMSC は様々なメカニズムを介して障害された神経機能の改善に寄与していることが分かっている^{3)~21)}。近年の研究では、BMSC は脳損傷によって生じた高次脳機能障害をあ

る一定の条件下において改善することも報告されている⁷⁾²²⁾。基礎研究の成果をもとに、脳梗塞、脊髄損傷などの中枢神経疾患に対する BMSC 移植が国内外で小規模な臨床試験として開始されつつあり、いずれの報告においても、少なくとも安全性に関しては大きな問題がないことが判明している^{23)~29)}。

しかしながら、中枢神経の再生を目的とした BMSC 移植を新規の治療法として厳格な臨床試験を経てヒトへ応用するためには、いまだに解決すべき問題が残されていることを忘れてはならない³⁰⁾³¹⁾。これらの問題を解決しないまま臨床試験を大規模に行なうことは医療倫理や医科学の視点からも慎重になるべきであることは、脳梗塞に対する脳保護薬の開発における臨床試験の挫折の歴史を振り返れば明らかである³⁰⁾³²⁾。最近、米国においても同様の指摘がなされるようになっており、Borlongan, Chopp, Steinberg, Kondziolka から米国の著名な神経外科医らが中心となって Stem cell Therapeutics as an Emerging Paradigm in Stroke (STEPS) group を形成して、脳卒中に対する幹細胞治療を研究する際の勧告を複数回にわたって発表しているので参照していただきたい^{33)~36)}。

本稿では、今後、脳梗塞に対して BMSC 移植を臨床応用するにあたって、われわれが解決すべきであると考えている問題点を順に掲げながら、その解決策や展望について論じたい。

ヒト BMSC の培養法

ほとんどの全ての基礎研究、臨床試験において、ヒト BMSC はウシ胎児血清(fetal bovine serum; FBS)を含む培地を用いて培養されたのち中枢神経に移植されているのが現状である。しかしながら、Spees ら

¹⁾北海道大学医学研究科神経外科

(2010 年 9 月 25 日受付, 2010 年 9 月 27 日受理)

は、FBS を含む培地で培養した BMSC を単純に洗浄しただけでは細胞内に内在する FBS 由来のタンパク質を完全に除去することはできないと報告している³⁷⁾。これまでの臨床試験では、この問題点はあまり指摘されていないようであるが、近年注目されている人獣共通病の感染のリスクなどを考えると、今後は動物血清を使用せずに、より安全な培地を用いた細胞培養法を確立すべきである。FBS の代わりに自己血清を用いた場合、ヒト BMSC を効率的に培養できるとの報告は少なくないが、かなり多量の自己血清が必要で、患者間で培養効率に差が認められることに注意が必要である³⁸⁾。また、他家血清はヒト BMSC の増殖停止や細胞死を引き起こすことが報告されている³⁹⁾。

これに対して、最近、platelet-derived growth factor (PDGF) などの血小板由来の成長因子を豊富に含んだヒト platelet lysate (PL) が注目されている。これまでの研究によると、ヒト PL はヒト BMSC の増殖能や細胞表面マーカー、骨・軟骨・脂肪への分化能などを損なうことなく効率よく培養可能であることが判明している⁴⁰⁾。ヒト PL は輸血用の濃厚血小板液から簡単に作成することが可能であることから、動物血清の代替となりうる可能性を秘めている。ごく最近、われわれもヒト PL を含む培地を用いてヒト BMSC を培養したのちラット脳梗塞モデルに移植したところ、ヒト BMSC は FBS を含む培地で培養した細胞と同等の増殖能を示し、ラット大脳においても同等の遊走、生着、分化能を示し、さらに神経症状も同様に改善させることが判明した(投稿中データ)。今後は、これらの知見をさらに検証しながら、ヒト PL を用いた培養法を確立する予定であるが、理想的には、ヒト BMSC の増殖を促進する物質を探索することで、生物に由来しない物質のみを使用して効率的にヒト BMSC を培養する方法論を確立するべきであると考えている。

ヒト BMSC 移植のプロトコール

これまでにさまざまな幹細胞を用いて、脳梗塞をターゲットとする細胞移植の臨床試験が実施されている^{23)41)~43)}。たとえば、韓国での自己 BMSC を用いた臨床試験では 5 例の脳梗塞例を対象として、発症から 4~5 週間後に $5,000 \times 10^4$ 個の BMSC が経静脈的に移植されている²³⁾。しかしながら、その治療プロトコールの科学的論拠は希薄で、「いつ、どのルートで、どのくらいの細胞数を移植すると、最も安全で高い治療効果が得られるのか?」といった、新たな薬剤を開発

するには必ず検討されている課題が未解決のまま残されており、われわれは、本格的な臨床応用を開始するにあたってはこれらの問題の解明が必須かつ急務であると考えている。

われわれはこの研究を計画した当初からなるべく臨床に即した基礎研究を行なうべきであると考え、ラットあるいはマウス脳梗塞モデルに BMSC を発症 7 日後に定位的に移植する手法を一貫して採用してきたが⁴⁾⁹⁾¹³⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁹⁾²¹⁾、この手法が至適な治療プロトコールであるかどうかは今後の検討が必要である。前述の STEPS group も ① cell dose-response study, ② cell route of administration study, ③ therapeutic time window study が必要であると述べているのは同様の理由からであろう³⁶⁾。これまで脳梗塞を対象とした細胞移植療法における cell dose-response に関して詳細に検討した報告はそれほど多くない。ごく最近の Darsalia ら(2010)の研究によれば、神経幹細胞をラット脳梗塞モデルに定位的に移植した実験では、移植する細胞数は生着する細胞数と必ずしも相関する訳ではないようである⁴⁴⁾。われわれは今後、脳梗塞モデルに対する BMSC 移植の際の cell dose-response を検討する必要があると考えている。

幹細胞を移植するルートに関しても直接移植のほかには静脈、動脈、髄腔内など、多くの候補が挙げられているが、やはり一定の条件下で脳梗塞における治療効果を直接、比較検討した報告は少ないのが現状である。Jendelova ら(2003)によれば、発症から 24 時間後に BMSC を移植した場合、MRI 上の細胞分布には直接移植、経静脈的移植の間で有意差はなかったという⁴⁵⁾。また、Li ら(2010)は、発症から 24 時間後に神経幹細胞を静脈、頸動脈、髄腔内のルートからそれぞれ移植したところ、頸動脈から移植した場合に細胞の生着率は高くなるが死亡率も高くなると報告している⁴⁶⁾。Yasuhara らは仔ラット脳虚血・低酸素モデルを作成した 7 日後に multipotent adult progenitor cell (MAPC) を直接あるいは経静脈的に移植した結果、運動機能の改善効果は両者に差がなかったと報告している⁴⁷⁾。ごく最近、われわれはラット脳梗塞モデルに発症 1 週間後にラット BMSC を直接あるいは経静脈的に移植した結果、運動機能、生着細胞数ともに直接移植の方が良好であることを運動機能評価や光イメージングを用いて確認している(投稿中データ)。実際、直接移植の方が経静脈的移植に比べて移植に必要なドナー細胞の数が少なく済むため、BMSC などのドナー細胞の

培養に要する期間を短縮することによって、より早期に細胞移植を実施できるかもしれない。しかしながら、最適な移植細胞数および移植時期の決定には今後の検討が必要であろう。また、直接移植は他の移植ルートに比べて侵襲性が高いことから、ティッシュエンジニアリングの手法を応用するなど、より安全かつ効果的な方法論も模索する必要がある³⁾⁵⁾⁸⁾。

一方、therapeutic time window に関しても検討が必要である。これまでの多くの研究では、BMSC は脳梗塞発症直後から 7 日後にかけて移植された場合に有効性が示唆されている。しかし、脳梗塞を発症した患者自身から骨髓液を採取して BMSC を培養するまでには相応の日数を要するため、過去の臨床試験では発症から 2~4 週以降に投与されているのが現状である²³⁾。このような乖離を克服するためには、臨床でも 1 週間以内に移植に必要な数の自己 BMSC を培養する方法論を確立するか、脳梗塞発症から 4 週後に BMSC を移植した場合にも治療効果があることを動物実験で検証すべきである。最近、われわれは granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) が BMSC の増殖を促進して培養効率を高めることを見出している⁹⁾。また、脊髄損傷モデルでは受傷 3 カ月後に BMSC を直接移植しても神経症状が改善したという報告がなされており⁴⁸⁾、今後、これらの観点に着目した研究が数多く実施されることで臨床においても有効な治療プロトコルが形成されることを期待している。

ヒトにおける細胞イメージング

脳保護薬をターゲットとした臨床試験の多くは神経機能をエンドポイントとして利用してきたが、その限界は明白である³²⁾。それを補完することで治療効果をより客観的に評価できる副次的なパラメータが必要である。例えば、STA-MCA anastomosis の治療効果を評価する場合には、脳梗塞再発の有無を観察するのみならず、脳 SPECT/PET にて脳循環動態の変化を測定することで治療効果を副次的に評価することができる。脳梗塞に対して BMSC などの幹細胞を移植する場合にも、治療効果を評価する際に機能予後のほかに、移植された細胞の体内あるいは脳内分布を画像化できれば治療効果の判定にきわめて有益であると考えられる。

これまで、動物実験では MRI や SPECT、光イメージングなどを用いて BMSC の脳内分布を画像化する方法論が検討されている。MRI は高い空間解像度を有しているのが最大の利点であり、移植細胞を画像化

するための標識物質として鉄製剤 (superparamagnetic iron oxide; SPIO) が用いられることが多い⁴⁵⁾⁴⁹⁾⁵⁰⁾。われわれもラット脳梗塞モデルに移植した BMSC を 8 週間にわたって経時的に追跡可能であることを確認している (投稿中データ)。核医学イメージングは非常に高い感度と定量性を有する点が利点である。de Haro ら (2005) は、ラット脊髄損傷モデルに ¹¹¹In oxine で標識した BMSC を経静脈的に移植し、損傷部位に集積する像を確認している⁵¹⁾。さらにヒトにおいても移植細胞の画像化が試みられている⁵²⁾。光イメージングは低い侵襲性と高い感度が特徴である。過去に luciferase を用いた発光イメージングが試みられているが⁵³⁾、われわれは green fluorescence protein (GFP) あるいは半導体ナノクリスタルを利用することで、脳梗塞モデルに移植された BMSC を 4~8 週間にわたって経時的に可視化することに成功している¹⁹⁾⁵⁴⁾。

脳梗塞に対する BMSC 移植の効果を客観的に評価するもうひとつの指標として考えられるのは、ホストである脳の機能の変化を評価する手法である。Mori ら (2005) は、脳凍結損傷モデルに BMSC を移植することで知覚刺激に対する脳ブドウ糖代謝を改善させることをオートラジオグラフィの手法を用いて証明している⁵⁵⁾。われわれも、マウス脳梗塞モデルに BMSC を移植した結果、梗塞巣の周囲における ¹²⁵I-iodamazenil 結合能が改善することを見出している¹⁶⁾。臨床においても、骨髓単核球の移植によって梗塞巣におけるブドウ糖代謝が改善した症例が報告されている⁵⁶⁾。また、BMSC を multiple system atrophy の患者に移植したところ、小脳や前頭葉におけるブドウ糖代謝が改善したとの報告もある²⁵⁾。これらのイメージング手法を応用する際にはそれぞれのトレーサの有する特性を理解して利用するとともに、今後、解決しなければならない問題が多いのも事実であるが、今後のさらなる発展が期待される分野である。

まとめ

以上、脳梗塞に対する BMSC 移植の研究の動向を概説するとともに、臨床応用するにあたって解決すべき問題点と展望について解説した。新たな治療法を確立するためのプロセスについてのコンセプトは研究者間で一致していないのが現状であるが⁵⁷⁾、拙速に陥らず、たとえ遠回りしても科学的に検証可能な方法で新たな治療概念をベンチからベッドサイドへトランスレートすることがわれわれの責務であると考えている。

謝辞

本研究は日本学術振興会・科学研究費補助金(No.19390371, No.20591701, No.20390377, No.21390400)によって実施された。

参考文献

- 1) Azizi SA, Stokes D, Augelli BJ, et al: Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats—similarities to astrocyte grafts. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 3908–3913, 1998
- 2) Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG: Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 10711–10716, 1999
- 3) Yasuda H, Kuroda S, Shichinohe H, et al: Effect of biodegradable fibrin scaffold on survival, migration, and differentiation of transplanted bone marrow stromal cells after cortical injury in rats. *J Neurosurg* 112: 336–344, 2010
- 4) Shichinohe H, Kuroda S, Maruichi K, et al: Bone marrow stromal cells and bone marrow-derived mononuclear cells: which are suitable as cell source of transplantation for mice infarct brain? *Neuropathology* 30: 113–122, 2010
- 5) Osanai T, Kuroda S, Yasuda H, et al: Noninvasive transplantation of bone marrow stromal cells for ischemic stroke: preliminary study with a thermoreversible gelation polymer hydrogel. *Neurosurgery* 66: 1140–1147; discussion 1147, 2010
- 6) Chiba Y, Kuroda S, Shichinohe H, et al: Synergistic effects of bone marrow stromal cells and a Rho kinase (ROCK) inhibitor, Fasudil on axon regeneration in rat spinal cord injury. *Neuropathology* 30: 241–250, 2010
- 7) Maruichi K, Kuroda S, Chiba Y, et al: Transplanted bone marrow stromal cells improves cognitive dysfunction due to diffuse axonal injury in rats. *Neuropathology* 29: 422–432, 2009
- 8) Itosaka H, Kuroda S, Shichinohe H, et al: Fibrin matrix provides a suitable scaffold for bone marrow stromal cells transplanted into injured spinal cord: A novel material for CNS tissue engineering. *Neuropathology* 29: 248–257, 2009
- 9) Hokari M, Kuroda S, Chiba Y, et al: Synergistic effects of granulocyte-colony stimulating factor on bone marrow stromal cell transplantation for mice cerebral infarct. *Cytokine* 46: 260–266, 2009
- 10) Chiba Y, Kuroda S, Maruichi K, et al: Transplanted bone marrow stromal cells promote axonal regeneration and improve motor function in a rat spinal cord injury model. *Neurosurgery* 64: 991–999; discussion 999–1000, 2009
- 11) Shichinohe H, Kuroda S, Tsuji S, et al: Bone marrow stromal cells promote neurite extension in organotypic spinal cord slice: significance for cell transplantation therapy. *Neurorehabil Neural Repair* 22: 447–457, 2008
- 12) Hokari M, Kuroda S, Shichinohe H, et al: Bone marrow stromal cells protect and repair damaged neurons through multiple mechanisms. *J Neurosci Res* 86: 1024–1035, 2008
- 13) Shichinohe H, Kuroda S, Yano S, et al: Role of SDF-1/CXCR4 system in survival and migration of bone marrow stromal cells after transplantation into mice cerebral infarct. *Brain Res* 1183: 138–147, 2007
- 14) Yano S, Kuroda S, Shichinohe H, et al: Bone marrow stromal cell transplantation preserves gammaaminobutyric acid receptor function in the injured spinal cord. *J Neurotrauma* 23: 1682–1692, 2006
- 15) Yamaguchi S, Kuroda S, Kobayashi H, et al: The effects of neuronal induction on gene expression profile in bone marrow stromal cells (BMSC)-a preliminary study using microarray analysis. *Brain Res* 1087: 15–27, 2006
- 16) Shichinohe H, Kuroda S, Yano S, et al: Improved expression of gamma-aminobutyric acid receptor in mice with cerebral infarct and transplanted bone marrow stromal cells: an autoradiographic and histologic analysis. *J Nucl Med* 47: 486–491, 2006
- 17) Yano S, Kuroda S, Shichinohe H, et al: Do bone marrow stromal cells proliferate after transplantation into mice cerebral infarct? —a double labeling study. *Brain Res* 1065: 60–67, 2005
- 18) Yano S, Kuroda S, Lee JB, et al: In vivo fluorescence tracking of bone marrow stromal cells transplanted into a pneumatic injury model of rat spinal cord. *J Neurotrauma* 22: 907–918, 2005
- 19) Shichinohe H, Kuroda S, Lee JB, et al: In vivo tracking of bone marrow stromal cells transplanted into mice cerebral infarct by fluorescence optical imaging. *Brain Res Brain Res Protoc* 13: 166–175, 2004
- 20) Lee JB, Kuroda S, Shichinohe H, et al: A pre-clinical assessment model of rat autogeneic bone marrow stromal cell transplantation into the central nervous system. *Brain Res Brain Res Protoc* 14: 37–44, 2004
- 21) Lee JB, Kuroda S, Shichinohe H, et al: Migration and differentiation of nuclear fluorescence-labeled bone marrow stromal cells after transplantation into cerebral infarct and spinal cord injury in mice. *Neuropathology* 23: 169–180, 2003
- 22) Shichinohe H, Kuroda S, Sugiyama T, et al: Bone marrow stromal cell transplantation attenuates cognitive dysfunction due to chronic cerebral ischemia in rats. *Dement Geriatr Cogn Disord*, in press
- 23) Bang OY, Lee JS, Lee PH, et al: Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann Neurol* 57: 874–882, 2005
- 24) Honmou O, Houkin K, Matsunaga T, et al:

- Intravenous transplantation of autologous mesenchymal stem cells derived from bone marrow into stroke patients. *Stroke* 39: 543, 2008
- 25) Lee PH, Kim JW, Bang OY, et al: Autologous mesenchymal stem cell therapy delays the progression of neurological deficits in patients with multiple system atrophy. *Clin Pharmacol Ther* 83: 723-730, 2008
 - 26) Saito F, Nakatani T, Iwase M, et al: Spinal cord injury treatment with intrathecal autologous bone marrow stromal cell transplantation: the first clinical trial case report. *J Trauma* 64: 53-59, 2008
 - 27) Sykova E, Homola A, Mazanec R, et al: Autologous bone marrow transplantation in patients with subacute and chronic spinal cord injury. *Cell Transplant* 15: 675-687, 2006
 - 28) Yoon SH, Shim YS, Park YH, et al: Complete spinal cord injury treatment using autologous bone marrow cell transplantation and bone marrow stimulation with granulocyte macrophage-colony stimulating factor: Phase I/II clinical trial. *Stem Cells* 25: 2066-2073, 2007
 - 29) Zhang ZX, Guan LX, Zhang K, et al: A combined procedure to deliver autologous mesenchymal stromal cells to patients with traumatic brain injury. *Cytotherapy* 2008; 10: 134-139
 - 30) 黒田 敏 : ラボから急性期脳梗塞の治療へーラジカルスカベンジャーと骨髄細胞移植. *脳卒中* 30: 875-879, 2008
 - 31) Quinn N, Barker RA, Wenning GK: Are trials of intravascular infusions of autologous mesenchymal stem cells in patients with multiple system atrophy currently justified, and are they effective? *Clin Pharmacol Ther* 83: 663-665, 2008
 - 32) Savitz SI, Fisher M: Future of neuroprotection for acute stroke: in the aftermath of the SAINT trials. *Ann Neurol* 61: 396-402, 2007
 - 33) Borlongan CV: Cell therapy for stroke: remaining issues to address before embarking on clinical trials. *Stroke* 40: S146-S148, 2009
 - 34) Borlongan CV, Chopp M, Steinberg GK, et al: Potential of stem/progenitor cells in treating stroke: the missing steps in translating cell therapy from laboratory to clinic. *Regen Med* 3: 249-250, 2008
 - 35) Chopp M, Steinberg GK, Kondziolka D, et al: Who's in favor of translational cell therapy for stroke: STEPS forward please? *Cell Transplant* 18: 691-693, 2009
 - 36) The STEPS Participants. Stem Cell Therapies as an Emerging Paradigm in Stroke (STEPS): bridging basic and clinical science for cellular and neurogenic factor therapy in treating stroke. *Stroke* 40: 510-515, 2009
 - 37) Spees JL, Gregory CA, Singh H, et al: Internalized antigens must be removed to prepare hypoinmuno-
 - nogenic mesenchymal stem cells for cell and gene therapy. *Mol Ther* 9: 747-756, 2004
 - 38) Meuleman N, Tondreau T, Delforge A, et al: Human marrow mesenchymal stem cell culture: serum-free medium allows better expansion than classical alpha-MEM medium. *Eur J Haematol* 76: 309-316, 2006
 - 39) Shahdadfar A, Fronsdal K, Haug T, et al: In vitro expansion of human mesenchymal stem cells: choice of serum is a determinant of cell proliferation, differentiation, gene expression, and transcriptome stability. *Stem Cells* 23: 1357-1366, 2005
 - 40) Lange C, Cakiroglu F, Spiess AN, et al: Accelerated and safe expansion of human mesenchymal stromal cells in animal serum-free medium for transplantation and regenerative medicine. *J Cell Physiol* 213: 18-26, 2007
 - 41) Kondziolka D, Steinberg GK, Wechsler L, et al: Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: a phase 2 randomized trial. *J Neurosurg* 103: 38-45, 2005
 - 42) Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, et al: Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology* 55: 565-569, 2000
 - 43) Savitz SI, Dinsmore J, Wu J, et al: Neurotransplantation of fetal porcine cells in patients with basal ganglia infarcts: a preliminary safety and feasibility study. *Cerebrovasc Dis* 20: 101-107, 2005
 - 44) Darsalia V, Allison SJ, Cusulin C, et al: Cell number and timing of transplantation determine survival of human neural stem cell grafts in stroke-damaged rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, Jun 9, 2010 [Epub ahead of print]
 - 45) Jendelova P, Herynek V, DeCrosos J, et al: Imaging the fate of implanted bone marrow stromal cells labeled with superparamagnetic nanoparticles. *Magn Reson Med* 50: 767-776, 2003
 - 46) Li L, Jiang Q, Ding G, et al: Effects of administration route on migration and distribution of neural progenitor cells transplanted into rats with focal cerebral ischemia, an MRI study. *J Cereb Blood Flow Metab* 30: 653-662, 2010
 - 47) Yasuhara T, Hara K, Maki M, et al: Intravenous grafts recapitulate the neurorestoration afforded by intracerebrally delivered multipotent adult progenitor cells in neonatal hypoxic-ischemic rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 28: 1804-1810, 2008
 - 48) Vaquero J, Zurita M, Oya S, et al: Cell therapy using bone marrow stromal cells in chronic paraplegic rats: systemic or local administration? *Neurosci Lett* 398: 129-134, 2006
 - 49) Hoehn M, Kustermann E, Blunk J, et al: Monitoring of implanted stem cell migration in vivo: a highly resolved in vivo magnetic resonance imaging investigation of experimental stroke in rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 16267-16272, 2002

- 50) Modo M, Mellodew K, Cash D, et al: Mapping transplanted stem cell migration after a stroke: a serial, in vivo magnetic resonance imaging study. *Neuroimage* 21: 311–317, 2004
- 51) de Haro J, Zurita M, Ayllon L, et al: Detection of ¹¹¹In-oxine-labeled bone marrow stromal cells after intravenous or intralesional administration in chronic paraplegic rats. *Neurosci Lett* 377: 7–11, 2005
- 52) Correa P, Felix R, Mendonca ML, et al: Dual-head coincidence gamma camera FDG-PET before and after autologous bone marrow mononuclear cell implantation in ischaemic stroke. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 32: 999, 2005
- 53) Kim DE, Schellingerhout D, Ishii K, et al: Imaging of stem cell recruitment to ischemic infarcts in a murine model. *Stroke* 35: 952–957, 2004
- 54) Sugiyama T, Kuroda S, Osanai T, et al: Near infrared fluorescence labeling allows non-invasive tracking of bone marrow stromal cells transplanted into rat infarct brain. *Neurosurgery* in press.
- 55) Mori K, Iwata J, Miyazaki M, et al: Functional recovery of neuronal activity in rat whisker-barrel cortex sensory pathway from freezing injury after transplantation of adult bone marrow stromal cells. *J Cereb Blood Flow Metab* 25: 887–898, 2005
- 56) Mendonca ML, Freitas GR, Silva SA, et al: Safety of intra-arterial autologous bone marrow mononuclear cell transplantation for acute ischemic stroke. *Arq Bras Cardiol* 86: 52–55, 2006
- 57) Chen L, Huang H, Xi H, et al: Intracranial transplant of olfactory ensheathing cells in children and adolescents with cerebral palsy: a randomized controlled clinical trial. *Cell Transplant* 19: 185–191, 2010

Progress and perspective of bone marrow stromal cell transplantation for ischemic stroke

Satoshi Kuroda, M.D.¹⁾, Hideo Shichinohe, M.D.¹⁾, Taku Sugiyama, M.D.¹⁾, Masaki Ito, M.D.¹⁾,
Masato Kawabori, M.D.¹⁾, Yasuhiro Chiba, M.D.¹⁾, Toshiya Osanai, M.D.¹⁾, Katsuhiko Maruichi, M.D.¹⁾,
Kiyohiro Houkin, M.D.¹⁾ and Yoshinobu Iwasaki, M.D.¹⁾

¹⁾Department of Neurosurgery, Hokkaido University Graduate School of Medicine

(Jpn J Stroke 32: 532–537, 2010)