

## 再生医療の現状と将来：脳血管障害患者に対する細胞治療とその将来

辻 雅弘<sup>1)</sup> 笠原由紀子<sup>2)</sup> 田口 明彦<sup>2)</sup>

**要約** 再生しない臓器と考えられていた中枢神経系においても神経幹細胞が存在し、中枢神経障害後の修復に神経幹細胞が寄与していることが明らかにされつつある。これらの知見に基づき、中枢神経系の再生能力を用いた治療法の開発が進められている。脳梗塞モデル動物を用いた研究においては、細胞治療の安全性と有効性を示す結果が蓄積されてきている。

脳梗塞患者に対する細胞治療が現在国内外で多数進められているが、それらのうち臨床試験が終了し結果が公表されたものは未だ多くない。第III相試験は無く、第II相比較対照試験は小規模なものが2つのみである。一つはヒト奇形癌腫由来の神経幹細胞(hNT2細胞)を脳定位手術により移植する治療であり、もう一つは自己間葉系幹細胞を静脈内投与する治療である。どちらも有害事象は認めなかったが、治療効果は部分的で、未だ有効性を明確に証明できていない。

我々は動物実験により、神経再生・神経機能回復には血管系の再生が必要であること、そのためには造血幹細胞が重要な働きをしていること等を明らかにしてきた。この機序に基づいて、脳梗塞患者に対する自己骨髄単核球の静脈内投与の臨床試験を実施している。

本総説では、前半で脳梗塞に対する国内外の臨床試験を紹介し、次に我々の行っている細胞治療の基礎研究と臨床試験について紹介するとともに、その将来展望に関して概説する。

**Key words** : 再生医療, 神経再生, 血管再生, 脳梗塞

(日老医誌 2012; 49: 528-533)

## はじめに

現在わが国は、急速な高齢化社会を迎えており、それに伴う高齢身体障害者の急激な増加は極めて深刻な社会問題である。高齢者の寝たきり発生原因の40%以上が脳血管障害など中枢神経障害であるとされており、これらの疾患に対する有効な治療法の開発は、高齢化社会において解決しなければならない重要な課題である。

脳梗塞後の機能回復を目標に、無数と言っていいほどの研究が行われている。動物実験では1,000以上の治療薬が有効と報告され、その内の100以上に於いて臨床試験が実施された。しかし組織プラスミノゲン活性化因子(t-PA)以外に明確な有効性を証明できたものは無い<sup>1)</sup>。そのt-PAの治療有効期間は原則、脳梗塞発症後3時間以内に限られる(日本脳卒中学会 脳卒中治療ガイドライン2009)。そのごく短い治療可能期間を過ぎるとリハ

ビリ訓練以外に有効な治療法は無く、そのリハビリも効果は限定的である。

以上の背景から、新規の概念による治療法が望まれ、再生治療/細胞治療が現在注目を集めている。米国国立衛生研究所(NIH)の臨床試験に関するデータベースを見ると、脳梗塞に対する再生治療/細胞治療として2012年5月現在、30件近くの臨床試験が載せられている(<http://clinicaltrials.gov/>)。

## 神経再生研究の歴史

偉大な神経解剖学者Ramón y Cajal(1906年ノーベル賞受賞)が「成体哺乳類の中枢神経系は損傷を受けると二度と再生しない」と述べたように<sup>2)</sup>、長い間、神経細胞は成人脳内では分裂・増殖しないと考えられてきた(Cajalのドグマ)。カナリアは毎春新しい曲を歌うことに気づいたNottebohmは、成体カナリア脳の研究に取り組み、1984年に脳内で神経細胞(グリア細胞でなくニューロン)の新生が起こっていることを報告した<sup>3)</sup>。その後、げっ歯類、サルでの神経新生が証明され、1998年にはErikssonとGageが、ヒト成人脳においてもニューロンの新生が日常的に起きていることをこと証明

Clinical studies in cell therapies for stroke: a review

1) Masahiro Tsuji: 独立行政法人国立循環器病センター 研究所再生医療部

2) Yukiko Kasahara, Akihiko Taguchi: 先端医療振興財団先端医療センター再生医療研究部

した<sup>4)</sup>。以後神経再生およびそれに基づく再生治療の研究が急速に進むことになった。

### 脳梗塞モデル動物での幹細胞移植研究の流れ

当初、幹細胞治療は「失われた神経細胞を移植した幹細胞からの新生ニューロンにより置き換える」という理念で行われてきたが、近年ではそれだけではなく「移植細胞による成長因子分泌、抗炎症作用、免疫調整作用によって、神経保護、神経/血管再生が促される」という理解も加わり<sup>5)</sup>、幹細胞治療の作用機序は複雑であると考えられるようになった。「治療効果に、移植細胞の脳内での長期生着は必要ではない」<sup>6)~8)</sup>との考えも徐々に強くなり、さらに「細胞が脳内へ移行する必要はなく、中枢神経以外の場所で、脳内の成長因子増加を促進することによる」との考えもある<sup>9)10)</sup>。以上のことから細胞移植の効果は、神経細胞再生のみならず、各種機序による神経保護なども含むと考えられ、従って「神経再生治療」というより「細胞治療」と呼ぶ方が適切かもしれない。

### 幹細胞による脳血管障害に対する臨床試験

脳梗塞患者に対する細胞治療の臨床試験が現在国内外で多数進められているが、第III相試験は無く、大多数は対照群を設けない、安全性と実施可能性の検証のための第I相試験である。臨床試験が終了し結果が公表されたものは未だ少なく、我々の知る限り10研究程度である。そのうち第II相比較対照試験は小規模なものが2つあるのみである<sup>5)11)</sup>。それらを以下に簡単に紹介する。

1) 脳血管障害患者に対する再生医療としては、失われた脳機能を神経細胞の再生により取り戻すという理念にのっとり、まず神経幹細胞の臨床試験が開始された。

1-1) 米国ピッツバーグ大学では、1998年よりヒト奇形癌腫由来の神経幹細胞(hNT2細胞)を脳定位手術により移植する治療が行われてきた。第I相<sup>12)</sup>および第II相試験<sup>13)</sup>が既に終了している。第II相試験では脳梗塞発症1年以上経った患者14名に対して免疫抑制剤を使用しながら細胞治療が行われた。細胞移植に伴う副作用は見られなかったものの、統計学的にコントロール群(4名)に比して有意な神経機能の向上は示されていない。

1-2) 米国ハーバード大学においては、1999年より胎児ブタ由来神経幹細胞を使った第I相臨床試験が行われ、5名の慢性期脳梗塞患者の基底核に局所神経幹細胞移植が行われたが、modified Rankin ScaleやBarthel Indexで機能改善を示した患者はおらず、また局所神経幹細胞移植後に脳静脈血栓症を発症した患者が発生したため、臨床試験は中止となっている<sup>14)</sup>。

1-3) ロシアではヒト胎児から得られた幼若神経細胞と造血細胞を脳梗塞発症から4~24カ月経過した患者10名に対し、くも膜下腔へ移植する臨床研究が行われた<sup>15)</sup>。移植後の発熱と髄膜刺激症状以外に有害事象は認めなかったが、治療効果に関しては対照群が後方視的に設定されたこともあり結論は出ていない。

1-4) 中国では胎児神経幹細胞の髄腔内投与が、脳梗塞発症後3カ月から30年経過した患者26名に対して行われた<sup>16)</sup>。重大な有害事象の発生はなく、23名において神経機能の改善を認めたが、理学療法も併用されたことと対照群が設けられていないことにより、治療効果は不明確である。

このように非常に先進的な神経幹細胞移植に関する臨床試験が試みられているものの、十分な機能回復効果を示すことができていない。

また基礎研究においても、幹細胞を未分化な状態で移植すると、生着率は高いがニューロンへの分化効率が低く、増殖能が高いために細胞塊を形成してしまう可能性がある<sup>17)</sup>。一方、ニューロンに分化した状態で移植すると、生着せずに死滅してしまう<sup>18)</sup>。そのため、移植に適した細胞の分化状態の選定が重要である<sup>19)</sup>。以上から、「神経幹細胞の単純な局所移植」という治療戦略は、考えなおす必要があることが示唆される。

2) 次に神経幹細胞以外の幹細胞を用いた臨床試験を紹介する。

2-1) 韓国において、自己間葉系幹細胞(骨髄中などに存在し、骨、軟骨、脂肪に分化可能な細胞であるが、近年では血管内皮細胞や神経細胞にも分化する可能性をもつと報告されている<sup>20)~22)</sup>)を発症から4~9週の間に、5人に2回に分けて静脈内投与する第I/II相臨床試験が行われた。対照群25人と比較したところ、細胞治療群は3カ月と6カ月時点ではBarthel Indexが有意に良好であった。しかし12カ月時点では治療群の方が良いものの統計的有意差は消失していた。有害事象は認めなかった<sup>23)</sup>。

The Cochrane Libraryで検索すると、脳梗塞に対する幹細胞治療は2010年にreviewされている<sup>11)</sup>。「Randomized controlled trialは3つしかなく、その内データが揃っているものは1つしかない」と評価されたが、その唯一の臨床試験がこの試験である。(なお、残りの2つは先に挙げたピッツバーグ大学での2つの臨床試験である。)

この韓国の研究グループは最近同様な臨床試験の長期予後を報告している<sup>24)</sup>。オープンラベルではあるが、自己間葉系幹細胞による治療群16名と対照群36名に無作

為に振り分け、平均2年余り観察した。死亡率とmodified Rankin Scale 0~3の割合が治療群では対照群に比して良好であった(それぞれ $p=0.058, 0.046$ )。

2-2) 中国で、3カ月から7年経過した脳梗塞患者10名に対して、ヒト臍帯血幹細胞の静脈内投与の臨床試験が行われた<sup>25)</sup>。免疫抑制剤は使用されなかったが、免疫/アレルギー反応は認めなかった。3カ月の観察期間において神経機能の改善が見られたが、観察期間の短さと対照群が設けられていないことにより、治療効果ははっきりしない。

2-3) ブラジルでは自己骨髄単核球投与の臨床試験が、中大脳動脈領域の脳梗塞患者6名に対して発症59~82日後に行われた<sup>26)</sup>。カテーテルを用いて中大脳動脈へ細胞が投与されたが、有害事象は認めなかった。細胞投与6カ月後の検討ではNIH Stroke Scale (NIHSS)の改善を認めたが、対照群を設けない試験であった。この試験に際して、投与細胞の一部をTechnetium-99m (<sup>99m</sup>Tc)で標識してその動向が検討された。投与2時間後では全例において梗塞側の脳半球に移植細胞を認めたが、その細胞数は多くはなかった。<sup>99m</sup>Tcの取り込みは肝臓に最も多く(全体の43.6%)、次いで膀胱、肺、腎臓、脾臓、腎臓内の順に減少し、脳はさらに少なく1.7%であった<sup>27)</sup>。投与24時間後でも脳での<sup>99m</sup>Tc取り込みが確認できたのは、6例中2名のみに残った。その後この研究グループは同様の治療を脳梗塞発症3~7日後に早め、20名に対して行った<sup>28)</sup>。細胞投与6カ月後の検討ではNIH Stroke Scaleの改善を認めたが、これも対照群を設けない試験であったため、治療効果判定は今後の比較対照盲検試験が必要である。

2-4) 札幌医科大学において自己骨髄由来間葉系細胞の静脈内投与の臨床試験が、脳梗塞発症36~133日後に12名の患者を対象に実施され、最近その結果が報告された<sup>29)</sup>。軽微な副作用を認めたのみで、その安全性は示された。細胞投与12カ月後の検討ではNIH Stroke Scaleの改善と梗塞巣の縮小を認めたが、この臨床試験も対照群を設けない試験であったため、治療効果判定はできていない。

以上の結果から、細胞治療の安全性は証明されつつあるが、治療効果の証明は未だ未だこれからというのが現状である。また、神経幹細胞以外の細胞にも、単核球(比重の違いを利用した遠心分離法のみで得られる)や間葉系細胞(数週間の培養が必要)などがあり、細胞の由来も骨髄、臍帯血、卵膜、脂肪など様々な選択肢があり、どの細胞種が良いかもこれからの検討課題である。

一方、心疾患での臨床試験の進行は脳血管障害のそれ

より早く、最近、自己骨髄単核球の心筋内投与に関する第II相二重盲検比較対照試験(治療群61名、対照群31名)の結果が報告された<sup>30)</sup>。

## 我々の行っている細胞治療

細胞治療による脳梗塞治療法の開発

1) 脳梗塞モデルを用いた細胞治療効果の検証

脳卒中患者に対する治療法開発において、適切な評価系が存在しないため国内外の研究機関および製薬企業において新規治療薬・治療法開発が著しく停滞してきた。我々は長期生存率がほぼ100%で、脳梗塞サイズ・領域の再現性が極めて高く、かつ作成が比較的容易な脳梗塞モデルマウスを新たに開発し、新規治療法開発のスクリーニングに用いてきた。その結果、①脳梗塞後の造血系幹細胞投与は梗塞周囲における血管再生を促進すること、②脳梗塞後の血管再生は内因性の神経再生を誘導し、かつその生着に必須であること、③造血系幹細胞投与による脳梗塞後の血管再生は、脳神経組織の再生を誘導すること、④脳梗塞後の血管再生による脳組織再生は脳機能の再生をもたらすことを明らかにした<sup>31)32)</sup>。また、幹細胞を骨髄から動員する作用のあるG-CSFの投与においては、骨髄からの顆粒球動員に伴う逆に脳萎縮や神経機能の低下がみられた<sup>33)</sup>。治療時期に関する検討では、脳梗塞後2, 4, 7, 10日および14日後の骨髄単核球投与において、脳梗塞巣の減少および行動の改善を認めたが、脳梗塞後1日および21日後においてはこれらの改善効果を認めなかった<sup>34)</sup>。これらの基礎研究の結果は内因性の血管再生や神経幹細胞の動員など、組織修復機構が活性化されている時期においては細胞移植による効果が期待できるものの、脳梗塞発生直後や脳梗塞慢性期においては治療効果が低いことを示していると考えられている。

さらにカニクイザルを用いた前臨床試験においては、全身麻酔下において血管撮像装置を使用し、超選択的カテーテル法により自己血栓を中大脳動脈遠位部より投与し、PETによる血流評価を併用して中大脳動脈領域の脳梗塞を作成した。脳梗塞作成後7日後に腸骨骨髄より骨髄液の採取(10 ml)を採取し、臨床プロトコールに基づき比重遠心による単核球細胞の精製をおこない、静脈より自己骨髄由来単核球細胞の投与を行った。脳梗塞後の経時的神経学的評価においては、細胞投与後に順調な機能回復が観察され、また細胞投与に伴う神経症状の悪化や脳出血は認められなかった。

2) 脳梗塞患者における神経再生に関する病理的検討  
脳損傷後において、マウスなどげっ歯類だけでなく、

## 試験デザインの概略

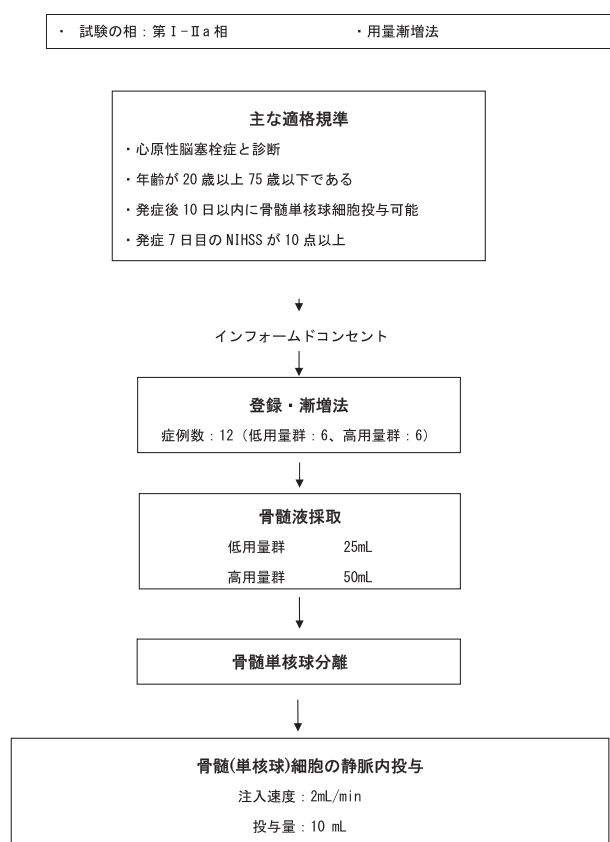


図 脳梗塞患者に対する細胞治療の概略

発症 7～10 日目の重症の心原性脳塞栓症患者を対象にした臨床試験を実施中である。

霊長類においても神経再生機構が活性化されることが報告されてきたが、我々は脳梗塞患者における神経再生に関する病理的検討を行い、神経再生のピークは脳梗塞発症 1～2 週間後であることを明らかにした<sup>35)</sup>。これらの知見は、ヒトにおいてもげっ歯類と同様に脳梗塞急性期—亜急性期において内因性神経幹細胞誘導が起こることを示しており、ヒトにおける血管再生療法の可能性を示す重要な所見であると考えられている。

### 3) 脳梗塞患者に対する自己骨髓幹細胞を用いた細胞治療の臨床試験

以上の結果を基に国立循環器病センターでは“急性期心原性脳塞栓症患者に対する自己骨髓単核球静脈内投与に関する臨床研究”を進めている。安全性および神経機能回復効果を明らかにすることを目的としたものであり、「厚生労働省ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」による認可を経て、臨床試験を実施中である。

臨床試験のプロトコルの概略を図に示す。

重症の心原性脳塞栓症症例で、かつ脳梗塞 1 週間後に

においても神経機能回復が十分でない患者群のみを対象としている。国立循環器病研究センターにおける過去のデータより、これらの適格基準に合致する患者群は、ほとんど内頸動脈閉塞や中大脳動脈起始部の閉塞による脳梗塞であり、その予後は極めて悪く、また脳梗塞に伴う合併症が高頻度で起こることが知られている。

治療プロトコルの概略は、

①脳梗塞発症 7 日～10 日目に、局所麻酔（あるいは全身麻酔）下で骨髓細胞の採取

②国立循環器病研究センターセルプロセッシングセンターにて、比重遠心法を用いて単核球分画の分離

③静脈内に 5 分間で全量投与

という、非常にシンプルな手技で構成されており、本臨床試験において、ある程度以上の有効性を示すことができれば、多くの病院・施設でも実施可能であると考えている。

プライマリエンドポイントは

①脳梗塞 7 日後と比し投与 1 カ月後における NIHSS 悪化症例の頻度（安全性）

②脳梗塞 7 日後と細胞投与 1 カ月後における NIHSS の改善度（有効性）

であり、比較対照群としては国立循環器病研究センター脳卒中内科データベースに含まれる症例で、本臨床試験の適格基準に合致する患者群（合計 59 症例）を Historical Control として用いる。

低用量群は 2010 年 8 月までに終了したが、骨髓採取に関しては 5 症例では局所麻酔下での採取、全失語の 1 症例（6 症例中 2 症例が全失語）において全身麻酔下での採取を行った。第 1 症例、第 2 症例および低用量群終了後に独立症例員会を開催し、それぞれの症例における問題の検討を行い、細胞治療プロトコルや細胞治療に伴う有害事象に関して、特に問題となるものがないとの判断で、現在高用量群のエントリー患者の募集を開始している。また、2011 年より国立循環器病研究センター以外に先端医療センター病院（神戸市）での患者受け入れも開始しており、2012 年 5 月現在、予定されている 12 症例のうち 10 症例で既にエントリーが終了している。

細胞治療の治療効果に関しては、入院時・細胞治療時における神経機能予後の予想よりかなり良好な経過をたどった症例や、細胞治療後に明らかに脳循環・脳代謝が改善した症例などがあるが、統計学的な検討に関しては、全 12 症例終了時に臨床研究グループとは独立した臨床統計家により解析を進めていく予定である。

細胞治療による脳梗塞予防法の開発

脳血管など全身の血管網の恒常性維持には、末梢血中

に存在する骨髄由来造血系幹細胞 (CD34 陽性細胞など) が関与していることが明らかにされている。我々は国立循環器病研究センター、兵庫医科大学、大阪大学、名古屋大学チーム等との共同研究において、末梢血中造血系幹細胞の動態と、患者病態の関連について検討を行ってきた。その結果、①脳梗塞急性期において全身的な組織修復反応として末梢血中へ骨髄由来造血系幹細胞の動員が行われること<sup>36)</sup>、②慢性期における末梢血中造血系幹細胞が脳循環代謝と関連していること<sup>37)</sup>、③造血系幹細胞の減少が認知機能の異常と関連していること<sup>37)</sup>、④前向き検討においても造血系幹細胞の減少が認知機能の経時的な低下と関連していること<sup>38)</sup>、⑤脳血管障害の関与が弱いアルツハイマー型認知症においては末梢血中造血系幹細胞の減少は見られないこと<sup>39)</sup>、さらに⑥脳血管再生が促進されている病態では末梢血中造血系幹細胞の増加がみられること<sup>40)</sup>、また⑦末梢血中造血系幹細胞の増加と高感度CRPの減少・adiponectinの増加が関連していること<sup>41)</sup>、など、末梢血中造血系幹細胞と微小循環障害・再生機転に関する非常に重要な様々な知見を次々に発見・報告している。

また我々は高齢慢性脳血管障害動物モデルにおいて、造血系幹細胞移植 (造血系幹細胞の入れ替え) が脳血管内皮細胞機能を改善させることを明らかにしている<sup>42)</sup>。現在我々は、これらの臨床的観察研究、介入試験および基礎研究による知見を基に、自己造血系幹細胞などを用いた脳血管障害・脳血管性認知症の予防の開発に向けて精力的な研究を行っている。細胞治療による脳梗塞予防法の開発と合わせて、高齢化社会における要介護者の抑制・削減に寄与していきたいと考えている。

### 脳梗塞に対する今後の再生医療

脳梗塞においては、神経細胞だけでなく脳脊髄関門を形成する細胞群などが障害されるため、脳の組織修復および脳神経機能の改善にはこれらの支持細胞群を含む神経組織全体の再構築が望まれている。我々は脳梗塞後の神経再生には血管の再生が必要不可欠であることを明らかにしてきたが、神経幹細胞の生着、成熟のための新生血管床の形成、その血管床への神経幹細胞移植、および薬剤などを用いた移植神経幹細胞の分化、成熟、機能の促進、さらにはこれらの再生機転に対する内因性阻害因子の抑制、など生理的なメカニズムに基づいた治療法の発展・開発を現在進めており、脳梗塞により誘導・動員される神経幹/前駆細胞の同定・分離、またそれらの神経幹/前駆細胞の新生血管床への移植による機能回復治療効果など、血管新生を基盤としたより効果的かつ安

全な治療法の開発にむけた研究を継続している。

### 文 献

- 1) O'Collins VE, Macleod MR, Donnan GA, Horky LL, van der Worp BH, Howells DW: 1,026 experimental treatments in acute stroke. *Ann Neurol* 2006; 59: 467-477.
- 2) Cajal SR: *Degeneration & Regeneration of the Nervous System*, Oxford University Press, 1928.
- 3) Paton JA, Nottebohm FN: Neurons generated in the adult brain are recruited into functional circuits. *Science* 1984; 225: 1046-1048.
- 4) Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, et al: Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 1998; 4: 1313-1317.
- 5) Bersano A, Ballabio E, Lanfranconi S, Boncoraglio GB, Corti S, Locatelli F, et al: Clinical studies in stem cells transplantation for stroke: A review. *Curr Vasc Pharmacol* 2010; 8: 29-34.
- 6) Bliss T, Guzman R, Daadi M, Steinberg GK: Cell transplantation therapy for stroke. *Stroke* 2007; 38: 817-826.
- 7) Hess DC, Borlongan CV: Cell-based therapy in ischemic stroke. *Expert Rev Neurother* 2008; 8: 1193-1201.
- 8) Mendez-Otero R, de Freitas GR, Andre C, de Mendonca ML, Friedrich M, Oliveira-Filho J: Potential roles of bone marrow stem cells in stroke therapy. *Regen Med* 2007; 2: 417-423.
- 9) Borlongan CV, Hadman M, Sanberg CD, Sanberg PR: Central nervous system entry of peripherally injected umbilical cord blood cells is not required for neuroprotection in stroke. *Stroke* 2004; 35: 2385-2389.
- 10) Sarnowska A, Braun H, Sauerzweig S, Reymann KG: The neuroprotective effect of bone marrow stem cells is not dependent on direct cell contact with hypoxic injured tissue. *Exp Neurol* 2009; 215: 317-327.
- 11) Boncoraglio GB, Bersano A, Candelise L, Reynolds BA, Parati EA: Stem cell transplantation for ischemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev* CD007231.
- 12) 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.
- 13) Kondziolka D, Steinberg GK, Wechsler L, Meltzer CC, Elder E, Gebel J, et al: Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: A phase 2 randomized trial. *J Neurosurg* 2005; 103: 38-45.
- 14) Savitz SI, Dinsmore J, Wu J, Henderson GV, Stieg P, Caplan LR: Neurotransplantation of fetal porcine cells in patients with basal ganglia infarcts: A preliminary safety and feasibility study. *Cerebrovasc Dis* 2005; 20: 101-107.
- 15) Rabinovich SS, Seledtsov VI, Banul NV, Poveshchenko OV, Senyukov VV, Astrakov SV, et al: Cell therapy of brain stroke. *Bull Exp Biol Med* 2005; 139: 126-128.
- 16) Yang QC, Zhang XD, Liang CC, Du Y, Li HW: Functional evaluation of stroke patients 6 months after intrathecal injection of neural stem cells. *Chinese J Clin Rehab* 2005; 9: 208-210.
- 17) Lindvall O, Bjorklund A: Cell therapy in parkinson's dis-

- ease. *NeuroRx* 2004; 1: 382-393.
- 18) Fricker-Gates RA, Shin JJ, Tai CC, Catapano LA, Macklis JD: Late-stage immature neocortical neurons reconstruct interhemispheric connections and form synaptic contacts with increased efficiency in adult mouse cortex undergoing targeted neurodegeneration. *J Neurosci* 2002; 22: 4045-4056.
  - 19) Muramatsu D, Sato Y, Hishiyama S, Miyamoto Y, Hisatsune T: Transplantation of gabaergic neurons into adult mouse neocortex. *Exp Neurol* 2005; 194: 1-11.
  - 20) Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, Hazzi C, Stedeford T, Willing A, et al.: Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. *Exp Neurol* 2000; 164: 247-256.
  - 21) Bicknese AR, Goodwin HS, Quinn CO, Henderson VC, Chien SN, Wall DA: Human umbilical cord blood cells can be induced to express markers for neurons and glia. *Cell Transplant* 2002; 11: 261-264.
  - 22) Padovan CS, Jahn K, Birnbaum T, Reich P, Sostak P, Strupp M, et al.: Expression of neuronal markers in differentiated marrow stromal cells and cd133+ stem-like cells. *Cell Transplant* 2003; 12: 839-848.
  - 23) Bang OY, Lee JS, Lee PH, Lee G: Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann Neurol* 2005; 57: 874-882.
  - 24) Lee JS, Hong JM, Moon GJ, Lee PH, Ahn YH, Bang OY: A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke. *Stem Cells* 2010; 28: 1099-1106.
  - 25) Man Y, Li J, Yang B, Ma J: Vein transplantation using human umbilical cord blood stem cells in the treatment of stroke sequela. *Neural Regener Res* 2006; 1: 618-621.
  - 26) Battistella V, de Freitas GR, da Fonseca LM, Mercante D, Gutfilen B, Goldenberg RC, et al.: Safety of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients with nonacute ischemic stroke. *Regen Med* 2011; 6: 45-52.
  - 27) Barbosa da Fonseca LM, Gutfilen B, Rosado de Castro PH, Battistella V, Goldenberg RC, Kasai-Brunswick T, et al.: Migration and homing of bone-marrow mononuclear cells in chronic ischemic stroke after intra-arterial injection. *Exp Neurol* 2010; 221: 122-128.
  - 28) Friedrich MA, Martins MP, Araujo MD, Klamt C, Vedolin L, Garicochea B, et al.: Intra-arterial infusion of autologous bone-marrow mononuclear cells in patients with moderate to severe middle-cerebral-artery acute ischemic stroke. *Cell Transplant* [Epub ahead of print].
  - 29) Honmou O, Houkin K, Matsunaga T, Niitsu Y, Ishiai S, Onodera R, et al.: Intravenous administration of auto serum-expanded autologous mesenchymal stem cells in stroke. *Brain* 2011; 134: 1790-1807.
  - 30) Perin EC, Willerson JT, Pepine CJ, Henry TD, Ellis SG, Zhao DX, et al.: Effect of transendocardial delivery of autologous bone marrow mononuclear cells on functional capacity, left ventricular function, and perfusion in chronic heart failure: The focus-cctrn trial. *JAMA* 2012; 307: 1717-1726.
  - 31) Taguchi A, Soma T, Tanaka H, Kanda T, Nishimura H, Yoshikawa H, et al.: Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J Clin Invest* 2004; 114: 330-338.
  - 32) Nakano Doi A, Nakagomi T, Fujikawa M, Nakagomi N, Kubo S, Lu S, et al.: Bone marrow mononuclear cells promote proliferation of endogenous neural cells through vascular niches after cerebral infarction. *Stem Cells* 2010; 28: 1292-1302.
  - 33) Taguchi A, Wen Z, Myojin K, Yoshihara T, Nakagomi T, Nakayama D, et al.: Granulocyte colony-stimulating factor has a negative effect on stroke outcome in a murine model. *Eur J Neurosci* 2007; 26: 126-133.
  - 34) Uemura M, Kasahara Y, Nagatsuka K, Taguchi A: Cell-based therapy to promote angiogenesis in the brain following ischemic damage. *Current Vascular Pharmacology* 2012; 10: 285-288.
  - 35) Nakayama D, Matsuyama T, Ishibashi-Ueda H, Nakagomi T, Kasahara Y, Hirose H, et al.: Injury-Induced Neural Stem/Progenitor Cells in Post-Stroke Human Cerebral Cortex. *Eur J Neurosci* 2010; 31: 90-98.
  - 36) Taguchi A, Matsuyama T, Moriwaki H, Hayashi T, Hayashida K, Nagatsuka K, et al.: Circulating CD34-positive cells provide an index of cerebrovascular function. *Circulation* 2004; 109: 2972-2975.
  - 37) Taguchi A, Matsuyama T, Nakagomi T, Shimizu Y, Fukunaga R, Tatsumi Y, et al.: Circulating CD34-positive cells provide a marker of vascular risk associated with cognitive impairment. *J Cereb Blood Flow Metab* 2008; 28: 445-449.
  - 38) Taguchi A, Nakagomi N, Matsuyama T, Kikuchi-Taura A, Yoshikawa H, Kasahara Y, et al.: Circulating CD34-positive cells have prognostic value for neurologic function in patients with past cerebral infarction. *J Cereb Blood Flow Metab* 2009; 29: 34-35.
  - 39) Taguchi A: Cell based therapy for patients with vascular dementia. *Psychogeriatrics* 2011; 11: 113-115.
  - 40) Yoshihara T, Taguchi A, Matsuyama T, Shimizu Y, Kikuchi-aura A, Soma T, et al.: Increase in Circulating CD34-Positive Cells in Patients with Angiographic Evidence of Moyamoya-like Vessels. *J Cereb Blood Flow Metab* 2008; 28: 1086-1089.
  - 41) Makino H, Okada S, Nagumo A, Sugisawa T, Miyamoto Y, Kishimoto I, et al.: Pioglitazone treatment stimulates circulating CD34-positive cells in type 2 diabetes patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 81: 327-330.
  - 42) Taguchi A, Zhu P, Cao F, Kikuchi-Taura A, Kasahara Y, Stern DM, et al.: Reduced ischemic brain injury by partial rejuvenation of bone marrow cells in aged rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 2011; 31: 855-867.
-