

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

蛋白質・核酸・酵素 (2000.06) 45巻8号:1309～1317.

損傷神経生存・修復の分子メカニズム

木山博資, 瀬尾寿美子, 涛川一彦

## 損傷神経生存・修復の分子メカニズム

木山博資・瀬尾寿美子・瀧川一彦

損傷神経が生存し再生するためには、数多くの分子群がタイミングよく連携しながら作動しなければならない。最近の研究により、神経再生に関与する分子群が徐々に明らかになり、それらの相関や機能的意義についても解明が進んでいる。このような再生の分子メカニズムに関する最近の研究動向と、筆者らのグループで得られた知見をもとに、神経再生時に繰り広げられるダイナミックな分子動態について紹介する。

**Key words** 【神経細胞死】【軸索再生】【神経回路修復】

はじめに 脳梗塞や脳出血、脊髄損傷などによる中枢神経系の損傷、パーキンソン病や筋萎縮性側索硬化症(ALS)などの神経変性疾患などでは、神経細胞の細胞死により運動機能が失われ、いったん失われた機能の回復はむずかしいとされていた。さまざまな組織・臓器のなかで脳や神経組織の再生が困難とされる理由は、神経細胞の損傷に対する脆弱性と、神経回路網の再構築が要求されることにある。しかし、神経再生をとりまく状況はここ1~2年の間に大きな進展を見せ、再生の可能性に対する期待が大きく膨らんでいる。軸索損傷により細胞死に至るとされた中枢神経は生存能力があり、さらに環境が許せば軸索再生が十分に起こることが証明された<sup>1,2)</sup>。また、神経幹細胞が高齢者の脳内にも存在し、神経細胞に分化しうることも証明され、一躍神経再生が脚光を浴びるに至った<sup>3,4)</sup>。Santiago Ramon y Cajal が1928年に“Degeneration and Regeneration”のなかで、中枢神経の再生の困難さを記載して以来、世紀末に至って長年の呪縛から開放されたといってもよいであろう<sup>5,6)</sup>。

現在よく耳にする神経再生という言葉は曖昧であり、そこにはいくつもの意味合いが含まれている。新たな細胞を増殖・分化させ機能を代行させようとするを神経再生とよぶ場合や、損傷を受けた神経軸索が再び発芽し伸展することを再生とよんでいる場合もある。このあたりを少し整理すると、神経再生には、障害を受けた神経細胞が死へ向かうのを防ぐいわゆる温存再生と、失われた神経細胞を移植などにより補う補充再生があると考えられる(図1)。温存再生とは、神経傷害直後の急性期に神経が細胞死に至らぬよう生存させ、急性期を乗り越えたあとは軸索再生を促進し回路修復を行なうやり方である。一方、補充再生とは細胞死により失われた神経細胞を補うために、他の神経組織や神経幹細胞を移植したり、内因性の神経幹細胞を分化させ補ってやろうとするやり方である。この2つの再生研究は、アプローチの方法は異なるが、いわゆる神経機能修復を目指すという最終到達点は同じであり、両者ともに神経再生を目指すうえで車の両輪となる研究である。本稿では、このうち筆者らが目指している

Hiroshi Kiyama, Sumiko Seo, Kazuhiko Namikawa, 旭川医科大学解剖学第一(〒078-8510 北海道旭川市緑が丘東2条1丁目1-1) [Department of Anatomy, Asahikawa Medical College, Midorigaoka-Higashi, Asahikawa 078-8510, Japan] E-mail: kiyama@asahi-kawa-med.ac.jp

*Molecular Mechanism of Neuronal Survival and Regeneration after Injury*

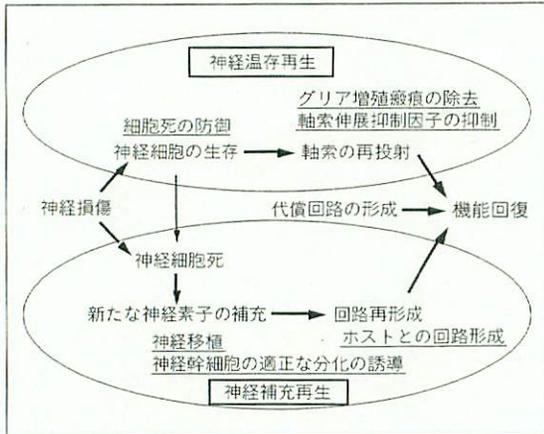


図1 2つの神経再生とその課題  
 神経損傷後の機能回復へのアプローチには2つの手法(温存再生と補充再生)が考えられる。回復をめざすには、いくつかの問題点(下線部分)を乗り越えなければならない。

表1 軸索損傷に対する耐性と脆弱性の変化

	末梢神経系	中枢神経系
幼若ラット	細胞死	生存
成熟ラット	生存	細胞死

中枢神経系と末梢神経系の損傷に対する耐性と脆弱性は幼若ラットと成熟ラットでは逆転する。

温存再生を中心に、神経細胞死の回避と神経突起の伸展による軸索再生促進の分子メカニズムについて最近の知見を紹介する。

### I. 神経細胞の損傷に対する耐性と脆弱性

再生の分子メカニズムについて紹介する前に、損傷神経の再生研究によく用いられる現象について紹介する。Cajalが記述したように中枢神経は傷害に対して脆弱であるが、末梢神経系は耐性を有している<sup>5)</sup>。すなわち、成熟した中枢神経系に損傷を与えると、細胞死に至るまでの時間経過にはばらつきがあるものの、多くの中枢神経細胞はやがて死に至る。一方、末梢の運動や知覚神経などでは、神経傷害に対して運動ニューロンや後根神経節の細胞は生存し再生する。さらに興味深い現象は生後発達過程で、損傷に対する耐性は変化することである。中枢神経と末梢神経の損傷に対する脆弱性と耐性は、生後の幼若な時期では逆転する(表1)。同じ末梢の運動ニューロンの損傷であっても、幼

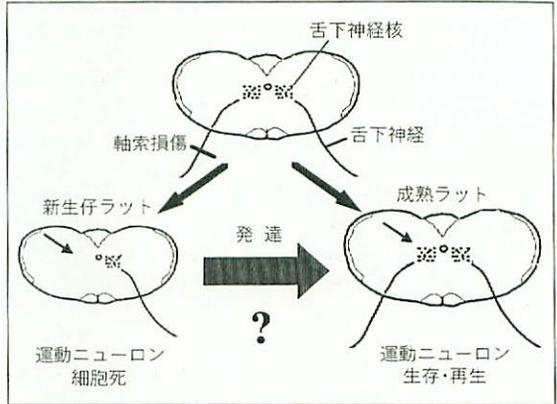


図2 軸索損傷に起因する運動ニューロン細胞死  
 ラットの運動神経(例:舌下神経)に損傷を与えた場合、幼若動物では細胞死が生じるが成熟動物では生存し、軸索の再生が見られる。生後発達過程で生存のための能力(分子メカニズム)を獲得するものと考えられる。

若動物の場合、細胞死に至る。また、幼若動物の中枢神経系の場合は成熟動物に比べ再生がより容易に生じる。同じ神経系組織でありながら、障害に対する耐性がこのように異なるのはなぜなのであろうか。この耐性の違いを生み出している分子機序の解明こそが、中枢神経の再生を目指すうえで重要な手がかりを提供してくれると思われる(図2)。

### II. 運動ニューロンの再生現象

運動ニューロンの細胞体は脊髄や脳の中にあり、そこから伸びた軸索が、脳や脊髄を離れ末梢の骨格筋へ投射し、筋の運動を制御する。その長い軸索に傷害(圧迫、挫滅、切断)などが加えられた場合、軸索の傷害部位から遠位端はただちに变性(Waller 变性)が生じるが、近位端は变性を免れる。变性を起こした遠位の軸索の残骸はマクロファージが食し取り除く。このとき、遠位のシュワン細胞は生存しており、軸索再生を誘導する因子の放出や再生軸索の足場を提供する。損傷後かなり早期から、軸索損傷部位では損傷近位端(近傍のランピエ絞輪)から新たな軸索側枝が発芽し、損傷遠位端に存在するシュワン細胞の基底膜を足場に再び突起を伸展していく。一方、軸索傷害後、細胞体の近傍(脳や脊髄内)ではグリアのダイナミックな応答が展開される。ミクログリアやアストロサイトは損傷部位から離れ中枢に存在しており、直接軸索損傷の

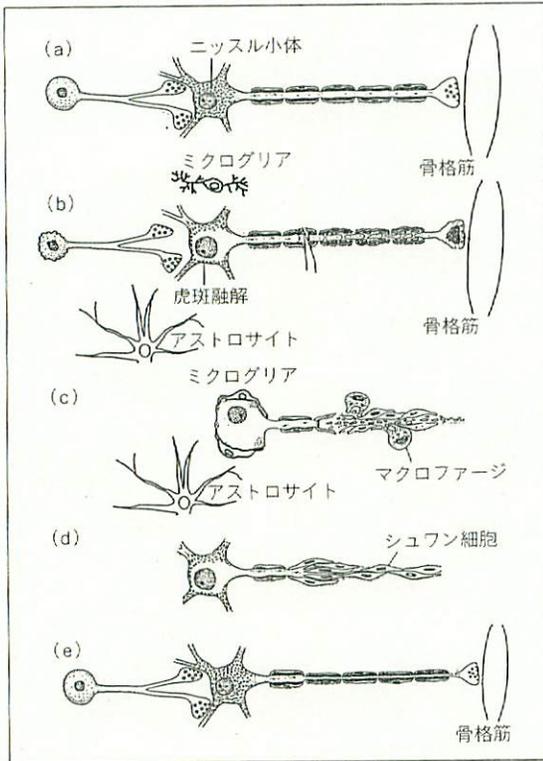


図3 軸索損傷運動ニューロンの再生過程<sup>7)</sup>  
 (a) 正常運動ニューロン, (b) 軸索傷害による遠位端の変性, 虎斑融解, シナプス消退, (c) 再生軸索芽の伸展, マクロファージによる変性軸索の除去, ミクログリアの損傷神経細胞体への接着, アストロサイトの活性化, (d) 再生軸索のシュワン細胞に沿った伸展, (e) 軸索再生の完了と上位ニューロンからの入力(シナプス)の回復。(本文参照)

情報が伝わらない。したがって、おそらく損傷運動神経ニューロンから何らかの液性因子などにより損傷情報が伝わると考えられる。傷害後、まず特徴的応答を示すのがミクログリアである。通常、脳の中では短い多くの突起を有する静止型のミクログリアが多数存在するが、軸索傷害後は活性化となりアメーバ状になって損傷運動ニューロンの細胞体を包み込むようになる。ラット舌下神経損傷の場合、損傷後数時間以内にはミクログリアの移動が見られ、3日後には損傷神経細胞の周囲に移動し、細胞体を包み込む。運動ニューロン細胞体の周囲は、通常上位ニューロンや介在性ニューロンとのシナプスが形成されており、その他の領域はアストロサイトの突起によってすき間なく覆われている。シナプスやアストロサイトの間隙にミクログリアが突起を進入させ、細胞体を包み込んでいく。神経細胞が

生存する場合には、ミクログリアは神経細胞体を包み込むが、貪食は行なわれない。軸索損傷後5日~1週間後に、今度はアストロサイトにおいて、著しいglial fibrillary acidic protein (GFAP) の発現上昇を伴った突起伸展が観察される。このときアストロサイトは活性化するが、分裂増殖を伴わない。しばらくして再生軸索は標的の骨格筋へ至り筋終板を形成し、アストロサイトの活性化も徐々に鎮静化へと向かう。細胞体の側もやがて上位ニューロンとのシナプスを回復する(図3)<sup>8)</sup>。

### III. 神経損傷後のニューロンとグリアの相互作用

前項で述べたように、軸索損傷後にグリアはダイナミックな動きを見せるが、このときニューロンとグリアの間で情報のやりとりに使われる分子群に関してはまだ不明の点が多い。軸索損傷時に作動するおもな分子群には、神経栄養因子、サイトカインに属するものが多い。この分野の研究で混乱をひき起こしている一つに、細胞株や初期培養のグリアや神経細胞は生体にあるときは様相が異なる点があげられる。いったん、生体から切り離され培養系へと移された細胞は、異なる分子を新たに発現したり、その形態が変化する。このため、培養系で得られる知見と生体で得られる知見には一部相違が生じている。

#### 1. ニューロンからグリアへの情報伝達

損傷を受けた運動ニューロンは周辺のグリアへ向けSOS信号とでもいうべきシグナルを送る(図4)。シュワン細胞へ向けた情報伝達には、シュワン細胞の増殖・活性化を促す分子がある。ニューロンからシュワン細胞へ向けて放出される代表的な分子にneuregulinファミリーがある<sup>9)</sup>。このファミリー分子の発現は正常な運動ニューロンでも比較的高いが、神経傷害時には発現の減少が見られる。このことから神経傷害時にはneuregulinファミリーではなく他の因子の関与が考えられてきた。最近になって、膵臓で発見されたReg-2が神経傷害を受けた運動ニューロンで新たに発現すること、またReg-2はシュワン細胞を増殖させることが明らかにされた<sup>10)</sup>。したがって、Reg-2は損傷を受けたニューロンで新たに産生され、シュワン細胞に向けて放出され、シュワン細胞の増殖シグナルを入れる分子の一

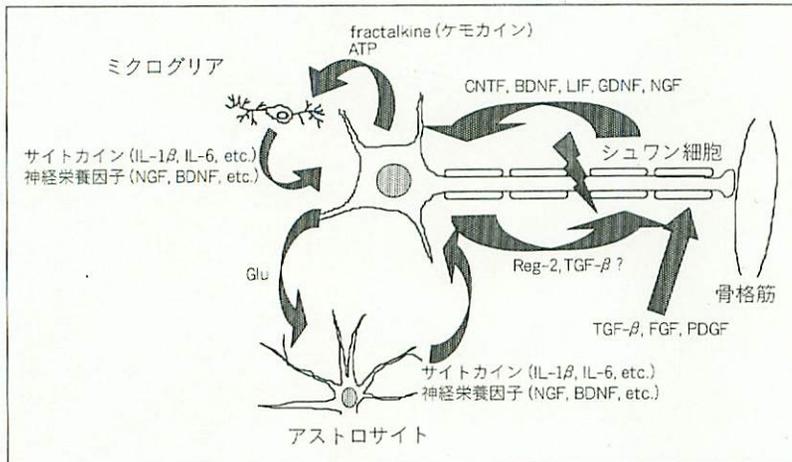


図4 軸索傷害後に見られるニューロンとグリアの応答

軸索損傷などの障害に応答して、ニューロンからグリアへ向けてのシグナルが発信され、それに応答してグリアからは、ニューロンへ向けてのシグナルが発信される。

つと考えられている。このほか、 $TGF-\beta$ もニューロンより分泌され、シュワン細胞に対して同様の活性があると考えられている。損傷ニューロンからアストロサイトやミクログリアへの情報伝達因子についてもまだ明確になっていないが、損傷運動ニューロンから放出されるグルタミン酸がアストロサイトに存在するグルタミン酸受容体を介して情報を伝えることが示されている<sup>11)</sup>。また、ミクログリアについては、ミクログリアがATP受容体(P2Y)を有すること、ミクログリアはATPに応答してラッピングを呈し生体内での形態変化と類似した様相を示すことなどから、ATPはニューロンからミクログリアへの情報伝達因子としての可能性が高い<sup>12,13)</sup>。このほか、神経損傷後には運動ニューロンにおいてケモカインの一種であるfractalkineの発現が新たに生じる。一方、この受容体の発現も同時にミクログリアで見られることから、fractalkineがミクログリアの誘導因子である可能性がある。

## 2. グリアから損傷ニューロンへの因子

損傷を受けたニューロンに対して、ミクログリアやアストロサイトは各種サイトカインや神経栄養因子を放出する(図4)。培養系を用いた研究ではさまざまなサイトカインや神経栄養因子の存在が報告されているが、このうちIL-6やIL-1 $\beta$ などのサイトカイン、神経成長因子(NGF)や脳由来神経栄養因子(BDNF)などの栄養因子がアストロサイトやミクログリアから放

出されることが明らかになっている<sup>14,15)</sup>。一方、神経損傷後のシュワン細胞は多彩な神経栄養因子やサイトカインの供給源となる。glial cell line derived neurotrophic factor(GDNF)、BDNF、NGF、NT-3をはじめとした神経栄養因子、白血病阻害因子(LIF)、IL-6などのサイトカインの産生が促進することが知られている。例外的な動態を示すものに毛様体神経栄養因子(CNTF)がある。CNTFは正常なシュワン細胞内に蓄えられているが、神経損傷後

はシュワン細胞内でのmRNA量が著しく低下する。CNTFは傷害直後に傷害を受けたシュワン細胞から蓄積されたものが放出され、損傷直後の神経生存に作用すると考えられる<sup>16)</sup>。

## IV. 生存のための細胞内応答

### 1. 関連分子の探索

前節まで、おもに神経損傷後に運動ニューロンでひき起こされる現象について紹介してきた。ここからは、より分子レベルでの現象とその機能的意義について紹介する。

神経傷害に伴ってひき起こされる細胞レベルでのさまざまな現象には、当然それをひき起こすための分子レベルでの変化が生じているはずである。この分子のなかには既知の分子もあれば未知の分子もあるはずである。このような神経損傷関連遺伝子をスクリーニングする方法として、筆者らは2つのアプローチの方法をとった。1つは1992年ごろに紹介されたディファレンシャルディスプレイ(DD)法であり、もう1つは損傷運動神経核を用いたcDNAライブラリーの作成によるランダムクローニングの手法である。筆者らは片側の舌下神経傷害後に損傷側と健常側の舌下神経核を顕微鏡下で切り出し、そこから回収したRNAをもとに、DD法を用いて神経損傷後に発現が変化する分子のスクリーニングを行なった<sup>17-19)</sup>。

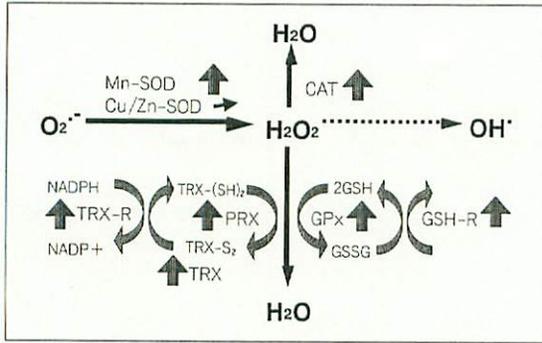


図 5 スーパーオキシドの消去系

障害時に発生したスーパーオキシドをH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>に変換するための酵素群が作動する。また、グルタチオン系やチオレドキシンの酵素群は直接酸化蛋白質の還元にも作用する。SOD:スーパーオキシドジスムターゼ、CAT:カタラーゼ、GPx:グルタチオンペルオキシダーゼ、PRX:peroxiredoxin、TRX:チオレドキシニン、TRX-R:チオレドキシニンレダクターゼ、GSH:グルタチオン、GSH-R:グルタチオンレダクターゼ。

DD法にて遺伝子断片を回収しcDNAの全長を得るために、軸索損傷舌下神経核のcDNAライブラリーを作成した。本ライブラリーを用いてランダムにクローニングすることにより、きわめて効率よく神経損傷関連遺伝子を得ることができると明らかになった<sup>20,21)</sup>。このような遺伝子探索のツールを作成することにより、多くの既知または未知の神経損傷関連遺伝子を回収することができた。最近ではDNAチップやアレイを用いて同様な試みが進行中であり、筆者らの行ったcDNAプロファイリングから、より詳細なプロファイルが近い将来明らかになると思われる。

## 2. スーパーオキシドに対する防御機構の作動

筆者らが行った遺伝子探索により、神経損傷後にはスーパーオキシドの消去にかかわる遺伝子群の発現が促進していることが明らかになった。スーパーオキシドを過酸化水素にするスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)にはCu/Zn-SODとMn-SODが存在するが、このうち、Mn-SODの発現の著しい上昇が認められた。さらに過酸化水素を水にするグルタチオンペルオキシダーゼ、(GPx)、カタラーゼ(CAT)の発現促進も検出された(図5)。神経傷害後には、これらの酵素群の発現がいつせいに促進することで、軸索傷害後のスーパーオキシドの発生に対する防御機構として作動しているものと考えられる。これらの分子の遺伝子発現を

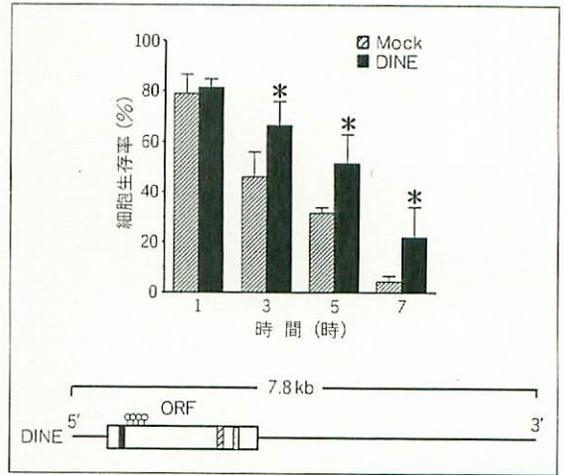


図 6 DINEの構造とスーパーオキシド消去系の賦活による細胞死防御

DINEは膜1回貫通型(上図の黒塗り部分)のメタロプロテアーゼで、活性部位(斜線)を細胞外にもつ。COS細胞に発現させると、C2-セラミド刺激による細胞死を抑制する。(文献22より)

制御している分子の一つとして、筆者らがDD法により新たに同定した damage induced neuronal endopeptidase (DINE)がある<sup>22)</sup>。

DINEは神経系にのみ発現するメタロプロテアーゼであり、細胞膜上に存在し活性部位は細胞外にある。さまざまな神経軸索損傷に対して応答し、発現が著しく亢進する分子である(図6)。いまのところ、特異的な基質については明らかでないが、DINEを発現させることにより、Mn-SOD、Cu/Zn-SOD、GPxのmRNA発現が促進するとともに、SOD活性が上昇する。DINEは神経損傷に反応して発現するので、これによりMn-SODなどの発現を促進するものと考えられる。また、DINEをCOS細胞に発現させることにより、スーパーオキシドによるCOS細胞の細胞死を部分的に抑制することもできた。DINEによるSODをはじめとしたスーパーオキシドのスカベンジャー酵素群の発現制御は部分的であるので、これ以外の制御メカニズムも存在すると考えられるが、DINEがその一端を担っているのは間違いないと考えられる。

## 3. グルタチオン系、チオレドキシニン系による還元修復機構の作動

神経細胞は、さまざまな損傷を受けることによって酸化ストレスを受ける。これにより、細胞内の機能

蛋白質が酸化し本来の機能を発揮できなくなる。これに対して、神経細胞内では、酸化蛋白質を還元し機能を修復するメカニズムが作動する。筆者らの遺伝子探索の系で同定できたのは、グルタチオン (GSH) の系とチオレドキシン (TRX) の系に属する分子群である<sup>23)</sup>。GSH の系ではグルタチオンレダクターゼ (GSH-R) が、TRX の系では、TRX、チオレドキシンレダクターゼ (TRX-R), peroxiredoxin (PRX) があり、いずれの発現も上昇する。

#### 4. グルタミン酸毒性に対する防御機構

ほとんどの神経細胞は NMDA 受容体などのグルタミン酸受容体を発現している。そのため、シナプス間隙などでのグルタミン酸濃度の上昇は、神経細胞の過興奮をひき起こし、細胞に致命的な傷害を与える。いわゆるグルタミン酸毒性である。通常、細胞外のグルタミン酸濃度はかなり低く抑えられているが、これは神経細胞やアストロサイトなどのグリアが有するグルタミン酸トランスポーターによるグルタミン酸の積極的な取り込みによる。神経細胞には神経細胞型のグルタミン酸トランスポーターである EAAT3 (EAAC1) が、またアストロサイトには EAAT2 や GLAST とよばれるグルタミン酸トランスポーターが発現している。遺伝子探索では、最初に EAAT3 (EAAC1) の発現が上昇していることが同定された<sup>17)</sup>。さらに DD 法によってグルタミン合成酵素 (GS) の発現上昇も検出された<sup>19)</sup>。GS は通常アストロサイトやオリゴデンドロサイトに発現しており、細胞毒性のあるグルタミン酸をグルタミンに変換している。さらにこのとき、アンモニア分子が取り込まれるため、グルタミン酸とアンモニアという2つの毒性分子を処理することになる。GS は通常ニューロンには存在しないため、このような解毒メカニズムは通常グリアに任せられている。しかし、神経傷害後には、この GS が損傷ニューロンにおいても発現してくる。このことから、神経傷害時には、グルタミン酸をグルタミンに変換させる機構がニューロンにおいても作動可能となる。培養細胞を用いた実験では、GS の発現によりニューロンにおける EAAC1 を介してのグルタミン酸の取り込み速度が上昇することが示された<sup>19)</sup>。

以上をまとめると、損傷を受けた運動ニューロンでは、細胞外で上昇したグルタミン酸濃度を低下させる

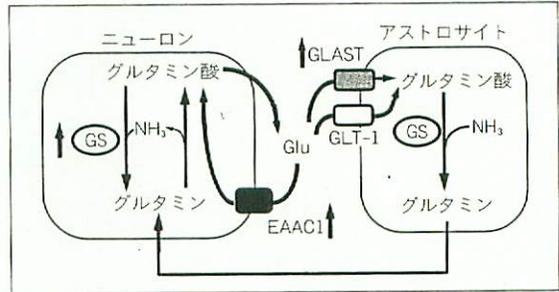


図 7 神経傷害後のグルタミン酸毒性の低下機構

軸索損傷後、細胞外のグルタミン酸は EAAC1 (EAAT3) や GLT-1, GLAST などのグルタミン酸トランスポーターにより速やかに取り込まれる。とくに EAAC1 や GLAST は損傷にตอบสนองして発現が誘導される。また、通常アストロサイトやオリゴデンドロサイトに発現しているグルタミン合成酵素 (GS) は、損傷ニューロンにおいても発現し、グルタミン酸の取り込みの効率を促進させる。(文献 19 より改変)

ため、EAAT3 や EAAT4 などのグルタミン酸トランスポーターを発現させると同時に、取り込んだグルタミン酸をニューロン内で処理するための GS の発現を開始していることが明らかになった (図 7)。これらの分子群の協調発現により、損傷運動ニューロンではグルタミン酸毒性に対処していると考えられる。

#### 5. 細胞内情報伝達系の再構築

神経損傷後には、シュワン細胞やアストロサイトなどから多くの神経栄養因子やサイトカインが放出され、それらが細胞生存に働くことはよく知られている事実であるが、これらの救出因子が効率よく作動するため、受け手の側の損傷運動ニューロンにおいてダイナミックな発現分子の変動が見られる。運動神経の場合には、GDNF, BDNF, LIF などの受容体である GRF $\alpha$ 1, c-Ret, TrkB, LIFR などが軒並み発現量が増加する。運動ニューロン以外の神経系では、NGF の受容体である TrkA などの発現の上昇も確認されている。これらの受容体の多くは細胞内にチロシンキナーゼドメインをもち、Ras-MAP キナーゼ系や PI3K を介する系へとシグナルを伝える。たいへん興味深いことに、筆者らの遺伝子探索の結果、Ras-MAP キナーゼ系と PI3K-Akt 系に属する多くの細胞内情報伝達分子が検出された。受容体とのアダプター分子である Shc, Raf-1 の活性化に作用する 14-3-3, MAP キナーゼキナーゼの MEK1, ERK1, さらに PI3K, Akt1, Akt1 によりリン酸化を

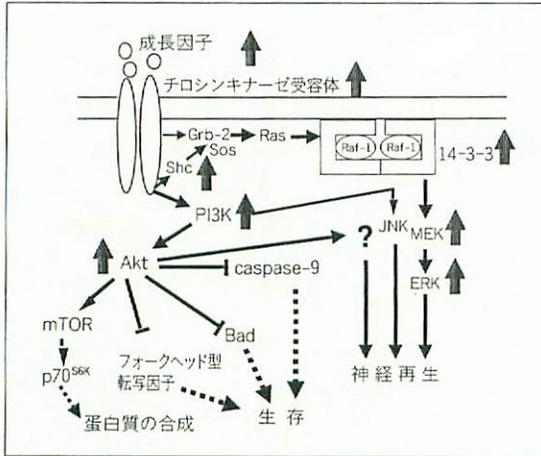


図 8 神経損傷後の細胞内情報伝達系の変化  
 神経再生時にはグリアや標的組織より神経栄養因子が放出されるほか、神経細胞上の栄養因子受容体の発現も増加する。さらに、これら受容体の下流に位置する多くの細胞内情報伝達系分子群の発現もいっせいに促進する（上向きの矢印を付した分子はすべて神経再生時に発現が亢進する）。運動神経の場合、Ras から ERK に向かう系は神経軸索伸長に、PI3K から Akt へ向かう系は神経細胞の生存に作用していると考えられる。また、Akt を介して神経軸索伸長に作用する系の存在も示唆されている。

受けた分子に結合する 14-3-3 などである (図 8)<sup>24-26)</sup>。このことは、神経傷害時には、これらの経路に属する分子群の発現がいっせいに促進し、神経栄養因子やサイトカインのシグナルを促進していると考えられる。これに対して、カルモジュリンキナーゼ系などの Ca 依存性の情報伝達系の分子群には大きな変動は見られない。むしろホスホリパーゼ Cβ の系やプロテインキナーゼ A の触媒サブユニットの発現量は低下する。したがって、神経傷害後にはある特定の細胞内情報伝達系が促進されるように必要構成分子群の再構築が行なわれていると考えられる。

それでは、この 2 つの細胞内情報伝達系にはいかなる機能の違いがあるのでしょうか。この問題を解くために、筆者らはアデノウイルスベクターを用いて、Ras-MAPK (ERK) 系に属する MEK1 と PI3K の下流にある Akt の活性型または不活性型変異を有する遺伝子を舌下神経運動ニューロンに導入し、損傷に起因する細胞死を防御できるかどうかについて検討した。その結果、Ras-MAP キナーゼ系を活性化しても軸索損傷に起因する細胞死を防御できないが、PI3K-Akt 系を活性化させた場合には細胞死を防御できることが明らか

となった。このことから、細胞死防御という観点では、少なくともラット運動神経の系では PI3K-Akt 系が重要であることが確かめられた<sup>26)</sup>。それでは ERK 系の役割は何であろうか。これについては今後の課題であるが、他の神経損傷の実験系では、Akt 系よりは ERK 系のほうが生存に働くという結果もあり、神経細胞の種類により異なることも考えられる。

### V. 軸索再生

神経傷害に耐えて生存した細胞は、機能回復のため新たな軸索を伸展し標的細胞との線維連絡を回復しなければならない。軸索が伸展するという現象は、発生の過程で見られる現象と同じであると考えられがちであるが、発生と再生には大きな違いがある。損傷ニューロンをとりまく環境がまったく異なる。とくに中枢神経の再生を考えるときには、損傷部位で生じるグリア（アストロサイトやミクログリア）の増殖によるグリア瘢痕の形成、オリゴデンドロサイトからの軸索伸展阻害因子の分泌など、発生の時点ではまったくなかった障害が存在する。これらの障害の克服とニューロン自身の再生突起の伸展能力が同時に発揮されることが重要である。Davies らは、グリアの増殖を極力抑制した条件下で、後根神経節の細胞を脳梁の線維束内にマイクロトランスプラントしたところ、オリゴが豊富な中枢神経系線維束内で軸索が伸展しうることを示し、オリゴデンドロサイト由来の因子による阻害よりは、炎症応答などにより惹起されるアストロサイトによるグリア瘢痕の形成が中枢神経系の軸索伸展の阻害の主要な原因であるとした<sup>27,28)</sup>。

一方、1985 年に Schwab らが提唱したオリゴデンドロサイト由来の再生突起伸展抑制因子の遺伝子が、最近ついに Schwab らによりクローニングされた<sup>29,30)</sup>。その存在を示してから実に 15 年後のことである。Schwab らは中枢神経が軸索再生しないのは、それを抑制する物質が中枢に存在するオリゴデンドロサイトから分泌されるためであると考え、その蛋白質を精製し neurite growth inhibitor (NI-250) と名づけた。また、その抗体は IN-1 と名づけられ中和抗体として広く用いられてきた。本遺伝子は *nogo* と命名され、スプライシングにより Nogo-A、-B、-C の 3 つのタイプの分子が翻訳される。Nogo はオリゴデンドロサイトの細胞内に存在

し、オリゴデンドロサイト損傷時（軸索損傷時）に放出され、再生軸索の伸展を阻害するものと考えられている。このことは、先に述べた Davies らの考えと矛盾しない。すなわち、Nogo は細胞が損傷を受けてはじめて分泌されると考えれば、損傷のほとんど見られないマイクロトランスプラントでは Nogo が作動していなかったと考えればよいからである。いずれにしろ、これら2つの軸索伸展阻害要因の排除は、再生を考えていくうえできわめて重要な要素である。

神経自身の突起伸展については、発生学的なアプローチから発生時の軸索伸展を誘導・促進する分子が、成熟動物の再生時にも働くとの考えから、多くのアプローチがなされている。古くは GAP-43 や SCG10 などのようないわゆる neurite growth associate proteins (nGAPs) に属する分子群をはじめ、さまざまな分子群が突起伸展活性があると報告されている。最近の筆者らの研究でも、Rho ファミリーに属する分子で TC10 とよばれる分子が、他の Rho ファミリー分子よりは運動ニューロンの軸索再生により特異的に発現していることが明らかになった<sup>31)</sup>。この分子は損傷神経核特異的な cDNA ライブラリーのスクリーニングから得られたものである。TC10 は胎仔から成熟動物に至るまで、他の Rho ファミリー (RhoA, Rac, Cdc42) に比べて神経系での発現が低いが、軸索損傷後にはファミリーのなかでもっとも著しく応答する。また後根神経節に TC10 を発現させコロゲル中で培養すると、明らかな突起伸展が見られる。このことは、発生の過程で突起伸展に関与する分子とは別の損傷後の再生に特異的に働く突起伸展因子が存在することを示唆している。また、細胞生存活性で注目されている Akt にも軸索伸展活性があることが明らかになった<sup>26)</sup>。PC12 を NGF 非存在下で培養し、Akt 遺伝子を導入すると、突起の伸展が見られる (図 9)。またアデノウイルスを用いて、ラットの障害舌下神経核に Akt の遺伝子導入を行なうと、明らかに再生軸索の標的骨格筋への再投射が促進されることが証明された。

このように軸索伸展に直接かかわる分子のほかに、軸索伸展をより活発に行なうためのメカニズムも存在する。DD 法のスクリーニングにより、軸索輸送のモーター分子であるキネシンやダイニンなど、順行および逆行性に働く分子群の発現が促進される<sup>32)</sup>。軸索傷害後には神経栄養因子が軸索端で取り込まれ逆行性に輸送さ

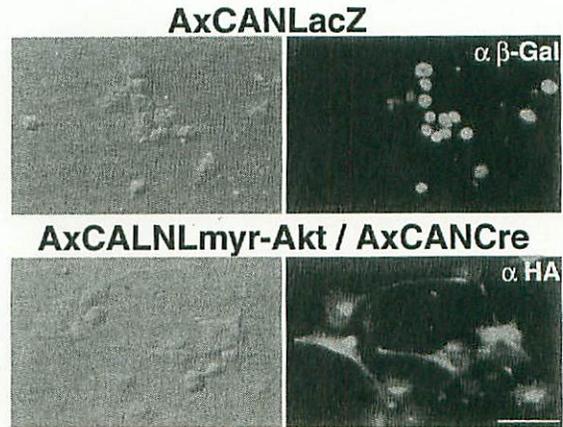


図 9 Akt による突起伸展効果

PC12 細胞において、NGF 非存在下で Akt を発現させると、神経突起の伸展が認められる。対照の LacZ を発現させたものではそのような応答は見られない。(文献 26 より)

れるが、軸索障害後にはこの輸送スピードが促進されることが示された。逆行性モーター分子の発現増加がこれに貢献していると考えられる。また、再生には膜の構成成分を供給するため、順行性に膜小胞が活発に輸送されることも知られている。これにも順行性のモーター分子の発現誘導が関与していると考えられる。

**おわりに** 軸索に損傷を受けた神経細胞が生存し軸索を伸ばしていく過程には、上述のようにきわめて多様な分子群が巧妙な発現制御を受けている。本稿ではふれなかったが、NMDA などのグルタミン酸受容体やアセチルコリンの合成酵素、神経伝達物質の分泌にかかわるような分子群は、発現が逆に抑制される。通常の神経機能を発揮するのに不可欠な分子群の発現を抑え、生き延びるために必要な分子群を発現させる、いわば限られたエネルギーの節約を巧巧に行なっている神経細胞の姿が見えてくる。これらの多数の分子群の発現を統括しているメカニズムの解明が、次の課題として今後の解析が進むと思われる。また、このような分子基盤の解明から何らかの治療法の開発へとつなぐ研究も期待される。

## 文 献

- 1) Richardson, P. M., Mcguinness, U. M., Aguayo, A.

- J. : *Nature*, 284, 264-265 (1980)
- 2) Iwashita, T., Kawaguchi, S., Murata, M. : *Nature*, 367, 167-170 (1994)
  - 3) Eriksson, P. S., Perfilieva, E., Bjork-Eriksson, T., Alborn, A. M., Nordborg, C., Peterson, D. A., Gage, F. H. : *Nature Med.*, 4, 1313-1317 (1998)
  - 4) Gage, F. H. : *Curr. Opin. Neurobiol.*, 8, 671-676 (1998)
  - 5) Ramon y Cajal, S. : *in Degeneration and Regeneration in the nervous system*, pp. 482-516, Hafner, New York (1928)
  - 6) 川口三郎 : 脳の科学, 20, 1165-1173 (1998)
  - 7) 木山博資他 : 脳の科学, 20, 1205-1211 (1998)
  - 8) 木山博資 : 脳神経科学イラストレイティッド(森寿他編), 羊土社, 印刷中 (2000)
  - 9) Gassmann, M., Lemke, G. : *Curr. Opin. Neurobiol.*, 7, 87-92 (1997)
  - 10) Livesey, F. J., O'Brien, J. A., Li, M., Smith, A. G., Murphy, L. J., Hunt, S. P. : *Nature*, 390, 614-618 (1997)
  - 11) Kim, W. T., Rioult, M. G., Cornell-Bell, A. H. : *Glia*, 11, 173-184 (1994)
  - 12) Inoue, K., Nakajima, K., Morimoto, T., Kikuchi, Y., Koizumi, S., Illes, P., Kohsaka, S. : *Brit. J. Pharmacol.*, 123, 1304-1310 (1998)
  - 13) Di Virgilio, F. et al. : *Prog. Brain Res.*, 120, 355-368 (1999)
  - 14) 中嶋一行・高坂新一 : 蛋白質 核酸 酵素, 42, 489-495 (1997)
  - 15) 澤田誠 : 蛋白質 核酸 酵素, 42, 504-511 (1997)
  - 16) 松岡一郎 : 蛋白質 核酸 酵素, 42, 496-503 (1997)
  - 17) Kiryu, S., Yao, G. L., Morita, N., Kato, H., Kiyama, H. : *J. Neurosci.*, 15, 7872-7878 (1995)
  - 18) Morita, N., Kiryu, S., Kiyama, H. : *J. Neurosci.*, 16, 5961-5966 (1996)
  - 19) Toki, H., Namikawa, K., Su, Q., Kiryu-Seo, S., Sato, K., Kiyama, H. : *J. Neurochem.*, 71, 913-919 (1998)
  - 20) Nakagomi, S., Kiryu-Seo, S., Kimoto, M., Emson, P. C., Kiyama, H. : *Eur. J. Neurosci.*, 11, 2160-2166 (1999)
  - 21) Tanabe, K., Nakagomi, S., Kiryu-Seo, S., Namikawa, K., Imai, Y., Ochi, T., Tohyama, M., Kiyama, H. : *Mol. Brain Res.*, 64, 34-40 (1999)
  - 22) Kiryu-Seo, S., Sasaki, M., Yokohama, H., Nakagomi, S., Hirayama, T., Aoki, S., Wada, K., Kiyama, H. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 4345-4350 (2000)
  - 23) Mansur, K., Iwahashi, Y., Kiryu-Seo, S., Su, Q., Namikawa, K., Yodoi, J., Kiyama, H. : *Mol. Brain Res.*, 62, 86-91 (1998)
  - 24) Tanabe, T., Kiryu-Seo, S., Nakamura, T., Mori, N., Tsujino, H., Ochi, T., Kiyama, H. : *Mol. Brain Res.*, 53, 292-297 (1998)
  - 25) Namikawa, K., Su, Q., Kiryu, S., Kiyama, H. : *Mol. Brain Res.*, 55, 315-320 (1998)
  - 26) Namikawa, K., Honma, M., Abe, K., Takeda, M., Mansur, K., Obata, T., Miwa, A., Okado, H., Kiyama, H. : *J. Neurosci.*, 20, 2875-2886 (2000)
  - 27) Davies, S. J., Fitch, M. T., Memberg, S. P., Hall, A. K., Raisman, G., Silver, J. : *Nature*, 390, 680-683 (1997)
  - 28) Davies, S. J., Goucher, D. R., Doller, C., Silver, J. : *J. Neurosci.*, 19, 5810-5822 (1999)
  - 29) Chen, M. S., Huber, A. B., van der Haar, M. E., Frank, M., Schnell, L., Spillmann, A. A., Christ, F., Schwab, M. E. : *Nature*, 403, 434-439 (2000)
  - 30) GrandPre, T., Nakamura, F., Vartanian, T., Strittmatter, S. M. : *Nature*, 403, 439-444 (2000)
  - 31) Tanabe, K., Tachibana, T., Yamashita, T., Che, Y. H., Yoneda, Y., Ochi, T., Tohyama, M., Kiyama, H. : *J. Neurosci.*, 20(11), in press (2000)
  - 32) Su, Q. N., Namikawa, K., Toki, H., Kiyama, H. : *Eur. J. Neurosci.*, 9, 1542-1547 (1997)

木山博資

略歴：1984年 大阪大学大学院医科学修士を修了。博士課程中退後、大阪大学医学部助手、助教授を経て、1997年より現所属(教授)。研究テーマ：神経細胞の細胞死防衛・軸索再生メカニズム。関心事：移植による再生とは異なる“温存”再生の重要性。

お知らせ

第29回 脳の医学・生物学会

日時：平成12年6月24日(土) 13:30~17:30  
 会場：サマニアンホール(名古屋市中区千代田2-16-30 八神ビル8階/Tel. 052-251-6669)  
 ヒトニューロンの発生分化と細胞死の分化機構：NecdinとAPPを中心にして 吉川和明(阪大蛋白研) 大脳皮質の構築とリーリングシグナル伝達系  
 小川正晴(理研脳科学総合研究セ) 新しい鉄代謝異常症—無セルロプラスミン血症における神経細胞傷害 宮嶋裕明(浜松医大内科)  
 参加申込方法：当日申込(予約不要13:00より受付)  
 参加費等：1,000円(当日申受)要旨集を配布  
 連絡先：〒502-8585 岐阜市三田洞東5-6-1 岐阜薬科大学分子生物学 脳の医学・生物学研究会事務局 古川昭栄 Tel./FAX 058-237-8589  
 E-mail: furukawa@gifu-pu.ac.jp