

＜シンポジウム (1)－4－1＞ALS に対する再生医療の開発

損傷運動ニューロンの再生・変性とグリア・ニューロン連関

木山 博資

(臨床神経 2012;52:934-936)

Key words : 軸索損傷, ミクログリア, 軸索再生, 運動ニューロン

損傷運動ニューロンにおける細胞内分子動態から細胞間分子動態へ

私たちは、運動ニューロンが損傷後再生に向かう過程で、どのような分子群がいかなるタイミングで運動ニューロン内に発現するのか各種オーム解析をもちいて検討してきた。その結果、再生する過程では損傷により発生した様々なストレスに打ち勝つ仕組みが適切なタイミングで発動されることが明らかになった¹⁾。実際に、軸索損傷により生存再生するモデル、緩やかな変性が生じるモデル、すみやかな変性にいたるモデルなどをもちいて、各種の分子発現を検討してみると、運動ニューロンの中で Death signal と Protection signal の両者にかかわる多数の分子群が発現し拮抗している様子がみえて来た。たとえば、活性酸素などによる細胞損傷に対しては SOD をはじめ GPx などの分子発現が。また、グルタミン酸毒性に対してはトランスポーター群による細胞外グルタミン酸の除去機構が。各種酸化ストレスによる細胞内蛋白の障害にはチオレドキシシン (TRX) や Glutathion が。また、栄養因子などの保護因子を受け取りやすくするための、栄養因子受容体やその下流のシグナル分子群の活性化などが明らかとなった。これらの応答の一部あるいは多くが欠損すると損傷神経は死にいたる。実際に生存や変性シグナルにかかわる分子を、ウイルスベクターやノックアウトをもちいることにより発現を人工的に制御すると、運動ニューロンの運命を変化させることができる。すなわち、このバランスがどちらに傾くかで運動ニューロンの運命が決まること、またそのバランスの傾きが、細胞死にいたる経過の早さに強く影響を与えることがみえてきた。このような運動ニューロン内で生じる分子発現は損傷により誘導される cell autonomous な発現制御なのか、あるいは周辺細胞からの情報を受けて発現しているのかといった問題は十分解析されていない。一方、損傷後には神経をとりまく非神経細胞にはダイナミックな形態変化がみられる。そこで、本総説では損傷運動ニューロンをとりまく非神経細胞の動態を形態学の立場から紹介する (Fig. 1)。

末梢における損傷神経と非神経細胞とのインターアクション

運動ニューロンの軸索損傷時に末梢で活動する非神経細胞にはシュワン細胞、マクロファージ、線維芽細胞がある。運動ニューロンの軸索に障害が生じると、末梢軸索は Wallerian 変性をおこし、髄鞘は分断化し変性する。この時変性髄鞘を適切に処理することが再生のために不可欠な応答であり、これに働くのがシュワン細胞と末梢から侵入するマクロファージである。シュワン細胞は自ら形成していた髄鞘を脂質に変え髄鞘再形成に再利用する。一方、マクロファージは変性髄鞘を貪食し取り除くことにより、新たな神経再生の環境を整える。さらに、貪食した髄鞘からえられる脂質を後でシュワン細胞などに供給し、新たな髄鞘形成や軸索伸展に貢献していると考えられる。損傷部位からの再生軸索はシュワン細胞の基底膜に沿って伸展するため、シュワン細胞がお互いに接触することにより軸索伸展の連続した足場を形成しなければならない。このため、再生神経先端部では、シュワン細胞の増殖や移動が活発に生じる。このとき、線維芽細胞はシュワン細胞の局在を制御し軸索伸展の連続的な足場形成に役立っている。また、endoneurium や perineurium を形成する線維芽細胞も神経損傷後にはダイナミックな変化を示す。神経損傷直後、線維芽細胞は散在し、シュワン細胞やマクロファージと混在する。しかし、やがて線維芽細胞は複数の軸索を持つ数個のシュワン細胞をふくむ小さなコンパートメントを形成するようになる。再生が進むと、コンパートメント内の有髄軸索数が増加し比較的大型のコンパートメントを形成する。やがてこれがしっかりとした層を形成し perineurium になる。これら一連の形態変化の過程では、非神経細胞と再生軸索との間で以下のようなシグナルが受け渡されている。(1) 損傷軸索からシュワン細胞へシュワン細胞増殖シグナル (RegIIIβ など)²⁾。(2) シュワン細胞からマクロファージへはマクロファージ誘導シグナル (MCP1, RegIIIγ など)³⁾。(3) 線維芽細胞からシュワン細胞へは、Ehp/Ephrin を介したシュワン局在化シグナル⁴⁾。(4) シュワン細胞から軸索へは各種の栄養因子や軸索流の促進維持因子 (GDNF など)。(5) マクロファージからシュワン細胞へは髄鞘再形成のための脂質供給。同様に線維芽細

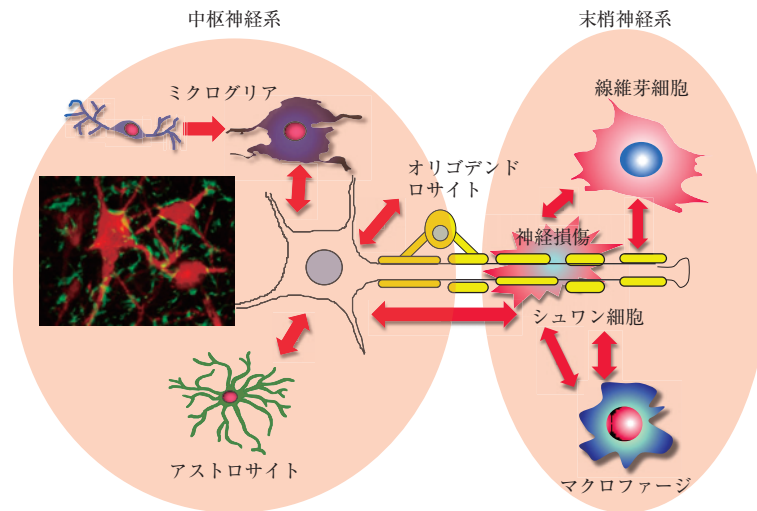


Fig. 1 中枢と末梢における損傷運動ニューロンと非神経細胞のインターアクション。

運動ニューロンを取り巻く環境は神経損傷後に大きく変化する。中枢ではミクログリアやそれにひき続くアストロサイトの活性化がみられる。とくにミクログリアの動態が損傷後の運動ニューロンの運命と相関している。末梢では、シュワン細胞やマクロファージが変性髄鞘の処理と再生軸索の足場を提供する。また、線維芽細胞がシュワン細胞や再生軸索の局在に関与していると考えられる。これらの細胞間で作動するメディエーター分子の一部は明らかになっている(本文参照)。

胞も脂質のリザーバーとして機能している可能性がある。

中枢内での損傷神経と非神経細胞とのインターアクション

中枢に存在する運動ニューロンの細胞体は axo-somatic なシナプスやアストロサイトの突起で被われているが、末梢での軸索障害が生じるとシナプスはすみやかに退縮し、代わって活性化した多くのミクログリアが細胞体を取り巻き接着する。これにより、損傷運動ニューロンの細胞体を取りまく環境は一変する。ただし、このミクログリアは決して貪食反応をおこさず損傷運動ニューロンに張り付いた状態がしばらく維持される。1週間ほどすると、きわめて薄いアストロサイトの突起がミクログリアと神経細胞の間に部分的に入り込みミクログリアと神経細胞の間にはアストロの薄い突起が部分的に存在するようになる。この時点でも細胞体にシナプス構造はみられず、運動ニューロン細胞体はミクログリアとアストロの突起が形成する環境下におかれている。やがて、ミクログリアは通常の ramified 型に戻り細胞体から離れ、ふたたびシナプスが形成され、シナプスとアストロサイトにより形成される元の細胞外環境に戻る。以上の応答は損傷運動ニューロンが生存する時にみられる形態である。一方、一部の運動ニューロンが損傷によって細胞死にいたるばあい (mouse C57BL/6J などにみられる)、細胞死にいたる細胞とミクログリアのインターアクションは当初まったくみられず、損傷後の細胞体を取りまく環境はほとんど変化しないまま (シナプスも存在したまま)細胞体の萎縮が生じる。やがて、細胞内に空胞がみられ細胞質の変性がはじまる。この時点になってはじめてミクログリアが損傷神経細胞体の周辺に集積し、変性細胞体を幾重

にも取巻き変性神経細胞を貪食する。このばあい、変性細胞は多数のミクログリアにより完全に閉じ込められたまま変性細胞の debris が貪食されるため、周辺組織での変性の影響はほとんどみられない。このように、損傷運動ニューロンが生存する場合と変性する場合は、とりまくグリア細胞の動態がことなり、グリアが作る神経細胞外環境が運動ニューロンに多大な影響をおよぼしている可能性がある。実際ミクログリアと損傷運動ニューロン間ではフラクタルカインや CCL5 などの因子を介してミクログリアの炎症性応答を低下させるという報告があり⁵⁾⁶⁾、グリアにより保護的な環境が形成されている可能性がある。

まとめ

最近の遺伝子改変動物をもちいた研究からも明らかなように、ALS などの神経変性疾患の運動ニューロンあるいは障害を受けた運動ニューロンが変性する過程は、周辺のグリア細胞などの分子発現や動態により変化しうる⁷⁾⁸⁾。すなわち、神経を取り巻く非神経細胞が作り出す環境が運動ニューロンの生存や変性に深くかかわっている。したがって、グリアなどの非神経細胞を治療標的として選択し、変性疾患や損傷から神経細胞を守る新たな手法が開発されることが期待される。

※本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

文献

- 1) 木山博資. 遺伝子導入による損傷神経の温存再生促進—その治療標的の多様性—. 臨床神経 2009;49:827-829.
- 2) Livesey FJ, O'Brien JA, Li M, et al. A Schwann cell mito-

- gen accompanying regeneration of motor neurons. *Nature* 1997;390:614-618.
- 3) Namikawa K, Okamoto T, Suzuki A, et al. Pancreatitis-associated protein-III is a novel macrophage chemoattractant implicated in nerve regeneration. *J Neurosci* 2006;26:7460-7467.
 - 4) Parrinello S, Napoli I, Ribeiro S, et al. EphB signaling directs peripheral nerve regeneration through Sox2-dependent Schwann cell sorting. *Cell* 2010;143:145-155.
 - 5) Gamo K, Kiryu-Seo S, Konishi H, et al. G-protein-coupled receptor screen reveals a role for chemokine receptor CCR5 in suppressing microglial neurotoxicity. *J Neurosci* 2008;28:11980-11988.
 - 6) Staniland AA, Clark AK, Wodarski R, et al. Reduced inflammatory and neuropathic pain and decreased spinal microglial response in fractalkine receptor (CX3CR1) knockout mice. *J Neurochem* 2010;114:1143-1157.
 - 7) Boillée S, Yamanaka K, Lobsiger CS, et al. Onset and progression in inherited ALS determined by motor neurons and microglia. *Science* 2006;312:1389-1392.
 - 8) Yamanaka K, Chun SJ, Boillee S, et al. Astrocytes as determinants of disease progression in inherited amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci* 2008;11:251-253.

Abstract

The fate of injured motor neurons and the behavior of surrounding glial cells

Hiroshi Kiyama, Ph.D.

Department of Functional Anatomy & Neuroscience, Graduate School of Medicine, Nagoya University

The fate of injured motor neurons could be determined by the balance of the protection and death signals, which expressed in the injured motor neuron. However recent studies implied the significances of surrounding non-neuronal cells for the protection of motor neurons in degenerative diseases and nerve injury. In periphery Schwann cell, macrophage and endoneurial fibroblast play crucial roles for the proper nerve regeneration. Schwann cell promotes infiltration of macrophage to remove debris of degenerated myelin and provides a scaffold and several growth factors for axon to elongate. The macrophage phagocytoses myelin debris and stocks lipids, which is re-used for re-myelination by Schwann cell. The fibroblast controls the localization of axon and Schwann cells during nerve regeneration. For those cellular functions several mediators among those cells are expressed. In CNS microglia and astrocytes would be the major players for the protection of motor neurons after injury. After nerve injury the activated microglia adhered to the injured motor neurons for a while and then the astrocyte took over, whereas in the dying motor neurons the initial behavior of the microglia was not observed. Glial behavior in CNS may be associated with the fate of injured motor neurons.

(*Clin Neurol* 2012;52:934-936)

Key words: motor neuron, nerve injury, microglia, nerve regeneration
