

＜シンポジウム 12—4＞末梢神経疾患研究の現在

## 末梢神経疾患と血液神経関門

神田 隆

(臨床神経, 49 : 959—962, 2009)

Key words : 血液神経関門, 末梢性ニューロパチー, claudin-5, 内皮細胞, 血管周細胞

### はじめに

神経系には血液脳関門 (blood-brain barrier, BBB) の他, 血液脳脊髄液関門 (blood-spinal fluid barrier), 血液網膜関門 (blood-retinal barrier, BRB), 血液脊髄関門 (blood-spinal cord barrier), 血液迷路関門 (blood-labyrinth barrier) など, blood-neural barrier と総称される構造物があり, 神経系の内部環境を維持するもっとも重要なメカニズムとなっている. 本論文の主題である血液神経関門 (blood-nerve barrier, BNB) は末梢神経系に存在する blood-neural barrier のひとつであり, かつては BBB と比較して不完全な構造物と考えられていたが, 現在では, 末梢神経系を全身循環系から隔絶する, BBB とほぼ同等の機能を持つ強固なバリアーシステムとして認識されている.

末梢神経疾患を考える上で, BNB の存在はまさに両刃の剣であるといえる. BNB が存在することで神経系の正常なホメオスタシスが保たれることに加え, 全身循環系からの有毒物質の侵入をシャットアウトする, あるいは病的リンパ球の末梢神経実質内侵入を阻止するなど, 炎症性, あるいは中毒性・代謝性ニューロパチーでは保護的に働くプラスの側面が強調される. 一方, 末梢神経系の健全な再生過程が期待される多くの末梢神経疾患, とくに虚血性ニューロパチーや遺伝性ニューロパチーなどでは, BNB が存在するがゆえに十分な量の神経栄養因子が末梢神経に到達せず, 全身循環系と末梢神経実質を隔てる有害な“壁”として認識されることになる.

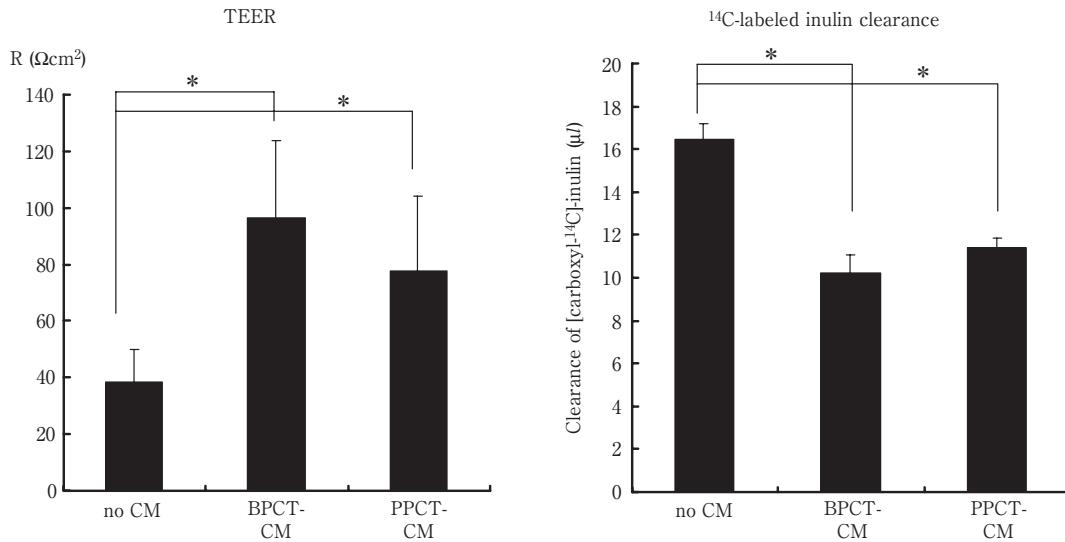
### 炎症性ニューロパチーと BNB の破綻

ギラン・バレー症候群や CIDP などの炎症性ニューロパチーの病変分布は連続性ではなく, patchy であることは電気生理学的検討からほぼ意見の一致をみているが, 剖検時に広範な末梢神経系を採取し, 適切な標本を作製して病変分布を詳しく検討した論文は驚くほど少ない. 筆者らはおよそ 20 年前に発症 6 日で末梢神経系の完全麻痺にいたり, autonomic failure で急死したギラン・バレー症候群 47 歳男性例の詳細な末梢神経病理を報告した<sup>1)</sup>が, この剖検例でみられた非常に強い病変部と健常部の並存が非常に印象的で, この

patchy な病変分布は, BNB が破綻した部位とそうでない部位との差ではないか, 炎症性ニューロパチーの発症にはバリアーの破綻が本質的な第一歩ではないかと考える端緒となった. 剖検材料であるため, この例では BNB の首座である末梢神経神経内膜内微小血管の超微構造を評価することはできなかったが, 以降経験する生検材料を詳細に検討した結果, 炎症性ニューロパチーでは BNB を構成する微小血管内皮細胞相互の接着が十分でない所見が多数えられることが明らかになった<sup>2)3)</sup>. また, CIDP で神経内膜内微小血管内皮細胞の claudin-5 の発現が低下していること, ZO-1 の局在が内皮細胞間から細胞内部へ移行していることを明らかにし, 炎症性ニューロパチーでの BNB 破綻には分子的裏付けがあることを世界に先駆けて報告した<sup>4)</sup>.

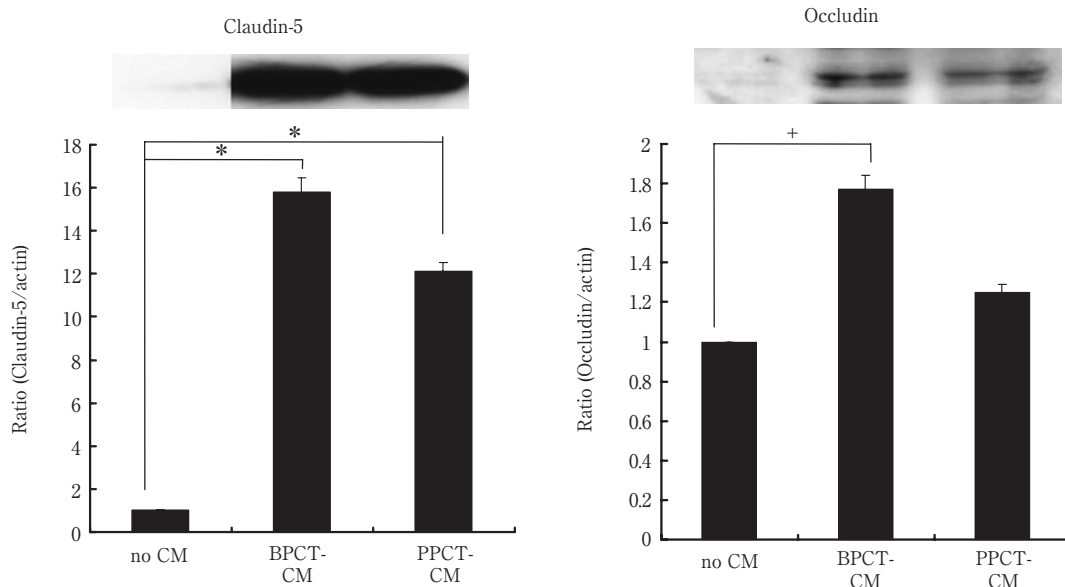
### 神経再生の障壁としての BNB

末梢神経の効率的な再生にはサイトカインや各種神経栄養因子, とくに, BDNF, GDNF, bFGF, NGF などの適切な関与が不可欠であることが近年明らかにされ, これらの分子による末梢性ニューロパチーの治療への期待が高まっている. しかし, サイトカインや神経栄養因子の多くは MW15,000~30,000 前後の比較的大きなポリペプチドであり, また, ほとんどのものは神経実質内への特殊な移送系を持たないことから, 循環血液からの神経内膜組織への移行は BNB によってほぼ完全に阻まれている. 有髄神経軸索の再生期には, 基底膜内に Büngner's band と呼ばれる再生 Schwann 細胞の突起の複合体を中心とした構造物が形成され, この中を軸索がゆっくりと伸長してくる像が観察される. この Schwann 細胞複合体は, GDNF をはじめとする神経栄養因子を分泌して軸索再生に寄与していると考えられている<sup>5)</sup>が, これだけでは十分でないことは多くの末梢神経損傷, 末梢性ニューロパチーは不完全な回復に留まることをみても明らかであろう. 軸索変性の急性期には一時的に BNB が開くことはよく知られており<sup>6)</sup>, これは, 軸索再生のために必要な物質をある時期に限定して循環血液から神経内膜内へ移行させるという意味では合目的な現象であると考えて良いが, 一方, この間は BNB の破壊によって有害物質も自由に末梢神経神経内膜へアクセスできることはいままでもなく, この BNB 開大が数日で元にも



BPCT-CM: PnMECs in brain pericyte-conditioned medium  
 PPCT-CM: PnMECs in peripheral nerve pericyte-conditioned medium

**Fig. 1** Human pericyte-conditioned media increase TEER and decrease inulin clearance in human peripheral nerve microvascular endothelial cell (PnMEC) monolayer.



BPCT-CM: PnMECs in brain pericyte-conditioned medium  
 PPCT-CM: PnMECs in peripheral nerve pericyte-conditioned medium

**Fig. 2** Western blot analyses confirm that humoral factors produced by human barrier-forming pericytes can increase claudin-5 and occludin in human PnMEC monolayer.

どるのもまた、末梢神経系の内部環境維持という観点からは非常に理にかなったことであると結論づけることができる。

### BNB をコントロールするには

BNB を操作することで炎症性ニューロパチーでの有害物質や病的リンパ球の末梢神経実質への侵入を阻止し、また、

“必要な時に”栄養因子・サイトカインを選択的に導入する手段が開発できれば、より効率的かつ確実な新規末梢神経障害治療法に直結すると期待できる。しかし、この四半世紀の間におきたBBB研究の飛躍的な進歩にくらべると、BNBの研究はおよそみべきものが少なく、BNBの人為的操作法を確立するにはまず、ヒトBNBを構成する2種類の細胞、血管内皮細胞と血管周細胞(pericyte)の細胞学的特性を把握すること

が第一歩であると考えた。筆者の教室で樹立したラット細胞株<sup>7,8)</sup>、ヒト細胞株についてはすでに概要を記載した<sup>9)</sup>が、今回更に血管周細胞による BNB 機能の発現・維持に関する検討をおこない、(i) 血管周細胞の conditioned medium によって BNB 由来内皮細胞株の TEER が上昇して <sup>14</sup>C 標識イヌリンの透過性が減少すること (Fig. 1), (ii) 血管周細胞の condition medium は、BNB 由来内皮細胞株に対して重要な tight junction molecule である claudin-5, occludin の発現を高める作用を有すること (Fig. 2), (iii) 血管周細胞は、BBB を構成する神経膠細胞と同じく angiopoietin-1, VEGF, bFGF などのサイトカインを分泌すること, (iv) angiopoietin-1 と VEGF は内皮細胞の claudin-5 発現を downregulate し、BNB 機能を弱める方向に働くこと, (v) bFGF は逆に claudin-5 の発現を upregulate し、BNB 機能を高めることなどを明らかにした。神経膠細胞に相当する細胞が存在しない末梢神経系にあっては、微小血管内皮細胞を取り巻く血管周細胞が、神経膠細胞に相当する働きを持っているという仮説がさらに裏付けられた<sup>10)</sup>。

#### BNB を操作することによる末梢神経疾患の 治療は可能か

現時点において、BNB に関してえられた知識はまだまだ乏しく、BNB を人為的に“操作できる”水準には達していない。しかし、BNB 構成内皮細胞は末梢神経系で唯一、全身循環系に直接接している細胞であり、血液を介したウイルスベクターやアンチセンスオリゴヌクレオチド、siRNA などによるアプローチによって内皮細胞機能の改変は比較的容易にできるものと思われる。また、血管周細胞は BNB を超えた神経線維側に存在することから、血管周細胞から分泌される各種サイトカイン・神経栄養因子は何ものにも邪魔されることなく神経線維近傍へと到達できるという利点がある。BNB に関する細胞学的・生理学的知識が蓄積されることにより、BNB の改変に基づく各種末梢神経疾患の治療法確立が実現する日はそう遠いことではないものと思われる。

#### 文 献

- 1) Kanda T, Hayashi H, Tanabe H, et al: A fulminant case of Guillain-Barré syndrome: topographic and fibre size related analysis of demyelinating changes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1989; 52: 857—864
- 2) Kanda T, Usui S, Beppu H, et al: Blood-nerve barrier in IgM paraproteinemic neuropathy: a clinicopathologic assessment. *Acta Neuropathol (Berl)* 1998; 95: 184—192
- 3) Kanda T, Yamawaki M, Iwasaki T, et al: Glycosphingolipid antibodies and blood-nerve barrier in autoimmune demyelinating neuropathy. *Neurology* 2000; 54: 1459—1464
- 4) Kanda T, Numata Y, Mizusawa H: Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: decreased claudin-5 and relocated ZO-1. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75: 765—769
- 5) Frostick S, Yin Q, Kemp G: Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery* 1998; 18: 397—405
- 6) Ohara S, Ikuta F: On the occurrence of the fenestrated vessels in Wallerian degeneration of the peripheral nerve. *Acta Neuropathol* 1985; 68: 259—262
- 7) Sano Y, Shimizu F, Nakayama H, et al: Endothelial cells constituting blood-nerve barrier have highly specialized characteristics as barrier-forming cells. *Cell Struct Funct* 2007; 32: 139—147
- 8) Shimizu F, Sano Y, Maeda T, et al: Peripheral nerve pericytes originating from the blood-nerve barrier expresses tight junctional molecules and transporters as barrier-forming cells. *J Cell Physiol* 2008; 217: 388—399
- 9) 神田 隆：末梢神経の再生：末梢神経の内部環境を改変する。 *臨床神経学* 2008 ; 48 : 1028—1030
- 10) Shimizu F, Sano Y, Abe M, et al: Peripheral nerve pericytes modify blood-nerve barrier function and tight junctional molecules through various soluble factors. Manuscript in preparation

**Abstract****Peripheral neuropathy and blood-nerve barrier**

Takashi Kanda, M.D.

Department of Neurology and Clinical Neuroscience, Yamaguchi University Graduate School of Medicine

It is important to know the cellular properties of endoneurial microvascular endothelial cells (PnMECs) and microvascular pericytes which constitute blood-nerve barrier (BNB), since this barrier structure in the peripheral nervous system (PNS) may play pivotal pathophysiological roles in various disorders of the PNS including inflammatory neuropathies (i.e. Guillain-Barré syndrome), vasculitic neuropathies, hereditary neuropathies and diabetic neuropathy. However, in contrast to blood-brain barrier (BBB), very few studies have been directed to BNB and no adequate cell lines originating from BNB had been launched. In our laboratory, we successfully established human immortalized cell lines originating from BNB using temperature-sensitive SV40 large T antigen and the cellular properties of human cell lines are presented in this paper. Human PnMEC cell line showed high transendothelial electrical resistance and expressed tight junction components and various types of influx as well as efflux transporters that have been reported to function at BBB. Human pericyte cell line also possessed tight junction proteins except claudin-5 and secrete various cytokines and growth factors including bFGF, VEGF, GDNF, NGF, BDNF and angiopoietin-1. Co-culture with pericytes or pericyte-conditioned media strengthened barrier properties of PnMEC, suggesting that in the PNS, peripheral nerve pericytes support the BNB function and play the same role of astrocytes in the BBB. Future accumulation of the knowledge concerning the cellular properties of BNB-forming cells will open the door to novel therapeutic strategies for intractable peripheral neuropathies.

(Clin Neurol, 49: 959—962, 2009)

**Key words:** Blood-nerve barrier, peripheral neuropathy, claudin-5, endothelial cell, pericyte

---