

血液神経関門と末梢神経再生

神田 隆¹⁾

要旨：血液神経関門 (blood-nerve barrier; BNB) は、末梢神経実質を全身循環系の炎症から守る防護壁として機能する一方、有用な神経栄養因子の供給や不要物の排泄を妨げることで、末梢神経再生の障壁として働く。しかし、BNB を人為的に操作することが可能となれば、末梢神経実質への有用物質の導入と有害物質の効率的な排除を達成することにより、末梢神経の再生は大きく進歩する可能性がある。近年筆者らの教室で BNB のヒト不死化細胞株が樹立し、血液脳関門 (blood-brain barrier; BBB) と同レベルで BNB の細胞学的基盤を明らかにする環境整備ができた。BNB 構成内皮細胞、もしくはペリサイトをキーとした末梢神経内部環境の改変に基づく神経再生戦略について概説する。

(臨床神経 2013;53:1120-1122)

Key words：血液神経関門，ペリサイト，内皮細胞，再生，末梢性ニューロパチー

はじめに

血液神経関門 (blood-nerve barrier; BNB) は末梢神経系のバリアーシステムである。有害物質の末梢神経内への流入を阻止し、病的リンパ球の末梢神経実質への浸潤をシャットアウトすることによって、末梢神経実質の内部環境を安定化させることが BNB の主要な役割である¹⁾。

しかし、この健全な BNB のもつ美点は軸索再生の障害因子でもある。軸索変性後に軸索の再生が十分になされるためには、ある時期多量の神経栄養因子が必要となる。しかし、神経栄養因子の多くは MW15,000 ~ 30,000 前後の大きさがあり、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、循環血液から神経内鞘組織への移行は堅牢な BNB によって阻まれている。また、軸索の再生を妨げる有害物質の末梢神経実質からの排除も BNB のために進まない、といった問題が生じる。Ohara ら²⁾ は、マウスの横隔神経に圧挫損傷を加えたあと 2 ~ 6 日の間に、BNB 構成内皮細胞が有窓性になることを明らかにした。これは、神経内鞘での神経栄養因子要求に応えた合目的な BNB 破綻といえるが、この有窓内皮細胞は直ちに消失して元の堅牢な BNB に戻る。もし、この合目的な BNB 破綻がおこる期間を人為的にコントロールして軸索再生に十分な環境を与える技術が確立すれば、末梢神経の再生医療に大きく寄与することはまちがいない。

ヒト血液神経関門由来不死化細胞株の樹立

筆者らは 1990 年代後半にウシ BNB に起源を持つ細胞の

単離培養に成功し³⁾、最近、齧歯類 BNB 構成細胞⁴⁾⁵⁾ に引き続いて *in vivo* の形質をよく保存したヒト BNB 構成細胞 (微小血管構成内皮細胞、同ペリサイト) の不死化細胞株の樹立に世界に先駆けて成功した⁶⁾⁷⁾。BNB 構成不死化内皮細胞は、強固な **tight junction** 形成をはじめとするバリアー構成内皮細胞の基本的属性を有し、claudin-5, occludin, ZO-1 などの **tight junction** 関連タンパクや GLUT-1, mdr1, LAT1, ABCG2 などの各種トランスポーターの発現も明らかで、血液脳関門 (BBB) 構成内皮細胞とほぼ同等の細胞学的性質を有していることが証明された。ヒト BNB 構成ペリサイトについても、われわれの不死化細胞株をもちいた研究成果が着々とでてくる⁷⁾。この 2 つのヒト不死化細胞株によって、BNB の細胞学的研究はようやく BBB のそれと同じ土俵に立つことができることになったといっても過言ではない。

BNB を標的とした末梢神経の再生戦略

BNB を標的として末梢神経再生を考えるばあい、大まかに分けて 2 つの戦略が考えられる。1 つは BNB の破壊を阻止して末梢神経の内部環境を正常化すること、もう 1 つは BNB 機能そのものを人為的に操作することである。前者は主にギラン・バレー症候群、CIDP などの炎症性ニューロパチーに限定されるのに対して、後者はニューロパチー一般に適応可能な治療戦略であり、本稿ではこちらに焦点を当てて述べることにする。

内皮細胞を操作する

BNB 構成微小血管内皮細胞は、末梢神経系で全身血流に直接接触する唯一の細胞であり、血中の生理活性物質で

¹⁾ 山口大学大学院医学系研究科神経内科学 [〒 755-8505 山口県宇部市南小串 1 丁目 1-1]
(受付日：2013 年 5 月 30 日)

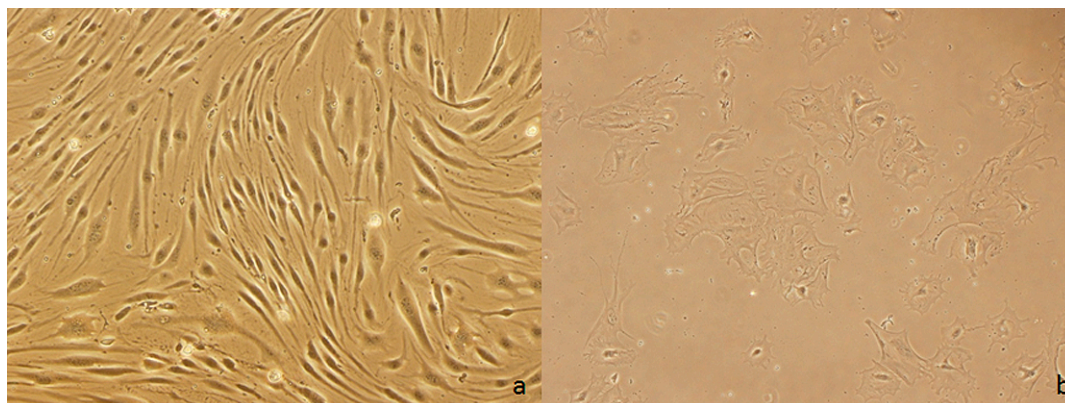


Fig. 1 Human immortalized endothelial cell (a) and pericyte (b) cell lines of endoneurial origin.

BNB 構成内皮細胞の機能に影響を与えることは理論上可能である。ヒト BNB 由来内皮細胞をもちいた最近の研究により、bFGF⁶、GDNF⁸などがBNB 構成内皮細胞の機能を強化する因子として同定されている。

神経栄養因子をはじめとする多くの高分子物質はBNB に阻まれて末梢神経実質へ侵入できないが、ウイルスベクターに組み込んだ siRNA、内皮細胞表面抗原に対するモノクロナル抗体などは容易に内皮細胞に到達できる。まずはこれらをもちいて BNB 機能改変に取り組むのが現実的なアプローチであろうと思われる。

ペリサイトを操作する

BNB を構成する内皮細胞とペリサイトは共通の1枚の基底膜で覆われている。互いの細胞膜同士の直接接着は無いもののきわめて近接した位置関係にあり、ペリサイトが paracrine に放出するさまざまな栄養因子、活性物質が内皮細胞機能に大きな影響を与えるであろうことは容易に想像がつく⁵⁾。筆者らは最近、副腎皮質ステロイド薬はBNB 構成ペリサイトからの GDNF 放出などを介して BNB 構成内皮細胞の caludin-5 を upregulate し、バリアー機能を強化することを明らかにした⁸⁾。ペリサイトは長い間無視され続けてきた細胞であるが、BBB はアストロサイトだけでなくペリサイトによっても制御されているとする論文がこの数年続々と発表されており⁹⁾、BNB においてもペリサイトが主要なレギュレーターであることはほぼまちがいが無い⁶⁾。ペリサイト欠損マウスでは BBB 構成内皮細胞の transcytosis を介して BBB 透過性亢進がおこっていることが示されており¹⁰⁾、ペリサイトを一時的に無力化して BNB を一定期間人為的に破壊させることも神経再生戦略として有望視できる。ペリサイト自体は血流との直接的な接点を持たないが、低分子量かつ脂溶性で、内皮細胞を透過することができるペリサイト生理活性物質が開発されれば、血液を介して BNB 構成ペリサイトをコントロールする戦略が現実のものとなると考えられる。

おわりに

末梢神経の効率的な再生には各種神経栄養因子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、単なる神経栄養因子の血中導入は BNB 機能を高め、かえって末梢神経実質への神経栄養因子到達量が減るといった逆説的な現象に陥る。本稿で述べた BNB の人為的操作による有用物質の末梢神経内への導入と有害物質の排除ができて、はじめて軸索再生に向けた戦略の一つになりえる所以である。実用性の高いヒト不死化細胞の確立を契機として、BNB 研究に根ざした末梢神経再生への道が開けていくことを願いたい。

※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) Kanda T. Biology of the blood-nerve barrier and its alteration in immune-mediated neuropathies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013;84:208-212.
- 2) Ohara S, Ikuta F. On the occurrence of the fenestrated vessels in Wallerian degeneration of the peripheral nerve. *Acta Neuropathol* 1985;68:259-262.
- 3) Kanda T, Iwasaki T, Yamawaki M, et al. Isolation and culture of bovine endothelial cells of endoneurial origin. *J Neurosci Res* 1997;49:769-777.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Shimizu F, Sano Y, Abe M, et al. Peripheral nerve pericytes modify blood-nerve barrier function and tight junctional

molecules through the secretion of various soluble factors. *J Cell Physiol* 2011;226:255-266.

- 7) Shimizu F, Sano Y, Haruki H, et al. Advanced glycation end-products induce basement membrane hypertrophy in endoneurial microvessels and disrupt the blood-nerve barrier by stimulating the release of TGF-beta and VEGF by pericytes. *Diabetologia* 2011;54:1517-1526.
- 8) Kashiwamura Y, Sano Y, Abe M, et al. Hydrocortisone enhances
- the function of the blood-nerve barrier through the up-regulation of claudin-5. *Neurochem Res* 2011;36:849-855.
- 9) Bell RD, Winkler EA, Sagare AP, et al. Pericytes control key neurovascular functions and neuronal phenotype in the adult brain and during brain aging. *Neuron* 2010;68:409-427.
- 10) Armulik A, Genove G, Mae M, et al. Pericytes regulate the blood-brain barrier. *Nature* 2010;468:557-561.

Abstract

Blood-nerve barrier and peripheral nerve regeneration

Takashi Kanda, M.D., Ph.D.¹⁾

¹⁾Neurology and Clinical Neuroscience, Yamaguchi University Graduate School of Medicine

Blood-nerve barrier (BNB) restricts the movement of soluble mediators and leukocytes from the blood contents to the peripheral nervous system (PNS) parenchyma and thus maintains the endoneurial homeostasis. However, it interferes the supply of various neurotrophic factors from the blood constituents and stops the drainage of toxic substances out of the PNS parenchyma, resulting in the inhibition of peripheral nerve regeneration. If the manipulation of BNB function is possible, regeneration of peripheral nerve may be facilitated via the alteration of peripheral nerve microenvironment and ample supply of neurotrophic substances. A possible method to manipulate the BNB for therapeutic purposes is to modify the endothelial function using siRNAs, oligonucleotides and virus vectors. Another possible method is to modify BNB pericytes: small hydrophobic substances that can reach the pericyte membrane through the endothelial monolayer and strengthen the pericytic activity, including the release of various cytokines/chemokines that influence endothelial function, may also be useful as drug candidates to control the BNB function.

(*Clin Neurol* 2013;53:1120-1122)

Key words: blood-nerve barrier, pericyte, endothelial cell, regeneration, peripheral neuropathy
