

血液脳関門障害の機序解明から血管性認知症の予防と治療に向けて

上野 正樹^{1)*}

要旨：血管内物質が脳機能へ与える影響を考えるに際し、血液脳関門の存在が問題となる。また、脳内の組織間液や脳脊髄液の脳外への排出に関しては、最近、二つの代表的な排出路の存在が確立されつつある。一つは脳組織間液が毛細血管基底膜から細動脈の中膜平滑筋層の中を通る経路で、他の一つは脳脊髄液が細動脈周囲腔からアクアポリン4依存性アストロサイト細胞質内を経て細静脈周囲腔から脳脊髄液にはいる経路であり、いずれも最終的に頸部リンパ節や静脈内に排出されるとされ、脳全体のバリア機能にも寄与していると考えられる。今回、血液脳関門を含む脳のバリア機能の障害と血管性認知症の病態との関係に焦点を当て、最近の知見を紹介する。

(臨床神経 2017;57:95-109)

Key words：血液脳関門, 血液脳脊髄液関門, 血管周囲排出路, グリアリンパ排出路, 血管性認知症

はじめに

脳はそのホメオスタシスを維持するために関門を持ち、神経機能に必要なイオンやアミノ酸濃度を厳密にコントロールしている。その中で中心的な役割を担っているのが脳毛細血管に存在する血液-脳関門 (blood-brain barrier; BBB) であり、この BBB によって血管内の血液と脳実質との間の高分子量物質の交通は制限されている。その構造学的特徴としては、脳毛細血管内皮細胞には窓 (fenestration) がなく、小胞輸送 (vesicular transport) が高度に減少しているため、これによる細胞質内の通過が制限される。さらに、内皮細胞間には密着結合 (tight junction) が存在し、細胞間の通過も制限されている^{1)~3)}。内皮細胞の基底側には内部に周皮細胞を含む基底膜が存在し、さらにこの周囲をアストロサイトの終足が取り巻くことでバリアの構造を特徴付けている (Fig. 1A)。また、内皮細胞の表面 (管腔側) には陰性荷電が存在し、電気的な障壁も形成されている。内皮細胞間の密着結合部位は claudin-5, occludin, junction adhesion molecule (JAM) などの物質を介して細胞内蛋白である zonula occludens-1 (ZO-1) 同士で結合しており、接着結合 (adherens junction) 間は膜貫通蛋白の cadherin で接着している (Fig. 1B)、高分子量物質の細胞間通過を制限する役割を担っている。

一方で、脳内の細胞にとって必須な物質は、脳血管の内皮細胞に存在する輸送体によって選択的に血管内から脳内へ取り込まれている (BBB のキャリア機能)。その代表的な選択的輸送体としては、ブドウ糖などの糖を脳内に運ぶ glucose transporters, 乳酸を運ぶ monocarboxylic acid transporters, amino

acid transporters, peptides transporters, Ion transporters, ATP-binding cassette (ABC) transporters, organic anion/cation transporters などが知られている^{4)~6)}。

次に、BBB とともによく知られているのが、脈絡叢に存在する血液-脳脊髄液関門 (blood-cerebrospinal fluid barrier; BCSFB) である (Fig. 2)。脈絡叢内の毛細血管は有窓性であり、血管内物質は毛細血管壁を通過して脈絡叢内の間質に移行しうが、その血管周囲にある上皮細胞には脳室側に密着結合が存在している。この上皮細胞によって脈絡叢内と脳室内との間における高分子量物質の移行は制限されており、この機能が BCSFB と捉えられている⁷⁾⁸⁾。尚、脳室内の物質がエンドサイトーシスによって上皮細胞に取り込まれ、密着結合を迂回して、細胞間腔あるいは基底側へと輸送される経路は残る。さらに、脈絡叢上皮にも物質の移動を制限するだけでなく、選択的に取り込むための輸送体が備わっており、特定の物質の移行を可能にしている。

脳室内の脳脊髄液と脳実質との間には脳室上皮細胞が存在するが、この上皮細胞には陰性電荷の存在、種々の接着因子の発現、酵素活性の存在などが指摘されており、上皮細胞が脳脊髄液-脳関門 (cerebrospinal fluid-brain barrier; CSFB) を形成することによって、物質の移動にある程度の制限をかけていると推測される (Fig. 2)⁷⁾⁸⁾。しかしながら、上皮細胞間は主として密着性の低いギャップ結合 (gap junction) と接着結合で結合されているとされており、高分子量物質は脳室壁を介して移動しうる⁷⁾⁸⁾。ラット上皮細胞間における部分的な密着結合に関する報告⁹⁾もあるが、上皮細胞層でのバリア機能は不完全なものと考えられる。

*Corresponding author: 香川大学医学部・病理病態生体防御医学講座・炎症病理学 [〒 761-0793 香川県木田郡三木町池戸 1750-1]

¹⁾ 香川大学医学部・病理病態生体防御医学講座・炎症病理学

(Received January 19, 2017; Accepted February 3, 2017; Published online in J-STAGE on February 22, 2017)

doi: 10.5692/clinicalneuro.001004

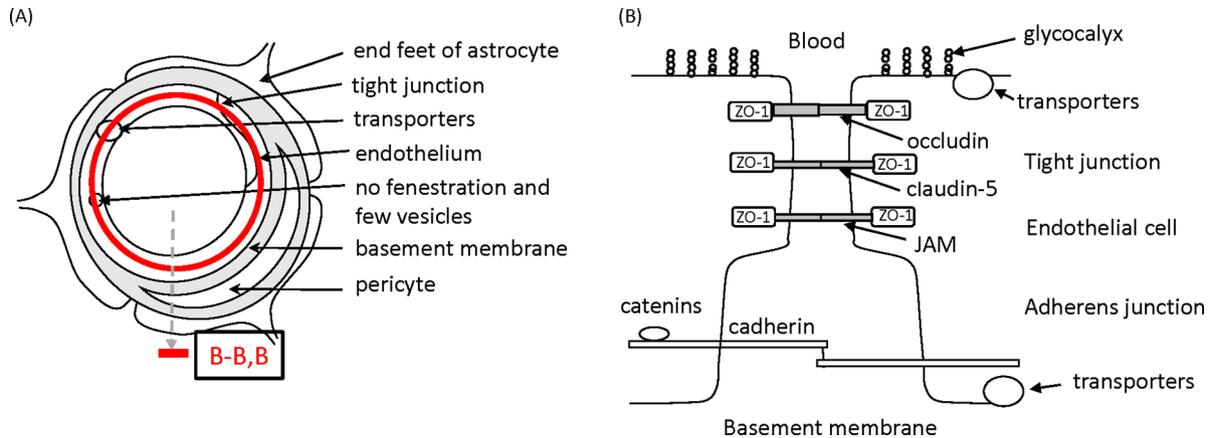


Fig. 1 Blood-brain barrier and the tight junction.

(A) Schematic outline of a capillary of the blood-brain barrier in a transverse section showing not only endothelial cells with a tight junction, basement membrane, and few vesicles and no fenestration in the cytoplasm, but also a pericyte and the end feet of astrocytes. The localization of transporters is conceptually shown in the endothelial cell. The tightness of the blood-brain barrier (heavy solid red line: B-B, B) is structurally characterized by these structures. (B) Schematic representation of the protein interaction associated with tight and adherens junctions at the blood-brain barrier and endothelial glycocalyx at the surface. Claudin-5 (a major constituent of tight junctions in brain endothelial cells), occludin, and junction adhesion molecules (JAMs) are the transmembrane proteins in the tight junction, while zonula occludens-1 (ZO-1) are the cytoplasmic proteins. Cadherin is shown in the adherens junction, while catenins are shown in the cytoplasm. Transporters are shown in the cytoplasmic membrane of the endothelial cell.

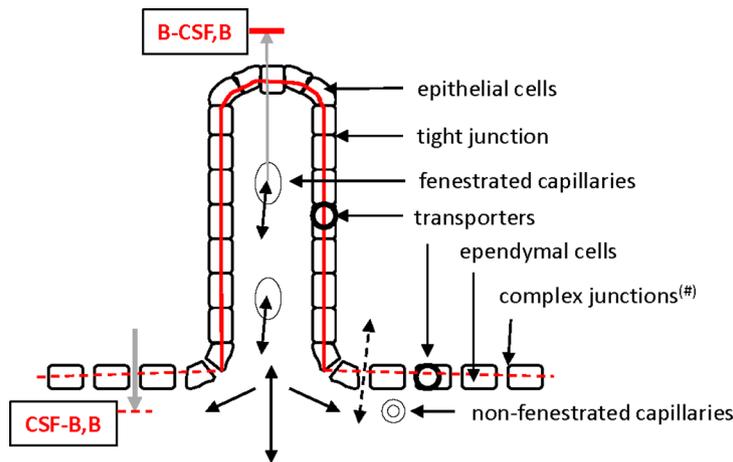


Fig. 2 Blood-cerebrospinal fluid barrier and cerebrospinal fluid-brain barrier.

Schematic representation of the blood-cerebrospinal fluid barrier (solid red line: B-CSF, B) and cerebrospinal fluid-brain barrier (dashed red line: CSF-B, B). Fenestrated capillaries are located in the stroma of the choroid plexus, which is separated from the ventricle with epithelial cells bound by tight junctions. Ependymal cells bound by complex junctions (#: see text) are located between the ventricle and the brain parenchyma. Transporters are localized in the cytoplasm of epithelial cells of the choroid plexus and in the cytoplasm of the ependymal cells.

古くから、血管内に投与された色素がくも膜下腔に検出できないことが指摘されていたが、硬膜とくも膜下腔のCSFの間にもバリア機能が想定されており、髄膜関門(the meningeal barrier)として⁷⁾¹⁰⁾、あるいは、血液とくも膜下腔CSFの間のバリアとして¹¹⁾紹介されている (Fig. 3)。硬膜内の血管は有窓性毛細血管であるが、くも膜外側に存在する2~3層の扁平な細胞 (くも膜細胞) 間は密着結合とギャップ結合で閉め

られており⁷⁾¹²⁾、硬膜とくも膜下腔との間の物質の移動は制限されて関門となっている。また、脳実質とくも膜下腔の間にある軟膜はギャップと窓を有する疎性結合組織であり、そこでは液体は通過できるとされているが、赤血球などの細胞の通過は制限されている¹³⁾。

脳室周囲には脈絡叢の他に、正中隆起 (median eminence; ME)、下垂体後葉 (neurohypophysis; NH)、脳弓下器官 (subfornical

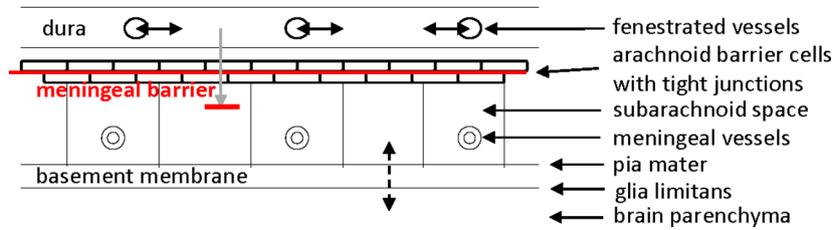


Fig. 3 The meningeal barrier.

Arachnoid barrier cells with tight junctions, separating the subarachnoid space from the dura mater with fenestrated capillaries, constitute the meningeal barrier (solid red line). Glia limitans and pia mater separate the brain parenchyma from the subarachnoid space.

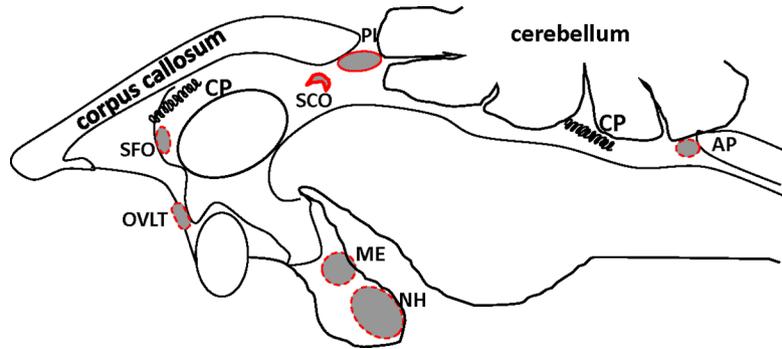


Fig. 4 Circumventricular organs.

A section through the brain in the median sagittal plane is shown. Located around the ventricles are the following circumventricular organs (enclosed by dashed or solid red lines): subfornical organ (SFO), median eminence (ME), neurohypophysis (NH), organum vasculosum of the lamina terminalis (OVLT), pineal body (PI), subcommissural organ (SCO), and area postrema (AP). Two portions of the choroid plexus (CP) are also drawn in the ventricles. Dashed or solid red lines indicate slightly weaker or tighter barrier functions, respectively. Broadwell et al.¹⁹⁾ reported that endogenous serum proteins spread extracellularly from some of the circumventricular organs, such as the median eminence, area postrema, and subfornical organ, into the adjacent brain parenchyma. It is described that the vessels of the subcommissural organ have no fenestrated walls and that the fenestrated aspect of capillaries with a lack of the BBB in the pineal gland is not accepted by all researchers¹⁴⁾.

organ; SFO), 終板器官 (organum vasculosum of the lamina terminalis; OVLT), 最後野 (area postrema; AP), 交連下器官 (subcommissural organ; SCO), 松果体 (pineal body; PI) という脳室周囲器官 (circumventricular organs) が存在している⁷⁾¹⁴⁾. SCOを除くこれらの脳室周囲器官に存在する毛細血管は有窓性であり, 循環血液と器官内組織間液との間で交通がある. しかしながら, これらの器官の脳室側では密着結合で結合された特殊脳室上皮細胞が脳室壁を裏打ちし, 脳室内CSFと接している (Fig. 4).

以上のように, 脳内にはBBBとBCSFBを中心に複数のバリアが存在し, 必要な物質を取り込みながらも毒性を持つ物質の侵入は防いで脳内環境を一定に保っていると考えられる. それ故, これらのバリアが障害されれば, 様々な脳機能異常が生じると考えるのは自然である. 特に, 最も重要な鍵を握っているBBBにおいては, 脳血管が障害されている血管性認知症とBBB機能障害との関係がすでに指摘されている¹⁵⁾¹⁶⁾.

血液脳関門を迂回する経路

脈絡叢や脳室周囲器官に存在する不完全なバリア機能しか持たない血管がその組織内や周囲の領域にどのような影響を及ぼすかについては, よく知られていない. 以前は, 脳室周囲器官及びその境界部では血管周囲の上皮細胞間に密着結合の存在することが示され, 器官内から周辺組織への拡散は防がれているであろうとの報告もあった¹⁷⁾¹⁸⁾. しかしながら, 内因性タンパク質の脳内移行を検討した実験¹⁹⁾や, horseradish peroxidase (HRP)をマウスの尾静脈から注入しそのHRPをテトラメチルベンチジンで反応させた実験^{20)~22)}では, 血管内物質がMEからその周辺の視床下部へ移動していると考えられる所見¹⁹⁾や, SFOの血管から組織間腔を伝ってその背側部の脳梁¹⁹⁾²⁰⁾や尾側部の海馬内側部²⁰⁾²¹⁾へ移動していると考えられる所見を認めた. また, 静注されたHRPは脈絡叢付着部付近の白質を含む脳室周囲領域²¹⁾や扁桃体内側部²²⁾にも流入していた (Fig. 5). 興味深いことに, 脈絡叢付着部付

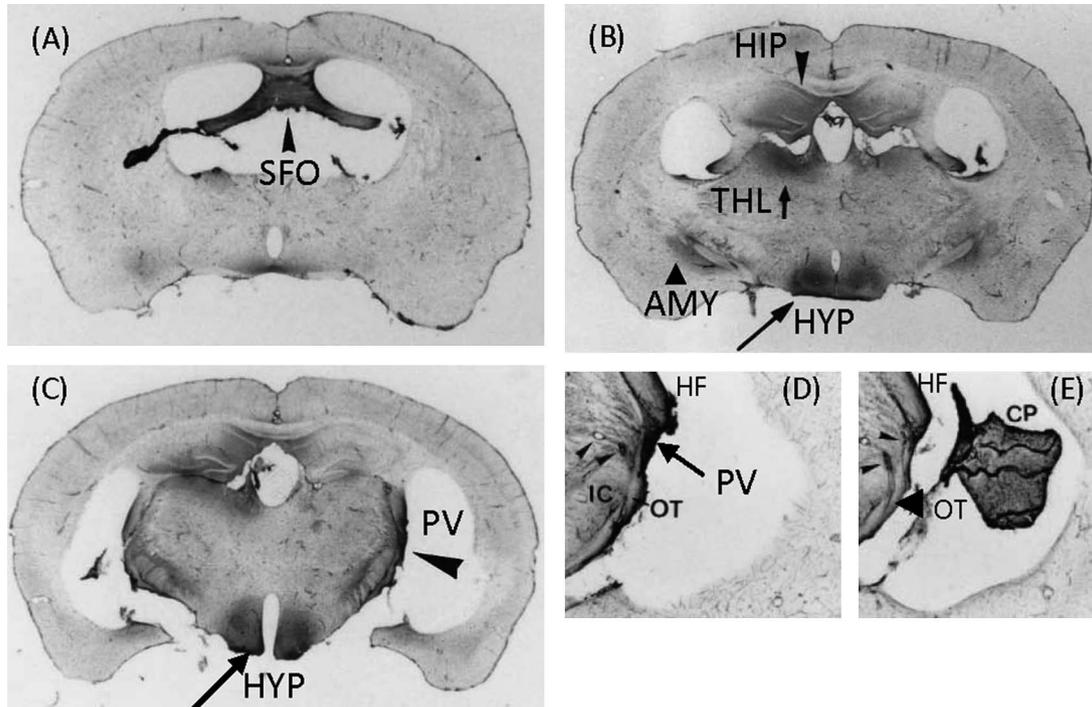


Fig. 5 Leakage of intravascular HRP in the brain.

The staining reaction for horseradish peroxidase (HRP) with tetramethyl benzidine incubation is shown in the sections obtained from perfusion-fixed mice at 90 min after HRP was intravenously injected (A–E). The sections cut through the subformal organ (SFO) (A) and two portions of the hippocampus (B, C) are shown. Strong staining for HRP appears in the SFO (long arrowhead in (A)), the medial portion of the hippocampus (HIP) (long arrowhead in (B)) and the amygdala (AMY) (short arrowhead in (B)), the dorsal portion of the thalamus (THL) (small arrow in (B)), the hypothalamus (HYP) (large arrows in (B, C)) around the median eminence, and the periventricular area (PV) (large arrowhead in (C)). Very strong staining for HRP appears in the choroid plexus (CP) (E) and the PV (long arrow in (D)) including the hippocampal fimbria (HF) (D, E) and the optic tract (OT) (small arrow in (D) and large arrowhead in (E)). Small arrowheads in (D, E) indicate vessels in the PV showing increased vascular permeability. IC: internal capsule. Modified from the paper reported by Ueno et al.²¹⁾

近の脳室周囲領域には HRP の流入は明らかであるが、脈絡叢付着部から離れた脳室周囲領域には HRP は全く流入していなかった (Fig. 5D, E)。この結果からは、同じ脳室周囲領域と言えども、脈絡叢付着部付近の脳室周囲領域が特殊であることが推察される。尚、血管内物質が BBB を迂回して脳室周囲の特定の領域に運ばれる役割ははまだ明らかでない。

組織間液および脳脊髄液の排出路

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease; AD) 脳で沈着するアミロイドベータ蛋白 ($A\beta$) などの脳組織間液内物質が脳内から排除されるのか、あるいは沈着するのかを規程する因子として、脳内での合成および脳外からの流入と脳からのクリアランスが考えられる。脳からのクリアランスの具体的機序として、(A) 血管壁に存在する輸送体を介した直接的な血管内への排出、(B) 種々の酵素による分解、(C) グリア細胞などの細胞質内への取り込み、そして、(D) 血管壁を伝わる (頸部リンパ節への) 排出が想定されている (Fig. 6)。この合成・流入と分解・排出のバランスが崩れると、その物質の脳

内沈着に繋がっていくと推測することは難しく、AD ではこの行程のどこかに異常をきたして $A\beta$ 蛋白が沈着してしまうのではないかと考えられる²³⁾。

(A) BBB や BCSFB を介する $A\beta$ の脳外への排出機構として、いくつか想定されているが、報告論文によって必ずしも一致していない。最近、総説を含む様々な論文でその排出機構は報告されており^{23)~32)}、その一部を紹介する。

- (1) LRP-1 (low-density lipoprotein receptor-related protein-1) : $A\beta$ は BBB に発現する LRP-1 に直接結合して経細胞的に脳内から血液中に排出されることが提唱されているが²⁴⁾³³⁾、その一方で、BBB を介した $A\beta$ の排出輸送に対する寄与は小さいとの報告もある³⁴⁾。
- (2) ABCB1 (P-glycoprotein; P-gp) : 脳毛細血管における ABCB1 発現量と脳内および脳血管に蓄積した $A\beta$ 量に負の相関関係があることが報告されている³⁵⁾ が、これまでに ABCB1 が直接 $A\beta$ 輸送を担っている事を示す報告は明確ではないとも考えられている。
- (3) ABCG2 (breast cancer resistance protein; BCRP) : ABCG2 の発現量が AD 脳の毛細血管にて健常人より高いこと³⁶⁾

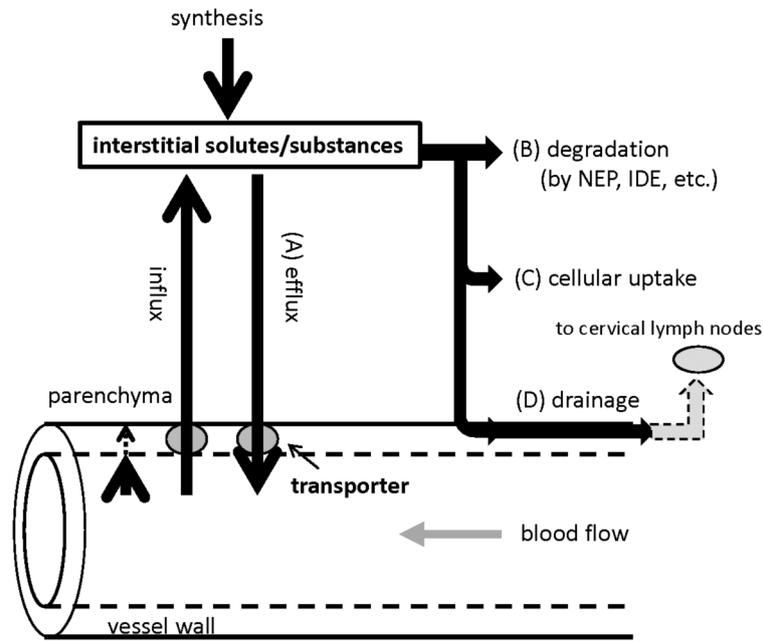


Fig. 6 Flow and clearance of interstitial solutes and substances.

Interstitial solutes or substances including A β are synthesized in the brain or flow in the brain parenchyma from the blood through specific influx transporters. Then, the intracerebral A β is eliminated via: (A) efflux through specific efflux transporters into the blood, (B) degradation, such as by neprilysin (NEP) or insulin-degrading enzyme (IDE), (C) cellular uptake by astrocytes or microglia, and (D) discharge through a perivascular drainage pathway possibly to the cervical lymph nodes.

や, ABCG2 が A β 輸送に関与している可能性についての報告がある³¹⁾.

- (4) ABCG1 (multidrug resistance-associated protein; MRP1) : ABCG1 は A β 排出輸送に間接的に寄与している可能性が報告されている²⁹⁾.
- (5) ABCA1 : ABCA1 は A β の排出に間接的に関与しているとの報告³¹⁾がある一方で, ABCA1 欠失が A β の排出を有意に減少させなかったことから, ABCA1 の BBB を介した排出輸送に与える影響は小さいとも報告されている³⁷⁾.
- (6) IDE (insulin degrading enzyme) : A β 分解酵素の一つである IDE が A β のクリアランスに関与していることが指摘されている²⁷⁾³⁸⁾.
- (7) ABCG4 : ABCG4 は ABCG2 と協調してコレステロール代謝と関連した BBB を介する A β の脳外への排出に関与している可能性が報告されている³⁹⁾.
- (8) LRP2 : LRP2 が脳血管内皮細胞や脈絡叢上皮細胞での A β とアポ J の複合体の排出に関与していることが指摘されている²⁶⁾⁴⁰⁾.
- (9) LDLR (low-density lipoprotein receptor) : LDL 受容体を過剰発現させると, 組織間液中の A β のクリアランスを増加させ, A β 蛋白の沈着を阻害したとする報告⁴¹⁾⁴²⁾や, LDL 受容体を欠失させると脳内 A β 蛋白の沈着が増加したとする報告がある⁴³⁾.
- (10) CD36 : ミクログリアや脳血管内皮細胞に発現している CD36 が A β 線維の受容体として働き活性酸素の産生に関与

していることが報告されている⁴⁴⁾.

- (11) FPRL1 (formylpeptide receptor-like-1) : A β が FPRL1 と結合しミクログリアなどの細胞内に取り込まれることが報告されている⁴⁵⁾.
- (12) VLDL 受容体 : A β とアポ E4 との複合体は VLDL 受容体を介してゆっくり脳外へ排出されると報告されている⁴⁶⁾. 一方, A β とアポ E2 やアポ E3 との複合体はより早く排出される LRP1 と VLDL 受容体を介してアポ E4 より早く排出されると報告されている⁴⁶⁾.

上記のような輸送体や受容体が A β のクリアランスに関与している可能性が指摘されている. しかしながら, BBB を介する経細胞的かつ直接的な A β の輸送が実際に行われているのか, あるいはどのような機構で行われているのかといったことは, 現時点では完全には解明されていないと言える. これは, 脳血管内皮細胞における BBB と脈絡叢上皮細胞における BCSFB が区別されずに評価されていることも一因であるのかも知れない. 一方, A β の BBB を介する血管内から脳内への流入輸送体に関しては, RAGE (receptor for advanced glycation end products) が良く知られている^{47)~49)}. A β の輸送に関与している可能性が指摘されている輸送体の脈絡叢上皮細胞, 脳室上衣細胞, 血管内皮細胞における局在に関するヒト剖検脳での免疫染色結果を Fig. 7 に示すが⁵⁰⁾⁵¹⁾, mRNA レベルでの発現検討や実際の輸送機能を有しているかを検討する *in vitro* 実験結果が待たれる.

(B) 脳内における酵素による A β の分解もクリアランス機

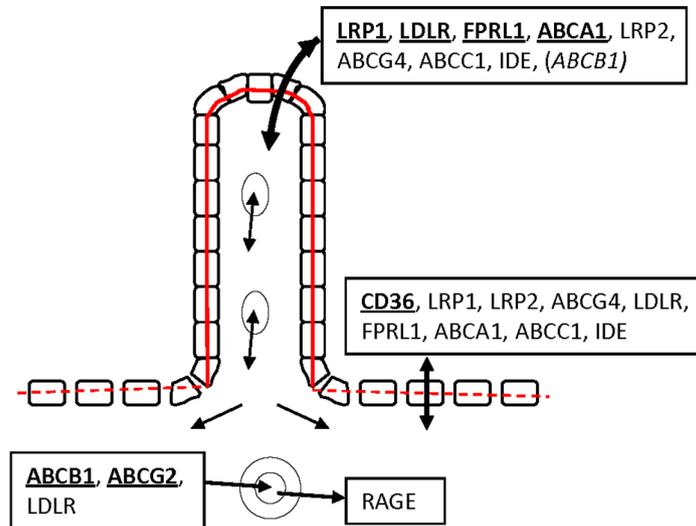


Fig. 7 A β transport through the choroid plexus, ependymal cells, and cerebral vessels.

Recent studies of the autopsied human brain on efflux transporters of A β ^{50/51} have reported the immunohistochemical expressions of LDLR, LRP1, LRP2, FPRL1, ABCA1, ABCC1, ABCG4, and IDE in the choroid plexus epithelium. Immunohistochemical expressions of CD36 as well as LDLR, LRP1, LRP2, FPRL1, ABCA1, ABCC1, ABCG4, and IDE are observed in the ventricular ependymal cells. Clear expressions of transporters are indicated by the underlined bold type. Clear expressions of ABCB1 and ABCG2 (indicated by bold underlined type) are observed in the vessel wall, while the expression of LDLR is also seen in the vessel wall. Weak expression of RAGE, a representative influx transporter of A β , is occasionally observed in the vessel wall. In addition, the study by Daood et al.⁵⁰ reported the immunohistochemical expression of ABCB1 (indicated by italic type) in the choroid plexus epithelium.

構の一つに挙げられる。その代表的な酵素としてネプリライシンが知られており、その発現量とA β 沈着との逆相関関係が報告されている⁵²。さらに、A β を分解する酵素としてIDEも良く知られるようになってきている^{27/53}が、この酵素はまさしくインスリンを分解する酵素でもあり、高インスリン状態とアミロイド沈着の関係を解明する際に鍵となる物質の一つであることは言うまでもない。

(C) 脳内A β は細胞内に取り込まれることによっても排除されることが知られている。周皮細胞⁵⁴、平滑筋細胞⁵⁵、神経細胞⁵⁶、アストロサイト^{57/58}やミクログリア⁵⁹において、LRP-1やLDLRなどの受容体を介してA β が取り込まれる可能性が指摘されている。

(D) さらには、脳内A β のクリアランス機構の一つとして、血管周囲排出路を介する排除が挙げられるが、詳細は後述する。

ところで、現在、脳組織間液や脳脊髄液の脳外への排泄路として複数の通路が想定されている^{60)~64)}(Fig. 8)が、血管周囲排出路(perivascular drainage pathway)とグリアリンパ排出路(glymphatic pathway)と称されている経路に大別される。血管周囲排出路では、脳組織間液は血管壁に到達すると脳毛細血管基底膜から動脈平滑筋層内を血流とは逆行する方向に移動し、最終的に頸部リンパ節に流入すると考えられている。脳脊髄液のグリアリンパ排出路は、動脈周囲からアクアポリン4依存性にアストロサイト細胞質内、組織間、アストロサ

イト細胞質内、そして、血流と順行性に静脈周囲を伝わって脳脊髄液に入り、頸部リンパ節や静脈洞といった脳外へと排出されるものである^{65)~69)}。尚、この際、脳脊髄液に含まれる高分子量物質の脳組織内への移動に関しては制限されていることも指摘されている^{67/68)}。そして、脳脊髄液は、従来から言われているくも膜絨毛から上矢状洞内へ移行する経路、脳内くも膜下腔から嗅神経周囲のくも膜下腔を伝わり嗅粘膜から頸部リンパ節内に移行する経路⁷⁰⁾、最近確立しつつあるくも膜下腔から硬膜内リンパ管に入り頸部リンパ節に流入する経路^{65/66)}を介して脳外へ排出されると想定されている(Fig. 8)。

このように、脳組織間液および脳脊髄液は複数の経路によってリンパ管内や血管内(脳外)に戻されているのではないかと提唱がなされるようになった⁶⁴⁾。そして、これらの排出経路が障害されれば、種々の脳疾患の病態増悪に繋がることは想像に難くない。実際、このクリアランス機構が破綻して血管壁にタンパク質が蓄積するような病態がPEFA(protein-elimination failure arteriopathies)と称され、様々な疾患での関与が推定されている⁶²⁾。AD脳における血管周囲リンパ排泄路に関する知見として、初期の脳アミロイド血管症におけるA β の沈着は、脳組織間液の排泄経路である血管中膜平滑筋基底膜から始まることが指摘されている⁶¹⁾。アミロイド血管症などではこれらの排出路が障害を受けていることは十分に考えられ、この排出路対策が認知機能改善に結びつくものと考えられる⁶²⁾。

(A) Perivascular drainage pathway

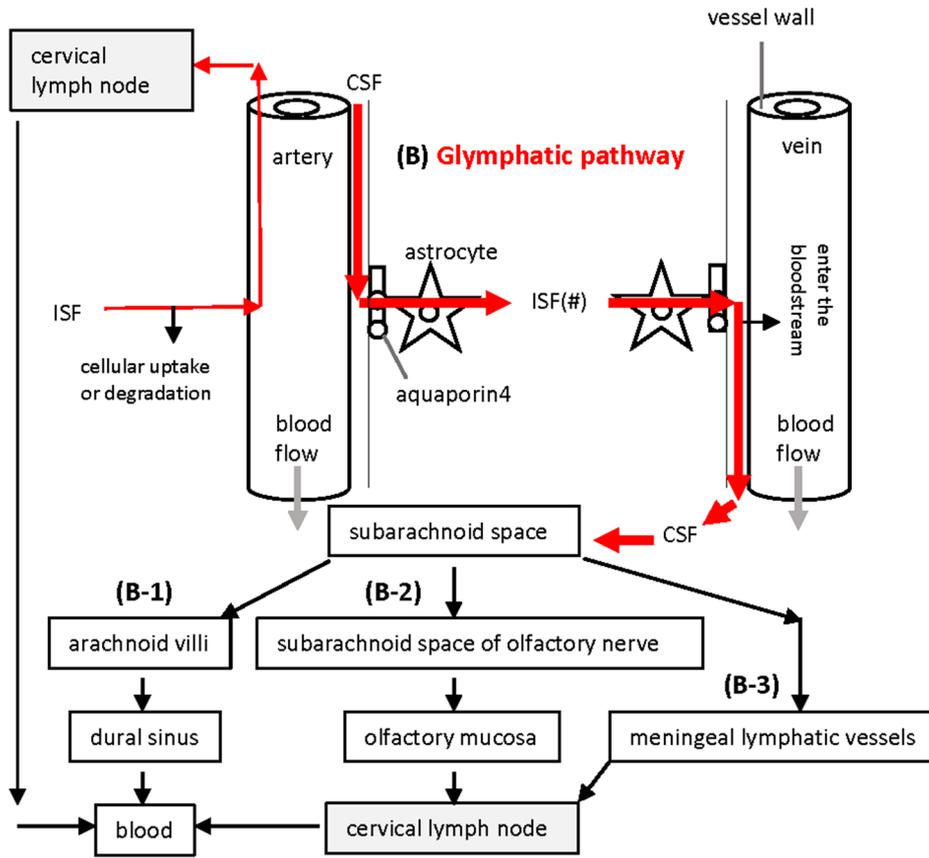


Fig. 8 Perivascular drainage and glymphatic pathways.

Recent reports⁶⁰⁻⁶⁹ have suggested that clearance of interstitial fluid (ISF) and cerebrospinal fluid (CSF) to the outside of the brain involves both perivascular drainage and glymphatic pathways. (A) Through the perivascular drainage pathway (indicated by thin solid red lines), ISF flows through the basement membrane of the capillary walls, tunica media of arteries, and the vessel walls of the internal carotid artery, and then drains into the cervical lymph nodes. This may be affected by cellular uptake or degradation. (B) Through the glymphatic pathway (indicated by heavy solid red lines), CSF flows through the para-arterial routes, enters the interstitial space by aquaporin 4-dependent transport through the astroglial cytoplasm, drains into the paravenous routes, and may be dispersed into the subarachnoid CSF or enter the bloodstream across the vasculature. CSF in the subarachnoid space drains directly into the blood via the arachnoid villi of the dural sinus (B-1), and drains into the cervical lymph nodes via the subarachnoid spaces around the olfactory nerves and nasal lymphatics (B-2), or via the meningeal lymphatic vessels (B-3). (#): It has been reported that the mixing of CSF with ISF is dependent upon the presence of astrocytic aquaporin 4^{67,68}, while it has been pointed out that the exact relationship between the perivascular drainage and glymphatic pathways requires further investigation⁶⁹. Modified from a paper reported by Ueno et al.¹³³

バリアの破綻から血管性認知症への道筋は？

BBBが脳虚血などの侵襲によって障害されると、脳実質は障害性のある抗体や補体などの血管内物質にさらされやすくなり、さらに栄養物質が神経細胞に輸送されず、脳機能障害をもたらすと考えられる。それ故、脳血管のBBB機能障害が様々な脳病態に関与している可能性が推定され、多くの論文で血管病としての血管性認知症の病態が論じられている^{71)~75)}。

老化に伴い増悪しうる血管性認知症は、脳の虚血あるいは出血を原因とし、多発梗塞性認知症と小血管性認知症に大きく分類され、後者は、病理学的にはラクナ梗塞の多発や白質病変によって特徴づけられる。具体的には、高血圧に基づく

細動脈硬化の結果、血管壊死とフィブロヒアリノーシスがもたらされる。そして、血管壊死からは小血管閉塞やラクナ梗塞が引き起こされ、血管周囲の線維化を特徴とするフィブロヒアリノーシスからは慢性低灌流状態や白質病変といったピンズワングー型脳梗塞が引き起こされ、このような血管病変に基づき血管性認知症が形成されるという仮説も提唱されている⁷¹⁾。近年、この血管壊死とフィブロヒアリノーシスの形成にBBB障害の関与が想定されだしている¹⁵⁾⁷¹⁾。血管性認知症におけるBBB障害の役割を考えるに際し、どのような侵襲がBBBを障害しているのか、どの領域のBBBが障害を受けやすいのか、どのような機序で障害されるのかを明らかにすることは治療を考える上でも有意義であると考えられる。こ

ここでは、血管性認知症を引き起こす侵襲として、(1) 老化(記憶学習障害を伴うものと伴わないもの)、(2) 急性虚血後再灌流、(3) 慢性低灌流、(4) 高血圧、(5) 高血糖、(6) 水頭症状態の 6 因子 (侵襲) に対する実験モデル動物における BBB 機能、及びヒト脳での BBB 機能のデータを紹介する。尚、実験動物モデルでは初期変化を明らかにするため、できるだけ軽微な侵襲かつ若齢での状態を検討することを試みた。

(1) 老化、記憶学習障害時の BBB 機能

老化促進モデルマウス (senescence-accelerated mouse; SAM)、中でも、加齢に伴い記憶学習障害を発症する SAMP8 の海馬と嗅球の BBB 機能は加齢に伴い障害されていた^{76)~81)}。尚、コントロールの記憶学習障害を発症しない SAMR1 においては、ヨードラベルされたアルブミンの脳内移行に定量的には加齢変化を認めるものの、形態学的な裏付けは得られなかった⁷⁶⁾⁸⁰⁾。また、マウス脳室周囲領域はもともと BBB 機能が脆弱であり、加齢変化も受けやすい事が示唆された²¹⁾⁸²⁾。一方、ヒト脳の BBB の加齢変化に関してはいままでも意見の相違がみられてきたが、最近の大規模メタアナリシスの結果からは、老化に伴う BBB 機能の障害が認められており、これは特に認知症や白質障害のある患者で明らかであった¹⁶⁾。さらに、BBB 障害はヒト脳の初期の加齢変化であり、海馬から始まるとの報告もある⁸³⁾。

(2) 急性虚血後再灌流時の BBB 機能

一過性に片側頸動脈を結紮した砂ネズミの BBB 機能は、結紮側の海馬の hippocampal fissure に沿った血管において障害されていた⁸⁴⁾。一方、BBB 障害はヒト急性虚血脳でも確認されており、再灌流状態によってその程度は変化することが報告されている⁸⁵⁾。

(3) 慢性低灌流時の BBB 機能

脳血流が 30~40% にまで低下している両側総頸動脈結紮ウイスターラットでは、結紮後 7 日目に脳梁の粗鬆化を来すが⁸⁶⁾、その BBB 機能を検討したところ、結紮後 3 日目の脳梁ですでに BBB 障害が生じていた⁸⁷⁾。一方、ヒト虚血脳あるいは AD 脳において、白質障害部位に BBB 障害が生じることが報告されている⁸⁸⁾⁸⁹⁾。

(4) 高血圧状態の BBB 機能

実験的高血圧モデル動物である脳卒中易発症系自然発症高血圧ラット (SHRSP) では、3 ヶ月齢にて海馬の hippocampal fissure に沿った血管の BBB 機能が障害されていた⁹⁰⁾。さらに、4~5 ヶ月齢では浮腫を伴う白質障害が生じていた⁹¹⁾⁹²⁾。この 3 ヶ月齢 SHRSP 海馬の BBB 障害血管で発現が変化している物質を検討したところ、オステオポンチン⁹³⁾、matrix metalloproteinase-13 (MMP-13)⁹⁴⁾、CD36⁹⁵⁾ などの物質の発現が亢進し、エストロゲン受容体の発現が低下していた⁹³⁾。障害後の結果をみている可能性も十分考えられるが、これらの物質が BBB 障害を引き起こす可能性も推測される。一方、

ヒトでは高血圧状態が BBB 障害を伴う白質障害に先行していたことが報告されており⁹⁶⁾⁹⁷⁾、高血圧によって白質障害が生じうると考えられる。

(5) 高血糖状態の BBB 機能

ストレプトゾトシンを負荷して実験的に高血糖状態にしたマウスやラットでは、デキストランやスクロースといった糖関連物質の脳血管透過性は亢進していた⁹⁸⁾⁹⁹⁾。この際、高血糖に加えて MMP 活性の亢進が必要であるとの指摘もある⁹⁹⁾。また、レプチン受容体遺伝子変異によって高血糖状態にある *db/db* マウスでは、大脳皮質における HRP の血管透過性は変化しなかったが¹⁰⁰⁾、脳室周囲領域におけるアルブミンの血管透過性が亢進していた¹⁰¹⁾。この *db/db* マウスではコントロールと比べて糖化アルブミンが増加していること¹⁰²⁾、および血管内皮細胞表面の荷電を有する glycoalyx の密度が減少していること¹⁰⁰⁾が知られている。従って、*db/db* マウスでは糖化アルブミンの増加と血管内皮細胞での電氣的障壁の障害に基づいて、糖化物質の血管透過性が亢進しているものと推測された。電氣的障壁の影響を受けないと考えられる HRP の血管透過性は亢進していないにも関わらず、糖化が進んでいると想定されるアルブミンなどの糖関連物質の血管透過性は亢進しやすいことは興味深い。高血糖状態では荷電を有する毒性物質の脳内移行が増加していることが推測され、このことから糖尿病患者における HbA1c のコントロールは重要であると考えられる。一方、ヒトではガドリニウム MRI を用いた 2 型糖尿病患者脳の前頭葉において、基底核での血管透過性が亢進していることが報告されている¹⁰³⁾。この際、MRI にて白質高信号を認める患者に血管透過性の亢進が認められている。また、認知症に罹患していない患者における糖化ヘモグロビンレベルが深部白質の MRI 高信号と相関することも指摘されている¹⁰⁴⁾。これらの報告からは、脳室周囲白質領域に MRI 異常信号を持つ糖尿病患者における血糖コントロールのさらなる重要性が示唆される。

(6) 水頭症状態の BBB 機能

低酸素誘導因子 (hypoxia-inducible factor-1 α ; hif-1 α) の中枢神経系細胞特異的ノックアウトマウスは水頭症を発症するが¹⁰⁵⁾、この水頭症を発症している 10 週齢のマウスにおける BBB 機能障害は明らかではなかった¹⁰⁶⁾。

以上の実験動物を主体とした実験結果からは、BBB のバリア機能は主として急性虚血後再灌流状態と高血圧状態の海馬、及び、慢性低灌流状態の脳梁において障害されていた。また、高血圧は血管障害を伴う白質障害をもたらしていると推測された。さらに、高血糖状態は血管壁での glycoalyx の障害やプロテアーゼ活性の亢進を伴った脳室周囲領域のバリア障害に寄与しており、老化は海馬および脳室周囲白質領域の両者のバリア障害を助長しているものと考えられた。これらの因子が合わさることにより、血管性認知症の認知機能の増悪が引き起こされている可能性が推測される (Fig. 9)。尚、脳機能障害にリンパ球や抗原提示細胞の関与も推測されるが、

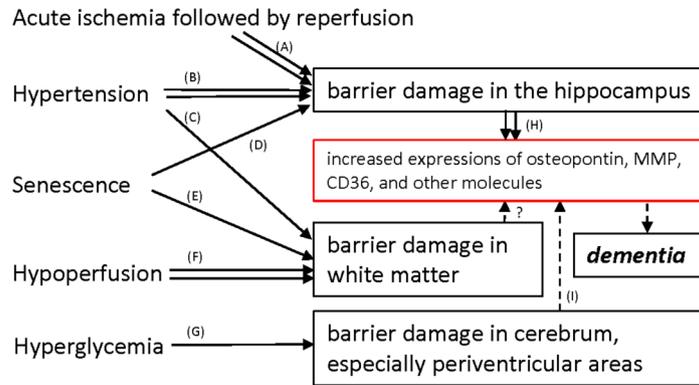


Fig. 9 A hypothesis on relationships among insults, barrier damage, and dementia.

On the basis of the experimental results, the effects of acute ischemia followed by reperfusion, hypertension, senescence, hypoperfusion, and hyperglycemia, on barrier dysfunction in the hippocampus, white matter, and the cerebrum including periventricular areas are shown by solid arrows. Acute ischemia followed by reperfusion clearly induces barrier dysfunction in the hippocampus (A)⁸⁴, while hypertension induce not only clear barrier dysfunction in the hippocampus (B)⁹⁰ but also that in the white matter (C)⁹¹. Senescence induces mild barrier dysfunction in the hippocampus (D)^{76/78/80} and periventricular white matter (E)⁸². Hypoperfusion induces barrier dysfunction in the white matter (F)⁸⁷. Hyperglycemia induces barrier dysfunction in the cerebrum including periventricular areas (G)^{98/99/101}. It is likely that barrier dysfunction in the hippocampus related to increased expressions of osteopontin, MMP, CD36, and other molecules due to hypertensive insult (H)⁹³⁻⁹⁵ induces brain dysfunction, followed by the occurrence or aggravation of dementia, as indicated by solid arrows. In addition, barrier dysfunction in the cerebrum, especially the periventricular areas, due to hyperglycemic insult may also be related to the increased expression of these molecules (I)¹⁰⁸⁻¹¹⁰, shown by dashed arrows. The relationship between barrier dysfunction in the white matter and the increased expression of the molecules remains to be clarified, as shown by the dashed arrow with a question mark.

それら血球系細胞の血管内から脳内、あるいは脳内から脳外への移動経路に関して、最近、優れた総説がでている⁶⁹。現状では、免疫担当細胞は細動脈壁の狭い平滑筋中を経る血管周囲排出路ではなく、脳脊髄液のグリアリンパ排出路を通過して頸部リンパ節に移動するものと推測されている^{63-65/69/107}。種々の認知症の病態解明のためには、この免疫担当細胞の役割の解明も待たれる。

バリア障害の具体的機序について

高血圧症を発症している3ヶ月齢SHRSP海馬の脳血管内皮細胞では、HRPの小胞輸送が増加することによる血管透過性の亢進を認めたが、HRPが内皮細胞同士の密着結合間を通過している像は観察されなかった⁹⁰。急性虚血後再灌流および低灌流状態においても小胞輸送の増加が示唆され、加えて内皮細胞障害も認められた^{84/87}。また、加齢による影響においても内皮細胞障害を認めている⁸⁰。一方、高血糖状態ではHRPの血管透過性は増加していなかったが¹⁰⁰、血管内皮細胞表面のglycocalyxの障害を伴ったアルブミン（高血糖によって血管内で糖化が進んでいるとされている¹⁰²）の血管透過性が亢進していた¹⁰¹。このように、侵襲の種類によって血管透過性亢進の機序は異なっており、特に、高血圧（小胞輸送の増加）と糖尿病（糖化とglycocalyxの障害）で血管透過性亢進の機序が異なることは、脳血管障害性疾患の治療を考える上で配慮すべき点と考えられる。

バリア障害と種々の物質の発現との関係について

高血圧に基づくBBB障害血管の生化学的分析結果からは、BBB障害部位ではオステオポンチン⁹³、MMP-13⁹⁴、CD36⁹⁵などの発現が亢進していることが明らかになった。また、これらの物質は高血糖状態や糖尿病の実験モデル動物においても同様に発現が亢進していることが報告されている¹⁰⁸⁻¹¹⁰。

オステオポンチンはADの脳脊髄液においても増加しており、その濃度と認知機能とは関連があることが指摘されている¹¹¹。また、オステオポンチンは、動脈硬化性病変をはじめとした様々な病的状態で発現が亢進していることが報告されている¹¹²。一方で、マウスの脳梗塞モデルにおいてトロンピンで切断されたオステオポンチンの断片を脳室内あるいは鼻粘膜内投与すると、脳梗塞巣の大きさの縮小効果や脳虚血障害に対する保護効果がみられたとの報告がある^{113/114}。また、マウスの脊髄では、オステオポンチンと白質障害との関連性を指摘する論文もみられる¹¹⁵。これらの報告からは、オステオポンチンの脳機能に対する作用は不確定であるが、トロンピンで切断されたオステオポンチン断片なのか、あるいはMMPで切断されたオステオポンチン断片なのか¹¹⁶で作用が異なってくる可能性も推測され、病変部およびその周辺の環境が重要であるのかもしれない。

MMPの虚血性脳障害における役割はよく検討されており¹¹⁷、MMP-2はBBB障害を伴う血管性認知症やラクナー梗塞患者脳で発現が亢進していることが知られている¹¹⁸。ま

た, MMP-2は慢性低灌流モデル動物における白質障害部位のBBB障害にも関連している¹¹⁹⁾. さらに, MMP-2のみならずMMP-3の発現も血管性認知症患者の白質障害部位で観察されている¹²⁰⁾. 一方, MMP-9は claudin-5や occludinの発現抑制を伴ったBBB障害をもたらす, 虚血性脳障害に関係していることが報告されている¹¹⁷⁾¹²¹⁾. 我々の検討では, 脳血管障害の初期段階と考えられる血管透過性亢進状態の3ヶ月齢SHRSP海馬血管においては, MMP-2, MMP-3, MMP-9ではなくMMP-13の発現が亢進しており⁹⁴⁾, claudin-5や occludinの発現に影響を与えていなかった. MMP-13に関しては, MMP-13の発現亢進そのものが血管障害を助長している可能性も指摘されており¹²²⁾, 高血圧に基づくMMP-13発現亢進状態が初期段階の血管障害になんらかの影響を与えているものと考えられる.

高血圧, 糖尿病, A β 刺激は酸化ストレスを誘導することが知られており^{123)~125)}, この酸化ストレスにはCD36の関与が指摘されている¹²⁶⁾. タンパク質の糖化によりAGEが産生されて酸化ストレスを惹起させるだけでなく, タンパク質の β シート構造を誘導する¹²⁷⁾ことで, A β の沈着促進に繋がる可能性が推測されている. A β 刺激は上述のMMP-13のみならず¹²⁸⁾, CD36発現増加をももたらすことが報告されている¹²⁹⁾. そして, このCD36の発現そのものが血管障害を助長するとの指摘もある¹³⁰⁾¹³¹⁾. また, CD36はA β のクリアランスにも関係している物質である⁴⁴⁾. このように, タンパク質の糖化亢進を含む何らかの誘引によって脳内のA β が増加すると, そのクリアランスのためにCD36などの物質の発現が亢進し, このCD36の発現亢進そのものがさらなる血管障害を生じさせ, 血管性認知症の増悪に繋がるという機序が推測される. アルツハイマー病と血管性認知症が合併する際, このCD36などの物質の発現亢進が両者を橋渡ししている可能性は検討するに値するものと思われる. 最近, ヒト剖検脳の脳室上衣細胞および脳室下ビメンチン陽性グリア様細胞にCD36の発現があることが報告され⁵¹⁾, 脳室周囲領域のグリオシスにおけるCD36の役割も推測されるが, これらCD36陽性細胞の存在意義の解明は今後の課題である. これまでの報告結果に基づき, 認知機能障害機序の一つの考え方(仮説)ではあるが, バリア機能の障害と認知症との関連についてFig. 9にまとめた.(海馬, 白質, 脳室周囲領域を含めた脳全体のBBB機能に分け, 関連物質についても記載している.)

総 括

これまでに述べた動物実験からは, 血管性認知症を引き起こす種々の侵襲に対するバリア機能の検討結果として, 高血圧, 急性虚血後再灌流, 老化が海馬血管のバリア障害を, 慢性低灌流と高血圧が白質血管のバリア障害を, 糖尿病が脳室周囲領域を中心とした脳全体のバリア障害をもたらしていると考えられた. これらはMRIやCT画像所見から高齢者脳に生じた病態を類推し, 治療へ応用されうる結果である. また, 血管内での糖化を防止することやCD36などの発現を低下

せる作用のある薬剤投与がBBB障害の軽減をもたらす血管障害に基づく認知症の予防や治療薬になりうることも示唆している. さらに, ラクナ梗塞, 脳室周囲白質粗鬆症, 血管性認知障害を引き起こす脳内微小血管病の脳において, トロンビンの発現をコントロールすることにより抗血栓性を発揮するトロンボモジュリンの発現が亢進していることも報告されており¹³²⁾, 抗凝固系のトロンビン・トロンボモジュリン・プロテインC系をコントロールすることも血管性認知症を含む脳血管性疾患の治療に有効であるかもしれない. 尚, 今回の検討では, 種々の侵襲による実験動物脳の初期段階の変化を中心にみており, また, ヒトの血管性認知症脳を用いた検討は行っていないため, 多方面からのさらなる検討が必要である.

※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) Reese TS, Karnovsky MJ. Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *J Cell Biol* 1967;34:207-217.
- 2) Brightman MW, Reese TS. Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain. *J Cell Biol* 1969;40:648-677.
- 3) Brightman MW, Klatzo I, Olsson Y, et al. The blood-brain barrier to proteins under normal pathological conditions. *J Neurol Sci* 1970;10:215-239.
- 4) Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron* 2008;57:178-201.
- 5) Redzic Z. Molecular biology of the blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: similarities and differences. *Fluids Barriers CNS* 2011;8:3.
- 6) Abuznait AH, Kaddoumi A. Role of ABC transporters in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *ACS Chemical Neurosci* 2012;3:820-831.
- 7) Davson H, Welch K, Segal MB. Morphological aspects of the barriers. In: Davson H, Welch K, Segal MB, editors. *Physiology and pathophysiology of the cerebrospinal fluid*. Edinburgh, London, Melbourne, New York: Churchill Livingstone; 1987. p. 105-188.
- 8) Jimenez AJ, Dominguez-Pinos MD, Guerra MM, et al. Structure and function of the ependymal barrier and diseases associated with ependymal disruption. *Tissue Barriers* 2014;2:e28426.
- 9) Brightman MW, Palay SL. The fine structure of ependyma in the brain of the rat. *J Cell Biol* 1963;19:415-439.
- 10) Saunders NR, Habgood MD, Mollgard K, et al. The biological significance of brain barrier mechanisms: help or hindrance in drug delivery to the central nervous system? *F1000Research* 2016;5. pii: F1000 Faculty Rev-313.
- 11) Abbott NJ. Evidence for bulk flow of brain interstitial fluid: significance for physiology and pathology. *Neurochem Int* 2004;45:545-552.
- 12) Nabeshima S, Reese TS, Landis DMD, et al. Junctions in the meninges and marginal glia. *J Comp Neurol* 1975;164:127-170.
- 13) Hutchings M, Weller RO. Anatomical relationships of the pia mater to cerebral blood vessels in man. *J Neurosurg*

- 1986;65:316-325.
- 14) Duvernoy HM, Risold PY. The circumventricular organs: An atlas of comparative anatomy and vascularization. *Brain Res Rev* 2007;56:119-147.
 - 15) Wardlaw JM, Doubal F, Armitage P, et al. Lacunar stroke is associated with diffuse blood-brain barrier dysfunction. *Ann Neurol* 2009;65:194-202.
 - 16) Farrall AJ, Wardlaw JM. Blood-brain barrier: Ageing and microvascular disease—systematic review and meta-analysis. *Neurobiol Aging* 2009;30:337-352.
 - 17) Krisch B, Leonhardt H, Buchheim W. The functional and structural border of the neurohemal region of the median eminence. *Cell Tiss Res* 1978;192:327-339.
 - 18) Krisch B, Leonhardt H. The functional and structural border between the CSF- and blood-milieu in the circumventricular organs (Organum vasculosum laminae terminalis, Subfornical organ, Area postrema) of the rat. *Cell Tiss Res* 1978;195:485-497.
 - 19) Broadwell RD, Sofroniew MV. Serum proteins bypass the blood-brain fluid barriers for extracellular entry to the central nervous system. *Exp Neurol* 1993;120:245-263.
 - 20) Ueno M, Akiguchi I, Hosokawa M, et al. Accumulation of blood-borne horseradish peroxidase in medial portions of the mouse hippocampus. *Acta Neurol Scand* 1994;90:400-404.
 - 21) Ueno M, Akiguchi I, Hosokawa M, et al. Blood-brain barrier permeability in the periventricular areas of the normal mouse brain. *Acta Neuropathol* 2000;99:385-392.
 - 22) Ueno M, Akiguchi I, Hosokawa M, et al. The passage of blood-brone horseradish peroxidase into the amygdaloid area of the mouse brain. *Histochem Cell Biol* 1999;11:265-270.
 - 23) 伊藤慎悟, 大槻純男, 寺崎哲也. 脳内アミロイドβクリアランスにおける血液脳関門排出輸送分子機構とその破綻. 血液脳関門: BBB の概念提唱から百年の時を越えて捉えたその実体. *細胞工学* 2013;32:965-970.
 - 24) Shibata M, Yamada S, Kumar SR, et al. Clearance of Alzheimer's amyloid- β_{1-40} peptide from brain by LDL-receptor-related protein-1 at the blood-brain barrier. *J Clin Invest* 2000;106:1489-1499.
 - 25) Zlokovic BV. Cleaning amyloid through the blood-brain barrier. *J Neurochem* 2004;89:807-811.
 - 26) Zlokovic BV. Neurovascular mechanisms of Alzheimer's neurodegeneration. *Trends Neurosci* 2005;28:202-208.
 - 27) Shiiki T, Ohtsuki S, Kurihara A, et al. Brain insulin impairs amyloid- $\beta(1-40)$ clearance from the brain. *J Neurosci* 2004;24:9632-9637.
 - 28) Cirrito JR, Deane R, Fagan AM, et al. P-glycoprotein deficiency at the blood-brain barrier increases amyloid- β deposition in an Alzheimer's disease mouse models. *J Clin Invest* 2005;115:3285-3290.
 - 29) Krohn M, Lange C, Hoftichter J, et al. Cerebral amyloid- β proteostasis is regulated by the membrane transport protein ABCG1 in mice. *J Clin Invest* 2011;121:3924-3931.
 - 30) Abuznait AH, Kaddoumi A. Role of ABC transporters in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *ACS Chemical Neurosci* 2012;3:820-831.
 - 31) Gosselet F, Saint-Pol J, Candela P, et al. Amyloid- β peptides, Alzheimer's disease and the blood-brain barrier. *Curr Alzheimer Res* 2013;10:1015-1033.
 - 32) Carrano A, Snkhchyan H, Kooij G, et al. ATP-binding cassette transporters P-glycoprotein and breast cancer related protein are reduced in capillary cerebral amyloid angiopathy. *Neurobiol Aging* 2014;35:565-575.
 - 33) Deane R, Wu Z, Sagare A, et al. LRP/amyloid β -peptide interaction mediates differential brain efflux of A β isoforms. *Neuron* 2004;43:333-344.
 - 34) Ito S, Ueno T, Ohtsuki S, et al. Lack of brain-to-blood efflux transport activity of low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP-1) for amyloid- β peptide(1-40) in mouse: involvement of an LRP-1-independent pathway. *J Neurochem* 2010;113:1356-1363.
 - 35) Volgelgesang S, Cascorbi I, Schroeder E, et al. Deposition of Alzheimer's beta-amyloid is inversely correlated with P-glycoprotein expression in the brains of elderly non-demented humans. *Pharmacogenetics* 2002;23:535-541.
 - 36) Xiong H, Callaghan D, Jones A, et al. ABCG2 is upregulated in Alzheimer's brain with cerebral amyloid angiopathy and may act as a gatekeeper at the blood-brain barrier for A β_{1-40} peptides. *J Neurosci* 2009;29:5463-5475.
 - 37) Akanuma S, Ohtsuki S, Doi Y, et al. ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) deficiency does not attenuate the brain-to-blood efflux transport of human amyloid- β peptide (1-40) at the blood-brain barrier. *Neurochem Int* 2008;52:956-961.
 - 38) Behl M, Zhang Y, Zheng W. Involvement of insulin-degrading enzyme in the clearance of beta-amyloid at the blood-CSF barrier: Consequences of lead exposure. *Cerebrospinal Fluid Res* 2009;6:11.
 - 39) Do TM, Noel-Hudson MS, Ribes S, et al. ABCG2- and ABCG4-mediated efflux of amyloid- β peptide 1-40 at the mouse blood-brain barrier. *J Alzheimer's Dis* 2012;30:155-166.
 - 40) Zlokovic BV, Martel CL, Matsubara E, et al. Glycoprotein 330/megalin: probable role in receptor-mediated transport of apolipoprotein J alone and in a complex with Alzheimer disease amyloid β at the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:4229-4234.
 - 41) Castellano JM, Deane R, Gottesdiener AJ, et al. Low-density lipoprotein receptor overexpression enhances the rate of brain-to-blood A β clearance in a mouse model of β -amyloidosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:15502-15507.
 - 42) Kim J, Castellano JM, Jiang H, et al. Overexpression of low-density lipoprotein receptor in the brain markedly inhibits amyloid deposition and increases extracellular A β clearance. *Neuron* 2009;64:632-644.
 - 43) Cao D, Fukuchi K, Wan H, et al. Lack of LDL receptor aggravates learning deficits and amyloid deposits in Alzheimer transgenic mice. *Neurobiol Aging* 2006;27:1632-1643.
 - 44) Coraci IS, Hu Coraci IS, Husemann J, et al. CD36, a class B scavenger receptor, is expressed on microglia in Alzheimer's disease brains and can mediate production of reactive oxygen species in response to beta-amyloid fibrils. *Am J Pathol* 2002;160:101-112.
 - 45) Le Y, Gong W, Tiffany HL, et al. Amyloid β_{42} activates a G-protein-coupled chemoattractant receptor, FPR-like-1. *J Neurosci*

- 2001;21:1-5.
- 46) Deane R, Sagare A, Hamm K, et al. apoE isoform-specific disruption of amyloid β peptide clearance from mouse brain. *J Clin Invest* 2008;118:4002-4013.
 - 47) Yan SD, Chen X, Fu J, et al. RAGE and amyloid- β peptide neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Nature* 1996;382:685-691.
 - 48) Deane R, Du YS, Subramanyam RK, et al. RAGE mediates amyloid- β peptide transport across the blood-brain barrier and accumulation in brain. *Nat Med* 2003;9:907-913.
 - 49) Deane R, Wu Z, Zlokovic BV. RAGE (yin) versus LRP (yang) balance regulates Alzheimer amyloid β -peptide clearance through transport across the blood-brain barrier. *Stroke* 2004;35:2628-2631.
 - 50) Daood M, Tsai C, Ahdab-Barmada M, et al. ABC transporter (P-gp/ABCB1, MRP1/ABCC1, BCRP/ABCG2) expression in the developing human CNS. *Neuropediatrics* 2008;39:211-218.
 - 51) Matsumoto K, Chiba Y, Fujihara R, et al. Immunohistochemical analysis of transporters related to clearance of amyloid- β peptides through blood-cerebrospinal fluid barrier in human brain. *Histochem Cell Biol* 2015;144:597-611.
 - 52) Fukami S, Watanabe K, Iwata N, et al. A β -degrading endopeptidase, neprilysin, in mouse brain: synaptic and axonal localization inversely correlating with A β pathology. *Neurosci Res* 2002;43:39-56.
 - 53) Leissring MA, Farris W, Chang AY, et al. Enhanced proteolysis of β -amyloid in APP transgenic mice prevents plaque formation, secondary pathology, and premature death. *Neuron* 2003;40:1087-1093.
 - 54) Wilhelmus MM, Otte-Holler I, van Triel JJ, et al. Lipoprotein receptor-related protein-1 mediates amyloid- β -mediated cell death of cerebrovascular cells. *Am J Pathol* 2007;171:1989-1999.
 - 55) Kanekiyo T, Liu C-C, Shinohara M, et al. LRP1 in brain vascular smooth muscle cells mediates local clearance of Alzheimer's amyloid- β . *J Neurosci* 2012;32:16458-16465.
 - 56) Kanekiyo T, Crrito JR, Liu C-C, et al. Neuronal clearance of amyloid- β by endocytic receptor LRP1. *J Neurosci* 2013;33:19276-19283.
 - 57) Koistinaho M, Lin S, Wu X, et al. Apolipoprotein E promotes astrocyte colocalization and degradation of deposited amyloid- β peptides. *Nature Med* 2014;10:719-726.
 - 58) Basak JM, Verghese PB, Yoon H, et al. Low-density lipoprotein receptor represents an apolipoprotein E-independent pathway of A β uptake and degradation by astrocytes. *J Biol Chem* 2012;287:13959-13971.
 - 59) Lee CY, Landreth GE. The role of microglia in amyloid clearance from the AD brain. *J Neural Transm* 2010;117:949-960.
 - 60) Carare RO, Bernardes-Silva M, Newman TA, et al. Solutes, but not cells, drain from the brain parenchyma along basement membranes of capillaries and arteries: significance for cerebral amyloid angiopathy and neuroimmunology. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2008;34:131-144.
 - 61) Weller RO, Djuanda E, Yow HY, et al. Lymphatic drainage of the brain and the pathophysiology of neurological disease. *Acta Neuropathol* 2009;117:1-14.
 - 62) Carare RO, Hawkes CA, Jeffrey M, et al. Review: Cerebral amyloid angiopathy, prion angiopathy, CADASIL and the spectrum of protein elimination failure angiopathies (PEFA) in neurodegenerative disease with a focus on therapy. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2013;39:593-611.
 - 63) Laman JD, Weller RO. Drainage of cells and soluble antigen from the CNS to regional lymph node. *J Neuroimmune Pharmacol* 2013;8:840-856.
 - 64) Carare RO, Hawkes CA, Weller RO. Afferent and efferent immunological pathways of the brain. *Anatomy, function and failure. Brain Behav Immun* 2014;36:9-14.
 - 65) Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature* 2015;523:337-341.
 - 66) Aspelund A, Antila S, Proulx ST, et al. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *J Exp Med* 2015;212:991-999.
 - 67) Iliff JJ, Wang M, Liao Y, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci Transl Med* 2012;4:147ra111.
 - 68) Tarasoff-Conway JM, Carare RO, Osorio RS, et al. Clearance systems in the brain—implications for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* 2015;11:457-470.
 - 69) Engelhardt B, Carare RO, Bechmann I, et al. Vascular, glial, and lymphatic immune gateways of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2016;132:317-338.
 - 70) Bradbury MW, Cserr HF, Westrop RJ. Drainage of cerebral interstitial fluid into deep cervical lymph of the rabbit. *Am J Physiol* 1981;240:F329-F336.
 - 71) Roman GC, Erkinjuntti T, Wallin A, et al. Subcortical ischemic vascular dementia. *Lancet Neurol* 2002;1:426-436.
 - 72) Tomimoto H. Subcortical vascular dementia. *Neurosci Res* 2011;71:193-199.
 - 73) van de Haar HJ, Burgmans S, Hofman PAM, et al. Blood-brain barrier impairment in dementia: current and future in vivo assessments. *Neurosci Biobehav Rev* 2015;49:71-81.
 - 74) Popescu BO, Toescu EC, Popescu LM, et al. Blood-brain barrier alterations in ageing and dementia. *J Neurol Sci* 2009;283:99-106.
 - 75) Ueno M, Chiba Y, Matsumoto K, et al. Blood-brain barrier damage in vascular dementia. *Neuropathol* 2016;36:115-124.
 - 76) Ueno M, Akiguchi I, Yagi H, et al. Age-related changes in barrier function in mouse brain. I. Accelerated age-related increase of brain transfer of serum albumin in accelerated senescence prone SAM-P/8 mice with deficits in learning and memory. *Arch Gerontol Geriatr* 1993;16:233-248.
 - 77) Ueno M, Dobrogowska DH, Vorbrodtt AW. Immunocytochemical evaluation of the blood-brain barrier to endogenous albumin in the olfactory bulb and pons of senescence-accelerated mice (SAM). *Histochem Cell Biol* 1996;105:203-212.
 - 78) Ueno M, Akiguchi I, Hosokawa M, et al. Age-related changes in the brain transfer of blood-borne horseradish peroxidase in the hippocampus of senescence-accelerated mouse. *Acta Neuropathol* 1997;93:233-240.
 - 79) Ueno M, Akiguchi I, Hosokawa M, et al. Ultrastructural and permeability features of microvessels in the olfactory bulbs of SAM mice. *Acta Neuropathol* 1998;96:261-270.

- 80) Ueno M, Sakamoto H, Kanenishi K, et al. Ultrastructural and permeability features of microvessels in the hippocampus, cerebellum, and pons of senescence-accelerated mice (SAM). *Neurobiol Aging* 2001;22:469-478.
- 81) Pelegri C, Canudas AM, del Valle J, et al. Increased permeability of blood-brain barrier on the hippocampus of murine model of senescence. *Mech Aging Dev* 2007;128:522-528.
- 82) Ueno M, Sakamoto H, Kanenishi K, et al. Ultrastructural and permeability features of microvessels in the periventricular area of senescence-accelerated mice (SAM). *Microsc Res Tech* 2001;53:232-238.
- 83) Montagne A, Barnes SR, Sweeney MD, et al. Blood-brain barrier breakdown in the aging human hippocampus. *Neuron* 2015;85:296-302.
- 84) Shinnou M, Ueno M, Sakamoto H, et al. Blood-brain barrier damage in reperfusion following ischemia in the hippocampus of the Mongolian gerbil brain. *Acta Neurol Scand* 1998;98:406-411.
- 85) Simpkins AN, Dias C, Leigh R, et al. Identification of reversible disruption of the human blood-brain barrier following acute ischemia. *Stroke* 2016;47:2405-2408.
- 86) Wakita H, Tomimoto H, Akiguchi I, et al. Axonal damage and demyelination in the white matter after chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Brain Res* 2002;924:63-70.
- 87) Ueno M, Tomimoto H, Akiguchi I, et al. Blood-brain barrier disruption in white matter of chronic cerebral hypoperfusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002;22:97-104.
- 88) Tomimoto H, Akiguchi I, Suenaga T, et al. Alterations of the blood-brain barrier and glial cells in white-matter lesions in cerebrovascular and Alzheimer's disease patients. *Stroke* 1996;27:2069-2074.
- 89) Hanyu H, Asano T, Tanaka Y, et al. Increased blood-brain barrier permeability in white matter lesions of Binswanger's disease evaluated by contrast-enhanced MRI. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2002;14:1-6.
- 90) Ueno M, Sakamoto H, Tomimoto H, et al. Blood-brain barrier is impaired in the hippocampus of young adult spontaneously hypertensive rats. *Acta Neuropathol* 2004;107:532-538.
- 91) Hazama F, Chue CH, Kataoka H, et al. Pathogenesis of lacuna-like cyst formation and diffuse degeneration of the white matter in the brain of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995;22:S260-S261.
- 92) Lin JX, Tomimoto H, Akiguchi I, et al. White matter lesions and alteration of vascular cell composition in the brain of spontaneously hypertensive rats. *Neuroreport* 2001;12:1835-1839.
- 93) Iwanaga Y, Ueno M, Ueki M, et al. The expression of osteopontin is increased in vessels with blood-brain barrier impairment. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2008;34:145-154.
- 94) Ueno M, Wu B, Nishiyama A, et al. The expression of matrix metalloproteinase-13 is increased in vessels with blood-brain barrier impairment in a stroke-prone hypertensive model. *Hypertens Res* 2009;32:332-338.
- 95) Ueno M, Nakagawa T, Nagai Y, et al. The expression of *CD36* in vessels with blood-brain barrier impairment in a stroke-prone hypertensive model. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2011;37:727-737.
- 96) Vaslievko V, Passos G, Quiring D, et al. Aging and cerebrovascular dysfunction: contribution of hypertension, cerebral amyloid angiopathy, and immunotherapy. *Ann NY Acad Sci* 2010;1207:58-70.
- 97) Verhaaren BFJ, Vernooij MW, de Boer R, et al. High blood pressure and cerebral white matter lesion progression in the general population. *Hypertension* 2013;61:1354-1359.
- 98) Mooradian AD, Haas MJ, Batejko O, et al. Statins ameliorate endothelial barrier permeability changes in the cerebral tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 2005;54:2977-2982.
- 99) Hawkins BT, Lundeen TF, Norwood KM, et al. Increased blood-brain barrier permeability and altered tight junctions in experimental diabetes in the rat: contribution of hyperglycaemia and matrix metalloproteinases. *Diabetologia* 2007;50:202-211.
- 100) Liao YJ, Ueno M, Nakagawa T, et al. Oxidative damage in cerebral vessels of diabetic db/db mice. *Diabetes Metab Res Rev* 2005;21:554-559.
- 101) Fujihara R, Chiba Y, Nakagawa T, et al. Albumin microvascular leakage in brains with diabetes mellitus. *Microsc Res Tech* 2016;79:833-837.
- 102) Cohen MP, Hud E, Shea E, et al. Normalizing glycated albumin reduces increased urinary collagen IV and prevents renal insufficiency in diabetic *db/db* mice. *Metabolism* 2002;51:901-905.
- 103) Starr JM, Wardlaw J, Ferguson K, et al. Increased blood-brain barrier permeability in type II diabetes demonstrated by gadolinium magnetic resonance imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:70-76.
- 104) Murray AD, Staff RT, Shenkin SD, et al. Brain white matter hyperintensities: Relative importance of vascular risk factors in nondemented elderly people. *Radiology* 2005;237:251-257.
- 105) Tomita S, Ueno M, Sakamoto M, et al. Defective brain development in mice lacking the *Hif-1 α* gene in neural cells. *Mol Cell Biol* 2003;23:6739-6749.
- 106) Ueno M, Tomita S, Nakagawa T, et al. Effects of aging and *HIF-1 α* deficiency on permeability of hippocampal vessels. *Microsc Res Tech* 2006;69:29-35.
- 107) Kaminski M, Bechmann I, Pohland M, et al. Migration of monocytes after intracerebral injection at entorhinal cortex lesion site. *J Leukoc Biol* 2012;92:31-39.
- 108) Cai M, Bompada P, Atac D, et al. Epigenetic regulation of glucose-stimulated osteopontin (OPN) expression in diabetic kidney. *Biochem Biophys Res Comm* 2016;469:108-113.
- 109) Chen YJ, Chan DC, Lan KC, et al. *PPAR γ* is involved in the hyperglycemia-induced inflammatory responses and collagen degeneration in human chondrocytes and diabetic mouse cartilages. *J Orthop Res* 2015;33:373-381.
- 110) Lu H, Yao K, Huang D, et al. High glucose induces upregulation of scavenger receptors and promotes maturation of dendritic cells. *Cardiovasc Diabetol* 2013;12:80.
- 111) Comi C, Carecchio M, Chiocchetti A, et al. Osteopontin is increased in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease and its levels correlate with cognitive decline. *J Alzheimer Dis* 2010;19:1143-1148.
- 112) Giachelli CM, Bae N, Almeida M, et al. Osteopontin is elevated during neointima formation in rat arteries and is a novel component of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*

- 1993;92:1686-1696.
- 113) Meller R, Stevens SL, Minami M, et al. Neuroprotection by osteopontin in stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005;25: 217-225.
- 114) Doyle KP, Yang T, Lessov NS, et al. Nasal administration of osteopontin peptide mimetics confers neuroprotection in stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 2008;28:1235-1248.
- 115) Hashimoto M, Sun D, Rittling SR, et al. Osteopontin-deficient mice exhibit less inflammation, greater tissue damage, and impaired locomotor recovery from spinal cord injury compared with wild-type controls. *J Neurosci* 2007;27:3603-3611.
- 116) Scatena M, Liaw L, Giachelli CM. Osteopontin, a multifunctional molecule regulating chronic inflammation and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:2302-2309.
- 117) Chang JJ, Stanfill A, Pourmotabbed T. The role of matrix metalloproteinase polymorphisms in ischemic stroke. *Int J Mol Sci* 2016;17,pil: E1323.
- 118) Batra A, Latour LL, Ruetzler CA, et al. Increased plasma and tissue MMP levels are associated with BCSFB and BBB disruption evident on post-contrast flair after experimental stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 2010;30:1188-1199.
- 119) Nakaji K, Ihara M, Takahashi C, et al. Matrix metalloproteinase-2 plays a critical role in the pathogenesis of white matter lesions after chronic cerebral hypoperfusion in rodents. *Stroke* 2006; 37:2816-2823.
- 120) Rosenberg GA, Sullivan N, Esiri MM. White matter damage is associated with matrix metalloproteinases in vascular dementia. *Stroke* 2001;32:1162-1168.
- 121) Barr TL, Latour LL, Lee KY, et al. Blood-brain barrier disruption in humans is independently associated with increased matrix metalloproteinase-9. *Stroke* 2010;41:e123-e128.
- 122) Lenglet S, Montecucco F, Mach F, et al. Analysis of the expression of nine secreted matrix metalloproteinases and their endogenous inhibitors in the brain of mice subjected to ischaemic stroke. *Thromb Haemost* 2014;112:363-378.
- 123) Butterfield DA. Amyloid beta-peptide(1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease brain. A review. *Free Radic Res* 2002;36: 1307-1313.
- 124) Sinha N, Dabla PK. Oxidative stress and antioxidants in hypertension-A current review. *Curr Hypertens Rev* 2015;11: 132-142.
- 125) Asmat U, Abad K, Iamail K. Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharm J* 2016;24:547-553.
- 126) Cho S, Park EM, Febbraio M, et al. The class B scavenger receptor CD36 mediates free radical production and tissue injury in cerebral ischemia. *J Neurosci* 2005;25:2504-2512.
- 127) Bouma B, Kroon-Batenburg LMJ, Wu YP, et al. Glycation induces formation of amyloid cross- β structures in albumin. *J Biol Chem* 2003;278:41810-41819.
- 128) Ito S, Kimura K, Haneda M, et al. Induction of matrix metalloproteinases (MMP3, MMP12 and MMP13) expression in the microglia by amyloid- β stimulation via the PI3K/Akt pathway. *Exp Gerontol* 2007;42:532-537.
- 129) Pellicano M, Bulati M, Buffa S, et al. Systemic immune responses in Alzheimer's disease: in vitro mononuclear cell activation and cytokine production. *J Alzheimers Dis* 2010;21: 181-192.
- 130) Cho S, Szeto HH, Kim E, et al. A novel cell-permeable antioxidant peptides, SS31, attenuates ischemic brain injury by down-regulating CD36. *J Biol Chem* 2007;282:4634-4642.
- 131) Park L, Wang G, Zhou P, et al. Scavenger receptor CD36 is essential for the cerebrovascular oxidative stress and neurovascular dysfunction induced by amyloid- β . *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:5063-5068.
- 132) Giwa MO, Williams J, Elderfield K, et al. Neuropathologic evidence of endothelial changes in cerebral small vessels disease. *Neurology* 2012;78:167-174.
- 133) Ueno M, Chiba Y, Murakami R, et al. Blood-brain barrier and blood-cerebrospinal fluid barrier in normal and pathological conditions. *Brain Tumor Pathol* 2016;33:89-96.

Abstract**Elucidation of mechanism of blood-brain barrier damage
for prevention and treatment of vascular dementia**Masaki Ueno, M.D., Ph.D.¹⁾¹⁾Inflammation Pathology, Department of Pathology and Host Defense, Faculty of Medicine, Kagawa University

It is well-known that the blood-brain barrier (BBB) plays significant roles in transporting intravascular substances into the brain. The BBB in cerebral capillaries essentially impedes the influx of intravascular compounds from the blood to the brain, while nutritive substances, such as glucose, can be selectively transported through several types of influx transporters in endothelial cells. In the choroid plexus, intravascular substances can invade the parenchyma as fenestrations exist in endothelial cells of capillaries. However, the substances cannot invade the ventricles easily as there are tight junctions between epithelial cells in the choroid plexus. This restricted movement of the substances across the cytoplasm of the epithelial cells constitutes a blood-cerebrospinal fluid barrier (BCSFB). In the brain, there are circumventricular organs, in which the barrier function is imperfect in capillaries. Accordingly, it is reasonable to consider that intravascular substances can move in and around the parenchyma of the organs. Actually, it was reported in mice that intravascular substances moved in the corpus callosum, medial portions of the hippocampus, and periventricular areas via the subfornical organs or the choroid plexus. Regarding pathways of intracerebral interstitial and cerebrospinal fluids to the outside of the brain, two representative drainage pathways, or perivascular drainage and glymphatic pathways, are being established. The first is the pathway in a retrograde direction to the blood flow through the basement membrane in walls of cerebral capillaries, the tunica media of arteries, and the vessels walls of the internal carotid artery. The second is in an anterograde direction to blood flow through the para-arterial routes, aquaporin 4-dependent transport through the astroglial cytoplasm, and para-venous routes, and then the fluids drain into the subarachnoid CSF. These fluids are finally considered to drain into the cervical lymph nodes or veins. These clearance pathways may play a role in maintenance of the barrier in the entire brain. Obstruction of the passage of fluids through the perivascular drainage and glymphatic pathways as well as damage of the BBB and BCSFB may induce several kinds of brain disorders, such as vascular dementia. In this review, we focus on the relationship between damage of the barriers and the pathogenesis of vascular dementia and introduce recent findings including our experimental data using animal models.

(Rinsho Shinkeigaku (Clin Neurol) 2017;57:95-109)

Key words: blood-brain barrier, blood-cerebrospinal fluid barrier, perivascular drainage pathway, glymphatic pathway, vascular dementia
