

神経栄養因子の機能と神経疾患

古川昭栄^{a)}

要約：前駆細胞から生じた未分化な神経細胞の分化を促し機能をもつ成熟神経細胞へと誘導する作用、神経機能を維持、調節する作用、神経細胞死を引き起こす外的、内的要因から神経細胞を保護する作用など、神経栄養因子は神経細胞の一生をコントロールする生体内成分である。近年、個々の神経細胞は多くの神経栄養因子の作用を受けること、個々の神経栄養因子は多種の神経細胞にオーバーラップして作用することがわかってきた。神経栄養因子は特定の時期や部位に整然と秩序だてて発現することによって神経細胞に相加的、相乗的に作用を及ぼしていると考えられる。神経栄養因子にはアルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症などといった特定の神経細胞が選択的に死滅する神経疾患の予防や治療への応用が期待されている。

索引用語：神経栄養因子、ニューロトロフィン、神経成長因子、NGF、脳由来神経栄養因子、BDNF、コリン作動性神経細胞、ドパミン作動性神経細胞、運動神経細胞

(文34)

Neurotrophic Factors and Their Physiological Roles in Relation to Neurological DisordersSHOEI FURUKAWA^{a)}

Abstract: Neurotrophic factors (NTs) are endogenous molecules that exert effect on neurons throughout their lifespan. They stimulate neuronal differentiation of immature neurons and regulate neuronal functions of mature neurons such as protection from accidental neuronal death. Recent discoveries of new NTs differing from the nerve growth factor (NGF), a prototype of neurotrophic factors, provide indication that neurons respond to plural NTs which function in various types of neurons. Ordered neurogenesis and neuronal regeneration proceed properly following the timely- and/or spatially-regulated expression of NTs and their receptors. The novel effects of NTs on neurons in neuronal disorders such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis showed qualify them for use in treating these disease.

Keyphrases: neurotrophic factors, neurotrophin, nerve growth factor, NGF, brain-derived neurotrophic factor, BDNF, cholinergic neurons, dopaminergic neurons, motor neurons

a) 岐阜薬科大学分子生物学教室
岐阜市三田洞東5丁目6-1

a) Laboratory of Molecular Biology,
Gifu Pharmaceutical University,
6-1, Mitahora-higashi 5 chourme, Gifu 502, Japan

脳には1兆個ほどの神経細胞が存在する。神経細胞は細胞核を含む細胞体部分と樹状突起とよばれる枝分かれした突起から成り、突起には他の神経細胞の軸索が接着してシナプスとよばれる構造が無数に形成されている。特に病気でなくとも脳は加齢とともに萎縮してゆくがこれは脳を構成する神経細胞とグリア細胞のうち、神経細胞が変性、脱落していくためである。脳の神経細胞は個体発生の初期に最終分裂を終え増殖で補われることはないので脱落した神経細胞の機能は生き残った神経細胞が代償する。したがって老化した脳では神経細胞の数は減るが、残った神経細胞の樹状突起は若い神経細胞よりずっと広い範囲に樹状突起を伸ばしている。年をとるにしたがい記憶力は衰えるが反面判断力が増すという経験はよく耳にするが、このような脳の変化と関連していると思われる。このように正常な脳においても神経細胞は徐々に失われて行くのであるが、これが急激に進行すると疾患となって現れる。アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症といった疾患は特定の神経細胞が脱落する。たとえばアルツハイマー病ではいくつかの脳領域で神経細胞死がおこり重度の痴呆病態を呈する¹⁾。パーキンソン病では中脳の黒質に存在するドーパミン作動性神経細胞が死ぬため、安静時振戦、固縮、無動、姿勢反射障害などの運動機能障害を呈する²⁾。筋萎縮性側索硬化症は脳幹や脊髄の下位運動神経細胞と大脳皮質運動野の上位運動神経細胞が変性、脱落する疾患である³⁾。患者数はそれほど多くないが多くは働き盛りに発病し筋肉の萎縮の進行によって数年のうちに呼吸マヒで死亡する悲惨な病気であるため社会的な関心が高い。これらの疾患でなぜ神経細胞が死ぬのか理由はほとんど不明であり、抜本的な治療法はない。しかしアルツハイマー病と筋萎縮性側索硬化症では低率に見い出される遺伝性家系を連鎖解析で丹念に調べることによって病因遺伝子が次々に同定されつつある。大部分を占める非遺伝性患者の病因を含めて全貌が解明される日もそう遠くないと期待される。問題なのは仮りに病因がはっきりしても治療法の開発に必ずしも直結しなかったり、開発までに時間がかかることである。一日も早い有効な治療法が待ち望まれているのが現状であり、この観点から注目を集めているのが神経栄養因子である。

1. 神経栄養因子とはなにか

胎生期の動物組織細胞を血清を含む培養液で維持すると活発に増殖する。しかし神経細胞は同じ条件で培養しても短時間で死んでしまう。培養液に添加しておくくと神経細胞を長期間生存させるばかりでなく、神経突起を伸ばし、成熟した神経細胞へと分化を誘導する物質が1950年代に発見され、神経成長因子 (nerve growth factor: NGF) と名付けられた。その後、NGF以外にも、特異的な受容体を介して神経細胞に作用し、1)神経突起の伸展促進、2)生存維持、3)分化誘導、などの活性を示すタンパク質分子がいくつか見い出されてきた (Fig.1, Table 1)。これらは神経栄養因子 (neurotrophic factors) と総称されている。

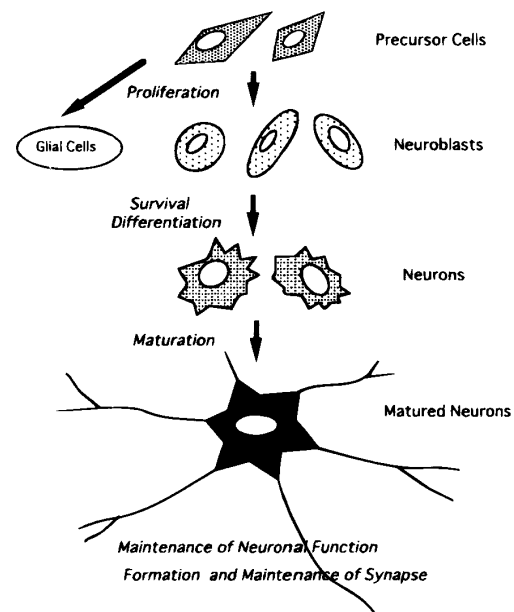


Fig. 1 Physiological roles of neurotrophic factors for neuronal development and maintenance

神経栄養因子は神経系を作り上げる過程ばかりでなく、いったんでき上がった神経系を維持するのにも重要な役割を果たしている。神経細胞間の刺激伝達はシナプスを介して行われ、脳の神経細胞は1個あたり数千個ものシナプスを持つといわれる。近年の研究によりシナプスは固定されたものではなく、神経細胞への刺激や、微小環境によって再構成されることが示されている。このシナプスの可塑性や強化は、記憶や学習といった高次脳機能の素因であり、神経栄養因子が深く関わっていると考えられている。神経栄養因子の作用はこれまで動物胚から培養した神経細胞に添加しその影響を調べることによって評価されてきたが、成熟神経細胞への作用や個体レベルでの生理機能は解析が困難であった。現在トランスジェニックマウス、ノックアウトマウス⁴⁾など発生遺伝子工学的手法がこれらの問題を克服しつつある。

NGFの発見に始まった神経栄養因子の研究は大きく発展し、最近数年間に学術論文に扱われた神経栄養因子の種類はかなりの数に上る。これらは Table 1 にまとめてある。本文中に使用した略号はこれを参照して頂きたい。

Table 1. Substances with neurotrophic activities

- 1) ニューロトロフィンファミリー (neurotrophin family)
 - 神経成長因子、NGF (nerve growth factor)
 - 脳由来神経栄養因子、BDNF (brain-derived neurotrophic factor)
 - ニューロトロフィン-3、NT-3 (neurotrophin-3)
 - ニューロトロフィン-4/5、NT-4/5 (neurotrophin-4/5)
 - ニューロトロフィン-6、NT-6 (neurotrophin-6)
- 2) 毛様体神経栄養因子、CNTF (ciliary neurotrophic factor)
- 3) FGFファミリー (fibroblast growth factor family)
 - 酸性線維芽細胞成長因子、aFGF (FGF-1) (acidic fibroblast growth factor)
 - 塩基性線維芽細胞成長因子、bFGF (FGF-2) (basic fibroblast growth factor)
 - FGF-5
- 4) インスリンファミリー (insulin family)
 - インスリン、insulin
 - インスリン様成長因子-I、IGF-I (insulin-like growth factor-I)
 - インスリン様成長因子-II、IGF-II (insulin-like growth factor-II)
- 5) 上皮細胞成長因子、EGF (epidermal growth factor)
- 6) サイトカイン類 (cytokines)
 - コリン作動性分化因子/白血病抑制因子、CDF/LIF (cholinergic differentiation factor/leukemia inhibitory factor)
 - インターロイキン-1、IL-1 (interleukin-1)
 - インターロイキン-2、IL-2 (interleukin-2)
 - インターロイキン-3、IL-3 (interleukin-3)
 - インターロイキン-6、IL-6 (interleukin-6)
 - GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor)
 - Epo (erythropoietin)
 - チオレドキシン (thioredoxin)
- 7) GPA (growth promoting activity)
- 8) ニューロン特異的エノラーゼ、NSE (neuron specific enolase)
- 9) アネキシンV、anexin V
- 10) プラスミノゲン、plasminogen
- 11) グリオスタチン、gliostatin
- 12) S100 β
- 13) 腫瘍化促進因子ファミリー、TGF (transforming growth factor)
 - グリア細胞由来神経栄養因子、GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor)
 - TGF- β 2
 - TGF- β 3
- 14) ミッドカイン、MK (midkine)
 - プレイオトロフィン、PTN (pleiotrophin)

1.1. ニューロトロフィン

以後はニューロトロフィン神経栄養因子が話題の中心となる。詳細は本誌上で既述5)したので簡単に紹介したい。ニューロトロフィンはNGFとその構造類似因子の総称であり最もよく研究されている神経栄養因子である。NGFのほかBDNF、NT-3、NT-4/5、NT-6が見いだされている。118-123個のアミノ酸からなる単鎖ポリペプチド鎖が二個、非共有結合したタンパク質であり、相互に50-60%のアミノ酸配列ホモロジーをもつ。NGF、NT-4/5のアミノ酸配列は哺乳動物間で若干のアミノ酸置換があるが、BDNFとNT-3は全く種差がない。生理機能の重大さが遺伝子変異を許さなかったと解釈される。一方、ニューロトロフィンの高親和性受容体もファミリーを形成している。オンコジーン *trk* の遺伝子産物 (Trk) はNGFの、そのファミリーであるTrkBはBDNFとNT-4/5の、TrkCはNT-3の高親和性受容体であり、細胞内にチロシンキナーゼドメインをもつ自己リン酸化型受容体である (TrkB, TrkCにはキナーゼドメインを欠損したのも存在する^{6*)}) (Fig. 2)。一方、p75はすべてのニューロトロフィンに低親和性で結合し単独ではシグナル伝達能はないが、Trkファミリー受容体の高親和性を保つ役割をするらしい⁹⁾。

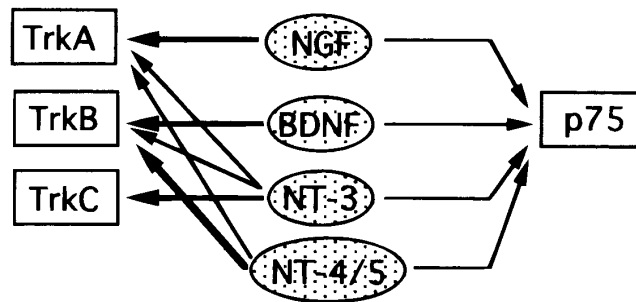


Fig. 2 Interaction between neurotrophins and their receptors

p75 binds all neurotrophins with a low affinity. The TrkA receptor primarily binds to NGF, TrkB binds to BDNF and NT-4/5, while the TrkC binds to NT-3. The Trks interact with their corresponding neurotrophins at a high affinity, but low affinity association are also found between NT-3 and TrkA, and TrkB, or between NT-4/5 and TrkA.

1.2. 産生・作用様式の多様性

合成、分泌、拡散、輸送と続く神経栄養因子の物質としての流れは、その生理的役割や神経細胞の機能と深く関わっており多彩である。情報量の最も多いニューロトロフィンを中心にこの視点から神経栄養因子の特性をみてみたい。

1.2.1. 逆行性輸送

NGFは神経細胞が軸索を投射する部位で合成され、軸索末端の受容体を介して軸索内へ取り込まれた後、逆行性輸送ルートで細胞体に運ばれ機能する代表的な標的 (軸索の標的という意味) 由来因子と考えられている。末梢では交感神経系、知覚神経系の支配組織からそれぞれの神経節へ、脳では海馬や大脳皮質から前脳基底核に輸送される (Fig.3)。特定の神経系で逆行性輸送されることと神経栄養因子がその神経系に作用をもつことは良く相関する。実際に培養下の知覚神経細胞と運動神経細胞に生存維持効果を示すBDNF、NT-3はラット坐骨神経内を知覚神経節や脊髄運動神経細胞へ輸送される。CNTF、LIFも坐骨神経内を運動神経細胞へと逆行性輸送される

が、障害を与えた神経ではこの輸送が顕著に増強される¹⁰⁾という特殊な側面を持つ。損傷によって障害部位の受容体が増加するためと考えられ、障害時に機能する神経栄養因子と考えられている。分泌シグナルをもたないaFGF、bFGFにも類似の作用様式が想定される。aFGFは神経系に局在し特に脊髄や末梢神経に多量に含まれているが輸送中のものではなく神経細胞体で合成され、遠位の軸索に広がったものである¹¹⁾。しかし障害された神経線維の断端から漏れ出たaFGFが受容体を介して中枢端から取り込まれ逆行性に機能する可能性がある。このとき受容体の発現がどうなっているかはわかっていない。

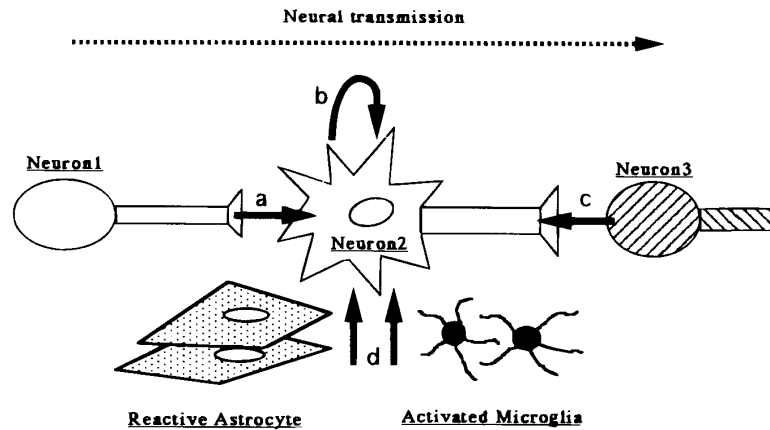


Fig. 3 Schematic representation of possible sources for trophic support

The Neuron2 is drawn as member of a neuronal chain. The neuron might obtain neurotrophic substances via anterograde transport from the afferent neuron (arrow a, Neuron1), by means of an autocrine loop (arrow b), by retrograde axonal transport from the neuron it innervates (arrow c, Neuron3), or glial cells activated following brain damage (arrow d, astrocyte or microglia).

1.2.2. 自己産生・応答

大脳皮質の錐体神経細胞や海馬神経細胞にはBDNF、NT-3ばかりでなくその受容体であるTrkB、TrkCも同時に発現している¹²⁾。BDNFやNT-3を産生・分泌した神経細胞自身(またはきわめて近傍の神経細胞)がこれに反応すると考えられる(Fig. 3)。実際、ラットの海馬に放射標識したNGF、BDNF、NT-3を注入するとBDNF、NT-3の放射活性は海馬内神経細胞に蓄積する¹³⁾。NGFの受容体は海馬では発現しておらずNGFは蓄積しない。筆者らは中脳ドーパミン神経細胞にもBDNFとその受容体TrkBが同時に発現していることを見い出しており¹⁴⁾、BDNFにオートクリン応答する神経細胞は脳に普遍的に存在すると推定している。軸索の伸展が乏しくシナプス形成が不完全な、脳の発達過程にみられる未熟神経細胞はこの機構で神経栄養因子に応答し一定レベルまで分化するのであろう。

1.2.3. 樹状突起/軸索二方向からの取り込み

小脳のプルキンエ細胞は扁平に大きく広がった樹状突起をもつ神経細胞である。TrkB、TrkC mRNAを発現しており培養下でBDNF、NT-3に反応するが自身ではBDNFやNT-3を産生しない。産生部位はプルキンエ細胞とシナプス連絡している小脳顆粒細胞、小脳核神経細胞であると考えられる(この両方にBDNF、NT-3 mRNAが発現している)。小脳核で産生されたNT-3はプルキンエの軸索を介して逆行性に、顆粒細胞で作られたNT-3は樹状突起を介して取り込まれると推定される¹⁵⁾(Fig. 4)。実際、プルキンエ細胞は培養下でNT-3による生存維持と分化促進

作用を受ける。筆者らが最近開発した抗NT-3ペプチド抗体による免疫組織染色では、顆粒細胞層に突きでたプルキンエ細胞の軸索と分子層に張り出したその樹状突起が強く染色されこの推定を裏付けている (Fig. 4)。異なる方向から取り込まれたそれぞれのNT-3は異なる役割を担うのかどうか、今後の興味ある検討課題である。

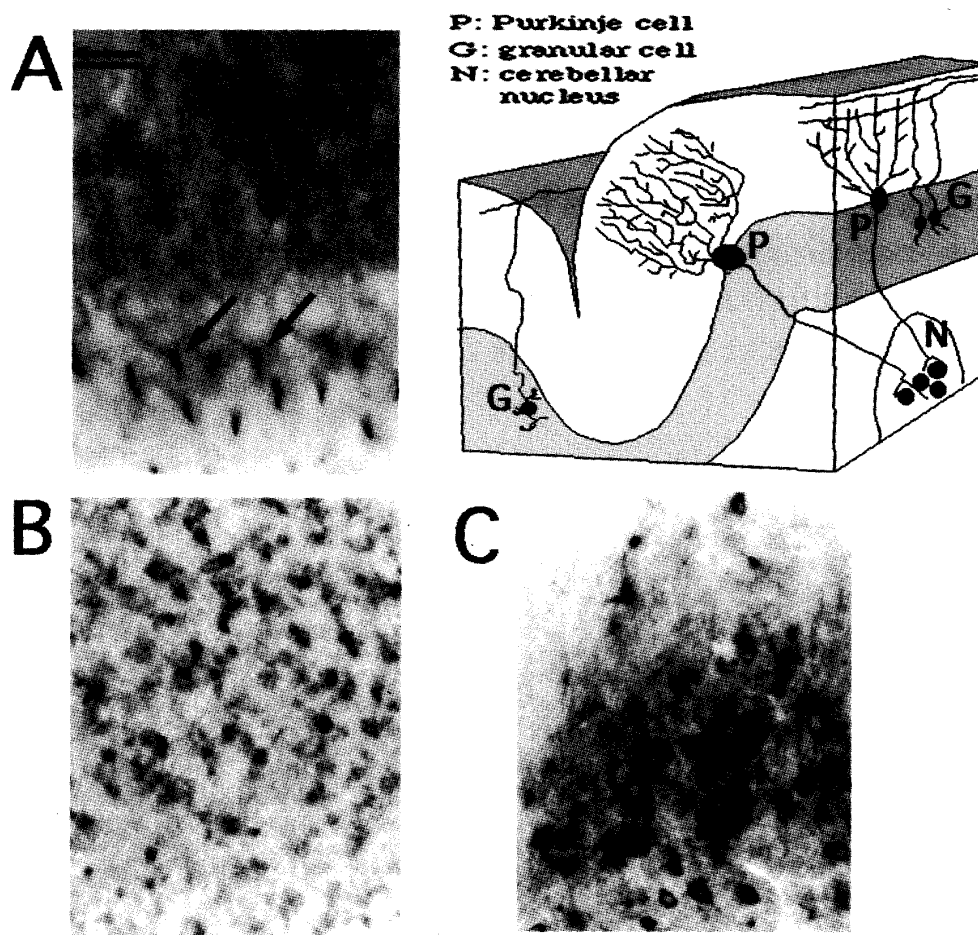


Fig. 4 Immunoreactivity of NT-3 in the rat cerebellum

NT-3 immunoreactivity was observed in the dendrites and axons of Purkinje cells (indicated as arrows in A), granular cells (B), and neurons of the cerebellar nuclei (C). Schematic representation of the cerebellar structure helps understanding that Purkinje cells are supplied with NT-3 from both the granule cells and neurons of the cerebellar nuclei.

1.2.3. 生存維持と分化誘導活性

生存維持作用と分化誘導作用は神経栄養因子の二本の柱である (Fig. 1)。NGFはいずれの活性ももち、培養下で交感神経細胞や前脳基底核コリン作動性神経細胞を生存させ、神経伝達物質であるチロシン水酸化酵素やコリンアセチルトランスフェラーゼの合成をそれぞれ誘導する。しかしBDNF、NT-3は大脳皮質神経細胞に対してニューロペプチドYや*c-fos* 遺伝子の発現、フォスホリパーゼ C- γ 1のリン酸化を亢進するが生存維持作用は示さない。この観察と一致して、BDNF遺伝子をノックアウトしたマウス大脳皮質神経細胞ではパルプアルブミンやニューロペプチドYの発現低下が見られるが細胞形態には変化をきたさない⁶⁾。これと対照的にIL-2は培養下で大脳皮質を

はじめ、海馬、線状体神経細胞に強い生存維持活性を示す¹⁷⁾。しかし線状体神経細胞のコリンナジックフェノタイプを誘導する作用はない。生存維持活性は短時間で発現するが分化誘導には長時間を要することから、IL-2のシグナル伝達機構がBDNFやNT-3と本質的に違っているためと解釈できる。BDNFとIL-2に対する大脳皮質神経細胞の応答の違いはこの二つの作用を細胞内シグナル伝達の観点から解析するよいモデルになるかもしれない。

2. 神経細胞をとりまく複数の栄養因子

神経細胞はこれまで考えられていた以上に多くの神経栄養因子の作用を受けること、逆に機能の異なる神経細胞にひとつの神経栄養因子がオーバーラップして作用することがわかってきた。培養細胞に対する活性がみつかっただけで生体内での作用がはっきりしないものが多いが、発生の諸段階や神経損傷後の決まった時期や部位に整然と秩序だてて発現することによって神経細胞の発達、保護、軸索再生に相加的、相乗的に働いていると考えられる。3種類の神経細胞を例にとり、それらを取り巻く神経栄養因子と関連する神経疾患 (Table 2) について述べる。

Table 2 Possible use of neurotrophic factors as therapy for neurological disorders

| Neurotrophic factor | Neurological disorder |
|---------------------|---|
| NGF | Alzheimer's disease peripheral neuropathies peripheral nerve regeneration spinal cord damage |
| BDNF | Alzheimer's disease Perkinson's disease Huntington's disease Amyotrophic lateral sclerosis |
| NT-3 | peripheral neuropathies |
| CNTF | Amyotrophic lateral sclerosis motor neuron diseases |
| GDNF | Amyotrophic lateral sclerosis motor neuron diseases Perkinson's disease |
| IGF-1 | Amyotrophic lateral sclerosis motor neuron diseases peripheral neuropathies |

2.1 前脳基底核コリン作動性神経細胞

前脳基底核コリン作動性神経細胞は中隔核、マイネルト基底核やブローカ対角帯などから成る前脳基底核に細胞体があり海馬や大脳皮質に軸索を投射している。軸索末端からNGFを取り込み軸索内を細胞体へと輸送し、神経栄養因子として活用している。中隔核と海馬の連絡を外科的に切断し輸送を断つと徐々にコリン作動性神経細胞は変性に陥り2週間後にはもとの5分の1にまで数が減少する。しかしNGFを脳室内に持続注入しておくことで減少を抑えることができる¹⁸⁾。BDNF、NT-4/5、bFGF、IL-3などにも同様の活性が見いだされている。ところが外科的な遮断ではなく興奮性神経毒であるカイニン酸で化学的に海馬神経細胞を破壊してもコリン作動性神経細胞の減少は観察されない¹⁹⁾。損傷後の脳に出現する反応性アストロサイトが神経栄養因子を産生したか (NGF、BDNF、GDNFなど)、破壊された神経細胞から神経栄養因子が遊離したため (FGF、CNTFなど) と解釈される。このように損傷脳では正常時とは別の栄養因子供給機構が働き神経細胞死を最小限に防いでいると考えられる。

2.2. 中脳ドーパミン神経細胞

運動調節をつかさどる黒質ドーパミン神経細胞はパーキンソン病で選択的に変性、脱落をきたす。腹側被蓋野に分布するものも含めた中脳ドーパミン神経細胞に対し、BDNF、NT-4/5、bFGF、IGF-II、S-100 β 、IL-6、ミクログリア由来プラスミノゲン、EGF、CNTF、GDNF、TGF- β 2、- β 3は生存維持、ドーパミン取り込み促進、ドーパミンフェノタイプへの分化誘導などを引き起こす。黒質-線状体路を切断すると黒質ドーパミン細胞の死やチロシン水酸化酵素(ドーパミン合成の律速酵素)の発現低下を招くことから、黒質ドーパミン神経細胞は線状体に投射している軸索を介してそこで産生される神経栄養因子を取り込んでいると考えられる。CNTFは脳室に注入するとドーパミン神経細胞の変性を抑制したがチロシン水酸化酵素の発現低下は抑制できなかった²⁰⁾。これに加え、分泌シグナルがないこと、mRNAが線状体に検出されないことはCNTFが生体内作用因子であることに疑問を投げかける。BDNFは脳室投与によりドーパミン神経細胞の機能を高める作用²¹⁾の他、培養下でN-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺、パーキンソン病類似の病態を引き起こす神経毒でドーパミン神経細胞に選択毒性をもつ)の毒性を緩和する作用があり²²⁾、パーキンソン病の環境毒性因子原因説の観点から、治療薬としての期待が高まっている。しかしBDNF遺伝子をノックアウトしてもドーパミン神経細胞には何の変化も観察されないことから生理機能は明確ではない。最近GDNF²³⁾とTGF- β 2、- β 3に強力な作用が見いだされた²⁴⁾。これらは構造的にTGF- β スーパーファミリーに分類され、ドーパミン神経細胞に対し特異的に、きわめて低濃度(BDNFの1/100)で生存維持活性を示す。TGF- β 2は、発達過程にある未熟なドーパミン神経細胞ではその近傍で発現がみられるが、神経軸索を伸ばし投射を完了したあとはドーパミン線維の投射領域(線状体も含まれる)で発現し、典型的な標的由来因子として機能している。ニューロトロフィンファミリー受容体はチロシinkinaseであるのにTGF- β ファミリーの受容体はセリン/スレオニンキナーゼである点が対照的である。GDNF、TGF- β 2、- β 3はBDNF、NT-4/5より作用が強力でありパーキンソン病治療薬としての期待度がより高い。

2.3. 運動神経細胞

発生途上におこる神経細胞の生死の選別は神経栄養因子によって巧みにコントロールされている。たとえば胎生期の脊髄や脳幹で過剰に作られた運動神経細胞は各々の軸索を支配組織である筋肉組織に伸ばし、そこで合成される神経栄養因子を軸索から取り込む。しかし筋肉組織で作られる栄養因子の量や時期が限られているためこれを取り込めず死んでいく神経細胞が少なからず存在する。このプロセスは生理的に機能できない神経細胞を生体から除くという重要な意義があり、プログラム神経細胞死(programmed neuronal cell death)とよばれる。このように運動神経細胞とその仮想神経栄養因子は典型的なモデルとして扱われてきた。しかし直接関与する神経栄養因子ははっきりしていない。培養下の運動神経細胞はCNTFまたはbFGFの単独添加によって約半分が、両者共存でほぼ100%が生存する。しかしいずれも分泌シグナルを持たない分子であり機能分子とは考えにくい。LIF、IL-6、FGF-5、BDNF、NT-3、NT-4/5、GDNFなど分泌シグナルを持つ多くの因子に運動神経細胞の生存を維持する作用が見いだされている。生理的機能分子であるためにはプログラム神経細胞死の時期にタイミングよく筋肉組織で発現していなければならない。この条件にあうのはNT-4/5とGDNFである。実際NT-4/5の高親和性受容体であるTrkB遺伝子をノックアウトしたマウスでは運動神経細胞数が30%も減少する⁴⁾。我々の免疫組織化学的な検討でも運動神経細胞はNT-4/5をもっていることが判明している。一方、GDNFはドーパミン神経細胞と同じようにBDNFやCNTFより100-1000倍も低濃度で運動神経細胞の生存を維持すること、胎生期の動物の肢芽にmRNAが検出されること、動物個体を用いた実験でも運動神経細胞死を抑制することなどから、プログラム細胞死に関連する生理的

機能分子ではないかと考えられる^{25,26)}。

なお、筋萎縮性側索硬化症を対象としてCNTF、BDNF、IGF-1などいくつかの神経栄養因子について臨床治験が試みられていることを付記したい。

3. ニューロトロフィンとアルツハイマー病

神経栄養因子の生理機能がはっきり認識されるようになると神経疾患との関連が注目されるようになるのは当然の成り行きである。しかしヒトの疾患との関連が直接調べられた例は少ない。その中でNGFとアルツハイマー病の関連は最も注目されてきた。

3.1. NGFとアルツハイマー病

神経細胞の外にアミロイド β -タンパク質が沈着してできる老人斑と、神経細胞の細胞体や神経突起内に主に微小管結合タンパク質であるタウタンパク質のリン酸化によってできるといわれる神経原線維変化が存在することがアルツハイマー病脳の病理学的特徴である¹⁾。さらに大脳皮質や海馬の錐体細胞、前脳基底核コリン作動性神経細胞、青斑核のノルアドレナリン作動性神経細胞、縫線核のセロトニン作動性神経細胞などに選択的な脱落がみられる。とくに前脳基底核コリン作動性神経細胞の障害が痴呆病態と相関すると考えられ、この神経系の栄養因子であるNGFについて、1)変性の原因はNGFの減少による、2) 賦活化にNGFが有効、と推定された。2)に関しては病態モデル動物を用いてNGFが有効であることが示されている¹⁸⁾。しかし1)に関する最近の研究結果は、アルツハイマー病の脳内NGFレベルは変化なし^{27,28)} かむしろ上昇している^{29,30)} ことを示した。特に海馬、扁桃核、被殻、大脳皮質（前頭葉、頭頂葉、側頭葉、後頭葉）、小脳ではNGFレベルが対照より高いのに前脳基底核では逆に低いことを示したScottらの報告³⁰⁾ は示唆に富んでいる（Fig. 5）。

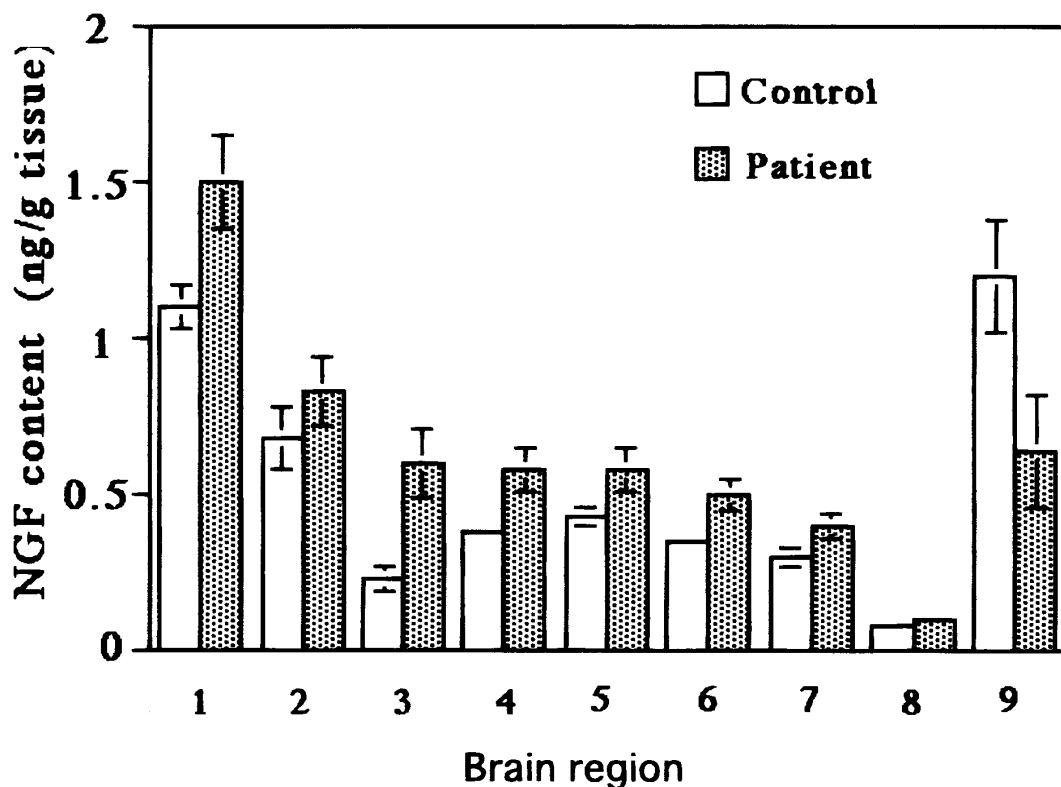


Fig. 5 NGF content in Alzheimer's disease across various regions of the human brain³⁰⁾

Increase in NGF content relative to the control group are pronounced in areas not traditionally known to be affected in the disease, including the putamen (column3) as well as the frontal (column4) and occipital (column7) neocortices. In contrast to these changes, tissue samples from the basal forebrain (column9) revealed a significant decline in NGF content of Alzheimer's disease group.

Brain regions: 1, hippocampus; 2, amygdala; 3, putamen; 4, frontal cortex, 5, temporal cortex; 6, parietal cortex, 7, occipital cortex, 8, cerebellum; 9, basal forebrain

大脳皮質や海馬で合成されたNGFは前脳基底核に存在するコリン作動性神経細胞へと運ばれているがこの流れを止めると産生部位でのNGFの蓄積と輸送先のレベル低下が起こると推定される。実際にラット海馬-中隔核の連絡を切断するとNGF産生部位である海馬ではmRNAレベルには変化なしにNGFの増加がおこる。この結果はScottらの結果³⁰⁾とよく似ている。アルツハイマー病脳の神経細胞体や軸索は神経原線維変化をきたした不溶性のフィラメントで満たされておりこのため軸索輸送が障害されNGFの輸送ができず、神経細胞の機能が低下し最終的には変性、死に至ると推定される (Fig. 6)。実際、アルツハイマー病脳で脱落しやすいタイプの神経細胞は長い軸索/樹状突起をもち、強い神経原線維変化を伴っている”。

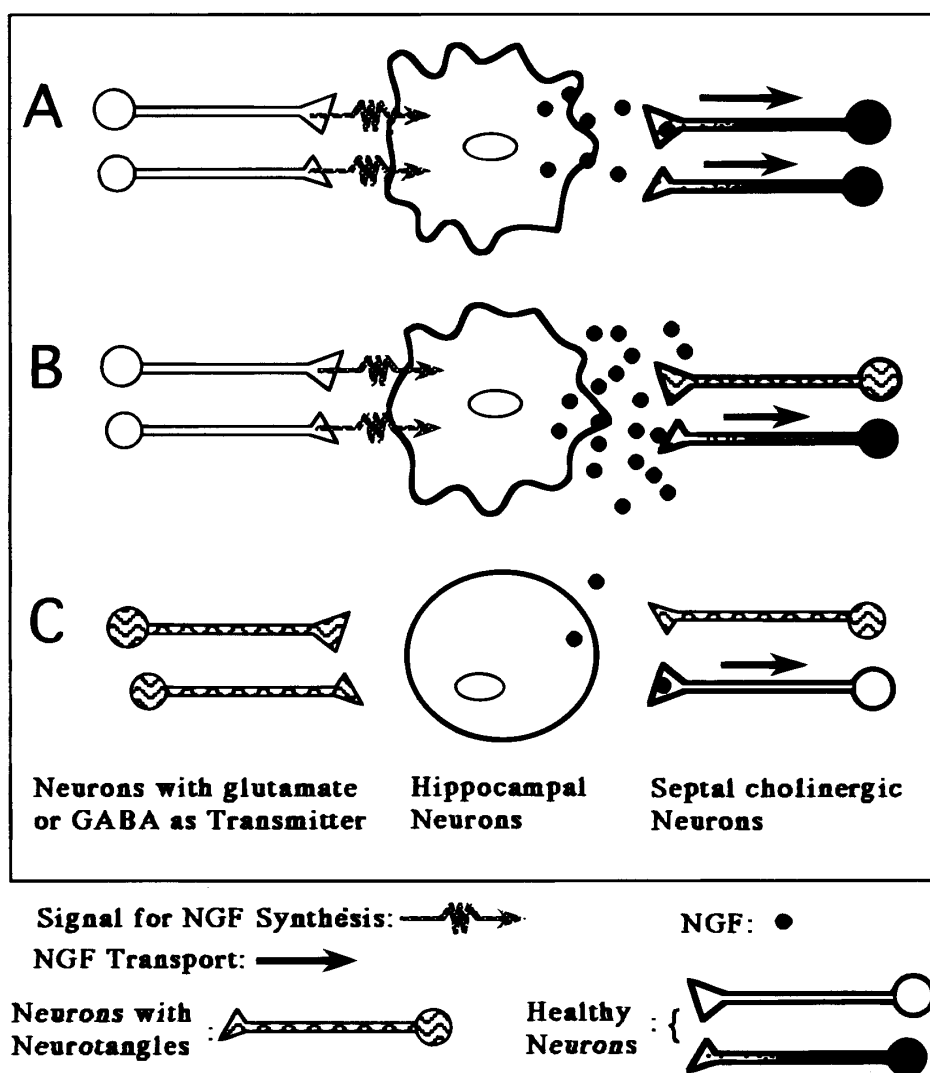


Fig. 6 Schematic representation of production and transport of NGF in the septohipocampal pathway

A: NGF production in the hippocampal neurons is upregulated by glutaminergic innervation, while downregulated by GABAergic afferent fibers in healthy brain. The NGF produced is retrogradely transported to the cell bodies of the septal cholinergic neurons, and functions as a neurotrophic factor. B: Although the regulatory system of NGF synthesis functions normally, the NGF transport system is impaired by means of generation of axonal neurotangles, which results in an increase of NGF content in the hippocampus and a reduction in the septum. C: Both the regulatory system of NGF production and the NGF transport system are impaired by axonal accumulation of neurotangles. This causes a marked reduction of NGF content in the hippocampus and septum, and finally resulted in neuronal death of the cholinergic neurons.

B and C may be the cases that are evoked in the Alzheimer's brain.

成熟した脳には神経細胞の他に、それとほぼ同数のアストロサイトが存在しているがNGF合成の主体は神経細胞であり、アストロサイトでの合成は観察されていない。しかし障害を受けた脳やアルツハイマー病のような変性疾患の脳には細胞質の肥大したいわゆる“反応性アストロサイト”が多数出現する。このタイプのアストロサイトはNGF産生能があり³¹⁾、アルツハイマー病脳でもNGFを合成している可能性が高い。

3.2 アルツハイマー病海馬でのBDNFの意義

Phillips ら³²⁾はアルツハイマー病海馬のNGF、NT-3mRNAの発現には変化がないのにBDNFmRNAの発現が正常人と比べ約半分に低下していることを報告した。NGFとBDNFを比較すると、前脳基底核コリン作動性神経細胞に対する作用や海馬、大脳皮質でのmRNAの分布はあまり変わらないことから、BDNFはNGFと同様、前脳基底核コリン作動性神経細胞の神経栄養因子であると考えられる。しかしBDNFはラット海馬や大脳皮質にNGFの100倍以上も高濃度に含まれている。従って前脳基底核コリン作動性神経細胞に対するBDNFの寄与はNGFよりはるかに大きいと推定される。もしそうならアルツハイマー病海馬のBDNF産生低下は前脳基底核コリン作動性神経細胞の機能維持に重大な影響を及ぼすに違いない (Fig. 6)。さらにBDNFの高親和性受容体TrkBは大脳皮質、海馬を始め、中脳ドパミン作動性神経細胞、小脳顆粒細胞など多種多様な神経細胞に広く分布している⁶⁾。アルツハイマー病で選択的に障害される神経細胞はラットではTrkBを発現しており、これらの神経路の障害もBDNF発現の低下が原因であるかもしれない。

ラット大脳皮質や海馬の神経細胞におけるBDNF、NGFmRNAは脳虚血やカイニン酸投与で類似した発現をしており、いずれもグルタミン酸により促進され、この促進はGABA受容体アゴニストによって解除される³³⁾。すなわち神経活動依存的に発現調節されている。このように発現パターンが類似しているながらアルツハイマー病ではNGFmRNAレベルには変化が観察されない。両者の発現調節には知られていない違いがあるのか、BDNFの調節に関わる神経線維がアルツハイマー病脳で特に障害されているのか今のところ不明である。

3.3 治療薬としての神経栄養因子

以上述べたように、NGFやBDNFはアルツハイマー病の直接の病因ではないが逆行性輸送の障害のために機能しなくなり、二次的な神経細胞死をもたらすのではないかと推定できる。同様なことは他の神経栄養因子にもあて

はめることができ多種多様な神経細胞が影響を受けるであろう。こういう状況でも外から与えた神経栄養因子は神経細胞を助けることができるであろうか？ 培養ドパミン神経細胞に対する6-hydroxy dopamine、MPP⁺などの神経毒性はBDNFの添加によって緩和される²²⁾、微小管重合を促すタキソールの神経軸索変性作用がNGFによって軽減される³⁴⁾、などの事実は神経栄養因子に期待を抱かせる。動物実験の範囲では、神経細胞の変性を遅らせわずかでも神経細胞機能を取り戻すなど、アルツハイマー病治療薬に求められている薬効が神経栄養因子に備わっていると思われる。

ヒトへの応用を目指すにあたり今後重要になるのは神経細胞が利用しやすいように神経栄養因子を供給する方策である。軸索輸送に障害をもつ神経細胞であっても細胞体の近傍に神経栄養因子が与えられれば細胞体からじかに取り込むことができる。筆者はアルツハイマー病脳で増えたのは神経細胞が利用できないNGFであって、外からNGFを投与しても無効であることを意味しないと考えている。またこの結果が、神経疾患の治療に神経栄養因子は役に立たない、という短絡的な思い込みにつながることを懸念している。

神経栄養因子をアルツハイマー病治療に用いるには、投与の方法、時期、部位、期間ばかりでなく、NGFやBDNF以外の有効な神経栄養因子の探索など、モデル動物を用いた多方面での検討が必要である。また、神経栄養因子はタンパク質であり脳血液関門を通過できない。末梢から脳の特定部位へ送り込むためのデリバリーシステムの開発が必要である。また筆者らが試みてきた、脳に移行でき、脳で内因性NGFやBDNFの合成を促進する低分子物質も有望であると考えている。アメリカでアルツハイマー病に対するNGFの大規模な試験が準備中であると聞いて久しい。脳への投与に関する技術的な問題に加えて倫理的問題もあり、まだ実行されていないようである。今後の展開を注視してゆきたい。

引用文献

- 1) 三好功峰, 前田潔, 日本生物学的精神医学会編「痴呆の生物学」学会出版センター, pp. 1-20 (1994).
- 2) 水野美邦, 池辺紳一郎, 服部信孝, 望月秀樹, 近藤智善, 「神経細胞死 up to date 基礎と臨床からのアプローチ」クバプロ, pp.12-25 (1995).
- 3) M. Barinaga, *Science*, 264, 772-774 (1994).
- 4) Snider, W.D., *Cell*, 77, 627-638 (1994).
- 5) 古川昭栄, 岐阜薬科大学紀要, No. 41, 11-22 (1992).
- 6) 古川美子, 林恭三, 古川昭栄, *生化学*, 68, 14-30 (1996).
- 7) A. Davies, *Nature* 368, 193-194 (1994).
- 8) R.M. Lindsay, S.J. Wiegand, C.A. Altar, *Trend in Neurosci.*, 17, 182-190 (1994).
- 9) P.A. Hantzopoulos, C. Suri, D.J. Glass, M.P. Goldfarb, G.D. Yancopoulos, *Neuron*, 13, 187-201 (1994).
- 10) R. Curtis, S.S. Scherer, R. Somogyi, *Neuron*, 12, 191-204 (1994).
- 11) R. Ishikawa, K. Nishikori, Y. Furukawa, K. Hayashi, S. Furukawa, *Neurosci. Lett.*, 135, 113-116 (1992).
- 12) R.C. Miranda, F. Sotgiu, D. Toran-Allerand, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90, 6439-6443 (1993).
- 13) P.S. DiStefano, B. Friedman, C. Radziejewski, C. Alexander, P. Boland, M. Schick, R.M. Lindsay, S.J. Wiegand, *Neuron*, 8, 983-993 (1992).
- 14) 杉原祐志、平成6年度岐阜薬科大学大学院修士論文

- 15) D. Lindholm, E. Castren, P. Tsoufias, *J. Cell Biol.*, 122, 443-450 (1993).
- 16) K.R. Jones, I. Farinas, C. Backus, *Cell*, 76, 989-999 (1994).
- 17) H. Awatsuji, Y. Furukawa, M. Nakajima, S. Furukawa, K. Hayashi, *J. Neurosci. Res.*, 35, 305-311 (1993).
- 18) V.E. Koliatsos, H.J.W. Nauta, R.E. Clatterbuck, D.M. Holzman, W.C. Mobley, D.L. Price, *J. Neurosci.*, 10, 3801-3813 (1990).
- 19) M.V. Sofroniew, N.P. Galletly, O. Isacson, C.N. Svendsen, *Science*, 247, 338-342 (1990).
- 20) T. Hagg, S. Varon, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 90, 6315-6319 (1993).
- 21) R.-Y. Shen, C.A. Altar, L.A. Chiodo, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 91, 8920-8924 (1994).
- 22) M.B. Spina, S.P. Squinto, J. Miller, R.M. Lindsay, C. Hyman, *J. Neurochem.*, 59, 99-106 (1992).
- 23) K.D. Beck, J. Valverde, T. Alexi, *Nature*, 373, 339-341 (1995).
- 24) K.T. Poulsen, M.P. Armanini, R.D. Klein, *Neuron*, 13, 1245-1252 (1994).
- 25) Q. Yan, C. Matheson, O. Lopez, *Nature*, 373, 341-344 (1995).
- 26) R.W. Oppenheim, L.J. Houenou, J.E. Johnson, *Nature*, 373, 344-346 (1995).
- 27) S.J. Allen, S.H. MacGowan, J.J.S. Treanor, R. Feeney, G.K. Wilcock, D. Dawbarn, *Neurosci. Lett.*, 13, 135-139 (1991).
- 28) K. Murase K., T. Nabeshima., Y. Robitaille., R. Quirion, M. Ogawa, K. Hayashi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 193, 198-203 (1993).
- 29) K.A. Crutcher, S.A. Scott, S. Liang, W.V. Everson, J. Weingartner, *J. Neurosci.*, 13, 2540-2550 (1993).
- 30) S.A. Scott, E.J. Mufson, J.A. Weingartner, K.A. Skau, K.A. Crutcher, *J. Neurosci.*, 15, 6213-6221 (1995).
- 31) 古川昭栄, 古川美子, 林恭三, *神経研究の進歩*, 34, 526-538 (1990).
- 32) H.S. Phillips, J.M. Hains, M. Armanani, G.R. Laramée, S.A. Johnson, J.W. Winslow, *Neuron*, 7, 695-702 (1991).
- 33) F. Zafra, E. Castren, H. Thoenen, D. Lindholm, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 88, 10037-10041 (1991).
- 34) E.R. Peterson, S.M. Crain, *Science*, 217, 377-379 (1982).