慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	脊髄損傷後の軸索再生制御機構の解明と軸索再生促進へのストラテジー
Sub Title	Strategy for elucidating the mechanism controlling axonal regeneration and achieving enhanced axonal regeneration after spinal cord injury
Author	金子, 慎二郎(Kaneko, Shinjiro) 中村, 雅也(Nakamura, Masaya) 戸山, 芳昭(Toyama, Yoshiaki) 岡野, 栄之(Okano, Hideyuki)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2009
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.85, No.2 (2009. 4) ,p.191- 195
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	受賞記念講座(三四会奨励賞)
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20090400-0191

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

慶應医学・85(2)：191～195，2009

受賞記念講座（三四会奨励賞）

脊髄損傷後の軸索再生制御機構の解明と軸索再生促進へのストラテジー

Strategy for elucidating the mechanism controlling axonal regeneration and achieving enhanced axonal regeneration after spinal cord injury

[1] 慶應義塾大学医学部整形外科，[2] 慶應義塾大学医学部生理学，
[3] ハーバード大学医学部ボストン小児病院神経科学部門，
[4] 独立行政法人国立病院機構村山医療センター整形外科／臨床研究センター
金子慎二郎[1-4]・中村雅也[1]・戸山芳昭[1]・岡野栄之[2]

[1] Keio University School of Medicine, Department of Orthopaedic Surgery
[2] Keio University School of Medicine, Department of Physiology
[3] Division of Neuroscience, Children's Hospital Boston, Harvard Medical School, USA
[4] National Hospital Organization, Murayama Medical Center, Department of Orthopaedic Surgery and Clinical Research Center

Shinjiro Kaneko[1-4], Masaya Nakamura[1], Yoshiaki Toyama[1], Hideyuki Okano[2]

概　要

哺乳類成体中枢神経系のニューロンの軸索は末梢神経系のニューロンの軸索に比して再生能に乏しいが，その理由の1つとして中枢神経系の損傷部においては軸索の再生を阻害する様々な因子が存在するという事が挙げられる．一方，中枢神経系においては末梢神経系に比して損傷を受けたニューロンの軸索の intrinsic な再生能自体が乏しいという側面もあり，これらの軸索再生制御機構を分子生物学的に解明する事は，脊髄損傷等の中枢神経系の損傷後に，より良い軸索の再生を得るためには極めて重要な課題の1つであり，本稿ではこれらの事項に焦点を当てて概説する．

Key Words：conditioning lesion，intrinsic growth ability，軸索再生阻害因子，ミエリン関連蛋白質，Semaphorin 3A

背　景

哺乳類の成体中枢神経系のニューロンの軸索は末梢神経系のニューロンの軸索に比して再生能に乏しい．その理由の1つとして，中枢神経系の損傷部の環境による，いわゆる extrinsic factor（外的要因）が挙げられ，大別すると，(1)ミエリン debris 中に存在する種々のいわゆるミエリン関連蛋白質と，(2)瘢痕組織中に存在する種々の細胞外基質の2つが主な軸索再生阻害因子であると考えられて来た（図1）．一方で，これらの extrinsic factor の作用は，損傷を受けたニューロンの軸索側の intrinsic な伸長能を適切な手段により促進させる事により，少なくとも部分的には相殺可能なものである事も示されて来た．したがって，中枢神経系軸索の損傷後の再生能力は，損傷を受けたニューロンの軸索側の intrinsic な再生能と損傷部環境側の extrinsic な軸索再生阻害因子の力のバランスによって決まって来るものと考えられる．

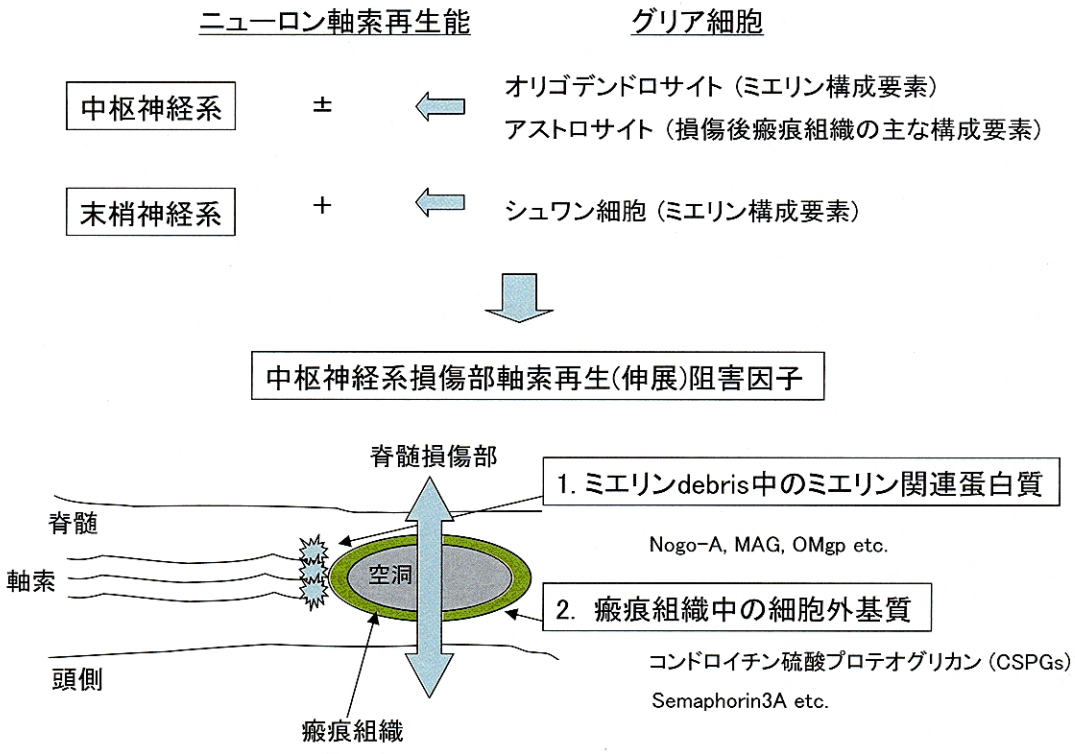

図１　末梢神経系と中枢神経系のニューロン軸索再生能の相違と構成要素の相違の関係／中枢神経系における様々な軸索再生（伸展）阻害因子
末梢神経系と中枢神経系のニューロン軸索再生能の相違は，その構成要素の相違などとも密接な関係がある．中枢神経系に存在する様々な軸索再生阻害因子は，主に，(1)損傷部ミエリン debris 中等に存在する種々のミエリン関連蛋白質と，(2)損傷部瘢痕組織中に存在する種々の細胞外基質の２つに大別される．

１．軸索再生制御機構の解明の手掛かり

これらの相互関係を解明する上で，ひいては軸索再生制御機構そのもののメカニズムに関する研究を進めていく上で非常に有用なモデルとして知られているのが，後根神経節（dorsal root ganglion；DRG）のニューロンを用いた conditioning lesion model である．DRG ニューロンの特徴として，末梢組織に innervate していく末梢側の枝と脳幹部まで脊髄内の dorsal column の中を走行していく中枢側の枝と，２本の軸索を DRG 内にある細胞体から伸ばしているという点が挙げられる（図２）．興味深い事に，末梢側の軸索（枝）は損傷後の再生能が高いのに比して，中枢側の軸索（枝）は損傷後の再生能が低く，同じ細胞体に由来する２つの軸索の再生能の違いという点が，軸索再生のメカニズムを調べる上で，非常に有用なモデルとなっている要因の１つである．さらに興味深い事に，末梢側の軸索（坐骨神経）に先に損傷を加えた後に，中枢側の脊髄の dorsal column に損傷を加えると，通常はほとんど再生しない中枢側の軸索の有意に促進された再生が認められ，これがこの系におけるいわゆる“conditioning lesion”の効果と呼ばれるものである[1]（図２）．実際，軸索再生のメカニズムを調べる上で，conditioning lesion の様に一貫して劇的な軸索再生促進効果が認められるモデルが現時点では他にほとんど知られていないため，本稿のテーマである軸索再生における分子生物学的制御機構を研究していく上で，非常に有用な貴重なモデルとなっている．

２．extrinsic factor としての軸索再生阻害因子とそのシグナル伝達のメカニズムの解明

１）ミエリン debris 中に存在する軸索再生阻害因子（ミエリン関連蛋白質）

いわゆる extrinsic factor としての軸索再生阻害因子としては，先程述べた如く，損傷部のミエリン debris 中に存在する種々のミエリン関連蛋白質と，損傷部瘢痕組織中に存在する種々の細胞外基質の２つに大別されるが，前者として，Nogo-A[2,3]，MAG[4,5]，OMgp[6] などの分子が，後者としてコンドロイチン硫酸プロテオグリ

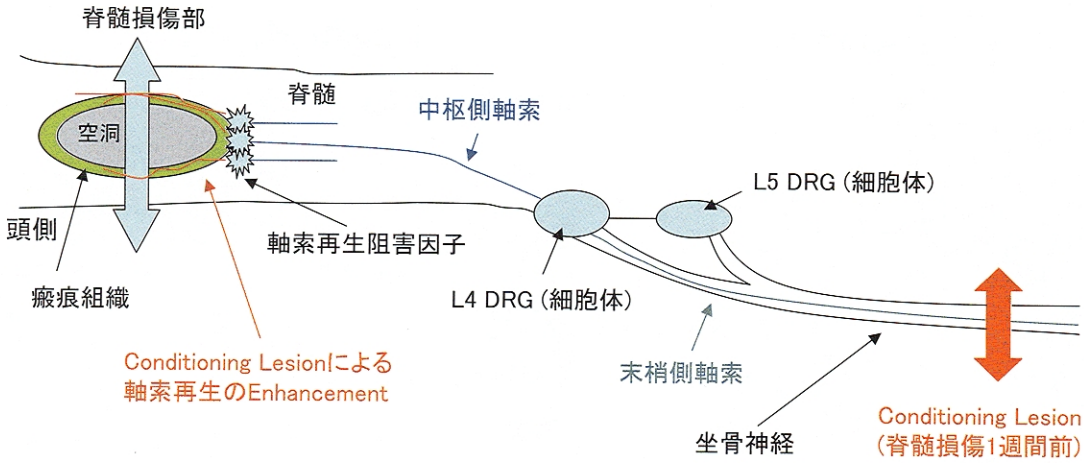

図2　後根神経節（DRG）ニューロンにおける conditioning lesion モデル
後根神経節（DRG）ニューロンは，(1)中枢側と末梢側に再生能の異なる2つの軸索（枝）を持っている，また，(2)脊髄損傷を加える約1週間前に坐骨神経（末梢側の枝）に損傷を加えておく（conditioning lesion）事により脊髄損傷後の脊髄 dorsal column（中枢側の枝）における再生が促進される，という2点において軸索再生のメカニズムを調べる上で非常に有用な系である．

カン（CSPGs）[7] や Semaphorin3A[8,9] などの分子が同定されてきた（図1）．本稿においては，これらについての詳細は紙面の制限の都合上，割愛するが，前述の Nogo-A[2,3]，MAG[4,5]，OMgp[6] の3分子は，大変興味深い事に，構造上全く異なる分子でありながら，共通のレセプター，Nogo Receptor[10] に ligand として結合する[4-6,10]事が明らかにされ，その co-receptor として同定された p75[11-13]，TROY[14,15]，LINGO-1[16] などを通じて，軸索再生（伸展）阻害のシグナルを細胞内に伝達して行くというメカニズム（図3）が解明された事から，これらの分子のノックアウトマウスを用いた脊髄損傷モデルにおける軸索の再生能を調べる研究に近年，多くの研究者達の興味が集まった．しかしながら，Nogo-A[17-19]，Nogo-Receptor[20,21]，p75 のノックアウトマウスを初めとして，これらのシグナル伝達系に関与する分子群のいずれのノックアウトマウスにおいても（研究室間でやや結果が異なるような要素も存在するものの基本的には）期待された程の劇的な軸索の再生は認められず[17-21]，これらの結果から，瘢痕組織中の細胞外基質としての軸索再生阻害因子の役割やニューロンの軸索側の intrinsic な伸長能のメカニズムの解明といった方向に，現在の研究の中心は移行しつつある．

2）　損傷部瘢痕組織中の軸索再生阻害因子

中枢神経系損傷部瘢痕組織中に存在する細胞外基質としての代表的な軸索再生阻害因子のうち，グリア瘢痕組織中に存在する CSPGs に関しては，その機能を減衰させる薬剤（chondroitinase-ABC）による軸索再生促進効果に関する報告[22]を初めとして，軸索再生を阻害する分子としての重要度に関する様々な報告がこれまでにも成されて来たが，主に fibroblast（線維芽細胞）による瘢痕組織中に存在する Semaphorin3A に関する同様の報告に関しては，これまで詳細には成されて来なかった（図3）．

すなわち，Semaphorin3A が脊髄損傷後の軸索再生を阻害する分子として重要な役割を果たしている可能性としては過去にも示唆されて来たが[8,9]，Semaphorin3A のノックアウトマウスの致死性の高さなどが原因となり，それを直接的に証明する報告は成されて来なかった．そこで我々は大規模なスクリーニングにより Semaphorin 3A に対する阻害活性および選択性の極めて高い薬剤，SM-216289 を開発し，Semaphorin3A の損傷後の脊髄内における役割に関する薬理学的なアプローチによる解明を試みた[23]．その結果，SM-216289 の投与により脊髄損傷後の，損傷部における軸索再生の促進，損傷部へのシュワン細胞の migration の促進と再生軸索に対する末梢神経型の髄鞘形成の促進，損傷部におけるアポトーシスの抑制，損傷部における血管再生の促進，さらにはこれらとの因果関係が示唆される運動機能の回復の有意な促進などを認め，Semaphorin3A 阻害薬の脊髄損傷の治療に対する有効性が示唆されるとともに，損傷後の脊髄内において，Semaphorin3A は様々な再生反応を阻害する因子として中心的役割を果たしている可能性が示唆された[23]．

以上，ここで挙げて来たそれぞれの分子の軸索再生阻害因子としての重要度（関与の度合い）に関して，それ

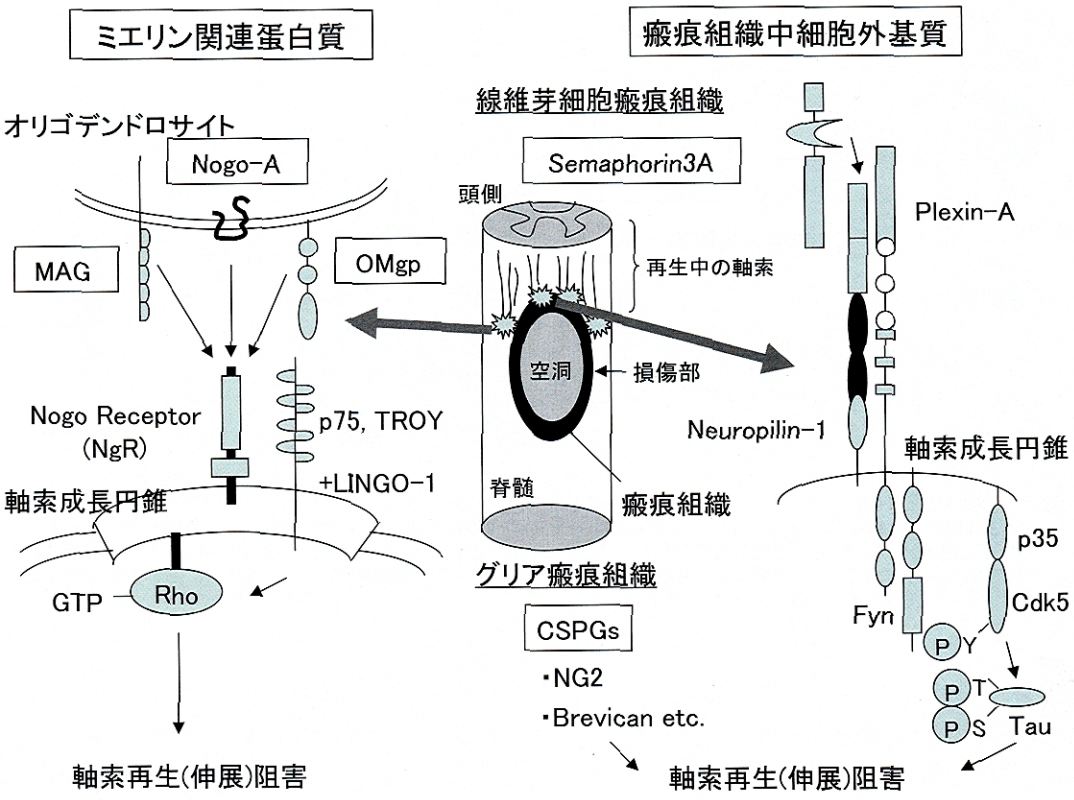

図3　中枢神経系における軸索再生（伸展）阻害因子のシグナル伝達経路
ミエリン関連蛋白質のうち Nogo-A, MAG, OMgp の3分子は，興味深い事に構造上全く異なる分子でありながら，共通のレセプター，Nogo Receptor に ligand として結合し，その co-receptor として同定された p75, TROY, LINGO-1 などを通じて，軸索再生阻害のシグナルを細胞内に伝達していく．

らを直接的に比較するような研究はこれまでには報告されていないが，それぞれの分子がそれぞれの場所で重要な役割を果たしているものと一般的には見なされており，これらを包括的にコントロールするような手段を開発する事が，臨床的にはより良い軸索再生を得るために重要な課題の1つであると考えられる．

3．ニューロンの軸索側の intrinsic な growth ability の制御機構の解明

一方，ニューロンの軸索側の intrinsic な伸長能の制御機構の解明という点においては，先程述べた DRG における conditioning lesion のシステム[1]（図2）を利用する事により，幾つかの興味深い報告が成されてきた．その1つとして，細胞内の cAMP の level を上昇させる事により，extrinsic な軸索再生阻害因子の作用を相殺する事が可能であり，また，DRG 内に *in vivo* で cAMP を注入する事により，conditioning lesion の効果[1]が mimic 可能である事などが報告されて来た[24]．また，細胞内の情報伝達路の中で，JAK2/STAT3 系の pathway が，DRG ニューロンに対して同様な効果を持つ事も報告されて来ている[25]．DRG における conditioning lesion のシステム[1]の前述したような有用性を利用して，マイクロアレイなどを用いたスクリーニングも近年は多々行われており，軸索再生を制御する intrinsic なメカニズムに関する分子生物学的解明は，様々なアプローチから進んで来ている．

今後の課題・展望

初めにも述べた如く，哺乳類の成体中枢神経系のニューロンの軸索は末梢神経系のニューロンの軸索に比して再生能に乏しいが，これらの分子生物学的制御機構を解明する事は，脊髄損傷等の中枢神経系の損傷後に，より良い軸索の再生を得るためには極めて重要な課題の1つであり，本稿では主にこれらに焦点を当てて概説して来た．当然予測出来る事ながら，extrinsic な軸索再生阻害因子の機能の減衰と intrinsic な伸長能の促進をそれぞれ得る手段を併用した際に，相加的な軸索再生が認められ

たという報告もあり，こうした異なった様々なアプローチからの軸索再生促進戦略の併用といった点も，特に臨床的観点からは重要である．また同時に，再生後の軸索の適切なる wiring の制御の問題も極めて重要な次なる課題の一つであり，これらを包括的に制御可能な手段の開発に向けて，様々なアプローチ・角度からの研究が世界各地で現在，行われている所である．

文　献

1) Neumann S, et al. : Regeneration of dorsal column fibers into and beyond the lesion site following adult spinal cord injury. Neuron 23 : 83-91, 1999
2) Chen MS, et al. : Nogo-A is a myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1. Nature 403 : 434-439, 2000
3) GrandPre T, et al. : Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a Reticulon protein. Nature 403 : 439-444, 2000
4) Liu BP, et al. : Myelin-associated glycoprotein as a functional ligand for the Nogo-66 receptor. Science 297 : 1190-1193, 2002
5) Domeniconi M, et al. : Myelin-associated glycoprotein interacts with the Nogo66 receptor to inhibit neurite outgrowth. Neuron 35 : 283-290, 2002
6) Wang KC, et al. : Oligodendrocyte-myelin glycoprotein is a Nogo receptor ligand that inhibits neurite outgrowth. Nature 417 : 941-944, 2002
7) Jones LL, et al. : NG2 is a major chondroitin sulfate proteoglycan produced after spinal cord injury and is expressed by macrophages and oligodendrocyte progenitors. J. Neurosci. 22 : 2792-2803, 2002
8) Pasterkamp RJ, et al. : Peripheral nerve injury fails to induce growth of lesioned ascending dorsal column axons into spinal cord scar tissue expressing the axon repellent Semaphorin3A. Eur. J. of Neurosci. 13 : 457-471, 2001
9) Winter FD, et al. : Injury-induced class 3 semaphorin expression in the rat spinal cord. Exp. Neurol. 175 : 61-75, 2002
10) Fournier AE, et al. : Identification of a receptor mediating Nogo-66 inhibition of axonal regeneration. Nature 409 : 341-346, 2001
11) Wang KC, et al. : P75 interacts with the Nogo receptor as a co-receptor for Nogo, MAG and OMgp. Nature 420 : 74-78, 2002
12) Yamashita T, et al. : The p75 receptor transduces the signal from myelin-associated glycoprotein to Rho. J. Cell Biol. 157 : 565-570, 2002
13) Yamashita T, et al. : Neurotrophin binding to the p75 receptor modulates Rho activity and axonal outgrowth. Neuron 24 : 585-593, 1999
14) Park JB, et al. : A TNF receptor family member, TROY, is a coreceptor with Nogo receptor in mediating the inhibitory activity of myelin inhibitors. Neuron 45 : 345-351, 2005
15) Shao Z, et al. : TAJ/TROY, an orphan TNF receptor family member, binds Nogo-66 receptor 1 and regulates axonal regeneration. Neuron 45 : 353-359, 2005
16) Mi S, et al. : LINGO-1 is a component of the Nogo-66 receptor/p75 signaling complex. Nat. Neurosci. 7 : 221-228, 2004
17) Zheng B, et al. : Lack of enhanced spinal regeneration in Nogo-deficient mice. Neuron 38 : 213-224, 2003
18) Simonen M, et al. : Systemic deletion of the myelin-associated outgrowth inhibitor Nogo-A improves regenerative and plastic responses after spinal cord injury. Neuron 38 : 201-211, 2003
19) Kim JE, et al. : Axon regeneration in young adult mice lacking Nogo-A/B. Neuron 38 : 187-199, 2003
20) Zheng B, et al. : Genetic deletion of the Nogo receptor does not reduce neurite inhibition in vitro or promote corticospinal tract regeneration in vivo. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102 : 1205-1210, 2005
21) Kim JE, et al. : Nogo-66 receptor prevents raphespinal and rubrospinal axon regeneration and limits functional recovery from spinal cord injury. Neuron 44 : 439-451, 2004
22) Bradbury EJ, et al. : Chondroitinase ABC promotes functional recovery after spinal cord injury. Nature 416 : 636-640, 2002
23) Kaneko S, et al. : A selective Sema3A inhibitor enhances regenerative responses and functional recovery of the injured spinal cord. Nat. Med. 12 : 1380-1389, 2006
24) Qiu J, et al. : Spinal axon regeneration induced by elevation of cyclic AMP. Neuron 34 : 895-903, 2002
25) Qiu J, et al. : Conditioning injury-induced spinal axon regeneration requires signal transducer and activator of transcription 3 activation. J. Neurosci. 25 : 1645-1653, 2005