

---

**総 説**

---

## 神経系のバリアーシステム

神田 隆

山口大学医学部高次統御系・脳神経病態学講座・神経内科学  
宇部市南小串1丁目1-1 (〒755-8505)

**Key words** : 血液脳関門, 血液神経関門, 血管内皮細胞, 細胞接着因子, 多発性硬化症

### 和文抄録

中枢神経では血液脳関門 (Blood-brain barrier, BBB), 末梢神経では血液神経関門 (Blood-nerve barrier, BNB) が神経系の内外を隔てるバリアーの実体であるが, 現在ではBBB, BNBは物質交換を妨げる単なる壁ではなく, 現在では神経系に対する物質透過を選択する能動的なシステムであると考えられている. 臨床的な立場からは, BBB, BNBは炎症細胞や各種液性因子が神経実質内へと侵入する際の窓口であると共に, 難治性神経疾患治療薬が神経細胞・神経軸索へと到達するのを阻む最大の障壁ともとらえることが可能で, BBB, BNBの人為的な操作は各種神経疾患の新たな治療法開発へ新たな地平線を開くものである.

### はじめに

微小循環系は循環器系の最終目的である物質交換のなされる場である. 血液成分から組織に必要な物質を円滑に移行させ, かつ組織から出る老廃物を効率よく回収するため, 多くの臓器における微小血管系の血管内皮細胞は有窓であるが, 体内の限られた部位においては微小循環系構成内皮細胞は隣接する細胞間でtight junctionを構成し, 物質の自由な往来を制限している. これをblood-tissue barrierといい, blood-testis barrier, blood-retinal barrierなど多数のbarrier systemが存在する. なかでも神経系

におけるbarrier systemは, 神経系の内部環境を維持する上で極めて重要であり, 中枢神経系の血液脳関門 (blood-brain barrier; BBB), 末梢神経系の血液神経関門 (blood-nerve barrier; BNB) がそれにあたる.

しかし, BBB/BNBは物質の透化を妨害する単なる“壁”ではない. たとえば中枢神経系で多量を必要とするglucoseをとってみると, BBBはD-glucoseのみを特異的に血管内から中枢神経実質へと移送し, その光学異性体であるL-glucoseに対する透過性はほとんど0に等しい. ここで例に挙げた選択的なD-glucoseの吸収は, BBBを構成する内皮細胞に局在するglucose transporter type 1 (GLUT 1) が司っており, このような選択的物質透過はglucose以外にも多数の物質で観察される. 従って, BBBは単なる障壁ではなく, 神経系に対する物質透過を選択するシステムととらえるのが妥当と考えられる. 本稿ではBBB/BNBの構造を主に最近明らかになったtight junction関連蛋白を中心に述べ, 続いてBBBにおける特殊輸送系についての最近の知見を紹介したい.

### 血液脳関門 (blood-brain barrier, BBB)

#### BBBの解剖学

中枢神経系のバリアは血液脳関門の他に血液脳脊髄液関門 (blood-CSF barrier) があり, 後者の主役は脈絡叢上皮細胞であるが, この項では血液脳関門に論を絞って述べていくこととする. 脳の微小血管系は, 全身他臓器のそれと同じくarteriole,

---

平成16年12月10日受理

capillary, venuleの順番に流れていくが、実際にBBBが存在するのは赤血球と同じくらいの直径を有するcapillary (径7-8  $\mu\text{m}$ )の部分で、血流速度は極めて緩徐である。この径の血管のcapillary bedを脳全体で合計すると非常に広い面積を占め、一説には全長600km, 表面積9  $\text{m}^2$ に及ぶと言われている。

### BBBを構成するタンパク質

この微小血管におけるバリア機能の本体は内皮細胞が担っており、解剖学的には、内皮細胞相互間での連続するtight junction構造がそれに相当する。近年、tight junctionを構成する2種類の主要な膜タンパクが明らかになった。一つはoccludin, もう一つはclaudin family (現在20以上のメンバーが報告されている)であり、いずれも4回の膜貫通ドメインを持つ点で共通しているがアミノ酸配列の近似はない<sup>1)</sup>。Occludinについてはノックアウトマウスを作成してもtight junction構造が保たれることがその後明らかにされ、現在ではclaudin familyがバリア機能の中心的役割を担う蛋白であろうと考えられている。脳微小血管系にはclaudin-1とclaudin-5の存在が報告されている。Claudin-5はBBB構成血管のみならず全身の血管内皮細胞に発現している蛋白であるが、ノックアウトマウスではBBBにおけるtight junction構造は正常に保たれているものの800D未満の小分子量物質の透過性が選択的に増加する所見が得られており<sup>2)</sup>、この物質の神経系バリアーでの重要性が示唆される。筆者らもCIDP患者の末梢神経endoneurium内の微小血管におけるclaudin-5のdownregulationを観察しており、炎症性ニューロパチーでのバリア破綻と関連のある所見と考えている<sup>3)</sup>。

Claudinとoccludinの細胞内ドメインのC末端にはZO-1, ZO-2, ZO-3の三種のzonula occludens (ZO)蛋白が結合し、さらに7H6 antigenやcingulinといった蛋白が結合して複雑なtight junction complexを形成している。ZO蛋白はさらに、カテニンなどのadherence junctionを形成する蛋白やアクチンなどの細胞骨格蛋白とも相互作用を行うと考えられている (図1)。

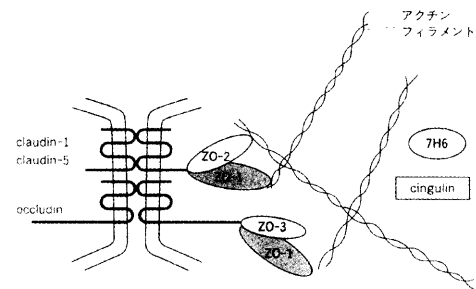


図1 BBBでのtight junctionを構成する分子 (模式図)。Claudinとoccludinはいずれも4回の膜貫通ドメインを持つ膜タンパクで、それぞれ隣接する細胞のclaudin, occludinとダイマーを形成する。BBBにはclaudin-1, claudin-5の2者が認められる。Claudin, occludinのC末端にはZO-1, ZO-2, ZO-3が結合するが、ZO-1はZO-2, ZO-3とヘテロダイマーを形成、ZO-1とZO-2はさらにactin filamentと結合する。この構造の細胞質側には7H6, cingulin等多数のタンパク質の存在が確認されている。(文献<sup>2)</sup>より引用、一部改変)

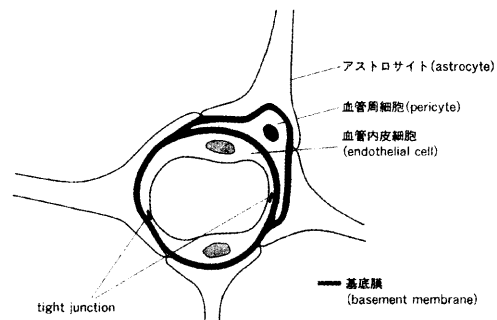


図2 BBBの模式図。バリア機能の本体は隣接内皮細胞間のtight junctionである。(文献<sup>2)</sup>より引用、一部改変)

BBBの実体は何か、BBBは何によって制御されているか

BBBの本体が脳微小血管内皮細胞であろうことは上に述べたとおりであるが、これに加えて脳毛細血管には星状膠細胞astrocyteと血管周細胞pericyteが存在する。血管周細胞は内皮細胞の外周の約20-30%を覆っており、さらにその外周を星状膠細胞の足突起が囲む形をとる (図2)。Janzer & Raff<sup>4)</sup>は非脳組織由来の内皮細胞であっても星状膠細胞によってバリア機能を付与しうることを実験的に示し、星状膠細胞がBBB propertyを誘導するというドグマを証明した論文として広く引用されている。ただし、星状膠細胞が一義的にBBB形成に関与しているか否かについては、(1) Janzer & Raffの実験が再現できない<sup>5)</sup>、(2) 軟膜血管は高い電気抵抗を

有するが、astrocyteのendfeetと一様な接触を保っているわけではない<sup>6)</sup>、(3) BBBの重要な蛋白であるP-glycoproteinは、astrocyteとの接触以前にすでに蓄積している<sup>7)</sup>、(4) 何より、BBBとほぼ同等の機能を有する血液神経関門 (BNB) には星状膠細胞に相当する細胞が存在しない<sup>8)</sup> など、異論がないわけではない。脳毛細血管由来の内皮細胞は星状膠細胞のコントロールをうけない継代培養下でも特有の細長い形態をもち、P-glycoproteinなどのバリア特異蛋白を発現するなどのBBB固有の機能を保持する。星状膠細胞の関与はあるにしても、バリア機能の基本は脳毛細血管由来の内皮細胞自体がもっているものと考えているのが現在の趨勢である。

星状膠細胞が内皮細胞にシグナルを伝達する手段としては、(1) 直接的な膜と膜の接触によって(この可能性はあまり高くない)、(2) 拡散可能な分泌液性因子を介して、(3) Short rangeの分泌液性因子を介して、(4) 星状膠細胞と内皮細胞を隔てるextracellular matrixに局在する分泌因子を介して等が考えられる。この星状膠細胞由来のBBB形成因子の実体は長らく謎に包まれていたが、最近、Src-suppressed C kinase substrate (SSeCKS) という物質がBBB機能を発現させるシグナルのtriggerとして同定された<sup>9)</sup>。SSeCKSが星状膠細胞以外の細胞(たとえば血管周細胞、神経細胞など)からも分泌されるか、また、バリアー破壊がpathogenesisに関与していると考えられる疾患においてSSeCKSがどのような動態をとっているかなど、解決すべき問題は多数残されているが、この物質の発見はBBB研究における最近の大きなbreakthroughの一つと評価される。

### 血液神経関門 (blood-nerve barrier, BNB)

BNBはBBBとどう違うか

(1) バリア機能そのものにはほとんど差がないが、BBB特異物質の中でBNBに表現されていないものがある

バリアとしての機能を比較すると、BNBはBBBほどの有効性を持たないというのがかつての理解であった<sup>10, 11)</sup> し、今でもBNBはBBBよりも脆弱であるとの記載が散見されるのが現状である。しかし、Podusloら<sup>12)</sup> はinsulin, NGF, albumin, transferrin,

IgGの5つの物質の透過性を検討し、①いずれの物質も微量ながらバリアを通過しうること、②BNBとBBBの間に機能的な差異はほとんど存在しないこと、の2点を明らかにしており、少なくともBNBのしっかりした末梢神経本幹部においてはBBBとほぼ同等のバリア機能が存在する、というのが現在での一般的な考え方である。

Blood-tissue barrierを構成する内皮細胞には、他臓器の内皮細胞では見られない特異な蛋白質が発現されており、バリア機能との関連が以前より話題になっていた。BBBでいえば $\gamma$ -GTP, MAO, P-glycoprotein, GLUT1などがそれに相当するが、これらがバリア機能と直接的な関連を持つか、単に近傍の星状膠細胞により誘導されたものであるのかは現時点では不明である。このうち、BNBを構成する内皮細胞にはGLUT1は存在するが $\gamma$ -GTPは発現していないこと<sup>8)</sup>、claudin-1は末梢神経系では内皮細胞ではなくもう一つのバリア担当細胞である神経周膜細胞perineurial cellに発現していること<sup>3)</sup>等を我々は明らかにしたが、その他のバリアマーカーについては詳細は不明である。構成蛋白の面からもBBBとBNBは明らかな違いがあることのみ、ここでは強調しておきたい。

(2) 中枢神経系・末梢神経系ともにバリア機能を欠く部位がある

中枢神経系では下垂体・松果体・正中隆起・最後野・脈絡叢内皮が、末梢神経系では後根神経節周辺と自律神経節周辺がBBB/BNB機能を欠く部位であり、血中可溶性物質は神経実質に自由にアクセス可能である。抗Hu抗体陽性のparaneoplastic syndrome, およびdrug-induced neuropathyの多くがsensory neuropathyであるのは、後根神経節でのBNBの欠如との関連が考えられる。中枢神経系のBBB機能欠損部位の多くは神経内分泌と関わっており、血中化学物質の濃度を鋭敏に感知するという意味でBBB機能の欠如はむしろ合目的的であると理解されるが、BNB欠損部位については合理的な理由は見いだし難い。

(3) BNBには星状膠細胞に相当する細胞が存在しない

BBB機能に対する星状膠細胞の役割については上述したとおりであるが、BNBを構成する神経内膜内微小血管の周囲にはfoot processを出す星状膠

細胞相当の細胞は存在せず、BNBのバリア機能の発現には星状膠細胞以外の細胞からのシグナルが関与しているか、あるいはBNBを構成する内皮細胞自身にバリアを維持する機能が内在しているかのいずれかでなくてはならないであろう。この問いに答えるためには培養神経内膜内微血管由来内皮細胞 (peripheral nerve microvascular endothelial cell; PnMEC) が最も有力な武器となる。この細胞<sup>8)</sup>を用いてBNBの分子細胞学的研究がBBBと同レベルに進展することを期待したいが、現時点では、培養PnMEC自体にはBMECに匹敵するバリア形成能力はなく、神経内膜内微血管のもうひとつの構成細胞である血管周細胞がバリア機能発現の一助になっている可能性がある、というデータを得ている<sup>13)</sup>。

### Drug deliveryとBBB/BNB

前述のようにBBB/BNBには極めて強い物質選択制があり、脂溶性物質 (たとえばバルビツール系薬剤) に関してはほとんどフリーパスであるのに対して極性物質、とくに分子量の大きな物質の透過は極めて困難である。近年、CNTF, BDNF, GDNFをはじめとする多数の神経栄養因子が*in vitro*で脊髄前角細胞・黒質ニューロン・前脳基底野コリン作動性ニューロンなどに有効であることが報告され、一部は臨床試験も行われているが、はかばかしい成果はあがっていない。全身投与によるこれらの薬剤の有効性が捉えがたいのはBBBにおける透過性の低さが大きな要因の一つであると考えられ、現在、このBBB低透過性の克服に向けての研究が複数の研究室で精力的に行われている。

さて、BBB/BNBにおいて極性を持つ物質が細胞内を通り抜けて反対側へと出る方法としては、大きく分けて1. carrier-mediated transportと2. transcytosisの2種類がある。

#### 1. carrier-mediated transport

BBBを構成する内皮細胞には、ヘキソース (グルコースなどを運搬するGLUT1)、モノカルボン酸 (乳酸、酢酸、ピルビン酸など)、甲状腺ホルモン (T3など)、アミン (コリンなど) 中性アミノ酸 (フェニルアラニン, l-dopaなど; 中性アミノ酸トランスポーター (LAT1)), 塩基性アミノ酸 (アルギニンなど)、ヌクレオシド (アデノシンなど)、プリ

ン塩基 (アデニンなど) などを運搬する特殊なトランスポーターが複数存在し、神経細胞に必要な物質の供給を行っている<sup>14)</sup>。神経変性疾患や脳腫瘍に対し、有効な治療薬を経静脈的に有効量脳内へ到達させるにあたってこの輸送系は最も注目されるが、現時点では、このシステムを修飾することで脳内への有効なdrug deliveryをはかろうとする試みはなされていない。Carrier-mediated transport系の多くは水溶性の低分子物質やビタミンを対象としたものであり、たとえば薬物となるペプチドにグルコースをくっつけたものを作成してもGLUTはペプチドを認識できないためこのシステムに乗せて薬物を運搬することはできない。

#### 2. transcytosis

①fluid phase endocytosis, ②adsorptive phase transcytosis, ③ receptor-mediated phase transcytosisの3つが代表的である (図3)。

Transcytosisは基本的に一方向性で、血管内皮細胞内を管腔面→脳実質側の方向のみに動くのを特徴とする。Fluid phase endocytosis (液相エンドサイトーシス) は赤血球を除くほとんどのヒト細胞に見られる現象で、一般臓器の内皮細胞では極めて活発に行われているが、脳毛細血管ではmicropinocytic vesicleの数は極めて少なく、また、このメカニズムにより取り込まれた物質のほとんどはライソゾームで分解され、脳実質側まで無傷で到達することはほとんどないとされる。したがって、臨床的に利用

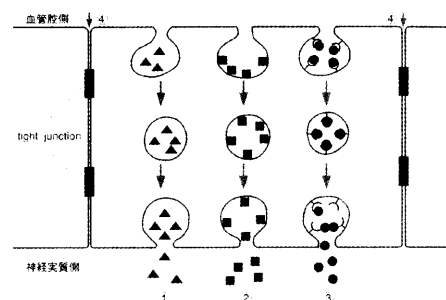


図3 BBB/BNBには、隣接内皮細胞間に強力なtight junctionがあるため、paracellularのtransport system (④) は基本的に機能せず、transcellularのtransport system (①fluid phase endocytosis, ② adsorptive phase transcytosis, ③ receptor-mediated phase transcytosisの3者がある) が唯一の血管内腔→神経実質への物質輸送経路となる。①はBBB/BNBではほとんど機能しておらず、②③が中心となる。(文献<sup>29)</sup>より引用、一部改変)

しうる transcytosis のメカニズムとしては② adsorptive phase transcytosis, ③ receptor-mediated phase transcytosis の2つが考慮の対象となる。

#### (1) Adsorptive phase transcytosis を利用した脳内への drug delivery

Adsorptive phase transcytosis は内皮細胞表面のある種の糖鎖に選択的に接着するレクチンを有する物質, あるいは陽性に帯電した物質 (内皮細胞表面は陰性に荷電している) が, 内皮細胞膜への緩やかな接着を介して細胞内に取り込まれ, 反対側 (つまり脳側) へと放出されるものである。Mayo Clinic の Poduslo らのグループは, 陽性に荷電したポリアミンである putrescine, spermidine, spermine などを superoxide dismutase (SOD), NGF などに conjugate させたものを作製し, これらが脳内に有効に取り入れられることを示している<sup>15, 16)</sup>。この方法は BBB での透過性を増し, 薬物の脳内濃度を上昇させる手技として一時大きな期待を集めていたが, 同時に全身末梢臓器での薬物吸収を増してしまうため血中濃度が低下し, 結局は臨床的に応用する方策にはなり得ないと考えられている。

#### (2) Receptor-mediated phase transcytosis を利用した脳内への drug delivery

Receptor-mediated phase transcytosis は, 内皮細胞表面にあるレセプターに特異的なリガンドを介して行われる transcytosis で, 生理的にはインスリン, トランスフェリン, LDL などがこのメカニズムを介して脳内へ運搬されると考えられており, 現時点で最も有力な戦略として期待されている方法である。UCLA の Pardridge らのグループは, NGF にラットの トランスフェリンレセプターに対するモノクローナル抗体である OX-26 を conjugate させたものを使い, NGF が確実に中枢神経内へと移行していることを明らかにした<sup>17, 18)</sup>。OX-26 の conjugation は GDNF についても同様に有効であることが最近示されており<sup>19)</sup>, 他の神経栄養因子についても今後応用されて行くであろうと思われる。

#### (3) その他

Drug delivery の研究はおもに BBB が対象であったが, Kramer らは P2 蛋白反応性の CD4+T cell line (line R4) にマウス NGF gene を組み込んだ細胞を作製し, この細胞がラットに静注後 2 週間以上にわ

たって末梢神経内に存在し続けること, 局所的に NGF を産生し続けること, および, wild type と較べて EAN の重症度が軽減されることを示した<sup>20)</sup>。末梢神経成分で感作された T 細胞が BNB を越えて末梢神経内に長期に停留することを利用した仕事で, neuritogenicity の克服が今後の課題となるであろうが, 神経特異性 T 細胞を神経栄養因子の”運び屋”として用いた注目すべき論文である。

#### おわりに

近年の分子生物学的・細胞生物学的手法の発展により, BBB/BNB に関する基礎的知識は飛躍的に増加した。臨床の立場からは, BBB/BNB の破綻のメカニズムを知ることは免疫性神経疾患の予防に直結しており, バリアーを越える drug delivery のシステムの開発は, 神経栄養因子を用いた神経変性疾患の治療法の確立につながるものである。BBB/BNB は単なる神経系と全身循環系を隔てる障壁ではなく, 難治性神経疾患の治療法開発の Key となる臓器として, 今後の一層の研究の発展が望まれる。

#### 引用文献

- 1) Tsukita S, Furuse M. Occludin and claudins in tight-junction strands: Leading or supporting players? *Trends Cell Biol* 1999; **9**: 268-273.
- 2) Nitta T, Hata M, Gotoh S, Seo Y, Sasaki H, Hashimoto N, Furuse M, Tsukita S. Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice. *J Cell Biol* 2003; **161**: 653-660.
- 3) Kanda T, Numata Y, Mizusawa H. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: decreased claudin-5 and relocated ZO-1. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; **75**: 765-769.
- 4) Janzer RC, Raff MC. Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. *Nature* 1987; **325**: 253-257.
- 5) Holash JA, Noden DM, Stewart PA. Re-evaluating the role of astrocytes in blood-brain barrier induction. *Dev Dyn* 1993; **197**:

- 14-25.
- 6) Allt G, Lawrenson JG. Is the pial microvessel a good model for blood-brain barrier studies? *Brain Res Rev* 1997 ; **24** : 67-76.
  - 7) Qin Y, Sato TN. Mouse multidrug resistance 1a/3 gene is the earliest known endothelial cell differentiation marker during blood-brain barrier development. *Dev Dyn* 1995 ; **202** : 172-180.
  - 8) Kanda T, Iwasaki T, Yamawaki M, Ikeda K. Isolation and culture of bovine endothelial cells of endoneurial origin. *J Neurosci Res* 1997 ; **49** : 769-777.
  - 9) Lee SW, Kim WJ, Choi YK, Song HS, Son MJ, Gelman IH, Kim YJ, Kim KW. SSeCKS regulates angiogenesis and tight junction formation in blood-brain barrier. *Nat Med* 2003 ; **9** : 900-906.
  - 10) Olsson Y. Topographical differences in the vascular permeability of the peripheral nervous system. *Acta Neuropathol* 1968 ; **10** : 26-33.
  - 11) Arvidson B. Cellular uptake of exogenous horseradish peroxidase in mouse peripheral nerve. *Acta Neuropathol* 1977 ; **37** : 35-41.
  - 12) Poduslo JF, Curran GL, Berg CT. Macromolecular permeability across the blood-nerve and blood-brain barriers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; **91** : 5705-5709.
  - 13) Iwasaki T, Kanda T, Mizusawa H. Effects of pericytes and various cytokines on integrity of endothelial monolayer originated from blood-nerve barrier : an in vitro study. *J Med Dent Sci* 1999 ; **46** : 31-40.
  - 14) Pardridge WM. Recent advances in blood-brain barrier transport. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1988 ; **28** : 25-39.
  - 15) Poduslo JF, Curran GL. Increased permeability of superoxide dismutase at the blood-nerve and blood-brain barriers with retained enzymatic activity after covalent modification with the naturally occurring polyamine, putrescine. *J Neurochem* 1996 ; **67** : 734-741.
  - 16) Wengenack TM, Curran GL, Poduslo JF. Postischemic, systemic administration of polyamine-modified superoxide dismutase reduces hippocampal CA1 neurodegeneration in rat global cerebral ischemia. *Brain Res* 1997 ; **754** : 46-54.
  - 17) Pardridge WM, Buciak JL, Friden PM. Selective transport of an antitransferrin receptor antibody through the blood-brain barrier in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 1991 ; **259** : 66-70.
  - 18) Friden PM. Receptor-mediated transport of peptides and protein across the blood-brain barrier. In : Pardridge WM, ed. *The Blood-Brain Barrier*. Raven Press, New York, 1993 : 229-247.
  - 19) Albeck DS, Hoffer BJ, Quissell D, Sanders LA, Zerbe G, Granholm AC. A non-invasive transport system for GDNF across the blood-brain barrier. *Neuroreport* 1997 ; **8** : 2293-2298.
  - 20) Kramer R, Zhang Y, Gehrman J, Gold R, Thoenen H, Wekerle H. Gene transfer through the blood-nerve barrier : NGF-engineered neuritogenic T lymphocytes attenuate experimental autoimmune neuritis. *Nat Med* 1995 ; **1** : 1162-1166.
  - 21) 神田 隆. 免疫系と神経系を隔てるバリアー. *Brain Medical* 2003 ; **15** : 353- 359.
  - 22) 神田 隆. 血液・脳（神経）関門についての新たな知見. *Brain Medical* 1998 ; **10** : 389-394.

## Blood-Brain Barrier and Blood-Nerve Barrier

Takashi KANDA

*Department of Neurology and Clinical Neuroscience,  
Yamaguchi University School of Medicine,  
1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi, 755-8505, Japan*

### SUMMARY

Central nervous system (CNS) and peripheral nervous system (PNS) are segregated from systemic circulation by special barrier systems, namely, blood-brain barrier (BBB) and blood-nerve barrier (BNB). These barriers are not just the mechanical wall prohibiting the entrance of various toxic materials into the nervous system parenchyma but the sophisticated systems that select the necessary substances to enter and unnecessary waste to excrete, finally maintaining the homeostasis of CNS and PNS. Clinically, the control of inflammatory cells and cytokines at the level of BBB/BNB can develop a novel therapeutic strategy toward the inflammatory/autoimmune nervous system disorders including multiple sclerosis and Guillain-Barré syndrome. In addition, elucidating the details of the BBB/BNB transport system is a very important step towards successful drug targeting to the brain and peripheral nerve parenchyma.