

図2 制御性T細胞, NKT細胞, NK細胞による免疫調節

さまざまな制御性T細胞や, NKT細胞, NK細胞が相互作用して, 自己反応性T細胞の末梢での活性化を抑制すると考えられる。

(Takahashi T, et al. Brain 2004 ; 127 : 1917-27²³⁾より改変)

NK2型になって, Th1細胞の活性化を抑制している症例があると推定される。また, MS寛解期のNK細胞では, Fas抗原を高発現している症例がある。このような症例では, 末梢血からNK細胞を除去して髄鞘タンパク質抗原であるミエリン塩基性タンパク質(MBP)に反応してIFN- γ を産生するT細胞をフローサイトメトリーで検出できるようになる。この現象は, 健常人やFas抗原を高発現していない症例ではみられず, MSの一部の症例では寛解期にNK細胞が自己反応性T細胞を抑制していることが示唆される。

しかし, NK細胞の自己反応性T細胞抑制の機序は, サイトカインによるのか, あるいは樹状細胞などに対する細胞障害によるのか, 他の機序があるのかまだわかっていない²³⁾。また, NK細胞の数や機能異常が自己免疫疾患の発症因子になるかどうかについては不明であるが, これまでの報告ではNK活性は病勢の変化に影響されるようなので, ストレスやウイルス感染を契機に病態が増悪するような背景には, NK細胞の関与がある可能性がある。

2. NK細胞と自己免疫疾患モデル

ループスモデルの一つであるC57BL/6.*lpr*マウスでは, 抗ds(double stranded)-DNA抗体産生B細胞が抗NK1.1抗体によるNK細胞の除去により増加し, NK細胞移入で減少すると報告

された¹⁹⁾。いずれの結果もNKT細胞を含む細胞群を除去もしくは移入しているため, NK細胞のみの作用かどうかについては今後の検討が必要であるが, NK細胞が病態抑制的に働いていることを示唆する。別のループス自然発症モデルであるNZB/W F₁マウスでは, 肝NK細胞のNK活性は臨床症状出現時には高いことが報告されたが, その役割については不明である。EAEでは, マウスでもラットでも抗体によるNK細胞除去により病態が悪化することが報告されている²⁴⁾。自験データではCIAでもNK細胞除去で関節炎は増悪し, 活性化NK細胞移入で軽減した。一方, 重症筋無力症のモデルでは, NK細胞除去によって病態は軽減することが報告されている²⁵⁾。以上の結果から, 自己免疫モデルではNK細胞は保護的に働く場合もあるが, エフェクター細胞として病態形成に関与する場合もあるようである。

生体内では多くの細胞が協調して自己免疫を抑制し, 外来抗原への免疫を効率的に行っていると考えられる(図2)。さまざまな免疫制御細胞が報告されているが, 各細胞の特徴, 作用機序, 相互作用など複雑で不明な点が多い。今後, さらに新しい制御性細胞も同定されるであろうし, その細胞間のネットワークも解明され, 選択的な免疫調節が可能になっていくことが期待される。

- 1) Sakaguchi S. Naturally arising CD4⁺ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2004 ; 22 : 531-62.
- 2) Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995 ; 155 : 1151-64.
- 3) von Herrath MG, Harrison LC. Antigen-induced regulatory T cells in autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2003 ; 3 : 223-32.
- 4) Cao D, Malmstrom V, Baecher-Allan C, et al. Isolation and functional characterization of regulatory CD25^{bright} CD4⁺T cells from the target organ of patients with rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* 2003 ; 33 : 215-23.
- 5) van Amelsfort JM, Jacobs KM, Bijlsma JW, et al. CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in rheumatoid arthritis : Differences in the presence, phenotype, and function between peripheral blood and synovial fluid. *Arthritis Rheum* 2004 ; 50 : 2775-85.
- 6) Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A, et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF alpha therapy. *J Exp Med* 2004 ; 200 : 277-85.
- 7) Kukreja A, Cost G, Marker J, et al. Multiple immuno-regulatory defects in type-1 diabetes. *J Clin Invest* 2002 ; 109 : 131-40.
- 8) Jiang H, Chess L. The specific regulation of immune responses by CD8⁺ T cells restricted by the MHC class Ib molecule, Qa-1. *Annu Rev Immunol* 2000 ; 18 : 185-216.
- 9) Hu D, Ikizawa K, Lu L, et al. Analysis of regulatory CD8 T cells in Qa-1 deficient mice. *Nat Immunol* 2004 ; 5 : 516-23.
- 10) Rifa'i M, Kawamoto Y, Nakashima I, Suzuki H. Essential roles of CD8⁺CD122⁺ regulatory T cells in the maintenance of T cell homeostasis. *J Exp Med* 2004 ; 200 : 1123-34.
- 11) Brigi M, Brenner MB. CD1 : Antigen presentation and T cell function. *Annu Rev Immunol* 2004 ; 22 : 817-90.
- 12) Hammond KJL, Godfrey DI. NKT cells : Potential targets for autoimmune disease therapy? *Tissue Antigens* 2002 ; 59 : 353-63.
- 13) Kawano T, Cui J, Koezuka Y, et al. CD1d-restricted and TCR-mediated activation of V α 14 NKT cells by glycosylceramides. *Science* 1997 ; 278 : 1626-9.
- 14) Kojo S, Adachi Y, Keino H, et al. Dysfunction of T cell receptor α V24 α J18⁺, β V11⁺ double-negative regulatory natural killer T cells in autoimmune diseases. *Arthritis Rheum* 2001 ; 44 : 1127-38.
- 15) Araki M, Kondo T, Gumperz JE, et al. Th2 bias of CD4⁺T cells derived from multiple sclerosis in remission. *Int Immunol* 2003 ; 15 : 279-88.
- 16) Pal E, Tabira T, Kawano T, et al. Costimulation-dependent modulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by ligand stimulation of V α 14 NK T cells. *J Immunol* 2001 ; 166 : 662-8.
- 17) Chiba A, Kaieda S, Oki S, et al. The participation of V α 14 NKT cells in the pathogenesis of murine models of arthritis. *Arthritis Rheum*, in press.
- 18) Chiba A, Oki S, Miyamoto K, et al. Natural killer T-cell activation by OCH, a sphingosine truncated analogue of α -galactosylceramide, suppresses collagen induced arthritis. *Arthritis Rheum* 2004 ; 50 : 305-13.
- 19) Baxter AG, Smyth MJ. The role of NK cells in autoimmune disease. *Autoimmunity* 2002 ; 35 : 1-14.
- 20) Flodstrom M, Shi F-D, Sarvetnick N, Ljunggren H-G. The natural killer cell—Friend or foe in autoimmune disease? *Scand J Immunol* 2002 ; 55 : 432-41.
- 21) Dalbeth N, Callan MFC. A subset of natural killer cells is greatly expanded within inflamed joints. *Arthritis Rheum* 2002 ; 46 : 1763-72.
- 22) Takahashi K, Miyake S, Kondo T, et al. Natural killer type 2 bias in remission of multiple sclerosis. *J Clin Invest* 2001 ; 107 : R23-9.
- 23) Takahashi T, Miyake S, Endoh M, Yamamura T. The regulatory role for natural killer cells in the "smoldering" state of multiple sclerosis. *Brain* 2004 ; 127 : 1917-27.
- 24) Zhang B, Yamamura T, Kondo T, et al. Regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by natural killer (NK) cells. *J Exp Med* 1997 ; 186 : 1677-87.
- 25) Shi F-D, Wang H-B, Li H, et al. Natural killer cells determine the outcome of B cell-mediated autoimmunity. *Nat Immunol* 2000 ; 1 : 245-51.

特集 アルツハイマー病研究の最前線—基礎と臨床

アルツハイマー病とミクログリア*

秋山 治彦**

ミクログリアは脳病変において活性化し、病的産物の貪食・処理にたずさわる。アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) 脳におけるミクログリア活性化には、神経細胞障害性というマイナスの面と、A β 沈着除去というプラスの面がある。AD 脳ではアミロイド β 蛋白質 (A β) 沈着の処理が難しく、かつ A β が新たに産生され沈着し続けるため、他の変性疾患に比べてミクログリアの反応はより高度で長期間持続する。ミクログリア活性化を中心とする炎症反応は、周囲の神経細胞を障害すると考えられ、ミクログリアの機能を抑制する治療が検討されている。一方、逆にミクログリアをさらに活性化させて、A β 沈着除去の促進をはかるべきだとの考えもある。実際、AD 剖検脳標本において、ときに、不完全脳虚血などにより、合併症のない AD よりもミクログリアの活性がやや高まった状態で A β 除去が成功している部位を見出すことができる。脳の免疫・炎症抑制的な環境において、どの程度の活性化がどのくらいの期間続くと神経細胞に重大な障害を引き起こすのか、また神経細胞を障害しない範囲で A β 沈着除去の効率を高めるにはどうしたら良いのか、といった点が、AD の治療を考える上で今後の研究課題である。

キーワード：アミロイド β 蛋白質除去，神経炎症，神経毒性

I. ミクログリアという細胞

20世紀の初め頃、del Rio Hortega とその弟子の Penfield は、新しく開発した鍍銀染色を用いて、脳組織標本におけるミクログリアを観察し、この多様な形態を示す小型の細胞が、脳における貪食細胞であるという結論に達した。彼らは、ミクログリアが病変部位においてアメーバ様の細胞、さらには円形のマクロファージへと形を変化させ、異物や壊死組織を貪食・処理すると考えた (Penfield, 1925)。しかし、その後、ミクログリアの由来や働きについて多くの異論が出され、論争は1980年代まで続くことになる。免疫組織化学染色の出現前は、脳組織標本におけるミクログリアの同定が難しかったこと、脳病変によっては、他の

臓器と同様、血液単球が進入してマクロファージとなる場合があること、などが混乱の原因と思われる。今日では、かなりの問題において一応のコンセンサスが得られているが、それでもミクログリアの起源、脳病変に出現する活性化ミクログリア・脳マクロファージと、血液単球・脳在住 (静止型) ミクログリア・周細胞 (pericyte) や間藤細胞などの血管周囲細胞、さらには髄膜マクロファージなどとの関係など、完全に解明されたとは言えない部分も残っている (Gehrmann, 1995)。

ミクログリアは現在、骨髄球系細胞と同じ系統の細胞が、個体発生において骨髄が形成される時期と前後して脳に進入し、定着すると考えられている。病変のない脳では小さな細胞体と枝分かれした細長い突起を

2005年3月3日受稿

* Alzheimer's disease and microglia.

** 東京都精神医学総合研究所老年期精神疾患研究部門 (〒156-8585 東京都世田谷区上北沢 2-1-8) Haruhiko AKIYAMA : Department of Psychogeriatrics, Tokyo Institute of Psychiatry, 2-1-8 Kamikitazawa, Setagaya-ku, Tokyo 156-8585, Japan.

0001-8724/05/Y 500/論文/JCLS

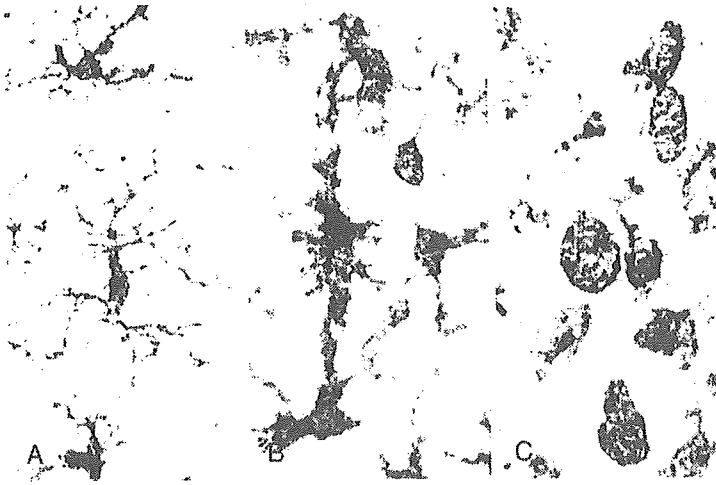


図1 ミクログリアの形態変化(ヒト剖検脳標本の補体受容体CR3の免疫組織化学染色)

A: 正常脳の静止型ミクログリア, B: アメーバ様の形態を示す活性化ミクログリア, C: 脳マクロファージ。

多数もち、静止型ミクログリアと呼ばれる(図1A)。骨髄キメラを用いた実験では、長期にわたる観察にも関わらず、骨髄由来の細胞(単球)と脳在住ミクログリアとの入れ替わりが認められたのは、血管周囲に限られていたと報告されている(Hickey, 1988)。したがって、ミクログリアの大部分は脳において増殖・維持されていると思われる。肝Kupfer細胞、破骨細胞、皮膚Langerhans細胞など、多くの組織にマクロファージとよく似た機能をもつ貪食細胞が存在するが、ミクログリアは脳における貪食細胞である。

II. 脳病変におけるミクログリアの活性化

脳病変が発生すると、病変周囲の静止型ミクログリアはアメーバのように形態を変化させるとともに(図1B, 1C)、場合によっては病変部位に遊走する(Akiyama, 1994)。このように病変に反応して変化したミクログリアは、脳で観察される活性化ミクログリアのうち少なくとも相当な部分を占めると推測される。ミクログリアは活性化によってアメーバ様に形態が変化することに加えて、様々な蛋白質・因子の産生が亢進し、また活発な貪食作用を示す。この時、病変による組織破壊の強さによっては、血液から単球が脳に浸潤してマクロファージとなり、形態や表現型からは、脳在住ミクログリアに由来する活性化ミクログリアとの区別がつかなくなる。活性化ミクログリア・脳マクロファージは、HLA-DRをはじめとする主要組織適合抗原、Fc γ 受容体、補体受容体、スカベンジャー受容体など多数の膜蛋白を発現している(Mcgeer, 1995)。また貪食や活性化に伴い酸素消費が著しく高まり、活性酸素が生成される。

活性化ミクログリアの出現は多くの脳病変で認められるが、活性化の程度や細胞数、それらの経時的変化などは、病変の強さや広がり、時間経過、原因などに

よって異なる。また活性化ミクログリアは静止型ミクログリア、血管周囲細胞、髄膜マクロファージ、血液単球など、部位や病変の性質によって異なる細胞集団に由来する可能性がある。さらに、静止型ミクログリア自体が均一な細胞集団かどうかという点についても、今のところ結論は得られていない(澤田, 1995)。たとえばヒト脳ミクログリアでは凝固第XIII因子発現の有無は、活性化に関わりなく一部のミクログリアに限って認められるが(図2A)(Akiyama, 1995)、これはミクログリアが表現型の違いによって複数の亜集団に分けられることを示唆する。このような違いは脳病変におけるミクログリアの役割とも関連する可能性があり、たとえば活性化に伴ってneurotoxicな作用を示すミクログリアと、neuroprotectiveな作用を示すミクログリアが存在するのではないかといった議論にも結びつく。単離培養されたミクログリアの亜集団で神経細胞死誘導性の有無が異なっているが、両者にNADPH oxidaseの蛋白量に違いが認められなかったといった報告などもあり(Vilhardt, 2002)、機能の違いと細胞集団との関係はまだ今後の研究課題である。

III. アルツハイマー病脳におけるミクログリア活性化

アルツハイマー病(Alzheimer's disease: AD)脳では、皮質・白質の広い範囲において活性化ミクログリアが認められ、その分布はマクロレベルでAD病変の分布と一致する。AD脳に特徴的な点は、神経細胞脱落や神経線維変性に反応して活性化しているだけでなく、老人斑のアミロイド β 蛋白質(amyloid β -protein: A β)沈着や、神経細胞が死滅して細胞外に不溶性沈着物として取り残された神経原線維変化(ghost tangle)の除去のために、ミクログリアが活性化していることである。A β 沈着やghost tangleでは補体系が活性化さ

れている (Akiyama, 2000a)。これらの病的産物では補体によるオプソニン化が生じて、補体受容体をもつミクログリアによる貪食除去が促進されていると考えられる。一般に貪食細胞は異物の貪食によって活性が亢進するが、培養細胞を用いた実験で補体受容体へのリガンド結合自体がミクログリアを活性化することも知られている。しかし、A β 沈着や ghost tangle などの“アミロイド”の構造をもつ病的産物は、貪食後の細胞内での分解・処理が難しく、ミクログリアによる除去は部分的にしか成功しない。その結果、これらの沈着物の周囲ではミクログリア活性化が長期間続くことになる。

AD 脳組織標本でミクログリアを観察すると、老人斑において活性化ミクログリアが複数集まって塊状をなしているのが観察される (図 2B) (Haga, 1989; Itagaki, 1989)。この老人斑ミクログリアでは MHC class I, class II 抗原をはじめとして、様々なマクロファージ関連蛋白質の発現が亢進している (McGeer 1995; Akiyama, 2000a)。前述のように A β 沈着や ghost tangle において生じた補体の活性化フラグメントがミクログリアを活性化させていると考えられるが、*in vitro* の実験では、A β が培養ミクログリア・ミクログリア様細胞に直接作用して活性化させるという報告が多数なされている。そのような研究では培養ミクログリアに A β を添加すると、IL-1, TNF- α , 活性酸素, NO などの産生増加や、神経細胞とともに培養した場合の神経細胞障害性の亢進が生じることが示されている。このような刺激伝達を担うミクログリア細胞膜表面の A β 結合蛋白質候補として、スカベンジャー受容体 (scavenger receptor: SR) (Khoury, 1996; Paresce, 1996), advanced glycation endproduct: AGE 受容体 (Yan, 1996) などが挙げられている。ただ、これまでのところ、*in vitro* で観察される A β 自体による直接のミクログリア活性化が、脳において実際に生じているという証拠は得られていない。

IV. AD の病理プロセスにおけるミクログリアの役割

AD の病理プロセスにおいてミクログリアが果たしている役割については、いくつかの異なる考え方が存在する。老人斑のミクログリア活性化が長期間続いており、そこでは補体活性化をはじめ様々な慢性炎症反応が生じていることから、まず、ミクログリアが神経細胞を障害しているのではないかと推測された (McGeer 1995; Akiyama 2000a)。現在、AD の病理プロセスにおいて一次的な変化は A β の異常であると考

えられていて (A β 仮説)、神経原線維変化の形成や神経細胞変性はその結果として生ずるとされる。現時点における A β 仮説の問題点は、A β が神経細胞を障害する機序が明らかになっていないことであるが、A β 沈着に伴うミクログリア活性化と炎症反応がその機序であるとするのが、A β -神経炎症仮説ともいべき考え方である。このように、ミクログリア活性化による神経細胞障害がはじめに注目されたが、90 年代後半以降、ミクログリアが A β を除去する働きが指摘されるようになった。ミクログリアによる A β 除去には、活性化を伴う経路と伴わない経路が存在すると思われるが (Akiyama 1996a, 1996b, 1999, 2000b, 2004)、前者については A β ワクチンの作用機序 (Schenk, 1999) と考えられたことから、最近特に注目が集まっている。これらミクログリア活性化のマイナス面とプラス面については次項以下で詳しくふれる。

このほか、AD ではミクログリアの神経細胞保護作用の機能障害が生じているのではないかと考える研究者もいる (Streit 2004)。ミクログリアは成熟細胞であるが、病変の発生に反応して分裂増殖する。培養ミクログリアを GM-CSF などの成長因子で刺激し分裂させるとテロメアの短縮が生じるが、これはミクログリアが活性化・分裂を繰り返すことで加齢することを意味しており、そのような病態が持続する AD では、ミクログリアの老化促進による機能低下が神経細胞変性を引き起こす、との主張である。まだ新しい考え方で、多数の研究者による支持が得られているわけではないが、今後さらに検討を加えていく必要はあると思われる。

V. A β の神経細胞障害性と活性化ミクログリア

AD 脳におけるミクログリア活性化は、神経細胞の変性や A β 沈着などの病的産物の蓄積が引き金となっており、その点では脳における生体防御機構の正常な反応といえることができる。しかし、ミクログリアの活性化は炎症性サイトカイン、補体、活性酸素などの産生を伴う。末梢臓器では、マクロファージなどの炎症細胞の活動が、病理機序の中心をなす疾患がいくつか知られている。関節リウマチや痛風のほか、珪肺、アスペスト肺、ブレオマイシンによる肺線維症では肺胞マクロファージが、またエンドトキシンや四塩化炭素などによる肝障害では Kupffer 細胞や浸潤マクロファージが組織障害性に働くと考えられている (Laskin 1995)。これらの病態に共通しているのは、原因は様々であっても、それによって引き起こされる炎症反応が周囲の健全な組織を破壊する、という点であ

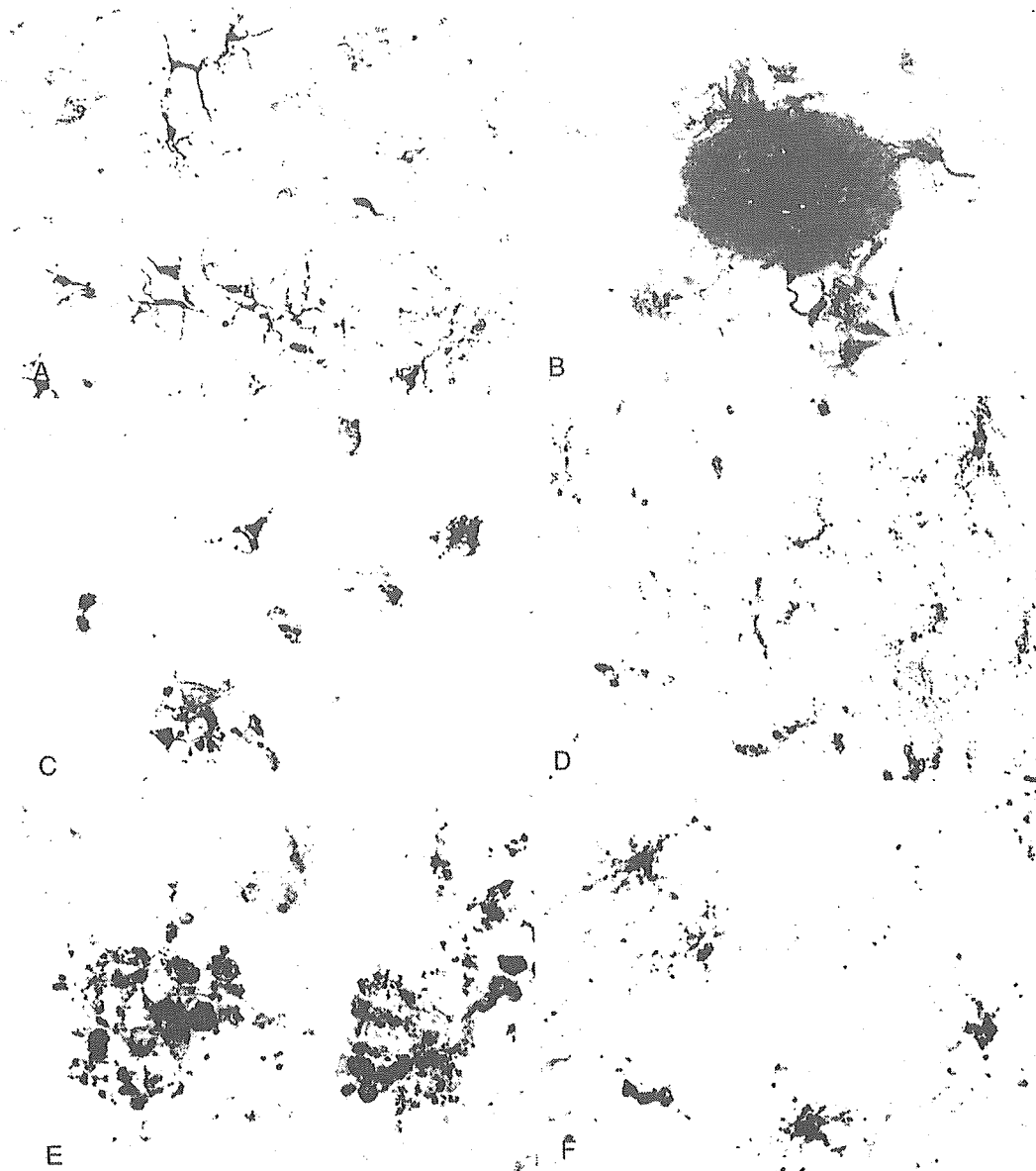


図 2

A: 凝固因子 FXIIIa 陽性ミクログリア (黒)。茶色は FXIIIa 陰性/HLA-DR 陽性ミクログリアを示す。B: アルツハイマー病老人斑。A β (赤), 活性化ミクログリア (HLA-DR: 黒), アストロサイト (GFAP: 茶) の三重免疫組織化学染色。C: 一次培養ラットミクログリア (CR3: 茶) による培養液中の A β 取り込みと A β の細胞内蓄積 (黒)。D: 非アルツハイマー病高齢者剖検脳に認められた A β 顆粒 (黒) 陽性ミクログリア (HLA-DR: 茶)。周囲の細胞外沈着は amorphous で, いわゆるびまん性老人斑よりもさらに早期の A β 沈着であると考えられる。E: 虚血例において観察された崩壊過程の老人斑。A β 沈着の大部分はミクログリア細胞体内に認められる。A β (黒)/ミクログリア (HLA-DR: 茶) 二重染色。F: ラットミクログリアによる末梢型ベンゾジアゼピン受容体 (PBR) 発現。PBR (黒)/ミクログリア (CR3: 茶) 二重染色。

る。老人斑におけるミクログリアの反応は, 通常の壊死組織の除去などとは異なり, 非常に長い期間, 同じ部位で持続している。この長期間にわたる炎症性組織反応が老人斑周囲の脳組織, 特に神経細胞に対して障害を与えることは容易に想像できる。実際, 老人斑変

性神経突起はミクログリア活性化を伴う A β 沈着にのみ認められ, ミクログリア活性化を伴わないびまん性の A β 沈着には認められない。A β の神経細胞障害性と考えられているプロセスに, 活性化ミクログリアが関わっている可能性は高いと思われる。



図3 ヒト別検脳におけるCOX発現

A: COX-1陽性ミクログリア。B: COX-1陽性海馬錐体細胞。C: COX-2陽性海馬錐体細胞(虚血・痙攣重積合併例)。

剖検脳組織標本において、ミクログリアの活性化や炎症性因子の老人斑への沈着が明らかにされたのを受けて、*in vitro*における活性化ミクログリアの神経細胞障害性を示した論文が多数発表された。それらの多くは、ミクログリアやミクログリア様細胞をAβで刺激して炎症性因子の産生増加や、共培養した神経細胞の細胞死を観察したり、その過程で機能する細胞内情報伝達系について調べたりしたものである(Akiyama 2000a)。その際にミクログリア細胞膜上のAβ受容体が話題となったことは前述した。また、抗炎症剤を添加してミクログリアの活性化やそれに伴う神経細胞障害性が抑制された、との研究もある(Hoozemans, 2001; Craft, 2004)。しかし、これらの研究結果から*in vivo*で生じている病理プロセスを推測するには注意を要する。たとえば、株化細胞を用いた場合はもちろんであるが、一次培養ミクログリアを用いたとしても、実際の脳におけるミクログリアとは細胞の性質が大きく違っている可能性がある。さらに、脳ではミクログリアの活性や炎症性因子の働きは、アストロサイトや神経細胞による炎症抑制機構によって厳密に制御されているが、培養下ではそのような微小環境の再現は困難である。*In vivo*の実験は治療法開発へのステップとして重要であるが、得られた知見を動物モデルや患者脳を用いて確認していく努力が必要であろう。

VI. 非ステロイド系抗炎症剤とミクログリア

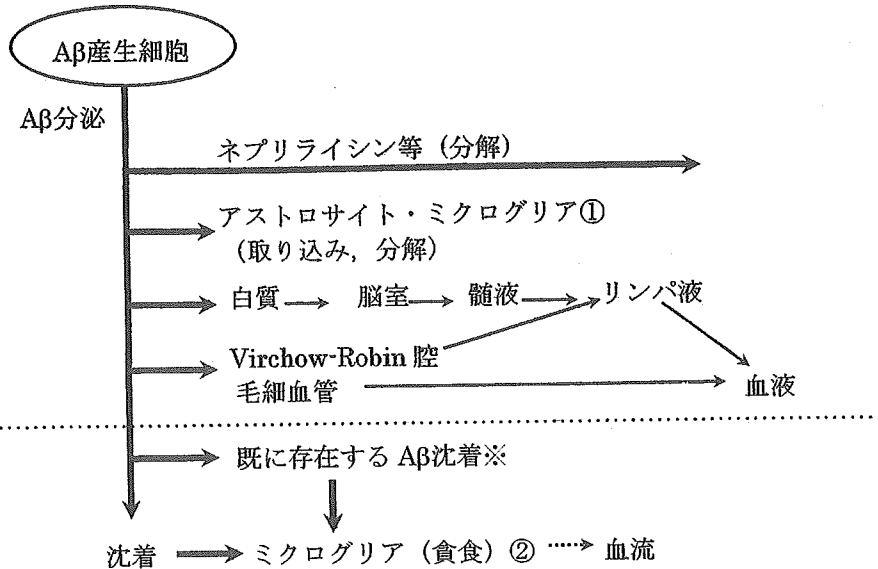
Aβの神経細胞障害性に炎症性機序が関わっているという視点から、非ステロイド系抗炎症薬(non-steroidal anti-inflammatory drugs: NSAIDs)の長期投与がADの発症を抑制するのではないかと、という仮説が出

され(McGeer, 1990)、多くの疫学調査がその仮説を支持する結果を示した(McGeer, 1996)。しかし、これまでのところAD患者へのNSAIDsの試験的投与はうまくいっておらず、その一方で、一部のNSAIDsにAβ42産生を抑制する作用があることが見出されて、ADに対するNSAIDs投与は、現在、その作用機序も含めて再検討の段階にある(本特集、森原論文参照)。

培養ミクログリアの神経細胞障害性をNSAIDsが抑制することは前述したが、NSAIDsの脳病変への適用という点では、NSAIDsの標的酵素であるシクロオキシゲナーゼ(cyclo-oxygenase: COX)の脳実質における発現が、末梢臓器とは若干異なっていることを考慮する必要がある。COXには恒常的に発現されているCOX-1と、炎症に伴い発現が亢進するCOX-2という2つのアイソザイムが知られている。古典的なNSAIDsが、割合は様々であるがCOX-1、COX-2の両方を抑制するのに対して、現在、炎症に関わるCOX-2を選択的に抑制するNSAIDsが、COX-1抑制に伴う胃腸障害が少ない薬剤として注目されている。脳においても、発現レベルが一定のCOX-1、反応性に発現が亢進するCOX-2という図式は同じである(Yasojima, 1999)。しかしCOX-1は、ミクログリア(図3A)(Yermakova, 1999; Schwab, 2000)と一部の神経細胞が(図3B)発現しているのに対して、COX-2は神経細胞が痙攣や、虚血などのストレスに反応して発現する(図3C)(Yamagata, 1993; Nogawa, 1997; Oka, 1997; Pasinetti, 1998)。神経細胞によるCOX-2発現は興奮性神経伝達に関わっているとも言われ、ミクログリアにおけるCOX-1の機能も含めて、NSAIDsによる脳でのCOX抑制の影響は今後の検討課題である。

図 4 現在想定されている A β の除去経路

点線から上は生理的に生じているが、下は老化や AD の場合にのみ生じる。
 ※先行 A β 沈着が存在する場合、新たに分泌された可溶性 A β は選択的に既存の A β 凝集塊・アミロイド線維の上に沈着する傾向がある。これは A β の除去経路とは言えないが、細胞外の可溶性 A β 濃度（したがって他の A β 除去経路）に影響を与える可能性があるため、ここに含めた。



VII. A β の産生と除去

A β 産生は AD の有無や年齢に関わりなく生じているが、正常脳では A β は適切に除去されて脳に蓄積することはない。また AD の重症度、経過年数、脳萎縮や神経細胞消失の程度と A β 沈着の量との相関は必ずしも明瞭ではなく、AD 脳においても A β の産生・沈着と除去は、並行して生じていると考えられている (Hyman, 1993)。産生された A β が脳から取り除かれる経路は多数あり、どの経路がどのような割合で働いているかは A β の存在様式や脳の部位によって異なると思われる。図 4 は A β が細胞外に分泌された後、脳から除去される経路を示している。まだ推測の部分も多く、A β 除去において各々の経路が占める割合なども不明である。点線から上が正常脳における A β 除去機構を、下が AD 脳で細胞外 A β 沈着を伴う場合に働く除去機構である。ミクログリアはこの A β 除去経路の中で、二通りの役割を果たしていると考えられる (Akiyama, 2000b)。A β が細胞外に出た後、凝集・不溶化する前に、ミクログリアおよびアストロサイトにより取り込まれて分解される経路 (図 4-①) と、細胞外 A β 沈着がいったん形成された後、凝集・線維化した A β をミクログリアが貪食除去する経路 (図 4-②) である。

VIII. ミクログリアによる A β の取り込み

ミクログリアは細胞外可溶性 A β を細胞内に取り込む機構を持っている。培養細胞を用いた実験では、取り込みが細胞内での分解よりも速いため、培養液中の A β 濃度が上昇して取り込みが分解の能力を超える

と、顆粒状の細胞内 A β 蓄積として観察されるようになる (図 2C)。AD 例剖検脳でも、しばしば細胞内に顆粒状の A β 蓄積を伴うミクログリアやアストロサイトが出現する (Akiyama, 1996b)。症例により、また部位により出現頻度は様々であり、老人斑との空間的な関係がある場合もない場合もある。中にはびまん性 A β 沈着よりもさらに早い段階のものと思われる amorphous な A β 沈着に伴うものもある (図 2D) (Akiyama, 1999)。細胞内 A β 蓄積を伴うグリア細胞の出現は、剖検の時点における細胞外可溶性 A β の濃度や A β 結合蛋白質・脂質の影響を受けるとされる。細胞内に A β 蓄積を伴うミクログリアやアストロサイトには静止型の形態・表現型を持つものが多く、このタイプの A β 取り込みはそれ自体ではグリア細胞の活性化を引き起こさないようである (Akiyama, 1999)。ここで問題となるのは、大量の細胞外 A β 沈着が存在しているにも関わらず、このような細胞内 A β 蓄積を伴うグリア細胞が少ない AD 例が相当数ある点である。これがグリア細胞による可溶性 A β 除去機構の機能不全を示しているのであれば、その原因がグリア細胞にあるのか、あるいは細胞外の A β と結合してグリア細胞への取り込みを阻害する蛋白質あるいは脂質等にあるのかは別として、AD の発症に結びついている可能性がある。

ミクログリアの A β 取り込みやそれに関わるグリア細胞膜上の A β 結合蛋白質 (受容体) については、培養細胞を用いた研究が多数発表されている。スカベンジャー受容体 (SR) は脳実質では一部のミクログリアが発現しており (Honda, 1998)、ミクログリアが A β を取り込む際の受容体の候補である。しかし、APP トランスジェニックマウスで SR をノックアウトしても、

A β 沈着の程度に変化は生じないことが報告されている(Huang, 1999)。これに対して, SRにはclass A, class Bの2種類があり, class-A SRをノックアウトした場合はclass-B SRがA β との結合を介するようになるという意見もある(Husemann, 2001)。 α 2-マクログロブリン受容体(α 2-macroglobulin receptor: α 2-MR)/LDL受容体関連蛋白質(LDL receptor related protein: LRP)は脳では神経細胞, アストロサイト, ミクログリアなどが発現しており, 特にAD脳ではグリア細胞による発現, 亢進が知られている(Tooyama, 1993)。A β が α 2-MR/LRPのリガンドであるアポリポ蛋白質-Eや α 2-マクログロブリンと結合して細胞内に取り込まれるとする報告がある(Cole, 2000; Verdier, 2004)。ミクログリアに取り込まれたA β はライソゾームで分解されるが(Ard, 1996), 一部は再度細胞外へ分泌されるという(Chung, 1999)。

IX. ミクログリアによるA β 沈着の貪食除去

ミクログリアはいったん凝集・沈着しアミロイド線維を形成したA β であっても, それを脳から除去する働きを持っている(図4の点線以下)。これは最も典型的には, ADの脳皮質に脳梗塞を合併した部位で, 活性化ミクログリア・脳マクロファージの機能として観察される(Wisniewski, 1991; Akiyama, 1996a)。このような病変では壊死組織とともにA β 沈着が貪食処理される。高齢者の剖検脳組織標本には, しばしば様々な程度や時期の小虚血病巣や低酸素症による変化が認められ, そこではミクログリアがその病変に応じて様々な程度に活性化されている。AD例においてそのような部位を観察していると, 中にニューロピルが保存され神経細胞も虚血性変化を示しながらも残存しているような不完全虚血病変で, A β 沈着・老人斑が減少あるいは消失している部位を見いだすことができる(図5)(Akiyama, 2004)。この場合, ミクログリア活性化の原因は重要ではなく, たとえば動物モデルの場合, LPS投与によるミクログリア活性化がA β 沈着を減少させることが知られている(Herber, 2004)。A β ワクチンの投与を受けて脳炎を合併した症例の剖検報告において, 部位によってA β 沈着の量が大きく異なっていたことが報告されたが(Nicoll, 2003), A β 沈着がほとんど消失している部位と大量に残存している部位とが近接して認められる, という点からは, このA β 沈着の減少が, ワクチンによる全脳的な効果よりも, 脳炎に伴う局所的なミクログリアの高度活性化の結果であることが示唆される。

合併病変のないAD脳でも, 大部分の老人斑におい

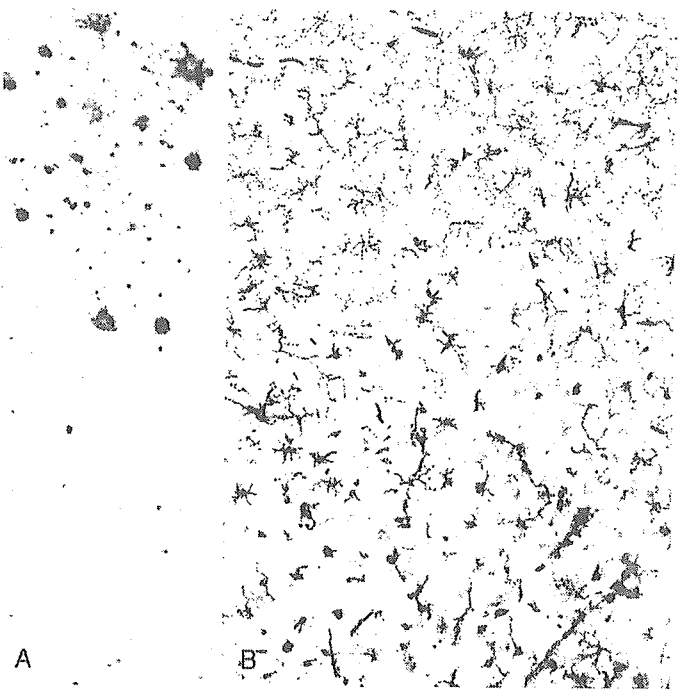


図5 AD 脳皮質に認められた小さな出血性梗塞周囲の ischemic penumbra

A: A β 染色, B: 補体受容体 CR3 によるミクログリア染色。ミクログリアが活性化している視野下半分ではA β 沈着がほとんど認められないが, ニューロピルは保たれている。

てA β 沈着の一部は活性化ミクログリアの細胞体内に局在している。これをミクログリアがA β 沈着を生成しているのとらえる研究者も一部にいるが(Wegiel, 2000), おそらくはミクログリアがA β 沈着を貪食処理しようとしている像であると思われる。ミクログリアに貪食されたA β は, アミノ末端側の免疫反応性が消失する(Akiyama 1996a, 2000b)。筆者の観察では, 虚血や低酸素症などの合併によるミクログリア活性化に伴って, 老人斑におけるミクログリア細胞体内の, したがってアミノ末端側を欠くA β の割合が増加し, 細胞外A β 沈着が減少する(図2E)。おそらく合併症のないAD例においてもA β 沈着は活性化ミクログリアによって持続的に除去されてはいるが, 新たなA β の沈着が除去を上回っているために, 老人斑が形成・維持されるのであろう。何らかの要因によってミクログリアの活性が亢進し, A β を貪食・処理する能力が新たなA β 沈着の量を超えると, 老人斑は徐々に消失していくと考えられる。APPトランスジェニックマウスにおいて, A β 沈着が始まった後でもワクチンが有効であったのは, A β 沈着がこのような動的バランスの上存在しているからであると思われる。

X. 活性化ミクログリアの画像化

本稿の目的からは少し離れるが、最後に活性化ミクログリアの画像化について少しふれておく。ミクログリアの活性化はそこに活動的な病変が存在することを意味しているの、画像診断によってミクログリア活性化を検出できれば、ADの場合、脳萎縮が生じる前、さらには神経細胞障害による脳代謝低下が生じる前に病変分布をとらえることが可能になる。末梢型ベンゾジアゼピン受容体(peripheral-type benzodiazepine receptor: PBR)は、ベンゾジアゼピン系薬剤の研究・開発の過程で見出された、中枢型ベンゾジアゼピン受容体とは異なる受容体で、全身の様々な組織に分布し、ミトコンドリア外膜に存在してステロイド合成などに関わると考えられている。脳実質でPBRを発現している細胞はミクログリアである(図2F)(Banati, 1997)。PBRの局在に関する初期の研究ではアストロサイトが発現すると報告されたが、脳病変で活性化したミクログリアとアストロサイトが密に、しばしば重なるように分布しているの、十分な解像度を得られない方法による組織学的観察では両者をきちんと識別できなかったためであると思われる。近年PK11195などのPBRリガンドをポジトロン核種でラベルして投与し、PETにより活性化ミクログリアの脳内分布を画像化する研究が進んでいる(Cagnin, 2001)。ミクログリアの活性化自体は様々な脳病変で生じる非特異的な変化であるが、MRIでは脳萎縮しかとらえることができない多くの神経変性疾患において、より早期に病変分布を画像化できるという点で、臨床の場における診断的価値は大きいと思われる。

おわりに

AD脳におけるミクログリア活性化には、炎症反応による神経細胞障害性というマイナスの面と、 $A\beta$ の取り込み・分解および $A\beta$ 沈着の貪食除去というプラスの面がある。脳の免疫・炎症抑制的な環境において、どの程度の活性化がどのくらいの期間続くと神経細胞に重大な障害を引き起こすのか、また神経細胞を障害しない範囲で $A\beta$ 沈着除去の効率を高めるにはどうしたら良いのか、といった点が今後の研究課題である。ミクログリアを上手にコントロールすることがADの克服につながる可能性もあると思われる。

文献

1) Akiyama H, Tooyama I, Kondo H, Ikeda K, Kimura H, McGeer EG, McGeer PL: Early response of brain resi-

- dent microglia to kainic acid-induced hippocampal lesions. *Brain Res* 635: 257-268, 1994
- 2) Akiyama H, Kondo H, Ikeda K, Arai T, Kato M, McGeer PL: Immunohistochemical detection of coagulation factor XIIIa in postmortem human brain tissue. *Neurosci Lett* 202: 29-32, 1995
- 3) Akiyama H, Kondo H, Mori H, Kametani F, Nishimura T, Ikeda K, Kato M, McGeer PL: The amino-terminally truncated forms of amyloid β -protein in brain macrophages in the ischemic lesions of Alzheimer's disease patients. *Neurosci Lett* 219: 115-118, 1996a
- 4) Akiyama H, Schwab C, Kondo H, Mori H, Kametani F, Ikeda K, McGeer PL: Granules in glial cells of patients with Alzheimer's disease are immunopositive for C-terminal sequences of β -amyloid protein. *Neurosci Lett* 206: 169-172, 1996b
- 5) Akiyama H, Mori M, Saido T, Kondo H, Ikeda K, McGeer PL: Occurrence of the diffuse amyloid β -protein ($A\beta$) deposits with numerous $A\beta$ -containing glial cells in the cerebral cortex of patients with Alzheimer's disease. *Glia* 25: 324-331, 1999
- 6) Akiyama H, Barger S, Barnum S, et al: Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 21: 383-421, 2000a
- 7) Akiyama H, Arai T, Kondo H, Tanno E, Haga C, Ikeda K: Cell mediators of inflammation in the Alzheimer disease brain. *Alzheim Dis Assoc Dis* 14 Suppl 1: S47-S53, 2000b
- 8) Akiyama H, McGeer PL: Specificity of mechanisms for plaque removal after $A\beta$ immunotherapy for Alzheimer disease. *Nature Med* 10: 117-118, 2004
- 9) Ard MD, Cole GM, Wei J, Mehrle AP, Fratkin JD: Scavenging of Alzheimer's amyloid β -protein by microglia in culture. *J Neurosci Res* 43: 190-202, 1996
- 10) Banati RB, Myers R, Kreutzberg GW: PK ('peripheral benzodiazepine')-binding sites in the CNS indicate early and discrete brain lesions: microautoradiographic detection of [3H]PK11195 binding to activated microglia. *J Neurocytol* 26: 77-82, 1997
- 11) Cagnin A, Brooks DJ, Kennedy AM, Gunn RN, Myers R, Turkheimer FE, Jones T, Banati RB: *In-vivo* measurement of activated microglia in dementia. *Lancet* 358: 461-467, 2001
- 12) Chung H, Brazil MI, Soe TT, Maxfield FR: Uptake, degradation, and release of fibrillar and soluble forms of Alzheimer's amyloid beta-peptide by microglial cells. *J Biol Chem* 274: 32301-32308, 1999
- 13) Cole GM, Ard MD: Influence of lipoproteins on microglial degradation of Alzheimer's amyloid beta-protein. *Microsc Res Tech* 50: 316-324, 2000
- 14) Craft JM, Watterson DM, Frautschy SA, Van Eldik LJ: Aminopyridazines inhibit beta-amyloid-induced glial activation and neuronal damage *in vivo*. *Neurobiol Aging* 25: 1283-1292, 2004
- 15) Gehrmann J, Matsumoto Y, Kreutzberg GW: Microglia: intrinsic immunoeffector cell of the brain. *Brain Res Rev*

- 20 : 269-287, 1995
- 16) Haga S, Akai K, Ishii T : Demonstration of microglial cells in and around senile (neuritic) plaques in the Alzheimer-brain : an immunohistochemical study using a novel monoclonal antibody. *Acta Neuropathol (Berl)* 77 : 569-575, 1989
 - 17) Herber DL, Roth LM, Wilson D, Wilson N, Mason JE, Morgan D, Gordon MN : Time-dependent reduction in Abeta levels after intracranial LPS administration in APP transgenic mice. *Exp Neurol* 190 : 245-253, 2004
 - 18) Hickey WF, Kimura H : Perivascular microglial cells of the CNS are bone marrow-derived and present antigen *in vivo*. *Science* 239 : 290-292, 1988
 - 19) Honda M, Akiyama H, Yamada Y, Kondo H, Kawabe Y, Takeya M, Takahashi K, Suzuki H, Doi T, Sakamoto A, Ookawara S, Mato M, Gough PJ, Greaves DR, Gordon S, Kodama T, Matsuhita M : Immunohistochemical evidence for a macrophage scavenger receptor in Mato cells and reactive microglia of ischemia and Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 245 : 734-740, 1998
 - 20) Hoozemans JJ, Rozemuller AJ, Janssen I, De Groot CJ, Veerhuis R, Eikelenboom P : Cyclooxygenase expression in microglia and neurons in Alzheimer's disease and control brain. *Acta Neuropathol (Berl)* 101 : 2-8, 2001
 - 21) Huang F, Buttini M, Wyss-Coray T, McConlogue L, Kodama T, Pitas RE, Mucke L : Elimination of the class A scavenger receptor does not affect amyloid plaque formation or neurodegeneration in transgenic mice expressing human amyloid protein precursors. *Am J Pathol* 155 : 1741-1747, 1999
 - 22) Husemann J, Loike JD, Kodama T, Silverstein SC : Scavenger receptor class B type I (SR-B I) mediates adhesion of neonatal murine microglia to fibrillar beta-amyloid. *J Neuroimmunol* 114 : 142-150, 2001
 - 23) Hyman BT, Marzloff K, Arriagada PV : The lack of accumulation of senile plaques or amyloid burden in Alzheimer's disease suggests a dynamic balance between amyloid deposition and resolution. *J Neuropathol Exp Neurol* 52 : 594-600, 1993
 - 24) Itagaki S, McGeer PL, Akiyama H, Zhu S, Selkoe D : Relationship of microglia and astrocytes to amyloid deposits in Alzheimer disease. *J Neuroimmunol* 224 : 173-182, 1989
 - 25) Khoury JE, Hickman SE, Thomas CA, Cao L, Silverstein SC, Loike JD : Scavenger receptor-mediated adhesion of microglia to β -amyloid fibrils. *Nature* 382 : 716-719, 1996
 - 26) Laskin DL, Pendino KJ : Macrophages and inflammatory mediators in tissue injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 35 : 655-677, 1995
 - 27) McGeer PL, McGeer E, Rogers J, Sibley J : Anti-inflammatory drugs and Alzheimer disease. *Lancet* 335 : 1037, 1990
 - 28) McGeer PL, McGeer EG : The inflammatory response system of brain : implications for therapy of Alzheimer and other neurodegenerative diseases. *Brain Res Rev* 21 : 195-218, 1995
 - 29) McGeer PL, Schulzer M, McGeer EG : Arthritis and anti-inflammatory agents as negative risk factors for Alzheimer disease : A review of seventeen epidemiological studies. *Neurology* 47 : 425-432, 1996
 - 30) Nicoll JA, Wilkinson D, Holmes C, Steart P, Markham H, Weller RO : Neuropathology of human Alzheimer disease after immunization with amyloid- β peptide : a case report. *Nature Med* 9 : 448-452, 2003
 - 31) Nogawa S, Zhang F, Ross ME, Iadecola C : Cyclo-oxygenase-2 gene expression in neurons contributes to ischemic brain damage. *J Neurosci* 17 : 2746-2755, 1997
 - 32) Oka A, Takashima S : Induction of cyclo-oxygenase 2 in brains of patients with Down's syndrome and dementia of Alzheimer type : specific localization in affected neurons and axons. *Neuroreport* 8 : 1161-1164, 1997
 - 33) Paresce DM, Ghosh RN, Maxfield FR : Microglial cells internalize aggregates of the Alzheimer's disease amyloid β -protein via a scavenger receptor. *Neuron* 17 : 553-565, 1996
 - 34) Pasinetti GM, Aisen PS : Cyclooxygenase-2 expression is increased in frontal cortex of Alzheimer's disease brain. *Neurosci* 87 : 319-324, 1998
 - 35) Penfield W : Microglia and the process of phagocytosis in gliomas. *Am J Pathol* 1 : 77-89, 1925
 - 36) 澤田 誠 : ミクログリアの発生と多様性. *細胞* 27 : 193-198, 1995
 - 37) Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, Guido T, Hu K, Huang J, Johnson-Wood K, Khan K, Kholodenko D, Lee M, Liao A, Liberburg I, Motter R, Mutter L, Soriano F, Shopp G, Vasquez N, Vandeventer C, Walker S, Wogulis M, Yednock T, Games D, Seubert P : Immunization with amyloid- β attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 400 : 173-177, 1999
 - 38) Schwab JM, Nguyen TD, Postler E, Meyermann R, Schluesener HJ : Selective accumulation of cyclooxygenase-1-expressing microglial cells/macrophages in lesions of human focal cerebral ischemia. *Acta Neuropathol (Berl)* 99 : 609-614, 2000
 - 39) Streit WJ : Microglia and Alzheimer's disease pathogenesis. *J Neurosci Res* 77 : 1-8, 2004
 - 40) Tooyama I, Kawamata T, Akiyama H, Moestrup SK, Gliemann JM : Immunohistochemical study of alpha2-macroglobulin receptor in Alzheimer and control postmortem human brain. *Mol Chem Neuropathol* 18 : 153-160, 1993
 - 41) Verdier Y, Zarandi M, Penke B : Amyloid beta-peptide interactions with neuronal and glial cell plasma membrane : binding sites and implications for Alzheimer's disease. *J Pept Sci* 10 : 229-248, 2004
 - 42) Vilhardt F, Plastre O, Sawada M, Suzuki K, Wiznerowicz M, Kiyokawa E, Trono D, Krause K-H : The HIV-1 Nef protein and phagocyte NADPH oxidase activation. *J Biol Chem* 277 : 42136-42143, 2002
 - 43) Wegiel J, Wang KC, Tarnawski M, Lach B : Microglia cells are the driving force in fibrillar plaque formation,

- whereas astrocytes are a leading factor in plaque degradation. *Acta Neuropathol (Berl)* 100 : 356-364, 2000
- 44) Wisniewski HM, Barcikowska M, Kida E : Phagocytosis of β /A4 amyloid fibrils of the neuritic neocortical plaques. *Acta Neuropathol (Berl)* 81 : 588-590, 1991
- 45) Yamagata K, Andreasson KI, Kaufmann WE, Barnes CA, Worley PF : Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons : regulation by synaptic activity and glucocorticoids. *Neuron* 1 : 371-386, 1993
- 46) Yan SD, Ghen X, Fu J, Chen M, Zhu H, Roher A : RAGE and amyloid- β neurotoxicity in Alzheimer's disease. *Nature* 382 : 685-691, 1996
- 47) Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL : Distribution of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 mRNAs and proteins in human brain and peripheral organs. *Brain Res* 830 : 226-236, 1999
- 48) Yermakova AV, Rollins J, Callahan LM, Rogers J : Cyclooxygenase-1 in human Alzheimer and control brain : quantitative analysis of expression by microglia and CA3 hippocampal neurons. *J Neuropathol Exp Neurol* 58 : 1135-1146, 1999

Abstract

Alzheimer's disease and microglia

Haruhiko Akiyama

from

Department of Psychogeriatrics, Tokyo Institute of Psychiatry, 2-1-8 Kamikitazawa, Setagaya-ku, Tokyo 156-8585, Japan.

Lesions of Alzheimer disease (AD) are associated with low-grade but sustained inflammatory responses. Activated microglia play a major role for the neuroinflammation in AD. Upon activation, microglia are known to secrete a wide variety of molecules involved in inflammation, many of which are potentially neurotoxic. Activated microglia could be targets of anti-inflammatory therapy of AD. However, evidence also indicates that microglia eliminate A β from the brain. A β is produced continuously in both the normal and the AD brain. Under normal conditions, A β is removed successfully before it accumulates as extracellular amyloid fibrils. Even in AD, a large portion of A β may be cleared from the brain with a small portion being left and deposited as neurotoxic senile plaques. Both *in vivo* and *in vitro* studies have shown the effective uptake of soluble A β by microglia. Microglia seem to be involved, without significant activation, in the removal of A β before it is deposited extracellularly. A β , once deposited as insoluble fibrils, is also removed by microglia. In the AD cerebral cortex complicated with recent infarction, activated microglia and monocyte-derived macrophages remove the necrotic tissue debris. Phagocytic removal of A β by microglia is also upregulated in areas with incomplete ischemia where neuropil is preserved and neurons survive. In some cases, such upregulation of microglial activity appears to result in the complete clearance of A β from the neuropil. Activated microglia agglomerated in senile plaques phagocytose the A β deposits. In AD without complication, however, the elimination is at best partial. Further activation of microglia may be beneficial to A β removal but can also be hazardous to neurons. Appropriate regulation of microglial activity could be a promising strategy to develop effective therapy of AD.

(Received : March 3, 2005)

Shinkei Kenkyu no Shinpo (Advances in Neurological Sciences), Vol. 49, No. 3, pp347-356, 2005.
IGAKU-SHOIN Ltd., Tokyo, Japan.