

脳内細胞間情報伝達物質としてのサイトカイン・ケモカイン

南 雅文

京都大学大学院薬学研究科, 〒606-8501 京都市左京区吉田下阿達町 46-29

Cytokines and Chemokines : Mediators for Intercellular Communication in the Brain

Masabumi MINAMI

*Department of Molecular Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University,
46-29 Yoshida Shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan*

(Received August 10, 2001)

The brain includes glial cells (astrocytes, microglia and oligodendrocytes) and endothelial cells in addition to neurons. Under some pathological conditions, it is invaded by leukocytes such as neutrophils, monocytes/macrophages and lymphocytes. Intercellular communication across these cell species is supposed to play crucial roles both in the brain functions and dysfunctions. However, the molecular basis of such intercellular communication remains unclear. We have studied the roles of cytokines and chemokines, which have been investigated as essential mediators in the immune and inflammatory systems, in intercellular communication across neurons, glial cells, endothelial cells and leukocytes. Messenger RNA expression of cytokines such as interleukin- 1β was induced in brain microglia by i.p. injection of excitotoxin and neurostimulant, at least, partly via catecholaminergic systems. Messenger RNA of other cytokines such as leukemia inhibitory factor was induced in astrocytes. This cytokine specifically induced nociceptin mRNA in the cultured cortical neurons. Constitutive expression of some chemokines such as fractalkine and stromal cell derived factor- 1α was observed in the brain, suggesting that they play important roles in maintenance of brain homeostasis or determination of the patterning of neurons and/or glial cells in the developing and adult brains. Cytokines such as interleukin- 1β and chemokines such as monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage inflammatory protein- 1α were produced in ischemic brain and implicated in ischemic brain injury. In addition to ischemia, cytokines, chemokines and their receptors have been shown to be involved in various neurodegenerative diseases such as multiple sclerosis, Alzheimer's disease and AIDS dementia syndrome. They are potential targets for therapeutic intervention for neurodegenerative diseases.

Key words—cytokine; chemokine; brain; ischemia; astrocyte; microglia

1. はじめに

脳研究は、従来、神経細胞を中心に行われてきたが、近年、脳機能におけるアストロサイトやミクログリアなどのグリア細胞の役割が重要視されるようになってきた。また、脳微小血管の血管内皮細胞も脳を構成する細胞であり、病態時には、好中球や単球などの白血球も脳実質内へと浸潤する。脳の生理的あるいは病態生理的機能は、これら脳を構成する種々の細胞の細胞間相互作用のうえに成り立っているが、その細胞間情報伝達のしくみは必ずしも明らかではない。著者らは、免疫反応や炎症反応において細胞間情報伝達物質として重要な役割を果たしているサイトカイン及びケモカインに着目し、それらの脳内における発現調節と役割に関して研究を進め

てきた。本総説では、著者らの研究成果を中心に、脳内におけるサイトカイン及びケモカインの発現と機能について紹介する。

2. サイトカイン—神経系に対する作用—

サイトカインは免疫系細胞の分化・増殖因子として研究されてきたが、近年、サイトカインの多くが中枢神経系及び末梢神経系においても、神経細胞の分化・生存促進やホルモン分泌調節、睡眠や食欲などの調節、さらにはグリア細胞増殖調節など様々な作用を有していることが明らかにされてきた。¹⁾ インターロイキン-1 (IL-1) は、内因性発熱物質として脳に作用し発熱²⁾や睡眠³⁾を惹起することが1980年代前半に報告されて以来、中枢神経系に対する作用が早くから注目され、精力的に研究が進め

られてきた。一方、1982年 Fontana ら⁴⁾及び1986年 Giulian ら⁵⁾により培養アストロサイト及び培養ミクログリアによるIL-1産生とLPSによる産生促進が報告されているが、著者らが研究を開始した1980年代後半までには、脳内におけるIL-1産生とその遺伝子発現調節に関しては明らかではなかった。

2-1. 脳内におけるIL-1 β 遺伝子発現 著者らは、まず、神経細胞の興奮により脳内においてIL-1 β の遺伝子発現が惹起されるか否かを明らかにするため、神経興奮作用を有するカイニン酸、ペンチレンテトラゾール及びメタンフェタミンの効果を検討した。^{6,7)} その結果、Fig. 1に示すように、これらの薬物の投与によりIL-1 β の遺伝子発現が惹起された。また、その発現分布は、各々の薬物により異なっていた。さらに、これら薬物による脳内IL-1 β 遺伝子発現に関与する神経伝達物質を検討したところ、 β アドレナリン受容体拮抗薬により、メタンフェタミンによる遺伝子発現はほぼ完全に(Fig. 2),⁸⁾ カイニン酸による発現も部分的に抑制されることが明らかとなった。⁹⁾ また、*in situ* ハイブリダイゼーション法を用いた実験により、IL-1 β mRNAは脳内グリア細胞で発現していることが明らかとなり、¹⁰⁾ 培養グリア細胞を用いた実験によって、 β 受容体作動薬であるイソプロテレノール処置により、ミクログリアではIL-1 β mRNAの発現が誘導されるが、アストロサイトでは発現誘導されないことが示された。¹¹⁾ さらに、著者らは、脳内においてIL-1受容体が神経細胞と血管内皮細胞に構

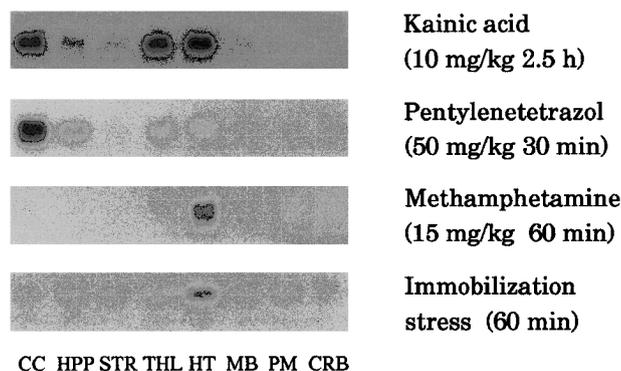


Fig. 1. Induction of IL-1 β mRNA by i.p. Injection of Kainic Acid, Pentylene tetrazol or Methamphetamine, or Immobilization Stress

CC: cerebral cortex, HPP: hippocampus, STR: striatum, THL: thalamus, HT: hypothalamus, MB: midbrain, PM: pons-medulla oblongata, CRB: cerebellum.

造的に発現していることを *in situ* ハイブリダイゼーション法により明らかにしており、¹²⁾ 培養アストロサイトがIL-1受容体を発現していることも観察している。¹³⁾ これらの知見は、神経細胞の興奮により遊離されたノルアドレナリンあるいはアドレナリンがミクログリアに作用し、IL-1 β mRNAの発現を誘導し、さらに産生されたIL-1 β が神経細胞、内皮細胞あるいはアストロサイトに作用しうることを示しており、脳内における神経-グリア-内皮細胞間の相互作用にカテコラミン及びIL-1 β が関与していることを示唆するものである。

2-2. 脳虚血とIL-1 β 脳虚血及び再灌流時には、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸の過剰な遊離が起こることが報告されていた。著者らは、脳虚血によるIL-1 β 遺伝子発現変化を検討し、Fig. 3に示すように、一過性前脳虚血によりIL-1 β 遺伝子発現が惹起されることを明らかにした。¹⁴⁾ 脳虚血により脳内で産生されるIL-1 β に関しては、IL-1受容体アンタゴニストあるいはIL-1 β 合成酵素阻害薬が梗塞巣体積を減少させることが報告されており、^{15,16)} 脳細胞保護薬のターゲットとして注目されている。

2-3. ストレスとIL-1 β ストレスや感染症に際し副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)が分泌され副腎皮質ホルモンの分泌が促進されることはよく知られていることであるが、このストレス反応の少なくとも一部に、末梢あるいは脳内で産生されたIL-

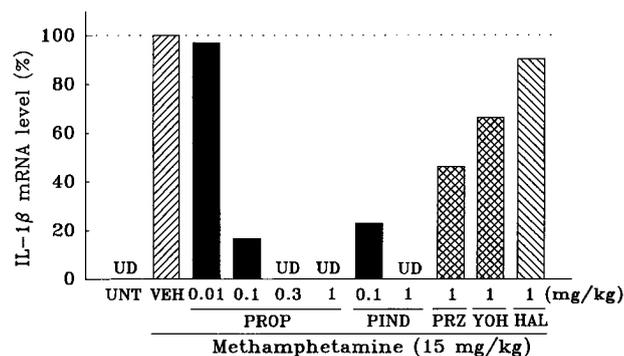


Fig. 2. Effects of Intraperitoneal Pretreatment with Catecholamine Receptor Antagonists on the Induction of IL-1 β mRNA in the Hypothalamus by Methamphetamine

Antagonists at doses indicated or vehicle was injected i.p. 30 min before treatment with methamphetamine (15 mg/kg, i.p. for 1 h). mRNA level was expressed as % of control group (vehicle+methamphetamine). UD: undetectable level, UNT: untreated, VEH: vehicle, PROP: propranolol, PIND: pindolol, PRZ: prazosin, YOH: yohimbine, HAL: haloperidol.

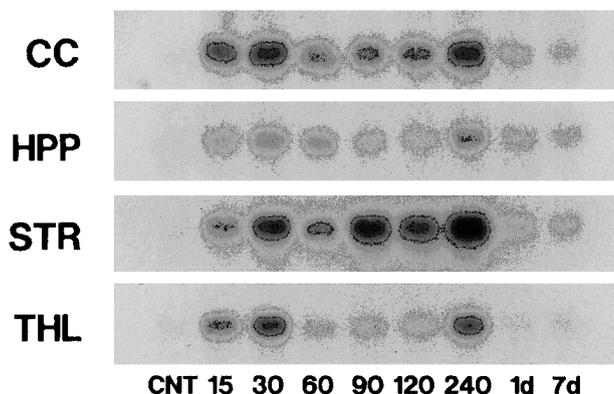


Fig. 3. Induction of IL-1 β mRNA in the Cerebral Cortex (CC), Hippocampus (HPP), Striatum (STR) and Thalamus (THL) 15, 30, 60, 90, 120 and 240 min and 1 and 7 Days after Transient Forebrain Ischemia
CNT: sham-operated control.

IL-1 β の関与が示唆されている。1986年にIL-1のラット腹腔内投与により血中ACTH及びコルチコステロンレベルが上昇することが報告され¹⁷⁾ さらに、1987年にはIL-1が視床下部あるいは下垂体に直接作用して血中ACTH及びコルチコステロンレベルを上昇させることが報告された¹⁸⁻²⁰⁾ 著者らは拘束ストレス負荷により視床下部においてIL-1 β mRNA発現が惹起されることを明らかにし (Fig. 1)²¹⁾ ストレス時の視床下部—下垂体—副腎皮質軸の賦活化に脳内で産生されるIL-1 β が関与している可能性を示した。

2-4. 疼痛とIL-1 β フォルマリン足底投与により誘発される持続的な疼痛によっても視床下部においてIL-1 β mRNA発現が惹起される²²⁾ さらに、著者らは、IL-1 β の脳室内投与により、低用量では機械的侵害刺激に対する痛覚過敏を惹起し、高用量では逆に鎮痛作用を示すことを見出し、これら痛覚過敏惹起作用及び鎮痛作用には脳内CRF受容体が関与していることを明らかにした²³⁾ さらに、痛覚過敏惹起作用はサリチル酸の投与により抑制されることから、プロスタグランジン産生を介したものであると考えられる²³⁾ Okaら²⁴⁾は、低用量のIL-1 β 脳室内投与により熱的侵害刺激に対する痛覚過敏が惹起されることを報告しており、さらに、本作用にプロスタグランジン受容体のEP3サブタイプが関与していることを明らかにしている²⁵⁾

2-5. LIFの中樞神経系における発現と作用 Leukemia inhibitory factor (LIF) は、myeloid leu-

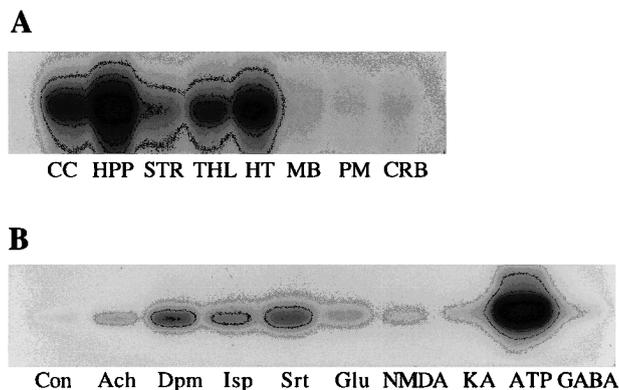


Fig. 4. A: Induction of LIF mRNA by i.p. Injection of Kainic Acid (10 mg/kg, 8 h), B: Effects of Receptor Agonists on the Expression of LIF mRNA in Cultured Astrocytes

CC: cerebral cortex, HPP: hippocampus, STR: striatum, THL: thalamus, HT: hypothalamus, MB: midbrain, PM: pons-medulla oblongata, CRB: cerebellum. Effects of acetylcholine (ACh), dopamine (Dpm), isoproterenol (Isp), serotonin (Srt), glutamate (Glu), NMDA, kainic acid (KA), ATP, GABA (1 mM each) on the expression of LIF mRNA in cultured astrocytes. Astrocytes were treated with these agonists for 1 h in serum-free medium.

kemic M1 cellの分化を誘導するサイトカインとして同定されたが、神経系においては運動神経²⁶⁾及び感覚神経²⁷⁾に対して生存促進作用を有すること、交感神経細胞に対して分化誘導因子として作用しアドレナリン作動性からコリン作動性に転換させること²⁸⁾などが報告されており、末梢神経細胞に対しては神経栄養因子あるいは分化誘導因子として働くことが知られている。一方、中枢神経系では、ラット海馬などの神経細胞で発現していること²⁹⁾が報告されているほか、種々の刺激によりアストロサイトにおいて発現が誘導されることが報告されている^{30,31)} 著者らもこれまでに、カイニン酸腹腔内投与により、ラット脳内においてLIF mRNA発現が誘導されることを見出し (Fig. 4A)³²⁾ さらに、培養アストロサイトを用いて、LIF mRNA発現に対する種々の受容体アゴニスト処置の効果を検討し、ATP処置により顕著なLIF mRNA発現誘導が惹起されることを明らかにした (Fig. 4B)³³⁾ また、ラット脳内でのLIF受容体mRNAの発現分布をin situハイブリダイゼーション法により検討し、LIF受容体mRNAは脳内で広範囲に発現しており、また、その発現細胞種は主として神経細胞であることを報告した³⁴⁾ これらの知見からは、中枢神経系においてLIFが神経活動亢進時にアストロサイトで産生され神経細胞に対して作用し、末梢神経系と同様に神経栄養因子あるいは分化誘導因子として機能

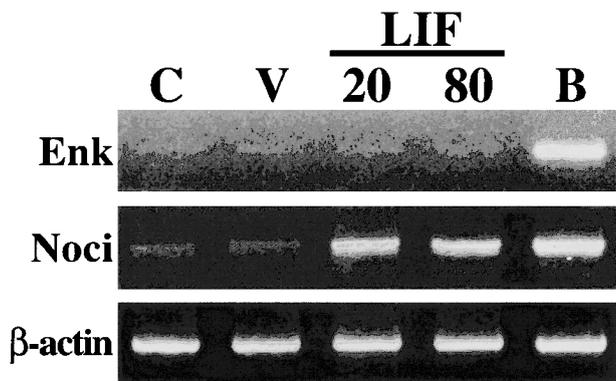


Fig. 5. Expression of Enkephalin (Enk), Nociceptin (Noci) and β -Actin mRNAs in Control (C), Vehicle-Treated (V) and LIF (20 or 80 ng/ml, 24 h)-Treated Cultured Rat Cortical Neurons and the Adult Rat Brain (B). RT-PCR was performed.

する可能性が示唆される。しかしながら、中枢神経細胞に対する LIF の作用についてはほとんど明らかにされていない。そこで著者らは、培養大脳皮質細胞における各種神経ペプチド及び神経伝達物質合成酵素の遺伝子発現に対する LIF の効果を検討した。その結果、Fig. 5 に示すように、ノシセプチン前駆体 mRNA の発現が顕著に増加した。エンケファリン前駆体 mRNA の発現には変化がなかった。図には示していないが、他にも神経ペプチドであるダイノルフィン、サブスタンス P、ソマトスタチン、ガラニンの前駆体 mRNA や神経伝達物質アセチルコリン及び GABA の合成酵素であるコリンアセチルトランスフェラーゼ及びグルタミン酸デカルボキシラーゼの mRNA の発現も検討したが、それらには顕著な変化は認められず、LIF の遺伝子発現促進作用はノシセプチン前駆体遺伝子に特異的であることが示された。³⁵⁾ 神経活動亢進によりアストロサイトにおいて産生が惹起された LIF が、神経細胞上の LIF 受容体に作用し神経細胞におけるノシセプチン産生を促進させることが推測される。ノシセプチンはオピオイドペプチドファミリーに属する新規な神経ペプチドであり、^{36,37)} その受容体は主として神経細胞で発現している³⁸⁾ ことから、産生されたノシセプチンは神経細胞に作用すると考えられ、LIF, ATP, ノシセプチンを介した神経細胞—アストロサイト間の機能的な相互作用の存在が示唆される。

3. ケモカイン—中枢神経機能・疾患との関わり— ケモカインは好中球、単球、リンパ球などの白血

球に対して走化活性を有し、炎症反応において重要な役割を果たしている一群の生理活性ペプチドである。インターロイキン-8 (IL-8) は、インターロイキン類では唯一、7 回膜貫通型受容体を有するが、1987 年の IL-8 のクローニング³⁹⁾以降、IL-8 に類似した構造を有する白血球走化活性化因子が次々と同定され現在では 40 種を越え、ケモカイン (chemokine の名称は chemotactic cytokine に由来する) と呼ばれる 1 つの大きなファミリーとして認められるに至っている。⁴⁰⁻⁴³⁾ ケモカインは、その構造上の特徴から CXC, CC, C, CX₃C の 4 つのサブファミリーに分類されている (Fig. 6)。またケモカイン受容体も、1991 年の IL-8 受容体のクローニング^{44,45)}に始まり、現在、CXC, CC, C, CX₃C ケモカインの受容体にあたる CXCR, CCR, XCR, CX₃CR ケモカイン受容体が、それぞれ、CXCR1-5, CCR1-10, XCR1, CX₃CR1 までクローニングされており、その数はさらに増え続けている。⁴⁰⁻⁴³⁾

ケモカイン類は、これまでに炎症反応のメディエーターとして末梢での機能や発現調節が精力的に研究されているが、近年、中枢神経系におけるケモカインの役割も、多発性硬化症⁴⁶⁻⁴⁹⁾などの脳実質への白血球浸潤が観察される疾患において注目されはじめ、最近では、生理的なシナプス情報伝達⁵⁰⁾や発生過程⁵¹⁾における役割も報告されている。CXC ケモカインである stromal cell derived factor-1 α (SDF-1 α) の受容体である CXCR4 受容体のノックアウトマウスでは小脳の顆粒細胞層の発生過程に異常が報告されている。⁵¹⁾ 著者らも培養細胞を用いた実験により、SDF-1 α と CXCR4 受容体が神経細胞とグリア細胞の両方で発現していることを明らかにしており、⁵²⁾ SDF-1 α と CXCR4 受容体を介した神経細胞とグリア細胞の相互作用が発生過程における神経細胞の移動や回路形成に重要な役割を果たしている可能性が考えられる。さらに近年、数種のケモカイン受容体がエイズウイルス HIV の細胞内侵入に必要なウイルス受容体タンパク質であることが報告⁵³⁻⁵⁶⁾されて以来、エイズ脳症における脳内ケモカイン系の役割を明らかにしようとする研究の進展も著しく、脳内ケモカインの生理的・病態生理的役割への関心は今後ますます高まるものと思われる。

3-1. 神経変性疾患とケモカイン ケモカインが、白血球走化活性化因子であることから、多発性

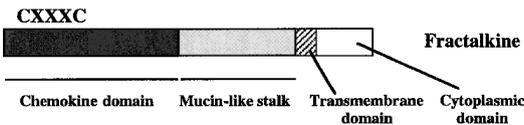
Subfamily	Structure	Member
CXC		IL-8, Gro α, β, γ , CINC-1,2,3, NAP-2, ENA-78, GCP-2, PF-4, IP-10, Mig, SDF-1, I-TAC, BLC/BCA-1, BRAK
CC		MCP-1,2,3,4, Eotaxin, RANTES, MIP-1 α, β , HCC-1, TARC, LARC/MIP-3 α /Exodus, ELC/MIP-3 β , TECK, SLC/6Ckine/Exodus-2, I-309, MPIF-1, MDC/STCP-1, ILC/CTACK DC-CK1/ PARC, ILINCK/LEC, MEC/CCL28
C		Lymphotactin
CX ₃ C		Fractalkine

Fig. 6. Chemokine Family

Chemokines are classified into four subfamilies based on their structures. Most chemokines have four cysteine residues at conserved positions. In the CXC chemokine subfamily, the two cysteines nearest the N-termini of these proteins are separated by a single amino acid. In the CC chemokine subfamily, the two cysteines nearest the N-termini of these proteins are adjacent. Lymphotactin is a structurally related chemokine having only one cysteine near its N-terminus and is said to belong to the C chemokine subfamily. The CX₃C chemokine subfamily has only one member, that is called fractalkine. Fractalkine has a typical chemokine-like structure (chemokine domain) at its N-terminus, and the two cysteines nearest the N-terminus of this domain are separated by three amino acids. This chemokine domain is followed by a long stalk which is heavily substituted with mucin-like carbohydrates. Fractalkine is embedded in the membrane and has a short cytoplasmic domain. For abbreviations, other articles (41, 43) should be referred.

硬化症などの自己免疫疾患での脳内への白血球浸潤におけるケモカインの役割が注目されている。多発性硬化症では、T細胞やマクロファージの浸潤が見られるが、このような脳では monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) や IL-8 の免疫陽性細胞数あるいは mRNA 発現の増加^{46,47)} や脳脊髄液中の macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α) レベルの上昇⁴⁸⁾ が報告されている。また、多発性硬化症の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) 動物を用いた実験で、抗 MIP-1 α 抗体は急性期の EAE を抗 MCP-1 抗体は再発期の EAE を抑制することが報告されており、⁴⁹⁾ 疾患の各段階において異なったケモカインが異なったタイプのリンパ球を動員し病態形成に重要な役割を果たしていることが推測され非常に興味深い。

アルツハイマー病においては、脳内の炎症性反応がその病態形成の促進と抑制の両方に関与していると考えられている。⁵⁷⁾ そこでの主役は活性化したグリア細胞であり、脳実質への白血球浸潤は必ずしも観察されない。アルツハイマー病患者脳では老人斑周辺に MCP-1 免疫陽性のミクログリアが観察され

る。⁵⁸⁾ また、A β タンパク質が株化ミクログリア⁵⁹⁾ やアストロサイトマ⁶⁰⁾ において MCP-1 や IL-8 などの産生を促進することも報告されている。ケモカイン類はミクログリアやアストロサイトにおいて、細胞内 Ca²⁺ 濃度上昇作用や走化活性化作用を有することが報告されており、^{61,62)} 老人斑へのミクログリアやアストロサイトの遊走や集積にケモカインが重要な役割を果たしていることが推測される。

エイズ患者ではかなりの割合で、“AIDS dementia syndrome” あるいは “HIV-1 related cognitive-moter complex” と呼ばれる進行性の神経変性症の合併が見られる。HIV 感染機構において、ケモカイン受容体 CXCR4 と CCR5 がそれぞれ T 細胞指向型及びマクロファージ指向型の HIV の細胞侵入にコリセプターとして必須であることが 1996 年に報告され、⁵³⁻⁵⁶⁾ さらに、その後の研究により CCR2, CCR3, CCR8, CX₃CR1 などのケモカイン受容体もコリセプターとして働きうることを示されており、脳内においてこれらケモカイン受容体を有する細胞、特に、ミクログリアが HIV の脳内での標的として有力視されている。⁶³⁾ 脳内 HIV 感染により引き起こされる神経変性の発症機構の詳細は明ら

かではないが、活性化したミクログリアやアストロサイトがサイトカイン類や一酸化窒素、活性酸素などの神経毒性を有する物質を放出することが原因の1つと考えられている。一方、培養神経細胞を用いた実験により HIV のエンベロープタンパク質である gp120 が直接に神経細胞に作用しアポトーシスによる細胞死を引き起こすという報告もある。^{50,64} さらに、培養海馬神経細胞では、SDF-1 α やフラクタルカインなどのケモカイン類により、gp120 による細胞死が抑制されることが報告されており、⁵⁰ 著者らも、ウイルスベクターを用いて培養海馬神経細胞にフラクタルカインを発現させることにより、gp120 とグルココルチコイドの同時処置による神経細胞死が抑制されることを見出ししている。⁶⁵ これらケモカイン類による神経細胞死抑制のメカニズムとしては、ケモカイン類が gp120 のケモカイン受容体への結合を競合的に阻害することが考えられているほか、受容体より下流の細胞内情報伝達系での相互作用による可能性も提唱されている。すなわち、gp120 とケモカイン類はいずれも受容体結合により細胞内 Ca²⁺ 濃度を上昇させるが、それ以後の情報伝達系において異なったリン酸化酵素を活性化させることが示されている。⁵⁰

3-2. フラクタルカイン—神経細胞が産生する膜結合型ケモカイン— CC 型, CXC 型, C 型のケモカインはいずれも可溶性の分泌タンパク質であるが、CX₃C 型ケモカインであるフラクタルカインは、膜貫通領域をもち、細胞表面に膜タンパク質として存在する新しいタイプのケモカインである。⁶⁶ フラクタルカインは N 末端側に CX₃C モチーフを有するケモカイン領域が存在し、その後にはムチン領域、細胞膜貫通領域、細胞内領域と続く (Fig. 6)。著者らは、フラクタルカインとその受容体である CX₃CR1 のラット脳内での mRNA 発現を *in situ* ハイブリダイゼーション法により検討した。⁶⁷ フラクタルカイン mRNA は嗅球、大脳皮質、海馬、線条体、視床などで強い発現が観察され (Fig. 7A)、その発現細胞が主として神経細胞であることを培養細胞を用いて RT-PCR 法によって確認した (Fig. 7B)。一方、受容体である CX₃CR1 の mRNA も脳内に構成的に発現しており (Fig. 7C)、その発現細胞はミクログリアであることを明らかにした (Fig. 7D)。

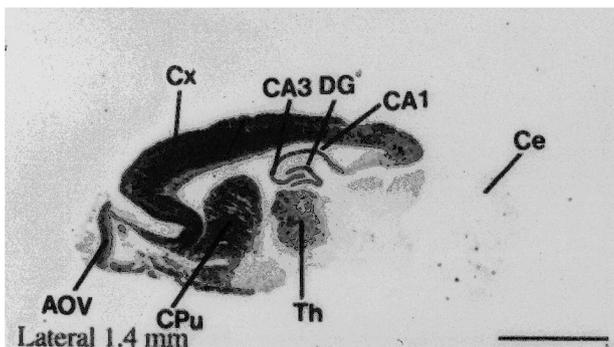
膜結合型フラクタルカインは細胞接着因子として

の働きを有することが報告されている。⁶⁸ さらに、細胞膜貫通領域の直前にはプロテアーゼによる切断部位と考えられるアミノ酸配列が存在し、フラクタルカインはこの部分で切断され分泌型フラクタルカインとなり走化活性化因子としての働きを示すと考えられている。脳内におけるフラクタルカインと CX₃CR1 受容体の発現様式から、神経細胞とミクログリアが膜結合型フラクタルカインを介して相互作用している可能性が考えられ、さらに、神経細胞がダメージを受けたような状況では、障害された神経細胞から分泌型フラクタルカインが遊離され、ミクログリアに対する走化活性化因子として働く可能性も考えられる (Fig. 8)。培養神経細胞を用いた研究により、グルタミン酸による神経細胞死に先んじて、膜結合型として存在したフラクタルカインが切り出され分泌されることが示されている。⁶⁹

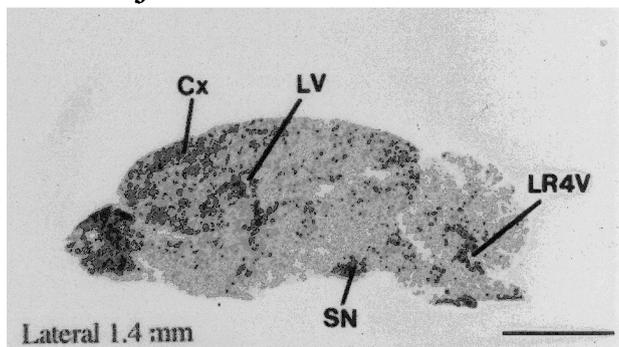
3-3. 脳虚血とケモカイン 著者らは、ラット中大脳動脈閉塞モデルを用いた脳虚血負荷により CC ケモカインである MCP-1 と MIP-1 α の遺伝子発現が誘導され、各々のケモカインに特徴的な発現分布を示すことを見出し (Fig. 9)、さらに、これらケモカイン遺伝子を発現する細胞種について検討し、MCP-1 はアストロサイトとミクログリアにおいて、MIP-1 α はミクログリアにおいて発現していることを明らかにした。^{70,71} 一方、CXC ケモカインである cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC) も脳虚血により遺伝子発現が誘導されるという報告がある。⁷²

著者らは、脳内ケモカイン遺伝子の発現調節機構についても、いくつかの知見を得ている。培養アストロサイトに IL-1 β を処置することにより MCP-1 mRNA の発現が惹起されるが、同様の処置で MIP-1 α mRNA の発現は誘導されなかった (Fig. 10A)。⁷³ 脳虚血時に、脳内で産生された IL-1 β がアストロサイトに作用してケモカイン遺伝子発現を惹起する可能性が考えられる。一方、培養ミクログリアでは ATP の処置により、MCP-1 と MIP-1 α の両方の遺伝子発現が惹起された (Fig. 10B)。⁷³ 脳虚血あるいは再灌流時に、過剰に興奮した神経細胞から遊離された ATP あるいは損傷した神経細胞から漏出した ATP が、神経細胞からミクログリアへ情報を伝達するメディエーターの役割を果たしている可能性が考えられる。

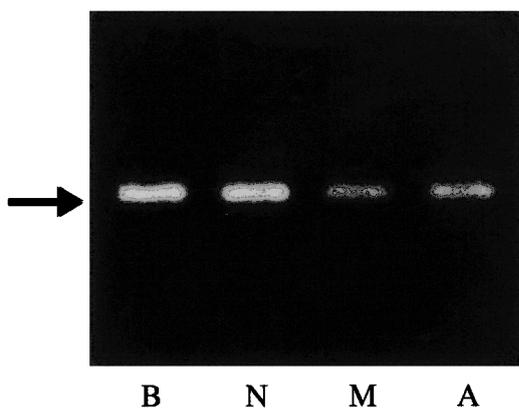
A. Fractalkine mRNA



C. CX₃CR1 mRNA



B.



D.

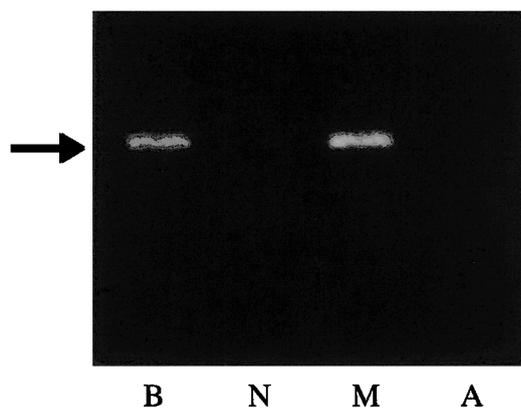


Fig. 7. Localization of Fractalkine (A) and CX₃CR1 (C) mRNAs in the Rat Brain as Visualized by in situ Hybridization with ³⁵S-Labeled Antisense RNA Probes

Film-autoradiograms at the level of lateral 1.4 mm are shown. AOV: anterior olfactory nucleus, Cx: cerebral cortex, CA1: CA1 part of the Ammon's horn, CA3: CA3 part of the Ammon's horn, CPu: caudate-putamen, DG: dentate gyrus, Th: thalamus, Ce: cerebellum, SN: substantia nigra, LV: lateral ventricle, LR4V: lateral recess 4th ventricle. Bar=5 mm. Expression of fractalkine (B) and CX₃CR1 (D) mRNAs in the whole brain (B) and cultured neurons (N), microglia (M) and astrocytes (A).

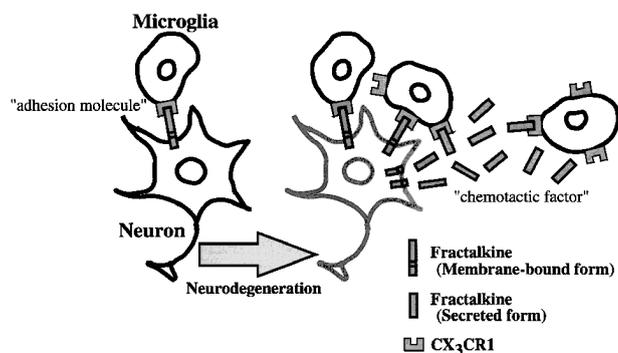


Fig. 8. Hypothetical Roles of Fractalkine as a Bifunctional Molecule

Fractalkine in membrane-bound form could play a role as an “adhesion molecule” in direct interaction between neurons and microglia, and be involved in synaptic reorganization in normal and/or degenerated brains. Under the neurodegenerative condition, a secreted form of fractalkine could be released from neurons and play a role as a “chemotactic factor” to cause the activation and migration of microglia.

ケモカイン受容体は脳内においてミクログリアやアストロサイトに発現しており、さらに、ケモカインがグリア細胞の細胞内 Ca²⁺ 濃度上昇や細胞遊走

を惹起する^{61,62}ことも報告されていることから、脳内ケモカインが虚血後に観察されるグリア細胞の活性化や障害部位への遊走・集積に重要な役割を果たしていることが考えられるほか、好中球やマクロファージの脳実質内への浸潤にも関与している可能性がある。著者らは最近、CCケモカイン受容体に拮抗作用を有するウイルス由来のケモカイン類似ペプチド vMIP-II の脳室内投与により、虚血性脳細胞障害が軽減されることを見出した (Fig. 11).⁷⁴ CXCケモカインである IL-8 や CINC の中和抗体の全身性投与により虚血後の脳浮腫あるいは脳細胞障害が抑制されるとの報告^{75,76}もあることから、ケモカインが関与する炎症性反応を制御することにより虚血後の脳細胞障害を抑制できることが期待される。

4. 脳内細胞間情報伝達物質としてのサイトカイン・ケモカイン

冒頭でも述べたが、脳内には神経細胞以外にもグ

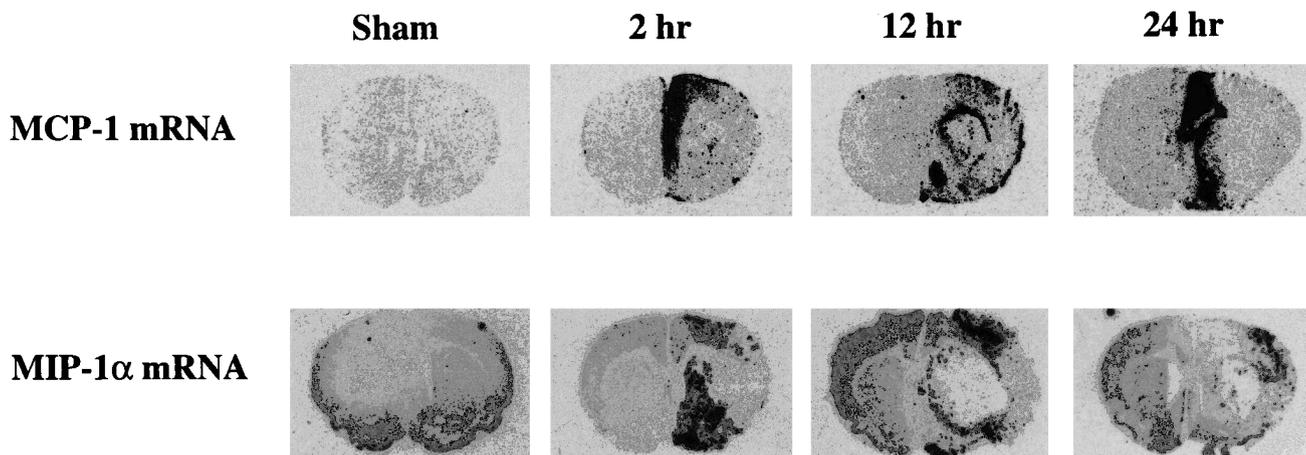


Fig. 9. Expression of MCP-1 mRNA (Upper Panels) and MIP-1 α mRNA (Lower Panels) in the Rat Brain 2, 12 and 24 hr after 2-h Occlusion of Middle Cerebral Artery
Film-autoradiograms at the level of bregma 1.7 mm are shown.

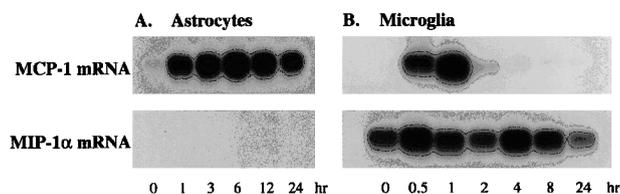


Fig. 10. A: IL-1 β (10 pg/ml) Induced MCP-1 mRNA (Upper Panel), but not MIP-1 α mRNA (Lower Panel), in the Cultured Astrocytes
B: ATP (300 μ M) Induced both MCP-1 mRNA (Upper Panel) and MIP-1 α mRNA (Lower Panel) in the Cultured Microglial Cells

リア細胞や血管内皮細胞が存在し、さらに、神経変性を伴う疾患の際には好中球や単球などの白血球の脳実質への浸潤も見られる。神経細胞—グリア細胞—内皮細胞—白血球間の相互作用は種々の神経疾患の病態形成に深く関与していると考えられ、それら細胞間の情報伝達を明らかにすることは、疾患のメカニズム解明や治療薬開発にとって重要である。脳内で産生されるサイトカイン及びケモカインはそのような脳内細胞間の情報伝達物質として極めて重要な役割を果たしていると考えられる (Fig. 12)。

サイトカイン・ケモカインは、腎炎などの様々な炎症性疾患や動脈硬化症の病態形成に深く関与していると考えられており、それら疾患の治療薬のターゲットとして、近年、研究の進展が著しい。さらに、数種のケモカイン受容体が HIV 感染のコリセプターとして機能していることが報告されて以来、ケモカイン受容体拮抗薬創製を目指した研究は速度を増しているようである。このような研究から生ま

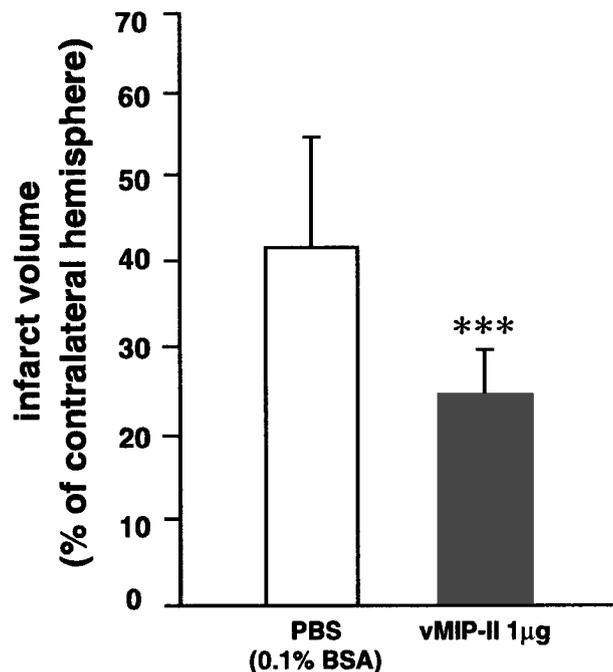


Fig. 11. Effects of vMIP-II on Brain Infarction at 48 Hours after 1-Hour MCA Occlusion in Mice

Infarct volumes are presented as % of contralateral hemispheric values. Total infarct volumes were compared between the vehicle- and vMIP-II-injected groups. Data are expressed as means \pm SD. ***: $p < 0.005$ compared with the vehicle-injected group (ANOVA followed by Bonferroni's *post hoc* test).

れてくる受容体拮抗薬や合成阻害薬などの薬物を活用することにより、脳内細胞間情報伝達物質としてのサイトカイン・ケモカインの生理的・病態生理的役割の解明も急速に進展すると思われ、その研究成果が種々の脳神経疾患の治療薬創製へと発展することが期待される。

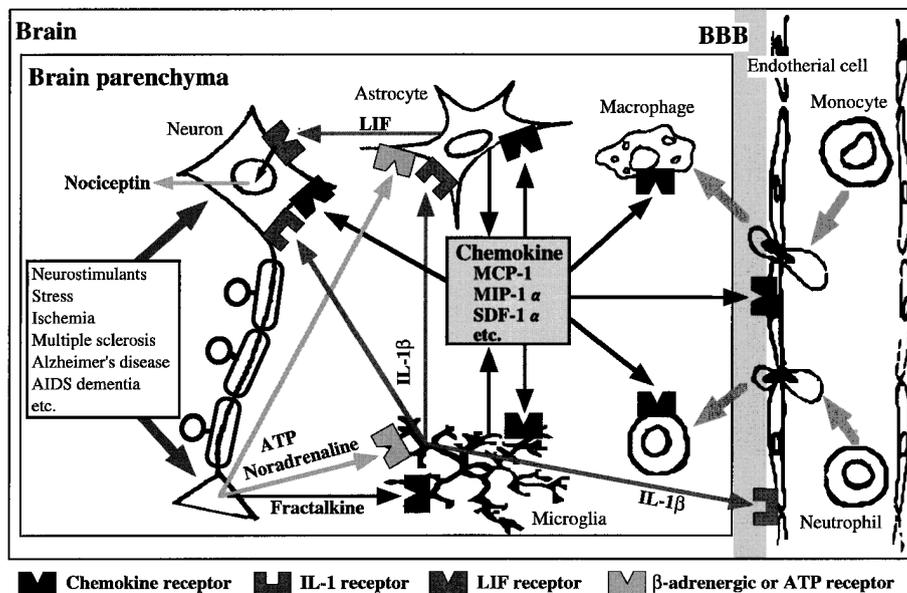


Fig. 12. Intercellular Communication in the CNS Mediated by Cytokines and Chemokines

IL-1 β mRNA is induced by neurostimulants, stress and ischemia, at least in part, via noradrenergic system. This cytokine could act through its receptors on neurons, astrocytes and endothelial cells. ATP induces LIF mRNA in astrocytes. LIF acts through its receptors on neuronal cells to increase nociceptin mRNA expression. Some chemokines, such as fractalkine, and chemokine receptors, like CX₃CR1, are constitutively produced by cells intrinsic to the CNS, and might be involved in the interaction between neurons and glial cells. In disease states, astrocytes and microglia can be induced to produce some chemokines such as MCP-1 and MIP-1 α . These chemokines might be involved in the activation of glial cells and recruitment of leukocytes into the brain parenchyma. Induction of chemokine mRNAs in glial cells could be regulated by ATP and IL-1 β .

謝辞 本稿の執筆を終えるにあたり、大学院生のころより現在に至るまで、ご指導とご鞭撻を賜りました京都大学薬学研究科佐藤公道教授に謹んで感謝の意を表します。また、学生時代に直接ご指導賜りました倉石泰助教授（現 富山医科薬科大学薬学部教授）に心より感謝いたします。また、本研究を推進するにあたりご協力をいただきました共同研究者の皆様に深く感謝いたします。

REFERENCES

- 1) Rothwell N. J., Hopkins S. J., *Trends Neurosci.*, **18**, 130-136 (1995).
- 2) Dinarello C. A., *Rev. Infect. Dis.*, **6**, 51-95 (1984).
- 3) Krueger J. M., Walter J., Dinarello C. A., Wolff S. M., Chedid L., *Am. J. Physiol.*, **246**, R994-R999 (1984).
- 4) Fontana A., Kristensen F., Dubs R., Gemsa D., Weber E., *J. Immunol.*, **129**, 2413-2419 (1982).
- 5) Giulian D., Baker T. J., Shih L. N., Lachman L. B., *J. Exp. Med.*, **164**, 594-604 (1986).
- 6) Minami M., Kuraishi Y., Yamaguchi T., Nakai S., Hirai Y., Satoh M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **171**, 832-837 (1990).
- 7) Yamaguchi T., Kuraishi Y., Minami M., Nakai S., Hirai Y., Satoh M., *Neurosci. Lett.*, **128**, 90-92 (1991).
- 8) Yamaguchi T., Kuraishi Y., Minami M., Yabuuchi K., Satoh M., *Neurosci. Res.*, **12**, 432-439 (1991).
- 9) Yabuuchi K., Minami M., Satoh M., *Jpn. J. Pharmacol.*, **61** (Suppl 1), 139 (1993).
- 10) Yabuuchi K., Minami M., Katsumata S., Satoh M., *Mol. Brain Res.*, **20**, 153-161 (1993).
- 11) Tomozawa Y., Yabuuchi K., Inoue T., Satoh M., *Neurosci. Res.*, **22**, 399-409 (1995).
- 12) Yabuuchi K., Minami M., Katsumata S., Satoh M., *Mol. Brain Res.*, **27**, 27-36 (1994).
- 13) Tomozawa Y., Inoue T., Satoh M., *Neurosci. Lett.*, **195**, 57-60 (1995).
- 14) Minami M., Kuraishi Y., Yabuuchi K., Yamazaki A., Satoh M., *J. Neurochem.*, **58**, 390-392 (1992).
- 15) Relton J. K., Rothwell N. J., *Brain Res. Bull.*, **29**, 243-246 (1992).

- 16) Hara H., Friedlander R. M., Gagliardini V., Ayata C., Fink K., Huang Z., Shimizu-Sasamata M., Yuan J., Moskowitz M. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **94**, 2007–2012 (1997).
- 17) Besedovsky H., del Rey A., Sorkin E., Dinarello C. A., *Science*, **233**, 652–654 (1986).
- 18) Bernton E. W., Beach J. E., Holaday J. W., Smallridge R. C., Fein H. G., *Science*, **238**, 519–521 (1987).
- 19) Sapolsky R., Rivier C., Yamamoto G., Plotzky P., Vale W., *Science*, **238**, 522–524 (1987).
- 20) Berkenbosch F., van Oers J., del Rey A., Tilders F., Besedovsky H., *Science*, **238**, 524–526 (1987).
- 21) Minami M., Kuraishi Y., Yamaguchi T., Nakai S., Hirai Y., Satoh M., *Neurosci. Lett.*, **123**, 254–256 (1991).
- 22) Yabuuchi K., Maruta E., Minami M., Satoh M., *Neurosci. Lett.*, **207**, 109–112 (1996).
- 23) Yabuuchi K., Nishiyori A., Minami M., Satoh M., *Eur. J. Pharmacol.*, **300**, 59–65 (1996).
- 24) Oka T., Aou S., Hori T., *Brain Res.*, **624**, 61–68 (1993).
- 25) Oka T., Aou S., Hori T., *Brain Res.*, **663**, 287–292 (1994).
- 26) Martinou J. C., Martinou I., Kato A. C., *Neuron*, **8**, 737–744 (1992).
- 27) Murphy M., Reid K., Hilton D. J., Bartlett P. F., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **88**, 3498–3501 (1991).
- 28) Yamamori T., Fukada K., Aebersold R., Korsching S., Fann M.-J., Patterson P. H., *Science*, **246**, 1412–1416 (1989).
- 29) Lemke R., Gadiant R. A., Schliebs R., Bigl V., Patterson P. H., *Neurosci. Lett.*, **215**, 205–208 (1996).
- 30) Banner L. R., Moayeri N. N., Patterson P. H., *Exp. Neurol.*, **147**, 1–9 (1997).
- 31) Aloisi F., Rosa S., Testa U., Bonsi P., Russo G., Peschle C., Levi G., *J. Immunol.*, **152**, 5022–5031 (1994).
- 32) Minami M., Kuraishi Y., Satoh M., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **176**, 593–598 (1991).
- 33) Minami M., Kawaguchi N., Ohtani Y., Nishiyori A., Satoh M., *Soc. Neurosci. Abstr.*, **25**, 2027 (1999).
- 34) Yamakuni H., Minami M., Satoh M., *J. Neuroimmunol.* **70**, 45–53 (1996).
- 35) Minami M., Yamakuni H., Ohtani Y., Okada M., Nakamura J., Satoh M., *Neurosci. Lett.*, **311**, 17–20 (2001).
- 36) Meunier J. C., Mollereau C., Toll L., Suaudeau C., Moisand C., Alvinerie P., Butour J. L., Guillemot J. C., Ferrara P., Monsarrat B., *Nature*, **377**, 532–535 (1995).
- 37) Reinscheid R. K., Nothacker H. P., Bourson A., Ardati A., Henningsen R. A., Bunzow J. R., Grandy D. K., Langen H., Monsma F. J. Jr., Civelli O., *Science*, **270**, 792–794 (1995).
- 38) Mollereau C., Parmentier M., Mailleux P., Butour J. L., Moisand C., Chalon P., Caput D., Vassart G., Meunier J. C., *FEBS Lett.*, **341**, 33–38 (1994).
- 39) Yoshimura T., Matsushima K., Tanaka S., Robinson E. A., Appella E., Oppenheim J. J., Leonard E. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **84**, 9233–9237 (1987).
- 40) Rollins B. J., *Blood*, **90**, 909–928 (1997).
- 41) Luster A. D., *New. Engl. J. Med.*, **338**, 436–445 (1998).
- 42) Wells T. N. C., Power C. A., Proudfoot A. E. I., *Trends Pharmacol. Sci.*, **19**, 376–380 (1998).
- 43) Matsushima K., *Cell Technol.*, **17**, 1022–1029 (1998).
- 44) Holmes W. E., Lee J., Kuang W.-J., Rice G. C., Wood W. I., *Science*, **253**, 1278–1280 (1991).
- 45) Murphy P. M., Tiffany H. L., *Science*, **253**, 1280–1283 (1991).
- 46) McManus C., Berman J. W., Brett F. M., Staunton H., Farrell M., Brosnan C. F., *J. Neuroimmunol.*, **86**, 20–29 (1998).
- 47) Schluesener H. J., Meyermann R., *Acta Neuropathol.*, **86**, 393–396 (1993).
- 48) Miyagishi R., Kikuchi S., Fukazawa T., Tashiro K., *J. Neurol. Sci.*, **129**, 223–227 (1995).
- 49) Karpus W. J., Kennedy K. J., *J. Leukocyte Biol.*, **62**, 681–687 (1997).
- 50) Meucci O., Fatatis A., Simen A. A., Bushnell T. J., Gray P. W., Miller R. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 14500–14505 (1998).
- 51) Zou Y.-R., Kottmann A. H., Kuroda M.,

- Taniguchi I., Littmen D. R., *Nature*, **393**, 595–599 (1998).
- 52) Ohtani Y., Minami M., Kawaguchi N., Nishiyori A., Yamamoto J., Takami S., Satoh M., *Neurosci. Lett.*, **249**, 163–166 (1998).
- 53) Feng Y., Broder C. C., Kennedy P. E., Berger E. A., *Science*, **272**, 872–877 (1996).
- 54) Alkhatib G., Combadiere C., Broder C. C., Feng Y., Kennedy P. E., Murphy P. M., Berger E. A., *Science*, **272**, 1955–1958 (1996).
- 55) Deng H., Liu R., Ellmeier W., Choe S., Unutmaz D., Burkhart M., Marzio P. D., Marmon S., Sutton R. E., Hill C. M., Davis C. B., Peiper S. C., Schall T. J., Littman D. R., Landau N. R., *Nature*, **381**, 661–666 (1996).
- 56) Dragic T., Litwin V., Allway G. P., Martin S. R., Huang Y., Nagashima K. A., Cayan C., Maddon P. J., Koup R. A., Moore J. P., Paxton W. A., *Nature*, **381**, 667–673 (1996).
- 57) Weninger S. C., Yankner B. A., *Nature Med.*, **7**, 527–528 (2001).
- 58) Ishizuka K., Kimura T., Igata R., Katsuragi S., Takamatsu J., Miyakawa T., *Psychiatry Clin. Neurosci.*, **51**, 135–138 (1997).
- 59) Meda L., Bernasconi S., Bonaiuto C., Sozzani S., Zhou D., Otvos, Jr. L., Mantovani A., Rossi F., Cassatella M. A., *J. Immunol.*, **157**, 1213–1218 (1996).
- 60) Gitter B. D., Cox L. M., Rydel R. E., May P. C., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **92**, 10738–10741 (1995).
- 61) Tanabe S., Heesen M., Berman M. A., Fischer M. B., Yoshizawa I., Luo Y., Dorf M. E., *J. Neurosci.*, **17**, 6522–6528 (1997).
- 62) Tanabe S., Heesen M., Yoshizawa I., Berman M. A., Luo Y., Bleul C. C., Springer T. A., Okuda K., Gerard N., Dorf M. E., *J. Immunol.*, **159**, 905–911 (1997).
- 63) He J., Chen Y., Farzan M., Choe H., Ohagen A., Gartner S., Busciglio J., Yang X., Hofmann W., Newman W., Mackay C. R., Sodroski J., Gabuzda D., *Nature*, **385**, 645–649 (1997).
- 64) Meucci O., Miller R. J., *J. Neurosci.*, **16**, 4080–4088 (1996).
- 65) Brooke SM., Minami M., Sapolsky RM., *Soc. Neurosci. Abstr.*, **25**, 567 (1999).
- 66) Bazan J. F., Bacon K. B., Hardiman G., Wang W., Soo K., Rossi D., Greaves D. R., Zlotnik A., Schall T. J., *Nature*, **385**, 640–644 (1997).
- 67) Nishiyori A., Minami M., Ohtani Y., Takami S., Yamamoto J., Kawaguchi N., Kume T., Akaike A., Satoh M., *FEBS Lett.*, **429**, 167–172 (1998).
- 68) Imai T., Hieshima K., Haskell C., Baba M., Nagira M., Nishimura M., Kakizaki M., Takagi S., Nomiyama H., Schall T. J., Yoshie O., *Cell*, **91**, 521–530 (1997).
- 69) Chapman G. A., Moores K., Harrison D., Campbell C. A., Stewart B. R., Srijbos P. J., *J. Neurosci.*, **20**, RC87 (2000).
- 70) Takami S., Nishikawa H., Minami M., Nishiyori A., Sato M., Akaike A., Satoh M., *Neurosci. Lett.*, **227**, 173–176 (1997).
- 71) Takami S., Minami M., Nishiyori A., Nishikawa H., Satoh M., Akaike A., Satoh M., *Jpn. J. Pharmacol.*, **73** (Suppl 1), 119 (1997).
- 72) Liu T., Young P. R., McDonnell P. C., White R. F., Barone F. C., Feuerstein G. Z., *Neurosci. Lett.*, **164**, 125–128 (1993).
- 73) Nishiyori A., Minami M., Ohtani Y., Takami S., Yamamoto J., Satoh M., *Jpn. J. Pharmacol.*, **76**, 259 (1998).
- 74) Takami S., Minami M., Nagata I., Namura S., Satoh M., *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, in press.
- 75) Matsumoto T., Ikeda K., Mukaida N., Hara-da A., Matsumoto Y., Yamashita J., Matsu-shima K., *Lab. Invest.*, **77**, 119–125 (1997).
- 76) Yamasaki Y., Matsuo Y., Zagorski J., Matsuura N., Onodera H., Itoyama Y., Kogure K., *Brain Res.*, **759**, 103–111 (1997).