

Migration Patterns of Glia and Glioma Cells- their Origins, Pathways, and Destinations

鈴木, 諭
九州大学大学院医学研究院神経病理学分野

<https://doi.org/10.15017/4018>

出版情報：福岡醫學雑誌. 98 (3), pp.64-72, 2007-03-25. Fukuoka Medical Association
バージョン：
権利関係：



グリアとグリオーマの細胞移動様式 —その起源, 移動経路, そしてどこに向かうのか

九州大学大学院医学研究院 神経病理学分野

鈴木 諭

はじめに

〔脳の中を移動する細胞〕 脳の主要な構成細胞であるニューロンやグリアは、脳の形成期に脳室の壁で誕生し、そこから長い距離を移動したのちに、各々が機能するための定住地へとたどり着く¹⁾²⁾。正常の脳細胞だけでなく、脳腫瘍のひとつであるグリオーマも個々の腫瘍細胞が腫瘍塊から離れて周囲の脳組織の中を移動し、結果として腫瘍が浸潤性に拡大してゆくという性質を持つ³⁾⁴⁾。このように脳の中には正常あるいは病的な状態で動き回る細胞がいる。あるものは脳の成り立ちそのものに関わる移動を行い、あるものは脳を破壊して回る。私たちの教室では研究テーマのひとつとして、こうした脳内の細胞移動を様々な手法で観察し、神経系の発生機構やグリオーマの進展機構の解明に役立てたいと考えている。本稿では、正常グリア細胞とグリオーマ細胞の脳内における移動様式の異同、またその生物学的意義について、私たちの研究を紹介しながら概説するが、本論に入る前に、まずグリアとグリオーマについて基本的な知識を確認しておきたい。

〔グリアとは〕 グリアという名前は、1856年に Rudolf Virchow によってつけられたものである⁵⁾⁶⁾。ギリシャ語で糊を意味する言葉で、英語の glue の語源でもある。日本語でも膠細胞と訳され、その名前のつけられ方からも伺えるように、当初は脳の中に存在するニューロン以外の細胞で、ニューロンとニューロンをつなぎ留める支持組織の構成要素であると考えられていた。グリアは大きくマクログリアとミクログリアに分類される(図1)。前者はアストロサイトとオリゴデンドロサイトを含み、ニューロンとともに外胚葉に由来する神経上皮細胞にその起源をもつ⁷⁾。後者の起源については諸説あるが、胚外中胚葉由来の骨髄系前駆細胞が中枢神経に侵入し、特殊化したものであるという説が有力である⁸⁾。本稿ではマクログリアについて述べるので、この先単にグリアと言った場合、マクログリアのことを指していると考えて頂きたい。ヒトの中枢神経には全体で1000から2000億個のニューロンが存在するといわれるが、グリアの数はさらにその10倍にのぼると考えられている。しかしながら1兆個以上のグリアが、自らの10分の1の数しかないニューロンを単に物理的に支えるためだけに存在しているというのは、精妙に成り立っている生物の構造を考えた場合、あまり合理的な感じがしないであろう。実際その後の研究によって、グリアが脳の活動のさまざまな局面において積極的な役割を果たしていることが明らかになりつつある。例えばアストロサイトはニューロンのシナプスを細胞突起で覆うようにして取り囲み、シナプス間隙におけるカリウム等のイオンや水の恒常性を維持したり⁹⁾¹⁰⁾、ニューロンの興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸を回収することによってニューロンを過興奮から守ったりしていることがわかった¹¹⁾。また、アストロサイトの突起は、鋳型を作るようにびっしりと脳内の血管を取り囲み、脳血液関門を形作るとともにニューロンの活動に応じた局所的な脳血流量の調節をしているとも考えられている¹²⁾。また、アストロサイトは脳に障害刺激が加わった場合にはあたかも結合組織における線維芽細胞のように反応性過形成を起こして病巣を取り囲み、グリア瘢痕を形成し修復機転に関与する。さらにここ数年アストロサイトとニューロン、またアストロサイトどうしの間カルシウムイオンを媒体とする広範なシグナル伝達のネットワークが形成されていることが明らかになり、アストロサイトが独自の信号伝達系を有し、神経伝達を積極的、直接的にコン

Satoshi O. SUZUKI

Department of Neuropathology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University
Migration Patterns of Glia and Glioma Cells—their Origins, Pathways, and Destinations

トロールしている可能性も指摘されている¹³⁾。一方、オリゴデンドロサイトはニューロンの軸索を被覆する髄鞘の形成を担い、軸索を伝わる電気信号の絶縁体として働くとともに、跳躍伝導による迅速な信号伝達を可能にしている¹⁴⁾。

[グリオーマとは] グリオーマは、グリアが腫瘍化したものと考えられている。髄膜腫と並んで全脳腫瘍の約4分の1を占め、最も頻度の高い脳腫瘍のひとつである¹⁵⁾。グリオーマには様々な組織型があるが、成人では8割以上がアストロサイトーマ系腫瘍で、中でも最も悪性度の高いグリオブラストーマがグリオーマ全体の約3割で最も発生頻度が高い。先述したようにグリオーマの特徴のひとつとして、腫瘍塊を形成するとともに脳の既存の構築の中にしみ込むように浸潤・進展してゆくことが挙げられる。この浸潤性の発育はグリオーマの治療を難しくしている主たる要因のひとつである。特にグリオブラストーマの治療成績はここ10年以上向上がなく、外科的摘出、放射線療法、化学療法を組み合わせてもほとんどの症例が2年以内に死亡する^{16)~18)}。細胞浸潤機構の解明はグリオーマの治療のためにも重要な課題である。

1. グリア細胞の移動様式

1-1. 脳細胞の起源と脳の発生過程

脳の発生は外胚葉の正中付近にできる神経板の左右の端が背側方向に持ち上がったのち癒合してできる神経管という一本の管から始まる¹⁹⁾(図1 A-C)。管の壁は1層の神経上皮細胞が偽重層上皮を成したものである(図1 F)。冒頭ニューロンやグリアが脳室の壁で産生されると書いたが、この神経管の管腔がのちに脳室となり、管の壁が外に向かって複雑に変形しながら大きな成長を遂げて脳の実質になるわけで(図1 C-E)、そもそも脳の始まりにおいては脳室壁、つまり神経上皮細胞の偽重層上皮が脳の全てであるといえる。そして神経上皮細胞はこの脳室に面した部位で、後々までニューロンやグリアを産生し続けるのである。多様な脳の細胞が神経上皮から産生されるが、その産生時期や産生される脳室壁の部位は厳密に規定されている。おおまかな順番でいえば、最初にニューロン、続いてグリアが産生される²⁰⁾、部位でいえば腹側の脳室壁からはニューロン間の連絡を行う介在ニューロン²¹⁾やオリゴデンドロサイト²¹⁾が産生され、背側の脳室壁からは大脳皮質から下位の部位へと長い線維を送る投射ニューロン²²⁾²³⁾、アストロサイト、またオリゴデンドロサイトの後発部隊^{2)21)24)~26)}が産生される、という具合である。

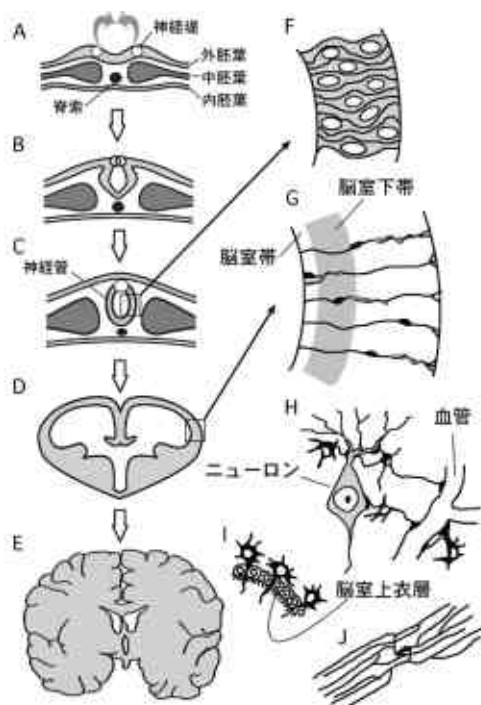


図1 脳の発生過程と脳細胞の起源

A-C. 外胚葉由来の神経堤が持ち上がり、Aの矢印の方向に癒合し、神経堤に挟まれた神経上皮が外胚葉からくびりとられるようにして神経管が生成される。この際、神経堤からBMP (bone morphogenic protein), 腹側の脊索から sonic hedgehog という蛋白が分泌され、神経管の形態形成が規定される。D-E. 神経管が肥厚し、複雑に変形して脳の実質が形作られる。神経管の管腔は脳室となる。F. 神経管は神経上皮細胞の偽重層上皮からなる。G. 神経上皮細胞は脳実質の肥厚とともに長く引き延ばされ、放射グリアとなる(黒で示す細胞)。放射グリアの核は長い突起に沿ってエレベーター運動をしながら、主に脳室面で非対称性に分裂し、放射グリアの娘細胞とニューロンやグリアの前駆細胞(灰色で示す細胞)を産生する。前駆細胞は放射グリアの突起を足場として移動する。この時期、放射グリアの分裂が起こる脳室壁の層を脳室帯とよぶ。脳室帯の直下には脳室下帯(灰色のゾーン)が形成され、放射グリアが産生した前駆細胞がさらに増殖する2次胚中心として機能する。H-J. 成熟した脳におけるグリア細胞。アストロサイトはニューロンのシナプスや血管に突起を伸ばす(H)。脳室面は放射グリアの一部から発生する一層の上皮細胞に覆われる。その直下、脳室下帯にはアストロサイトの形質を示す成体神経幹細胞が存在する(I)。オリゴデンドロサイトはニューロンの軸索に沿った突起を多数伸ばし、髄鞘を形成する(J)。

発生が進むにつれて脳実質の厚みが増すと、脳室壁の神経上皮細胞は引き延ばされたような格好となり、脳表と脳室壁を双極性の細長い突起でつなぐ放射グリアと呼ばれる細胞になる²²⁾²³⁾ (図1G)。また、脳室壁の直下に、この放射グリアから産生された未熟な細胞が増殖しつつひしめき合う脳室下帯と呼ばれる厚い層が形成される²⁾²⁷⁾ (図1G)。放射グリアは、マウスやラットでは生後10日目位からその長い突起を失い、皮質のアストロサイトに分化してゆく²⁸⁾。最近成体の脳室下帯にアストロサイトに似た神経幹細胞が存在することが示されたが²⁹⁾、この細胞も放射グリアに由来するという報告がある³⁰⁾。脳室下帯も生後間もなく退縮し始め、成獣では脳室周囲の薄い層として残る。放射グリアや成体神経幹細胞はアストロサイトと蛋白発現のプロファイルが似ているために従来グリアとみなされてきたが、実のところ神経上皮細胞から自己複製能やニューロンやグリアへの多分化能といった幹細胞の性質を引き継いだ細胞である。こうしたことから、はたして放射グリアを今まで通りグリアと呼んでよいものか、もしそう呼ぶとすればグリアとはいったいなんなのかという根本的なグリアの概念に関する議論も持ち上がっているが³¹⁾、これに変わる良い名前がまだついていないので、とりあえず本稿では放射グリアの名称を用いることにする。

1-2. 神経系前駆細胞の蛍光標識による可視化と細胞移動の観察法

マウスやラットでは背側脳室壁から脳室下帯を経て皮質に向かう投射ニューロンの移動は出生までにはほぼ完了していて、新生仔期にはグリアの前駆細胞が活発に産生されている²⁾²⁴⁾。また、嗅球の介在ニューロンは、脳室下帯からその前駆細胞が前方に向かう長い経路 (rostral migratory stream=RMS) に沿って移動することにより終生に渡って産生が続くことが知られているが (図2E)³²⁾、この移動もやはり出生前後の時期にピークを迎える。しかしながら、これらニューロンやグリアの前駆細胞が脳室下帯のどの場所から出発してどのように移動経路を使い分けているのか、あるいは一部なりとも共有しているのか、明確

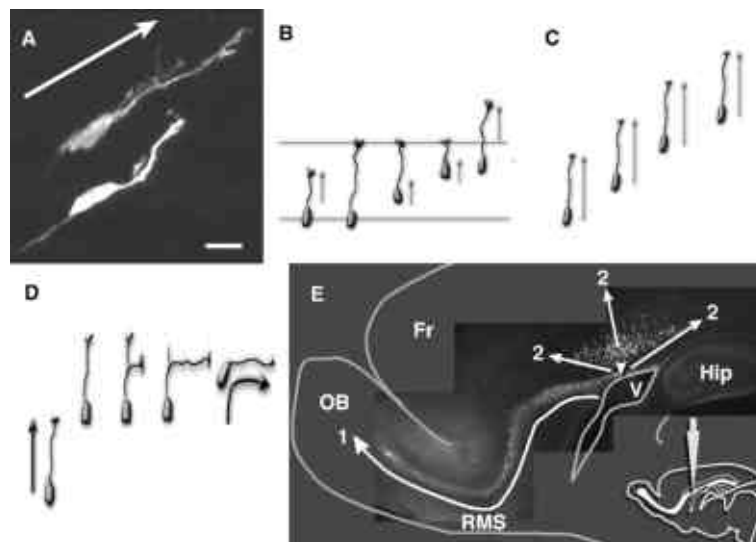


図2 正常神経系前駆細胞の移動様式

A. 脳組織の中を移動中の GFP 標識細胞 (ビプラトーム切片)。右上に向かう先端突起と左下に向かう trailing process が観察される。矢印は細胞の進行方向。Bar=10 μ m。B-C. 突起の伸縮と胞体の移動のパターン。B の細胞では伸ばした先端突起の先端が固定され、先端突起が縮むことにより胞体が移動する。C の細胞では先端突起が一定の長さを保ったまま移動する。D. 前駆細胞の方向転換。元の進行方向に向いた先端突起が退縮するとともに新たな進行方向に向かう分枝が成長し、先端突起となる。E. 出生当日に GFP 発現レトロウイルスベクターを脳室下帯に投与して3日目のラット脳の矢状断ビプラトーム切片。向かって左が前 (吻側)、右が後ろ (尾側)。灰色の線は脳と脳室の輪郭を示す。細かな点描状に白く見えるのが個々の前駆細胞。ベクター投与部位 (矢頭) から前方に向かって嗅球 (OB) にむかうニューロン前駆細胞の流れ (RMS, 矢印1) と、扇状に上方に向かうグリア前駆細胞の流れ (矢印2) が描出される。V=側脳室, Fr=前頭葉, Hip=海馬。右下の模式図は下向きの矢印でベクター投与部位を示す。

な証拠に基づく結論は出ていなかった。私たちは、新生仔期のラット脳の背側の脳室下帯にガラス毛細管を用いてレトロウイルスベクターを注入することにより脳室下帯の神経系前駆細胞にクラゲの蛍光蛋白である green fluorescent protein (GFP) を強制発現させ、蛍光顕微鏡下にこれら前駆細胞の移動様式を追跡した²⁾²⁶⁾。レトロウイルスベクターは分裂中の細胞のみに遺伝子を導入する。脳室下帯でこの時期増殖中の細胞の大部分は移動能をもつニューロンあるいはグリアの前駆細胞であるため、この手法により数多くの前駆細胞がほぼ特異的に GFP によって標識される。また、レトロウイルスベクターによって導入された遺伝子は細胞の染色体に組み込まれるため、GFP の発現は標識後の細胞分裂によって生じた子孫の細胞にも受け継がれる。したがって標識後 GFP を発現している細胞は、どこへたどり着いていてもどの様な細胞に分化していても、標識時には前駆細胞として脳室下帯にいた細胞あるいはその子孫であるということが出来る。このようにして脳室下帯から出発する前駆細胞の移動の様子や最終的な分化の状態を目で見て追跡することができるわけである。

標識した脳は経時的に固定し、組織切片を作製して観察したり、あるいは器官培養という手法で、摘出後無固定のままただちに薄くスライスしてフィルターに貼り付け、そのまま培養して生きた状態の脳切片として観察を行った。後者においては、タイムラプスビデオ撮影³³⁾という方法で、顕微鏡の同一視野においてコンピュータの制御下に一定の時間間隔で写真を撮影し、得られた静止画像からばらばら漫画の原理でムービーファイルを作製することによって、前駆細胞の生きた脳の中での動きを動画として記録し、観察した。

1-3. 移動中の神経系前駆細胞の形態

移動能をもつ前駆細胞の段階では、形態だけでは個々の細胞がニューロンであるかグリアであるかは区別できない。両者とも核周囲の胞体に乏しい、双極性ないし単極性の単純な形態を示す²⁵⁾²⁶⁾ (図 2 A)。細胞は一見オタマジャクシのような形をしているが、移動の際には胞体の数倍もの長さの突起を伸ばし、その突起の方向へ移動する。したがって長い突起は尻尾ではなくて、実は先導突起である。先導突起の先端はしばしば掌を広げたような小さな扇状の広がりをもち、ニューロンの軸索の成長端にある成長円錐に類似した形態を示す。タイムラプスビデオ撮影法による動画で観察すると、細胞は移動する際に、突起を進行方向に伸ばしたのち、その先端に向かって突起が縮むことによって胞体が移動する、という動きを示す場合と、突起の長さが一定のまま細胞全体が突起の方向に移動するように見える場合があるが (図 2 B, C)²⁵⁾、筆者は後者も基本的には目に見えないくらい細かな突起の伸縮とそれに伴う胞体の移動を繰り返して前進しているのではないかと想像している。双極性に見える場合の先導突起の反対側にある突起は、核が先導突起の方向に移動した後に周囲の胞体が細く尾を引いたように取り残されたもので trailing process と呼ばれ、やがて消退してゆく運命にある。ところで前駆細胞はどのくらいの速さで動いているのだろうか？ 実は前駆細胞は常に一定の速度で移動するわけではなく、少し動いては止まり、止まっては動くという跳躍的な運動を繰り返しつつ前進する²⁵⁾。この静止期と移動期をならした平均移動速度を計算すると、1時間に約 90 μm である²⁵⁾。胞体の約 10 倍の距離を 1 時間かけて移動する計算になるので、例えば身長 160 cm の人が這って進むとすると時速 16 m に相当する。こう考えると極めてゆっくりしたスピードであるが、ラットの新生仔期では脳室壁から背側の脳表までの厚みは 2 mm に満たないので、一直線に進めば 1 日もかからずに脳室下帯の一番深いところから脳の表面まで到達することができるだろう。前駆細胞は跳躍的な移動をすると述べたが、静止している間も怠けているわけではない。この時期の細胞を詳しくみると、先導突起の側面のそこかしこから小さな分枝をあちらこちらの方向に出したり引っ込めたりして、移動の方向を探っているかのように見える。そのままの方向で移動を再開することもあるが、大きく移動の方向を転換する時には、もともとの先導突起が消退するとともに別の方向に向かって出てきた小さな分枝が見る間に成長して新たな先導突起となってゆく様子が観察される (図 2 D)²⁵⁾。この様子は元の先導突起の先が何か細胞にとって好ましくないものに触れて慌てて手を引っ込め、一方で無数に伸ばした探索の手の中でより好ましいものを探り当てたものが元の先導突起にとって代わって細胞を新たな方向に導いているようにも見える。おそらく化学的に、あるいは物理的な接触によって先導突起を反発したり誘引した

りする分子や構造物が脳の局所局所に存在し、細胞移動の方向をきめ細かに制御しているのだろう。しかしながら、こうした局所の合図の実体がなんであるかは、ほとんどわかっていない。

1-4. グリア前駆細胞の移動経路—ニューロンと比較して

前項では個々の細胞の動きについて述べたが、もう少しマクロ的にみると、神経系前駆細胞は決して局所の合図に右往左往してランダムな動きするわけではなく、一定の方向性をもった大きな流れを形作って移動している。新生仔期ラットの脳室下帯にレトロウイルスベクターを投与すると、投与後3日目までに大きく2つの細胞移動経路が観察された²⁶⁾ (図2E)。ひとつは投与部位から脳室下帯の中を前後方向に移動し、前方では前述のRMSを通して嗅球に至り、後方では背側脳室下帯の後端に達する、脳室壁に平行な前後方向に沿った大きな細胞の流れである。この流れに乗った細胞は、決して脳室下帯、あるいはそこから連続したRMSの外に出ることはないが、嗅球にたどり着いたものだけが90度方向転換し、RMSから放射状に嗅球の実質へと出てゆく。ふたつめは、ウイルスベクター投与部位から直上の脳表に向かって放射方向、つまり脳室壁と直交する方向に脳室下帯を出てゆく細胞の流れである。この流れはベクター投与部位からやや扇状に広がった分布を示すものの、基本的には前後方向への広がりには限られたものでしかなかった。この2つの細胞移動経路の標識パターンはベクターの投与部位を前後にずらしても、常に同様であった。つまり、脳室下帯のどの部位にベクターを投与しても前後方向の流れは嗅球に至るまでは脳室下帯の中に留まり、放射方向の流れはベクターの投与部位からしか標識されなかった。これらの結果から、第1の移動経路をとる細胞群は脳室下帯の中を前後方向全般わたって移動していること、第2の移動経路は脳室下帯のあらゆる場所から起こっているが、この移動経路をとる細胞群は脳室下帯の中を前後方向に移動することなく、もっぱら放射方向の移動を行うことが示唆された。この仮説を確かめるために器官培養でタイムラプスビデオ撮影を行うと、第1の移動経路では予想通り大きな前後方向の細胞の流れがみられたが、前方に行くほど嗅球方向への移動が優位になることが観察された(筆者らの未発表データ)。個々の細胞の中には脳室下帯とその外層の白質との境界に行き当たるものもあったが、必ずそこで方向転換して前後方向の流れに戻ってゆき、決してこの境界を越えて脳室下帯の外に出てゆくことはなかった。また第2の経路では、全ての細胞がベクター投与部位付近の脳室下帯から出発してただちに放射方向の経路をとった。第1の経路を通して前後方向に離れた場所からやって来てその後ベクター投与部位から外に出てゆく細胞はひとつも観察されなかった。

こうした長距離にわたる細胞の流れは、細胞を誘引、あるいは反発する分泌蛋白の大規模な濃度勾配によって形成されると考えられている。例えば反発因子であるSlit-1, Slit-2が脳室周囲からRMSへと介在ニューロン前駆細胞を追い出すという説³⁴⁾や、嗅球から分泌される誘引因子であるNetrin-1がRMSの細胞を嗅球へと呼び寄せるとい説³⁵⁾がある。前駆細胞の移動経路は、細胞がこうした長距離にわたる制御を基礎に、前述したような局所局所でのシグナルによる細かな調節を受けることによって整然と成り立っているものと思われる。

それでは、この2つの移動経路をとる細胞群は、それぞれどのような運命をたどるのだろうか。ベクター投与後、成獣期までラットを生かしたのち脳の切片を作製して観察すると、GFP陽性細胞は、既に大幅に退縮した脳室下帯にはほとんどみられず、あるものは嗅球内、またあるものはベクター投与部位直上の皮質および白質に分布していた²⁶⁾。細胞の形態や免疫染色で調べたマーカーの発現パターンから、GFP陽性細胞は嗅球では100%介在ニューロンに分化しており、皮質および白質では例外なくアストロサイトあるいはオリゴデンドロサイトに分化していた。以上の結果より、新生仔期の脳では、グリアの移動は脳室下帯全般から起こるが、ニューロンの移動経路とは明確に区別される放射状の経路をとることがわかった²⁶⁾。

ところで、これらの前駆細胞は水の中を泳いでいるのではなく、移動するためには必ず足場となる構造物が必要である。グリア前駆細胞の移動経路の方向は、先述した放射グリアの線維の方向と見事に一致する。実際GFPで標識された移動中のグリア前駆細胞の像と放射グリアに対する免疫染色の像を重ね合わせると、グリア前駆細胞が放射グリアに胞体や先端突起を密着させている様子が観察され、グリア前駆細胞

胞は放射グリアの線維を足場として移動していることがわかる²⁶⁾。放射グリアはグリアに先だって移動する皮質の投射ニューロンの移動の際にも足場を提供しており²²⁾²³⁾、脳細胞の放射方向の移動にも重要な役割を果たしているのである。私たちはタイムラプスビデオ撮影中に、この他にごく少数のグリア前駆細胞が血管を足場として移動することを観察した。その後も長期観察していると、こうした細胞はやがて血管に突起を伸ばしながら成熟したアストロサイトの形態に変化していった(筆者らの未発表データ)。このことは、グリア前駆細胞のアストロサイトへの分化は血管へのコンタクトをもって始まるという説³⁶⁾に合致する。一方で、ニューロンの前駆細胞が足がかりにできるような方向性のある構造物は脳室下帯や RMS の中には存在しない。これらの細胞は、鯉の大群のようにもみ合うようにして、お互いを足場として移動しているといわれている³⁷⁾。

2. グリオーマ細胞の移動様式

2-1. ヒトグリオーマの病理標本でわかること

私たちは日常業務のひとつとして脳腫瘍の病理診断を行っている。グリオーマの診断のためには組織型や悪性度とともに、その浸潤範囲を判定する必要がある。したがって、腫瘍周囲の脳組織が提出された場合、そこに腫瘍細胞がいるかどうかを注意深く観察することになる。ルーチンのヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色では、脳組織に浸潤するグリオーマ細胞は胞体に乏しく、裸の核のみが目立って見えることが多い (図 3 A, B)。グリオーマ細胞は血管や白質線維、ニューロンの胞体や樹状突起を好む性質があり、しばしばこうした既存の脳の構造物に寄り添うような分布を示す³⁸⁾。数多くの腫瘍細胞が浸潤している箇所では細胞密度も高くなり、今述べた特徴的な分布も目立ってくるので浸潤の判定に苦勞することはないが、浸潤の最前線では腫瘍細胞の数も少なくなり、核だけの情報で個々の細胞を腫瘍細胞なのか既存のグリアなのか判定するのが難しい場合がある。このような時には免疫染色を行い、グリオーマ細胞の同定を試みる。既存の脳組織を全く染めず、全てのグリオーマ細胞を染める理想的な手法は今のところ存在しないが、実用に耐えるマーカーとしては微小管関連蛋白である MAP-2 e³⁹⁾ や doublecortin⁴⁰⁾、未熟な脳細胞に発現する中間径フィラメントである nestin⁴¹⁾ が挙げられる。これらのマーカーに対する免疫染色はグ

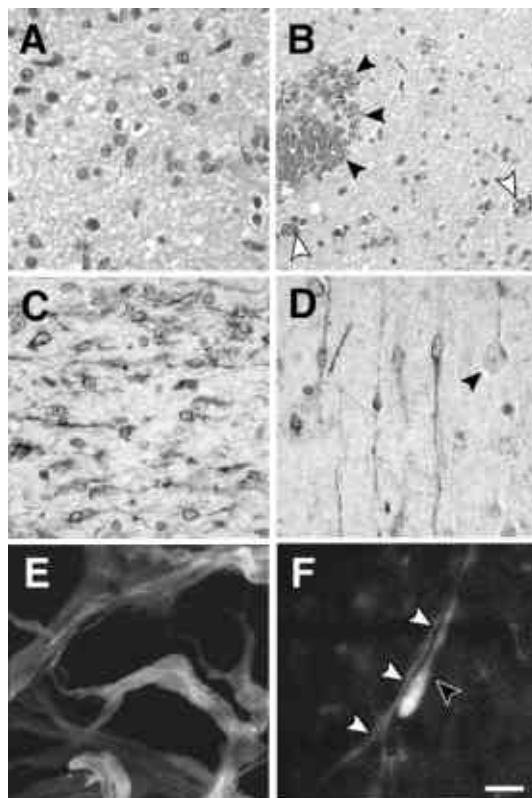


図 3 グリオーマ細胞の移動様式

A-D. ヒト大脳浸潤性グリオーマの病理組織像。AとBはHE染色、CとDはMAP-2eに対する免疫染色。A. 白質。裸核状の腫瘍細胞が浸潤しているが、胞体や突起ははっきり見えない。B. 皮質。血管(黒矢頭)やニューロン(白矢頭)に群がるように腫瘍細胞が浸潤している。C. 白質。腫瘍細胞の単極性ないし双極性の形態が明らかである。多くの腫瘍細胞の突起は白質の神経線維の方向(この写真では水平方向)に向いており、神経線維に沿った移動が示唆される。D. 皮質では多くの腫瘍細胞の突起が脳表に直交する放射方向に向いている。矢頭はニューロンで、向かって右側を縁取るように腫瘍細胞に取り付かれている。E-F. GFPで標識したC6グリオーマ細胞の脳血管に沿った移動。E. この写真では血管自体は蛍光標識されていないが、C6細胞が血管を鑄型のように隙間なく取り巻いているので血管の形態が光って見える。F. 蛍光標識された血管(白矢頭)に胞体や突起を密着させて移動中のC6細胞(黒矢頭)。右上に向かって先端突起を伸ばしている。Bar=20 μ m (A, C, D, E), 40 μ m (B), 13 μ m (F)。

グリオーマ細胞の同定に有用であるとともに、HE染色では背景の脳組織の色調に埋もれてよく見えなかった腫瘍細胞の形態を鮮明に浮かび上がらせる(図3C, D)。浸潤しているグリオーマの細胞は、移動中のグリアやニューロンの前駆細胞とよく似た、単極性ないし双極性の形態を示す。前駆細胞の移動を考えれば、長い突起は先導突起であり、グリオーマ細胞の移動の方向を指し示していると想像される。実際これらの免疫染色で染め出されたグリオーマ細胞の突起は、血管や白質線維の走行に沿った方向に伸びていることが多い。大脳皮質では多くのグリオーマ細胞の突起が脳表に向かう放射方向に伸びており、この方向に走る構造物、たとえば軸索や樹状突起などを足場になっているものと思われる³⁹⁾。

2-2. 動物モデルにおけるグリオーマ細胞の移動の観察

私たちはグリオーマ細胞の移動様式をより詳細に観察するために、ラットグリオーマ細胞株C6, RG2, 9LにGFPを強制発現させ、新生仔期ラット脳に移植することにより、グリオーマの動物モデルを作製した³³⁾⁴²⁾。このモデルでは、グリオーマ細胞は移植部位から血管に沿って活発に脳内を浸潤する(図3E)。個々の細胞をみると、長い突起を伸ばしながら血管にへばりついているのがわかる(図3F)。移動の様子をタイムラプスビデオ撮影法で観察すると、グリオーマ細胞もニューロンやグリアの前駆細胞と同様に突起の方向に向かって跳躍的に運動することがわかった。ただ、移動の速度は前駆細胞に比べて遅く、時速約25 μm であった⁴²⁾。

3. グリア前駆細胞とグリオーマの移動様式の異同

前項で述べたように、グリア前駆細胞とグリオーマはその移動様式において多くの共通点をもっていることがわかった。おそらくグリオーマの細胞は脳に広範に進展する目的で、正常発生のために使われる前駆細胞の細胞内外の移動機構を模倣し、利用しているのであろう。一方、両者の移動における最大の違いは、前駆細胞の見事に秩序立った終わりのある移動に対し、グリオーマ細胞は無制限に増殖しながら無秩序に脳内に広がってゆくという点にある。おそらくグリアの移動を制御する脳内のシグナルの数々を、グリオーマの細胞は無視し、踏み倒して進むのだろう。また、私たちのグリオーマ動物モデルに関していえば、前駆細胞がアストロサイトに分化するまでは血管に沿った移動をしないのに対し、グリオーマ細胞は専ら血管を足場に移動していた。ヒトグリオーマ組織ではさらに、通常前駆細胞が積極的に使わない神経線維も細胞移動の重要な足場となっている。前駆細胞やグリオーマ細胞の移動機構のさらなる解明の手がかりのひとつとして、両者の間の接着分子や蛋白受容体などの発現の差異を調べることがあげられるだろう。また最近、ラット脳の大脳皮質のグリアにレトロウイルスベクターを用いてPDGF (platelet-derived growth factor)を過剰発現させることにより、神経線維や血管に沿って浸潤する悪性グリオーマのモデルを簡便に作製する手法が開発された⁴³⁾。こうした新たなモデルも今後の研究のために有用であろう。

おわりに

脳内の細胞移動について、神経系前駆細胞とグリオーマ細胞を例に概説した。一般に腫瘍は増殖能や移動能など幼若な細胞にみられる性質を多くもっている。腫瘍をよく知るためには発生学的な観点が必要であり、また正常発生を知る上で、腫瘍はさまざまなことを教えてくれるだろうと思われる。また、腫瘍だけでなく再生医療や疾患脳の修復の観点からも、発生学的な知識は必須である。近年の神経発生学の発展には目覚ましいものがあり、今後ますます正常から異常を学び、異常から正常を学ぶチャンスが増えてゆくであろう。今後とも私たちは、臨床病理学的な経験を積み重ねながら、複眼的な観点から脳やその疾患の研究を進めていきたいと考えている。

参 考 文 献

- 1) Parnavelas : The origin and migration of cortical neurones : new vistas. *Trends. Neurosci.* 23 : 126-131, 2000.
- 2] Marshall CAG, Suzuki SO and Goldman JE : Gliogenic and neurogenic progenitors of the subventricular zone : Who are they, where did they come from, and where are they going? *Glia* 43 : 52-61, 2003.
- 3) Holland EC : Glioblastoma multiforme : the terminator. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97 : 6242-6244, 2000.
- 4) Giese A, Bjerkvig R, Berens ME and Westphal M : Cost of migration : invasion of malignant gliomas and implications for treatment. *J. Clin. Oncol.* 21 : 1624-1636, 2003.
- 5) Virchow R : *Gesammelte Abhandlungen zur Wissenschaftlichen Medizin.* Verlag von Medizinger Sohn & Comp., Frankfurt, 1856.
- 6) Kettenmann H and Ransom BR : The concept of neuroglia : a historical perspective. In Kettenmann H, Ransom BR (ed) : *Neuroglia*, 2nd ed. pp. 1-8. Oxford University Press, Oxford, 2005.
- 7) Boulder Committee : Embryonic vertebrate central nervous system : revised terminology. *Anat. Rec.* 166 : 257-262, 1970.
- 8) Chan WY, Kohsaka S and Rezaie P : The origin and cell lineage of microglia—New concepts. *Brain. Res. Brain. Res. Rev.* (in press)
- 9) Walz W : Role of astrocytes in the clearance of excess extracellular potassium. *Neurochem. Int.* 36 : 291-300, 2000.
- 10) Simard M and Nedergaard M : The Neurobiology of glia in the context of water and ion homeostasis. *Neuroscience* 129 : 877-896, 2004.
- 11) Anderson CM and Swanson RA : Astrocyte glutamate transport : review of properties, regulation, and physiological functions. *Glia* 32 : 1-14, 2000.
- 12) Koehler RC, Gebremedhin D and Harder DR : Role of astrocytes in cerebrovascular regulation. *J. Appl. Physiol.* 100 : 307-317, 2006.
- 13] Volterra A and Meldolesi J : Astrocytes, from brain glue to communication elements : the revolution continues. *Nat. Rev. Neurosci.* 6 ; 626-640, 2005.
- 14) Koester J and Siegelbaum SA : Local signaling : passive electrical properties of the neuron, In Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM (ed) : *Principals of Neuronal Science* 4th ed. pp.140-149, McGraw-Hill, New York, 2000.
- 15) 脳腫瘍全国統計委員会, 日本病理学会 (編) : 脳腫瘍取扱い規約第 2 版, 金原出版, 東京, 2002.
- 16) Buckner JC : Factors influencing survival in high-grade gliomas. *Semin. Oncol.* 30 : Suppl 19 : 10-14, 2003.
- 17) Curran WJ Jr, Scott CB, Horton J, Nelson JS, Weinstein AS, Fischbach AJ, Chang CH, Rotman M, Asbell SO, Krisch RE and Nelson DF : Recursive partitioning analysis of prognostic factors in three Radiation Therapy Oncology Group malignant glioma trials. *J. Natl. Cancer. Inst.* 85 : 704-710, 1993.
- 18) DeAngelis LM : Brain tumors. *N. Engl. J. Med.* 344 : 114-123, 2001.
- 19) Sadler TW : *Langman's Medical Embryology* 10th ed. pp.285-316, Lippincott Williams&Wilkins Philadelphia, 2006.
- 20) Sauvageot CM and Stiles CD : Molecular mechanisms controlling cortical gliogenesis. *Curr. Opin. Neurobiol.* 12 : 244-249, 2002.
- 21) Kessaris N, Fogarty M, Iannarelli P, Grist M, Wegner M and Richardson WD : Competing waves of oligodendrocytes in the forebrain and postnatal elimination of an embryonic lineage. *Nat Neurosci.* 9 : 173-179, 2006.
- 22] Miyata T, Kawaguchi A, Okano H and Ogawa M : Asymmetric inheritance of radial glial fibers by cortical neurons. *Neuron* 31 : 727-741, 2001.
- 23] Noctor SC, Flint AC, Weissman TA, Dammerman RS and Kriegstein AR : Neurons derived from radial glial cells establish radial units in neocortex. *Nature* 409 : 714-720, 2001.
- 24] Levison SW and Goldman JE : Both oligodendrocytes and astrocytes develop from progenitors in the subventricular zone of postnatal rat forebrain. *Neuron* 10 : 201-212, 1993.
- 25] Kakita A and Goldman JE : Patterns and dynamics of SVZ cell migration in the postnatal forebrain : monitoring living progenitors in slice preparations. *Neuron* 23 : 461-472, 1999.

- 26]** Suzuki SO and Goldman JE: Multiple cell populations in the early postnatal subventricular zone take distinct migratory pathways: a dynamic study of glial and neuronal progenitor migration. *J. Neurosci.* 23: 4240-4250, 2003.
- 27) Marshall CAG and Goldman JE: Subpallial *Dlx2*-expressing cells give rise to astrocytes and oligodendrocytes in the cerebral cortex and white matter. *J. Neurosci.* 22: 9821-9830, 2002
- 28) Noctor SC, Martinez-Cerdeno V, Ivic L and Kriegstein AR: Cortical neurons arise in symmetric and asymmetric division zones and migrate through specific phases. *Nat. Neurosci.* 7: 136-144, 2004.
- 29) Doetsch F, Caille I, Lim DA, Garcia-Verdugo JM and Alvarez-Buylla A: Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell* 97: 703-716, 1999.
- 30) Merkle FT, Tramontin AD, Garcia-Verdugo JM and Alvarez-Buylla A: Radial glia give rise to adult neural stem cells in the subventricular zone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101: 17528-17532, 2004.
- 31) Barres BA: What is a glial cell? *Glia* 43: 4-5, 2003.
- 32) Luskin MB: Restricted proliferation and migration of postnatally generated neurons derived from the forebrain subventricular zone. *Neuron* 11: 173-89, 1993.
- 33) Suzuki SO and Iwaki T: Dynamic analysis of glioma cells: Looking into "movement phenotypes". *Neuropathology* 25: 254-262, 2005.
- 34) Nguyen-Ba-Charvet KT, Picard-Riera N, Tessier-Lavigne M, Baron-Van Evercooren A, Sotelo C and Chedotal A: Multiple roles for Slits in the control of cell migration in the rostral migratory stream. *J. Neurosci.* 24: 1497-1506, 2004.
- 35) Murase S and Horwitz AF: Deleted in colorectal carcinoma and differentially expressed integrins mediate the directional migration of neural precursors in the rostral migratory stream. *J. Neurosci.* 22: 3568-3579, 2002.
- 36) Zerlin M and Goldman JE: Interactions between glial progenitors and blood vessels during early postnatal corticogenesis: blood vessel contact represents an early stage of astrocyte differentiation. *J. Comp. Neurol.* 387: 537-546, 1997.
- 37) Lois C, Garcia-Verdugo JM and Alvarez-Buylla A: Chain migration of neuronal precursors. *Science.* 271: 978-81, 1996.
- 38) Scherer HD: Cell proliferation and invasion in malignant gliomas. *Am. J. Cancer.* 40: 159-198, 1940.
- 39) Suzuki SO, Kitai R, Llana J, Lee SC, Goldman JE and Shafit-Zagardo B: MAP-2e, a novel MAP-2 isoform, is expressed in gliomas and delineates tumor architecture and patterns of infiltration. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 61: 403-412, 2002.
- 40) Daou MC, Smith TW, Litofsky NS, Hsieh CC and Ross AH: Doublecortin is preferentially expressed in invasive human brain tumors. *Acta. Neuropathol. (Berl)* 110: 472-480, 2005.
- 41) Dahlstrand J, Collins VP and Lendahl U: Expression of the class VI intermediate filament nestin in human central nervous system tumors. *Cancer. Res.* 52: 5334-5341, 1992.
- 42]** Farin A, Suzuki SO, Weiker M, Goldman JE, Bruce J and Canoll P: Transplanted Glioma Cells Migrate and Proliferate on Host Brain Vasculature: A Dynamic Analysis. *Glia* 53: 799-808, 2006.
- 43) Assanah M, Lochhead R, Ogden A, Bruce J, Goldman JE and Canoll P: Glial progenitors in adult white matter are driven to form malignant gliomas by platelet-derived growth factor-expressing retroviruses. *J. Neurosci.* 26: 6781-6790, 2006.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

プロフィール

鈴木 論 (すずき さとし)

九州大学助教授 (医学研究院神経病理)。医博。

◆**略歴** 1964年大阪生まれ。1989年九州大学医学部卒業。同年九州大学脳神経外科入局。1992年九州大学大学院医学研究科入学(神経病理先攻)。そのまま神経病理を志す。2000年米国コロンビア大学ポスドク研究員。2003年九州大学神経病理助手。同年同講師。2005年より現職。

◆**研究テーマと抱負** 病理診断の duty に携わりながら、神経発生と脳腫瘍に関する基礎研究をしています。脳の形成と病気による破壊を見つめつつ、グリオーマの治療や神経再生医療に夢を馳せています。

◆**趣味** 絵を描くこと、音楽鑑賞、飲酒