

中枢ノルアドレナリン投射系の加齢変化と可塑性¹

城川 哲也

日本福祉大学 情報社会科学部 人間福祉情報学科

Plasticity of central noradrenergic projections during aging

Tetsuya Shirokawa

Department of Information Technology for Human Welfare,
Faculty of Social and Information Sciences, Nihon Fukushi University

Abstract: The locus coeruleus (LC), located within the caudal pontine central gray, is composed of noradrenaline-containing neurons. The axons of these neurons form extensive collateral branches that project widely to many brain sites. The function of the LC is still unclear at present, however, LC neurons are known that exhibit marked axonal regeneration and sprouting in response to brain damage. We investigated the age-related changes in noradrenergic innervations of the frontal cortex, using in vivo electrophysiological techniques and immunohistochemistry. While noradrenergic innervations gradually decreased with age in the frontal cortex, a high degree of sprouting occurred in the LC axon terminals in the middle age. These findings suggested that the LC neurons preserve a strong capacity to remodel their axon terminals even in the aging brain. Exogenous brain-derived neurotrophic factor (BDNF) infusion caused a marked increase in the density of noradrenergic axon in the aged brain, but no trophic action of BDNF was observed in the young and middle-aged brain. The result suggests that BDNF is necessary for the maintenance of noradrenergic innervations in the aged brain.

Keywords: 青斑核, 加齢, 可塑性, ノルアドレナリン, 脳由来神経栄養因子

1. はじめに

老化に伴う脳の機能低下に対して、それを防御し、さらに低下した機能を取り戻すことができれば、“脳の長寿”は可能となる。それを実現する方法として、脳に備わる可塑性を賦活することは有効な手段であると思われる。しかし、老化した脳にどのような可塑性が残されており、それがどのような方法で賦活できるのかについてはほとんど明らかになっていない。この稿ではノルアドレナリン投射系をモデルとして、これまで主に発達期を中心にその役割が考えられてきた脳の可塑性が、成熟し

た脳や老化した脳にも維持されていること、さらにはそうした可塑性の賦活も可能であることを紹介し、“加齢に伴う可塑性”の役割について述べる。

2. 青斑核と脳の可塑性

脳幹にある青斑核 (Locus Coeruleus, 以下LC) は、ラットでは約1,500個、ヒトでは約20,000個のノルアドレナリン (Noradrenaline, 以下NA) を伝達物質とするニューロン²からなる (図1上)。LCニューロンは大脳から脊髄に及ぶ広汎な部位に軸索を投射し (図1下)、

¹ 本稿は、2004年7月31日に開催された第37回脳の医学・生物学研究会での講演要旨をもとに書き改めたものである。

投射部位で NA を放出する一方で、視覚・聴覚・体性感覚・痛覚など種々の感覚入力を受容することが知られている¹⁾。こうした特徴から、LCニューロンは、脳への感覚入力に応じて NA 放出量を変化させることによって、脳の興奮性を調節していると考えられている²⁾。例えば、痛みのように生体にとって有害な刺激は LCニューロンを興奮させ、その結果、動物は覚醒することが知られている³⁾。こうした事実から、LC は外部からの刺激によって意識レベルを変化させたり、外部の刺激に“注意を向ける”ことに重要な役割をはたしていると考えられる⁴⁾。さらに LCニューロンは、内部環境の変動、例えば、低酸素や出血などによっても興奮することが知られている。このように LC は、内外の環境の変動に応答し、生体に覚醒や注意を促す“警報装置”としての役割を担っている (図2)。

こうした研究と並行して、1970年代半ばから LC の機能についての先駆的な研究がなされた。仔ネコの視覚野

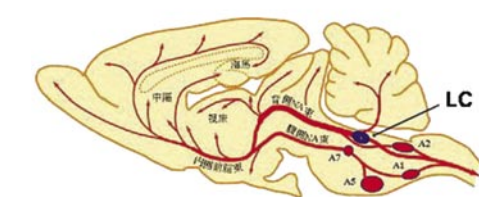
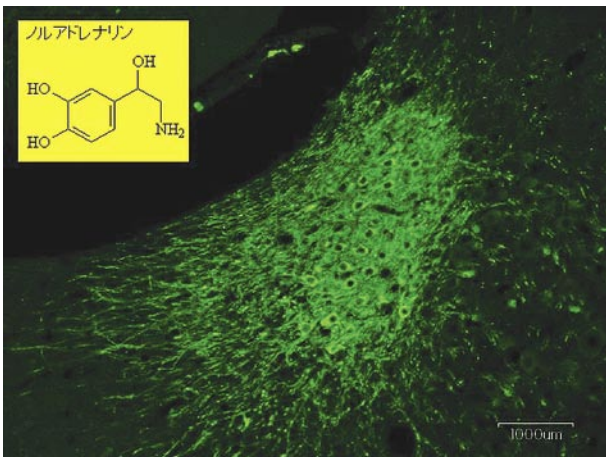


図1 青斑核 (上) とノルアドレナリン投射系 (下)

ノルアドレナリンのマーカである dopamine- β -hydroxylase の免疫組織化学染色による。ラットの青斑核は、約1,500個のノルアドレナリンニューロンからなる。(上)。脳幹にある青斑核 (LC) からの投射は、大脳皮質から脊髄までほぼ全脳に及ぶ (下)。

外部環境からの刺激 (聴覚, 視覚, 体性感覚, 侵害刺激)
内部環境の変動 (低酸素血症, 出血, 低血糖)

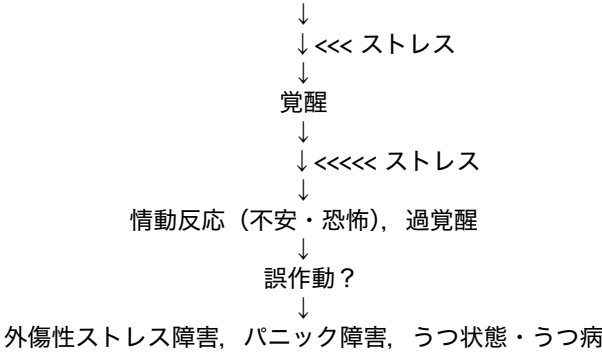


図2 アラーム・システムとしての青斑核

ニューロンの可塑性³⁾に NA が関与することを提唱した笠松らの研究である。彼らは一連の実験によって、視覚野ニューロンの可塑性に LC由来の NA が必要であるとの仮説を検証した^{5) 6)}。続く研究では、可塑性の発現には NA- β 受容体-cAMP系の賦活が必要であることを明らかにした^{7) 8)}。さらに、この系を賦活することによって成熟した脳でも可塑性が賦活されることを示した今村らの研究は、成熟脳での可塑性モデルとして注目値する⁹⁾。

LCニューロン自身に備わる可塑性に注目した研究も行われている。LCニューロンの軸索は損傷を受けても再生することが知られているが、中村らは、LCニューロンの軸索が損傷のない場合でも可塑的に変化することを見出した^{10) 11)}。さらに LCニューロンの可塑性が、ストレス負荷に依存することを明らかにしている。すなわち、負荷が弱い場合には、LC軸索終末では発芽が起こるが、負荷が強い場合には、LC軸索終末が退縮を起こすという¹²⁾。中村は、LC-NA系の異常が、ヒトのうつ病に関与していることを示唆しており¹³⁾、今後の研究の発展が期待される。

LC と脳の可塑性についてのこうした先駆的な研究をヒントに、我々は LCニューロンの可塑性が、発達期に限らず、それ以降の成熟期さらには老年期においても重要な役割を果たしているのではないかと考え、以下の研究を行った。

2 ニューロンは軸索と呼ばれる長い突起を伸ばし、他のニューロンとシナプスを形成する。ニューロンから発せられた活動電位は、軸索を通過してシナプスへと伝えられる。シナプスではノルアドレナリンなどの伝達物質が放出され、次のニューロンに情報が伝えられる。

3 1981年にノーベル医学生理学賞を受賞した Hubel と Wiesel による一連の研究。仔ネコの視覚野ニューロンの反応が、視覚入力の変化によって可塑的に変化すること、その時期が生後の一時期に限られることなどを明らかにした。

3. 青斑核投射の加齢変化

LCの加齢変化については、その詳細が徐々に明らかになってきている。LCニューロン数の推定では、F344/Nラット¹⁴⁾ およびヒト¹⁵⁾ では、正常老化による減少は認められないという。それに対して、パーキンソン病やアルツハイマー病などの神経変性疾患では、LCニューロン数の著明な減少が起こることが知られている¹⁶⁾。我々は、免疫組織化学的に同定したNA軸索終末の画像解析によって、前頭葉のNA投射線維の加齢変化を定量的に計測した。NA軸索終末とバリコシティ（NA軸索上の膨腫構造でシナプスを含む）は9月齢と13月齢の間

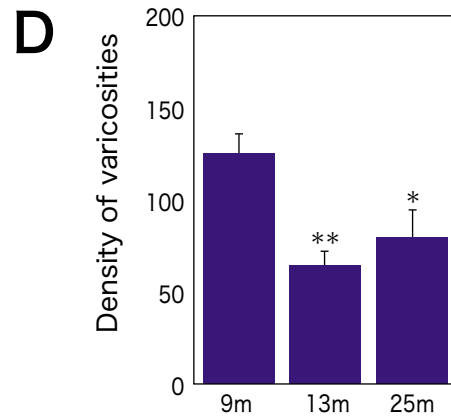
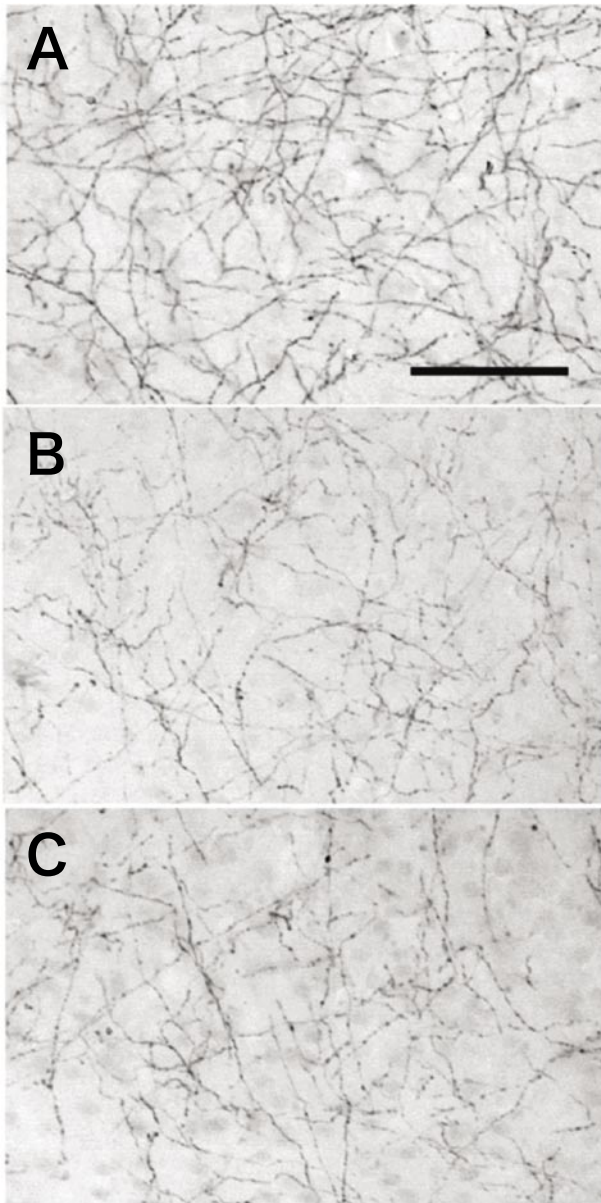


図3 前頭葉におけるNA軸索終末の加齢変化¹⁷⁾

NA終末は9月齢(A)と13月齢(B)の間で減少するが、それ以降、25月齢(C)まで維持されている(D)。前頭葉に投射するLCニューロンは13月齢以降も減少し続けることから(図5Aを参照)、NA終末の維持は、前頭葉への投射を維持しているLCニューロンの軸索終末での発芽によると考えられる。scale:100 μ m

に減少し、それ以降25月齢まで減少しないことが明らかになった(図3D)。この結果は、ラットの寿命(約30月齢)を考えると、LC投射の加齢変化が、比較的早い時期におこることを示している。さらに我々は、そうした加齢変化に伴ってLCニューロンの軸索終末で起こる可塑性(発芽)を見い出した。それは、以下に述べる電気生理学的方法によって明らかになった。

4. 単一LCニューロンの軸索終末の解析

先に述べたように、LCニューロンは前頭葉や海馬に長い軸索を投射している(図4A)。LCニューロンの軸索終末が投射する部位を電気刺激すると、記録しているニューロンからは、一定の反応潜時を持つ逆向性活動電位⁴⁾が記録されることから、そのLCニューロンが投射する部位を同定できる¹⁾。さらにこの方法を利用して、LCニューロンの軸索終末の発芽を推定できる^{18) 19) 20)}(図4C,D)。LCニューロンを逆向性に電気刺激する場合、逆向性活動電位を誘発することのできる最も弱い電流値(閾値)を計測する。通常、LCニューロンの軸索終末を電気刺激した場合、その刺激の強さにかかわらず誘発される逆向性活動電位は一つであり、その潜時と閾値も一つである(図4C)。ところが、複数の潜時/閾値を示すLCニューロンがある頻度(7月齢で40%程度)で観察される。これらのニューロンでは、閾値で誘発された

4 通常、ニューロンの活動電位は細胞体で発生し、軸索終末へと向かう(順向性活動電位)。軸索終末に電気刺激を与えることによって人為的に活動電位を発生させることができ、それは通常とは逆に軸索終末から細胞体へと伝導する(逆向性活動電位)。ここではその性質を利用して、LCニューロンの軸索終末の解析を行った。

逆向性活動電位が、強い刺激を与えると、あたかも短い潜時に“ジャンプ”するように見える。典型的な例では、閾値で誘発された逆向性活動電位が (1.33mA, 49ms), より高い閾値で短い潜時 (1.96mA, 36ms) へ“ジャンプ”している (図4B)。この現象は次のように説明される。閾値より強い刺激が与えられた場合、その刺激はより広い範囲に及ぶ。もし強い刺激の範囲内に、発芽した軸索終末があれば、そこで逆向性活動電位が誘発される (図4D)。すなわち、逆向性活動電位が“ジャンプ”する現象は、軸索終末での発芽を反映していると解釈される。すなわち“ジャンプ”するLCニューロンの出現頻度を月齢をおって調べることで、LCニューロンが加齢に伴ってどの程度発芽しているのかを評価することができる。

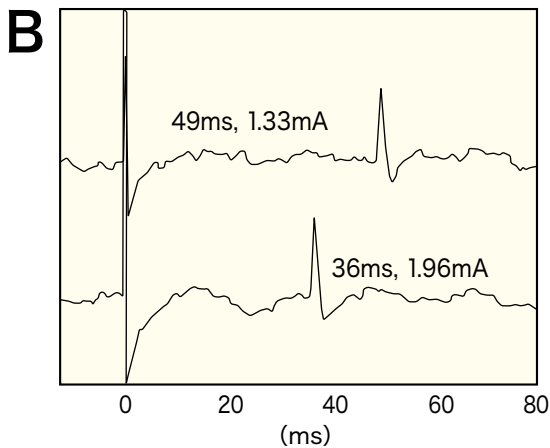
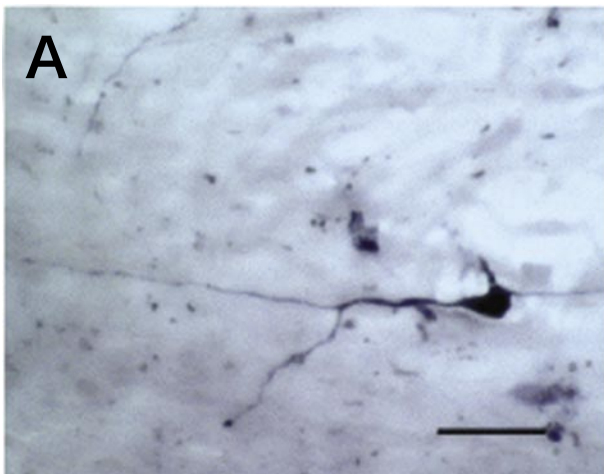


図4 A: neurobiotin で細胞内染色した LC ニューロン scale:50 μ m
B: 逆向性スパイクの“ジャンプ”説明は本文参照.

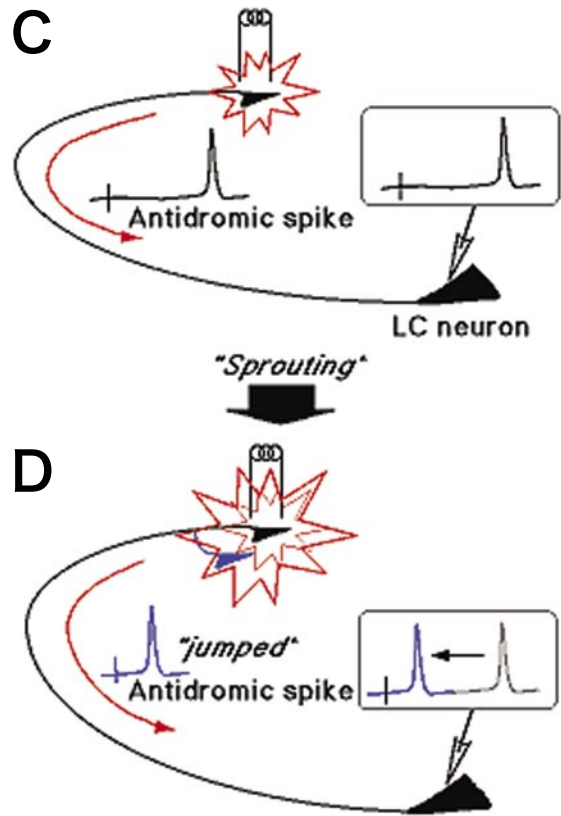


図4 C, D: LCニューロンの軸索終末の発芽と逆向性スパイクの“ジャンプ”説明は本文参照.

そうした方法で軸索投射を調べた結果、7月齢では記録したLCニューロンのうち、約60%が前頭葉に投射し、約40%が海馬に投射していた。対照とした7月齢以降、前頭葉への投射は加齢に伴って減少する傾向を示した (図5A)。それに対して、前頭葉におけるLCニューロンの軸索終末の発芽は、加齢に伴ってユニークな変化を

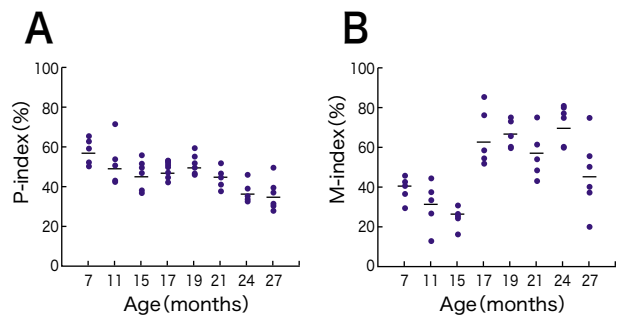


図5 前頭葉におけるLC投射の加齢変化¹⁹⁾

A: LCからの投射の程度をあらわす指標 (P-index; 逆向性スパイクを示したニューロン数÷記録したニューロン数×100)
B: LCからの軸索終末の発芽をあらわす指標 (M-index; “ジャンプ”したニューロン数÷逆向性スパイクを示したニューロン数×100)。各点は、一匹のラットから記録した60個のLCニューロンより求めた。バーは各月齢6匹のラットの平均値。

示した (図5B)。注目すべき点は、1) 中年齢期 (15～17月齢) に発芽の急激な増加が見られること、2) 増加した発芽が老齢期 (24月齢以上) まで維持されていることである。すなわち、LCニューロンの軸索終末では、発芽を起こすメカニズムが中年齢期に作動し、その結果、増加した発芽が老齢期まで維持されていることが明らかになった。中年齢期に発芽を起こし、それを維持する分子メカニズムを明らかにすることが、脳に備わる可塑性を賦活する有効な手段となると思われる。

5. 発芽した軸索終末の機能

正常加齢に伴う LCニューロン数の減少が認められないとすれば^{14) 15)}、加齢に伴う LCニューロンの変化は、投射部位における軸索終末の発芽が中心である可能性が高い。発芽した軸索終末が正常に機能しているとすれば、LC投射系としての機能も維持されているに違いない。事実、発芽した軸索終末で誘発される逆向性活動電位の閾値を調べたところ、軸索終末の興奮性は正常に保たれていた¹⁹⁾。また LCニューロンの自発放電頻度、軸索伝導時間、軸索終末の興奮性を調べたところ、加齢による顕著な変化はみられなかった²¹⁾。さらに前頭葉における NA含有量にも加齢による減少は認められなかった²²⁾。また、LCニューロンの軸索終末における NA放出調節機能には変化が認められなかったが、NA取り込み機能は加齢に伴い低下するようである²³⁾。これらの結果をまとめると、加齢に伴って発芽した LCニューロンの軸索終末は、老化脳においてもほぼ正常な機能を維持していると結論される。

6. 軸索の発芽に対する脳由来神経栄養因子⁵⁾の効果

脳由来神経栄養因子 (Brain-derived neurotrophic factor, 以下BDNF) は、大脳皮質や海馬に高濃度で存在することが知られており、そこを投射部位とする LCニューロンによって順行性および逆行性に軸索輸送されていることが示唆されている^{24) 25) 26)}。これらの事実、BDNF が LCニューロンの発芽に重要な役割を果たしている可能性を示唆している。LCニューロンの発芽の増加が加齢と投射部位 (前頭葉・海馬歯状回) に依存して起こるのは²⁰⁾、投射部位によって BDNF の発現時期が異なることによるのかもしれない。BDNF とその受容体

である TrkB の mRNA が成熟脳の LC に発現していることが報告されている²⁷⁾。我々は、加齢にともなう LCニューロン軸索終末の可塑性にも BDNF が関与するかどうかを検討するために、2週間にわたって前頭葉に直接 BDNF を投与して、LCニューロンの軸索終末に対する効果を形態学的に調べた。その結果、前頭葉の NA 軸索終末に対する BDNF の発芽効果は25月齢の老化脳でのみ有意に認められた (図6)。また BDNF に対する中和抗体を用いた実験から、BDNF は増加した発芽の維持にも関与するという結果が得られた²⁸⁾。BDNF が“加齢に伴う可塑性”の維持と賦活に関与している可能性が示されたことから、今後はその分子メカニズムについて明らかにする必要がある。こうした BDNF の発芽作用は、中枢セロトニン投射についても報告されている²⁹⁾。BDNF がノルアドレナリンニューロンとよく似た性質をもつセロトニンニューロン⁶⁾に対しても発芽作用を示すことは、両投射系の関連を考える上で興味深い。

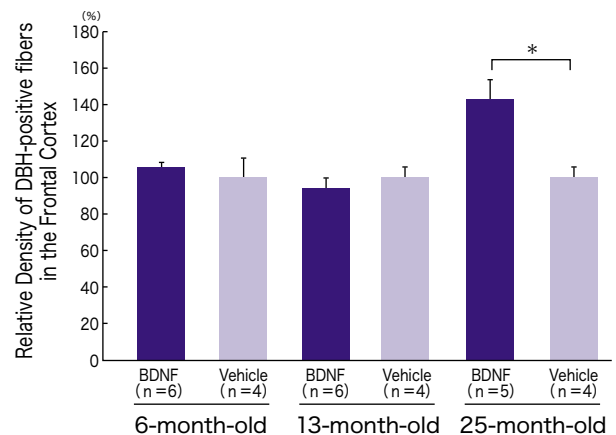


図6 前頭葉における NA 軸索終末に対する BDNF の発芽効果²⁸⁾

前頭葉の NA 軸索終末に対する BDNF の発芽効果は老化脳 (25月齢) でのみ有意に認められ、6月齢および13月齢では発芽効果が見られなかった。

7. おわりに

冒頭に「老化に伴う脳の機能低下に対して、それを防御し、さらに低下した機能を取り戻すことができれば、“脳の長寿”は可能となる」と述べた。中枢ノルアドレナリン投射系をモデルとして、その加齢に伴う可塑性を明らかにし、老化した脳に残された可塑性を賦活するという筆者らの試みは、基礎的なレベルでは一定の成果が

⁵ニューロンの成長、軸索の伸長、シナプス形成などに必要な神経栄養因子の一つ。グリア細胞やニューロンで作られ、軸索輸送されると考えられている。
⁶セロトニンニューロンとノルアドレナリンニューロンは、その伝達物質が共通の化学構造 (モノアミン) をもつことから、モノアミンニューロンと総称される。両者には脳内の投射様式や電気生理学特性に関しても多くの類似点が見られる。

得られたと言えよう。しかし、これらの結果が人の脳の老化に伴って起こる脳の機能障害とそこからの回復 — 例えば、脳血管障害による言語機能障害とそれに続くリハビリテーション— に直ちに役立つという訳ではない。われわれの研究成果が、脳科学に立脚したリハビリテーション技術の開発に少しでも役立てば幸いである。

文 献

- 1) Nakamura, S. (1977) Some electrophysiological properties of neurons of rat locus coeruleus. *J Physiol* 267 : 641-658.
- 2) Foote, S.L., Aston-Jones, G. and Bloom, F.E. (1980) Impulse activity of locus coeruleus neurons in awake rats and monkey is a function of sensory stimulation and arousal. *Proc Natl Acad Sci USA*, 77 : 3033-3037.
- 3) Aston-Jones, G. and Bloom, F.E. (1981) Norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats exhibit pronounced responses to non-noxious environmental stimuli. *J Neurosci*, 1 : 887-900.
- 4) Robbins, T.W. and Everitt, B.J. (1982) Functional studies of the central catecholamines. *Int Rev Neurobiol*, 23 : 303-365.
- 5) Kasamatsu, T. and Pettigrew, J.D. (1976) Depletion of brain catecholamines: failure of ocular dominance shift after monocular occlusion in kittens. *Science*, 194 : 206-209.
- 6) Pettigrew, J.D. and Kasamatsu, T. (1978) Local perfusion of noradrenaline maintains visual cortical plasticity. *Nature*, 271 : 761-763.
- 7) Kasamatsu, T. and Shirokawa, T. (1985) Involvement of β -adrenoreceptors in the shift of ocular dominance after monocular deprivation. *Exp Brain Res*, 59 : 507-514.
- 8) Shirokawa, T. and Kasamatsu, T. (1986) Concentration-dependent suppression by β -adrenergic antagonists of the shift in ocular dominance following monocular deprivation in kitten visual cortex. *Neuroscience*, 18 : 1035-1046.
- 9) Imamura, K., Kasamatsu, T., Shirokawa, T. and Ohashi, T. (1999) Restoration of ocular dominance plasticity mediated by adenosine 3',5'-monophosphate in adult visual cortex. *Proc R Soc Lond B Biol sci*, 266 : 1507-1516.
- 10) Nakamura, S., Shirokawa, T. and Sakaguchi, T. (1984a) Increased projection from the locus coeruleus to the lateral geniculate nucleus in young adult rats following unilateral enucleation. *Neurosci Lett*, 49 : 77-80.
- 11) Nakamura, S., Shirokawa, T. and Sakaguchi, T. (1984b) Increased adrenergic projection from the locus coeruleus to the lateral geniculate nucleus of rats following one-eye-removal at birth. *Dev Brain Res*, 15 : 283-285.
- 12) Sakaguchi, T. and Nakamura, S. (1990) Duration-dependent effects of repeated restraint stress on cortical projections of locus coeruleus neurons. *Neurosci Lett*, 118 : 193-196.
- 13) Nakamura, S. (1991) Axonal sprouting of noradrenergic locus coeruleus neurons following repeated stress and antidepressant treatment. *Prog Brain Res*, 88 : 587-598.
- 14) Goldman, G. and Coleman, P.D. (1981) Neuron numbers in locus coeruleus do not change with age in Fisher 344 rat. *Neurobiol Aging*, 2 : 33-36.
- 15) Ohm, T.G., Busch, C. and Bohl, J. (1997) Unbiased estimation of neuronal numbers in the human nucleus coeruleus during aging. *Neurobiol Aging*, 18 : 393-399.
- 16) Chan-Palay, V. and Asan, E. (1989) Alternation in catecholamine neurons of the locus coeruleus in senile dementia of Alzheimer's type, and in Parkinson's disease with and without dementia. *J Comp Neurol*, 287 : 373-392.
- 17) Ishida, Y., Shirokawa, T., Miyaishi, O., Komatsu, Y. and Isobe, K. (2001a) Age-dependent changes in noradrenergic innervations of the frontal cortex in F344 rats. *Neurobiol Aging*, 22 : 283-286.
- 18) Nakamura, S., Sakaguchi, T. and Aoki, F. (1989) Electrophysiological evidence for terminal sprouting of locus coeruleus neurons following repeated mild stress. *Neurosci Lett*, 100 : 147-152.
- 19) Ishida, Y., Shirokawa, T., Miyaishi, O., Komatsu, Y. and Isobe, K. (2000) Age-dependent changes in projections from locus coeruleus to hippocampus dentate gyrus and frontal cortex. *Eur J Neurosci*, 12 : 1263-1270.
- 20) Shirokawa, T., Ishida, Y. and Isobe, K. (2000a) Age-dependent changes in axonal branching of single locus coeruleus neurons projecting to two different terminal

- fields. *J Neurophysiol*, 84 : 1120-1122.
- 21) Shirokawa, T., Ishida, Y. and Isobe, K. (2000b) Changes in electrophysiological properties of axon terminals of locus coeruleus neurons with age in F344 rat. *Neurosci Lett*, 289 : 69-71.
- 22) Ishida, Y., Shirokawa, T., Komatsu, Y. and Isobe, K. (2001b) Changes in cortical noradrenergic axon terminals of locus coeruleus neurons in aged F344 rats. *Neurosci Lett*, 307 : 197-199.
- 23) Shirokawa, T., Ishida, Y. and Isobe, K. (2003) Age-related changes in the release and uptake activity of presynaptic axon terminals of rat locus coeruleus neurons. *Neurosci Lett*, 344 : 212-214.
- 24) DiStefano, P.S., Friedman, B., Radziejewski, C., Alexander, C., Boland, P., Schick, C.M., Lindsay, R.M. and Wiegand, S.J. (1992) The neurotrophins BDNF, NT-3, and NGF display distinct patterns of retrograde axonal transport in peripheral and central neurons. *Neuron*, 8 : 983-993.
- 25) Conner, J.M., Lauterborn, J.C., Yan, Q., Gall, C.M. and Varon, S. (1997) Distribution of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein and mRNA in the normal adult rat CNS : evidence for anterograde axonal transport. *J Neurosci*, 17 : 2295-2313.
- 26) Sobriela, T., Pagcatipunan, M., Kroin, J.S. and Mufson, E.J. (1996) Retrograde transport of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) following infusion in neo-and limbic cortex in rat : relationship to BDNF mRNA expressing neurons. *J Comp Neurol*, 375 : 417-444.
- 27) Numan, S., Lane-Ladd, S.B., Zhang, L., Lundgren, K.H., Russell, D.S., Seroogy, K.B. and Nestler, E.J. (1998) Differential regulation of neurotrophin and trk receptor mRNAs in catecholaminergic nuclei during chronic opiate treatment and withdrawal. *J Neurosci*, 18 : 10700-10708.
- 28) Matsunaga, Y., Shirokawa, T. and Isobe, K. (2004) BDNF is necessary for maintenance of noradrenergic innervations in the aged rat brain. *Neurobiol Aging*, 25 : 341-348.
- 29) Mamounas, L.A., Altar, C.A., Blue, M.E., Kaplan, D.R., Tessarollo, L. and Lyons, W.E. (2000) BDNF promotes the regenerative sprouting, but not survival, of injured serotonergic axons in the adult rat brain. *J Neurosci*, 20 : 771-782.