総説

アルツハイマー病治療におけるアセチルコリン エステラーゼ阻害薬の脳循環改善作用とその機序について —NO 神経の貢献

戸田 昇

要約：アルツハイマー病 (AD) の治療にドネペジルを始めとするアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害薬が広く使用されている。これらの薬物は、AD 患者の脳組織で減弱しているコリン作動性神経の働きを補完する目的で合成されその有効性が証明された。最近、AD の発症と進展の原因のひとつとして脳循環障害が取り上げられており、そのメカニズムとして一酸化窒素 (NO) を介する血管拡張・血流増加の減弱が注目されている。AChE 阻害薬は AD 患者の脳血流を改善し AD の症状を軽減する。この循環作用の少なくとも一部に AChE 阻害作用が関与すると考えられるが、その作用機序について納得のいく説明がなされていない。脳血管は外来性 ACh によって内皮依存性の拡張をひき起こすが、血管を直接支配するコリン作動性神経は脳動脈拡張には関与しない。従って、自律神経由来の ACh は内皮からの NO を介して脳循環を改善することはなく、AChE 阻害薬がこのレベルで効果を発揮するとは考えられない。我々は副交感神経系由来で脳血管を拡張する NO 作動性神経の役割について、1990 年に世界に先駆けて報告した。本総説では、翼口蓋神経節のレベルで節前線維から遊離される ACh の分解を阻害し、節後線維である NO 作動性神経の働きを増大することで、AChE 阻害薬が脳動脈拡張、血流増加をひき起こすとの考えについて、これまでの研究成果をもとに解説したい。

1. はじめに

高齢化が進むなかアルツハイマー病 (AD) の予防と治療への関心が世界各国で益々高まりつつある。とくに近年、アメリカでは AD 研究、治療への国からの経済的援助が著しく増加し、その予防と進展防止、より優れた治療の戦術に向けての医学とその関連領域の更

なる貢献が強く期待されている。以前から AD 発症の原因のひとつとして、血管内皮障害に伴う脳血流の減少が酸素やグルコースの供給不足、脳細胞の代謝障害、活性酸素の産生増加、ベータ・アミロイド ($A\beta$) の産生亢進をもたらし、神経変性、神経細胞死、認知・記憶障害をもたらすとの考えが報告されてきたが (1-3)、最近この考えが一層注目される傾向にある。

私どもの研究室では長年、脳血管の収縮・弛緩機構、一酸化窒素 (NO) の脳循環調節への寄与について基礎研究を行ってきた。脳動脈の反応性は末梢の諸動脈のそれに比べて著しく異なる。たとえば、脳動脈では交感神経を介する収縮が極めて弱く、血管緊張性の調節には NO 作動性拡張性神経の関与が著しい (3, 4)、脳血流の調節には、いわゆる抵抗血管だけでなく大・中脳動脈も同等に貢献する (5)、ノルアドレナリン、セロトニンを始めとする種々の生理活性物質、薬物に対する反応性は末梢動脈とは著しく異なる (6) などがあげられる。

アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害薬は、AD 治療に有効な数少ない治療薬として世界レベルで広く使用されている。AD 患者の脳で減少している ACh を増加しその作用をたかめることを目指して開発されたが (7)、この治療薬が有する作用機序はこれだけであろうか。AChE 阻害薬を使用した AD 患者において脳循環の改善作用が観察されている。この作用機序に ACh を介する NO の関与が考えられてきたが、内皮由来の NO の関与は除外される。このことは、副交感神経刺激による血管拡張作用がアトロピン処置の影響を受けないことから結論される。従ってこれまで、AChE 阻害による ACh 分解阻止が脳血流増加につながる妥当な説明は提示されなかった。このたびの総説はこの点に的を絞り、我々のオリジナルな説を紹介しつ

つ AChE 阻害薬の NO を介する脳血流増加作用機序について述べたい。

最近, Journal of Alzheimer's Disease 誌の特別企画 "Physiopathology of Vascular Risk Factors in Alzheimer's Disease" から依頼を受けて投稿した我々の「脳循環・NO・AD」に関する総説が出版された(8)。脳血管内皮細胞と血管拡張性神経を介する循環調節の AD における障害と, これらに関連した治療についての最近の知見に, 我々の考えを加えてまとめたものである。このたび邦文の総説として AChE 阻害薬の作用機序に的を絞ってまとめ直したのは, AD の病態をこれまでとは違った視点から見直し, AD の予防・治療のための新たな戦術を構築するのにお役に立てばと願っていることである。

2. 内皮由来の NO と NO 作動性神経由来の NO による脳循環調節

NO は L-アルギニンが L-シトルリンに変換する際に産生される。この反応を触媒する NO 合成酵素 (NOS) は最初 Brecht ら(9)によってラットの小脳から単離され構造決定された(神経型 NOS: nNOS)。続いて, マクロファージ(誘導型ないし免疫型 NOS: iNOS)と内皮細胞(内皮型 NOS: eNOS)における同酵素も単離, 同定された。eNOS と nNOS はその活性化に Ca^{2+} とカルモデュリンを必要とする構成型酵素である。Palmer たち(10)は NOS の阻害物質 (N^G -モノメチール-L-アルギニンなど)を発見して NO の生理的役割を明らかにするのに貢献した。eNOS は他の NOS とは異なり, 細胞膜の小陥凹であるカベオラの構成成分カベオリン-1 に結合して不活性の状態にあるが, 細胞内 Ca^{2+} の増加によってその結合が切れて活性化され NO 合成に寄与する。細胞内 Ca^{2+} の増加は主として細胞外からの流入による。他方, 細胞内 Ca^{2+} が増加しない機序でも eNOS は活性化されることがわかってきた。インスリンやずり応力 (shear stress) の刺激は, 内皮細胞内フォスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (PI₃K) / プロテインキナーゼ B 系を介して eNOS の Ser¹¹⁷⁷ 残基をリン酸化し, その活性を高めて NO 合成を促進する(11)。内皮由来 NO の働きは, eNOS 発現の低下に加えて, NOS 活性化の補酵素の一つであるテトラヒドロbiopterin の減少, 内因性 NOS 阻害物質 asymmetric dimethylarginine の増加などによって障害される。

内皮由来の NO はヒトを含む哺乳類の, 脳を始めとする全ての臓器・組織の動・静脈を拡張し, 血流を増加し, 血管抵抗を減少して血圧を下げるとともに, 血

小板の凝集・接着を阻害して血栓を防ぐ, 血管平滑筋の増殖を抑制するなど動脈硬化の発生と進展を予防する効果をあらわす。酸化ストレスは老化・生活習慣病の引きがねや増悪因子になると目されているが, 内皮由来の NO はこれらに拮抗する。高血圧, 糖尿病, 動脈硬化などでは内皮機能の障害が悪循環のきっかけとなると考えられており, 最近では AD の発症・進展への内皮障害の関与が指摘されていることから, これら疾患の予防, 進展防止, 治療に NO 合成, 機能改善の効果が期待されている。

内皮細胞由来の NO とは別に, 血管では自律神経から神経伝達物質として遊離される NO が血管拡張の役割を果たしている(3, 4)。これまでの神経伝達物質が分子量の大きい有機物質で, 神経顆粒に貯蔵され刺激によって遊離されるのとは異なり, 低分子で無機物質の NO ガスは nNOS の活性化により合成されて直ちに神経から遊離される。この発見は神経伝達物質とその伝達機構に新たな概念を導入した(3)。NO 作動性神経は副交感神経節後線維に属し, アドレナリン作動性神経の血管収縮に拮抗的に働く(3)。この神経の存在と機能的役割(血管拡張)は最初脳動脈で発見され(12), その後, 眼の動脈, 舌を始めとする口腔内動脈, 冠動脈, 子宮動脈など多くの血管床で知られるようになった(13)。特に脳循環系では交感神経を介する循環調節が極めて弱いので, 積極的に脳血管を拡張する NO 作動性神経の脳血流調節への貢献が注目されている。

3. AD 患者における AChE 阻害薬の脳循環作用

AD 患者の治療にはドネペジルを始めリバスチグミン, ガランタミンなどの AChE 阻害薬が, 日本を含む世界の国々で使用され効果を挙げている。中でもドネペジルは古くから広く用いられており, これまでの研究成果もこの治療薬を使用したものが多い。AChE 阻害薬の AD 治療への応用は, 歴史的には, AD 患者で低下している脳のコリン作動性神経機能を高める目的で始められた。この面からの治療効果や作用機序の解析は他誌に譲るとして, ここでは, AChE 阻害薬が脳循環を改善することで AD 治療に貢献する点に絞って解説したい。

脳の循環障害は, 以前より AD の発症・進展の重要な危険因子の 1 つと考えられてきた(1, 2, 14)。AD 患者や高齢者では, 大細胞性の基底核 (magnocellular nucleus basalis) におけるコリン作動性神経の欠落が, 新皮質微小血管への同神経の緊張性支配を減少して内皮機能を障害するという(15)。内皮機能障害は, 内皮

からの血流依存性 (flow-dependent) の NO 遊離を阻害する。AD 患者にみられる脳循環の低下は AChE 阻害薬処置によって回復する(16)。Claassen ら(17) は AChE 阻害薬による認知障害改善の原因の一部に脳循環の改善が関与するとの説を挙げている。AD 患者への AChE 阻害薬治療が、大脳皮質を始めとする広い領域で血流を増加し認知機能の障害を改善するとの報告は最近数多く見られるようになった(18-25)。AChE 阻害薬は中枢のコリン作動性神経の働きを高めて精神・神経症状を改善する以外に、中枢神経(血管支配副交感神経からでなく)から遊離される ACh が周辺の微小血管内皮からの NO 遊離を増加することで脳循環を改善する可能性も考えられるが確たる証拠は得られていない。これまでの生理実験で、脳血管支配コリン作動性神経からの ACh 遊離が脳血流増加を示す証拠は示されていないので、自律神経由来の ACh が内皮細胞の eNOS を活性化して NO 遊離をひき起こすとは考えられない。

内皮障害は AD 患者の初期症状という(26)。脳循環障害は A β 産生の原因の 1 つと考えられる(8)。産生された A β は内皮障害をひき起こす(27)。NO 合成酵

素阻害により NO の産生が減少すると A β による記憶・認知障害は増幅される(28)。AChE 阻害薬による循環改善は、このような A β 産生-循環障害の悪循環を改善する点からも治療効果が期待される。脳血管内皮機能障害と AD の関係が注目されるなか、治療薬以外にも運動が eNOS 系の賦活化、抗酸化酵素発現の亢進、血管新生などをもたらす結果、血管の予備力を構築して AD 発症の減少と AD 症状の改善をひき起こすとの考えがある(29)。

4. AChE 阻害薬による脳血流増加作用の機序—NO 作動性神経の関与

脳血管を拡張し血流を増加する NO は、内皮の eNOS を介するだけでなく神経由来の nNOS によっても産生される。脳循環系では内皮からの NO は主としてずり応力 (shear stress) に、神経からの NO は副交感神経節後線維である NO 作動性神経に由来する(3, 4)。末梢循環とは異なり、脳では、いわゆる抵抗血管だけでなく大・中の脳動脈径の変化が脳血管抵抗や脳血流の調節に重要なかわりをもつことが知られている(5)。脳血管径はアドレナリン作動性神経(収縮性)

図1 神経性および血管内皮性 NO を介する脳動脈平滑筋弛緩の機序

上唾液核からの興奮は大錐体神経終末から ACh の遊離をひきおこし、翼口蓋神経節のニコチン受容体 (N) を刺激する。その結果 NO 作動性神経が活性化され、終末から NO の遊離を促して動脈平滑筋の弛緩、動脈拡張をもたらす。AChE 阻害薬は上段破線で示すサークルの中で遊離された ACh の分解を阻止し、増加した ACh が強い刺激を NO 作動性神経にもたらし、脳動脈の拡張を促す。④, ACh 受容体; X, ACh 受容体以外の受容体; nNOS, 神経性 NO 合成酵素; eNOS, 内皮性 NO 合成酵素; PI₃K, フォスファチジル・イノシトール 3-キナーゼ; M, ムスカルリン受容体; A, L-アルギニン; C, L-シトルリン; sGC, 可溶性グアニルシクラーゼ; cGMP, サイクリック・グアノシン・モノフォスフェイト。

と NO 作動性神経（拡張性）の拮抗的二重支配を受けているが、前者の働きは極めて弱い。主として NO を神経伝達物質として遊離する神経（nitroergic nerve）の緊張の度合いによって脳の血流と血管抵抗はコントロールされる。ちなみに、末梢臓器・組織の血管床では交感神経の支配が明らかに優位であるが、副交感神経性 NO 作動性神経の拮抗的支配も有意に機能している。末梢でもコリン作動性神経は血管平滑筋緊張や血流調節に関与しない。

脳幹の上唾液核より末梢性に送られたインパルスは大錐体神経を経て翼口蓋神経節に達し、ニューロンを変えて、脳動脈壁の外膜に分布する NO 作動性神経（副交感神経節後線維）を刺激する（3, 30）（図 1）。他方、涙腺、鼻腺などには、同神経節からコリン作動性の節後神経を経てインパルスが伝達される。これらのことは、麻酔下の日本ザルやイヌを用いた実験で、翼口蓋神経節や大錐体神経を刺激した時に見られる脳軟膜動脈の拡張は NOS 阻害薬で消失するがアトロピンの影響を受けない、涙や鼻汁の分泌増加はアトロピンで消失するが NOS 阻害薬で変化しないことから結論される（31, 32）。大錐体神経（副交感神経節前線維）刺激による脳動脈拡張反応は節遮断薬ヘキサメソニウム処置によって消失するがアトロピンでは影響を受けないことから、節前線維から遊離された ACh は翼口蓋神経節のニコチン受容体を刺激し（図 1）、その結果 NO 神経に興奮をもたらすと結論できる。図 2 上段の写真は、麻酔日本ザルにニトロアルギニン投与前後の血管造影の結果である。図 2 下段は同じく日本ザルに NO 合成酵素阻害薬を処置したときの、前、中大脳動脈径減少の経過を示す。L-アルギニン投与で動脈径は回復する。神経節の破壊（Denerv.）は同側の脳動脈を有意に収縮することから、中枢からの緊張性インパルスが同神経節、NO 神経を介して末梢に送られ、動脈拡張に貢献していると結論される。以上の実験データは、AChE 阻害薬が節前線維からの ACh の分解を抑制してその神経節刺激作用を増強し、NO 神経からの NO の遊離を増加して脳血管拡張を亢進する（図 1）との考えを強く支持している。生体位のヒトでの NO 神経の機能的役割に関する証拠は倫理的な問題もあって未だ得られていないが、摘出ヒト脳動脈を用いた生理実験（33）や NO 合成酵素抗体による組織化学的検討により、ヒトでもサルを始めとする哺乳類におけると同様の NO 神経の分布と機能的役割が強く示唆されている。Yoshida たち（23）はドネペジルを正常眼圧緑内障患者に 12 ヶ月間投与して、視神経乳頭と脳の血流が増加するのを報告している。脳と同様に、眼の動脈を支配

図 2 麻酔日本ザルの脳動脈径に対する NOS 阻害ならびに神経節切除の影響

上図：ニトロアルギニン（L-NOARG）静脈内投与前後の日本ザル前大脳動脈（ACA）、中大脳動脈（MCA）血管造影像を示す。投与後、前および中大脳動脈とその周辺の小動脈に明らかな収縮が認められる。
下図：前および中大脳動脈に順次ニトロアルギニンとアルギニン（L-Arg.）投与および翼口蓋神経節の除神経（Denerv.）を行ったときの動脈径変化の定量値と時間経過を示す。処置前の値を 100%とした。どちらも、ニトロアルギニンで収縮、アルギニンで回復し、除神経で再び収縮している。a, b, control (C) に比べて有意, c, L-Arg に比べて有意。（Toda N, et al. Neuroscience. 2000;96:393-398, Fig. 4 より転載）

する NO 神経も血管拡張に貢献する（34）ので、AChE 阻害が脳における同様の機序で眼の血流を増加するのかもしれない。交感神経節でも AChE 阻害薬による ACh 作用の増強が考えられるが、先に述べたように、交感神経系の脳血管調節における貢献は極めて低い。

AChE 阻害薬の NO 作動性神経以外の作用部位（図 1）としては、①非神経組織（内皮細胞、平滑筋、グリア、免疫細胞など）からの ACh 遊離（35, 36）、②脳内の、上唾液核を刺激するコリン作動性神経の活性化、ないしコリン作動性神経を経て上唾液核を刺激する非コリン性神経を活性化する機構、③脳内で神経より遊離された ACh が拡散により周辺の細血管に働く、などの可能性が考えられるが実験的証拠は得られていない。アトロピン投与が脳の血流減少、血管収縮を起こさな

いことから、ムスカリン受容体刺激が静止時の脳循環調節に関与するとは考え難い。

5. おわりに

脳は酸素やグルコース不足に極めて敏感な臓器であるため、脳血流減少は脳細胞の機能低下や壊死をもたらす。脳循環障害や自己制御 (autoregulation) の失調がADを始めとする中枢神経疾患の病態と治療に重要なかわりをもつ理由はここにある。

AChE 阻害薬によるAD治療に、NOの合成やNO作用を介する脳血流の改善が貢献することを示すデータを紹介し、その作用機序と考えられる機構について説明した。血流増加に関与するNOは、末梢では内皮細胞と副交感神経に由来する。内皮機能障害のメカニズムとしては、eNOSの合成/活性を抑制するだけでなく、活性酸素の産生増加によりNOの分解を促進し、内因性NOS阻害物質ADMAの血中濃度を高めてNOSのNO産生能を低下するなどが挙げられる。内皮からのNOは主として血流変化に伴う内皮へのずり応力や血管内から壁に加わる圧力などの機械的刺激によるが、NO遊離作用を有する神経伝達物質やホルモン、オータコイドもこの働きに関与する。しかし、血管系では脳、末梢を問わずコリン作動性神経からのAChは血管径の調節に有意に関与しない。従って、AChE阻害薬の脳血流改善作用機序として脳血管支配副交感神経節後線維であるNO作動性神経の関与に注目したい。この神経のin vivoでの血管拡張への役割は、サルを始め多くの哺乳動物の脳動脈で証明され、その血管での局在はヒトを含む多くの動物で証明されてきた。ヒトでは、脳ではないが冠動脈において、NO神経からのNOが血管拡張、血流増加に関与することを示すin vivoのデータが報告されている(37)。AChE阻害によってNO神経からのNOの放出が増加し脳血管を拡張するその作用点として、翼口蓋神経節を考えている。節前線維から遊離されるAChの量が分解酵素阻害の結果シナプスで増加し、高められたAChの神経節ニコチン受容体刺激作用が末梢に伝えられ、NOの遊離増加をもたらす。

脳動脈反応性の数々の特性を明らかにする中で、脳血管拡張にあずかるNO作動性神経を世界に先駆けて発見し発表したのは1990年のことであった。爾来、この分野での基礎研究に長年没頭してきた。最近になってこの神経系が、現在注目されているAD治療薬ドネペジルなどの作用機序の解明に貢献する可能性が出てきた。今回の説が、これまでとは違った立場からAD患者の治療を考える上でお役に立てば幸いである。

献辞：薬理学を始めた1960年頃には雲の上の大先生と思っていたRobert F. Furchgott教授と血管研究を通じて親しく付き合うようになったのは1970年の半ばだったろうか。その研究への情熱、集中力、洞察力に加えて真摯で温かい人柄に、常に最大の敬意をもって接したお陰で、定年をはるかに越えた現在に至るもなおNO研究への情熱を維持し続けている。1994年Montrealで開催された国際薬理学会での「NOのシンポジウム」を終えて、彼と雑談しながら音楽会会場に向う途中、「NO神経を始めて見つけた時は、さぞexciteしただろうね」と言ってくれた。彼が内皮由来弛緩因子(EDRF)を発見した時のことを思っの発言かと、全身がしびれるほどに感動したのを昨日のこのように思い出す。生涯最高の師であり、私のNO研究の最高の理解者でもあった故Furchgott博士(1998年ノーベル医学生理学受賞)に、我々の基礎研究が重要なAD治療薬の作用機序解明に糸口を提供したことをまとめたこの総説を、最大の尊敬をこめて捧げたい。

文 献

- 1) de la Torre JC. Ann NY Acad Sci. 2002;977:196-215.
- 2) Toda N, et al. Can J Physiol Pharmacol. 2009;87:581-594.
- 3) Toda N, et al. Pharmacol Rev. 2003;55:271-324.
- 4) Toda N, et al. Pharmacol Rev. 2009;61:62-97.
- 5) Faraci FM, et al. Circ Res. 1990;66:8-17.
- 6) Toda N. Mechanisms of Vasodilatation. S Karger; 1978. p. 129-136.
- 7) 杉本八郎. 日薬理誌. 2008;131:338-340.
- 8) Toda N, et al. J Alzheimers Dis. 2012;32:569-578.
- 9) Bredt DS, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 1990;87:682-685.
- 10) Palmer RMJ, et al. Biochem Biophys Res Commun. 1988;153:1251-1256.
- 11) Dimmeler S, et al. Nature. 1999;399:601-605.
- 12) Toda N, et al. Biochem Biophys Res Commun. 1990;170:308-313.
- 13) Toda N. Nitric Oxide and the Peripheral Nervous System. Portland Press; 2000. p. 37-60.
- 14) 戸田 昇, 他. 日薬理誌. 2010;135:20-24.
- 15) Harkany T, et al. Ann NY Acad Sci. 2000;903:374-386.
- 16) Rosengarten B, et al. J Neurol. 2006;253:58-64.
- 17) Claassen JA, et al. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2006;61:267-271.
- 18) Higashiyama S, et al. Osaka City Med J. 2006;52:55-62.
- 19) Shimizu S, et al. J Neuroimaging. 2006;16:16-23.
- 20) Yoshida T, et al. Ann Nucl Med. 2007;21:257-265.
- 21) Tateno M, et al. Neuroradiology. 2008;50:723-727.
- 22) Ghorbani A, et al. Neuroscience (Riyadh). 2010;15:172-176.
- 23) Yoshida Y, et al. J Ocul Pharmacol Ther. 2010;26:187-192.
- 24) Cho H, et al. Arch Gerontol Geriatr. 2010;50:222-226.
- 25) Li W, et al. Neuroimage. 2012;60:1083-1091.
- 26) Borroni B, et al. Assoc Disord. 2002;16:150-155.
- 27) Marco S, et al. Neurosci Lett. 2006;401:216-224.
- 28) Malyshev IY, et al. Med Sci Monit. 2005;11:HY31-HY38.
- 29) Lange-Asschenfeldt C, et al. Exp Gerontol. 2008;43:499-504.
- 30) Nakai M, et al. Circ Res. 1993;72:470-475.
- 31) Toda N, et al. Neuroscience. 2000;96:393-398.
- 32) Toda N, et al. J Cereb Blood Flow Metab. 2000;20:700-708.
- 33) Toda N. Experientia. 1993;49:51-53.
- 34) Toda N, et al. Prog Retinal Eye Res. 2007;26:205-238.
- 35) Kawashima K, et al. Neurosci Lett. 1990;119:156-158.
- 36) Wessler I, et al. Br J Pharmacol. 2008;154:1558-1571.
- 37) Seddon M, et al. Circulation. 2009;119:2656-2662.