
 原 著

軸索伸長阻害因子受容体 Nogo-R ホモログ NgR3 の性状とリガンド探索：NgR1 との比較

佐藤 理行

新潟大学大学院医歯学総合研究科整形外科学分野

(主任：遠藤 直人教授)

A Nogo Receptor Homolog NgR3 Binds Oligodendrocyte - Myelin Glycoprotein (OMgp)

Michiyuki SATO

Division of Orthopedics

Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University

(Director: Prof. Naoto ENDO)

要 旨

目的：ヒトの脳・脊髄の神経細胞が損傷を受けると、神経軸索の再生が困難である。その主要な原因は、軸索再生阻害因子の働きが軸索先端に形成される成長円錐を抑制することにある。このうち、髄鞘由来の Nogo という阻害因子の受容体蛋白質 Nogo-R (NgR1) は、Nogo 以外にも多数の分子と結合して、軸索阻害を行うことが示されている。一方、NgR1 には2種類のホモログが脊椎動物全体に存在しており、NgR2、NgR3 と呼ばれている。このうち、NgR3 は量的には NgR1 に次いで多い事が知られている。NgR1 をノックアウトしたマウスでも軸索損傷の再生程度は小さいことから、これらの NgR1 ホモログが軸索損傷の反応時に何がしかの役割を果たしていることが推察される。しかし、NgR3 はこれまで全くりガンド候補分子が見出されておらず、意味付けは不明であった。今回、著者は NgR1 のホモログの1つである NgR3 に着目して、発現・局在・リガンド結合について、NgR1 と比較することで、NgR3 の意義について検討することにした。

方法：各臓器について RT-PCR を、脳内各部位についてウェスタンブロッティングを行い、NgR1 と NgR3 の発現と局在について検討した。また神経の先端である成長円錐に関する両者の局在性を培養神経細胞での免疫染色で確認した。さらに、これまで知られている NgR1 の結

Reprint requests to: Michiyuki SATO
Division of Orthopedics
Graduate School of Medical and Dental Sciences
Niigata University
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通 1-757
新潟大学医歯学系整形外科学教室

佐藤 理行

合分子を組換蛋白質として発現し、NgR3 と結合実験を行って、NgR1 との結合と比較した。

結果：NgR1 に比べると NgR3 の発現量は全体に少なかったが、発現部位には NgR1 と差異が見られた。また両者とも軸索成長円錐に局在し、NgR3 は軸索全体にも分布していた。結合実験では、NgR1 のリガンドのうち、myelin-associated glycoprotein (MAG) は全く NgR3 には結合せず、また Nogo は結合が見られたものの親和性は低かった。これらに比べて Oligodendrocyte-myelin glycoprotein (OMgp) は、ほぼ NgR1 と同様に結合し、内因性リガンドと考えられた。

結論：未だにリガンドが特定されていない NgR3 の結合分子を探索し、NgR1 と結合する分子の1つである、OMgp が結合することを証明した。

キーワード：軸索再生阻害因子, Nogo, Nogo 受容体, 成長円錐, Oligodendrocyte-Myelin Glycoprotein (OMgp)

Abstract

The axon of the neurons in the human adult central nervous system (CNS) is difficult to re-grow when it is injured. The most important factor for this phenomenon is currently due to the inhibitory proteins for axonal regeneration that prevents the growth cone to extend. Nogo-R (NgR1), a receptor for Nogo-A, acts as such a factor through the binding of Nogo-A and other inhibitory factors to the growth cone. NgR1 has two homologs, i.e., NgR2 and NgR3, and no ligands for NgR3 have not been found. In this study, we identified oligodendrocyte-myelin glycoprotein (OMgp), as a ligand of NgR3.

Key words: 軸索再生阻害因子, Nogo, Nogo 受容体, 成長円錐, Oligodendrocyte-Myelin Glycoprotein (OMgp)

緒 言

ヒトの成熟脳で神経細胞の再生は困難であり、また軸索の損傷が起こると突起の再生が困難である¹⁾。これに関しては、神経細胞自身にも内因性の突起伸長能の低下が見られるものの、神経細胞を取り巻く環境、とりわけグリア細胞の産生する分子が軸索再生に阻害的である、との考えが有力である²⁾⁻⁴⁾。軸索の再生を阻害する因子として、中枢神経系のミエリン由来の蛋白質が注目され⁴⁾、その中で Nogo-A という蛋白質が注目された⁵⁾⁶⁾。この分子は小胞体および形質膜に存在し、その分子は *in vitro* で成長円錐機能を抑制したことで見出された。この分子のノックアウトマウスは完全に突起を再生することは難しいが、ある程度の促進が見出されたとされる⁷⁾⁸⁾ (ただし、これに関しては異論もある⁹⁾)。

この分子の受容体は複数あると考えられるが、

その1つは Strittmatter らのグループによって見出された Nogo-R (NgR; NgR1) である¹⁰⁾。この分子 GPI-アンカー型の膜蛋白質で leucine-rich repeat (LRR) が 8 回繰り返し構造を持つが¹⁰⁾、その部位で Nogo-A 以外に 2 つの軸索再生に抑制性の分子と結合することが証明されている。1 つは古くから軸索再生を阻害する分子として知られている myelin-associated glycoprotein (MAG) である¹¹⁾¹²⁾。もう 1 つは oligodendrocyte-myelin glycoprotein (OMgp) という分子で、これも LRR と GPI-アンカーをもつ膜蛋白質であり、最近になって軸索再生の抑制が証明された¹³⁾。よって、NgR1 は、軸索再生を抑制する Nogo-A, MAG, OMgp の 3 種のリガンドを持つ。これらの 3 種の因子の情報伝達に NgR1 が関与することが証明されている。

NgR1 にはヒトを含む哺乳動物から魚類まで、他に 2 種のコホモログを持っていることがゲノム解

析から示されており, NgR2 (NgRH1), NgR3 (NgRH2) と命名されている^{14)–16)}. NgR2 については MAG がリガンドであることが示されたが¹⁷⁾, NgR3 についてはリガンドがわかっていない. しかし分布と NgR1 とのホモロジーの高さから考えて, この分子にも何がしかのリガンドが存在することが推定される.

今回, 著者は NgR3 の発現や局在, リガンドを NgR1 と比較して検討した. その結果, NgR3 は, NgR1 と同様, 神経系に広く分布し, 成長円錐にも局在すること, また OMgp が1つのリガンドであることを証明したので, その結果を報告する.

方 法

- 1) cDNA および抗体: ヒト NgR3 の cDNA (GenBank#AF532859) は, Origene より入手した. また MAG の cDNA は崎村建司博士 (新潟大学脳研究所), MAG の発現系は山下俊英博士 (千葉大学医学研究院) から供与いただいた. Nogo-A (KIAA0866) の cDNA はかずさ DNA 研究所から提供いただいた. 抗 NgR1 抗体, 抗 NgR3 抗体, 抗 OMgp 抗体は, それぞれ D. Lee (Biogen Inc., Cambridge, MA, USA), S. Frenzel (Novartis Inc., Switzerland), A. Habib (Harvard Med Sch, Boston, MA, USA)¹⁸⁾ の各博士から供与いただいた. 発現ベクターの構築とその名称は以下の通りである (LRR; leucine-rich repeat; LRRNT; N-terminus of LRR; LRRCT; C-terminus of LRR).
 - a. OMgp Δ ; アミノ酸配列 23 – 392 [LRR + S/TRR]
 - b. NgR Δ ; アミノ酸配列 27 – 315 [LRRNT + LRR + LRRCT]
 - c. NgRH2/NgR3 Δ ; AA 7 – 292 [LRRNT + LRR + LRRCT]
- 2) RT-PCR: PC12 細胞からは, confluent になった 5 cm dish 1 枚を 1ml triazol (invitrogen) ホモゲナイズして mRNA を抽出し, advantage RT-PCR (Clontech) で 1st strand を作製した. また Human Total RNA Master Panel II

(Clontech) より, 各臓器 1 μ g ずつ RNA を使用して, 同様の方法で RT-PCR を行った.

- 3) HNgR と HNgRH2/NgR3 の発現: Ready to Screen Western Tissue BLOTSTM (Gbioscience 社) を用いて, ウェスタンブロッティングで, アルカリフォスファターゼ法で検出した.
- 4) 成長円錐の調製法: 成長円錐画分の単離は生後 2 日目のラット前脳から Ficoll 法で分画した¹⁹⁾.
- 5) 神経細胞の培養: 胎生 18 日目のラット胎仔 大脳皮質より神経細胞を培養し, 培養 1 日目の細胞を免疫染色した. 2 次抗体として Alexa488 標識のものを用いて染色し, 蛍光を観察した.
- 6) FLAG 融合蛋白質の発現と精製: COS7 細胞に Lipofectamine および Plus reagent (Invitrogen 社) を用いて発現ベクター 4 mg を遺伝子導入した後, 1 \times 10⁷/10cm dish の密度で継代して 48 時間培養した. 細胞を Cel LyticM (Sigma) 1 ml にて溶解して, 15000 rpm, 30min の遠心で上清を回収して, anti-FLAG M2 Affinity Gel (Sigma) 50 μ l と 4 $^{\circ}$ C, 3 時間インキュベートし, FLAG 融合蛋白質を精製した.
- 7) GST 融合蛋白質の発現: pGEX 6P-1 (Amersham Bioscience) を用いて定法に従って発現し, 精製には Glutathione Sepharose 4B を使用した.
- 8) 結合実験: 結合実験は, Ohyama らの方法に従った²⁰⁾. すなわち, FLAG 融合蛋白質を吸着させたゲルに, GST 融合蛋白質 5 μ g または MAG 5 μ g を加え, 4 $^{\circ}$ C, 4 時間結合させ, 十分に洗浄したのち, SDS を含むバッファーで溶出して, 電気泳動を行った. 検出にはそれぞれのタグまたは目的蛋白質の抗体によるウェスタンブロッティングを用いた.

結 果

1. NgR3 および NgR1 の RT-PCR による発現分布 (図 1A)

NgR1 は, 大脳皮質 (成熟脳および胎児脳), 小脳など, 中枢神経系に強い発現が認められ, それ

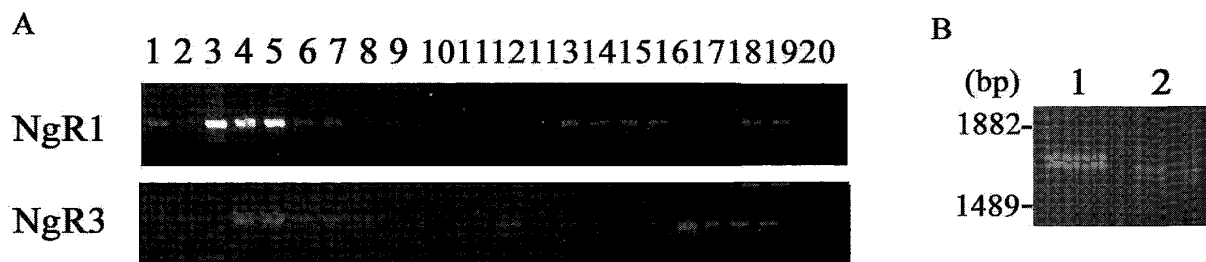


図 1

(A) RT-PCRによる NgR1 および NgR3 の発現分布

1：副腎 2：骨髄 3：小脳 4：全脳（成熟脳） 5：胎児脳 6：胎児肝 7：心臓
8：腎臓 9：肝臓 10：肺 11：胎盤 12：前立腺 13：唾液腺 14：骨格筋 15：
脾臓 16：精巣 17：胸腺 18：甲状腺 19：気管 20：子宮

(B) RT-PCRによる NgR1（レーン1）および NgR3（レーン2）の PC12 細胞における発現

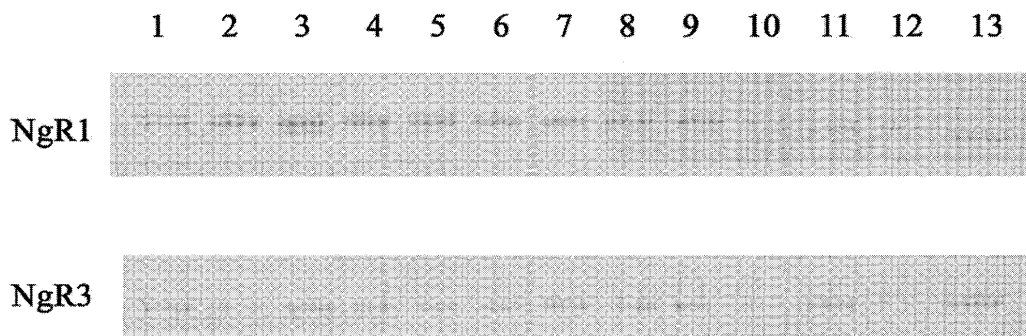


図 2 NgR1（上段）および NgR3（下段）におけるラット成熟脳での分布。（ウ
ェスタンブロットティングによる解析）

1：大脳皮質前半部 2：大脳皮質後半部 3：小脳 4：海馬 5：嗅球 6：
線条体 7：視床 8：中脳 9：梨状皮質 10：橋 11：延髄 12：脊髄
13：全脳

以外に内分泌（副腎，甲状腺，精巣）および外分泌腺（唾液腺）などに弱い発現が見られた。一方，NgR3 は相対的に大脳に発現が強く，小脳では発現が認められなかった。また精巣，胸腺，甲状腺などで弱い発現があり，パターンは NgR1 とは異なっていた。また，NgR1, NgR3 とも PC12 細胞にも発現が RT-PCR で認められたが，上記の副腎での発現に対応し，NgR1 がより強く発現していた（図 1 (B)）。

2. NgR1 および NgR3 の脳内局在（図 2）

ウェスタンブロットティングで脳内の局在をより詳細に解析したところ，NgR1 は量的により多く，より広範に分布しており，大脳内の各部位（皮質後半部，海馬，嗅球，線条体），小脳，視床，中脳などに強く分布していた。一方，NgR3 はほぼ少量ながら小脳以外にほぼ均等に分布が認められ，下部脳の延髄などにも分布していた。

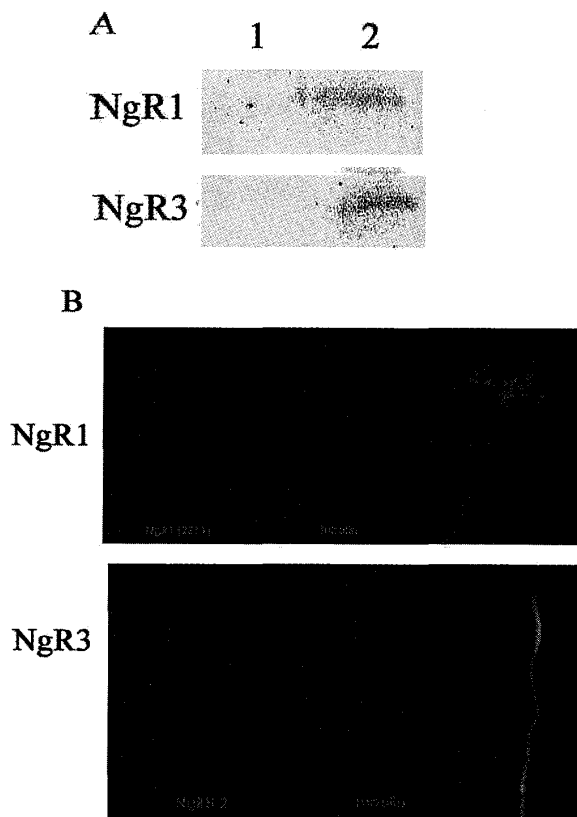


図3 成長円錐における NgR1 および NgR3 の分布

(A) 単離成長円錐における NgR1 および NgR3 の分布：レーン1；出生後2日目ラット大脳皮質のホモジェネートレーン2；同日大脳皮質由来の単離成長円錐画分。検出は抗体によるウェスタンブロッティングで行った。

(B) 培養神経細胞（ラット大脳皮質由来；胎生18日目）における NgR1 および NgR3 の分布：NgR1 および NgR3 の免疫染色（マゼンダ；上・下段とも左側の図）；b-III Tubulin の免疫染色（グリーン；神経軸索のマーカで、上・下段とも中央の図）；およびそれぞれの重ね合わせ（merge）。

3. 培養神経細胞での局在

NgR1, NgR3 の分布は発達期の脳皮質では、細胞画分で比較すると、共に単離成長円錐画分に濃縮されていた（図3（A））。NgR1 の培養ラット大脳皮質神経細胞での局在は、軸索に比べて成長

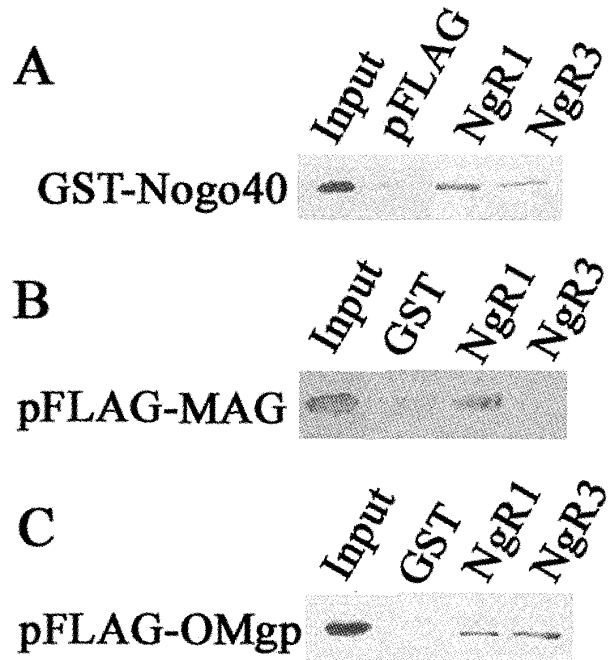


図4 NgR1, NgR3 と Nogo, MAG, OMgp との結合実験

(A) Nogo と NgR1, NgR3 の結合実験：GST-Nogo40 をグルタチオンセファロースに不動化して、FLAG タグ付で発現された NgR1, NgR3 との結合を抗 FLAG 抗体で認識した。

(B) MAG と NgR1, NgR3 の結合実験：pFLAG-MAG を抗 FLAG 抗体（M2）セファロースで不動化し、GST タグ付で発現された NgR1, NgR3 との結合を抗 GST 抗体で認識した。

(C) OMgp と NgR1, NgR3 の結合実験：上記（B）と同様の方法で行った。

円錐に特異的であった（図3（B）上段）。これは他の分子の染色と比較しても、特徴的に成長円錐を染色した。一方、これに比べると NgR3 の染色はやや弱かったが、成長円錐に局在が確認された（図3（B）下段）。この分子は、軸索にもかなり局在していた。

4. NgR1 リガンドの NgR3 結合性（図4）

後述の通り、従来の結合実験のアッセイにはか

なり問題があると思われたため^{14)–16)}、組換え蛋白質を発現して結合実験を行った。まず NgR1 への結合は可能であるが活性化はせず、アンタゴニストとして作用する Nogo-4021) との結合を解析した。従来の論文では Nogo-40 は NgR3 には全く結合しないとされていたが、本アッセイでは明らかに NgR3 との結合が認められた。但し、NgR1 の結合に比べて、NgR3 への結合量は 1/3 程度で、明らかに親和性が弱かった (図 4 (A))。よって、本アッセイは従来法に比べて、結合をより定量的に比較できる事がわかった。次いで、MAG について同様に解析したが、これについては既報の論文どおり、MAG は NgR1 には結合したが、NgR3 には結合しなかった。同様の方法で、OMgp の解析を行ったところ、OMgp は NgR1、NgR3 とほぼ同等に結合が確認された (図 4 (C))。

考 察

NgR3 はもうひとつの NgR1 ホモログ NgR2 に比べて量的にも多く^{14)–16)}、分布も広いと考えられ、NgR1 に次ぐ重要なメンバーと考えられる。しかし、これまで NgR1 の多様なリガンドはいずれも NgR3 に結合しないとされてきた^{14)–16)}。今回、申請者が NgR3 のリガンドとして OMgp を同定した点は大きな進歩である。

NgR3 は NgR1 と構造を比較すると、分子の構成はほぼ同一であり^{14)–16)}、8 個の LRR を持っているため、NgR1 リガンドが結合することは予想された結果である。従来、NgR3 がどの NgR1 リガンドにも結合しないとされていたのは、アッセイ法に問題があったと考えられる。NgR ファミリー分子は、いずれも LRR を数多く持つため、組み換え蛋白質として作成することは容易でない。したがって、他の研究者は NgR ファミリー分子を株細胞に発現させて膜に局在化させ、リガンド分子をアルカリホスファターゼに融合して発現させたものをインキュベートして、結合後に同酵素の基質を加えて着色したものを結合陽性と判断していた^{14)–16)}。この方法は巧妙ではあるが、定量

性には欠けており、結合の判断はかなり主観的なものにならざるを得ない。今回の著者の結果は、Nogo-40 は弱い結合、MAG はほとんど結合がなく、OMgp には結合が認められた (図 4)。したがって、この 3 者の NgR1 結合部位は微妙に異なっていると考えられる。

OMgp は当初、神経系では脳のみエリンに特異的な GPI アンカー蛋白質として記載された²²⁾。しかしその後の研究で、この分子は神経細胞にも発現が多いことが証明された¹⁸⁾。NgR3 は神経系に発現される分子と考えられ、今回の著者の研究で、成長円錐への作用が明らかとなった (図 3)。OMgp は神経細胞にも局在していることから、今回見出された相互作用はニューロン・グリア間の相互作用によるケースのほか、損傷神経細胞同士が影響を及ぼしあう際に、軸索再生が阻害される可能性を示唆するといえよう。著者の結果、および他の研究者の結果から¹⁵⁾¹⁶⁾、NgR3 は NgR1 と異なる分布を示す可能性が高いため、NgR3 の発現が高く、NgR1 の発現が低い系では当然、OMgp の情報が高いといえよう。

発生初期の神経細胞においては、NgR3 の分布は成長円錐により強く局在するが、NgR1 に比べるとやや弱い。発生初期では NgR1 より重要性は少ないかもしれないが、OMgp が神経細胞にも存在することを考えると、多様な神経細胞間の接触におけるシナプス形成の機構にも作動する可能性が考えられる。

最近の NgR1 をめぐる研究に基づくと、この分子だけを抑制しても著明な再生促進を得ることは困難であるように思われる²³⁾²⁴⁾。その一因は NgR ホモログの同等の効果が分子重複性の結果として生じていることにあると思われる。今回の著者のもとに、NgR3 のターゲティングなどが行われるならば、さらに NgR ファミリーの神経再生における意味が明らかとなるものと思われる²⁵⁾。

謝 辞

本研究の遂行に関してご支援をいただいた遠藤 直人・教授、本研究の実際的なご指導をいただいた五十嵐

道弘・教授(新潟大学医歯学系・分子細胞機能学分野), 実験に関してご指導・ご助言をいただいた同分野の藤井 博・助教授(現・信州大学教授), 渡部 通寿・助手(現・助教), 野住 素広・研究員(現・助教), 及び 梶野 哲哉・博士(新潟大学医歯学系・視覚病態学)に深謝申し上げます。なお本研究の遂行においては, 著者が参加している新潟大学超域研究機構「成長円錐のプロテオミクスから脳構築と損傷修復の過程を探る」(代表者:五十嵐 道弘教授)および新潟大学プロジェクト推進研究(助成研究)のご支援を賜ったことを深謝いたします。

文 献

- 1) Horner PJ and Gage FH: Regenerating the damaged central nervous system. *Nature (London)* 407: 963 - 970, 2000.
- 2) Igarashi M, Kozaki S, Terakawa S, Kawano S, Ide C and Komiya Y: Growth cone collapse and inhibition of neurite growth by Botulinum neurotoxin C1: a t-SNARE is involved in axonal growth. *J Cell Biol* 134: 205 - 215, 1996.
- 3) David S and Lacroix S: Molecular approaches to spinal cord repair. *Annu Rev Neurosci.* 26: 411 - 440, 2003.
- 4) Sandvig A, Berry M, Barrett LB, Butt A and Logan A: Myelin-, reactive glia-, and scar-derived CNS Axon growth inhibitors: expression, receptor signaling, and correlation with axon regeneration. *Glia* 46: 225 - 251, 2004.
- 5) Chen MS, Huber AB, van der Haar ME, Frank M, Schnell L, Spillmann AA, Christ F and Schwab ME: Nogo-A is a myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1. *Nature* 403: 434 - 439, 2000.
- 6) GrandPre T, Nakamura F, Vartanian T and Strittmatter SM: Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a reticulon protein. *Nature* 403: 439 - 444, 2000.
- 7) Kim J, Li S, GrandPre T, Qiu D and Strittmatter SM: Axon regeneration in young adult mice lacking Nogo-A/B. *Neuron* 38: 187 - 199, 2003.
- 8) Simonen M, Pedersen V, Weinmann O, Schnell L, Buss A, Ledermann B, Christ F, Sansig G, van der Putten H and Schwab ME: Systemic deletion of the myelin-associated outgrowth inhibitor Nogo-A improves regenerative and plastic responses after spinal cord injury. *Neuron* 38: 201 - 211, 2003.
- 9) Zheng B, Ho C, Li S, Keirstead H, Steward O and Tessier-Lavigne M: Lack of enhanced spinal regeneration in Nogo-deficient mice. *Neuron* 38: 213 - 224, 2003.
- 10) Fournier AE, GrandPre T and Strittmatter SM: Identification of a receptor mediating Nogo-66 inhibition of axonal regeneration. *Nature* 409: 341 - 346, 2001.
- 11) McKerracher L, David S, Jackson DL, Kottis V, Dunn RJ and Braun PE: Identification of Myelin-associated glycoprotein as a major myelin-derived inhibitor of neurite growth. *Neuron* 13: 805 - 811, 1994.
- 12) Domeniconi M, Cao Z, Spencer T, Sivasankaran R, Wang KC, Nikulina E, Kimura N, Cai H, Deng K, Gao Y, He Z and Filbin MT: Myelin-associated glycoprotein interacts with the Nogo66 receptor to inhibit neurite outgrowth. *Neuron* 35: 283 - 290, 2002.
- 13) Wang KC, Koprivica V, Kim JA, Sivasankaran R, Guo Y, Neve RL and He Z: Oligodendrocyte-myelin glycoprotein is a Nogo receptor ligand that inhibits neurite outgrowth. *Nature* 417: 941 - 944, 2002.
- 14) Barton WA, Liu BP, Tzvetkova D, Jeffrey PD, Fournier AE, Sah D, Cate R, Strittmatter SM and Nikolov DB: Structure and axon outgrowth inhibitor binding of the Nogo-66 receptor and related proteins. *EMBO J* 22: 3291 - 3302, 2003.
- 15) Pignot V, Hein AE, Barske C, Wiessner C, Walmsley AR, Kaupmann K, Mayeur H, Sommer B, Mir AK and Frenzel S: Characterization of two novel proteins, NgRH1 and NgRH2, structurally and biochemically homologous to the Nogo-66 receptor. *J. Neurochem.* 85: 717 - 728, 2003.
- 16) Lauren J, Airaksinen MS, Saarna M and Timmusk T: Two novel mammalian Nogo receptor homologs differentially expressed in the central and peripheral nervous systems. *Mol Cell Neurosci* 24: 581 - 594, 2003.

- 17) Venkatesh K, Chivataran O, Lee H, Joshi PS, Kantor DB, Newman BA, Mage R, Rader C and Giger RJ: The Nogo - 66 receptor homolog NgR2 is a sialic acid - dependent receptor selective for myelin - associated glycoprotein. *J Neurosci* 25: 808 - 822, 2005.
- 18) Habib AA, Marton LS, Allwardt B, Gulcher JR, Mikol DD, Hognason T and Chattopadhyay N, Stefansson K: Expression of the oligodendrocyte - myelin glycoprotein by neurons in the mouse central nervous system. *J Neurochem* 70: 1704 - 1711, 1998.
- 19) Igarashi M, Tagaya M and Komiya: The SNARE complex in growth cones. *J Neurosci* 17: 1460 - 1470, 1997.
- 20) Ohyama A, Hosaka K, Komiya Y, Akagawa K, Yamauchi E, Taniguchi H, Sasakawa N, Kumakura K, Mochida S, Yamauchi T and Igarashi M: Regulation of exocytosis through Ca^{2+} /ATP - dependent binding of autophosphorylated Ca^{2+} /calmodulin - activated protein kinase II to syntaxin 1A. *J. Neurosci.* 22: 3342 - 3351, 2002.
- 21) GrandPre T, Li S and Strittmatter SM: Nogo - 66 receptor antagonist peptide promotes axonal regeneration. *Nature* 417: 547 - 551, 2002.
- 22) Mikol DD, Gulcher JR and Stefansson K: The oligodendrocyte - myelin glycoprotein belongs to a distinct family of proteins and contains the HNK - 1 carbohydrate. *J Cell Biol.* 110: 471 - 479, 1990.
- 23) Kim JE, Liu BP, Park JH and Strittmatter SM: Nogo - 66 receptor prevents raphespinal and rubrospinal axon regeneration and limits functional recovery from spinal cord injury. *Neuron* 44: 439 - 451, 2004.
- 24) Zheng B, Atwal J, Ho C, Case L, He XL, Garcia KC, Steward O and Tessier - Lavigne M: Genetic deletion of the Nogo receptor does not reduce neurite inhibition *in vitro* or promote corticospinal tract regeneration *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 1205 - 1210, 2005.
- 25) Igarashi M and Sato M: Glia - derived inhibitors of axonal regrowth: Implication for the molecular strategy of axonal regeneration. *Acta Med Biol* 53: 65 - 72, 2005.

(平成 18 年 6 月 2 日受付)