

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2017

課題番号：26710004

研究課題名(和文) 髄鞘恒常性の破綻による精神症状発症機序の解明

研究課題名(英文) The effect of activity dependent myelination on to the neuronal circuit activity

研究代表者

和氣 弘明 (WAKE, Hiroaki)

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：90455220

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,900,000円

研究成果の概要(和文)：情動・認知といった高次脳機能に障害を呈する精神・神経疾患の病態解明・治療法の開発が現代社会で早急に求められている。そのグリア細胞の中でもオリゴデンドロサイトは髄鞘を形成し神経伝導速度を制御し、約50倍程度まで速めることができる。この機能によって活動電位の到達時間を制御し、シナプスの発火タイミングを調節することが可能になり、情報伝達を効率化する役割を持っていると考えられる。本研究では神経活動依存性髄鞘化の神経回路活動に対する寄与を、これが損なわれているマウスを用いて、2光子顕微鏡下で運動学習を行わせその神経細胞集団活動の解析を行うことで明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Myelination increases conduction velocity and promotes brain functions. Myelin dysregulation is frequently associated with learning and cognition deficits, ultimately causing neurological and psychiatric disorders. However, it has not been revealed what perturbation of neural activity induced by myelin dysregulation impairs learning. Here, we measured neural activity in the motor cortex during motor learning in transgenic mice with a subtle impairment of their myelin regulation. This myelin dysregulation impaired motor learning and was accompanied by a decrease in the amplitude of movement-related activity, an increase in the frequency of spontaneous activity, and a widening in the timing of cortical responses to thalamic stimulation. Repetitive pairing of forelimb movements with optogenetic stimulation of thalamocortical axon terminals partially restored learning.

研究分野：神経生理学

キーワード：髄鞘 グリア 2光子顕微鏡

### 1. 研究開始当初の背景

情動・認知といった高次脳機能に障害を呈する精神・神経疾患の病態解明・治療法の開発が現代社会で早急に求められている。近年イメージング技術の革新からグリア細胞がその生理機能で神経回路活動の恒常性を維持し、グリア細胞の生理機能の破綻によって精神・神経疾患を引き起こす可能性のあることが報告されてきている。そのグリア細胞の中でもオリゴデンドロサイトは髄鞘を形成し神経伝導速度を制御し、約 50 倍程度まで速めることができる。この機能によって活動電位の到達時間を制御し、シナプスの発火タイミングを調節することが可能になり、情報伝達を効率化する役割を持っていると考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究では神経活動依存性髄鞘化の神経回路活動に対する寄与を明らかにするために、これが損なわれているマウスを用いて、2光子顕微鏡下で運動学習を行わせその神経細胞集団活動の解析を行うことで明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

この髄鞘の恒常性が損なわれているモデルマウス (PLP-tg) を用いて髄鞘化の学習時における神経回路活動への寄与を検証した。PLP-tg はこれまで2ヶ月齢においてわずかな神経伝導速度の低下を認めることが知られており、さらに行動実験によって不安障害などの統合失調様の表現系を持つことが知られている。私たちはPLP-tg マウスの運動学習が損なわれていることを明らかにし、その原因となるような神経回路基盤を示すために、このマウスの神経細胞の発火パターンをウイルスによるカルシウム感受性蛍光タンパク質の発現と2光子顕微鏡を組み合わせることによって可視化した。運動学習としてはレバー引きによる水報酬学習を用

いた。これはマウスがレバーを引き600msec 保持することができると報酬として水がもらえ、600msec 保持できないと得られないという運動学習である。

### 4. 研究成果

PLP-tg は正常群に比して、学習効率の低下を認めることから、運動学習が阻害されていることがわかった。そこで、このような運動学習効率が、髄鞘の変化と相関するかどうかを検証するために、髄鞘関連蛋白質の発現を比較した。大脳皮質運動野から組織を採取し、RNA を抽出し、訓練前後での代表的髄鞘関連蛋白質であるミエリン塩基性蛋白質(MBP)の発現を比較したところ、正常群では運動前後でMBPの発現が上昇するのに対し、PLP-tg ではこのMBPの上昇は認められなかった。さらに正常群においては、このMBPの変化量と運動学習の成功率は相関することから髄鞘化が促進されればされるほど学習効率は上昇することが明らかとなった。ではどのような神経回路活動の変化がこのような髄鞘の変化によってもたらせられ、また髄鞘の変化が阻害されることに夜異常神経回路活動がどのようなものであるかを検証するために、マウス大脳皮質運動野2/3層にカルシウム感受性蛍光蛋白質をコードするアデノ随伴ウイルスを感染させ、マウスを実際に2光子顕微鏡下で学習行動を行わせることで学習時の神経細胞の発火パターンを正常群と比較した。正常のマウスに比してPLP-tg はレバーを引く行動と関連のない自発活動の増加を認めた。さらにこの自発活動と運動学習効率は逆相関することから自発活動が高ければ高いほど、運動学習の効率は低くなることが明らかとなった。髄鞘化は活動電位の伝播する速度を制御することができるため、この自発活動の増加は活動電位の伝搬の時間的分

散によって生じることが考えられる。そのため、光遺伝学によるオプトジェネティクス法を用いて、この時間的分散を計測した。まず大脳皮質運動野に投射する軸索に着目し、この投射元である視床の運動核に光活性化蛋白質であるチャンネルロドプシンを発現させ、これによって視床運動核の神経細胞の活動を誘導し、その軸索を伝導してくる活動電位によって活性化される大脳皮質運動野の活動を多点電極によって記録した。視床刺激によって引き起こされる大脳皮質運動野の神経細胞の活動は正常群に比して PLP-tg は spike latency が長く、かつ 1 回の刺激で誘導されるスパイクの数が多いと言うことが明らかとなった。これにネットワークの影響が加わることで、PLP-tg では自発活動が増加し、運動学習が損なわれることが示された。ではこの活動電位の到達するタイミングを人為的に補正し、同期させることで PLP-tg でも運動学習を改善させることができるかどうかを検証するために、視床の運動核にチャンネルロドプシンを発現したマウスの運動野をレバーを引き閾値に達する毎に光刺激し、強制的に軸索終末の活動を同期させたところ、GFP を発現したマウスに比べチャンネルロドプシンを発現したマウスは運動学習の効率（後期における成功率）が上昇することがわかった。本研究により髄鞘の恒常性が損なわれた際におきる運動学習がどのような神経回路の異常によって起きるのかを明らかにし、オリゴデンドロサイトによる髄鞘の恒常性維持機構の破綻による学習障害、情報処理異常の可能性を提案することができた。

##### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

1. Fukushima-Nakayama Y, Ono T, Hayashi M, Inoue M, Wake H, Ono T, Nakashima T. Reduced Mastication Impairs Memory Function. *J Dent Res*. Aug96(9):1058-1066. 2017. (査読有り)
2. Miyamoto A, Wake H, Ishikawa AW, Eto K, Shibata K, Murakoshi H, Koizumi S, Moorhouse AJ, Yoshimura Y, Nabekura J. Microglia contact induces synapse formation in developing somatosensory cortex. *Nature Commun* 7:12540. 2016. (査読有り)
3. Kato G, Inada H, Wake H, Akiyoshi R, Miyamoto A, Eto K, Ishikawa T, Moorhouse AJ, Strassman A, Nabekura J. Microglial Contact Prevents Excess Depolarization and Rescues Neurons from Excitotoxicity. *eNeuro* 3(3). pii: ENEURO.0004-16. 2016. (査読有り)
4. Wake H, Ortiz FC, Woo DH, Lee PR, Angulo MC, Fields RD. Non-synaptic junctions on myelinating glia promote preferential myelination of electrically-active axons. *Nature Commun* 6:7844. 2015. (査読有り)
5. Sierra A, Tremblay ME, Wake H. Never-resting microglia: physiological roles in the healthy brain and pathological implications. *Front Cell Neurosci* 8:240. 2014.
6. Fields RD, Araque A, Johansen-Berg H, Lim SS, Lynch G, Nave KA, Nedergaard M, Perez R, Sejnowski T, Wake H. Glial Biology in Learning and

Cognition. **Neuroscientist**  
20(5):426-31. 2014.

〔学会発表〕(計 25 件)

1. **Wake H**, Visualization of immune system in brain. 第 94 回日本生理学会大会, 浜松, 2017.3.28 ~ 30, 参加日 2017.3.29.
2. 松井 広, **和氣 弘明**. Postmodern neuroscience: Deconstruction of the neuron central dogma. 第 39 回日本神経科学大会, 横浜, 2016.7.22.
3. **Wake H**, Koizumi S. Precise imaging and manipulation of gliopathy –are glial cells really required for brain function? –. The 58th Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry, Omiya, Saitama, 2015.9.11.
4. **和氣 弘明**. 髄鞘制御不全による情報処理異常の可視化. 第 29 回臨床 MR 脳機能研究会, 東京, 2017.4.8.
5. **和氣 弘明**. The role of microglia in adult CNS of systemic inflammation. 平成 28 年度 新学術領域研究「神経糖鎖生物学」最終班会議, 名古屋, 2017.3.3 ~ 4, 講演日 2017.3.3.
6. **和氣 弘明**. ミクログリアの新規生理機能と病態 新規治療ターゲットとしての可能性. 大正製薬株式会社総合研究所講演会, さいたま, 2017.2.22.
7. **和氣 弘明**. 髄鞘制御不全による情報処理異常の可視化. 第 4 回 先進イメージング医学研究会・学術集会, 有馬, 2017.2.20~21, 講演日 2017.2.20.
8. **和氣 弘明**. The role of microglia in the adult CNS of systemic inflammation. 第 21 回グリア研究会, 大阪, 2016.12.3
9. **和氣 弘明**. 全身炎症時の学習障害の神経回路基盤. 北海道大学医学部・小児科集談会, 北海道, 2016.10.31
10. **和氣 弘明**. 炎症によって引き起こされる学習異常の神経回路基盤 - 炎症から認知症まで -. 第 51 回慶應ニューロサイエンス研究会, 東京, 2016.10.29.
11. **和氣 弘明**. グリアの新規生理機能と疾患への応用. ,カン研究所セミナー, 神戸, 2016.7.11
12. **和氣 弘明**. 二光子顕微鏡を用いた光による脳機能計測と操作. 浜松医科大学大学院講義「顕微鏡学・質量分析学」, 浜松, 2016.4.21.
13. **和氣 弘明**. グリア細胞による神経回路活動修飾機構. 大阪大学医学部・免疫細胞生物学・研究セミナー, 大阪, 2016.4.13.
14. **和氣 弘明**. 光による脳機能の計測と操作 - RE:FAP レーザーへの期待. 「マイクロ固体フォトンクス」技術専門委員会, 岡崎 (分子科学研究所), 2016.2.26.
15. **Wake H**. Spatial-temporal regulation of neural activity by glial cells. Circuit Construction in the Mammalian Brain, Mishima, Japan, 2015.12.7.
16. **和氣 弘明**. 脳活動を見て、操作する. 豊秋奨学会記念講演, 名古屋, 2015.11.6.
17. **和氣 弘明**. ミクログリアと神経回路活動. 糖鎖コンソーシアム, 名古屋, 2015.10.19.
18. **和氣 弘明**. 2 光子顕微鏡を用いた生体脳イメージングについて. 第 185 委員会 2015 年度第 1 回研究会, 東京, 2015.7.24.
19. **和氣 弘明**. 生体イメージングで明らかにされたグリア細胞機能. GE ヘル

- スケアセミナー，大阪，2015.5.20.
20. **和氣 弘明**. 活動依存性の髄鞘化とその破綻による運動学習障害. 神経発生討論会，福岡，2015.3.14.
  21. **和氣 弘明**. 神経活動依存的な髄鞘の可塑的变化とその破綻による運動障害. 生理研 - 新潟脳研合同シンポジウム，新潟，2015.3.5.
  22. **和氣 弘明**. 髄鞘制御不全と情報処理異常. 徳島大学脳科学クラスター，徳島，2015.1.31.
  23. **和氣 弘明**. グリア細胞による神経回路恒常性維持機構とその破綻による疾患. 滋賀医科大学 支援センターセミナー，大津，2014.10.24.
  24. **和氣 弘明**. ミクログリアによる神経回路の制御. 包括的脳科学研究推進支援ネットワーク平成25年度夏のワークショップ シンポジウム，名古屋，2014.8.29.
  25. **Wake H**. 神経活動依存性の髄鞘化とその破綻による運動学習障害. 第9回 Biomedical Frontier TOKAI ~NIH in JAPAN，Nagoya，Japan，2014.7.11.

〔図書〕(計 3 件)

1. **和氣 弘明**，加藤大輔. 神経・グリア細胞の生体イメージング. CLINICAL CALCIUM 25(6):859-870. 2015.
2. **和氣 弘明**，加藤大輔. 白質と脳機能. BRAIN and NERVE 67(4):505-512. 2015.
3. Tremblay MÈ，Paolicelli，RC，Stevens B，**Wake H**，Bessis A. Developing and mature synapses. **Microglia in Health and Disease**. Springer. 2014. Pages 223-248.

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

和氣弘明 ( WAKE, Hiroaki )  
神戸大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：90455220

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

加藤大輔 ( KATO, Daisuke )  
自然科学研究機構 生理学研究所・研究員  
穠吉亮平 ( AKIYOSHI, Ryohei )  
自然科学研究機構 生理学研究所・大学院生