

令和 3 年 5 月 24 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K08500

研究課題名(和文) 脳構築におけるミクログリアの変遷機序とその意義の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of microglial transition in brain construction and its significance

研究代表者

駒田 致和 (Komada, Munekazu)

近畿大学・理工学部・講師

研究者番号：90523994

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：細胞の増殖や分化、移動などが盛んにおこなわれる胎生期の脳神経系は、化学物質やストレス曝露、感染症の罹患などの環境要因に対して高感受性である。この時期の神経細胞の分化や成熟、投射など細胞動態への影響は、先天奇形や脳機能異常を引き起こす可能性がある。

この原因の一つとして、ミクログリアの異常な活性化や脳内炎症に注目した。これらは様々な化学物質やストレスの胎児期曝露、さらには感染症への罹患によって幅広く起きている現象であることを示した。つまり、大脳皮質や海馬歯状回の形態形成や機能成熟が、様々な環境因子に起因する脳内炎症によって妨げられ、それが先天奇形や発達障害の原因となっている可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎児期の母胎内環境は、先天奇形や発達障害などの原因となるだけでなく、成熟してからの生活習慣病や精神疾患とも関連することが報告されている。その原因の一つに、化学物質やストレス曝露などによる脳内炎症があり、炎症関連因子によって活性化されたミクログリアによって、組織構築や神経投射に影響が及ぼされている可能性が示された。先天奇形や発達障害は治療することが難しいため、予防することが重要である。つまり、脳内炎症やミクログリアの異常な活性化が、先天奇形や発達障害の予防法のターゲットとなりうる可能性を示すことができた。

研究成果の概要(英文)： The central nerve system during the prenatal period, in which cells proliferate, neurogenesis, and neuronal migration, is highly sensitive to environmental factors such as chemical substances, stress exposure, and infectious diseases. Effects on cell dynamics such as neurogenesis, maturation, and neuronal projection during this period can cause congenital malformations and brain dysfunction.

We focused on abnormal activation of microglia and inflammation in the developing brain. These have been shown to be widespread phenomena due to prenatal exposure to various chemicals and stresses, as well as infectious diseases. In other words, it was shown that morphogenesis and functional maturation of the cerebral cortex and hippocampal dentate gyrus may be hindered by inflammation in the brain caused by various environmental factors, which may cause congenital malformations and developmental disorders.

研究分野：神経発生毒理学

キーワード：ミクログリア 脳内炎症 大脳皮質 海馬歯状回 神経新生 母胎内環境

## 1. 研究開始当初の背景

細胞の増殖や分化、移動などが盛んにおこなわれる胎生期の脳神経系は、化学物質やストレス曝露、感染症の罹患などの環境要因に対して高感受性である。この時期の神経細胞の分化や成熟、投射など細胞動態への影響は、先天奇形や脳機能異常を引き起こす可能性がある。

例えばエタノールの胎児期曝露は、顔面の奇形や発達障害を伴う胎児アルコール症候群を誘発する。大脳皮質の形態形成異常が発達障害の原因の一つであると考えられ、脳内において免疫担当細胞であるミクログリアの異常な活性化を伴う神経炎症を引き起こされていた。この脳内炎症は直接、あるいは間接的に神経細胞の増殖や分化、投射に異常を誘発している。さらにこの脳内炎症はエタノール曝露特異的なものではなく、様々な化学物質やストレスの胎児期曝露、さらには感染症への罹患によって幅広く起きている現象であることが明らかになっている。つまり、大脳皮質の形態形成や機能成熟が脳内炎症によって妨げられ、それが自閉症などの発達障害の原因となっている可能性が示されている。

## 2. 研究の目的

ミクログリアの異常な活性化を伴う脳内炎症が、大脳皮質の形態形成に及ぼす影響を明らかにするとともに、この現象が様々な環境下で幅広く起きている可能性について解析する。さらに、胎児期の脳内炎症が発達障害の発症の原因になる可能性について、環境因子曝露モデルマウスを用いた解析を行う。発達障害の主な症状の一つである社会的行動異常に着目し、その新規解析法の確立を目指すとともに、その原因となる脳の構造異常や遺伝子発現の変化、さらには脳内炎症との関連についても紐づけて考察する。

## 3. 研究の方法

### (1) モデル動物の作成

胎生期の化学物質、ストレス曝露、さらには感染症の罹患モデルマウスを作成する。特に大脳皮質の形態形成期である胎生 10 日から 18 日前後に時期特異的に曝露させ、その表現型について解析を行った。

### (2) 大脳皮質、海馬歯状回の形態形成への影響

神経幹細胞や前駆細胞、さらには神経細胞のマーカー因子に対する抗体を用いた免疫組織染色によって、神経新生や細胞増殖、分布について詳細な解析を行い、胎児期の環境因子が大脳皮質や海馬歯状回の形態形成に及ぼす影響について詳細に解析した。

### (3) 脳内炎症とミクログリアの活性化

化学物質を曝露した胎生期マウスの脳内において、ミクログリアの活性や数に異常がないかどうかを、ミクログリアのマーカー因子に対する抗体を用いた免疫組織染色や、ミクログリアに発現する遺伝子を標的とした遺伝子発現解析によって解析した。

ミクログリアの活性化には脳内炎症が影響している可能性がある。様々な環境因子の曝露によって、脳内で炎症が起きているかどうかを炎症に関連して発現が変動し、標的となる遺伝子に対する遺伝子発現解析を行った。

大脳皮質や海馬歯状回の形態形成の異常の原因の一つに、脳内炎症やミクログリアの異常な活性化が関与している可能性がある。そこで、抗炎症剤を並行投与することで、その表

現型が軽減されるかどうかについて解析を行った。

#### 4 . 研究成果

##### ( 1 ) 大脳皮質や海馬歯状回の神経新生の異常を誘発する

免疫組織染色によって神経新生が亢進していることや、神経幹細胞の分化段階特異的に影響が及ぼされることを検出した。化学物質によっては、細胞周期を阻害したり、分化を抑制したりすることが知られており、神経新生のタイミングをずらすことで、神経細胞の分布や数に影響を引き起こす可能性がある。これらの異常は、神経投射にも異常を引き起こすことが予想されるため、ドパミン作動性ニューロンの神経突起をチロシンヒドロキシラーゼに対する抗体を用いて染色したところ、大脳皮質への投射が減少していた。つまり、神経細胞の分布の異常が、神経回路構築に影響する可能性が示された。

##### ( 2 ) 脳内炎症とミクログリアの活性化

化学物質を曝露した胎生期マウスの脳内において、ミクログリアの総細胞数には影響しないが、活性化したミクログリアが増加していた。炎症関連因子の発現も変動していることから、脳内炎症によってミクログリアの活性も影響を受けている可能性がある。ミクログリアは、胎生期においては神経幹細胞の数の調節に、発達期においてはシナプス可塑性に関与していることが分かっている。そこで、脳内炎症が大脳皮質の組織構築の異常の原因であると仮定し、抗炎症剤を並行投与することで、その異常を抑制できる可能性についても検討した。そのモデルマウスを作成したところ、炎症反応が抑制され、神経新生の異常が一部回復していることが示された。以上のことから、胎生期の脳内炎症やミクログリアの異常な活性化は、先天奇形や発達障害の原因の一つになりうる可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakayama Akira, Yoshida Manami, Kagawa Nao, Nagao Tetsuji	4. 巻 39
2. 論文標題 The neonicotinoids acetamiprid and imidacloprid impair neurogenesis and alter the microglial profile in the hippocampal dentate gyrus of mouse neonates	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Applied Toxicology	6. 最初と最後の頁 877 ~ 887
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jat.3776	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kagawa Nao, Nagao Tetsuji	4. 巻 -
2. 論文標題 Maternal administration of bisphenol A alters the microglial profile in the neocortex of mouse weanlings	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Congenital Anomalies	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cga.12370	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takahashi M, Komada M, Miyazawa K, Goto S, Ikeda Y.	4. 巻 284
2. 論文標題 Bisphenol A exposure induces increased microglia and microglial related factors in the murine embryonic dorsal telencephalon and hypothalamus.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Toxicological letter	6. 最初と最後の頁 113-119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.toxlet.2017.12.010.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Komada Munekazu, Hara Nao, Kawachi Satoko, Kawachi Kota, Kagawa Nao, Nagao Tetsuji, Ikeda Yayoi	4. 巻 7
2. 論文標題 Mechanisms underlying neuro-inflammation and neurodevelopmental toxicity in the mouse neocortex following prenatal exposure to ethanol.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4934
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-04289-1.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takahashi Mifumi, Komada Munekazu, Miyazawa Ken, Goto Shigemi, Ikeda Yayoi	4. 巻 284
2. 論文標題 Bisphenol A exposure induces increased microglia and microglial related factors in the murine embryonic dorsal telencephalon and hypothalamus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Toxicology Letters	6. 最初と最後の頁 113 ~ 119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.toxlet.2017.12.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Munekazu Komada, Haruka Kamiyama, Nao Kagawa, Tetsuji Nagao
2. 発表標題 Prenatal exposure to valproic acid induces dysplasia of the neocortex and neuro-inflammation in mice.
3. 学会等名 第59回日本先天異常学術集会 13th World Congress of The International Cleft Lip and Palate Foundation CLEFT2019 (合同開催) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Komada M, Okada S
2. 発表標題 Mechanisms underlying and neurodevelopmental and immunological toxicity in the mouse neocortex following prenatal exposure to ethanol.
3. 学会等名 WCP2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 駒田致和、高橋美文、長尾哲二、池田やよい
2. 発表標題 胎児期低用量ビスフェノールA曝露は炎症を伴うミクログリアの異常を誘発する
3. 学会等名 第57回日本先天異常学会学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	長尾 哲二  (Nagao Tetsuji)  (30351563)	近畿大学・理工学部・教授   (34419)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------