

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02598

研究課題名（和文）ミクログリアによる高次脳機能維持機構とその破綻

研究課題名（英文）Microglial contribution on higher order of brain function and their pathology

研究代表者

和氣 弘明（WAKE, Hiroaki）

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号：90455220

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではミクログリアに着目し、そのシナプスや血管に対する生理機能から精神病態を解き明かすことを目的とした。本研究期間内にまず、生体イメージングを用いて、全身炎症に伴ってミクログリアが脳血管に遊走し、タイトジャンクション関連因子や貪食因子などの発現を変化させることで、時期特異的に血液脳関門の透過性に寄与することを明らかにした。さらにミクログリアが高次脳機能過程（運動学習）において、その突起動態を制御することでシナプスに対する作用を変化させることを明らかにした。またこれらのシナプス修飾機構は感覚野において、感覚入力依存性があることを基に異種感覚の可塑性に対するミクログリアの役割を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果によって、ミクログリアを標的とした中枢神経系疾患に対する新たな創薬の可能性を創出することができた。さらにミクログリアによるシナプス可塑性を制御することで、中枢神経系疾患の回復期に介入する可能性も考えられる。さらに異種感覚の可塑性のミクログリアによる制御の解明は学術的にも非常に意義深い。

研究成果の概要（英文）：In this study, we focused on microglia and aimed to elucidate psychiatric pathology from their physiological functions on synapses and blood vessels. Using in vivo imaging, we found that microglia migrate into cerebral blood vessels during systemic inflammation and contribute to the permeability of the blood-brain barrier in a time-specific manner by altering the expression of tight junction-related factors and phagocytic factors. In addition, we found that microglia modulate their synaptic effects by regulating their projection dynamics during higher brain functions (motor learning). These synaptic modulation mechanisms are dependent on the sensory input in the sensory cortex, suggesting a role for microglia in heterogeneous sensory plasticity.

研究分野：神経科学

キーワード：ミクログリア 血液脳関門 シナプス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

認知機能・学習・情動などの高次脳機能は神経細胞集団活動(= 神経回路活動) が時空間的に適切に制御されることによって効率的に発現する。近年、脳の80%を占める細胞であるグリア細胞が、これらの神経回路活動の時空間的制御を担い、恒常性を維持することが着目されている(Fields et al., 2014)。さらに精神疾患などの高次脳機能異常は、遺伝的異常・免疫異常・環境要因などによってグリア細胞の生理機能が破綻し、神経回路の恒常性が損なわれることが原因で起こることも考えられている (Garden et al., 2016)。

ミクログリアは脳唯一の免疫細胞であり、その神経保護もしくは毒性作用を通して疾患の進行への関与が着目され重要な研究が行われてきた。しかしながら、その生理機能に関しては未知な部分が多い。研究代表者はこれまで発達期および成熟期におけるミクログリアのシナプスに対する生理機能 (Wake et al., 2009, Miyamoto, Wake et al., 2016) を明らかにしてきた。これに加えて、ミクログリアが発達期および成熟期のシナプス除去過程にミクログリアが関与することが報告され、この異常によって自閉症や統合失調症、アルツハイマー型認知機能障害などを発症することが報告されている(Paolicelli et al., 2011, Schafer et al., 2012)。これらの結果はミクログリアがシナプスの数を制御することで神経回路を修飾できる可能性を示したものである。さらにこれらの生理機能が喪失することで発達障害・精神疾患を引き起こすことを提唱してきた(Wake et al., 2013)。また近年、ミクログリアは神経細胞に直接接触することで活動を制御できることが示唆されている(Li Y et al., 2012)。このように、これまで成熟期において、ミクログリアがシナプスに直接接触することは示されているものの、成熟期におけるその機能的役割および脳機能に対する影響は未だ明らかとなっていない。このほか、ミクログリアは脳環境(アストロサイトなど)にも定期的に接触することが知られている(Tremblay et al., 2010)。

2. 研究の目的

そこで本研究では、ミクログリアの脳構成物に対する生理機能を明らかにし、その破綻によって生じる精神疾患を考察することを目的とする。

3. 研究の方法

2光子顕微鏡による生体イメージングで免疫細胞及び神経活動を可視化した。さらに関連する分子発現解析を、細胞を磁気ビーズを用いて特異的に単離し、RNAを抽出することで、その発現変化の解析を行なった。またサイトカインの発現はサイトカインアレイを用いて行なった。

4. 研究成果

まず全身炎症性疾患における精神症状に着目し、全身炎症時におけるミクログリアの変化を検証した。2光子顕微鏡による生体イメージングを用いて、全身炎症時におけるミクログリアを可視化したところ、全身炎症にともなって1日後から血管周囲に遊走することがわかった。そこで、血液脳関門(BBB)の透過性を異なる分子量をもつ蛍光色素を静脈内投与し、その脳実質への漏れを比較することで検証したところ、全身炎症4日後より10KDaの分子量の蛍光色素のみが脳実質に漏出することがわかり、BBBの透過性が増大することが明らかとなった。ミクログリアを遺伝学的に除去すると、全身炎症初期にはBBBの透過性が増大することから、ミクログリアはBBBの透過性に対して保護的に、後期には増大した透過性が変化しないことから、ミクログリア自体はBBBを障害する可能性があることがわかった。ミクログリアを、特異的に磁気ビーズ法を用いて回収し、その分子発現変化の網羅的検索を行なったところ、全身炎症初期にミクログリアはクローディン5を特異的に発現し、血管内皮細胞とタイトジ

ヤンクシオンを形成することで、BBBに対して保護的に働くことがわかった。一方、後期相において、ミクログリアは貪食マーカーであるCD68を発現し。アストロサイトの足突起を貪食することでBBBに対して障害的に作用することが明らかとなった。またCCR5の阻害剤を投与することで、ミクログリアの遊走は阻害されることから、ミクログリアは血管内皮細胞から放出されるCCL5に誘引されること及びそのシグナルがCldn5の発現を増加させることもわかった (Haruwaka et al., *Nature Commun*, 2019)。

さらにこれらの変化はミクログリアのシナプス活動の修飾に変化を及ぼし、結果神経回路活動の変化を生じさせることも明らかとなった。すなわち、ミクログリアはシナプスに直接接触することで、シナプス活動を増強させる。一方、リポ多糖類を投与しミクログリアを活性化したマウスにおいては、この増強効果が喪失することを明らかにした。その結果、神経細胞間の同期的活動は正常と比較して、ミクログリアを活性化したマウス及びミクログリアを除去したマウスでは損なわれ、学習効率が低下することがわかった (Akiyoshi et al., *eNeuro*, 2018)。またこれらのシナプス変化を生み出すミクログリア突起動態は学習過程によって変化し、運動学習に伴って、ランダムな動きから、規則的な動きへと変化し、特製のシナプス修飾に関わることを明らかにした(Ikegami et al., in revision)。このような突起動態の変化は自閉症マウスでも存在し、これが胎児期から成熟期にかけて遷延化することで、自閉症特有の社会行動の変化につながることも示した(Ozaki et al., *Sci Rep*, 2020)。このようなミクログリアの分子抽出を可視化し、解析したミクログリアを行うため、3次元スポット照射が可能なホログラフィック顕微鏡の開発に成功し(Quan et al., *Opt Lett*, 2018)、これを用いて痛み形成に関わる神経回路基盤を明らかにした (Okada et al., *Sci Adv*, 2021)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Wake Hiroaki, Horiuchi Hiroshi, Kato Daisuke, Moorhouse Andrew J., Nabekura Junichi	4. 巻 2034
2. 論文標題 Physiological Implications of Microglia?Synapse Interactions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol	6. 最初と最後の頁 69 ~ 80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-9658-2_6	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 Kato Daisuke, Ikegami Ako, Horiuchi Hiroshi, Moorhouse Andrew J., Nabekura Junichi, Wake Hiroaki	4. 巻 2034
2. 論文標題 In Vivo Two-Photon Imaging of Microglial Synapse Contacts	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 281 ~ 286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-9658-2_20	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 Murakami Jumpei, Tachibana Yoshihisa, Akiyama Shigehisa, Kato Takafumi, Taniguchi Aya, Nakajima Yoshiaki, Shimoda Mao, Wake Hiroaki, Kano Yukiko, Takada Masahiko, Nambu Atsushi, Yoshida Atsushi	4. 巻 34
2. 論文標題 Oral splint ameliorates tic symptoms in patients with tourette syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Movement Disorders	6. 最初と最後の頁 1577 ~ 1578
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mds.27819	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 Kato Daisuke, Wake Hiroaki, Lee Philip R., Tachibana Yoshihisa, Ono Riho, Sugio Shouta, Tsuji Yukio, Tanaka Yasuyo H., Tanaka Yasuhiro R., Masamizu Yoshito, Hira Riichiro, Moorhouse Andrew J., Tamamaki Nobuaki, Ikenaka Kazuhiro, Matsukawa Noriyuki, Fields R. Douglas, Nabekura Junichi, Matsuzaki Masanori	4. 巻 68
2. 論文標題 Motor learning requires myelination to reduce asynchrony and spontaneity in neural activity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Glia	6. 最初と最後の頁 193 ~ 210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/glia.23713	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 Kato Daisuke, Wake Hiroaki	4. 巻 1190
2. 論文標題 Activity-Dependent Myelination	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Adv Exp Med Biol	6. 最初と最後の頁 43~51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-32-9636-7_4	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 Haruwaka Koichiro, Ikegami Ako, Tachibana Yoshihisa, Ohno Nobuhiko, Konishi Hiroyuki, Hashimoto Akari, Matsumoto Mami, Kato Daisuke, Ono Riho, Kiyama Hiroshi, Moorhouse Andrew J., Nabekura Junichi, Wake Hiroaki	4. 巻 10
2. 論文標題 Dual microglia effects on blood brain barrier permeability induced by systemic inflammation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5816
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-13812-z	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 Tsuji Takahiro, Ozasa Hiroaki, Aoki Wataru, Aburaya Shunsuke, Yamamoto Funazo Tomoko, Furugaki Koh, Yoshimura Yasushi, Yamazoe Masatoshi, Ajimizu Hitomi, Yasuda Yuto, Nomizo Takashi, Yoshida Hironori, Sakamori Yuichi, Wake Hiroaki, Ueda Mitsuyoshi, Kim Young Hak, Hirai Toyohiro	4. 巻 11
2. 論文標題 YAP1 mediates survival of ALK-rearranged lung cancer cells treated with alectinib via pro-apoptotic protein regulation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-13771-5	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 Hattori Y, Naito Y, Tsugawa Y, Nonaka S, Wake H, Nagasawa T, Kawaguchi A, Miyata T.	4. 巻 11
2. 論文標題 Transient microglial absence assists postmigratory cortical neurons in proper differentiation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1631
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-15409-3	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 1. Akiyoshi R, Wake H*, Kato D, Horiuchi H, Ono R, Ikegami A, Haruwaka K, Omori T, Tachibana Y, Moorhouse AJ and Nabekura J.	4. 巻 Oct 25;5(5)
2. 論文標題 Microglia enhance synapse activity to promote local network synchronization.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 eNeuro.	6. 最初と最後の頁 ENEURO.0088-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0088-18.2018.	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 該当する

1. 著者名 Quan Xiangyu, Kumar Manoj, Matoba Osamu, Awatsuji Yasuhiro, Hayasaki Yoshio, Hasegawa Satoshi, Wake Hiroaki	4. 巻 43
2. 論文標題 Three-dimensional stimulation and imaging-based functional optical microscopy of biological cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Optics Letters	6. 最初と最後の頁 5447 ~ 5447
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1364/OL.43.005447	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 該当する

1. 著者名 Dutta Dipankar J., Woo Dong Ho, Lee Philip R., Pajevic Sinisa, Bukalo Olena, Huffman William C., Wake Hiroaki, Basser Peter J., SheikhBahaei Shahriar, Lazarevic Vanja, Smith Jeffrey C., Fields R. Douglas	4. 巻 115
2. 論文標題 Regulation of myelin structure and conduction velocity by perinodal astrocytes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 11832 ~ 11837
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1811013115	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 該当する

1. 著者名 Takeda Akiko, Shinozaki Youichi, Kashiwagi Kenji, Ohno Nobuhiko, Eto Kei, Wake Hiroaki, Nabekura Junichi, Koizumi Schuichi	4. 巻 66
2. 論文標題 Microglia mediate non-cell-autonomous cell death of retinal ganglion cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Glia	6. 最初と最後の頁 2366 ~ 2384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/glia.23475	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 Ishikawa Tatsuya, Eto Kei, Kim Sun Kwang, Wake Hiroaki, Takeda Ikuko, Horiuchi Hiroshi, Moorhouse Andrew J., Ishibashi Hitoshi, Nabekura Junichi	4. 巻 159
2. 論文標題 Cortical astrocytes prime the induction of spine plasticity and mirror image pain	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PAIN	6. 最初と最後の頁 1592 ~ 1606
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/j.pain.0000000000001248	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 該当する

1. 著者名 Kato Daisuke, Eto Kei, Nabekura Junichi, Wake Hiroaki	4. 巻 163
2. 論文標題 Activity-dependent functions of non-electrical glial cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 457 ~ 464
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvy023	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 Ozaki Kana, Kato Daisuke, Ikegami Ako, Hashimoto Akari, Sugio Shouta, Guo Zhongtian, Shibushita Midori, Tatematsu Tsuyako, Haruwaka Koichiro, Moorhouse Andrew J., Yamada Hideto, Wake Hiroaki	4. 巻 10
2. 論文標題 Maternal immune activation induces sustained changes in fetal microglia motility	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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) 10.1038/s41598-020-78294-2	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 Okada Takuya, Kato Daisuke, Nomura Yuki, Obata Norihiko, Quan Xiangyu, Morinaga Akihito, Yano Hajime, Guo Zhongtian, Aoyama Yuki, Tachibana Yoshihisa, Moorhouse Andrew J., Matoba Osamu, Takiguchi Tetsuya, Mizobuchi Satoshi, Wake Hiroaki	4. 巻 7
2. 論文標題 Pain induces stable, active microcircuits in the somatosensory cortex that provide a therapeutic target	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	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) 10.1126/sciadv.abd8261	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 Badimon Ana, Strasburger Hayley J., Ayata Pinar, Chen Xinhong, Ikegami Ako, Chan Andrew T., Jiang Jean X., Surmeier D. James, Robson Simon C., Junger Wolfgang G., Sebra Robert, Calipari Erin S., Kenny Paul J., Eyo Ukpong B., Colonna Marco, Quintana Francisco J., Wake Hiroaki, Gradinaru Viviana, Schaefer Anne	4. 巻 586
2. 論文標題 Negative feedback control of neuronal activity by microglia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 417 ~ 423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-020-2777-8	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 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 和氣弘明
2. 発表標題 脳免疫細胞ミクログリアの生理機能と病態への寄与
3. 学会等名 第41回日本炎症・再生医学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 和氣弘明
2. 発表標題 創造的破壊による脳機能制御と病態の形成
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroaki Wake
2. 発表標題 Illuminate the physiological and pathological function of microglia
3. 学会等名 JSPS-NIH forum (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020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
研究協力者	加藤 大輔 (Kato Daisuke) (10712292)	大学院医学研究科・助教 (13901)	
研究協力者	杉尾 翔太 (Sugio Shouta) (30825344)	大学院医学研究科・助教 (13901)	

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			
オーストラリア	UNSW			
米国	Ichan School of Medicine, Mount Sinai			