

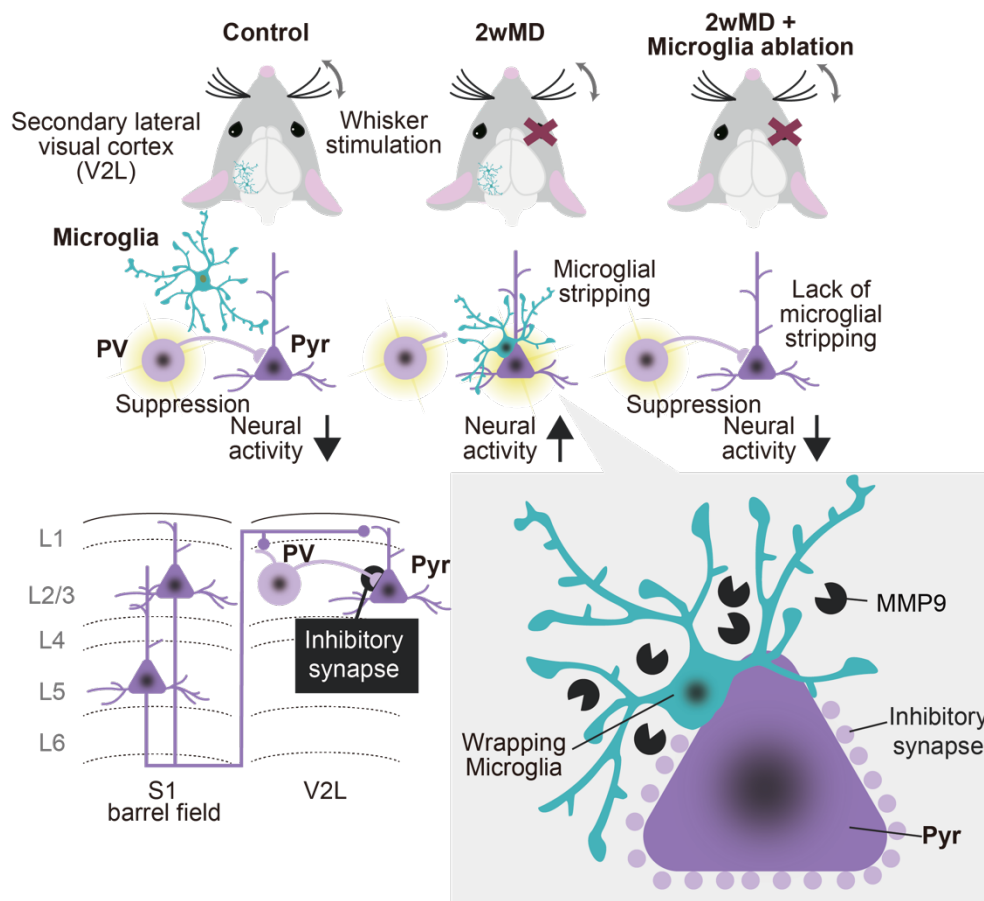
感覚遮断から考察する精神疾患の発症機序

名古屋大学大学院医学系研究科分子細胞学

和氣 弘明

ヒトは外界の環境を知覚し、感覚器に応じた知覚応答が引き起こされ、高次脳機能が引き起こされる。高次脳機能に異常を起因する精神疾患・発達障害ではこの感覚応答の変容がよく知られており、そのメカニズムを明らかにすることは病態を理解する上で必須である。本研究では感覚領域間の機能的結合に着目し、感覚喪失時に引き起こされる異種感覚の可塑性のメカニズムをミクログリアのシナプス修飾の観点から明らかにする。視覚遮断マウスモデルを用いて、第一次感覚野→高次視覚野の機能的結合に着目し、その機能的結合および高次視覚野内で起こる神経回路再編のメカニズムをミクログリアの観点から分子基盤を明らかにした。ミクログリアは、生後早期に樹状突起に接触し、未熟なシナプスの形成に寄与し (Miyamoto, Wake et al., *Nature Commun*, 2016)、その後は細胞性質を変化させ古典的補体カスケードを用いて、シナプスを貪食することでシナプス除去過程に関与することが知られている (Schafer et al., *Neuron*, 2012)。さらに成熟期においても、ミクログリアはシナプス活動を修飾し、シナプスの可塑的变化を制御することで、神経回路活動を変化させることが明らかとなっている (Akiyoshi et al., *eNeuro*, 2018, Badimon, ..., Wake et al., *Nature*, 2020)。またこのような発達期のミクログリアによるシナプス数の制御不全が未熟なシナプスの増加あるいはシナプス数の減少を引き起こし、これが原因となって発達障害や統合失調症などの精神疾患に繋がることが示唆されている (Schafer et al., *eLife*, 2016, Wake et al., *Trends in Neurosci*, 2013)。さらに、成熟期における過剰なシナプス貪食がシナプスの脱落を引き起こすことでアルツハイマー型認知機能障害を誘発する可能性があること

が示唆されている (Hong et al., 2016)。このようなミクログリアによるシナプス数の制御や機能制御が世界で注目されているが、そのメカニズムを生理的機能の観点から考察し、分子から個体行動までの階層的メカニズムを示した研究は未だ少ない。近年、感覚除去を施したマウスにおけるシナプス除去過程にミクログリアが関与していることが明らかとなった (Gunner et al., 2019)。このような感覚喪失・除去において、異種感覚の可塑性が知られている



(Sadato et al., 2005)。これは盲のヒトが点字を使用するときに視覚野を使うなど失われた感覚領野を残存する感覚を利用し、残存する感覚の識別力の向上に寄与すると言う概念である。また先天盲の人は統合失調症の発症に対して抵抗性をもつこと (Morgan et al., 2018)、逆に成熟したヒトでは視覚遮断によって幻覚などが生じ、統合失調症発症リスクが増えることが知られている (Merabet et al., 2004)。これらのエビデンスは、視覚などの異種感覚の可塑的変化のメカニズムをミクログリアが制御している可能性が高いことを示唆し、病態時においてはこの異種感覚の可塑的変化の制御機構が統合失調症発症に抵抗性を示す可能性を意味している。そこで本課題では、知覚の喪失などの変化において、異種感覚領域の結合に対してミクログリアがどのように機能し、その寄与の変容が精神疾患・発達障害に結びつくか？そのメカニズムを多階層的に解析した。

まず、先天的視覚遮断モデルマウスにおいてヒゲ刺激に対して、高次視覚野が応答するメカニズムおよびその機能的意義を明らかにする。これまでの報告で、視覚遮断マウスでは第一次聴覚野 (A1) から高次視覚野 (V2L) に投射があること知られているため (Laramée et al., EJN, 2011)、まず、本研究で用いるモデルでの予備実験として第一次感覚野から高次視覚野への投射を、順行性および逆行性神経回路標識法で明らかにした。

次に、このS1→V2の神経回路がヒゲ刺激に対する応答を検証するために、S1にカルシウム感受性蛍光タンパク質 (GCaMP6s) をコードするアデノ随伴ウイルス (AAV) を注入し、個体にヒゲ刺激を与えた際の軸索活動を2光子顕微鏡による生体イメージングで可視化し、これを数理的処理を加えて視覚遮断マウスと正常マウスの機能応答を比較したところヒゲ刺激に対してS1→V2の軸索はV2内で刺激に同期して活動することが明らかとなった。次に対応する視覚領域 (V2L) でヒゲ刺激に対する応答性を視覚遮断モデルマウスで検証し、正常群と比較するためにV2LにGCaMP6fをコードするAAVを注入し、ヒゲ刺激に対する神経細胞集団の応答を2光子顕微鏡で可視化したところ単純な刺激では視覚遮断群、正常群いずれも同期的な活動を有しなかった。次に、「異種感覚の可塑性は代償的に残存する感覚の識別力を向上させること」について解析した。感覚の識別力が向上したマウスでは、より複雑な物体の提示によって感覚応答の差が出現すると考え、荒さが異なる2種類の紙やすりをマウスのヒゲに提示し、その機能応答の変化を可視化し、数理的に検証することで定量的に比較検討を行ったところ、荒い紙やすりに対して視覚遮断群は有意な活動上昇を示すことがわかった。またこれらの機能応答をもたらすシナプスの可塑的変化に対するミクログリアの寄与を検証するために、コロニー刺激因子1受容体の阻害剤 (CSF1R) の阻害剤を用いて、マウスの開眼4日前 (生後10日) から視覚遮断 (生後14日目) 6日後 (生後20日後) までミクログリアを除去し、成熟したマウスにおける紙やすり刺激に対する神経細胞集団の応答性の変化を2光子顕微鏡で可視化し、これを数理的に解析したところ視覚遮断において認められた活動上昇が阻害されることがわかった。また、この時期におけるV2Lにおける神経細胞集団の紙やすり刺激に対する活動増加はミクログリアによるシナプスに対する作用が考えられるため、各シナプスマーカーとミクログリアをS1およびV2Lで免疫染色することでその相関を検証したところ有意にミクログリアが抑制性シナプス除去を引き起こすことが明らかとなった。さらにこれを電気生理学的に検証するために、S1に光活性化タンパク質 (チャネルロドプシン) を発現したマウスのV2Lの脳スライスを作成し、この抑制性神経細胞および興奮性神経細胞から同時にパッチクランプ法を用いて電氣的活動を計測した。ここに光刺激を行いその応答を確認することで、これらの抑制性および興奮性神経細胞がS1から投射を受けていることを確認し、相互に電流を注入し、刺激することでそれぞれの抑制性シナプス電流および興奮性シナプス電流を記録し、視覚遮断群、正常群および視覚遮断+ミクログリア除去群でその変化を比較したところ興奮性神経細胞における抑制性電流の優位な低下を認めた。またこの際のミクログリアによるシナプス修飾を行う責任分子の同定を行うため、ミクログリアを磁気ビーズ法で単離し、そのmRNAを回収し、これをRNA-seqにかけることで網羅的にその遺伝子発現を時系列に沿って解析した。次に実際に視覚遮断マウスにおいて感覚識別能が向上し、ミクログリアを除去した場合にはこの向上が損なわれるかどうかを検証するために、紙やすりの荒さの違いを検出することで見ず報酬が得られる感覚識別学習装置を作成しこれを用いて、個体行動の計測を行ったところ、視覚遮断群で優位に増加した学習過程がミクログリアによって損なわれることが明らかとなった (Hashimoto et al., 2023)。さて、では成熟期の動物ではどうなるのだろうか？成熟期～高齢期の視覚低下では幻覚を引き起こすことが知られており、シャルルボネ症候群と呼ば

れる。現実成熟期において3日間ほど暗闇の中にヒトを放置すると、正常健人においても幻覚を見ることが古くの研究から知られている。実際に成熟期の視覚遮断を施すと、V2L領域において神経細胞活動の増加を認め、それに伴い、ミクログリアの活性化及びアストロサイト数の増加、また学習行動の低下を認めた。これらのことから視覚遮断の時期によって動物の精神症状が引き起こされるかどうかが決定的という知見を得ることができた。さらに現在統合失調症モデルである22染色体欠失モデルマウスや3q29欠失モデルマウスを用いて、視覚遮断を施すことによってその行動異常の差異さらには神経回路活動の変化を検証している。