

## 脳内免疫システムによるシナプス形成機構とその破綻

田辺章悟

国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 神経薬理研究部

### 【研究の背景】

近年の遺伝子多型の解析により、脳発達障害の発症には免疫関連分子が関係していることが明らかになってきた<sup>1)</sup>。脳内に存在する免疫系細胞は、種々のサイトカインなどを産生して様々な形で脳内の神経回路の形成を制御することが明らかになっているが、脳発達障害への関与はほとんど解明されていない。本研究では、神経回路が盛んに形成される幼年期を対象に、脳内免疫システムの破綻が神経回路の形成に影響するのかを解析した。

### 【目 的】

本研究では、幼年期のマウスの脳に炎症性物質を投与して髄膜内に炎症を誘導するモデルを作出し、脳内免疫システムを破綻させることによる神経回路形成への影響を解析する。幼年期に髄膜炎を引き起こし、成熟後に行動学的解析を行い、不安症状や認知機能、行動性、注意機能などに変化があるのかを明らかにする。また、組織学的な解析から髄膜炎により神経活動に異常が生じる脳領域を特定し、脳内免疫システムの破綻が神経症状の発現に関わる神経回路を同定する。

### 【方 法】

#### 1. 幼年期髄膜炎の誘導

生後 7 日の C57BL/6J マウスに対して、炎症性物質であるカラギーナンを大槽に投与して髄膜炎を誘導した<sup>2)</sup>。24 時間後、フローサイトメリーにより脳内に浸潤する CD4<sup>+</sup> T 細胞、CD8<sup>+</sup> T 細胞、マクロファージ、ミクログリア、B 細胞の動態解析を行った。

#### 2. 成体での行動学的解析

生後 7 日で髄膜炎を誘導したマウスを 10 週齢まで成長させ、行動学的解析を行った。

##### ① 明暗選択箱

10 分間、暗い箱と明るい箱を自由に行き来させ、それぞれの部屋に滞在する時間と回数を計測した。

##### ② オープンフィールド

120 分間、50 × 50 cm の箱の中を自由に行動させ、総移動距離と中央のスペースの滞在時間を計測することで行動性と不安様行動をそれぞれ解析した。

##### ③ 高架式十字迷路

10 分間、幅 10 cm の十字路にマウスを立たせ、壁のない通路と壁のある通路におけるそれぞれの滞在時間を計測し、不安様行動を解析した。

##### ④ バーンズ迷路

円形の外周に 12 個の穴が空いたテーブルにマウスを立たせ、穴のうち 1 つだけあるトンネルに逃避するまでの時間を 7 日間計測した。

##### ⑤ プレパルス抑制

74 dB の弱い音刺激を与えた後に、120 dB の音刺激で驚愕反応を誘導した。

### 3. 行動異常に関与する脳領域の特定

プレパルス抑制の行動実験を行った 60 分後、4% パラホルムアルデヒドを用いて灌流固定し、凍結切片を作製して神経活動の指標である c-fos に対する抗体を用いて免疫組織学染色を行った。

## 【結 果】

#### 1. 幼年期髄膜炎の誘導による免疫系細胞の動態解析

生理食塩水投与群 (Saline) とカラギーナン投与群 (Carrageenan) を比較すると、いずれの免疫系細胞も大きく増加していたが、特にマクロファージの大幅な増加が認められた。マクロファージや CD4<sup>+</sup> T 細胞は脳の実質には浸潤せず、髄膜に多く局在する組織像が観察された。

#### 2. 行動学的解析

明暗選択箱試験では、生理食塩水投与群とカラギーナン投与群の間で有意な差は観察されなかった。オープンフィールド試験では、カラギーナン投与群では総移動距離が有意に増加した。高架式十字迷路試験とバーンズ迷路では、両群で有意な差は観察されなかった。プレパルス抑制試験では、カラギーナン投与群でプレパルス抑制の割合が有意に低かった。

#### 3. 行動異常に関与する脳領域の特定

多動行動や注意力に関与していると考えられている脳領域である前頭前皮質、背側線条体、孤束核、扁桃体における c-fos<sup>+</sup>細胞数を計測した。その結果、背側線条体、孤束核において c-fos<sup>+</sup>細胞数が多く検出された。

## 【考 察】

幼年期のマウスに髄膜炎を引き起こすと、不安様行動や認知機能に変化は認められなかったが、多動行動や注意力の低下が見られた。さらに、孤束核や背側線条体の神経が過剰に活性化していることを明らかにした。幼年期の髄膜炎により孤束核や背側線条体へ投射する神経のシナプス形成に異常が生じている可能性が示唆される。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

これらの神経症状はヒトの脳発達障害である注意欠陥多動性障害 (Attention deficit hyperactivity disorder: ADHD) に類似している。実際、小児の細菌性髄膜炎は ADHD のリスクファクターであることが報告されている<sup>3)</sup>。小児期の髄膜炎での炎症が異常な神経回路を形成させ、ADHD 様の神経症状を引き起こしていることが考えられる。今後、幼年期の髄膜炎で異常な神経回路の形成に寄与する免疫系細胞の特定やその分子メカニズムの解明、更には孤束核と接続性が変化している脳領域を明らかにしていく必要がある。

## 【参考・引用文献】

- 1) Voineagu I, Wang X, Johnston P, Lowe JK, Tian Y, Horvath S, Mill J, Cantor RM, Blencowe BJ, Geschwind DH. Transcriptomic analysis of autistic brain reveals convergent molecular pathology. *Nature*. 2011 May 25;474(7351):380-4. PMID:21614001. DOI: 10.1038/nature10110.
- 2) Gamache DA, Povlishock JT, Ellis EF. Carrageenan-induced brain inflammation. Characterization of the model. *J Neurosurg*. 1986 Nov;65(5):679-85. PMID:3772456.
- 3) Hadzic E, Sinanovic O, Memisevic H. Is Bacterial meningitis a risk factor for developing attention deficit hyperactivity disorder. *Isr J Psychiatry Relat Sci*. 2017;54(2):54-57. PMID:29248907