

ミクログリア応答を制御する新規候補因子の解析

市村 春嘉 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 鶴田 文憲 (筑波大学 生命環境系)

【背景と研究概要】

哺乳類の脳の発達には、胎児期と新生児期では大きく異なった様相を呈する。胎児期では神経幹細胞から数多くの神経細胞が作られ、神経ネットワーク全体の大まかな形ができるのに対し、新生児期では視覚、聴覚、触覚といった外界の刺激を受けてより細かい神経細胞同士の繋がり(シナプス)が形作られていく。新生児期におけるこれら外界からの刺激は正常な脳発達に必要な不可欠であり、この刺激を遮蔽すると脳機能に障害が生じる。そして近年、これら外環境刺激と新生児期の脳形成に影響を与えるメディエーターとして、ミクログリアに注目が集まっている。

脳細胞は、神経回路を構成する神経細胞と、それを補助するグリア細胞の2つに大別できる。ミクログリアはこのグリア細胞の一種であり、免疫システムの制御を介して脳内の恒常性維持に寄与することが知られている。新生児期の脳では上記の機能に加え、胎児期に作られた神経細胞のうち、外環境からの刺激が入力されず不要と判断されたシナプスを排除する機能を併せ持つ。興味深いことに、発達障害の患者の脳ではミクログリアの過剰な活性化が観察されており、このようなミクログリアの異常は発達期における神経回路形成の異常と関連があると考えられる。しかし、発達期におけるミクログリア制御の詳細なメカニズムは未だ明らかとなっていない。

本研究の先行研究において、ミクログリア活性を制御する複数の候補因子を同定してきた。本研究では、その中の一つリノール酸に着目し、解析を行った。先行研究から、炎症応答を惹起するリポ多糖(Lipopolysaccharide; LPS)がミクログリアを活性化することが知られている。本研究において、LPS刺激依存的な形態変化の持続時間が、リノール酸処理によって延長されることを見出した。ミクログリアの形態が活性化の状態を判断する上で重要な指標となることから、リノール酸がミクログリア活性を調節する新規因子であることが推測できた。

【材料と方法】

(1) ミクログリアの形態観察

ミクログリア細胞株 BV-2 を 12well dish にそれぞれ 1×10^4 cell/well になるように播種し、 37°C で 1 日培養した。次に、100 μM , 33 μM , 10 μM のリノール酸を添加して 1.5 時間培養し、その後 1 $\mu\text{g/ml}$ の LPS を添加した。これらの過程において位相差顕微鏡を用いて継続的に写真撮影を行い、得られたデータを ImageJ で解析した。

【結果】

最初に、リノール酸単独でミクログリア細胞株 BV-2 の形態変化に影響を与えるか検討したが、コントロールと大きな差異が認められなかった。このことから、リノール酸単独ではミクログリア応答に影響を与えないことが推測できた。次に、リノール酸処理が基底状態でのミクログリア特性を制御し、LPS 刺激などの炎症性ストレス応答に影響を与えるか検証した。その結果、LPS 投与前にリノール酸で 1.5 時間処理しておくこと、LPS 刺激による形態変化の持続時間に変化が生じることを見出した。このことから、リノール酸はミクログリア応答の直接的な制御因子ではなく、基底状態におけるミクログリアの活性化状態を調節する新規メディエーターであることが推測できた。

【考察】

通常、ミクログリアの多くは静止型の状態で脳内に留まっているが、炎症性刺激などにより、形態変化とともに活性型の状態へと変化する。本研究成果は、ミクログリアの性状変換にリノール酸が関与する可能性を示唆している。リノール酸は、アラキドン酸経路の最上流に位置する不飽和必須脂肪酸で、過剰摂取は炎症応答を引き起こすことが報告されている。その一方、リノール酸や下流のアラキドン酸の摂取量調節により、自閉症など発達障害の症状が緩和される、という報告もなされている。このことから、新生児期におけるリノール酸摂取量の調節が、発達期におけるミクログリア活性制御ならびに高次脳機能制御に重要な役割を担う可能性が推測できる。