

「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」  
平成 23 年度採択研究代表者

H26 年度  
実績報告書

鍋倉 淳一

自然科学研究機構 生理学研究所  
教授

生体内シナプス長期再編におけるグリアーシナプス機能連関

## §1. 研究実施体制

### (1) 鍋倉グループ

① 研究代表者: 鍋倉 淳一 (生理学研究所、生体恒常機能発達機構研究部門、教授)

② 研究項目

・生体内シナプス長期再編におけるグリアーシナプス機能連関

i. 慢性疼痛モデルの脳皮質感覚野回路の再編の基本情報の抽出とグリア連関の抽出

ii. 発達期脳皮質におけるシナプスおよびグリア動態の生体内可視化のための2光子励起顕微鏡観察システムの最適化と応用

### (2) 小泉グループ

① 主たる共同研究者: 小泉 修一 (山梨大学医学部、教授)

② 研究項目

・グリアーシナプス機能連関因子の解析

i. 慢性疼痛動物の脳皮質 S1 野におけるグリア性シナプス再編因子の探索及び分子メカニズムの解明

ii. アストロサイト及びマイクログリアの活性化制御を可能とする遺伝子改変動物を用いた、グリア-ニューロン連関の解析実験

## §2. 研究実施の概要

脳機能発現の基盤である神経回路の長期変化について、多光子励起顕微鏡を用いたシナプスの生体内長期間観察を中心に研究を遂行し、生体におけるシナプス動態の基本情報を明らかにする。これをもとに、内外環境の変化に伴うシナプスの長期再編の特徴を抽出し、それを制御するメカニズム、特に、ニューロンによるグリア機能の制御やグリアによるシナプス再編機構について、*in vitro*における関連する候補分子の抽出と*in vivo*における検証を主な研究の軸として、長期回路再編の背景にあるニューロンおよびグリアの機能変化を明らかにする。これにより、内的・外的要因に伴う脳機能表現の変化の基盤である局所回路機能の変化を発達期・成熟期および、慢性疼痛などの各種障害モデル動物で検証し、大脳皮質におけるシナプス再編と行動との因果関係を検討する。

本年度はアストロサイトとミクログリアに着目し、次の3点に関して研究を行い、グリア細胞による神経回路形成、再編成機構を多角的に明らかにした。

### 1. 慢性疼痛時における神経再編に対するアストロサイトの役割とシナプス再編に関わるメカニズムの解明

慢性疼痛における中枢神経系体性感覚野(S1)の関与に関して、2光子顕微鏡を用いた生体脳イメージングを用い、*contra.S1* (傷害側肢からの入力を受けるS1)の神経細胞活動の変化、グリア細胞活動の変化及びシナプス再編について検討した。末梢神経損傷後の痛覚過敏増悪期に一致して、大脳皮質アストロサイトの活性が一過性に増加し、シナプス再編が亢進していた。アストロサイトの活動を抑制すると、シナプス再編の抑制と慢性疼痛の軽減が観察された。末梢神経損傷による大脳皮質アストロサイトの活性化が体性感覚野における痛覚過敏回路を構築のトリガーになっていることが示唆された。

この結果を受けて、将来の慢性疼痛治療のターゲットの探索を行うために、アストロサイト活性化—シナプス再編—痛覚過敏回路の構築の一連のカスケードにおける各シグナルの検討を継続している。坐骨神経傷害後、S1において細胞外ATPの一過性の上昇を認めた。細胞外ATPは、非感染性炎症時の初期のメディエーターとして最も重要な分子の1つである。そこで、ATPがアストロサイト性シナプス新生メカニズムに果たす役割を検討した。ナイーブなマウスS1にATPを投与することにより惹起される痛み行動、ニューロメーターによる責任神経細胞の同定、2光子顕微鏡によるシナプスイメージングにより、ATPがアストロサイト依存的なシナプス再編及び難治性メカニカルアロディニアのトリガーである可能性を示唆した。

これに加えて、機能的核磁気共鳴法(fMRI)を用いた研究により慢性疼痛患者においては、両側S1活動が亢進することが明らかにされている。しかしながら正常側では脳機能活動が亢進しているものの正常側肢の痛覚は変化せず、fMRI情報と実際の感覚が解離する。そこでこの解離する原因を探り出し、そこから慢性疼痛を理解し、治療への可能性を見出すことを目標とした。本年度は、活動が亢進している対側S1からの脳梁を介した入力によって、*ipsi.S1*におけるアストロサイトと抑制性神経細胞の活動が亢進していることを明らかにした。この結果から、機能的MRIによっ

てみられる両側S1の活動増加は異なるメカニズムで惹起されていることが考えられる。

## 2. ミクログリアの発達期におけるシナプス形成にかかわるメカニズムの解明

ミクログリアこれまでは障害脳において重要な役割を担うことが知られているが、近年正常脳において、ミクログリアがシナプスを定期的に監視し、神経回路形成、またその再編に寄与することが明らかにされた。本課題では発達脳においてミクログリアのシナプス再編への関与について2光子顕微鏡を用いた生体イメージングを用いて検討した。発達に伴いミクログリアが活性型から静止型へ変化した。活性化型である未熟期において、ミクログリアの神経細胞樹状突起への接触によりフィロポディアが形成された。ミクログリアに百日咳毒素を特異的に発現させて死滅させると大脳皮質におけるシナプス密度の減少が見られ、ミクログリアは未熟脳において時期特異的にシナプス形成に係わっていることが判明した。

## 3. 虚血耐性におけるアストロサイトとシナプス再編

虚血時のアストロサイトの機能について研究を行い、非常に弱く神経細胞に影響を与えないような脳虚血(プレコンディショニング)が、アストロサイトの活性化を引き起こし、神経保護分子を産生することを見出した。これにより、虚血に強い脳、つまり虚血耐性が獲得できること、脳卒中のペナンプラ領域におけるシナプス再編亢進に繋がる可能性が示唆される。

## 原著論文

1. Hirayama Y, Ikeda-Matsuo Y, Notomi S, Enaida H, Kinouchi H, Koizumi S. (2015) Astrocyte-mediated ischemic tolerance. *J Neurosci* 35: 3794-3805. (DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4218-14.2015)