

LPS を用いた末梢免疫系活性化によるミクログリアの形態変化とスパインの変化

東京大学大学院 医学系研究科 神経細胞生物学

根東 覚、岡部繁男

GFPを大脳皮質錐体細胞に発現するトランスジェニックマウスを利用した *in vivo* imaging により、生体内での興奮性シナプス後部の指標であるスパインの生成・消失の機構が明らかになってきた。我々の研究室では海馬スライス培養標本においてアストログリアの微小突起による直接接触がスパイン寿命と形態の成熟を促進するという結果を得 (J.Neurosci., 2007)、さらにグリア細胞によるシナプス動態制御の分子機構を *in vivo* 観察を利用して解析することを試みつつある。頭蓋骨の処理方法によって皮質内のグリア細胞の活性化の程度が異なる可能性が 2007 年に報告されたため、より厳密な生体内でのスパイン生成・消失のモニターに適した手法である thinned-skull 法 (菲薄処理を施した骨組織を介して二光子顕微鏡観察を行う方法) を本研究では採用した。

まずコントロールでのスパイン動態を理解するため、2,7,28 日間隔で *in vivo* スパイン観察を行った。各時間間隔でのスパイン変化率を計算した所、2 あるいは 7 日間での変化率 (短期変化率) は 3% 程度であり、28 日間では 6% 程度に上昇した。短期変化率を全てのスパインに等しく適用するモデルを仮定すると 28 日間で積算される理論的な変化率 (約 30%) は実測値 (6%) をはるかに上回るため、短期変化率に反映される速い動態は一部のスパインに限定されたものと考えられる。

次に非特異的な免疫賦活作用を持つ LPS を末梢投与することで、血液脳関門の外での急性炎症反応が果たして脳内でのシナプス動態に影響を及ぼしうるのか検討を行った。LPS 投与群では、短期変化率はコントロールと大きな差はなかったが、28 日間のデータで変化率がコントロールの 2 倍程度 (約 10%) に上昇した。短期変化率に有意の差がないことは、前述の速い動態を示すスパイン群への LPS の効果は小さく、それ以外の安定なスパインの遅い変化を選択的に増強した可能性を示唆する。さらに LPS 投与後 28 日間を 1 週間ずつに分けてスパイン変化率を測定しても有意の差が検出できなかった点も、速いスパイン変化に影響がないとする上記の仮説を支持する。

緩徐なスパイン変化が、LPS 投与後の急性炎症反応が収まった後にも持続する、グリア細胞の変化による可能性を検討した。LPS 投与後に GFAP 蛋白質の発現上昇を指標としたアストログリアの活性化は検出されなかったが、Iba1 抗体によるミクログリアの形態に関しては持続的な変化が検出された。

以上のデータは LPS 投与によって引き起こされる緩徐なスパイン変化の維持にミクログリアの持続的な機能変化が相関する可能性、および両者の因果関係についての今後の検討の必要性を示している。