

179. ミクログリア由来ニューレグリン1機能の多角的解析

牧之段 学

奈良県立医科大学 医学部 精神医学講座

Key words : ニューレグリン1, ミクログリア, 自閉症, 統合失調症, 免疫系

緒言

ニューレグリン1 (NRG1) は、神経系組織においてシナプス形成、N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体発現、GABA 神経細胞の分化、オリゴデンドロサイトの発達・分化、ミエリン形成等に関与する神経成長因子である¹⁾。NRG1 はとりわけ神経回路形成が活発な発達期の脳で強く発現することが知られており、その回路形成や回路の態様に影響を与えることが考えられ、統合失調症などの病態の基盤形成に関与していると想定される。一方、最近の核医学の進歩や共同研究者である加藤らの研究により、自閉症や統合失調症患者脳においてグリア細胞の一つであるミクログリアが活性化されていることが明らかとなっている²⁻⁴⁾。ミクログリアが活性化されると interleukin-1beta (IL-1 β)、interleukin-6 (IL-6)、tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) などの炎症性サイトカインの発現が上昇するが、それらが脳機能に影響を与え、精神障害が生ずると考えられてきた。一方、ミクログリアは brain-derived neurotrophic factor (BDNF) や NRG1 などの神経栄養因子も発現しており、また NRG1 の発現量はミクログリア活性化により上昇するため、自閉症患者や統合失調症患者脳で活性化したミクログリアでは NRG1 の発現量が亢進していると考えられる。よって本研究では、まず複数の精神疾患モデルマウスのミクログリア由来炎症性サイトカイン (IL-1 β 、IL-6、TNF- α) および NRG (NRG1、2、3、NRG1 type I、II、III) 発現量を測定した。次にミクログリアと同じ免疫系細胞である末梢血単核球におけるニューレグリン1発現量を、自閉スペクトラム症患者の諸症状と比較、検討した。

方法および結果

1. ミクログリア由来 NRG 発現と活性化による発現量増加

生後8日目の C57BL/6J マウスから磁性細胞分離によりミクログリアを単離して24時間の培養後、免疫染色を行った。ほぼ全ての DAPI+細胞が、Iba1+NRG1+であり、高精度の磁性細胞分離とミクログリアにおける NRG1 発現を確認した (図 1a; bar = 50 μ m)。24時間の LPS 活性化により NRG1、NRG3、NRG1 type I、II、III の発現増加が認められた (図 1b、c; Student's t-test *p < 0.05)。in vivo でのミクログリア由来 NRG1 発現を確認すべく、LPS を腹腔内投与され24時間を経過したマウス海馬を免疫染色したところ、Iba1+NRG1+DAPI+の細胞が観察され、in vitro のみならず、in vivo でもミクログリアによる NRG1 発現が確認された (図 1d; bar = 10 μ m)。

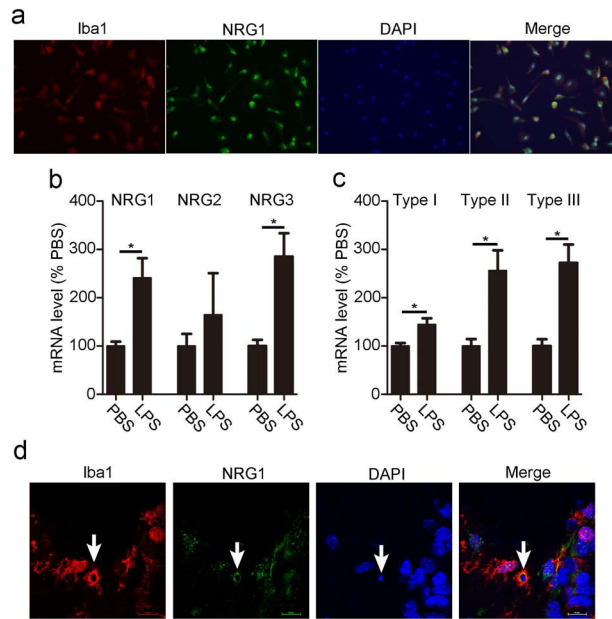


図1. ミクログリア由来ニューレグリン1の発現

- (a) 培養ミクログリアのNRG1発現。(b, c) LPS刺激(24時間)によるNRG mRNA発現の上昇。
 (d) LPS刺激(24時間)後の海馬ミクログリアのNRG1発現。

2. 精神疾患モデルマウスのミクログリア由来NRG発現

自閉症モデルマウスとしてBTBR mice、統合失調症モデルマウスとしてFabp7ko mice、統合失調症および自閉症モデルマウスとして母体感染モデルマウス(MIA-mice)、虐待モデルマウスとして幼若期隔離マウス(IS-mice)、を用い、それぞれから磁性細胞分離によりミクログリアを単離した。前3つのマウスは生後8日目の全脳から、IS-miceは生後72日目の大脳皮質からの単離を行った。興味深いことに、BTBR miceおよびIS-miceでは、のミクログリア由来炎症性サイトカインの上昇とともに、NRG発現量も増加しており、Fabp7ko miceでは逆に炎症性サイトカインとNRGの発現量は低下していた(図2、図3、data not shown; Student's t-test * $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$)。予想外に、免疫系異常が病態の主因であるMIA-miceのミクログリアではIL-1 β の増加のみが認められ、NRG発現量は変化していなかった(data not shown)。

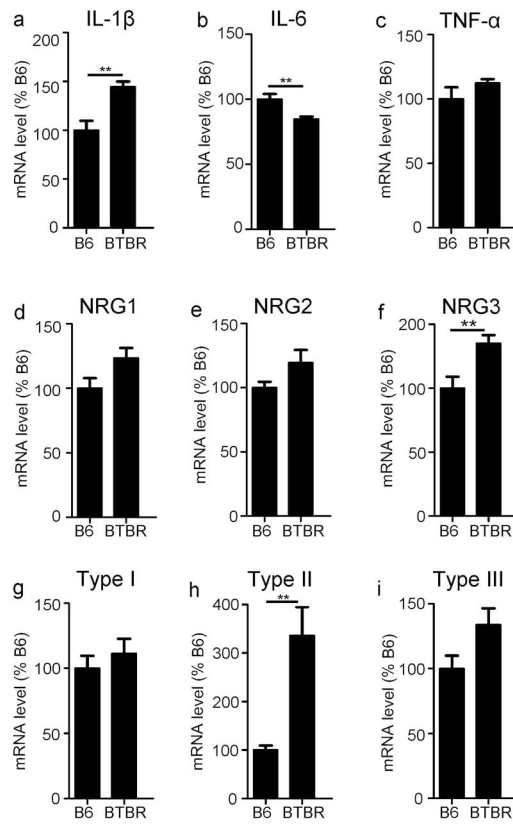


図2. BTBR mice ミクログリアのNRG 発現量

BTBR mice ミクログリアでは、C57BL/6J mice に比べて IL-1 β 、NRG3、NRG1 type II の発現量が上昇していた (a, f, h)。IL-6 は BTBR mice で低下していた。** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 。

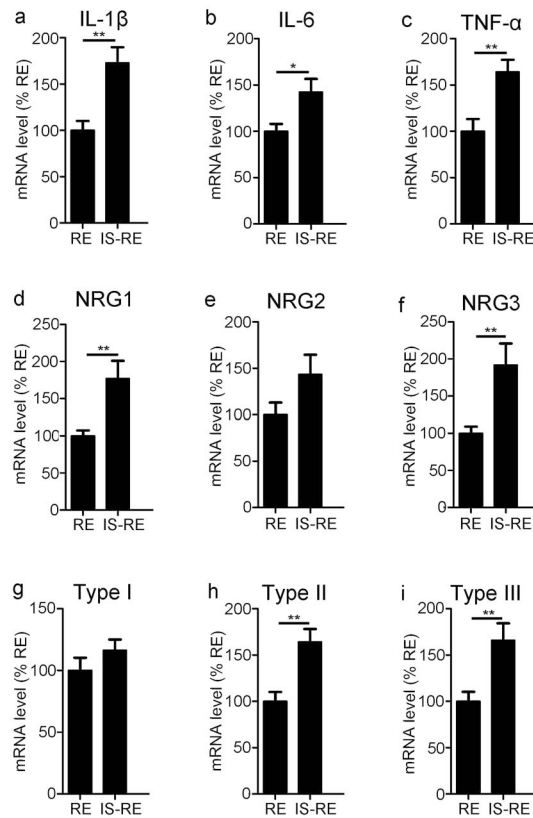


図3. IS-mice ミクログリアの NRG1 発現

IS-mice (1 匹飼い) のミクログリアでは対照マウス (4 匹飼い) に比べて IL- β 、IL-6、TNF- α 、NRG1、NRG3、NRG1 type II、III の発現量が上昇していた (a、b、c、d、f、h、i)。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

3. 単核球由来 NRG 発現量と自閉スペクトラム症諸症状との相関

次にヒトの免疫系における NRG 発現量と精神症状との関連を調べるため、自閉スペクトラム症患者 29 名の単核球における NRG の発現量を測定した。ヒト induced microglia-like cells でも NRG1 が強く発現していることを確認したが (data not shown)、本研究では入手しやすい末梢血単核球を解析した。単核球では、NRG2、NRG3、NRG1 type I、II は発現しておらず、NRG1 type III のみ発現していた。自閉スペクトラム症諸症状の評価は ADI-R により行った。単核球由来 NRG1 type III 発現量は、domain B スコア (コミュニケーション障害)、domain C スコア (反復行動、こだわり) との相関を認めなかったが、domain A スコア (社会性障害) と有意な相関を認めた。これらの結果から、単核球由来 NRG1 type III 発現量と自閉スペクトラム症症状は何かしらの関連があることが示された。

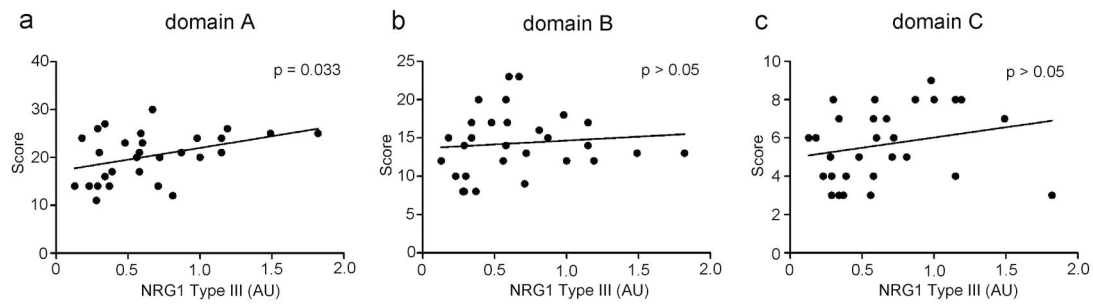


図4. 単核球 NRG1 type III 発現量と ADI-R スコア

単核球の NRG1 type III 発現量と ADI-R domain A スコア（社会性障害）に有意な相関を認めた (a)。一方、domain B スコア（コミュニケーション障害）と domain C スコア（反復行動、こだわり）との有意な相関は認めなかった (b, c)。

考 察

本研究では、複数の精神疾患モデルマウスの上皮細胞における NRG 発現量を測定し、対照群との差異を認めた。上皮細胞はニューロンと比べ脳内での可動域が大きく、そのため上皮細胞由来 NRG はニューロン由来 NRG よりも局所で高濃度に作用する可能性がある。よって、NRG についてはニューロン由来であることが前提で研究されてきたが、今後は上皮細胞 NRG も念頭に置いて精神医学研究を進めなければならない。

BTBR mice と IS-mice では対照群と比較して上皮細胞由来 NRG の発現量が亢進していたが、幼若期の過剰な NRG1 や NRG3 は統合失調症や自閉症様症状を呈すと報告されており^{5,6)}、幼若期の上皮細胞 NRG の過剰発現が精神疾患の症状形成に何らかの影響を与えているかもしれない。

自閉スペクトラム症患者の単核球 NRG1 type III 発現量が ADI-R の domain A スコアと有意な相関を示したことは、ヒトにおいても免疫系の NRG1 発現量が精神症状を修飾するのかもしれない。

本研究により、免疫系細胞の上皮細胞や単核球における NRG 発現量が、精神症状を変化させる可能性が示された。

共同研究者

本研究の共同研究者は、奈良県立医科大学精神医学講座の井川大輔・岸本年史、福井大学子どもの心の発達研究センターの岩田圭子・松崎秀夫、および九州大学精神医学講座の扇谷昌宏・加藤隆弘・神庭重信である。

文 献

- 1) Corfas G, Roy K, Buxbaum JD. Neuregulin 1-erbB signaling and the molecular/cellular basis of schizophrenia. *Nat Neurosci.* 2004 Jun;7(6):575-80. Review. PubMed PMID: 15162166.
- 2) van Berckel BN, Bossong MG, Boellaard R, Kloet R, Schuitmaker A, Caspers E, Luurtsema G, Windhorst AD, Cahn W, Lammertsma AA, Kahn RS. Microglia activation in recent-onset schizophrenia: a quantitative (R)-[11C]PK11195 positron emission tomography study. *Biol Psychiatry.* 2008 Nov 1;64(9):820-2. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.04.025. Epub 2008 Jun 4. PubMed PMID: 18534557.
- 3) Suzuki K, Sugihara G, Ouchi Y, Nakamura K, Futatsubashi M, Takebayashi K, Yoshihara Y, Omata K, Matsumoto K, Tsuchiya KJ, Iwata Y, Tsujii M, Sugiyama T, Mori N. Microglial activation in young adults with autism spectrum disorder. *JAMA Psychiatry.* 2013 Jan;70(1):49-58. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2013.272. PubMed PMID: 23404112.
- 4) Kato TA, Yamauchi Y, Horikawa H, Monji A, Mizoguchi Y, Seki Y, Hayakawa K, Utsumi H, Kanba S. Neurotransmitters, psychotropic drugs and microglia: clinical implications for psychiatry. *Curr Med Chem.* 2013;20(3):331-44. Review. PubMed PMID: 23157624.
- 5) Kato T, Abe Y, Sotoyama H, Kakita A, Kominami R, Hirokawa S, Ozaki M, Takahashi H, Nawa H. Transient exposure of neonatal mice to neuregulin-1 results in hyperdopaminergic states in adulthood: implication in neurodevelopmental hypothesis for schizophrenia. *Mol Psychiatry.* 2011 Mar;16(3):307-20.

doi: 10.1038/mp.2010.10. Epub 2010 Feb 9. Erratum in: *Mol Psychiatry*. 2013 Aug;18(8):951. PubMed PMID: 20142818.

- 6) Paterson C, Law AJ. Transient overexposure of neuregulin 3 during early postnatal development impacts selective behaviors in adulthood. *PLoS One*. 2014 Aug 5;9(8):e104172. doi: 10.1371/journal.pone.0104172. eCollection 2014. PubMed PMID: 25093331; PubMed Central PMCID: PMC4122441.