

【目的】胎生期の脳実質において、ミクログリアは胎齢の進行に伴い分布変化を示す。すなわち、マウス胎生 14 日目 (E14) までは脳実質全体に均一に存在しているが、E15 から E16 において皮質板から不在となる。そして、E17 以降には再び皮質板に分布する。そこで本研究では、ミクログリアが胎生中期皮質板から一過性に不在となる分子メカニズム、および、その生理学的意義について明らかにすることを目指した。

【方法】ミクログリアが皮質板から不在となる現象を理解するため、ミクログリア可視化 CX3CR1-GFP マウスの脳スライス培養下ライブイメージングを行った。その結果、ミクログリアは E14 で最も活発に動き、脳実質内を両方向に移動する傾向を見出した。ミクログリアの移動に関わる分子候補として CXCL12/CXCR4 を同定し、*Cxcr4*^{-/-} マウスを用いたライブイメージングおよび組織学的解析を通じて、CXCL12/CXCR4 の相互作用がミクログリアの移動や分布に関わる可能性について検証した。次に、ミクログリアが胎生中期皮質板から離脱する意義を問うため、この時期にミクログリアを皮質板内に強制的に配置させることを試みた。例えば、脳スライスの髄膜側に CXCL12 ビーズを配置する方法、単離したミクログリアを直接皮質板に移植する方法、*in vivo* で皮質板へと移動を終えたニューロン特異的に CXCL12 を過剰発現させミクログリアを誘引する方法を選択した。ミクログリア近傍のニューロンへの影響を組織学的に解析した結果、ニューロンの機能成熟に関わる重要な遺伝子群の発現に乱れが生じていることを見出した。さらに、ミクログリアと共培養したニューロンについて RNA シークエンス解析を行い、ニューロンの成熟を乱すミクログリア由来分子を探索した。その結果、1 型インターフェロン (IFN-I) とインターロイキン 6 (IL-6) が候補として浮上した為、上述の *in vivo* でミクログリアを強制的に皮質板へと誘引する方法と、候補分子に対する中和抗体の脳室投与を組み合わせ、その分子の関与について検証した。

【結果】ライブイメージングの結果、ミクログリアは E14 において脳実質内を両方向に移動する性質を有することを発見し、皮質板内に存在するミクログリアは髄膜方向へと、中間帯に存在するものは脳室方向に向かって移動することが分かった。そして、ミクログリアが髄膜および脳室下帯が産生する CXCL12 を感知して移動した結果、皮質板から離脱することを明らかにした。また、本来皮質板から不在となる胎生中期にミクログリアを皮質板へと強制的に配置すると、近傍のニューロンにおいて II~IV 層ニューロンマーカーである *Satb2* や *Cux1* 等の発現が異常に高まり、逆に *Ctip2* 等の V 層ニューロンマーカーの発現は低下することを見出した。さらに、この発現変化をきたす要因としてミクログリア由来の IFN-I と IL-6 を同定した。以上の結果は、ミクログリアが一時的に皮質板から離れることによって皮質板に存在するニューロンの適切な成熟の進行を乱さないように自身の居場所を調節していることが示唆された。

胎生中期皮質板内の異所性ミクログリアはニューロンの成熟ステップを乱す

