Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-11

Maternal immune activation induces sustained changes in fetal microglia motility

Ozaki, Kana

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2021-03-25
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲第7928号
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007928

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

（課程博士関係）

学 位 論 文 の 内 容 要 旨

Maternal immune activation induces sustained changes in fetal microglia motility

母体の免疫活性が胎児ミクログリアの動態に持続的な変化を引き起こす

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
産科婦人科学分野　産科生殖医学部門
（指導教員：寺井　義人教授）

尾﨑　可奈

【目的】

妊娠中の母体感染や炎症によって、児の発達障害や統合失調症の発症リスクが高くなることが近年報告され、動物実験では疾患モデルとして使用されている。しかし、母体の炎症によって、自閉症や統合失調症のリスクが上昇するメカニズムに関しては明らかになっていない。

母体免疫活性と血液中のサイトカインの上昇が胎児脳に影響し、ミクログリアが反応することが知られている。脳内に存在する免疫細胞であるミクログリアは、卵黄嚢で発生し、胎生初期に中枢神経系に浸潤する。胎生期ミクログリアは、細胞体が大きく突起の短いアメボイド型の形態をとるが、発達期にかけて脳全体に分布しながら、分枝を多数もった細長い突起のあるラミファイド型の形態へ変化する。これまで、母体炎症によって胎児あるいは新生児におけるミクログリアの遺伝子発現に変化が生じること、ミクログリアの形態が変化することが報告されている。これらの報告は、炎症を誘発する方法｛リポ多糖（Lipopolysaccharide ： LPS)、Polyinosinic polycytidylic acid〔Poly(I:C)〕｝、炎症を誘発する時期（妊娠初期、中期、後期）が報告によって異なっている。また、ミクログリアの遺伝子発現の測定、形態観察を行う日齢も報告によって異なる。正常の発達段階においてミクログリアの遺伝子発現は変化し、ミクログリアの形態はダイナミックに変化する。そのため、母体炎症を誘発した際、特定の時期だけ胎児ミクログリアを観察するのでは正確に捉えることができない。また胎児期に起きる現象がその後どのように作用するかは知られていない。

一方、2 光子顕微鏡を用いた研究から、成人期のミクログリアは、分岐の多数ある突起を常に動かすことで、周囲の環境を探知することが明らかになっている。病原体の侵入によってミクログリアは活性化し免疫応答が生じる。さらに、ミクログリアの突起がシナプスに接触することで、シナプス形成と除去に関わることが知られている。しかし、これまで母体炎症に対する胎児ミクログリアの突起の動き（動態）に関する詳細な報告はされていない。

我々は、母体炎症が胎児ミクログリアにどのように影響するのか調べるため、妊娠中期と後期の異なる時期に炎症を起こした母体炎症モデルマウスを用いて、胎生期、発達期、思春期におけるミクログリアを調べた。ミクログリアの遺伝子発現の評価、形態の観察、突起の動態観察を行った。さらに、ミクログリアが発達障害や統合失調症に寄与するのか行動実験を行い検討した。

【方法】

今回の研究では、マウスの妊娠中期（妊娠 12 日）と妊娠後期（妊娠 15 日）の異なる妊娠期において、ウイルス感染と類似した炎症を引き起こす Poly(I:C) 10 mg/kg を腹腔内投与することで、母体炎症を誘発した。コントロール群は、同等量の生理食塩水を投与した。ミクログリアに Green fluorescent protein(GFP)が発現している遺伝子改変マウス(CX_3CR1-EGFP マウス)を使用することでミクログリアを可視化し、2 光子顕微鏡下に胎生 18 日（胎生期)、生後 10 日（発達期)、生後 42 日（思春期）においてミクログリアの突起の動きを解析した。

さらに、自閉症患者では、発熱時に行動異常が改善するという報告がされていることから、自閉症で変化を示す社会行動に着目した。母体炎症によって社会行動に異常を示す生後 42 日マウスにおいて、LPS 1 mg/kg 腹腔内投与で全身炎症を誘発し、ミクログリアの突起の動きと行動結果との関わりを調べた。

【結果】

妊娠中期（妊娠 12 日）と後期（妊娠 15 日）の異なる妊娠期に Poly(I:C)を投与すると、妊娠 18 日で母体肝臓、胎盤において、Interleukin-6（IL-6)の発現上昇を認めた。また、妊娠中期と後期いずれの母体炎症においても、胎生 18 日のミクログリアで IL-6 の発現上昇を認めた。一方、生後 10 日においては、ミクログリアの炎症性サイトカインに差は認めないものの、母体炎症を起こした群では、分化に関わるミクログリア特異的な遺伝子に差を認め、妊娠中期の母体炎症によってプリン作動性 G タンパク質共役型受容体である P2Y12 receptor（P2Y12R)の低下、妊娠後期の母体炎症によって Transmembrane protein 119（TMEM119)の上昇を認めた。

大脳皮質におけるミクログリアの形態に関しては、ミクログリアの細胞体面積、突起長総和、突起数、分岐数、密度の項目を調べたが、胎生 18 日、生後 10 日いずれの時期においても、母体炎症を起こした群とコントロール群で差を認めなかった。

一方、ミクログリアの動態に関しては、母体炎症によって胎性 18 日、生後 10 日いずれの時期においても変化を認めた。胎生 18 日では、胎児の急性スライス脳を人工脳脊髄液で灌流しながら、２光子顕微鏡下にミクログリアの突起の動きを観察した。胎生 18 日のミクログリアでは、妊娠中期と後期いずれの母体炎症においても、突起の運動速度が上昇した。このことは、胎児の急性スライス脳を人工脳脊髄液で灌流しながら、IL-6 を直接投与することでも、同様の結果が得られ、突起の運動速度上昇に IL-6 が関与することが示された。生後 10 日では、頭蓋を削って脳を露出させた生体マウスを用いて、2 光子顕微鏡下にミクログリアの突起の動きを観察した。生後 10 日のミクログリアでは、妊娠中期と後期いずれの母体炎症においても、突起の運動速度は低下し、さらに妊娠中期に母体炎症を起こした群では、突起の動きが一定方向へ偏る傾向（極性の上昇）を示した。これらミクログリアの突起の動きの変化は、発達段階においてミクログリアが関わる神経回路構築に影響を与える可能性が推察される。

生後 42 日まで成長した時期では、LPS 1 mg/kg 腹腔内投与で全身炎症を引き起こした際のミクログリアの反応を調べた。頭蓋を削って脳を露出させた生体マウスを用いて、2 光子顕微鏡下に LPS 投与前後のミクログリアの突起の動きを観察した。妊娠中期と後期いずれの時期に母体炎症を起こした群もコントロール群も、LPS 投与によってミクログリアの突起の運動速度は上昇したが、突起の極性上昇は妊娠中期に母体炎症を起こした群でのみ認めた。さらに、2 光子イメージングを行ったマウスと同じ個体で、LPS 投与前後で行動実験を行ったところ、ミクログリアの突起の極性の上昇が社会性（追尾行動時間）の行動と相関を認めた。妊娠後期に母体炎症を起こした群、コントロール群では、この相関を認めなかった。

【考察】

今回の研究では、母体炎症と胎児ミクログリアの突起の動きが関連しているか特定することを目的とした。ヒトや齧歯類における報告から、母体炎症が生じる妊娠時期によって、認知障害や胎児ミクログリアの反応が異なる可能性を考え、我々は妊娠中期と後期の 2 つの妊娠期間に炎症を誘発した。

妊娠中期と後期いずれの母体炎症においても、母体臓器（母体肝臓、胎盤、大脳）と胎児ミクログリアで免疫活性が引き起こされ、胎児ミクログリアが妊娠中期と後期の両方で母体炎症に反応することが示された。

母体炎症によって胎児ミクログリアで免疫活性が生じる一方、ミクログリアの形態は胎生 18 日と生後 10 日の段階において、妊娠中期と後期いずれの母体炎症においても変化を認めなかった。これまでの報告では、母体炎症によるミクログリアの形態変化に関しては様々であるが、我々の実験では妊娠中期および後期の母体炎症では、ミクログリアの形態に変化を引き起こさないという結論に至った。

一方、ミクログリアの突起の動きは、妊娠中期と後期いずれの母体炎症によっても、胎生 18 日と生後 10 日の段階において変化を認めた。特に、妊娠中期に炎症を起こした群では生後 10 日でミクログリアの突起の動きが一定方向へ偏る傾向（極性の上昇）を認めた。これらから、母体炎症による胎児ミクログリアへの影響を評価するには、形態だけでは不十分であり、突起の動きを調べることが、より鋭敏なパラメーターになることが明らかになった。

ミクログリアは、発達段階において、神経細胞のアポトーシスと神経新生を制御し、また、貪食作用、シナプス形成を介して神経回路構築に関わる。成人期では、突起を常に動かすことで周囲の環境を探知し、免疫監視機能とシナプスの形成や除去に関わる。そのため、母体炎症によるミクログリアの突起の動きの変化は、発達段階の神経回路構築に影響を与えるだけでなく、免疫監視および神経回路の恒常性にも影響を与える可能性が考えられる。突起の動きの変化がミクログリアの機能にどのように影響するのか、さらなる追跡調査が必要である。

さらに、妊娠中期に母体炎症を起こした群では、生後 42 日において、LPS で全身炎症を誘発する前後のミクログリアの突起の極性上昇と、社会行動を調べる追尾行動時間とに相関関係を認めた。この結果から、母体炎症によって社会行動に異常を示すマウスにおいて、全身炎症によって改善する社会行動とミクログリアの突起の動きが関連する可能性が示された。

【結論】

今回の研究によって、母体炎症によって胎児ミクログリアの突起の動きが変化し、この突起の動きの変化は、胎生期から発達期、思春期まで持続することが示された。ミクログリアの突起の動きの変化が、発達障害や統合失調症に特異的な変化を示す社会行動に関わる可能性が示唆された。本研究の成果から、さらにミクログリアの動態変化がどのように神経回路構築に影響しているか解明することによって、発達障害や統合失調症の治療に役立つ可能性が期待される。