

2020年1月

〈海外文献紹介〉

Microglia monitor and protect neuronal function via specialized somatic purinergic junctions.

Csaba Cserép, et al.

Science. pii: eaax6752 (2019).

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31831638>

このところ、アルツハイマー病（AD）研究領域ではミクログリアを主とする炎症関連の研究報告に沸き立っておりますが、ミクログリアの生理的機能についてもこれまでにない新しい発見が次々と寄せられております。中枢神経系におけるミクログリアの機能といえば、従来は脳内における炎症性反応の主役という認識のみでしたが（AD研究領域では専らこれですが）、近年は積極的にシナプスの神経突起に接触して神経伝達の調節に貢献しているという新たな機能が着目されるようになりました（Wu et al., Trends Immunol. 2015; Weinhard et al., Nat Commun. 2018 等の review に詳しく紹介されています）。そして今回ご紹介する論文は、ミクログリアがシナプスのみならず神経細胞の細胞体にも直接コンタクトして神経細胞の状況を判断し、その保全に働いているというものです。

GFP 結合型 CX3CR1（ミクログリアマーカー）を発現する遺伝子改変マウスの神経細胞に *in utero* エレクトロポレーションで tdTomato を遺伝子導入し、二光子顕微鏡によるライブイメージングや超解像顕微鏡を用いた検索を行ったところ、神経細胞の細胞体とミクログリア突起の間で明らかな接触サイトの存在が確認されました。驚いたことに、既にミクログリアのコンタクトサイトとして知られている樹状突起とのコンタクト継続時間が約 7.5 分であったのに対し、細胞体では約 25 分もの継続が確認されたそうです。またコンタクトの割合も、神経細胞の約 90% が細胞体でミクログリアとコンタクトしているのに対し、シナプスでのコンタクトは興奮性・抑制性ともに 10% 前後と低いことも判明しました。さらに死後剖検脳を用いた組織検索により、ヒト脳でも約 87% の神経細胞が細胞体でミクログリアとコンタクトしていることが確認されました。

では、ミクログリアは何を認識して神経細胞の細胞体にコンタクトしているのか？ 筆者らは神経細胞から何らかの液性因子が放出されることでミクログリアがコンタクトしているのではないかと仮説を立て、神経細胞の細胞膜に局在する Kv2.1（電位依存性カリウムチャネル）に着目しました。と言いますのも、Kv2.1 は細胞質側で小胞側の

SNARE と結合してエクソサイトーシスによる分泌を促進することが知られています。そこで、Kv2.1 とミクログリアマーカーとの二重染色を行った結果、やはり Kv2.1 がクラスター化している細胞膜領域にミクログリアがコンタクトしていることが明らかとなりました。

次の問題は、ミトコンドリアが認識する神経細胞由来液性因子（あるいは信号分子）の正体ですが、ミクログリアには P2Y12R という P2Y 型プリン受容体が高発現しており、神経細胞は神経活動に伴い ATP や ADP をエクソサイトーシスすることが知られています。興味深いことに、P2Y12R は脳内のミクログリアだけに発現しており、血管周囲のマクロファージには発現していないようです。そこで超解像度顕微鏡を用いて検索した結果、やはりミクログリア突起の P2Y12R と神経細胞細胞膜 Kv2.1 クラスター領域に高い共在性が確認され、さらに Kv2.1 クラスター領域ではミトコンドリア外膜蛋白である TOM20 陽性小胞が集簇していることが明らかになりました。つまり、神経細胞のミトコンドリア由来の小胞が細胞膜におけるミクログリアとのコンタクトサイトから ATP を放出し、それをミクログリアが受け取っている可能性が示唆されました。また、P2Y12R の阻害剤である PSB0739 を生体マウスの大槽内に投与すると、神経細胞の細胞体とミクログリアとのコンタクトが 45%ダウンしたのに対し、シナプスでのコンタクトに変化は見られなかったとのことで、細胞体とシナプスとではミクログリアが認識するターゲット分子が異なる可能性が示唆されました。

最後に、神経活動や神経損傷との関係を検索したところ、DREADD システムで神経活動を人工的に惹起すると、やはりミクログリアとニューロン細胞体とのコンタクトの増加がみられ、P2Y12R ノックアウトマウスや PSB0739 ではコンタクト形成が阻害されました。また、脳梗塞モデル（腔内中大脳閉塞モデル）でも両者のコンタクトが上昇するとともに、PSB0739 を投与した脳梗塞モデルではコンタクトの低下とともに神経細胞における Ca^{2+} シグナルの上昇が見られ、最終的な神経細胞の損傷範囲が大きく増加することが明らかとなりました。これらの結果から、ミクログリアは神経細胞が常時放出する ATP をモニターしており、神経活動の変化等に応じて神経細胞の保全に努めている可能性が示唆されました。

今回ご紹介した論文では、二光子顕微鏡を用いたライブイメージングや超解像顕微鏡を用いた検索が大きく貢献しています。今後、このような新しい技術の導入により、これまで見えてこなかった新たな事実が次々と明らかになっていくことが期待されます。

（文責：木村展之）