

「慢性ストレス・老化による炎症反応を起点とした神経回路変容の解明」

神戸大学医学研究科 古屋敷 智之

1 研究の背景と目的

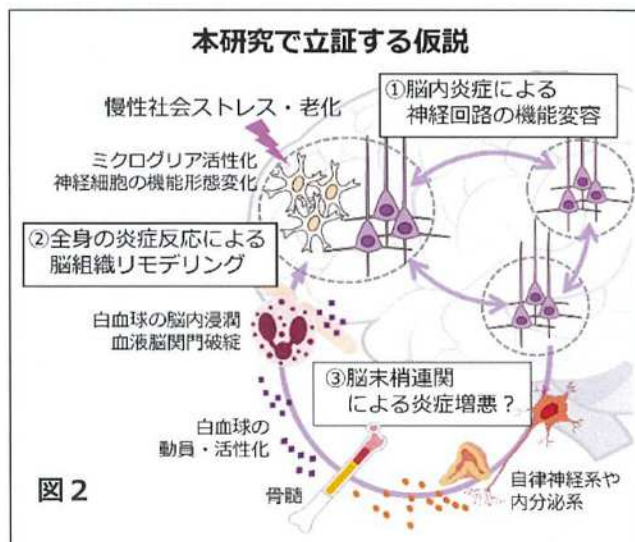
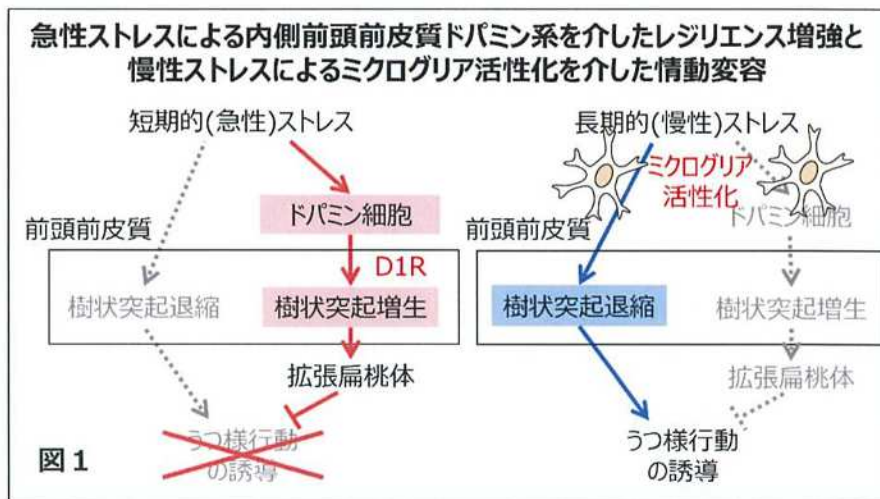
社会や生活習慣による慢性ストレスは抑うつや認知機能低下を誘導し、うつ病や認知症のリスクを高める。その機序は長らく不明であったが、代表者の古屋敷らはマウスの社会ストレスモデルを用い、慢性ストレスがミクログリア活性化を介して前頭前皮質の神経細胞の機能・形態を変化し、うつ様行動を促すことを世界に先駆けて示した (Nature Rev Endocrinol 2011; Mol Psychiatry 2018; Neuron 2018; Sci Rep 2019)

(図1)。慢性ストレスが骨髄から白血球を動員し、情動変容を誘導することも示した (Br J Pharmacol 2021; 未発表)。老化による認知機能低下に脳内の炎症関連分子や白血球が関与

するとの報告もある。しかし慢性ストレスや老化に伴う炎症反応が誘導する神経回路変容の実態や機序は不明である。

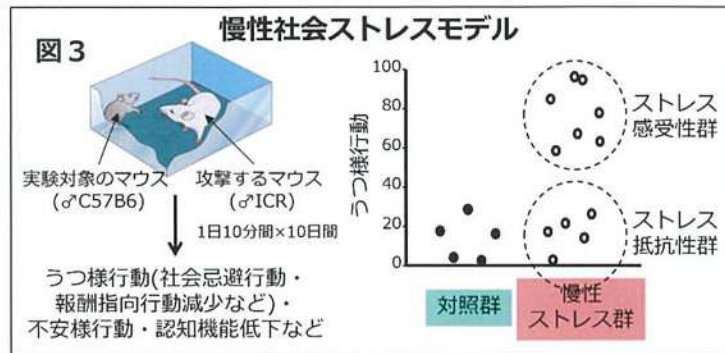
本研究では、マウスの

慢性ストレスや老化に伴う神経回路の活動変化や多様な脳細胞の遺伝子発現変化を可視化しつつ、ミクログリア活性化や白血球動員など炎症性細胞の変化を操作して、慢性ストレスや老化による炎症反応を起点とした神経回路変容の実態を解明する。さらにミクログリアや白血球で発現する遺伝子を薬理・分子遺伝学的に操作し、慢性ストレスや老化による神経回路・行動変容を担う炎症性機序を同定する (図2)。

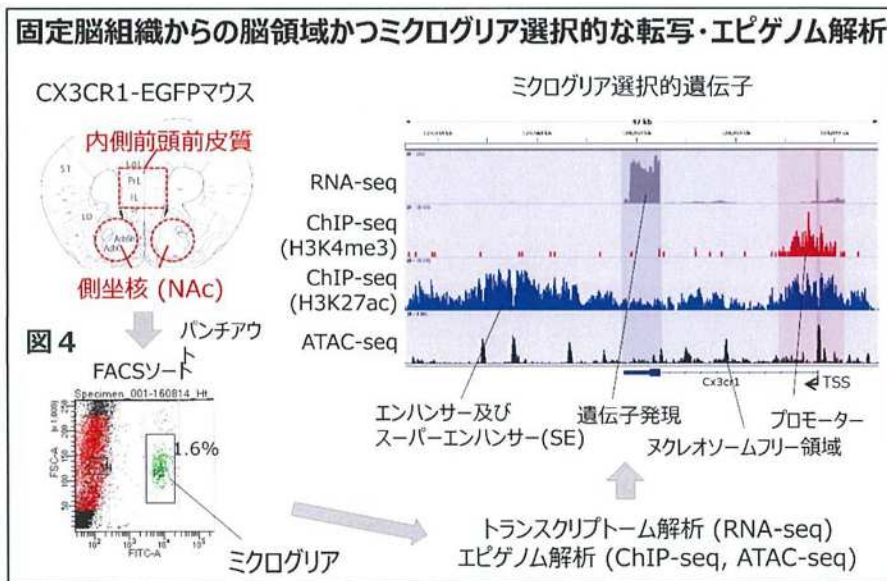


2 研究方法・研究内容

マウスの慢性ストレスモデルとして社会挫折ストレスモデルを用い、慢性ストレスによる神経回路・行動変容を担う炎症性機序を同定する。具体的には、実験対象として雄のC57BL/6マウスを用い、体格が大きく攻撃性が強いICRマウスからの攻撃に1日短時間、数日間連続で暴露し、ストレスを繰り返し与える。その結果、抑うつ、不安亢進、認知機能低下などの行動変容が長期的に生じる(図3)。



この慢性ストレスによる神経回路活動の変化を組織透明化により全脳で可視化し、ミクログリア活性化、好中球・単球など炎症性細胞の動員・脳内浸潤を薬理・分子遺伝学的に阻害して慢性ストレスによる神経回路・行動変容への影響を調べる。多様な脳細胞を一細胞 RNA-seq・エピゲノム解析に供し、慢性ストレスによる炎症性細胞や他の細胞の転写・エピゲノム変化を同定する。変化が見られた炎症性細胞等を単離してエピゲノム解析に供し、慢性ストレスによるヒストン修飾の変化を同定し、関与する転写因子や DNA 配列を推定する(図4)。慢性ストレスにより変化する炎症性分子の発現・機能や炎症性細胞の転写・エピゲノム変化を薬理・分子遺伝学的に操作して慢性ストレスによる神経回路・行動変化への影響を調べる。



並行して、老齢マウス

も用い、老化による神経回路・行動変容を担う炎症性機序を同定する。75週齢以上のC57BL/6Jマウス及びC57BL/6Nマウスを老齢マウスとして、対照群として10週齢前後の若齢マウスを用いる。慢性ストレスモデルでの実験と同様に、老齢・若齢マウスでの神経回路変容を可視化し、老齢マウスの行動変容への炎症性細胞の関与を示す。炎症性細胞の転写・エピゲノム変化を可視化・操作し老化による神経回路・行動変容への影響を調べる。

以上の研究により、慢性ストレス・老化に伴う炎症性分子・細胞、神経回路、行動の変化を繋ぐ階層縦断的因果律を解明する。

3 研究成果

慢性社会ストレスによる神経回路変容とその機能的意義

逆行性感染性組換えウイルスを用い、慢性社会ストレスが多様な脳領域から前頭前皮質への入力に変化することを見出した。変化した神経投射の活動を化学遺伝学的手法により操作し、慢性社会ストレスによる行動変容の維持に重要な神経回路を同定しつつある。

また神経活動のレポーターマウスを組織透明化による全脳イメージングに供し、慢性社会ストレスが広範な脳領域の神経活動と脳領域間の連関の変化を誘導することを見出した。SVM と LASSO ロジスティック解析を用い、慢性社会ストレスによるシグナル変化の中核となる脳領域を見出しつつある。

慢性社会ストレスによる脳の中央代謝系変化とその機能的意義

各種オミクス解析や質量分析イメージングを実施し、慢性社会ストレスは脳領域選択的な中央代謝系変化を生じ、ストレス感受性の個体差と相関して変化する代謝物を同定した。さらに慢性社会ストレスが前頭前皮質のシナプスで代謝関連分子の発現を増加し、シナプスの分子・構造変容、行動変容に寄与することを示した。In vivo 2光子顕微鏡を用いた共同研究により、慢性社会ストレスが行動変容と相関して前頭前皮質の神経活動変化を誘導すること、この変化に代謝変化が関与することを示した。さらに、慢性社会ストレスによるシナプスの中央代謝系変化がミクログリア活性化に寄与する可能性を見出しつつある。

慢性社会ストレスによる神経細胞由来因子によるミクログリア活性化

前頭前皮質の ATP 産生増加によるミクログリア活性化の可能性に合致し、ミクログリアに発現するプリン受容体 P2X7 の阻害薬が慢性社会ストレスによる行動変化を抑制することを示した。同阻害薬を用い、慢性社会ストレスによる前頭前皮質や側坐核のミクログリアの遺伝子発現変化に P2X7 受容体が関与することを示した。

並行して、慢性社会ストレスによる行動変容に前頭前皮質神経細胞から放出された内因性 TLR2/4 リガンド HMGB1 が部分的に関わることを報告した。慢性社会ストレスによるミクログリア活性化には TLR2/4 が必須であることから、神経細胞由来の HMGB1 が慢性社会ストレスによるミクログリア活性化に関与すると考えられる。

慢性社会ストレスによる白血球動員

白血球動員の阻害薬に加え、細胞種選択的遺伝子欠損マウスで慢性社会ストレスによる行動変容が阻害されることを示し、慢性社会ストレスによる行動変容における白血球動員の意義を確立した。白血球の各種 ex vivo アッセイ系を立ち上げ、慢性社会ストレスにより白血球の機能が変化していることを示した。白血球の一細胞 RNA-seq 解析を実施し、慢性社会ストレスにより駆動される白血球サブセットを同定した。神経活動レポーターマウスを全脳イメージングに供し、慢性社会ストレスによる広域の脳活動変化に白血球動員が関与することを示しつつある。

慢性社会ストレスによるミクログリアの遺伝子発現制御と役割

前頭前皮質、海馬、感覚運動野、側坐核、視床下部のミクログリアを単離して一細胞 RNA-seq 解析を実施し、急性・慢性社会ストレスが広い脳領域でストレス感受性の個体差と相関した遺伝子発現変化を誘導することを示した。さらに ChIP-seq 解析や ATAC-seq 解析を組合せ、ミクログリアにおける遺伝子発現に関与する複数の分子経路を特定した。外科的操作や遺伝子改変マウスを用い、これらの分子経路が其々異なる脳機能変容に関わることを示しつつある。

脳機能老化に関わる分子・神経回路変容

C57BL/6J 老齢マウスと C57BL/6N 老齢マウスの行動変容を調べ、これらのマウスが一部重複しつつも異なる行動変容を示すことを見出した。前頭前皮質でのオミクス解析や三次元電顕解析を行い、老齢マウスでの認知機能障害の個体差と相関した分子変容を同定しつつある。

老齢マウスでの神経活動の全脳イメージングを実施するため、神経活動マーカーの免疫染色の全脳イメージングの深層学習解析を最適化した。老齢マウスの行動変容に伴う神経活動変容を全脳イメージングにより調べ、広域な脳領域の神経活動変化を見出した。変化の見られた一部の脳領域の神経活動を化学遺伝学的に操作し、老化による行動変容を担う神経回路変容を同定しつつある。

4 生活や産業への貢献および波及効果

本研究で解明する慢性ストレス・老化に伴う神経回路変容を担う炎症性機序を標的とし、製薬企業と共同で、うつ病・認知症など疾患横断的な精神・神経疾患創薬を実現したい。うつ病など精神疾患患者では脳や体の炎症亢進が報告されているが、患者間の個体差が大きく、うつ病の病態には多様性がある。認知症にも病態の多様性が指摘されている。本研究で解明する慢性ストレス病態を担う白血球に着目し、病態に応じた患者層別化のための低侵襲性の血液バイオマーカーを開発したい。炎症は本来組織修復を促すもので、その遷延化や制御破綻が異常な組織リモデリングを誘導する。将来は、炎症を適時適所に操作して精神・神経疾患を含む多様な慢性疾患に対するレジリエンスを強化する技術の開発に繋げたい。

うつ病患者は世界で約三億人であるが、三割が既存薬で寛解しない。認知症患者は世界で約 5,000 万人であるが、既存薬の効果は限定的であり、うつ病・認知症には新たな医薬品開発が求められている。現在数多くの製薬企業が炎症を脳疾患の次世代の創薬標的と考えている。一方で炎症は生理的な脳機能や組織修復にも重要であり、炎症を標的とした精神・神経疾患創薬を実現するには、慢性ストレス・老化に伴う炎症の何が脳機能変容を引き起こすのか、その因果律を解明する必要がある。従って本研究開発は社会・産業上の要請にも応えるものと言える。