

特集 2 シナプスオミクスが切り開くシナプスの生化学的多様性と動物行動・病態解明への新展開

1. ミクログリアを介したノルアドレナリンによる前頭葉スパインの可塑性調節

柳下 祥*

抄録：シナプス可塑性は脳が情報を長期保持するために重要な機序である。特に新皮質や海馬、線条体の興奮性シナプス後部には樹状突起スパインとよばれる構造がある。この構造的長期増強 (sLTP) がシナプス可塑性の主要な細胞機序であり、海馬や線条体でよく調べられてきた。新皮質は知覚や運動、情動にかかわる脳の中心的な部位であるが、sLTPの制御機序については不明な点が多かった。特に新皮質では成熟に伴いシナプス可塑性が低下する一方、成熟後もスパインの形態可塑性が観察されており、一見矛盾するこの制御実態は不明である。最近の筆者らの研究では、若年期ではsLTPが高いがこれが成獣期にかけて抑制されることを見出した。この抑制はミクログリアがTNF- α を介して制御していた。一方、成獣期であってもノルアドレナリン (NA) がミクログリアの β 2 アドレナリン受容体を介してこの抑制を解除し、sLTPを促進していた。また、この機序は観察恐怖学習 (OFL) における記憶形成にも関与していた。これらの結果から、ミクログリアとノルアドレナリンによる拮抗した制御が発達過程で出現し、成獣期の新皮質のシナプス可塑性を調節することを新たに見出した。

日本生物学的精神医学会誌 36 (2) : 71-74, 2025

Key words : spine, microglia, noradrenaline, plasticity, learning

脳は外界から受け取った情報を長期保持し、その情報を利用して機能する臓器である。この情報の長期保持に重要と考えられているのがシナプスの結合強度を変化させるシナプス可塑性である。このシナプスの可塑性はサブ秒～分単位の短期シナプス可塑性 (short-term synaptic plasticity) と数十分単位から数時間以上持続することが知られている長期シナプス可塑性 (long-term synaptic plasticity) に分類することができる²⁾。長期シナプス可塑性はさらにシナプス結合強度を長期的に増加させる長期増強 (long-term potentiation : LTP) と減弱させる長期抑圧 (long-term depression : LTD) が知られている。LTPやLTDを誘発する刺激条件はいくつか知られているが、特に神経細胞の同期発火を模したスパイクタイミング依存性シナプス可塑性 (spike-timing-dependent plasticity : STDP) は記憶形成過程にかかわる可能性が高く着目されている。典型的には前シナプスの活動の直後に後シナプスの活動 (pre-post) があるとLTPになり、逆に後シナプスの活動の直後に前シナプスの活動 (post-pre) があ

るとLTDになる。

このようなシナプス可塑性はさまざまな脳領域で生じ、また興奮性細胞の間、興奮性細胞と抑制性細胞の間など多様なシナプスで生じる。この中でもっともよく研究されているのは海馬の興奮性細胞間のシナプス可塑性である。この領域ではさらに最近、前シナプス活動の数ミリ秒後に後シナプスのバースト活動があるとLTPが生じるというbehavioral time scale synaptic plasticity (BTSP) が報告され、空間記憶の形成との関連が着目されている¹⁾。また線条体領域ではドーパミンの一過性上昇や低下がSTDPによる可塑性を修飾することを筆者らが報告してきた^{4, 10, 11)}。

興奮性シナプスの主要な後シナプス構造は樹状突起スパインとよばれる。このスパインは1 μ m以下の微小構造であり、機能解析が難しかったが、ケイジド・グルタミン酸の2光子アンケーシング技術により単一スパインのグルタミン酸刺激が可能になった。このような技術により、スパインの構造は機能と相関し、興奮性後シナプス電流または電位は

Microglia-mediated noradrenergic modulation of spine enlargement in the medial prefrontal cortex

* 東京大学大学院医学系研究科 (〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1) Sho Yagishita : Graduate School of Medicine, the University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan

【柳下 祥 E-mail : yagishita-tky@umin.ac.jp】

体積と相関することが示されてきた。さらに LTP 関連の刺激によってスパイン体積が増加する。この結果、グルタミン酸受容体がシナプスに動員され、グルタミン酸感受性が高まる。これにより LTP が実現すると考えられ、構造的 LTP (structural LTP : sLTP) として知られている⁶⁾。この sLTP により 1 つひとつのシナプスが独立に結合強度を調整することができる。このような sLTP も海馬で主に研究されてきた。

新皮質は知覚や運動、情動など脳の多様な機能にかかわる脳の中心的な部位である。新皮質は海馬に比べて一般にシナプス可塑性は生じにくいとされている。またマウスを対象とした研究において、LTP の誘発は若年期には生じやすいが、成熟が進むにつれてシナプス可塑性は減少し、成獣期にはシナプスによっては可塑性はほとんどみられない場合もあることが報告されている⁵⁾。この可塑性低下の要因として、N-methyl-d-aspartate (NMDA) 受容体サブユニットの変化や、シナプス前の神経修飾物質の変動が想定されてきた。シナプス可塑性が高い若年期に知覚や運動などにかかわる基本神経回路を形成し、その後可塑性を下げることで学習した回路を保持していることが考えられる。

特定の学習条件下では成獣期でもシナプス可塑性が一時的に再活性化し、学習の基盤となっているとも考えられている。知覚、運動、恐怖学習において、活動依存的なスパインの形態可塑性が観察されている。海馬における sLTP の知見を新皮質に外挿すると、このようなスパインの形態可塑性は学習中に活動依存的な sLTP が起きていることを示唆する。しかし、実際にはグルタミン酸アンケーシング実験では、新皮質での sLTP の誘導は弱く、ほかの因子が必要であることを示唆している。

このように新皮質の可塑性制御機序には不明な点が多い。特に発達的な調節がどのように行われているか、その機序は十分に解明されていない。もし成獣期において基本的なシナプス可塑性機序が抑制されることで可塑性低下を起こしている場合、学習時に生じているシナプス可塑性を説明することができない。このため、シナプス以外の要因が可塑性の誘導抑制に関与する可能性を考える必要がある。このような柔軟な発達調節は、感覚成熟期にシナプス可塑性を不可逆的に制限することで臨界期を閉じる介在ニューロンにおける既知のメカニズムとは対照的である。

ノルアドレナリン (noradrenaline : NA) は、新皮質シナプス可塑性を促進する主要な神経修飾因子で

あり、主に β アドレナリン受容体 (β -adrenergic receptor : β -AR) を介して作用する³⁾。しばしばこの β 2-AR サブタイプの関与が指摘されている³⁾。最近の RNA-sequencing (RNA-seq) データによれば、 β 2-AR は主にミクログリアで発現し、 β 1-AR はニューロンで主に発現がみられるとされる^{7, 9)}。これらからミクログリアの β 2-AR がシナプス可塑性を調節する可能性が示唆される。なお、ミクログリアの β 2-AR はミクログリアの監視活動を抑制することが知られている。またミクログリアは発達期のシナプス形成や除去に影響を与えることでシナプス成熟に重要な役割を果たす。特に、新皮質のミクログリアは若年期から成獣期にかけて遺伝子発現が大きく変化する。これらの知見を総合すると、ミクログリアが活動依存的な sLTP の発達的な減少と、NA による調節の収束点として機能する可能性を示唆する。

そこで筆者らは、若年期から若年成獣期にかけての sLTP の変化と、その背後にあるメカニズムを調査した (Tajiri M, Omi H, Yagishita S, et al, unpublished)。この研究では、若年期および若年成獣期のマウスにおける新皮質の sLTP を、ミクログリアの存在下および除去後の条件で解析した。ミクログリアの関与を調べるため、内側前頭前野 (medial prefrontal cortex : mPFC) にミクログリア除去剤クロドロネートを局所注入し、1~2 日後に 90% 以上のミクログリアが除去されていることを確認した。さらに、ミクログリア特異的な Cre ドライバー (Tmem119-CreERT2) と Cre 依存性の tdTomato レポーターを発現させた二重トランスジェニックマウスを用いて、mPFC 内のミクログリアを高精度に可視化した。若年期 (2~3 週齢) および若年成獣期 (5~7 週齢) のマウスから mPFC を含む急性スライスを作製し、錐体細胞の樹状突起スパインに対して全細胞記録と 2 光子顕微鏡を用いた可視化を行った。STDP 刺激プロトコルを適用した結果、若年期マウスではスパイン体積が持続的に増加した一方で、若年成獣マウスでは初期増加後に元の状態に戻る現象が観察された。しかし、ミクログリアを除去すると、若年成獣マウスでも sLTP が持続することが判明した。同様の結果が別のミクログリア除去剤 PLX3397 でも再現され、これによりミクログリアが sLTP を抑制する役割を担っていることが示唆された。

次に、ミクログリアによる抑制メカニズムを検討した。STDP 刺激によってミクログリアの突起がスパイン近傍に動員される現象は観察されず、直接的

な物理的接触が抑制の原因ではないことが示された。そこで、液性因子として考えられる腫瘍壊死因子- α (tumor necrosis factor- α :TNF- α) およびインターロイキン- 1β (interleukin- 1β :IL- 1β) に着目した。その結果、TNF- α が STDP 誘導 sLTP を抑制する一方で、IL- 1β にはそのような効果がみられなかった。また、TNF- α シグナルを阻害する化合物を用いることで、ミクログリアが存在していても sLTP が誘導されることが確認された。このことから、ミクログリアが TNF- α を介して sLTP を抑制することが明らかとなった。

さらに、NA がミクログリアを介して sLTP を促進するかを調査した。NA を STDP 刺激の直前に局所投与すると、若年成獣マウスのスパインで持続的な sLTP が誘導されたが、ドーパミンではこの効果が得られなかった。RNA-seq データに基づく解析では、ミクログリアが $\beta 2$ -AR を発現していることが示されている。 $\beta 2$ -AR の阻害薬が NA による sLTP 促進効果を抑制し、 $\beta 2$ -AR 作動薬が NA と同様の効果をもった。 $\beta 1$ -AR の阻害薬は効果をもたなかった。また cyclic adenosine monophosphate (cAMP) の阻害酵素であるホスホジエステラーゼ (phosphodiesterase: PDE) も、神経に多い PDE4 とミクログリアに多い PDE3 がある。この PDE の阻害薬を投与するとミクログリア型の PDE3 のみ sLTP 増強効果がみられた。さらに化学遺伝学を用いてミクログリア特異的に cAMP を抑制すると NA 効果を打ち消した。これらのことから、NA がミクログリアの $\beta 2$ -AR を介して cAMP シグナルを活性化し、sLTP を促進することが明らかになった。

この新規メカニズムが学習を制御するかも調査した。新皮質領域の中で、mPFC は報酬や罰を伴う情動学習に重要な役割を果たしている。最近の研究では、観察恐怖学習 (observational fear learning: OFL) という社会的信号を媒介とする学習が 1 日以内に迅速に確立され、mPFC での神経発火の速やかな再構築を伴うことが示された⁸⁾。これは、通常数日から数週間を要するほかの mPFC 依存学習とは異なり特徴的であり、OFL は mPFC における細胞機構と学習の関係を研究するための理想的なモデルである。実験では、観察者マウスがケージメイトが受ける電気ショックを観察することで恐怖記憶を形成する OFL モデルを用いた。mPFC 内で $\beta 2$ -AR を阻害すると、観察時の凍結反応には影響しなかったが、翌日の記憶テストにおける凍結行動が低下した。このことは、NA - $\beta 2$ -AR シグナルが脅威情報の処理には不要だが、OFL 記憶の確立には必要である

ことを示唆している。さらに、ミクログリアを除去したマウスでは、通常の条件下では記憶形成が不十分な閾値下プロトコルでも、OFL 記憶が形成されることが示された。これにより、ミクログリアが学習を抑制する一方で、NA がこの抑制に拮抗する役割を果たすことが考えられる。

このようにミクログリアは若年期から成獣期へ移行する際に、シナプス可塑性の特性を調節する重要な因子であることがわかった。ミクログリアによる sLTP の抑制効果は、TNF- α を介した液性因子によるものであり、直接的な物理的接触ではなかった。成獣期においてミクログリアが抑制的な作用を獲得した後も、NA は $\beta 2$ -AR を介してミクログリアの抑制機能を抑え、間接的にニューロンの sLTP を促進した。この機序は、NA が直接ニューロンに作用するという従来の仮定とは異なる。さらに、これらの NA およびミクログリア依存的な可塑性機序が、mPFC における OFL の迅速な獲得を促進することを実証した。これらのメカニズムが mPFC 以外の新皮質領域全体で一貫して機能するかどうかは、今後の検討課題である。ミクログリアと mPFC の双方が多く精神疾患に関与していることから、これら機序の病態への関与が示唆される。

本論文に記載した筆者らの研究に関して、すべて倫理的配慮を行っている。開示すべき利益相反は存在しない。

文 献

- 1) Bittner KC, Milstein AD, Grienberger C, et al (2017) Behavioral time scale synaptic plasticity underlies CA1 place fields. *Science*, 357 (6355) : 1033-1036.
- 2) Citri A and Malenka RC (2008) Synaptic plasticity : multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33 (1) : 18-41.
- 3) He K, Huertas M, Hong SZ, et al (2015) Distinct eligibility traces for LTP and LTD in cortical synapses. *Neuron*, 88 (3) : 528-538.
- 4) Iino Y, Sawada T, Yamaguchi K, et al (2020) Dopamine D2 receptors in discrimination learning and spine enlargement. *Nature*, 579 (7800) : 555-560.
- 5) Kirkwood A, Lee HK, and Bear MF (1995) Co-regulation of long-term potentiation and experience-dependent synaptic plasticity in visual cortex by age and experience. *Nature*, 375 (6529) : 328-331.
- 6) Matsuzaki M, Honkura N, Ellis-Davies GC, et al (2004) Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature*, 429 (6993) : 761-

- 766.
- 7) Murugan M, Jang HJ, Park M, et al (2017) Combined social and spatial coding in a descending projection from the prefrontal cortex. *Cell*, 171 (7) : 1663-1677.
- 8) Silverstein SE, O'Sullivan R, Bukalo O, et al (2024) A distinct cortical code for socially learned threat. *Nature*, 626 (8001) : 1066-1072.
- 9) Tasic B, Yao Z, Graybiuck LT, et al (2018) Shared and distinct transcriptomic cell types across neocortical areas. *Nature*, 563 (7729) : 72-78.
- 10) Yagishita S (2023) Cellular bases for reward-related dopamine actions. *Neurosci Res*, 188 : 1-9.
- 11) Yagishita S, Hayashi-Takagi A, Ellis-Davies GC, et al (2014) A critical time window for dopamine actions on the structural plasticity of dendritic spines. *Science*, 345 (6204) : 1616-1620.

■ ABSTRACT

Microglia-mediated noradrenergic modulation of spine enlargement in the medial prefrontal cortex

Sho Yagishita

Graduate School of Medicine, the University of Tokyo

Synaptic plasticity is a critical mechanism underlying the long-term retention of information in the brain. In particular, dendritic spines — postsynaptic structure of excitatory synapses located in the neocortex, hippocampus, and striatum — play a pivotal role in synaptic plasticity, named structural long-term potentiation (sLTP). sLTP has been extensively studied in the hippocampus and striatum. In contrast, its mechanisms in the neocortex remain poorly understood, although the neocortex is a central brain region involved in processing of sensory, motor and emotional information. Notably, synaptic plasticity declines with maturation in the neocortex according to *ex vivo* studies, but spine plasticity persists into adulthood based on *in vivo* observations, presenting an unresolved enigma. Our recent findings reveal that sLTP is prominent during juvenile but becomes suppressed in adulthood through regulation by microglia via TNF- α . However, this inhibition can be reversed in adulthood by noradrenaline (NA), which acts through microglial β 2-adrenergic receptors to promote sLTP. Moreover, this signaling contributes to the establishment of observational fear learning (OFL). These results highlight an emergence of developmental balance of microglia and noradrenaline to modulate neocortical synaptic plasticity and learning in the neocortex.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 36 (2) : 71-74, 2025)
