

2023年12月7日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学

ケンカのゆくえはグリアしたい 小脳グリア細胞が攻撃行動制御に果たす役割を解明

【発表のポイント】

- 動物の社会行動^(注1)の一端は、小脳^(注2)のグリア細胞^(注3)の活動によって調整されることが示されました。
- 2匹の雄マウスを一緒にすると10秒程度のケンカ^(注4)が約1分おきに生じます。
- 小脳に刺入した光ファイバーを用いて脳内環境を光計測^(注5)したところ、ケンカの優勢・劣勢に連動してグリア活動が変化することが示されました。
- 小脳のグリア細胞を光で活性化する^(注6)とシータ波^(注7)が生まれ、ケンカ解散までの時間が早くなることが示されました。
- 小脳グリア細胞活動を機能操作することで、過度な攻撃衝動を抑えられる可能性が示唆されました。

【概要】

近年、動物やヒトの社会性の行動に小脳が影響を与えていることが示唆されてきました。東北大学大学院生命科学研究科の浅野雄輝大学院生(日本学術振興会特別研究員)、松井広教授らのグループは、雄マウス2匹を同じケージに入れた時に勃発するケンカに注目し、小脳の活動を解析しました。ケンカ解散時、小脳で特有の神経活動が生じ、シータ波の局所フィールド電位^(注8)が記録されました。また、光遺伝学を用いて小脳グリア細胞を光刺激すると、小脳でシータ波が生じるとともに、ケンカ解散までの時間が短くなることが明らかになりました。さらに、ケンカが優勢・劣勢になると小脳グリア細胞内のカルシウム濃度が減少・増加したため、小脳グリア細胞は、マウスの攻撃性を調整するボリュームの役割を果たすことが示唆されました。マウスもヒトも集団で暮らすからには、円滑な社会生活を営むことが望まれます。過度な攻撃衝動を制御するには小脳グリアの働きを理解することが有用と思われます。

本研究成果は2023年11月29日付で著者校正版が脳科学分野の専門誌Neuroscience Researchに掲載されました。

【詳細な説明】

研究の背景

自転車に乗れるようになったり、楽器を弾けるようになったりするにはトレーニングが必要ですが、このような運動学習に小脳が大切な役割を果たすことは良く知られています。しかし、近年、小脳には、運動学習以外にも情動や社会的認知のような非運動機能にも関連していることが指摘されています。また、小脳の不調は自閉症スペクトラム障害や統合失調症などにもつながることも示唆されています。特に、小脳のうちでも正中部分を占める虫部^(注9)と呼ばれる領域は、ヒトにおいて、攻撃性と関係していることが報告されています。そこで、本研究では、小脳虫部のバーグマンガリア細胞が、マウスの攻撃性をボリューム制御する可能性を検討しました(図 1)。

小脳からの唯一の出力線維は、プルキンエ細胞^(注10)の軸索です。プルキンエ細胞は GABA 作動性抑制性神経細胞^(注11)なので、プルキンエ細胞の活動の高まりは、その出力先の深部小脳核^(注12)を抑制します。また、小脳深部核から腹側被蓋野^(注13)への興奮性シナプス結合が発見されています(図 2)。腹側被蓋野のドーパミン^(注14)放出神経細胞は攻撃性を含む社会的行動に対して多大な影響を与えることが知られています。したがって、プルキンエ細胞の活動と腹側被蓋野への活動には負の相関があり、プルキンエ細胞の活動が高まる、あるいは、弱まると、攻撃行動は減少、あるいは、増加すると考えられました。

ところで、脳の中には情報処理を担う多数の神経細胞と同じくらいの数のグリア細胞があります。従来、グリア細胞は、神経細胞の隙間を埋めるだけのノリのような存在に過ぎないと考えられてきました。ところが、グリア細胞は、周囲の細胞外イオン濃度や伝達物質濃度を調整する役割があり、神経回路の活動状態はグリア細胞によって左右される可能性が指摘されています。小脳の中には、バーグマンガリア細胞^(注15)というアストロサイト^(注16)に分類されるグリア細胞があります。バーグマンガリア細胞は、プルキンエ細胞に形作られるシナプス結合部位を完全に包囲しています。この形態的特徴の指し示す通り、小脳では、神経-グリア間に強固な相互作用があることを当研究室では報告してきました(Matsui et al., *Neuron* 2003; Sasaki et al., *PNAS* 2012; Beppu et al., *Neuron* 2014; Beppu et al., *J Physiol* 2021; Morizawa et al., *Nat Neurosci* 2022; Kanaya et al., *Glia* 2023)。したがって、小脳では、バーグマンガリア細胞からの作用によって、プルキンエ細胞の活動状態が定まり、マウスの攻撃性が左右されるというメカニズムが働くことが予想されました。

今回の取り組み

東北大学大学院 生命科学研究科 超回路脳機能分野の浅野雄輝(あさの ゆうき)

大学院生、佐々木大地(ささき だいち)大学院生、生駒葉子(いこま ようこ)助教、松井広(まつい こう)教授らのグループは、今回、社会性の行動における小脳の役割に注目し、特に、小脳虫部のグリア細胞や血管の活動がマウスの攻撃性や暴力的な行動を制御している可能性を検証することに取り組みました。

雄マウスが普段、居住しているケージ内に、見知らぬ雄マウスを1匹侵入させると、ケンカが始まることが分かりました。一般的に、居住者-侵入者行動試験と呼ばれるモデルですが、従来は、もっぱら居住者から侵入者への攻撃が引き起こされることが報告されてきましたが、本研究での実験条件では、居住者と侵入者の双方に攻撃性が引き起こされて、1回のケンカにおいても、それぞれの優勢・劣勢がダイナミックに入れ替わることが示されました。また、ひとつひとつのケンカは10秒程度の時間が経過すると解散するため、このケンカ・イベントのことをラウンドと呼ぶことにしました。このようなラウンドは、1分程度に1度の割合で繰り返され、実験期間の30分の間、ほぼ一定の割合で起きることが示されました。本研究では、居住者に注目して、ケンカ行動における小脳の神経・グリア・血管活動を調べることにしました。

まず、ケンカの最中は、激しい運動による筋肉の働きがあるため、小脳での神経活動はうまく記録されないことが分かりました。そこで、ケンカの前とケンカ解散後の静止している時の小脳局所フィールド電位を解析したところ、解散後に4-6 Hzのシータ波と呼ばれる電位振動が生じることが明らかになりました(図3)。したがって、小脳に留置した電極近傍での多くの神経活動は、シータ波の周期に合わせて活動するようになることが示唆されました。次に、同じ小脳電極を使って、ケンカが始まったのに合わせて、シータ波で電気刺激をしたところ、ケンカの解散が平均的に早くなり、ラウンドの時間が統計的に有意に短くなることが示されました。小脳でのシータ波の神経活動がケンカの解散につながることを示唆されました。

神経細胞の活動は、細胞近傍のイオン濃度や伝達物質の濃度の多寡に影響されると考えられ、これらの脳内環境はグリア細胞によって制御されていると考えられます。そこで、小脳バーグマングリア細胞を含むアストロサイトに光感受性のチャネルロドプシン2を遺伝子発現させ、光を照射することでグリア細胞の活動を操作したところ、小脳でシータ波の神経活動が惹起されることが示されました。そこで、ケンカが始まったのと同時にグリア細胞のChR2を光刺激したところ、やはり、ケンカの解散が早くなることが明らかになりました。続いて、光ファイバーを小脳の虫部に刺入して、小脳におけるグリア細胞内 Ca^{2+} 、pH、局所血流量(BBV)の変動をファイバーフォトメリー法で計測することにしました。すると、ケンカ解散時には、グリア細胞内 Ca^{2+} が持続的に上昇することが示されました。また、ファイバーフォトメリー法では、小脳の局所脳内

環境変動をケンカの中でも記録することができたため、ケンカ中の蛍光波形を解析したところ、ケンカにおいて居住者が優勢になる時と連動して、グリア細胞内 Ca^{2+} が減少し、居住者が劣勢になる時には、グリア細胞内 Ca^{2+} が増大することが明らかになりました(図4)。

本研究結果より、小脳虫部のバグマングリア細胞の活動によって、小脳神経活動のシータ波活動レベルが調整され、マウスの好戦・えん戦の気分が左右されることが示唆されました。したがって、小脳グリア細胞は、マウスの攻撃性を調整するボリュームの役割を果たすと考えられました(図2)。

今後の展開

本研究成果をもとに、小脳グリア細胞の活動を操作することができれば、攻撃性を調整できるようになることが予想されます。例えば、ヒトの小児において、人間関係を損なうほど深刻な攻撃行動を繰り返す状態(行為障害)が生じることがあります。また、統合失調症の患者においても、攻撃的行動が問題化することがあります。従来は、鎮静剤や麻酔薬を用いた強制的な攻撃抑制でしか対処できない場合も多くありました。もし、小脳グリア細胞の働きを利用して、攻撃的気分そのものに操作することができれば、このような障害に対する治療になる可能性が期待されます。小脳のグリア細胞に対して選択的に作用するような創薬開発が待たれますが、グリア細胞の機能は攻撃性の調整だけに限らないため、慎重な安全性の調査が必要とされます。



図1. 小脳グリア細胞による攻撃性調整機能。二匹の雄マウスを引き合わせるとケンカが誘発されます。小脳のグリア細胞を光刺激すると、ケンカの解散が早くなったため、小脳グリア細胞には、マウスの攻撃性を調整する役割があることが示唆されました。

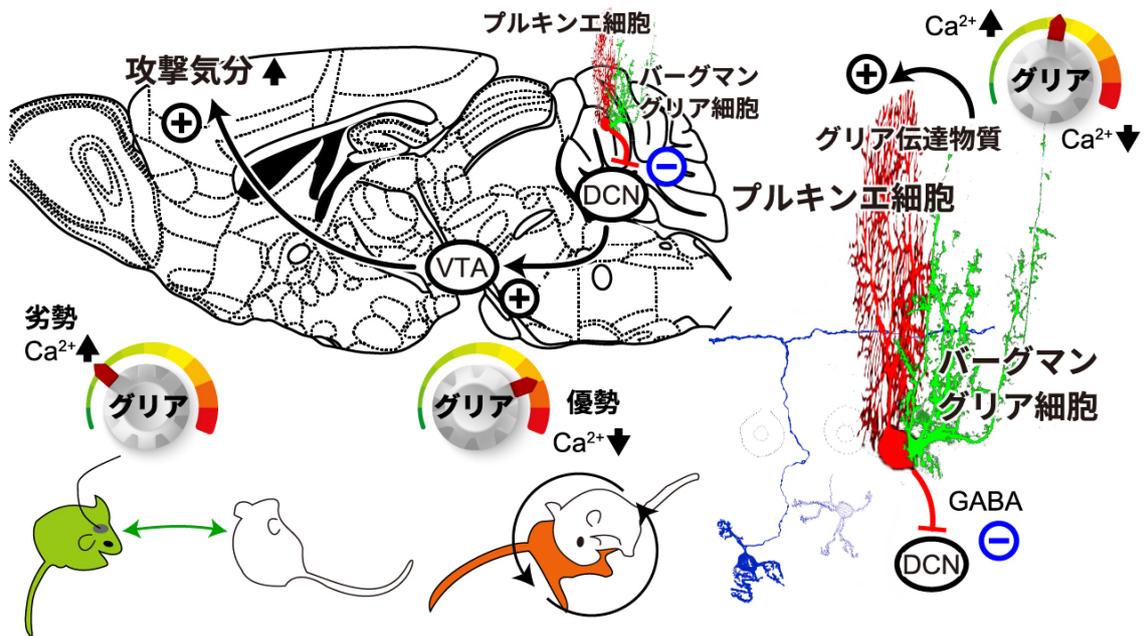


図 2. 小脳グリア細胞の活動から攻撃性の調整に至る機構の模式図。小脳バークマングリア細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇すると、グリア細胞から伝達物質が放出されると考えられます。この伝達物質がグルタミン酸のような興奮性の伝達物質であるならば、小脳プルキンエ細胞の活動が高まることが予想されます。小脳からの唯一の出力神経線維はプルキンエ細胞の軸索であり、プルキンエ細胞の活動は小脳深部核(DCN)へ抑制性の GABA 入力へとつながります。なお、近年、DCN から腹側被蓋野(VTA)の興奮性の神経連絡が同定されています。VTA のドーパミン作動性神経細胞は、攻撃を含む社会性に大きな影響を与えることが報告されています。したがって、模式図のような経路が働くのであれば、小脳グリア細胞の Ca^{2+} 濃度が上がれば、プルキンエ細胞の活動が上昇し、DCN の活動は抑制され、VTA の抑制も生じ、攻撃性が低下して、ケンカの場合での劣勢につながり、ケンカの早期解散にもつながることが予想されます。一方、小脳グリア細胞の Ca^{2+} 濃度が下がれば、プルキンエ細胞の活動が低下、DCN と VTA の活動は亢進することで、攻撃性が上昇し、ケンカ場合での優勢につながることが予想されました。

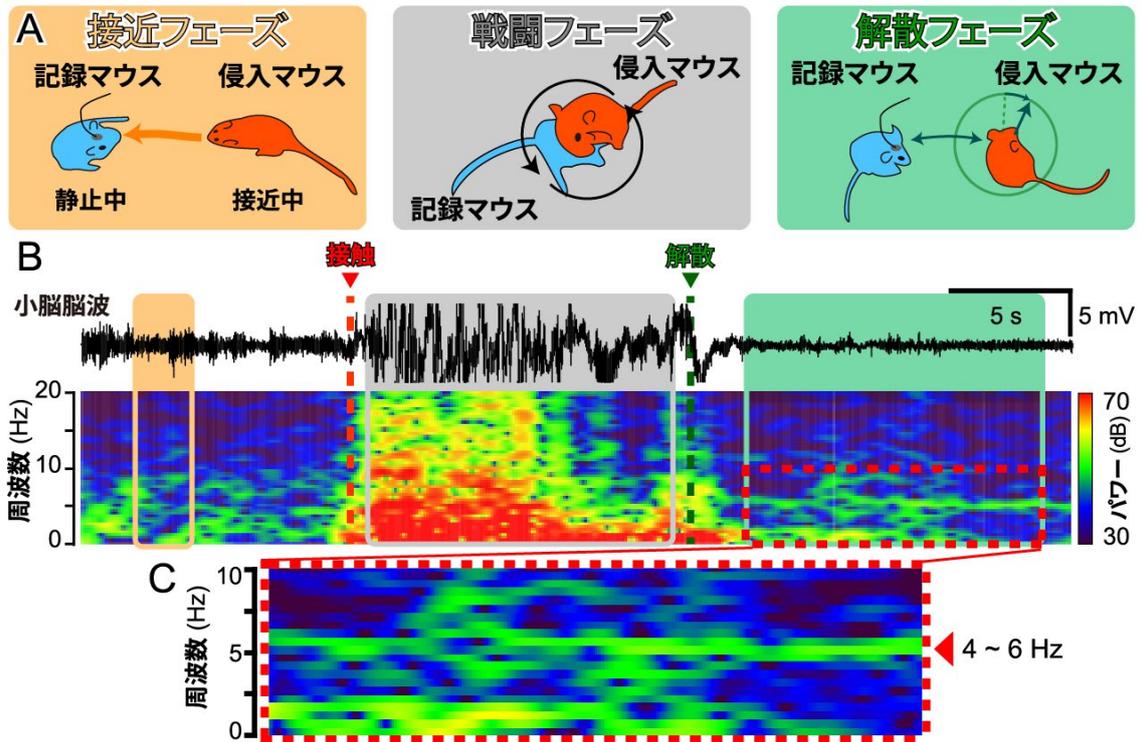


図 3. ケンカ解散時に現れる小脳シータ波。マウスの小脳に留置した 2 本の電極の間で局所フィールド電位を記録しました。図に表示してあるケンカ・ラウンドでは、侵入者マウスが記録している居住者マウスに接近し、接触直後にケンカが勃発しました。ケンカ中の記録には激しい運動による筋電が載っている可能性が高いため解析はしませんでした。ケンカ解散後には、両マウスは静止した状態になりましたが、小脳の局所フィールド電位には 4-6 Hz の周波数帯の振動が見られることが明らかになりました。そこで、ケンカ開始直後に、同じ小脳電極を介してシータ波の電気刺激を送り込むと、ケンカは早く解散することが示されました。また、小脳グリア細胞を ChR2 光刺激すると小脳ではシータ波が発生し、また、ケンカも早期に解散されるようになることが示されました。

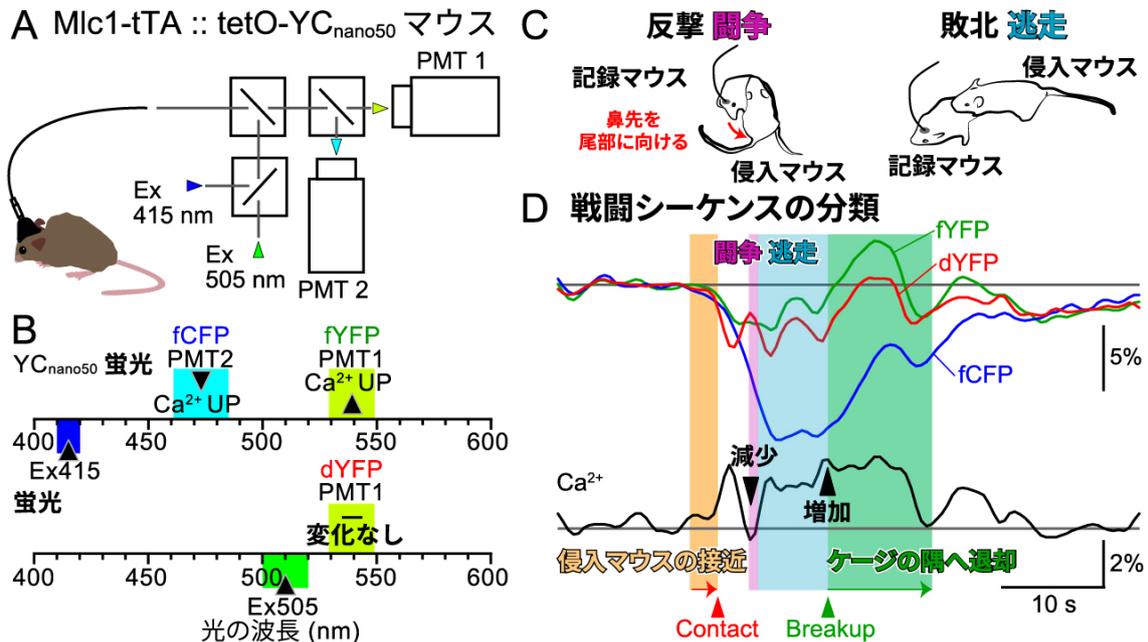


図 4. 小脳の局所環境の光ファイバー計測。小脳に光ファイバーを刺入して、2種類の励起光を送り込み、3種類の蛍光 (fYFP, dYFP, fCFP) を計測しました。実験には、小脳のバークマングリア細胞を含むアストロサイトに FRET 型 Ca^{2+} 蛍光センサーを発現する遺伝子改変マウスを用いました。3つの蛍光波形を比較することで、グリア細胞内の Ca^{2+} 濃度変動、pH 変動、ならびに局所脳血流量の変動を推定することができます。ケンカ時のグリア細胞内の Ca^{2+} 濃度変動を解析したところ、記録マウスが侵入者マウスに反撃して攻撃する場面で Ca^{2+} が大きく減少することが明らかになりました。また、記録マウスが侵入者マウスに背後から追いかける場面ではグリア細胞内 Ca^{2+} は大きく増加し、ケンカ解散後も Ca^{2+} 濃度は持続的に高く維持されることが示されました。この結果より、小脳グリア細胞の活動は、マウスの攻撃性と連動することが示唆されました。

【謝辞】

本研究は、文部科学省研究費補助金 JSPS KAKENHI (JP22KJ0255、JP22KJ0262、JP22K15218、JP19H03338、JP22H02713)、学術変革領域 (A)「グリアデコーディング」(JP20H05896)、学術変革領域 (A)「行動変容生物学」(JP23H04659)、新学術領域研究「脳情報動態」(JP18H05110、JP20H05046)、光科学技術研究振興財団、武田科学振興財団、ノバルティス科学振興財団、上原記念生命科学財団の支援を受けて行われました。

【用語説明】

- 注 1. 社会行動：マウスもヒトも集団で暮らす場面が多いため、同じ種の間での社会性をともなう行動をすることが知られています。同腹で一緒に飼育された兄弟ではない見知らぬ雄マウス同士の場合、同じケージに入れるとケンカに至ることが多いことが観察されています。
- 注 2. 小脳：大脳の尾側、脳幹の背側に位置し、脳全体の神経細胞の約半分が存在することが知られています。
- 注 3. グリア細胞：脳を構成する細胞の種類で、神経細胞とは異なるものは総じてグリア細胞と呼ばれます。従来、グリア細胞は、脳の隙間を埋めるノリのような存在と考えられてきましたが、グリア細胞には脳内のエネルギー代謝やイオン環境を制御する機能があることが示されてきました。さらに、神経細胞とは異なる方法で、脳内情報処理に関わることも次々と明らかにされてきており、脳と心の機能におけるグリア細胞の役割に大きな注目が集まっています。
- 注 4. ケンカ：オス同士のマウスを同じケージに入れると、お互いに攻撃行動が引き起こされることが知られています。攻撃行動の優勢と劣勢は、ビデオ解析によって、比較的容易に区別することができます。優勢のマウスは、劣勢のマウスの陰部に向かって攻撃することが多く、劣勢のマウスは、優勢のマウスから逃げようとするため、背後から陰部を攻撃されることが多くなります。
- 注 5. 光計測：脳深部に光ファイバーを刺し入れて、蛍光信号を計測する方法をファイバーフォトメトリー法と呼びます。本研究では、細胞内の Ca^{2+} や pH に応じて、蛍光特性が変化する蛍光センサータンパク質を、脳内アストロサイトに人工的に遺伝子発現させたマウスを用いました。当研究室では、細胞内 Ca^{2+} をセンス(検出)するように設計された蛍光センサータンパク質でも pH の影響を受け、局所血流量の変動はあらゆる蛍光に影響を与えることを示してきました。本研究では、これらの影響を選り分ける工夫が施された新手法が用いられています。
- 注 6. 光で活性化：クラミドモナスという藻に発現する光感受性の膜タンパク質でチャネルロドプシン 2(ChR2)と呼ばれるものがあります。ChR2 遺伝子を、マウスの脳の特定の細胞で発現するように組み込むと、その細胞で ChR2 が発現されます。光ファイバーなどを使って、生きているマウスの脳を局所的に照射すると、ChR2 を発現する細胞だけが刺激されて興奮します。このように、光を使って特定の細胞の機能を操作する手法をオプトジェネティクス(光遺伝学)

と呼び、開発当初は ChR2 を神経細胞に発現する方法が主に用いられてきました。今回の実験では、ChR2 をグリア細胞のうち、アストロサイトに発現させています。また、当初、ChR2 は光感受性の非選択的陽イオンチャネルと捉えられてきましたが、この ChR2 は水素イオン(H⁺)を良く通すため、当研究室では、細胞内を人為的に酸性化するツールとして使っています。グリア細胞の酸性化が引き金となって、グリア細胞からグルタミン酸等の伝達物質が放出されることが示されてきました。

- 注 7. シータ波：多くの脳神経細胞の電気的な活動が電極まで伝わって記録されるものを脳波、もしくは、局所フィールド電位と呼びます。脳波の周波数を解析することで、睡眠や覚醒、てんかん等の脳病態等に相関するいくつかの脳状態を高精度に測定し、診断をすることができることが知られています。今回、小脳に挿入した電極から記録される局所フィールド電位の波形に含まれる 4-6 Hz の周波数成分に注目しました。この周波数成分は、シータ波と呼ばれます。
- 注 8. 局所フィールド電位：本研究では、近接する2本の電極を小脳に挿入し、このふたつの電極間の電位差を増幅することで、小脳での局所フィールド電位を記録しました。局所フィールド電位では、小脳の電極近傍の多くの脳神経細胞の電気的な活動による影響が合わさったものが記録されているため、個々の神経細胞の活動は計測されません。電極近傍での神経の集合的な活動状態を知るひとつの指標として用いられています。
- 注 9. 虫部：小脳において、正中部に位置する虫部(vermis)は、左右の小脳半球と区別されます。小脳虫部は、背側脊髄小脳路を介して体性感覚情報を受けていますが、さらに、視覚、聴覚、前庭感覚などの種々の情報も受けていることが報告されています。
- 注 10. プルキンエ細胞：小脳の主要な神経細胞。大脳のいくつかの領域から小脳へ神経入力がありますが、小脳から出ていく神経線維は、プルキンエ細胞の軸索のみです。したがって、小脳内での神経情報処理の結果は、全てプルキンエ細胞の出力として表現されていることになります。プルキンエ細胞への興奮性シナプス入力は、平行線維と登上線維の2種類になりますが、小脳での運動学習の結果は、平行線維とプルキンエ細胞間のシナプス伝達の効率の変化として現れると考えられています。
- 注 11. GABA 作動性抑制性神経細胞：伝達物質として GABA という抑制性伝達物質を放出する神経細胞のこと。プルキンエ細胞は GABA を放出して、深部小

脳核を抑制します。

- 注 12. 深部小脳核: Deep cerebellar nucleus (DCN)と呼ばれ、小脳プルキンエ細胞の出力先として知られています。
- 注 13. 腹側被蓋野: Ventral tegmental area (VTA)と呼ばれ、哺乳類の脳における中脳の一領域であり、系統発生的に古い部分であることが知られています。VTA のドーパミン放出神経細胞は、報酬や目標志向型の行動に中心的な役割を担っていることが知られています。
- 注 14. ドーパミン: 神経伝達物質のひとつで、快く感じる原因となる脳内報酬系の活性化において中心的な役割を果たしていることが知られています。また、運動や学習、感情、意欲、ホルモンの調節など多くの生命活動に関与していることも明らかになっています。
- 注 15. バーグマングリア細胞: 小脳にあるグリア細胞の一種で、平行線維や登上線維とプルキンエ細胞の間のシナプスが形成される層に多数の突起を伸ばしており、小脳での情報処理に関与する可能性が指摘されています。脳内血管と神経細胞やシナプスを覆う構造をしているため、分類上は、グリア細胞のうちのアストロサイトに分類されますが、他の脳領域のアストロサイトとも異なる特別の役割を果たしている可能性が指摘されています。
- 注 16. アストロサイト: グリア細胞は、大きく分けて、アストロサイト、ミクログリア、オリゴデンドロサイトに分類されます。今回は、他のグリア細胞については検討せず、本リリースで、グリア細胞と表記されている箇所は、アストロサイトのことを意味します。なお、小脳バーグマングリア細胞は、小脳におけるアストロサイトの一つとして分類されていますが、他の脳領域のアストロサイトといろいろな性質が異なるため、アストロサイトとは別の独自の細胞種として捉える場合もあります。

【論文情報】

タイトル： Glial tone of aggression

著者： Yuki Asano, Daichi Sasaki, Yoko Ikoma, Ko Matsui*

**筆頭著者： 東北大学 大学院生命科学研究科 超回路脳機能分野
浅野 雄輝（博士課程大学院生）

*責任著者： 東北大学 大学院生命科学研究科 超回路脳機能分野
松井 広（教授）

掲載誌： Neuroscience Research

DOI： doi.org/10.1016/j.neures.2023.11.008

URL： https://doi.org/10.1016/j.neures.2023.11.008

【問い合わせ先】

（研究に関すること）

東北大学大学院生命科学研究科

教授 松井 広（まつい こう）

TEL: 022-217-6209

Email: matsui@med.tohoku.ac.jp

（報道に関すること）

東北大学大学院生命科学研究科広報室

高橋 さやか（たかはし さやか）

TEL: 022-217-6193

Email: lifsci-pr@grp.tohoku.ac.jp