

## Cell Reports

Early stress-induced impaired microglial pruning of excitatory synapses on immature CRH-expressing neurons provokes aberrant adult stress responses

早期のストレスは未熟なCRH+ニューロンにおいて興奮性シナプスに対するミクログリアの剪定不全を引き起こし、これは成人期の異常なストレス応答を誘発する

2024/7/8

# Introduction

- ・ ストレスホルモンの代表であるコルチゾールは副腎皮質から分泌されその血中濃度はHPA軸によって調整されている



# Introduction

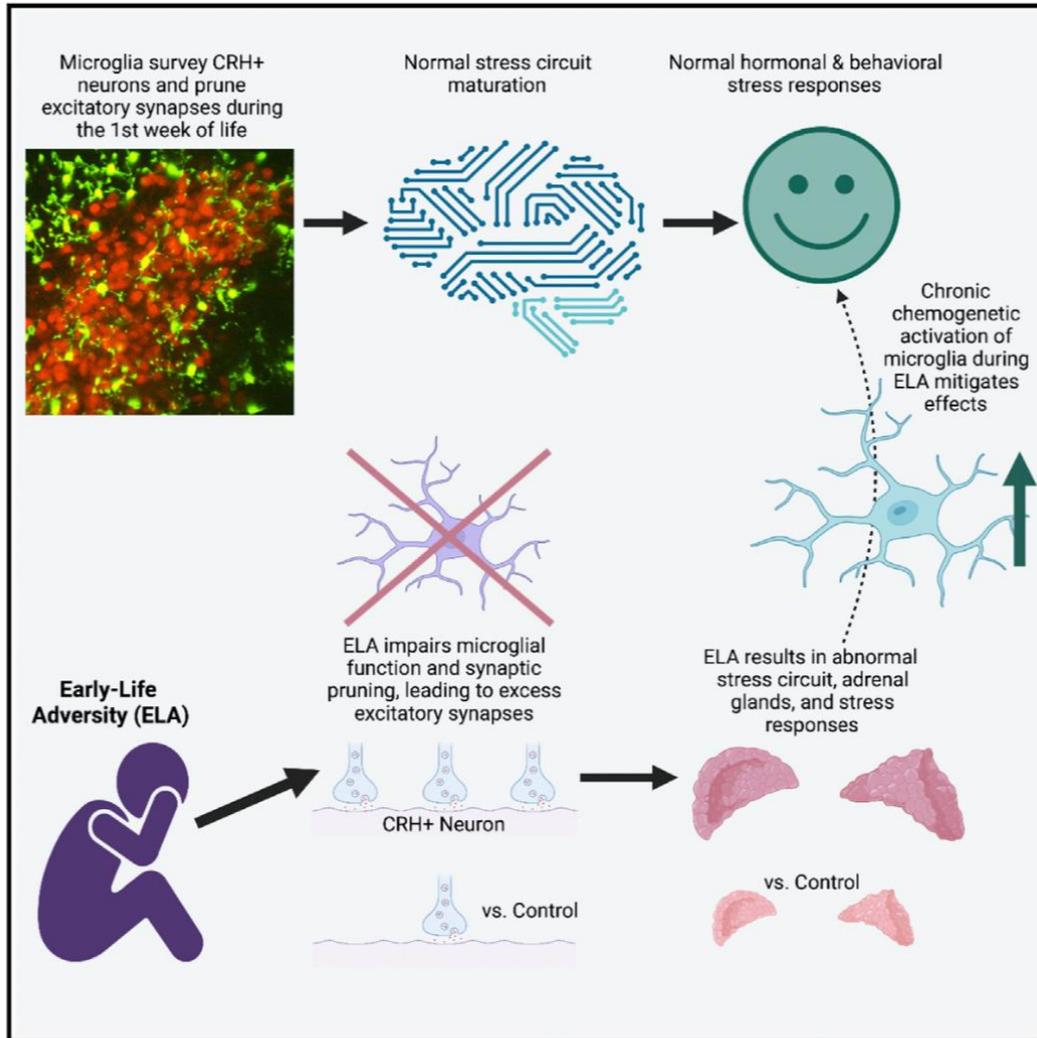
## コルチゾール

- ・心身がストレスを受けると急激に分泌が増える
- ・免疫系、中枢神経系、代謝系に影響を与えたり、朝に多く夜に少なく分泌される事で体の一日の活動リズムを整えている
- ・コルチゾール分泌が慢性的に増えると不眠症、うつ病やストレス関連疾患につながる
- ・幼少期のストレスや貧困等の経験（ELA）は後のうつ病のリスク増加や認知的及び感情的脆弱性をもたらす

→視床下部-下垂体-副腎皮質系に着目してELAがストレス反応に与える影響を検討

# Introduction

## Graphical abstract



## Authors

Jessica L. Bolton, Annabel K. Short, Shivashankar Othy,...

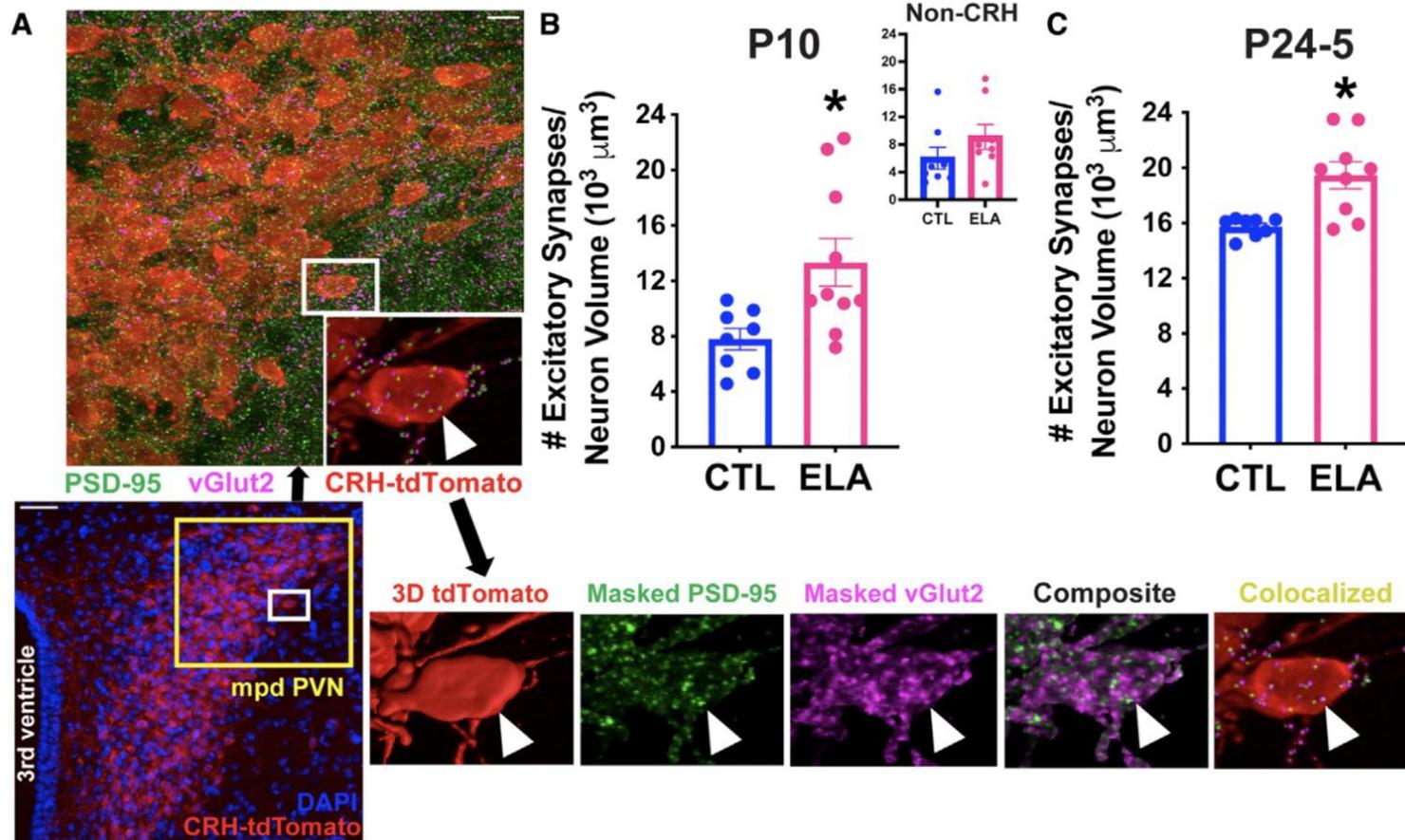
Marie-Eve Tremblay, Michael D. Cahalan, Tallie Z. Baram

## Highlights

- ・ 幼少期の逆境（ELA）は視床下部のCRH+細胞への興奮性シナプス数を増加させる
- ・ ELAによりCRHニューロンに隣接するミクログリアのシナプス剪定機能が損なわれる事
- ・ このメカニズムにMerTKというタンパクが関わる
- ・ ELAマウスの化学遺伝学的ミクログリア活性化は成人期のストレス反応を正常化する

# Fig.1

ELAは視床下部のCRHニューロンへの興奮性シナプス入力を増加させる



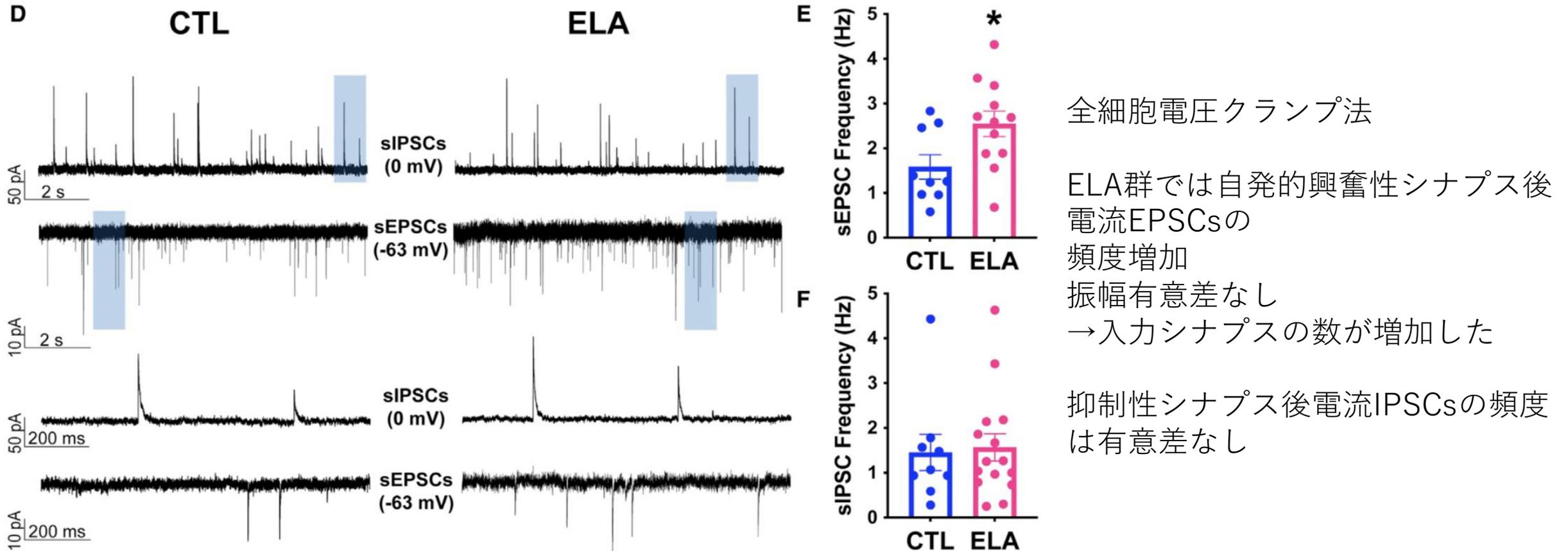
興奮性シナプスの数  
= vGlut2とPSD-95の共局在で定義

P10  
CRHニューロン：ELA > CTL  
非CRHニューロン：差なし

P 24~25  
CRHニューロン：ELA > CTL

# Fig.1

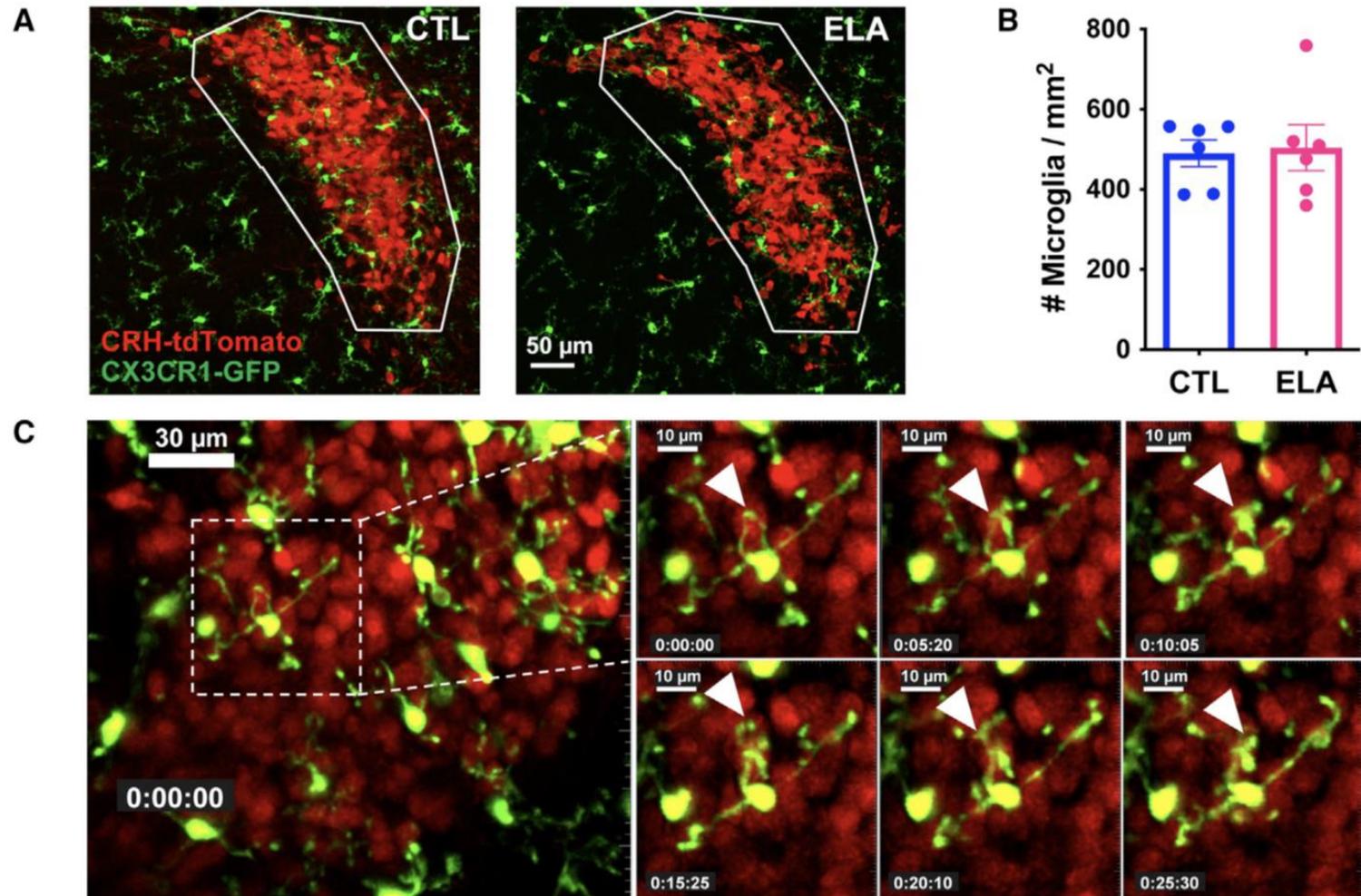
ELAは視床下部のCRHニューロンへの興奮性シナプス入力を増加させる



ELAによってCRHニューロンへの興奮性シナプス入力の数が増加し、これはELA終了後も持続する  
→なぜ興奮性シナプスの数が増えるのか？

# Fig.2

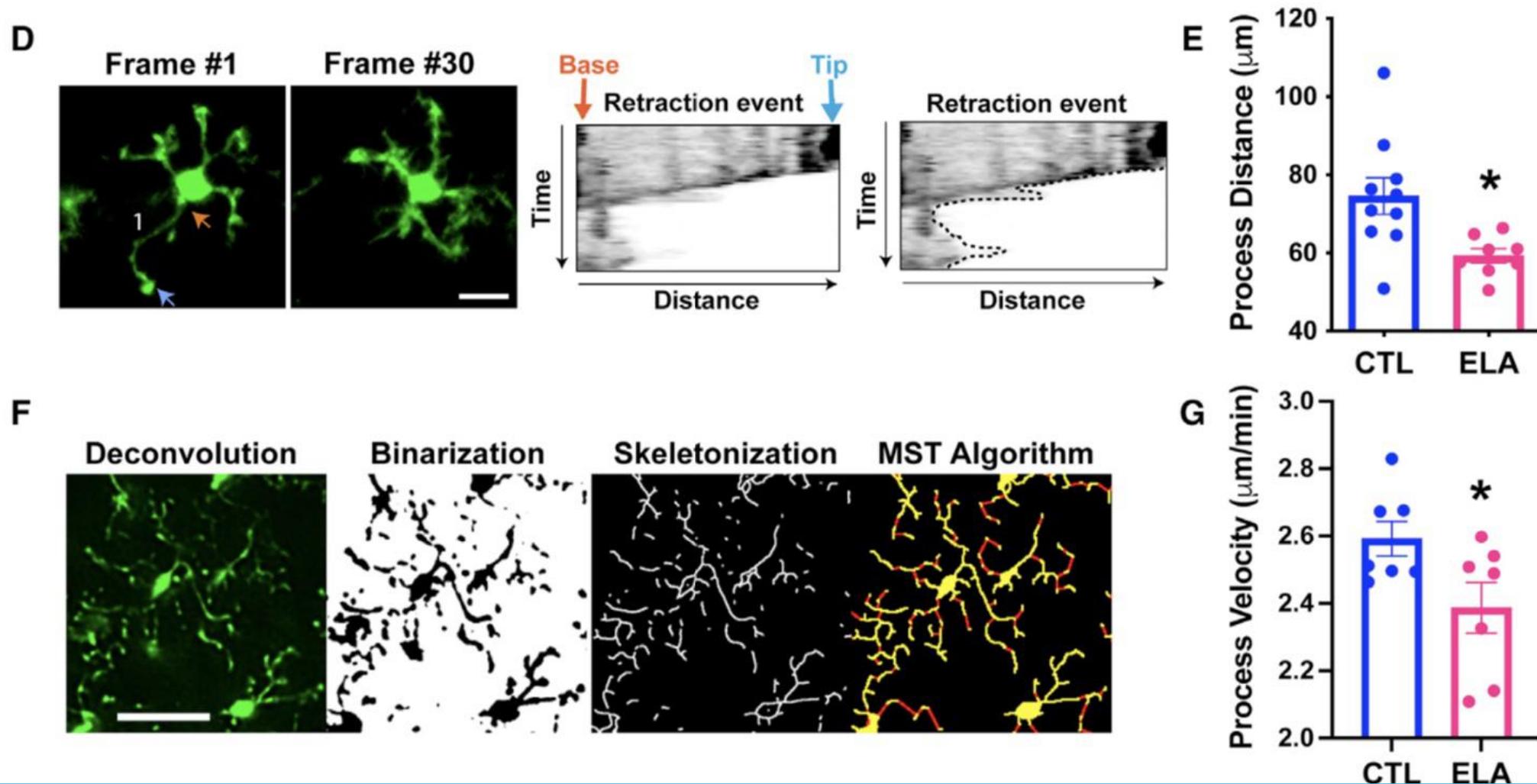
ELAはミクログリアのプロセスダイナミクスの低下を引き起こす



A : P10のミクログリアとCRH  
ニューロンの共焦点画像  
B : ミクログリアの数に有意差なし

# Fig.2

ELAはミクログリアのプロセスダイナミクスの低下を引き起こす

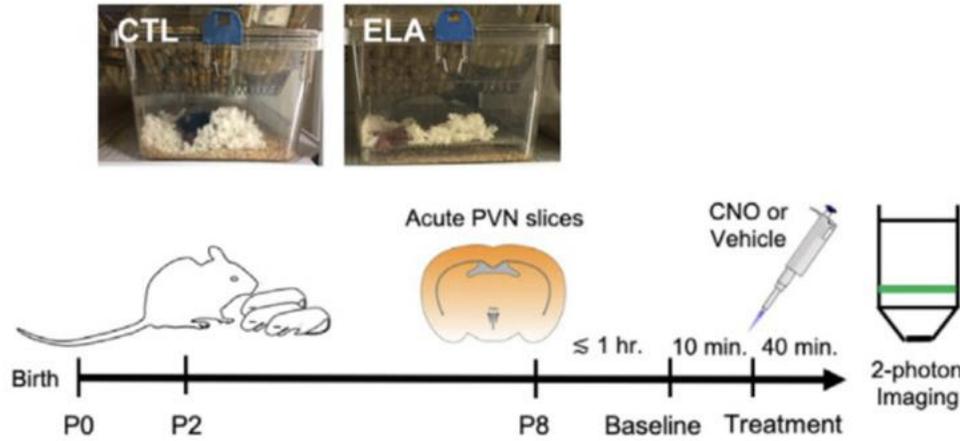


P8におけるミクログリアのプロセスの移動距離、移動速度はELAで有意に低下

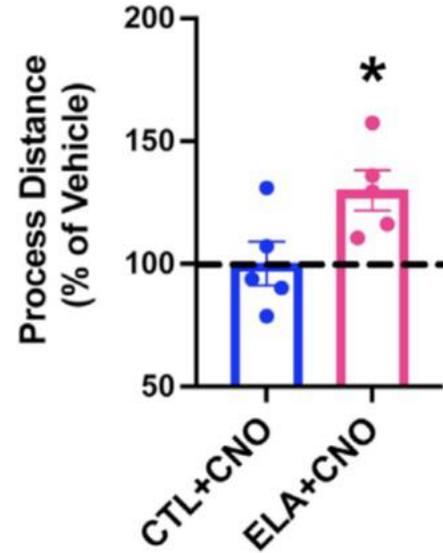
# Fig.2

ELAはミクログリアのプロセスダイナミクスの低下を引き起こす

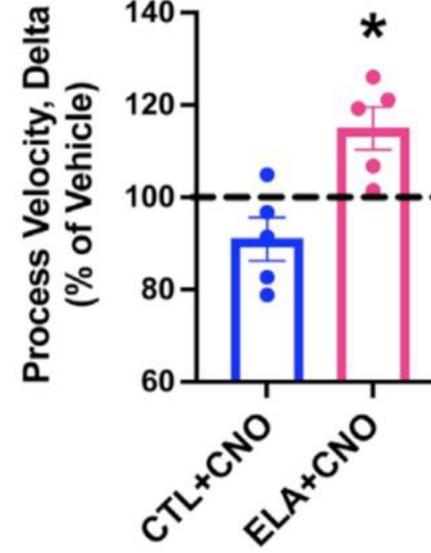
H



I



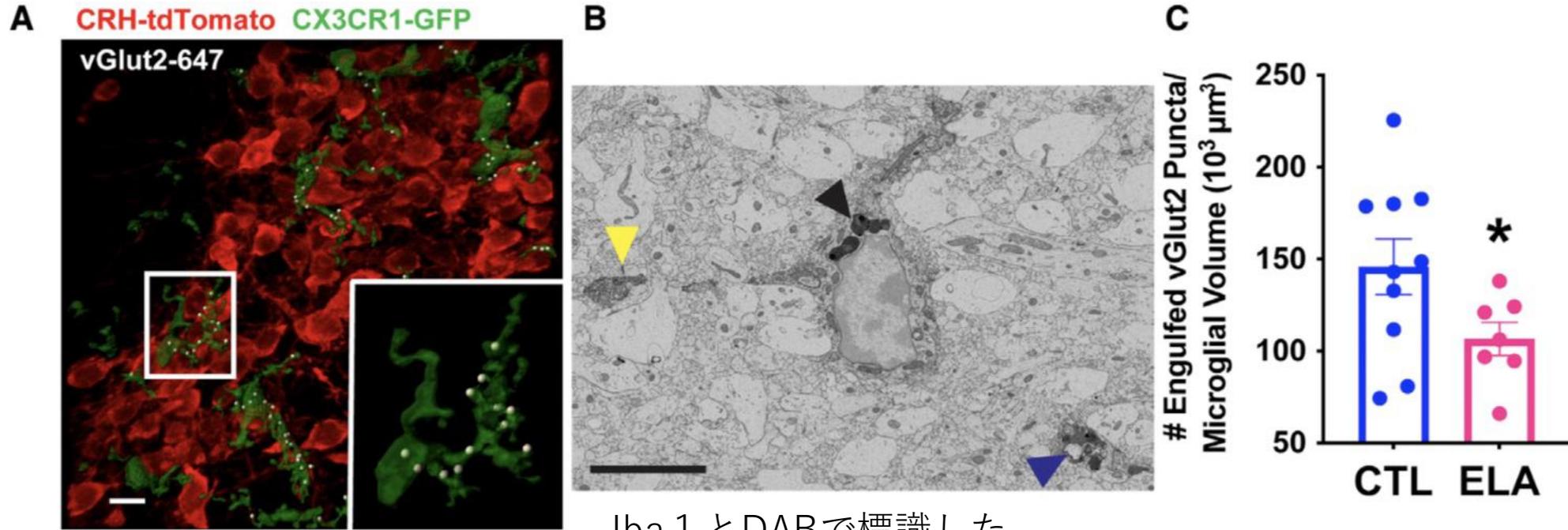
J



Gq-DREADDをミクログリア特異的に発現させたP8マウスにCNO投与  
→ELA群ではプロセスダイナミクス移動距離、速度が有意に増加

# Fig.3

ELA下ではCRHニューロンに隣接するミクログリアのシナプス剪定の機能不全が起きる

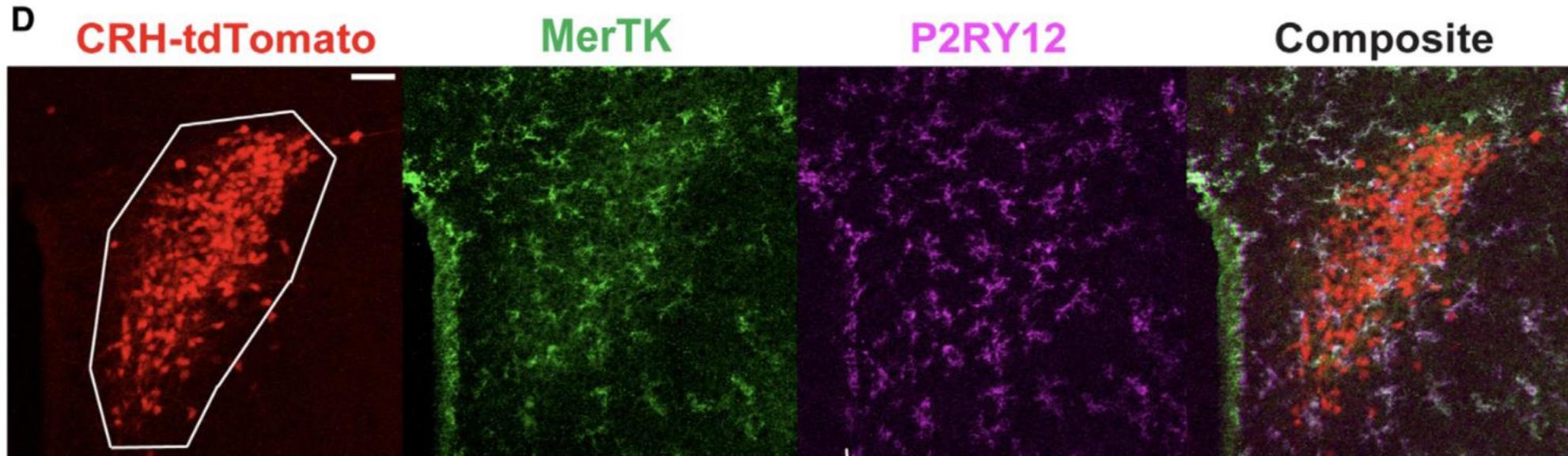


Iba 1 と DAB で標識した  
ミクログリア

ELA群でミクログリアによるはCRHニューロンの興奮性シナプスの貪食が低下する

# Fig.3

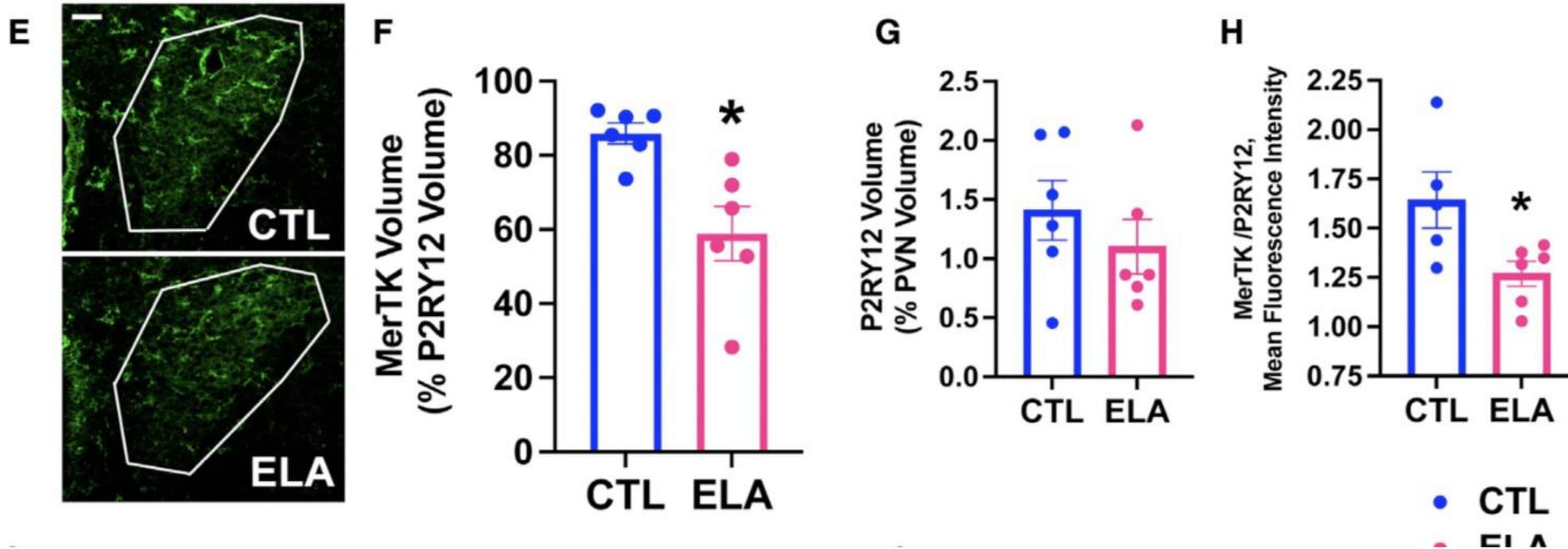
ELA下ではCRHニューロンに隣接するミクログリアのシナプス剪定の機能不全が起きる



MerTKは未熟なPVNでは主にミクログリアに発現している  
なおアストロサイトのマーカーやニューロンマーカーとは重ならなかった

# Fig.3

ELA下ではCRHニューロンに隣接するミクログリアのシナプス剪定の機能不全が起きる



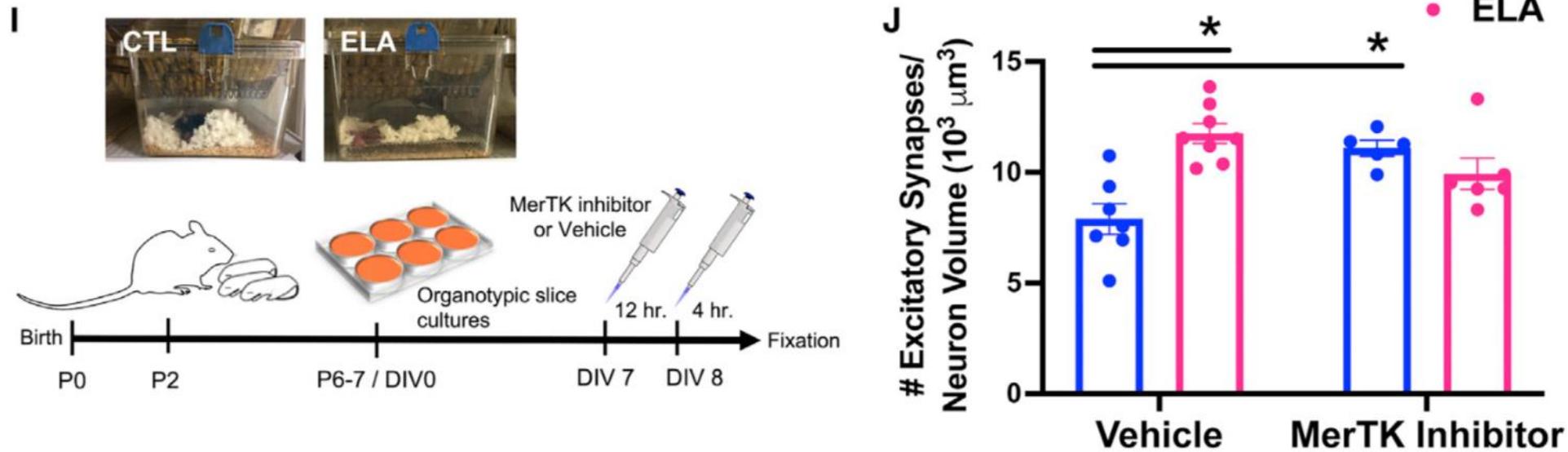
P8  
ミクログリア体積に対するMerTKの体積は  
CTL > ELA

平均蛍光度MFIで解析しても  
CTL > ELA

MerTKシグナル伝達がELAマウスのシナプス剪定機能不全の根底にある可能性を示唆

# Fig.3

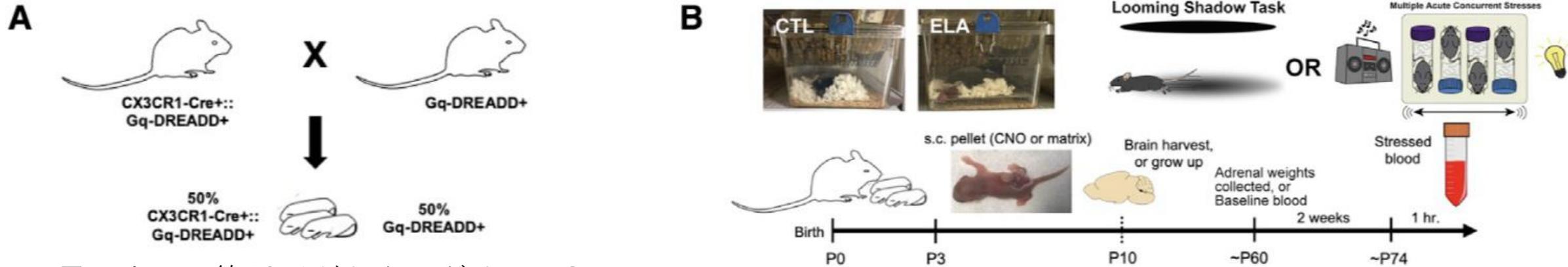
ELA下ではCRHニューロンに隣接するミクログリアのシナプス剪定の機能不全が起きる



MerTKへの選択性の高いMerTK阻害剤UNC2025を投与  
CTLマウスでは興奮性シナプスが増加、ELAマウスでは増加せず

MerTKが関与している事の裏付けに

# Fig4. ELAマウスの化学遺伝学的ミクログリア活性化は後のストレス反応異常を正常化する



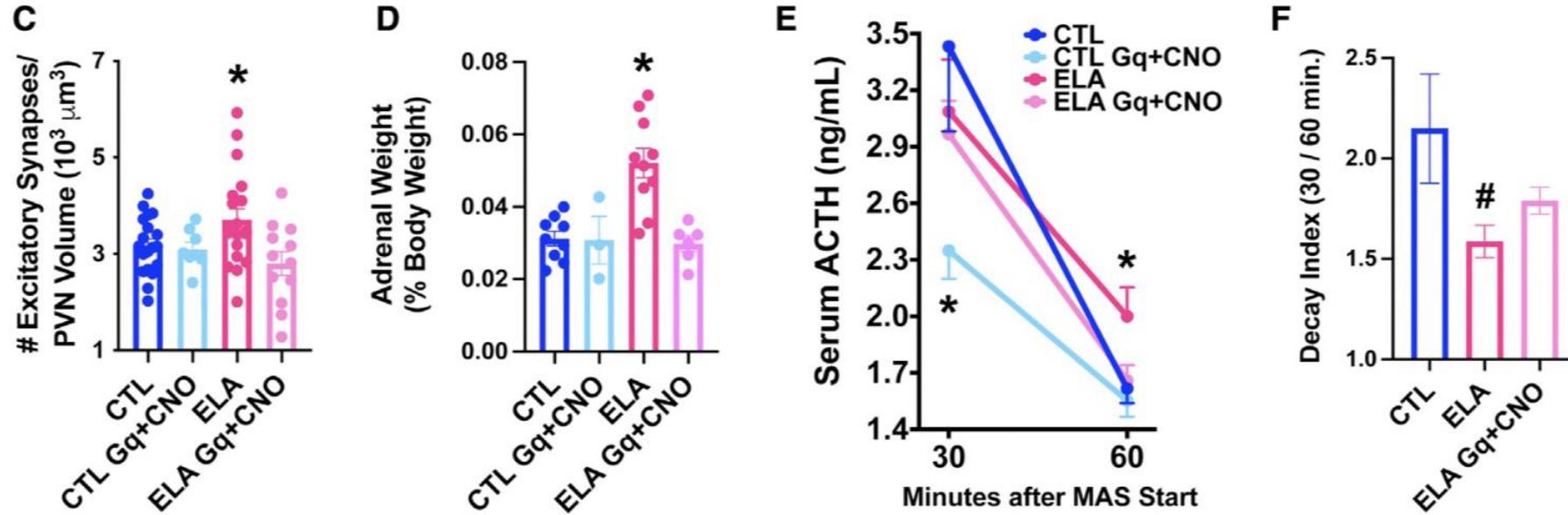
子マウスの約50%がミクログリアにGq-DREADD+を発現 残りは同腹対照とする

P3で皮下に持続放出型のCNOまたはプラセボ  
P10でPVNでのCRH細胞の興奮性シナプス数測定  
別のコホートで成人期のホルモンや行動動態検討

ELAによるミクログリアの機能不全が長期的なストレス関連の異常に寄与するかを調べたい

# Fig4.

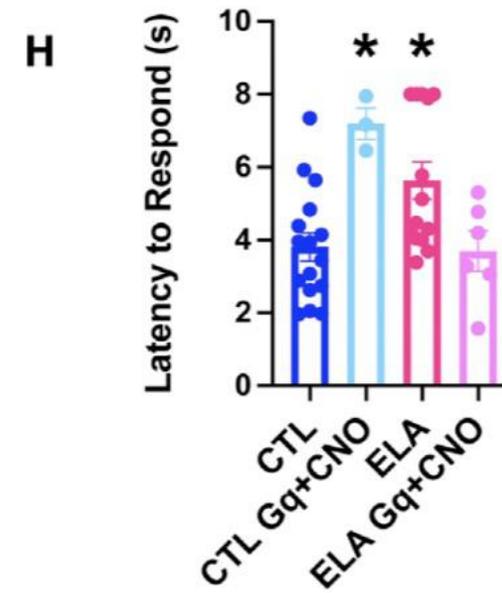
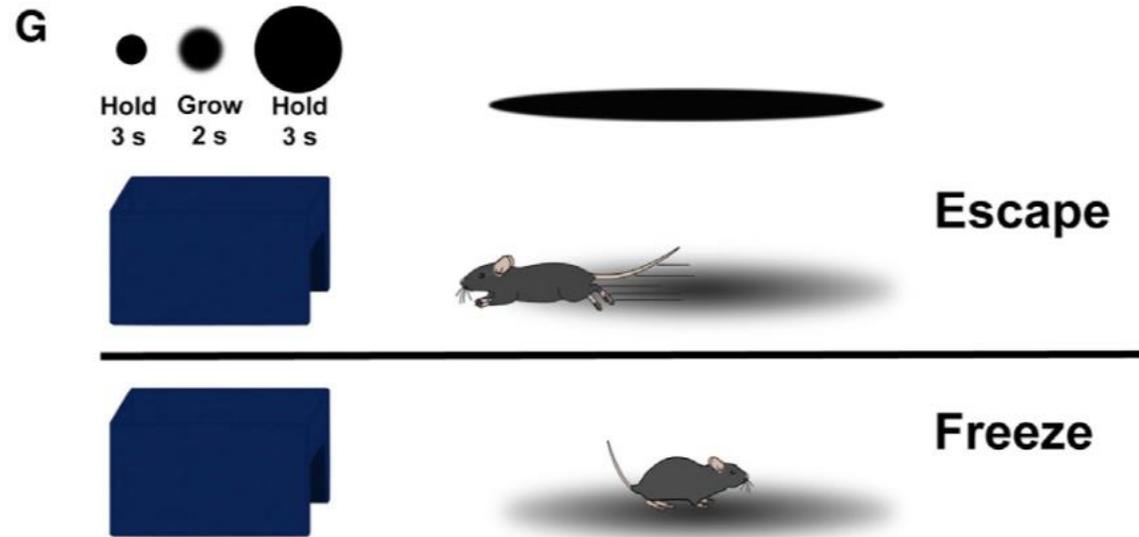
ELAマウスの化学遺伝学的ミクログリア活性化は後のストレス反応異常を正常化する



- ・ミクログリア活性化はELAによる慢性的なホルモンの増加を防ぐ
- ・ミクログリア活性化はELAによるストレス反応の異常な延長を防ぐ

# Fig4.

ELAマウスの化学遺伝学的ミクログリア活性化は後のストレス反応異常を正常化する



ELAマウスでは脅威反応（フリーズか逃避）までの潜時の延長＝学習性無気力状態  
ミクログリアを活性化すると潜時がCTLと同じレベルに回復

ELAによるミクログリアの機能不全は成人期の神経内分泌、行動反応の持続的な異常を引き起こすこと、これはEL A中のミクログリア活性化で正常化することを示唆

# Discussion

- 1, ミクログリアはPVNのCRHニューロンのシナプス剪定に重要である
- 2, ミクログリアのプロセスダイナミクスが発達中のシナプス剪定能力の指標となる
- 3, 幼少期のELAはミクログリアの機能不全を引き起こしPVNのCRH+ニューロンへの興奮性シナプス数の増加と将来のストレスに対する異常反応を引き起こす
- 4, ELAによるシナプス剪定不全はミクログリアのMerTKの発現と活動が関連する

# Discussion

ELAによってCRH+ニューロンでは興奮性シナプスが増加したが非CRHニューロンでは増加しなかった

- ・ ELAにより隣接するミクログリアに対するCRH+細胞のシグナル伝達が変化した可能性
  - ・ 特定のミクログリア集団が特定のニューロン集団の剪定の役割を割り当てられている可能性
- ミクログリアの神経細胞標的の選択性についてはさらなる検討が必要

# Discussion

今回未熟なPVNではMerTKの発現はミクログリアに限定されていた

- ・成熟した脳ではMerTKはアストロサイトでも発現している
  - ・他の研究ではアストロサイトがシナプスの剪定に関与している事、ミクログリアと共同して働く事が示唆されている
- 相互作用についてはさらなる検討が必要

# Discussion

- 生後早期のストレスは血漿糖質コルチコイドの慢性的な上昇と糖質コルチコイドとCRHの脳レベルの上昇と関連していることが分かっている
  - ミクログリアはコルチコステロン受容体であると同時にMerTK発現を制御する転写因子でもある糖質コルチコイド受容体（GR）を発現している
- ELAによる糖質コルチコイドの上昇がミクログリアにおけるMerTKの発現と機能を直接ダウンレギュレートしているのでは？

# Conclusion

- ELAはPVNのCRHニューロンに接するミクログリアのプロセスダイナミクスの減少、シナプス剪定の機能不全を引き起こす。この結果PVN内のCRH神経細胞の興奮性シナプスの数が増加する。
- この変化は慢性的なストレスホルモンの放出とストレスに対する異常な行動反応を引き起こし、これはストレス関連疾患のリスク因子となる。
- 発達中のミクログリア機能に対する操作がストレス関連疾患予防の新しいターゲットとなる可能性も