

ジャーナルクラブ補足資料

IL-4 shapes microglia-dependent pruning of the cerebellum during postnatal development
(Guedes et al. 2023 *Neuron*)

2024.10.21 発表: 日向寺光洋

◎著者らはポルトガルの研究者(一部米マンチェスター大)。筆頭著者は miRNA とミクログリアについて研究しているそう

○**FigS1, 2** 小脳とミクログリアの成熟は生後同時期におこる

- ・ P10 から進むにつれ、分子層(ML)の厚さが増大
- ・ P10 時点でミクログリアは白質(WM)に多いが、徐々に均一になる

◎FigS1-D が特にわかりやすいが、小脳ミクログリアの突起は P10 から進むにつれ突起が増え、発達したラミファイド型を示すようになる

●Fig1

・ 本研究では、Parvalbumin(パルブアルブミン)-Cre 系統のマウスと Rosa26-Stop-tdTomato(別名 Ai9)系統マウスをかけ合わせ、これを **PV::tdT** マウスとした
(ただの Ai9 マウスは NegativeControl としてフローサイトメトリーで用いている)

・ PV(パルブアルブミン)は小脳のプルキンエ細胞(PC)、分子層(ML)の抑制性ニューロン、小脳顆粒細胞(GC)に発現するため、PV::tdT マウスではこれらの小脳細胞が tdTomato で光る

◎これを利用して、小脳の tdT⁺ニューロンを貪食したミクログリアをフローサイトメトリー(FACS)で検出することができる

●Fig2, 3

mEPSP…ここではシナプス後細胞の自発的発火を見ている

fEPSP…興奮性シナプス場電位。脱分極によって膜を横切る電流(EPSC)が流れることにより発生する細胞外電場

N1 amplitude…シナプス前細胞の活動?

N2 amplitude…シナプス後細胞の活動。N1 に遅れて記録される

⇒

P10 以前の IL-4 暴露は、小脳プルキンエ細胞(PC)への顆粒細胞(GC)由来入力を増大させてしまう。更に、これは P60 まで持続する

●Fig4 生後 IL-4 投与による小脳回路異常がマウス行動に及ぼす影響

・ P8 と P13 で IL-4 投与 → P60 で行動テスト

オープンフィールドテスト…移動距離は増加 不安行動(Time spent in center)は N.S.

ロータロッドテスト…運動能力を見るテスト 落下時間は有意に早かったが、学習能力に問題は無かった。

・その他、ランニングホイールテストでは**運動過剰**(Fig4-G)が見られ、**行動過多**も確認された(Fig4-H)。**高報酬テスト**でも遅延時間が長いとスコアが有意に低くなり、**衝動性の上昇**が示唆された(Fig4-I)

○FigS3

(3-E, F, G)

HDM 投与により血清中の IL-4 濃度は P10 でも P17 でも変化しているが、小脳の mRNA expression レベルだと変化がないことがわかる

◎HDM…House Dust Mite(ハウスダストダニ)

⇒アレルギー性喘息のアレルゲン。舌下免疫療法にも近年用いられる。

●Fig5 HDM 経鼻投与による小脳刈り込みへの影響

(5-B)

・ここでは気管支肺胞を洗浄し**顆粒球**(白血球の一種)を得た

・これをフローサイトメトリー(FACS)にかけて、**脱顆粒**(顆粒を細胞外に放出する炎症反応)が起こっているか確認 ◎顆粒球の活性化と喘息は関係する

・縦軸(SSC-A)は粒子の複雑性を示す。顆粒放出により、顆粒細胞内構造の複雑性が減ったことが言いたいのだと思われる。

●Fig6

Fig3, 4 同様、IL-4 の代わりに HDM を用いても、P60 まで持続する小脳回路変化および行動変化がもたらされるか見ているだけ。

●Fig7

・ミクログリア特異的に IL4- α 受容体をノックアウト(cKO)することで、ADHD 様表現型を回避できるのか検証

⇒IL-4・HDM どちらにおいても cKO はオープンフィールドでの活動異常を回避した。