

## — 綜 説 —

## ストレスによるミクログリア活性化メカニズムについての考察

洲鎌 秀永 柿沼 由彦

日本医科大学 生体統御科学

An Overview for Possible Mechanisms Governing Stress-induced Microglial Activation

Shuei Sugama and Yoshihiko Kakinuma

Department of Physiology, Nippon Medical School

## Abstract

Stress has been well documented to bring about various clinical disorders, ranging from neurodegeneration, as seen in such conditions as Parkinson disease and Alzheimer disease, to metabolic disorders, including diabetes mellitus. It is also known that dysregulation of immune responses in the brain is closely linked to clinical disorders. In fact, it is accepted that stress associated with daily activities, be it good or not, can affect immunity as well as general health. However, the effects of stress on immune functions, especially brain immune cells, are not fully understood. As for immune cells, three types of glial cells contribute mainly to brain immunity: astrocytes, oligodendrocytes, and microglia. Microglia differ from the others in several aspects: first, they have a monocyte lineage; and second, they originate from the mesoderm, while astrocytes and oligodendrocytes, like neuronal cells, originate from the ectoderm. Thus, microglia are considered to be the central player in exerting immune functions in the brain. In this review, we describe the microglial responses induced by various kinds of stress and propose a possible mechanism by which stress induces microglial activation.

(日本医科大学医学会雑誌 2019; 15: 96-105)

**Key words:** stress, microglia, glucocorticoids, noradrenaline, beta blocker

## はじめに

脳は、人間の精神活動のみならず、知的活動、運動、摂食、代謝、睡眠、免疫活動など様々な活動を統合している。しかしながら、脳にも活発な免疫活動が存在することが明らかになってきたのは比較的最近のことである。このような経緯の背景には、脳には白血球、B細胞、T細胞などの末梢免疫細胞が存在しないということがあると言われていた。末梢免疫細胞は血液・

脳・脊髄関門 (Blood-Brain Barrier, 通称 BBB) を通過できないため、脳には免疫細胞が存在しないときえ考えられていた。しかしながら、近年ではその BBB の透過性が何等かの要因によって障害されることによって、末梢の免疫細胞が脳内に侵入し炎症を引き起こしているという報告も出ている。このように末梢免疫細胞が存在しない脳において、その代わりとして免疫作用を司っているのが、ミクログリア細胞である。脳内には、主にアストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリアの非神経細胞が存在するが、ミクロ

Correspondence to Shuei Sugama, Department of Physiology, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8602, Japan

E-mail: Sugama@nms.ac.jp

Journal Website (<http://www2.nms.ac.jp/jmanms/>)

グリアは脳内免疫細胞として重要な役割を担っている。ミクログリアは、他と異なって、単球由来 (Monocyte) である。また、ミクログリアは血液細胞や末梢免疫細胞と同じく、中胚葉由来 (Mesoderm) である<sup>1</sup>。その点、オリゴデンドロサイトとアストロサイトは、神経細胞と同じく、外胚葉由来 (Ectoderm) である。従って、ミクログリアが、脳内において末梢免疫細胞に最も近いと言える。

ミクログリアは1932年に、スペインの神経解剖学者 Del Rio-Hortega によって最初に報告された<sup>2</sup>。脳内細胞の約10%に相当し、その形態的变化はダイナミックである。ミクログリアは非活性化状態では小さい細胞体、細長い突起を有するが、活性化してくると細胞体が肥大し、突起が太く短くなる。さらに、活性化が進むと、アメーバ状を呈する。その活性化は、虚血 (Ischemia)、損傷 (Injury)、神経切断 (Axotomy)、有毒物質曝露 (Toxic substance) などによって引き起こされる<sup>3,4</sup>。活性化したミクログリアは、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF $\alpha$ などの炎症性サイトカインを分泌し、神経細胞に障害的に作用する<sup>5-7</sup>。そのような炎症促進型はM1型と呼ばれる。対照的に、IL-4、IL-10、TGF $\beta$ などの抗炎症性サイトカインを分泌し、神経保護的に作用するものはM2型と呼ばれる。従って、神経障害的に働くのはM1型であり、神経保護的に働くのはM2型であると考えられる。最近の興味深い報告の中に、DAMPs (Damage-associated molecular pattern molecules) の存在がある。DAMPsとは損傷細胞・組織から放出される分子構造であり、炎症反応の促進に関与するとされる。非蛋白性、蛋白性に分けられるが、その中で、PRXs (Peroxiredoxins)、HMGB1 (High-mobility-group box1)、S100A8/A9などの蛋白性DAMPsが脳内のマクローファージ・ミクログリアによって取り込まれ炎症を抑制するということが分かっている<sup>8</sup>。特に、スカベンジャー受容体であるMSR1の障害によって脳卒中のダメージが増大していることが示された。このように、脳内の中に神経障害的作用、神経保護的作用の分子機構の解明も進められている。

活性化したミクログリアは様々な病態に関与することが報告された。例えば、うつ病<sup>9,10</sup>、双極性障害<sup>11</sup>、自閉症<sup>12</sup>、心筋梗塞<sup>13</sup>、嘔み合せ異常<sup>14</sup>、アルコール飲酒<sup>15</sup>、睡眠障害<sup>16,17</sup>、肥満<sup>18</sup>、高血糖<sup>19</sup>、高血圧<sup>20</sup>、脳卒中<sup>8</sup>などが挙げられる。

興味深いことに、近年、ストレスによるミクログリア活性化が明らかになりつつある。ストレスという概念は1930年代にカナダ人ハンス・セリエ (Hans

Selye) によって初めて提唱された。セリエは、「ストレスとは体の消耗の度合いである (Stress is essentially the rate of wear and tear in the body)」と述べ、ストレス応答を引き起こすものをストレスサー (Stressor) と呼んだ<sup>21</sup>。人体におけるストレス時において、視床下部—下垂体—副腎皮質のHPA軸と、交感神経系の活性化が生じることが分かっている (図1)。この交感神経系の活性化を明らかにしたのはウォルター・キャノン (Walter B. Cannon) である。Cannonは、ストレス時に循環血液中のカテコールアミンが上昇することを初めて発見し、そのソース (源) は副腎であることを明らかにした。ストレス時には、青斑核 (LC) でノルアドレナリンが合成され (図2)、脳内の海馬、視床下部、視床、大脳皮質、中脳などの各部位に軸索輸送されて分泌される。そして、それが脳内各部位に存在するミクログリアを取り囲むように突起を伸ばすことも明らかになっている。このように、アドレナリン、ノルアドレナリンなどの交感神経系関連の神経伝達物質、そしてグルココルチコイド (コルチゾール、コルチコステロン) などが、ストレス時の神経免疫 (ミクログリア) に関与するということが明らかになってきている。本稿では、著者らはストレスがミクログリアにどのような影響を及ぼすのかという点に注目し、現在まで報告された論文を紹介し、その活性化メカニズムについて解説を加える。

## 1. ストレスとミクログリア活性化

### 急性ストレス

ミクログリアが神経炎症に関与するということが2000年頃より明らかになったが、ストレスとミクログリアの関係について報告がなされたのは2005年以降である。ミクログリアは神経支持細胞として限定的な役割に留まり、現在のように様々な病態に関与するという事実は知られていなかった。急性ストレスとミクログリア活性化に関しては2007年に最初の報告がなされている<sup>22,23</sup>。FrankらはSDラット (3カ月齢オスのSprague-Dawley rats) を用いて、テイルショック・ストレス (Inescapable shock, 1.6 mA, 5秒, 100回) を負荷した。その結果、彼らは海馬CA3領域、歯状回 (Dentate gyrus) においてMHC II陽性の細胞の増加を確認した。そのMHC II陽性細胞はIba1陽性のミクログリアであった<sup>22</sup>。一方、GFAP陽性のアストロサイトは変化を示さなかった。但し、CD11bはストレスによって増加していなかったと報告した。洲鎌 (著者) らは、脳内の領域をさらに広げ、3

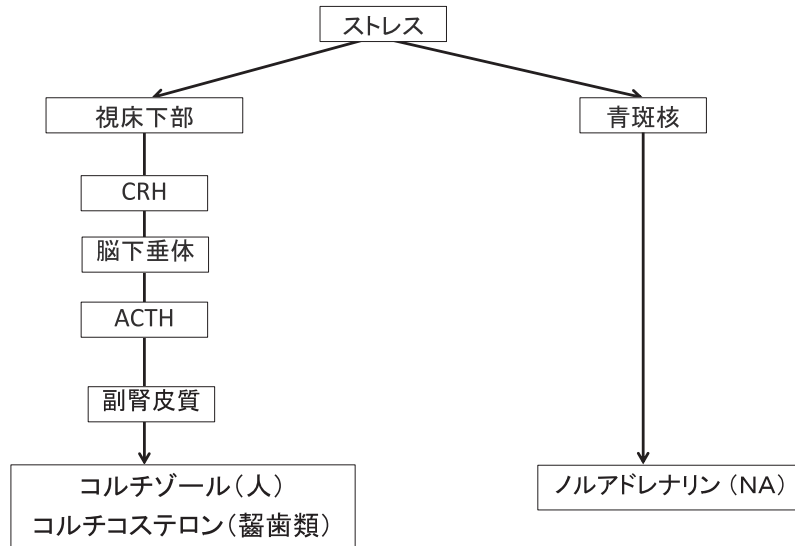


図1

ストレス時活性化する交感神経系と視床下部—下垂体—副腎皮質（HPA）軸を示す。青斑核ノルアドレナリン神経が活性化し神経終末からノルアドレナリンを分泌する。HPA 軸では副腎皮質の束状層よりグルココルチコイドが分泌される。

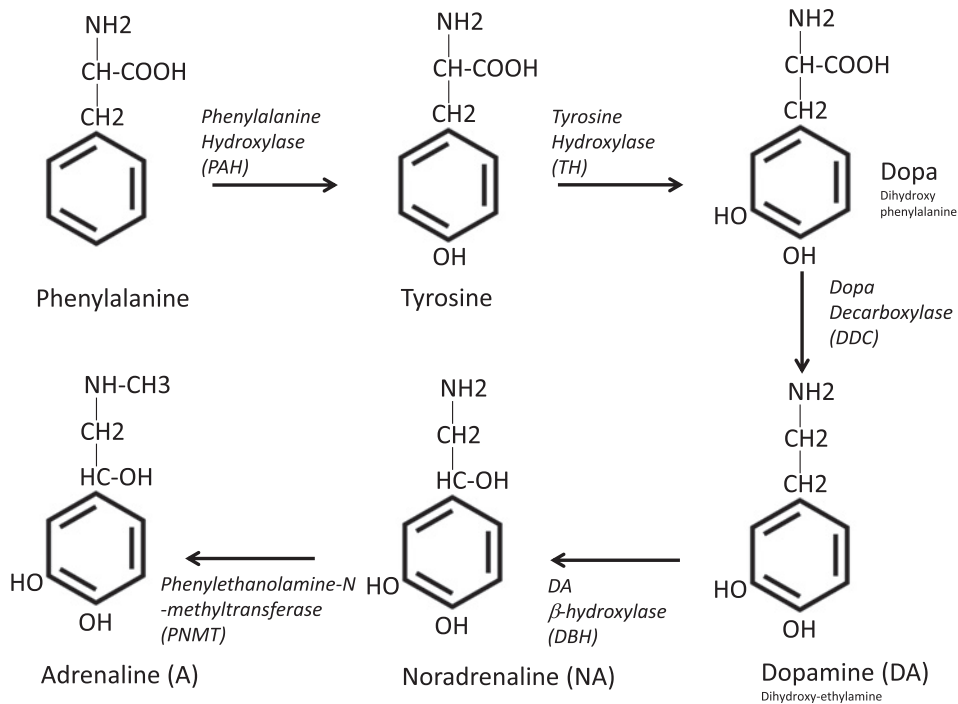


図2

カテコラミン合成経路を示す。特に、ドーパミンから DBH によってノルアドレナリンが合成される経路を示す。

カ月のオスの Wistar ラットの海馬，視床下部，視床に焦点を当て，拘束浸水ストレス（Restraint Water Immersion Stress，拘束ストレス+浸水ストレス，2時間）を負荷した。その結果，著者らは脳の広汎な部

位における OX-42 陽性（CD11b 相当）のミクログリア細胞の活性化（肥大化）を見出した<sup>23</sup>。興味深いことに，一旦活性化したミクログリアは，ストレス負荷終了後，数時間以内に形態を正常化へと移行させて

いった。これらの結果は重要な示唆を与えた。つまり、ミクログリア活性化がストレス刺激で1時間以内に急速に起こったことにより、反応時間が数時間以上もかかり作用時間が遅いコルチコステロンなどのホルモンではなく、急速反応を起こす神経伝達物質による可能性が示唆されたからである。また、活性化したミクログリアは、IL-1 $\beta$ 、IL-6、iNOSのmRNA増加を伴っておらず、ED1 (phagocytic marker)、OX-6 (MHC II marker)は少なくとも陰性であった。このように、形態的な活性化と炎症マーカーの乖離が生じている結果となった。Frankらの報告ではCD11bの増加は生じなかったが、MHC IIの増加があるという結果であった。対照的に、著者らはOX-42 (CD11b)陽性細胞の増加を認め、MHC IIは陰性とした。この時点で両者の報告においてミクログリア活性化のパターンに相違があり、ミクログリア活性化の定義を規定するのは困難なところもあった。著者らはCD11b陽性ミクログリアの細胞肥大化 (MHCIIは陰性)、FrankらはMHCII陽性細胞の出現 (CD11b増加なし)を、ストレスによるミクログリア活性化の判断基準としたからである。しかし、MHCII陽性反応は、その後の研究において、慢性ストレスモデルにおいても陰性と報告されており<sup>24,25</sup>、ストレスによるミクログリア活性化の基準としてMHCIIを用いることに対して、著者らは検証の余地があると考えている。このMHCII反応陽性は、神経損傷やLPSなどの炎症反応惹起で出現することは報告されている<sup>23,26,27</sup>。急性ストレスなどのような非感染性刺激においてはMHC II陽性細胞の出現は、その後の実験においても確認出来ていない。よって、著者らは、その両者の実験結果の相違については、実験手法や動物種の相違が関与しているものと推測する。いずれにしても、これらの論文が急性ストレスによる形態的な活性化を報告した最初のものであると紹介されている<sup>28,29</sup>。

### 慢性ストレス

ストレスによるミクログリア活性化は急性のみに限らなかった。慢性ストレスを用いて最初にミクログリアの増加を報告したのは、Nairらの研究である<sup>30</sup>。Nairらは、C57BL/6マウスに一日6時間の拘束ストレスを負荷し、それを15日連続で行った。その結果、彼らはストレス開始4日目以降にミクログリア数が増加することを見出した。さらに、そのミクログリア増加は、血中のコルチコステロンレベルと相関していた。さらに、合成コルチコステロンを飲水 (400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1,400  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ に相当)に溶解し投与した結果、ミ

クログリア数は増加し、前述の所見と一致した。さらに、MK-801 (NMDA receptor antagonist)を投与すると、ミクログリア増加が抑制された。その結果を受け、彼らはNMDA受容体がミクログリア増加に関与していると結論付けた<sup>30</sup>。さらに、反復性ストレスによるミクログリアへの影響を検討する研究も行われた。KwonらはICRマウスを用いて、1日2時間の拘束ストレス (Immobilization stress)を4日連続して負荷した。その結果、彼らは、海馬CA1領域、線条体にOX-42陽性のミクログリアの活性化を報告した<sup>31</sup>。また、彼らは、ストレスによるIL-1 $\beta$ の増加も伴っていたが、その発現はミクログリアではなく神経細胞であると報告した。

慢性ストレスによるミクログリア活性化を決定的にしたのはTynanらの報告である。彼らはSDラットを用い、1日2回の拘束ストレス (1回30分、Unpredictable restraint stress)を2週間負荷した。ストレスに関与する領域として大脳皮質、側坐核、線条体、視床下部、扁桃核、海馬、中心灰白質、腹側被蓋野から15個の領域が調べられた。その結果、大脳皮質、側坐核、線条体、海馬、中心灰白質で有意にミクログリア数が増加した<sup>24</sup>。その領域においては形態的にも変化を示した。但し、MHCIIは陰性であった。また、ミクログリア増殖の原因について、Ki67陽性細胞数に変化は見られず、細胞分裂によるものではなく、CD11b陽性細胞の増加によるものであると結論付けられた。さらに、同じ研究所から、Hinwoodらはストレス手法を変えて慢性ストレス実験を報告した。彼らはSDラット (350~450 g)を用いて、1日6時間の拘束ストレスを21日間負荷した。前頭前皮質 (Prefrontal cortex)にて、ミクログリアの形態的肥大が確認された。やはり、ここでもMHC II、CD68、Caspase-3、TUNELなど炎症所見は陰性であった。彼らは、前頭前皮質におけるこのミクログリア活性化を記憶力に影響するものと考え、ミノサイクリン (ミクログリア抑制抗生物質)を投与した。興味深いことに、ミクログリア活性化抑制と同時に、DAT (Delayed alternating T-maze performance)にて記憶力の改善が見られた。その結果を基に、Hinwoodらはストレスによるミクログリア活性化が記憶力、銘記力低下に関与するものと提唱している。

慢性ストレスとして、その他の手法を用いて研究もなされている。Wangらは、SDラットを用いて、9種類のストレス (水分制限、食事制限、光照射の逆転、騒音、熱、振盪、強制水泳、拘束、フラッシュ光)をランダムで12週間負荷した<sup>32</sup>。Liuらは、C57BL/6マ



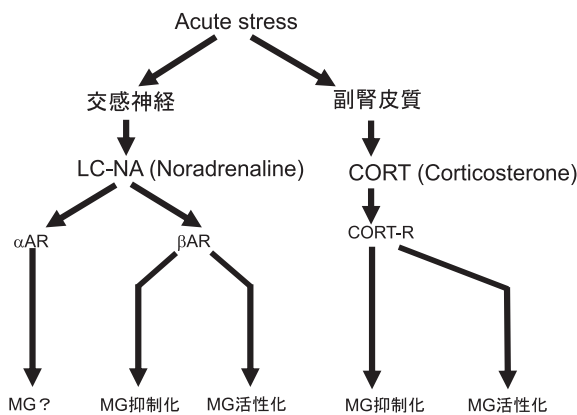


図3

ストレスによるミクログリア活性化メカニズムに関し、本稿で扱った諸説を示す。

ウスを用いて、2時間の拘束ストレスを7日間負荷した<sup>33</sup>。その結果、前者では海馬、後者では扁桃体でそれぞれミクログリア活性化が検出された。両者の報告において、活性化したミクログリアをミノサイクリンで抑制したところ、鬱病症状が改善されたと報告した。このように、慢性ストレスにおいても、ミクログリア活性化が示されている。

### 胎児性ストレス

ミクログリア活性化への影響は個体そのもののストレスに留まらないことが分かってきている。胎児が母体内にいる間に母親がストレスに晒されると、胎児が成人した後に、うつ病、統合失調症、自閉症、心疾患、代謝性疾患など様々な疾患に罹患する割合が上昇する説は以前から知られていた。その点に着目し、Dis-Chavesらは妊娠したC56BL/6マウスに、妊娠12日目から出産までの間、45分間の拘束ストレスを一日3回負荷し、その影響を検討した。その母体から生まれた仔が生後4カ月に到達した時点で、LPS (5 mg/kg)を投与した。実験では、①コントロール群 (CTRL)、②胎児期にストレスを受けた群 (Prenatal RS)、③胎児期ストレスは受けずLPS投与群 (LPS)、④胎児期ストレスを受けLPS投与群 (Prenatal RS+LPS)、に分類され検討が加えられた。その結果、海馬歯状回において、②群で①に比べミクログリアの増加が認められた。さらに、非常に強いミクログリア活性化が認められたのは④群であった<sup>34</sup>。その他、海馬でTNF $\alpha$ 、IL6、TLR4 (Toll-like receptor 4)が、④群において③群より、有意に上昇した点が明らかにされた。但し、②群と①群の比較において、有意な上昇は見られなかった。ここで注目される点は、Prenatal RSによってLPS負荷で炎症反応が増大した点であろう。その

点は、成長した子が成人した後に、同じように感染症に罹患した場合に、その重症度が強くなることを示唆している。その他、Dis-Chavesらの報告の特徴的な点は、ミクログリアを形態的に5つに分類して比較した点にある。彼らは、形態的な活性化を静止型から活性化までI、II、III、IV、V型に分類している。その分類に依れば、活性化の度合いは、④、③、②、①の順で活性化が強くなることが報告された<sup>34</sup>。

## 2. グルココルチコイドはミクログリア活性化を抑制か促進か？

### グルココルチコイドによるミクログリア促進説

田中らはミクログリアがグルココルチコイド受容体を有することを突き止め、ミクログリア形態・機能変化に関与することを最初に報告している<sup>35</sup>。その後、グルココルチコイドに関する研究は進んでいる。現在までのところ、その所見は大きく二つに分けられている。一つは、グルココルチコイドがミクログリアに関与する炎症反応を増幅するという所見である(図3)。もう一方は、グルココルチコイドがその炎症反応を逆に抑制するというものである。

まず、促進説について幾つかの結果を検討してみる。Dinkelらは、SDラットを用いて、カイニン酸によって惹起された炎症に対するグルココルチコイドの作用を検討した。その実験方法であるが、彼らはラットを3つのグループに分けた。①コントロールグループ、②副腎摘除後グルココルチコイド補充グループ、③グルココルチコイド投与グループである。驚いたことに、グルココルチコイド投与によって、単球、マクロファージ、顆粒球、そしてミクログリアがその炎症部位において増加を示した。さらに興味深いことには、炎症性サイトカインであるIL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$ などが有意に上昇を示した<sup>36</sup>。その結果と一致するものとして、McPhersonらの報告がある。McPhersonらは、海馬神経細胞を培養して、同じくカイニン酸とグルココルチコイドを投与して比較検討を行った。その結果、グルココルチコイドがTNF $\alpha$ 、IL1 $\beta$ などの炎症性マーカーの増加を引き起こしたと報告している<sup>37</sup>。

### グルココルチコイドによるミクログリア抑制説

田中らは、培養ミクログリアを用いて、グルココルチコイド(コルチコステロン)、ミネラルコルチコイドの作用を調べている。同氏は、ミクログリア細胞のサイズ(Cell Size)、周囲長(Perimeter)を測定し、

コルチコステロンによりミクログリアの形態学的縮小化を最初に見出している。さらに、縮小化に加え、ミクログリアの増殖能の抑制も生じていたが、抗コルチコステロン薬 (RU38486) にてその作用が消失したことを受け、コルチコステロンによるミクログリアによる抑制作用を明らかにした<sup>35</sup>。

著者らは、*in vivo* 実験を用いて、グルココルチコイド作用を検討した。まず、グルココルチコイドの作用を除去する目的で、Wistar ラットを用いて副腎摘除術 (Adrenalectomy) を行い、ストレス負荷実験を行った。①コントロールグループ (Sham ope 施行) ②ADX グループ (Adrenalectomy 術施行) ③ADX +CORT グループ (Adrenalectomy 後、経口でコルチコステロンを補充) の3群に分け、拘束浸水ストレスを2時間負荷し、海馬と視床下部領域を検討した。その結果、OX-42 陽性ミクログリアは海馬、視床下部いずれにおいても②で一番強く増強を示し、③のグループは、②に対し活性化が有意に抑制された。さらに、ここではOX-6 (MHC II) 陽性細胞が、②と③のグループにのみ検出された。その結果より、著者らはストレス性ミクログリア活性化においてグルココルチコイドは抑制的に作用することを報告した<sup>38</sup>。この所見は、これまで提唱されていたグルココルチコイドの炎症抑制説を支持した<sup>39-41</sup>。

#### グルココルチコイドがミクログリアに相反する作用を有するのはなぜか

これまでグルココルチコイドがミクログリア活性化を促進する説、あるいは抑制する説の両者が存在してきた。では、なぜ、一見矛盾するようなことが起こるのであろうか? 以下の諸説を紹介する。(1) まず、グルココルチコイドの作用における濃度依存性である。MacPherson らは、グルココルチコイドによる炎症抑制が濃度依存的に起こることも見出している。つまり、0.2  $\mu\text{M}$  から 0.6  $\mu\text{M}$  という低濃度においてグルココルチコイドは炎症性サイトカインの発現を抑制した。しかし、一方では、1  $\mu\text{M}$  の高濃度ではこれらの炎症性サイトカインの発現を促進した。この所見は、グルココルチコイドが低濃度であれば炎症抑制を示し、高濃度であれば炎症促進をするという濃度依存性を示唆した<sup>37</sup>。実際、田中らはコルチコステロン 100 nM (0.1  $\mu\text{M}$ ) でミクログリア抑制を報告している<sup>35</sup>。(2) 次に、ミクログリア細胞をグルココルチコイドに前もって処理しておくのか、それとも後で処理しておくのか、という Priming 説がある (感作説?とも呼べる)。Frank らは、ミクログリアに LPS を加える前に

グルココルチコイドを添加するか、あるいは後に添加するので、その炎症が逆になることを見出した。つまり、LPS より先にグルココルチコイドを添加しておくことと炎症が増悪するのに対し、LPS より後に添加すると炎症が抑制された<sup>42</sup>。その理由として、最初にグルココルチコイドに添加すると Toll-like 受容体 (TLR) が発現してくることが考えられた。対照的に、LPS より後に添加するとグルココルチコイドは抑制作用を示している。

### 3. ノルアドレナリンはミクログリア活性化を抑制か促進か?

#### ノルアドレナリンによるミクログリア活性化促進説

ミクログリアは  $\alpha$ ,  $\beta$  アドレナリン受容体 (AR) を発現しており<sup>43</sup>、ノルアドレナリン、アドレナリンから直接シグナルに反応していると考えられる。アドレナリン受容体 (AR) の Ligand はノルアドレナリン、アドレナリン両者であるが、脳内における比率はほとんどがノルアドレナリンであり、こちらでは中心的 Ligand と考えられる。一方、ノルアドレナリンからアドレナリンへの変換酵素である Phenylethanolamine N-methyltransferase (PNMT) が視床下部で検出されている<sup>44,45</sup>。PNMT 存在下で生成されたアドレナリンは、微量であっても、アドレナリン受容体と結合することは十分に可能であるし、その親和性の方がむしろ高いことも知られている。従って、脳内ではノルアドレナリンと微量のアドレナリンが AR に作動していると考えられる。

以前から交感神経による炎症促進反応は報告されていた。拘束ストレスによって脳内 IL-1 $\beta$ mRNA の上昇を最初に報告したのは、著者らの知る限り、南らの論文と見られる<sup>46</sup>。同氏らはSD ラットに30分から4時間の拘束ストレスを負荷し、脳の各部位でのIL-1 $\beta$ を比較した。その結果、視床下部に特異的にIL-1 $\beta$ が誘導されることが報告された。興味深いことに、その発現は視床下部以外の部位では検出されなかった。続いて、山口らはノルアドレナリン受容体のアゴニストであるイソプロテレノロール (Isoproterenol) を脳内投与することによって、視床下部でIL-1 $\beta$ mRNAの上昇を報告している<sup>47</sup>。さらに、培養ミクログリア細胞に同じくイソプロテレノロールを投与した実験においてIL-1 $\beta$ mRNAの有意な上昇も報告された<sup>48-50</sup>。また、同様な処置をアストロサイトにおこなったところ、IL-1 $\beta$ mRNAの発現は誘導されなかった。この結果より、友沢らはノルアドレナリン $\rightarrow$  $\beta$ AR $\rightarrow$ cAMP $\rightarrow$ Protein

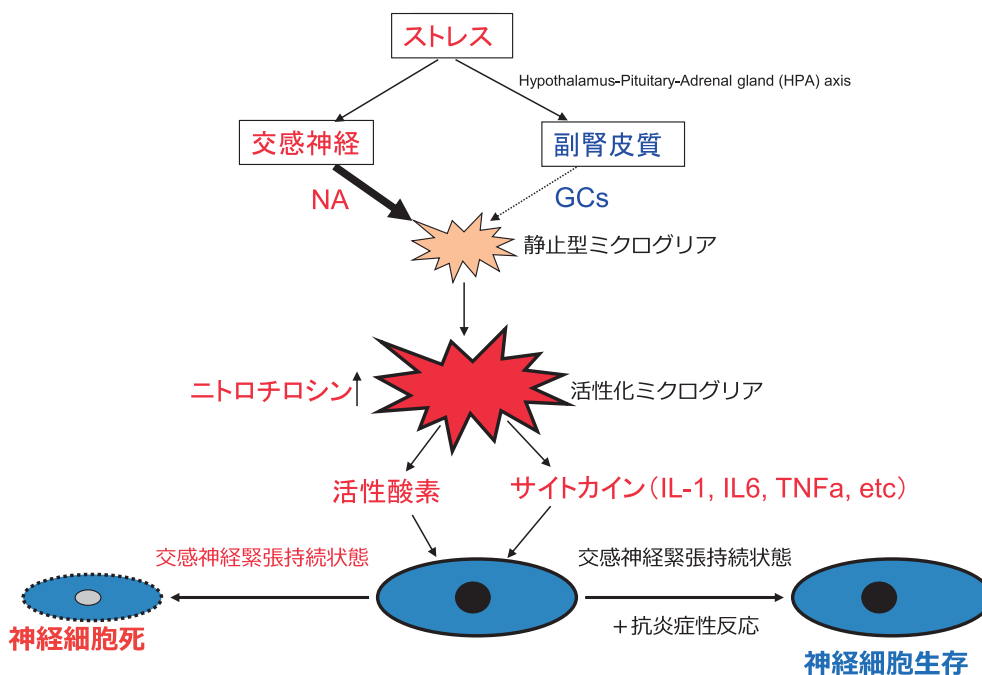


図 4

活性化したミクログリアから活性酸素、サイトカインなどが分泌され神経障害を引き起こすメカニズムを示す。

Kinase A 活性化→IL1 $\beta$ mRNA 誘導という経路を提唱している<sup>48</sup>。実際、その説は、ミクログリア活性化が30分以内という早い時間に起こるという所見に一致するものである<sup>23</sup> (図4)。

Blandino らは、ノルアドレナリンの作用を調べるため、SD ラットを用いて、Footshock ストレス (2.0 mA, 5 秒間, 80 回) を負荷した。ストレス負荷前に、 $\beta$  ブロッカー (Propranolol, 20 mg/kg i.p), ノルアドレナリン再吸収阻害薬のデシピラミン (Desipramine, 20 mg/kg, s.c) が負荷された。その結果、視床下部、脾臓での IL-1 $\beta$  がストレスに有意に上昇を示したのに対し、 $\beta$  ブロッカーで抑制され、さらにはデシピラミンでは、上昇がさらに増強した。さらに、IL-1 $\beta$  の発現細胞を調べるために、ミノサイクリン (40 mg/kg, i.p) を投与したところ、IL-1 $\beta$  の発現は抑制された。それらの結果を基に、彼らはノルアドレナリンがミクログリアからの IL-1 $\beta$  発現を促進したものと結論付けた。ただし、彼らの実験では、実際にミクログリアを同定した訳ではなく、薬物抑制によって推測した状況であった<sup>51</sup>。実際に、 $\beta$  ブロッカーによるミクログリア抑制を示したのは Wohleb らの報告である。Wohleb らは、C57BL/6 マウス (2 カ月齢) を用い、社会的敗北ストレス (Social Disruption Stress, SDF) を 1 日 2 時間で 6 日連続で負荷した。ストレス前に  $\beta$  ブロッカー (Propranolol, 10 mg/kg,

s.c) が投与された。その結果、ストレスによって海馬で活性化された Iba1 陽性のミクログリアが、著しく抑制された<sup>52</sup>。興味深いことに、SDF によってマウスでは不安行動が出現していたが、その不安も  $\beta$  ブロッカーによって完全に抑制されていた。それらの結果を基に、社会的ストレスによって活性化したミクログリアが不安行動を引き起こし、その原因はノルアドレナリンであると彼らは結論付けた<sup>52</sup>。

Barnard らは、ノルアドレナリンの作用を調べるために、 $\beta$  ブロッカーを用いた実験を行っている。Fischer ラットを用いて、4 日間の拘束ストレスおよび混合ストレス (絶食、ケージ傾斜化、足場浸水ストレスなど) を負荷し、プロプラノロールを負荷し、脳内の IL-1 $\beta$  などを検討した。その結果、IL-1 $\beta$  の発現量が  $\beta$  ブロッカー投与群のラットにおいて、海馬、扁桃体に有意に減少していた。興味深いのは、Corticosterone 産生阻害剤であるメチラポン (Metyrapone) を投与するとノルアドレナリンの Turn Over (産生率) が海馬、扁桃体、視床下部、大脳皮質で有意に上昇している。このことは HPA 軸と交感神経系に抑制的に作用していることを示唆している。以上より、同グループは、ノルアドレナリンがストレスによって IL-1 $\beta$  を産生していると報告した<sup>53</sup>。



ノルアドレナリンによるミクログリア活性化抑制説  
一方、ノルアドレナリンによるミクログリア抑制についても幾つかの報告がなされている。

田中らはミクログリアの初代培養細胞および細胞株を用いて、ノルアドレナリン (0~10  $\mu$ M) を負荷したところ cAMP が濃度依存的に上昇を示すことを明らかにした。さらに  $\beta$ 1AR に特異的な阻害剤 (Acebutolol, 10  $\mu$ M) で cAMP 上昇が抑制された。その結果を基に、ノルアドレナリンが  $\beta$ 1AR を介して cAMP 上昇を引き起こし、炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$  の抑制をするものと結論付けた<sup>54</sup>。また、初代培養細胞を用いて Nitrite, iNOS の測定を行ったところ、 $\alpha$ 1AR,  $\beta$ 2AR の両者が抑制されていることが報告されている<sup>55</sup>。彼らは、培養ミクログリアに LPS (1  $\mu$ g/mL) とノルアドレナリンと  $\alpha$ 1AR agonist のフェニレフリン,  $\beta$ 2AR agonist のテルブタリンを負荷した実験において、LPS によって惹起された iNOS, IL-1 $\beta$ , IL-6 mRNA 発現が有意に減少することを明らかにした。また、LPS によって惹起された NF $\kappa$ B (p65) の核内移行を調べる実験でも、ノルアドレナリンにより NF $\kappa$ B (p65) の核内移行が抑制された結果を報告している。これらの結果に基づいて、彼らは、ノルアドレナリンが NF $\kappa$ B の核内移行を抑制することで、LPS によって惹起された炎症性変化を抑制するものと結論付けた<sup>55</sup>。さらに、Dello Russo らはラット由来の初代ミクログリア細胞を用いて、LPS により NOS2, IL-1 $\beta$  を誘導し、ノルアドレナリンの作用を検討している。その結果、ノルアドレナリンが濃度依存的に、LPS による NOS2, IL-1 $\beta$  の発現を有意に抑制していることが明らかになった<sup>56</sup>。また、同様にラット由来の初代培養を用いて、ノルアドレナリン再吸収阻害剤であるデシプラミン (Desipramine 1~10  $\mu$ M), アトモキセチン (Atomoxetine, 1~10  $\mu$ M) でノルアドレナリンの作用を調べた報告もなされた。O'Sullivan らは、LPS によって誘導された TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , iNOS が、デシプラミン, アトモキセチンによって抑制されることを明らかにした<sup>57</sup>。以上より、ノルアドレナリンによるミクログリア活性化抑制の経路も示唆されている。

#### ノルアドレナリンがミクログリアに相反する作用を有するのはなぜか

グルココルチコイドと同様にノルアドレナリンにおいても、ミクログリア活性化においてノルアドレナリンによる促進説と抑制説が報告されている (図 3)。ここでも、その理由を考察してみたい。Tan らは、

炎症性の刺激 (LPS) の存在の有無によって  $\beta$ AR がミクログリアの炎症を促進する場合と、抑制する場合があることを報告した<sup>58</sup>。LPS 刺激の無い状態において、 $\beta$ 2AR 刺激によって炎症性反応が約 80 倍に増強された。しかも、PKA 阻害剤を用いても、その反応 (増強) は影響されず、CRE 結合部位において ATF-1 と ATF-2 が ERK1/2 と p38-MAPK 依存性にリン酸化されていた。それらの結果より、ノルアドレナリンは LPS が存在しない条件下においては、PKA 非依存性に、p38 MAPK と ERK1/2 依存性に、炎症反応を引き起こしていることが示された。それとは対照的に、ノルアドレナリンによる抑制実験では、ほとんどの実験が LPS 刺激下で行われていることが分かる。その場合、ノルアドレナリンが cAMP を刺激し、PKA 依存性に炎症反応を抑制している。従って、ノルアドレナリンのミクログリアへの相反する作用の原因として考えられるのは、PKA 依存性か、非依存性に起因するという報告もある<sup>59</sup>。

#### おわりに

本稿で著者らは、ストレスによるミクログリア活性化メカニズムについて検討を加えてきたが、その脳内免疫におけるミクログリア活性化機構においては未知の部分が多い。少なくとも、相反する説が存在し、断定的な結論は容易に導き出せていない。しかし、少なくとも言えることは、人体に備わったストレスに対する適応力は、様々な状況下で、いくつものパターンに対応して発達していったということではないだろうか。過酷なストレスを受けながらも、一方では逞しさを備え、他方では脆弱性も有し、人体はこれまで適応してきたものと想像出来る。生命がここまで生き延びてきた過程の中で、適応のパターンも増えたと考えられる。著者らは本稿の中心テーマであるストレスが疾患に結びつくのは、応答の調和を失った時にそのバランスが失われ様々な病態が発生するのではないだろうかと考えて、現在も研究を進めている。今後、ミクログリアの活性化機構のさらなる解明が待たれるところである。

#### 文 献

1. Streit WJ: Microglia and macrophages in the developing CNS. *NeuroToxicol* 2001; 22: 619-624.
2. Del Rio-Hortega P: (Penfield W ed), *Microglia. In Cytology and Cellular Pathology of the Nervous System*. 1932; pp 481-534.
3. Graeber MB: Changing face of microglia. *Science* 2010; 330: 783-788.



4. Kreutzberg GW: Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci* 1996; 19: 312–318.
5. Block ML, Hong JS: Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: Multiple triggers with a common mechanism. *Prog Neurobiol* 2005; 76: 77–98.
6. Gao HM, Kotzbauer PT, Uryu K, Leight S, Trojanowski JQ, Lee VM: Neuroinflammation and oxidation/nitration of  $\alpha$ -synuclein linked to dopaminergic neurodegeneration. *J Neurosci* 2008; 28: 7687–7698.
7. Lenz KM, Nugent BM, Haliyur R, McCarthy MM: Microglia are essential to masculinization of brain and behavior. *J Neurosci* 2013; 33: 2761–2772.
8. Shichita T, Ito M, Morita R, et al: MAFB prevents excess inflammation after ischemic stroke by accelerating clearance of damage signals through MSRI. *Nature Med* 2017; 23: 723–732.
9. Torres-Platas SG, Cruceanu C, Chen GG, Tureck G, Mechawar N: Evidence for increased microglial priming and macrophage recruitment in the dorsal anterior cingulate white matter of depressed suicides. *Brain Behav Immun* 2014; 42: 50–59.
10. Yirmia R, Rimmerman N, Reshef R: Depression as a microglial disease. *Trends in Neurosciences* 2015; 38: 637–658.
11. Haarman BC, Riemersma-Van der Lek RF, de Groot JC, et al: Neuroinflammation in bipolar disorder-A [(11)C]-(R)-PK11195 positron emission tomography study. *Brain Behav Immun* 2014; 40: 219–225.
12. Tetreault NA, Hakeem AY, Jiang S, et al: Microglia in the cerebral cortex in autism. *J Aut Development Disord* 2012; 42: 2569–2584.
13. Rana I, Stebbing M, Kompa A, Kelly D, Krum H, Badoer E: Microglia activation in the hypothalamic PVN following myocardial infarction. *Brain Res* 2010; 1326: 96–104.
14. Kojo A, Yamada K, Kubo K, Yamashita A, Yamamoto T: Occlusal disharmony in mice transiently activates microglia in hippocampal CA1 region but not in dentate gyrus. *Tohoku J Exp Med* 2010; 221: 237–243.
15. Walter JT, Vetreno RP, Crews FT: Alcohol and stress activation of microglia and neurons: Brain regional effects. *Alcohol Clin Exp Res* 2017; 41: 2066–2081.
16. Huang CT, Chiang RP, Chen C, Tsai Y: Sleep deprivation aggravates median nerve injury-induced neuropathic pain and enhances microglial activation by suppressing melatonin secretion. *Sleep* 2014; 37: 1513–1523.
17. Bellesi M, de Vivo L, Chini M, Gilli F, Tononi G, Cirelli C: Sleep loss promotes astrocytic phagocytosis and microglial activation in mouse cerebral cortex. *J Neurosci* 2017; 37: 5263–5273.
18. Tapia-Gonzalez S, Garcia-Segura LM, Tena-Sempere M, et al: Activation of microglia in specific hypothalamic nuclei and the cerebellum of adult rats exposed to neonatal overnutrition. *J Neuroendocrinol* 2011; 23: 365–370.
19. Rana I, Badoer E, Alahmadi E, Leo CH, Woodman OL, Stebbing MJ: Microglia are selectively activated in endocrine and cardiovascular control centres in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Neuroendocrinol* 2014; 26: 413–425.
20. Bhat SA, Goel R, Shukla S, Shukla R, Hanif K: 2017. Angiotensin receptor blockade by inhibiting glial activation promotes hippocampal neurogenesis via activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in hypertension. *Mol Neurobiol* 2017; 55: 5282–5298.
21. Selye H: *The Stress of Life*. (Second Edition). 1975; McGraw Hill, NY.
22. Frank MG, Baratta MV, Sprunger DB, Watkins LR, Mair SF: Microglia serve as a neuroimmune substrate for stress-induced potentiation of CNS pro-inflammatory cytokine responses. *Brain Behav Immun* 2006; 21: 47–59.
23. Sugama S, Fujita M, Hashimoto M, Conti B: Stress induced morphological microglial activation in the rodent brain: involvement of interleukin-18. *Neuroscience* 2007; 146: 1388–1399.
24. Tynan RJ, Naicker S, Hinwood M, et al: Chronic stress alters the density and morphology of microglia in a subset of stress-responsive brain region. *Brain Behav Immun* 2010; 24: 1058–1068.
25. Hinwood M, Morandini J, Day TA, Walker FR: Evidence that microglia mediate the neurobiological effects of chronic psychological stress on the medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 2011; 22: 1442–1454.
26. Block MI, Zecca I, Hong JS: Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nat Rev Neurosci* 2007; 8: 57–69.
27. Moss A, Beggs S, Vega-Avelaira D, et al: Spinal microglia and neuropathic pain in young rats. *Pain* 2007; 128: 214–224.
28. Walker FR, Nilsson M, Jones K: Acute and chronic stress-induced disturbances of microglial plasticity, phenotype and function. *Curr Drug Targets* 2013; 14: 1262–1276.
29. Walker FR, Yirmia Y: Microglia, physiology and behavior: A brief commentary. *Brain Behav Immun* 2016; 55: 1–6.
30. Nair A, Bonneau RH: Stress-induced elevation of glucocorticoids increases microglia proliferation through NMDA receptor activation. *J Neuroimmunol* 2006; 171: 72–85.
31. Kwon M, Seo Y, Lee J, et al: The repeated stress increases IL-1 $\beta$  immunoreactivities in only neuron, but not astrocyte or microglia in hippocampal CA1 region, striatum and paraventricular nucleus. *Neurosci Lett* 2008; 430: 258–263.
32. Wang Y, Han Q, Gong W, et al: Microglial activation mediates chronic mild stress-induced depressive- and anxiety-like behavior in adult rats. *J Neuroinflamm* 2018; 15: 21.
33. Liu H, Yue J, Hu L, et al: Chronic minocycline treatment reduces the anxiety-like behaviors induced by repeated restraint stress through modulating neuroinflammation. *Brain Res Bull* 2018; 143: 19–26.
34. Diz-Chaves Y, Pernia O, Carrero P, Garcia-Segura LM: Prenatal stress causes alterations in the morphology of microglia and the inflammatory response of the hippocampus of adult female mice. *J Neuroinflamm* 2012; 9: 7.
35. Tanaka J, Fujita H, Matsuda S, Toku K, Sakanaka M, Maeda N: Glucocorticoid- and mineralocorticoid receptors in microglial cells: the two receptors mediate differential effects of corticosteroids. *Glia*

- 1997; 20: 23–37.
36. Dinkel K, MacPherson A, Sapolsky RM: Novel glucocorticoid effects on acute inflammation in the CNS. *J Neurochem* 2003; 84: 705–716.
  37. MacPherson A, Dinkel K, Sapolsky RM: Glucocorticoids worsen excitotoxin-induced expression of pro-inflammatory cytokines in hippocampal cultures. *Exp Neurol* 2005; 194: 376–383.
  38. Sugama S, Takenouchi T, Fujita M, Kitani H, Conti B, Hashimoto M: Corticosteroids limit microglial activation occurring during acute stress. *Neuroscience* 2012; 232: 13–20.
  39. Molare MC, Serra PA, Delogu MR, et al: Glucocorticoid receptor deficiency increases vulnerability of the nigrostriatal dopaminergic system: critical role of glial nitric oxide. *FASEB J* 2004; 18: 164–166.
  40. Nadeau S, Rivest S: Glucocorticoids play a fundamental role in protecting the brain during innate immune response. *J Neurosci* 2003; 23: 5536–5544.
  41. Ros-Bernal F, Hunot S, Herrero MT, et al: Microglial glucocorticoid receptor play a pivotal role in regulating dopaminergic neurodegeneration in parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci* 2011; 108: 6632–6637.
  42. Frank MG, Miguel ZD, Watkins LR, Maier SF: Prior exposure to glucocorticoids sensitizes the neuroinflammatory and peripheral inflammatory responses to E.coli lipopolysaccharide. *Brain Behav Immun* 2010; 24: 19–30.
  43. Mori K, Ozaki E, Zhang B, et al: Effects of norepinephrine on rat cultured microglial cells that express  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  adrenergic receptors. *Neuropharmacology* 2002; 43: 1024–1034.
  44. Trocewicz J, Oka K, Nagatsu T: Highly sensitive assay for phenylethanolamine N-methyltransferase activity in rat brain by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr* 2005; 227: 407–413.
  45. Algeri S, Calderini G, Lomuscio G, et al: Differential response to immobilization stress of striatal dopaminergic and hippocampal noradrenergic systems in aged rats. *Neurobiol Aging* 1988; 9: 213–216.
  46. Minami M, Kuraishi Y, Yamaguchi T, Nakai S, Hirai Y, Satoh M: Immobilization stress induces interleukin- $1\beta$  mRNA in the rat hypothalamus. *Neurosci Lett* 1991; 123: 254–256.
  47. Yamaguchi T, Kuraishi Y, Minami M, Yabuuchi K, Satoh M: Involvement of central  $\beta$ -adrenoceptors in the induction of hypothalamic interleukin- $1\beta$  mRNA by methamphetamine. *Neurosci Res* 1991; 12: 432–439.
  48. Tomozawa Y, Yabuuchi K, Inoue T, Satoh M: Participation of cAMP-dependent protein kinase in  $\beta$ -adrenoceptor-mediated interleukin- $1\beta$  mRNA induction in cultured microglia. *Neurosci Res* 1995; 22: 399–409.
  49. Maruta E, Yabuuchi K, Nishiyori A, Takami S, Minami M, Satoh M:  $\beta_2$ -adrenoceptors on the glial cells mediate the induction of interleukin- $1\beta$  mRNA in the rat brain. *Mol Brain Res* 1997; 49: 291–294.
  50. Yabuuchi K, Maruta E, Yamamoto J, et al: Intracerebroventricular injection of isoproterenol produces its analgesic effect through interleukin- $1\beta$  production. *Eur J Pharmacol* 1997; 334: 133–140.
  51. Blandino Jr P, Barnum CJ, Deak T: The involvement of norepinephrine and microglia in hypothalamus and splenic IL- $1\beta$  responses to stress. *J Neuroimmunol* 2006; 173: 87–95.
  52. Wohleb ES, Hanke ML, Corona AW, et al:  $\beta$ -Adrenergic receptor antagonism prevents anxiety-like behavior and microglial reactivity induced by repeated social defeat. *J Neurosci* 2011; 31: 6277–6288.
  53. Barnard D, Gabella KM, Kulp AC, Parker AD, Dugan PB, Johnson JD: Sex differences in the regulation of brain IL- $1\beta$  in response to chronic stress. *Psychoneuroendocrinology* 2019; 103: 203–211.
  54. Tanaka KF, Kashima H, Suzuki H, Ono K, Sawada M: Existence of functional  $\beta_1$  and  $\beta_2$  adrenergic receptors on microglia. *J Neurosci Res* 2011; 70: 232–237.
  55. Ishii Y, Yamaizumi A, Kawakami A, et al: Anti-inflammatory effects of noradrenaline on LPS-treated microglial cells: Suppression of NF $\kappa$ B nuclear translocation and subsequent STAT1 phosphorylation. *Neurochemistry International* 2015; 90: 56–66.
  56. Dello Russo C, Boullerne AI, Gavrilyuk V, Feinstein DL: Inhibition of microglial inflammatory responses by norepinephrine: effects on nitric oxide and interleukin- $1\beta$  production. *J Neuroinflammation* 2014; 1: 9.
  57. O'Sullivan JB, Ryan KM, Curtin NM, Harkin A, Connor TJ: Noradrenaline reuptake inhibitors limit neuroinflammation in rat cortex following a systemic inflammatory challenge: implications for depression and neurodegeneration. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2009; 12: 687–699.
  58. Tan KS, Nackley AG, Satterfield K, et al: Beta 2 adrenergic receptor activation stimulates proinflammatory cytokine production in macrophages via PKA- and NF- $\kappa$ B-independent mechanisms. *Cell Signal* 2007; 19: 251–260.
  59. Qian L, Hu X, Zhang D, et al:  $\beta_2$  adrenergic receptor activation induces microglial NADPH oxidase activation and dopaminergic neurotoxicity through an ERK-dependent/protein kinase A-independent pathway. *GLIA* 2009; 57: 1600–1609.

(受付 : 2019 年 2 月 27 日)

(受理 : 2019 年 4 月 22 日)