

**【目的】** 成体マウスの大脳新皮質では、学習時に活動依存的に樹状突起スパインが増大する構造的な可塑性を示すことが *in vivo* 観察研究で多く報告されてきた。構造的な可塑性は機能的な可塑性と連関することが知られており、スパイン増大は長期的なシナプス伝達効率を構造的に保持することから記憶の主座であることが長らく考えられてきた。海馬の脳スライスを用いて多くの研究でこのスパイン増大のシナプス細胞レベルの探索がなされてきた。しかし、新皮質において活動依存的なスパインの頭部増大をもたらす正確なシグナル伝達経路は不明なままである。そこで新皮質でスパイン頭部増大を誘発し、シグナル路の探索を行うことを目的とした。

**【方法】** 内側前頭葉を含むマウス脳急性スライスを作製し、第5層錐体ニューロンからパッチクランプ・全細胞記録を行った。この際、蛍光試薬を灌流させることでスパインの可視化を行い、2光子励起顕微鏡で観察した。観察とは異なる2光子励起によりグルタミン酸の2光子アンケーシングを単一スパインで行った。このスパインのグルタミン酸刺激と電極からの活動電位を組み合わせるスパイクタイミング依存的可塑性 (STDP) プロトコルを用いて、単一スパインにおけるスパイン頭部増大の誘発を行った。薬理や遺伝学、アデノ随伴ウィルスなどを用いてスパイン増大に必要なシグナル伝達経路を調査した。

**【結果】** STDP 刺激により、幼若マウス (P16~21) ではスパイン頭部増大が見られたが、成体マウス (P35~45) では見られなかった。しかし、ミクログリアを薬理的に除去すると、成体マウスでもスパイン頭部増大が認められた。この結果は、ミクログリアによる活動依存的なスパイン形態可塑性制御機序には年齢依存性があり、幼若期では可塑性を邪魔しないが、成体内側前頭前皮質 (mPFC) において、ミクログリアがスパインの可塑性を抑制していることを示唆した。ノルアドレナリン (NA) は mPFC の学習を制御すること、さらにミクログリアは NA 感受性の Gs 共役型  $\beta 2$  アドレナリン受容体を発現しており、下流では cAMP シグナルが活性化されることが知られている。薬理的手法により NA が  $\beta 1$  アドレナリン受容体依存的ではなく  $\beta 2$  アドレナリン受容体依存的にスパイン可塑性を促進することを見いだした。さらに、ミクログリア特異的なホスホジエステラーゼ 3 の薬理的阻害は NA 非存在下でスパイン可塑性を誘導した。一方、ミクログリアを標的に cAMP シグナル伝達を化学的に阻害すると、NA 依存的なスパイン可塑性はブロックされることがわかった。次にミクログリアがスパインを抑制する下流機序を探索した。*in vivo* イメージング研究ではミクログリアは物理的な接触によりスパイン機能を抑制していると考えられてきた。ミクログリアの形態イメージングでは、STDP 刺激で刺激されたスパインにミクログリアが新たに接触することはなく、そのような効果を示唆する以前の研究とは矛盾することが分かった。一方、ミクログリアが液性因子によりスパインを抑制する可能性を薬理的に検証したところ、ミクログリア関連の TNF- $\alpha$  シグナルは、NA の下流でスパイン可塑性を抑制することがわかった。社会的敗北ストレスを与えたストレス感受性群のマウスでは NA 依存的な可塑性誘発が阻害された。しかしホスホジエステラーゼ 3 の阻害により改善したことからミクログリアの関与が考えられた。これらの結果は、若年成体マウスにおいて、NA がミクログリア-cAMP 経路を介して活動依存的なスパイン増大を間接的に脱抑制していることを示した。

前頭葉スパイン頭部増大を制御する新規シグナル路

