

免疫系分子が大脳皮質形成に果たす役割と精神疾患におけるその異常

Roles of immune molecules in the formation of the cerebral cortex and their abnormalities in psychiatric disorders

佐々木 哲也

筑波大学 医学医療系 生命医科学域 解剖学・神経科学研究室
筑波大学大学院 人間総合科学学術院 人間総合科学研究群
ニューロサイエンス学位プログラム

Tetsuya Sasaki

Laboratory of Anatomy and Neuroscience, Faculty of Medicine,
University of Tsukuba
PhD Program of Neurosciences, Degree Program of Comprehensive
Human Sciences, Graduate School of Comprehensive Human Sciences,
University of Tsukuba

英語のキーワード : Cerebral Cortex, IL-17A, Microglia, Psychiatric Disorders, Th17 Cells

〈概要〉

精神・神経系疾患の病態生理において免疫系が重要な役割を果たす知見が集まっている。ヘルパーT細胞サブセットであるTh17細胞による免疫反応は、自閉スペクトラム症(ASD)、統合失調症、うつ病などの精神疾患の病態生理に関与することが多くの臨床的研究から示されている。これらの疾患では中枢神経系の構造異常がみられるが、Th17細胞とIL-17Aの寄与については不明のままである。Th17細胞はIL-6とTGF- β の共刺激によってナイーブT細胞から分化誘導される。私たちの研究室では、血清中のIL-17A濃度が恒常的高値を示す遺伝子改変動物ROR γ tトランスジェニックマウスの脳の解析を行い、海馬歯状回でミクログリア活性状態の低下とその密度の減少を見出した。IL-17Aの継続的高値は、免疫システムの抑制系を刺激している可能性がある。Th17細胞による免疫反応は当該個体の脳に直接影響を与えるだけでなく、次世代への影響が示されている。すなわち妊娠時のウイルス感染により母体内で活性化したTh17細胞が放出するIL-17Aが胎盤を通過して胎仔脳の形態形成に影響を与え、ASDや統合失調症の病態形成に関わると考えられている。妊娠中のウイルス感染が仔の自閉スペクトラム症(ASD)発症確率を上昇させることが疫学調査と動物モデルにおいて報告されている。しかし、IL-17Aが胎仔脳のどの細胞種に作用しASD病態が形成されるのかは十分に理解が進んでいない。IL-17Aが発生中の脳にどのような影響を与えるかを直接検討するため、胚性14日のマウス胎仔側脳室にIL-17Aを投与したところ、帯状回皮質の脳室面付近にCD68陽性の活性化ミクログリアの割合が増加していることを見出した。これらの研究結果は、精

神疾患の発現・病態における免疫分子、特に IL-17A の役割を理解する重要な手がかりをもたらすと考えられる。

〈Abstract〉

Immune responses play important roles in the pathogenesis of neuropsychiatric disorders. Recent studies showed that an increase in circulating interleukin (IL)-17A causes cognitive dysfunction, although it is unknown how increased systemic IL-17A affects brain function. Using transgenic mice overexpressing ROR γ t, a transcription factor essential for differentiation of Th17 cells, we examined changes in the brain caused by chronically increased IL-17A resulting from excessive activation of Th17 cells. We found that the immunoreactivity of Iba1 and density of Iba1⁺ microglia were lower in the dentate gyrus of ROR γ t Tg mice compared with wild-type mice. The immune response by Th17 cells not only directly affects the brain of the individual concerned, but has also been shown to affect the next generation. It is unclear how IL-17A acts on fetal brain cells to cause ASD pathologies. To assess the effect of IL-17A on cortical development, we performed direct administration of IL-17A into the lateral ventricles of fetal mouse brain. We found that IL-17A activated microglia and altered their localization in the cerebral cortex. Our data suggest that IL-17A activates cortical microglia, which could lead to a series of ASD-related brain pathology, including excessive phagocytosis of neural progenitor cells in the ventricular zone.

1. イントロダクション

精神・神経系疾患の病態生理において免疫系が重要な役割を果たす知見が集まっている。特にヘルパーT細胞17(Th17細胞)による免疫反応は自閉スペクトラム症(ASD)、統合失調症、うつ病などの病態に関与することが多くの臨床研究から示唆されている¹⁻³⁾。これらの疾患の中樞神経系ではニューロンの配列・層構造の異常、シナプスの密度・形態変化などが認められ、その機能異常の基盤となっていると考えられる⁴⁾。しかし、免疫反応がどのような過程を経て神経系に器質的変化を引き起こすのか不明な点が多く、Th17細胞の寄与については理解が進んでいない。

インターロイキン(interleukin; IL-)IL-17A産生細胞として同定されたCD4⁺ヘルパーT細胞

のひとつであるTh17細胞は、細菌や真菌の感染に対する防御反応、関節リウマチや多発性硬化症などの炎症性自己免疫疾患の病態形成に関与していると考えられている⁵⁻⁷⁾。Th17細胞はIL-6とTGF- β の共刺激によってナイーブT細胞から分化誘導される⁸⁾(図1)。このとき、転写因子であるレチノイン酸オーファン受容体因子関連核内受容体 γ t (retinoic acid receptor-related orphan nuclear receptor gamma t; ROR γ t)の発現がTh17細胞分化に必須である⁹⁾。またTh17細胞の他に、IL-17A産生CD8⁺T細胞(Tc17)や、インバリアントナチュラルキラーT(invariant natural killer T; iNKT)細胞、 $\gamma\delta$ T細胞などのIL-17A産生T細胞があり、それらIL-17A産生T細胞の分化においてもROR γ tの発現が必要である^{10,11)}。

IL-17A は炎症性サイトカインの一つで、IL-17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E からなる IL-17 ファミリーに属する。IL-17A は IL-17RA と IL-17RC の複合体か

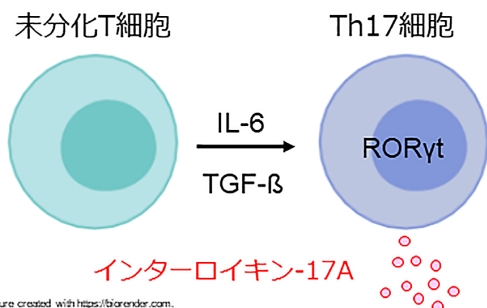


Figure created with <https://biorender.com>.

真菌・細胞外病原細菌排除
細胞傷害、自己免疫
精神・神経系疾患

図1. Th17細胞の分化 Th17細胞は、IL-6とTGF-βの共刺激によってナイーブT細胞から分化誘導される。転写調節因子であるレチノイン酸オーファン受容体因子関連核内受容体γt (retinoic acid receptor-related orphan nuclear receptor gamma t; RORγt)の発現がTh17細胞分化に必須である。

らなる受容体に結合し、NFκB、MAPK、C/EBPを含む下流経路を活性化させ、標的細胞の抗菌ペプチド、サイトカイン、ケモカインの発現を誘導し炎症応答を惹起させる¹²⁾。

Th17細胞は、小腸および大腸の粘膜固有層に多く存在する¹³⁾。先行研究では、食事内容や腸内細菌の種類によって腸管Th17細胞の活性度が異なることが報告されている。例えば、マウスに高食塩食を摂取させるとTh17細胞への分化が亢進し、血中IL-17Aが上昇する¹⁴⁾。これは腸内環境の変化が血中IL-17Aを介して全身に影響を及ぼしうることを示している。

ASD患者では血中IL-17A濃度が上昇しており、IL-17Aレベルと重症度が相関することが報告されている¹⁾。マウスでは血中IL-17Aの慢性高値により、IL-17Aが内皮細胞の一酸化窒素産生能を抑制することで、脳血流

量が低下しており、認知機能低下が観察される^{15,16)}。しかし、血中IL-17Aの慢性的高値が中枢神経系のニューロンやグリアに対してどのような影響を与えるかは不明のままである。筆者は、T細胞特異的にRORγtを過剰発現するトランスジェニック(Tg)マウス^{17,18)}をモデルとして、IL-17Aの上昇による中枢神経系の変化と行動への影響を解析している。

2. 成体RORγt過剰発現マウスの恒常的血清中IL-17A濃度の上昇と中枢神経系への影響

CD2プロモーター下でRORγtを過剰発現するトランスジェニック(RORγt Tg)マウスは、先行研究によりポリクローナル形質細胞増加症及び自己抗体産生の誘導が報告されている(17)。Rorc (RORγtをコードする遺伝子)とIl17Aの発現状態を確認するため、大腸組織における両遺伝子の発現量を定量PCRで比較したところ、本Tgマウスは野生型マウスと較べて両遺伝子とも発現が有意に高かった。血清中のIL-17A濃度をELISAによって測定したところ、野生型と比較してRORγt Tgマウスでは有意にIL-17A濃度が高かった。これらの結果から、本TgマウスではTh17細胞への分化過剰およびIL-17Aの発現増加が起きていることが確認された。

恒常的なIL-17A産生過剰状態が中枢神経系に及ぼす影響を解析するため、成体の雄RORγt Tgマウス脳を用いて解析を試みた(図2)。スタンフォード大学のBarresらの研究グループの細胞種特異的RNA-seqによると、IL-17RAはミクログリアに、IL-17RCは上皮細胞に発現すると報告されている¹⁹⁾。一方、培養細胞を用いた*in vitro*の解析では、IL-17RAがアストロサイトに発現しているとい

う報告もあり²⁰⁾、結論は出ていない。血液脳関門を構成するアストロサイトは中枢神経系に入る分子に接し、IL-17A の濃度変化を検知するのではないかと推測される。筆者の当初の仮説に反して、本 Tg マウスの海馬 GFAP 陽性アストロサイト、S100 β 陽性アストロサイトの密度と形態に大きな変化は認められなかった。一方、歯状回の Iba1 陽性ミクログリア/マクロファージ密度の顕著な減少と Iba1 活性状態の低下が認められた。アメボイド型のミクログリア/マクロファージは観察されず、突起の繊細化と細胞体の縮小が顕著であった。IL-17A の持続的高値は、免疫システムの抑制系を刺激している可能性がある²¹⁾。

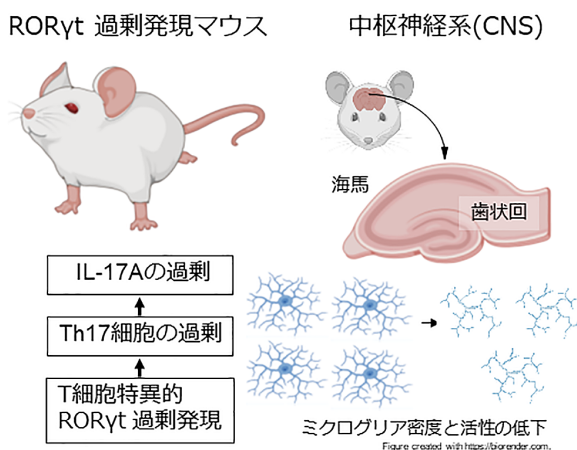


図2. T細胞特異的RORyt過剰発現マウスRORytを過剰発現させた遺伝子改変マウスではTh17細胞が過剰に誘導され、血清中のIL-17A濃度が高くなる。このマウスでは記憶の形成に重要な海馬歯状回ミクログリアの密度と活性状態が減少していた。

3. 精神・神経系疾患におけるミクログリアの異常

脳内の免疫系ではミクログリアが重要な役割を果たすが、うつ病や統合失調症の患者では、その活性化による炎症性機序の変調が報告されている^{22,23)}。これらの疾患患者では、血液中や髄液中でも炎症性サイトカインが上昇しており²⁴⁾、また死後脳研究では脳内ミクログリアの過剰活性化を示唆する病理所見が

報告されている^{25,26)}。ASD患者の脳内では、炎症性サイトカイン(TNF- α 、IL-6、IFN- γ)やケモカイン(IL-8)の増加がみられ、弱い炎症状態にあることが示唆されている²⁷⁾。

Th17 細胞による免疫反応は当該個体の脳に直接影響を与えるだけでなく、次世代への影響が示されている。すなわち妊娠時のウイルス感染により母体内で活性化した Th17 細胞が放出する IL-17A が胎盤を通過して胎仔脳の形態形成に影響を与え、ASD²⁸⁾や統合失調症²⁹⁾の病態形成に関わると考えられている。また、母体免疫活性(maternal immune activation: MIA)による行動異常にミクログリアの活性化が関与しており、食食関連分子などの発現プロファイルに変化が起きることが示されている³⁰⁾。また MIA マウスの行動異常は、ミノサイクリンやレテオリン投与によるミクログリア活性化の抑制により改善する^{30,31)}。これらの知見は、MIA がマウス胎児脳におけるミクログリア活性状態を変化させ、炎症を介した神経回路異常を引き起こしている可能性を示唆している。MIA モデルマウスでは疑似ウイルス感染時に母体 IL-17A 産生が誘導されるが、抗 IL-17A 抗体の投与や IL-17A 産生に関係する腸内細菌を除去することにより、仔の ASD 様脳構造・行動の異常が緩和される^{32,33)}。母体の全身性の免疫反応を伴う子癩前症に暴露された胎児で ASD 発症リスクが増加することが示唆されている³⁴⁾。これらの結果は、MIA における IL-17A の上昇が仔の ASD 発症に寄与する可能性を示している。MIA モデルマウスでは、社会行動の異常、常同行動の増加、大脳皮質パッチ形成など ASD 病態に非常に近い表現型が報告されている^{32,35)}。しかし、IL-17A が胎仔

脳のマクログリアにどのように作用し ASD 病態につながるのかは不明である。

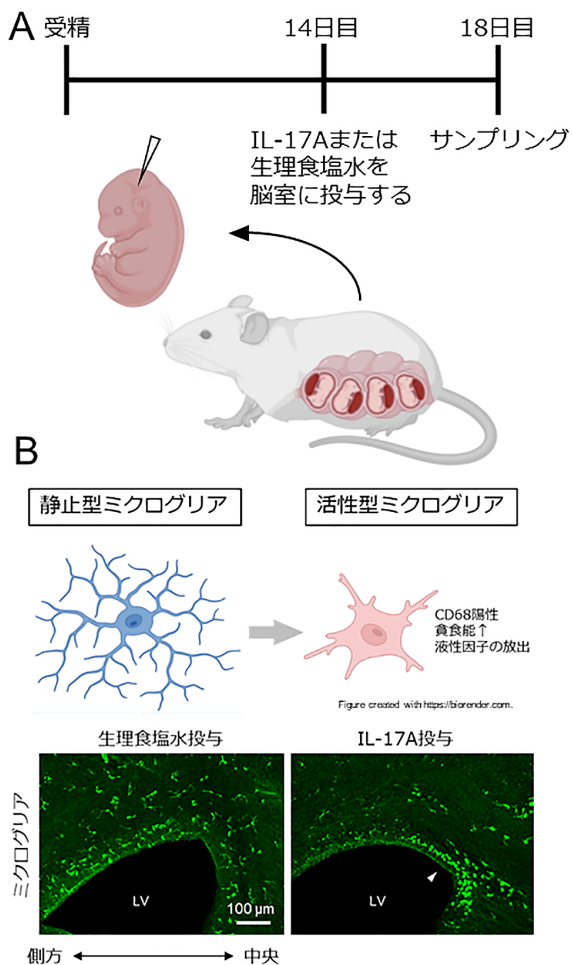


図3. IL-17A投与により活性化したマクログリアが帯状回皮質の脳室側に分布する

(A)実験の概略。胚発生14日目のマウス胎仔の脳室にIL-17A または生理食塩水を投与する。胚発生18日目に胎仔マウス脳をサンプリングし、抗Iba1抗体を用いてマクログリアの分布を調べた。(B) マクログリアは普段は細胞体が小さく細かく分岐した突起をもっている。活性化すると突起が短くなり、細胞体が大きくなる。貪食作用のためCD68を多く発現するようになる。(C) IL-17A投与により活性化したマクログリアが大脳皮質の帯状回皮質の脳室付近に多数分布する様子が観察された(矢頭)。LV: 側脳室 文献36より改変

4. IL-17A の胎仔脳室内投与によるマクログリアへの影響

筆者らは、IL-17Aが発生中の脳のマクログリアにどのような影響を与えるかを直接調べるため、ニューロン産生時期である胚性14日(E14)のマウス胎仔側脳室にIL-17A組換えタンパクを投与した(図3)。胚性18日(E18)で胎仔脳を取り出し、脳切片を作成して大脳皮質内のマクログリアの数と分布をIba1抗体を用

いて検討した。その結果、生理食塩水投与群と比較してIL-17Aを投与した大脳皮質では、Iba1陽性マクログリア総数は変化しなかったが、外側(一次体性感覚野)よりも内側(帯状回皮質)に多数確認された。これらのIba1陽性マクログリアは大脳皮質内部よりも脳室帯・脳室下帯に多く分布しており、細胞体が大きく、突起が短い形態を示した。またこれらの細胞は、貪食活性(菌やその他の固形物を取り込む作用)を示すマーカー分子であるCD68(LAMPファミリーに属するI型膜貫通糖タンパクで主にリソソームやエンドソームに局在する)を高発現しており、活性化状態にあることがわかった³⁶⁾。本研究により、IL-17Aのマクログリア細胞への影響がはじめて示された。

5. まとめ

本稿では、T細胞特異的ROR γ t過剰発現マウスを用いて、血清中の恒常的IL-17A高値が当該個体の中枢神経系に及ぼす影響および胎生期のマクログリア発生過程におけるIL-17Aの役割に関する研究の一端を紹介した。Th17細胞を介した炎症反応は血液脳関門機能の破綻に寄与し、認知障害を引き起こす可能性がある^{16,37)}。事前の予想に反して、海馬アストロサイトの形態や密度に変化は認められなかった。一方、歯状回マクログリアの密度と活性化状態には顕著な低下が見られた。我々の先行研究では、ROR γ t Tgマウスは、妊娠中にpoly(i:c)依存性の炎症反応性を減弱することが示されている¹⁸⁾。IL-17Aの恒常的高値は免疫系の抑制系を刺激し、マクログリアの活性を抑制しているのかもしれない。

一方で、胎生期の IL-17A の脳室内投与は体性感覚野および帯状回のみクログリア数を変化させなかったが、CD68 陽性の活性化クログリアの割合を増加させた。この結果は E14 における IL-17A 投与がクログリアを活性化させ、食食能を向上させたことを示している。クログリアの活性化はしばしば細胞増殖を伴うが、細胞増殖を伴わない活性化が認められたという点は、IL-17A のクログリアへの作用を考える上で興味深い。

クログリアの脳皮質への侵入は、軟膜、脳室膜、脈絡叢からの3つの経路がある³⁸⁾。クログリアは皮質の髄膜側・脳室側で観察されるが、脳室帯では活性化型クログリアが多く存在する³⁹⁾。この活性化型クログリアは神経前駆細胞を貪食し、ニューロン数を調節する役割を果たす。IL-17A 投与群では、帯状回皮質の脳室帯・脳室下帯における CD68 陽性クログリアが多かった。このことから、異所性に分布する活性化型クログリアにより神経前駆細胞が過剰に貪食され、ASD に見られる脳皮質形態形成異常[例: 皮質パッチや興奮性・抑制性バランスの乱れ^{4, 32)}]が引き起こされる可能性を我々は想定している。現在、IL-17 受容体の中枢神経系の発生・発達に伴う発現変化も含めて、詳細な解析を進めている。

6. 謝辞

本研究は、筑波大学医学医療系の岸恭子さんと洲崎浩子さんに技術的なサポートをいただいた。本研究の一部は、日本学術振興会・科学研究費補助金、先進医薬研究振興財団、内藤記念科学振興財団、武田科学振興財団、川野小児医科学奨学財団、大樹生命厚生財団、ライフサイ

エンス振興財団、基礎生物学研究所・共同利用研究 (Nos. 22NIBB503, 21-402)、自然科学大学間連携推進機構のサポートの下で行われた。全ての動物実験は、国立大学法人筑波大学動物実験取扱規程に従って行われた。開示すべき利益相反は存在しない。

〈参考文献〉

- 1) Al-Ayadhi LY, Mostafa GA. Elevated serum levels of interleukin-17A in children with autism. *Journal of neuroinflammation*. 2012;9:158.
- 2) Debnath M, Berk M. Th17 pathway-mediated immunopathogenesis of schizophrenia: mechanisms and implications. *Schizophrenia bulletin*. 2014;40(6):1412-21.
- 3) Leff-Gelman P, Mancilla-Herrera I, Flores-Ramos M, Cruz-Fuentes C, Reyes-Grajeda JP, Garcia-Cuetara Mdel P, et al. The Immune System and the Role of Inflammation in Perinatal Depression. *Neuroscience bulletin*. 2016;32(4):398-420.
- 4) Stoner R, Chow ML, Boyle MP, Sunkin SM, Mouton PR, Roy S, et al. Patches of disorganization in the neocortex of children with autism. *The New England journal of medicine*. 2014;370(13):1209-19.
- 5) Ishigame H, Kakuta S, Nagai T, Kadoki M, Nambu A, Komiyama Y, et al. Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against mucosal bacterial infection and allergic responses. *Immunity*. 2009;30(1):108-19.
- 6) Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, et al. IL-

- 23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *The Journal of experimental medicine*. 2005;201(2):233-40.
- 7) Pene J, Chevalier S, Preisser L, Venereau E, Guilleux MH, Ghannam S, et al. Chronically inflamed human tissues are infiltrated by highly differentiated Th17 lymphocytes. *Journal of immunology*. 2008;180(11):7423-30.
 - 8) Bhaumik S, Basu R. Cellular and Molecular Dynamics of Th17 Differentiation and its Developmental Plasticity in the Intestinal Immune Response. *Frontiers in immunology*. 2017;8:254.
 - 9) Ivanov, II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, et al. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell*. 2006;126(6):1121-33.
 - 10) Huber M, Heink S, Grothe H, Guralnik A, Reinhard K, Elflein K, et al. A Th17-like developmental process leads to CD8(+) Tc17 cells with reduced cytotoxic activity. *European journal of immunology*. 2009;39(7):1716-25.
 - 11) Michel ML, Mendes-da-Cruz D, Keller AC, Lochner M, Schneider E, Dy M, et al. Critical role of ROR- γ in a new thymic pathway leading to IL-17-producing invariant NKT cell differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(50):19845-50.
 - 12) Gaffen SL. Structure and signalling in the IL-17 receptor family. *Nature reviews Immunology*. 2009;9(8):556-67.
 - 13) Dong C. TH17 cells in development: an updated view of their molecular identity and genetic programming. *Nature reviews Immunology*. 2008;8(5):337-48.
 - 14) Kleinewietfeld M, Manzel A, Titz J, Kvakana H, Yosef N, Linker RA, et al. Sodium chloride drives autoimmune disease by the induction of pathogenic TH17 cells. *Nature*. 2013;496(7446):518-22.
 - 15) Engelhardt B, Ransohoff RM. Capture, crawl, cross: the T cell code to breach the blood-brain barriers. *Trends in immunology*. 2012;33(12):579-89.
 - 16) Cipollini V, Anrather J, Orzi F, Iadecola C. Th17 and Cognitive Impairment: Possible Mechanisms of Action. *Frontiers in neuroanatomy*. 2019;13:95.
 - 17) Yoh K, Morito N, Ojima M, Shibuya K, Yamashita Y, Morishima Y, et al. Overexpression of ROR γ under control of the CD2 promoter induces polyclonal plasmacytosis and autoantibody production in transgenic mice. *European journal of immunology*. 2012;42(8):1999-2009.
 - 18) Tome S, Sasaki T, Takahashi S, Takei Y. Elevated maternal retinoic acid-related orphan receptor- γ enhances the effect of polyinosinic-polycytidylic acid in inducing fetal loss. *Experimental animals*. 2019;68(4):491-7.
 - 19) Li Q, Cheng Z, Zhou L, Darmanis S, Neff NF, Okamoto J, et al. Developmental Heterogeneity of Microglia and Brain Myeloid Cells Revealed by Deep Single-Cell RNA Sequencing. *Neuron*. 2019;101(2):207-23 e10.
 - 20) Das Sarma J, Ciric B, Marek R, Sadhukhan S,

- Caruso ML, Shafagh J, et al. Functional interleukin-17 receptor A is expressed in central nervous system glia and upregulated in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of neuroinflammation*. 2009;6:14.
- 21) Sasaki T, Nagata R, Takahashi S, Takei Y. Effects of ROR γ overexpression on the murine central nervous system. *Neuropsychopharmacol Rep*. 2021;41(1):102-10.
- 22) Radewicz K, Garey LJ, Gentleman SM, Reynolds R. Increase in HLA-DR immunoreactive microglia in frontal and temporal cortex of chronic schizophrenics. *Journal of neuropathology and experimental neurology*. 2000;59(2):137-50.
- 23) Foster R, Kandaneeratchi A, Beasley C, Williams B, Khan N, Fagerhol MK, et al. Calprotectin in microglia from frontal cortex is up-regulated in schizophrenia: evidence for an inflammatory process? *The European journal of neuroscience*. 2006;24(12):3561-6.
- 24) Zorrilla EP, Luborsky L, McKay JR, Rosenthal R, Houldin A, Tax A, et al. The relationship of depression and stressors to immunological assays: a meta-analytic review. *Brain, behavior, and immunity*. 2001;15(3):199-226.
- 25) van Berckel BN, Bossong MG, Boellaard R, Kloet R, Schuitemaker A, Caspers E, et al. Microglia activation in recent-onset schizophrenia: a quantitative (R)-[11C]PK11195 positron emission tomography study. *Biological psychiatry*. 2008;64(9):820-2.
- 26) Takano A, Arakawa R, Ito H, Tateno A, Takahashi H, Matsumoto R, et al. Peripheral benzodiazepine receptors in patients with chronic schizophrenia: a PET study with [11C]DAA1106. *The international journal of neuropsychopharmacology*. 2010;13(7):943-50.
- 27) Li X, Chauhan A, Sheikh AM, Patil S, Chauhan V, Li XM, et al. Elevated immune response in the brain of autistic patients. *Journal of neuroimmunology*. 2009;207(1-2):111-6.
- 28) Lombardo MV, Moon HM, Su J, Palmer TD, Courchesne E, Pramparo T. Maternal immune activation dysregulation of the fetal brain transcriptome and relevance to the pathophysiology of autism spectrum disorder. *Molecular psychiatry*. 2018;23(4):1001-13.
- 29) Luan R, Cheng H, Li L, Zhao Q, Liu H, Wu Z, et al. Maternal Lipopolysaccharide Exposure Promotes Immunological Functional Changes in Adult Offspring CD4⁺ T Cells. *American journal of reproductive immunology*. 2015;73(6):522-35.
- 30) Mattei D, Ivanov A, Ferrai C, Jordan P, Guneykaya D, Buonfiglioli A, et al. Maternal immune activation results in complex microglial transcriptome signature in the adult offspring that is reversed by minocycline treatment. *Translational psychiatry*. 2017;7(5):e1120.
- 31) Parker-Athill E, Luo D, Bailey A, Giunta B, Tian J, Shytle RD, et al. Flavonoids, a prenatal prophylaxis via targeting JAK2/STAT3 signaling to oppose IL-6/MIA associated autism. *Journal of neuroimmunology*. 2009;217(1-2):20-7.
- 32) Choi GB, Yim YS, Wong H, Kim S, Kim H, Kim SV, et al. The maternal interleukin-17a

- pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring. *Science*. 2016;351(6276):933-9.
- 33) Kim S, Kim H, Yim YS, Ha S, Atarashi K, Tan TG, et al. Maternal gut bacteria promote neurodevelopmental abnormalities in mouse offspring. *Nature*. 2017;549(7673):528-32.
- 34) Walker CK, Krakowiak P, Baker A, Hansen RL, Ozonoff S, Hertz-Picciotto I. Preeclampsia, placental insufficiency, and autism spectrum disorder or developmental delay. *JAMA pediatrics*. 2015;169(2):154-62.
- 35) Reed MD, Yim YS, Wimmer RD, Kim H, Ryu C, Welch GM, et al. IL-17a promotes sociability in mouse models of neurodevelopmental disorders. *Nature*. 2020;577(7789):249-53.
- 36) Sasaki T, Tome S, Takei Y. Intraventricular IL-17A administration activates microglia and alters their localization in the mouse embryo cerebral cortex. *Mol Brain*. 2020;13(1):93.
- 37) Argaw AT, Asp L, Zhang J, Navrazhina K, Pham T, Mariani JN, et al. Astrocyte-derived VEGF-A drives blood-brain barrier disruption in CNS inflammatory disease. *The Journal of clinical investigation*. 2012;122(7):2454-68.
- 38) Menassa DA, Gomez-Nicola D. Microglial Dynamics During Human Brain Development. *Frontiers in immunology*. 2018;9:1014.
- 39) Monier A, Adle-Biassette H, Delezoide AL, Evrard P, Gressens P, Verney C. Entry and distribution of microglial cells in human embryonic and fetal cerebral cortex. *Journal of neuropathology and experimental neurology*. 2007;66(5):372-82.