

令和 3 年 5 月 12 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24312

研究課題名（和文）脳梗塞慢性期の運動機能回復にLynx1が果たす役割の解明

研究課題名（英文）The role of Lynx1 in the recovery of motor function in the chronic phase of stroke

研究代表者

中西 徹（NAKANISHI, Toru）

大阪大学・医学系研究科・特任助教（常勤）

研究者番号：00848492

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：脳梗塞によって生じる運動麻痺は脳梗塞後急性期から亜急性期にかけて部分的に回復する一方で、慢性期にはあまり回復しない。これは、梗塞巣周囲での神経回路の再編が徐々に起こりにくくなるためと考えられているが、その具体的なメカニズムは不明である。本研究では、視覚野において臨界期を制御するLynx1に着目し、Lynx1が神経回路の再編を制御している可能性を検証した。その結果、Lynx1はこれまで着目されてきた抑制性介在ニューロンに加え錐体細胞にも発現することを見出した。また、脳梗塞前後でのLynx1発現変動を評価したところ、脳梗塞周囲において、Lynx1は経時的な発現変動を示すことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、Lynx1の発現を制御することによって、脳梗塞後慢性期における運動機能回復を促進できるかを検証中である。脳梗塞後急性期には血栓溶解療法や血栓除去療法などが効果を上げる一方で、慢性期に有効な治療法は乏しい。したがって、今後の研究成果によって脳梗塞後慢性期における治療法が確立できれば、脳梗塞患者の予後が改善することが期待できる。本研究期間内の結果は、上記の成果に繋がる基礎的な知見であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：While motor paralysis caused by ischemic stroke partially recovers during the acute and subacute phases, it does not recover well during the chronic phase. This is thought to be because the reorganization of neural circuits around the infarcted area gradually becomes less likely to occur, but the specific mechanism is unknown. In this study, we focused on Lynx1, which controls the critical period in the visual cortex, and examined the possibility that Lynx1 regulates the reorganization of neural circuits. We found that Lynx1 is expressed in pyramidal neurons as well as in inhibitory interneurons. We also evaluated Lynx1 expression changes before and after cerebral infarction, and found that Lynx showed temporal changes in expression around the infarct area.

研究分野：リハビリテーション

キーワード：脳卒中 神経可塑性 リハビリテーション

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

成体の中枢神経系は一度損傷を受けると自然には再生が困難である。そのため、脳梗塞によって大脳皮質運動野が障害を受けると、運動麻痺が長期に渡り残存する。その一方で、脳梗塞後、障害を免れた神経回路が再編することによって、代償的な運動機能の回復が生じることが明らかとなってきた。具体的には、梗塞巣周囲の大脳皮質運動野第5層ニューロンにおける樹状突起スパインがターンオーバーを繰り返すことで、残存した神経回路が再編され、運動機能が部分的に回復する(参考文献 1)。しかしながら、このスパインターンオーバーは主に脳梗塞後急性期から亜急性期にかけて起こり、慢性期には生じにくい(参考文献 1)。また、なぜスパインターンオーバーが慢性期に生じにくくなるのかは不明である。

2. 研究の目的

近年、発達期の視覚野ニューロンで生じるスパインターンオーバーを制御する因子として、Lynx1 が同定された(参考文献 2)。Lynx1 は発達期の視覚野で生じる臨界期(神経回路の再編が起こりやすい期間)を制御する働きをもつ(参考文献 3)。そこで、本研究では Lynx1 が脳梗塞後の梗塞巣周囲のニューロンで生じるスパインターンオーバーを制御し慢性期の運動機能回復に関与する可能性を検証した。

3. 研究の方法

(1) 脳梗塞モデルマウスの作製

・ Photothrombosis 法によって、マウス(雄性、C57BL/6J)の片側大脳皮質運動野に梗塞巣を作製する。

(2) Lynx1 の局在と経時的な発現変化の検証

・ in situ hybridization 法により、脳梗塞後のマウスにおける Lynx1 の発現細胞を確認する。
・ Real-time PCR 法や RNA scope により、梗塞巣周囲における Lynx1 の発現量変化を経時的に検証する。

(3) 大脳皮質第5層ニューロンのスパインターンオーバーの評価系の確立

・ 大脳皮質第5層ニューロン特異的に YFP を発現する Thy1 YFP-H マウスに対して大脳窓を作製し、2光子励起顕微鏡によりスパインを経時的に観察する。

4. 研究成果

まず、Photothrombosis 法によって、マウスの大脳皮質運動野に梗塞巣が作製できてを TTC 染色によって確認した(図 1、白色部が梗塞巣)。次に、in situ hybridization 法によって、Lynx1 はこれまで着目されてきた抑制性介在ニューロンに加え、大脳皮質の第2/3層、5層の錐体細胞にも発現することを見出した。また、Real-time PCR 法と RNA scope によって、脳梗塞前後での Lynx1 発現変動を評価したところ、脳梗塞周囲において、Lynx1 は経時的な発現変動を示すことが明らかとなった。さらに、Thy1 YFP-H マウスを用いた二光子励起顕微鏡による観察では、YFP 陽性の樹状突起上スパインを経時的に評価する実験系を確立した(図 2、白矢頭がスパイン)。今後は、本実験系を用いて、Lynx1 の発現を制御した際の脳梗塞後の梗塞巣周囲における神経回路の変化を検証する。

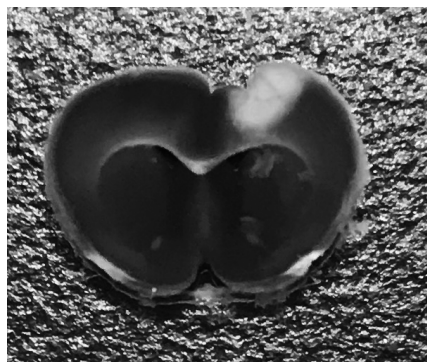


図 1. 脳梗塞モデルマウスの作製

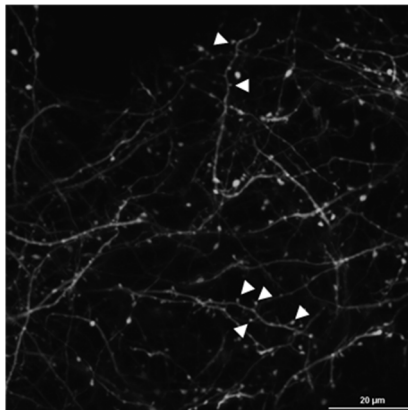


図 2. Thy1-YFP マウスによるスパインの標識

現在、脳梗塞後急性期には血栓溶解療法や血栓除去療法などが用いられ、一定の成果を上げて

いる。その一方で、慢性期には主にリハビリテーションが行われるが、その効果は急性期や亜急性期に比べ低い（参考文献 4）。また、脳梗塞後慢性期に運動機能の回復を促すような分子は未だ同定されておらず、有効な治療法は存在しない。したがって、今後の研究成果によって脳梗塞後慢性期における治療法が確立できれば、脳梗塞患者の予後が改善することが期待できる。本研究期間内での結果は、上記の成果に繋がる基礎的な知見であると考えられる。

[参考文献]

1. J. Neurosci. (2007) 27(15): 4101-9;
2. J. Neurosci. (2016) 36(36): 9472-8;
3. Science. (2010) 330(6008): 1238-40;
4. J Neurosci. (2004) 24(5): 1245-54;

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------