

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 元 年 6 月 14 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K13060

研究課題名（和文）損傷前のAMPA受容体シナプス移行能が脳損傷後の機能回復を促進するメカニズム

研究課題名（英文）Facilitation of AMPA receptors trafficking in Pre-injury induces functional recovery after brain injury

研究代表者

中島 和希（Nakajima, Waki）

横浜市立大学・医学研究科・特任助教

研究者番号：10737323

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：豊かな環境下で飼育したマウスはリーチングタスクの学習効率が向上することが明らかになった。また、脳損傷後の機能回復において、損傷早期において、機能回復を促進する可能性が示唆された。本研究では、認められた現象のメカニズムには迫ることができなかったが、脳に損傷を受ける前に豊かな環境で生活することで、脳損傷後の回復が早く、社会的負担が軽減する可能性があると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳に損傷を受ける前に豊かな環境で生活する（主に運動を定期的に行う）ことで、脳損傷後の回復が早く、社会的負担が軽減する可能性があると考えられる。これらの結果をそのまま日常生活に応用することは検討が必要であるが、介護予防の観点からも有用な知見と考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study revealed that mice reared enrich environment improve the learning efficiency of the reaching task. In addition, mice reared enrich environment tend to induce functional recovery in early phase of brain injury. In this study, although the mechanism of this phenomenon could not be proved, living in enrich environment before brain injury might recovery after brain injury and reduce social losses.

研究分野：生理学

キーワード：機能回復 リハビリテーション AMPA受容体 予防

1. 研究開始当初の背景

脳損傷後の脳の可塑性研究は Nudo らのリスザルを用いた、大脳皮質運動野損傷後のリハビリテーションにより、脳地図が変化するという研究がきっかけである(Nudo ら *Science* 1996)。その後、様々な研究がなされ、脳損傷後や脊髄損傷後のリハビリテーションによる機能回復が起こる際の、脳の代償野が明らかになってきたが(村田ら *J Neurophysiol* 2008, 澤田ら *Science* 2015, 石田ら *J Neurosci* 2016)、代償野が形成されるメカニズムや、機能回復が促進するメカニズムは未だに解明されていない。

我々は、AMPA 受容体に着目した機能代償に関する研究を視覚剥奪モデルや Nogo 受容体欠損マウスを用いて行ってきた。Nogo 受容体欠損マウスでは、通常幼若期で終了してしまう臨界期が延長しており、成熟期においても AMPA 受容体のシナプス移行が促進することを明らかにした(實木ら *Cereb Cortex* 2015)。また、先行研究では、Nogo 受容体欠損マウスにおいて、脳損傷後の機能回復が促進するという報告がある(Barrie ら *Cell Tissue Res* 2011)。一方、脳損傷前の可塑性に関する報告については、修道院研究から 20~30 歳代の文章能力が高いと、高齢になった際に認知症を発症しにくいということが明らかになっていることから(Lacono ら *Neurology* 2009)、脳損傷前に AMPA 受容体のシナプス移行が促進していれば(シナプス結合能が高ければ)、脳損傷後の機能回復も促進するのではないかという着想に至った。

2. 研究の目的

本研究では、脳損傷前の AMPA 受容体シナプス移行能に着目し、リハビリテーションによる機能回復が促進するメカニズムを明らかにすることが目的である。

3. 研究の方法

豊かな環境飼育ラットの作成

豊かな飼育環境を作るため、通常の飼育ケージよりも大きなケージを作製し、マウス用の遊具(回し車等)を導入した。生後 5 週齢の C57/BL6J マウスを通常環境または豊かな環境で 1 か月間飼育を行い、以降の実験に用いた。

AMPA 受容体シナプス移行能の検討

マウスを通常環境または豊かな環境で 1 ヶ月間飼育した後、皮質内微小刺激法(Intra-Cortical Micro-Stimulation: ICMS)またはパッチクランプ法を用いて行う。ICMS は、ラットを麻酔下で、一次運動野第 5 層内に刺激電極を挿入し、電気刺激する。刺激に応じて得られる応答を末梢部に装着した筋電計から計測した。パッチクランプ実験は、急性脳スライスを作製し、一次運動野第 2/3 層錐体細胞から微小シナプス後電流(miniature EPSC: mEPSC)を測定した。

把握課題(リーチングタスク)の学習(損傷前)

把握課題はマウスに前肢を用いて餌を把握させる運動課題である。通常飼育ラットと豊かな環境飼育ラットにおいて、タスク装置への馴化を 5 日間、把握課題の学習を 5 日間行い、一定以上の成功率を有するラットのみを実験に用いる。本実験系は本研究室にてすでに導入済みである。

凍結脳損傷作製及びリハビリテーションと行動学的評価

マウスを麻酔下で、片側一次運動野の前肢領域を脳地図から同定し、凍結損傷を与える。この損傷の実験系では、リハビリテーションによる自然回復は起こらない、重症な損傷モデルである。リハビリテーション様トレーニングを損傷 4 日後から開始し、8 週間継続して実施し、評価はリーチングタスク、シリンダーテスト、ボールテストを用いて損傷 3、7、14、21、28、35、42、49、56 日後に行い、機能回復効果を検証する。

4. 研究成果

豊かな環境設備(巨大なケージ、回し車、遊具)を適切に行うことができた。通常飼育と豊かな環境下で飼育したマウスにおいて、ICMS やパッチクランプ実験を行ったが、両群間の差は認められなかった。一方、行動実験では、豊かな環境下で飼育したマウスにおいて、前肢を使用して餌を把握する運動課題(リーチングタスク)の学習時の成功率が学習 1 日目において有意に向上することが明らかになったことから(図 1)、豊かな環境下で飼育したマウスでは運動学習効率が良くなることが示唆された(図 1)。

損傷後の機能回復については、豊かな環境下で飼育したマウスにおいて損傷後 10 日目のリーチングタスクの成功率の改善傾向が認められた(個体数が少なく、有意差は認められていない、図 2)。さらに、損傷前の成功率を「1」とし、損傷 3 日後の成功率を「0」と規定して、相対的な回復率(Relative recovery rate: RRR)

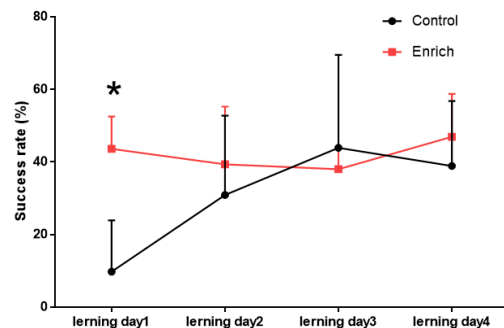


図 1. 学習時のリーチングタスクにおける成功率

を検討すると、豊かな環境下で飼育したマウスにおいて損傷後 10 日目のリーチングタスクの RRR の改善傾向が認められた（個体数が少なく、有意差は認められていない、図 3）。損傷後 17 日以降では、両群の差は認められなかった。シリンダーテスト、ポールテストでは Control 群と Enrich 群で差は認められなかった。

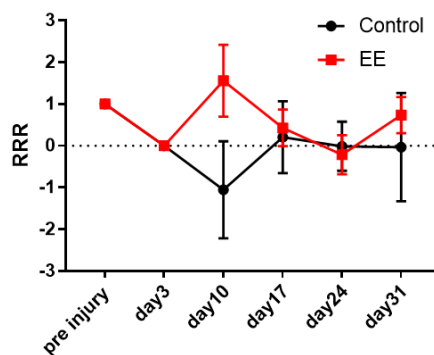
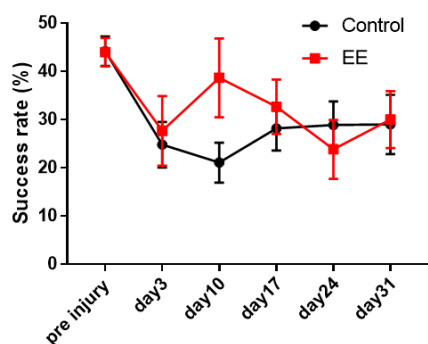


図2. 損傷後のリーチングタスクにおける成功率 図3. 損傷後のリーチングタスクにおける相対的回復率

本研究では、脳損傷を受ける前に豊かな環境下で飼育することで、学習効率の向上や損傷後の早期機能回復の可能性が示唆された。本研究の成果は、脳損傷前に豊かな環境で生活することで（主には運動が重要という報告がある、Nithianantharajah J ら *Nat Rev Neurosci.* 2006）、損傷後の回復が早く、社会的負担が軽減する可能性がある。上記結果をそのままヒトに応用することは検討が必要であるが、介護予防の観点からも有用な知見と考えられる。

< 引用文献 >

1. Nudo, R.J. & Milliken, G.W. Reorganization of movement representations in primary motor cortex following focal ischemic infarcts in adult squirrel monkeys. *J Neurophysiol* **75**, 2144-2149 (1996).
2. Murata, Y., *et al.* Effects of motor training on the recovery of manual dexterity after primary motor cortex lesion in macaque monkeys. *J Neurophysiol* **99**, 773-786 (2008).
3. Sawada, M., *et al.* Function of the nucleus accumbens in motor control during recovery after spinal cord injury. *Science* **350**, 98-101 (2015).
4. Ishida, A., *et al.* Causal Link between the Cortico-Rubral Pathway and Functional Recovery through Forced Impaired Limb Use in Rats with Stroke. *J Neurosci* **36**, 455-467 (2016).
5. Jitsuki, S., *et al.* Nogo Receptor Signaling Restricts Adult Neural Plasticity by Limiting Synaptic AMPA Receptor Delivery. *Cereb Cortex* **26**, 427-439 (2016).
6. Borrie, S.C., Baeumer, B.E. & Bandtlow, C.E. The Nogo-66 receptor family in the intact and diseased CNS. *Cell Tissue Res* **349**, 105-117 (2012).
7. Iacono, D., *et al.* The Nun study: clinically silent AD, neuronal hypertrophy, and linguistic skills in early life. *Neurology* **73**, 665-673 (2009).
8. Nithianantharajah, J. & Hannan, A.J. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nat Rev Neurosci* **7**, 697-709 (2006).

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〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者：なし

(2)研究協力者：なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。