

機関番号：12301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790233

研究課題名（和文）局所脳梗塞回復期における健常半球の機能代償および回路再編の解明

研究課題名（英文）Mechanism of remodeling and functional compensation after stroke in intact hemisphere

研究代表者

高鶴 裕介 (TAKATSURU YUSUKE)

群馬大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：30446265

研究成果の概要（和文）：マウスにおける皮質脳梗塞後の神経回路再編成のピークは梗塞部位によらず、1週間目にあることがわかった。行動解析実験においては、機能回復が1週間目よりも遅れる（2-4週間後）ことがわかった。*In vivo* microdialysisの結果から、脳梗塞からの機能回復期（2-7日目）において、グルタミン、グリシン、ドパミンの増加があることがわかった。また、機能回復期の前半（2-4日目）にドパミン受容体阻害薬（ハロペリドール）を投与すると、機能回復に遅れが生じることがわかった。

研究成果の概要（英文）：

Remodeling and/or synapse plasticity is increased at 1st week after stroke in intact hemisphere. In contrast, recovery of general behavior is delay compared with those in simple somatosensory function. During the remodeling, glutamine, glycine and dopamine seems to be play an important role. Application of haloperidol at 2-4 days after stroke prolongs the recovery.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：神経回路再編

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：2光子顕微鏡、脳梗塞、*In vivo* imaging、*In vivo* microdialysis、*In vivo* 電気生理記録、体性感覚

1. 研究開始当初の背景

脳梗塞による機能不全からの回復において、非障害領域の働きによる機能代償は重要であると考えられる。この過程において、病巣近傍の生き残った領域（ペナンプラ）による代償はもちろんのこと、健常半球の働きも重要であることは良く知られている。例えば左半球優位であることの多い言語機能は、その領域の障害により容易に機能不全、すなわ

ち失語を引き起こす。このようなケースでしばしば、非優位半球である右半球の機能が亢進することにより、機能代償、すなわち失語からの回復をみることが知られている（Crosson et al., *Neuropsychol. Rev.*, 2007）。

しかしながら、活動領域の変化をもたらす基盤メカニズムである神経回路自体の再編成については、生体でサブミクロンレベルでの

解像度が必要であるという技術的な制約のため、いまだ全く研究されていない。

申請者はこれまでの研究で、2光子励起レーザー顕微鏡をもちいた *In vivo* imaging と電気生理学的実験を中心とした機能評価実験とを組み合わせることにより、マウス大脳皮質体性感覚野において、障害領域の対側半球において、神経回路再編を伴う機能代償が起こっている可能性があることを明らかにしている(一部は平成19-20年度若手研究(B)「2光子励起レーザー顕微鏡を用いた障害モデルマウスにおける神経・グリア細胞の観察」の成果による。Takatsuru et al., *J. Neurosci.*, 2009)

2. 研究の目的

これまでの研究結果から次のような問題点が想起される。(1) 体性感覚野の障害領域(障害半球)によって起こる体性感覚機能の健常側での代償が、他の各種感覚において一般化できるのかどうかの証明。(2) 代償機能獲得時に起こるスパイン分布の変化と機能変化との直接的関連性の証明。(3) 電気生理学的結果から予想される機能代償が生体・個体の機能として実際に起こっているかの証明。

そこで本研究課題では、これらの問題点を解決することによって、脳梗塞後の機能回復における、障害領域に対応する健常半球領域の機能再構築に関して、回路レベルでの詳細な検討を行うことを目標としている。

3. 研究の方法

(1) 体性感覚野破壊を行い、健常側におけるシナプス変化(マッシュルームスパインのターンオーバー)を *In vivo* imaging の手法で観察し、神経回路再編成との因果関係を検証する。

(2) 視覚野破壊を行い、健常側におけるシナプス変化を *In vivo* imaging の手法を用いて観察する。

(3) *In vivo* 電気生理学的実験と機能検査(von Frey test)を組み合わせ、機能回復と神経回路再編との相関を観察する。

(4) 行動解析(Open-field test および locomotion test)を行い、機能回復との相関を検証する。

(5) *In vivomicrodialysis* の手法を用い、神経再編期に変化する神経伝達物質の変化を観察する。

(6) 行動薬理学実験を組み合わせ、(5)の結果を踏まえた上で、神経回路再編成に重要となる因子を検証する。

4. 研究成果

(1) 体性感覚野破壊においては、神経回路再編成が活発に起こる時期が脳梗塞後2-7日目であることが観察された。また、この時期に作られたシナプスはそれ以外の時期に作られたシナプスよりも安定して存在してい

ることがわかった(図1参照;論文作成中)。

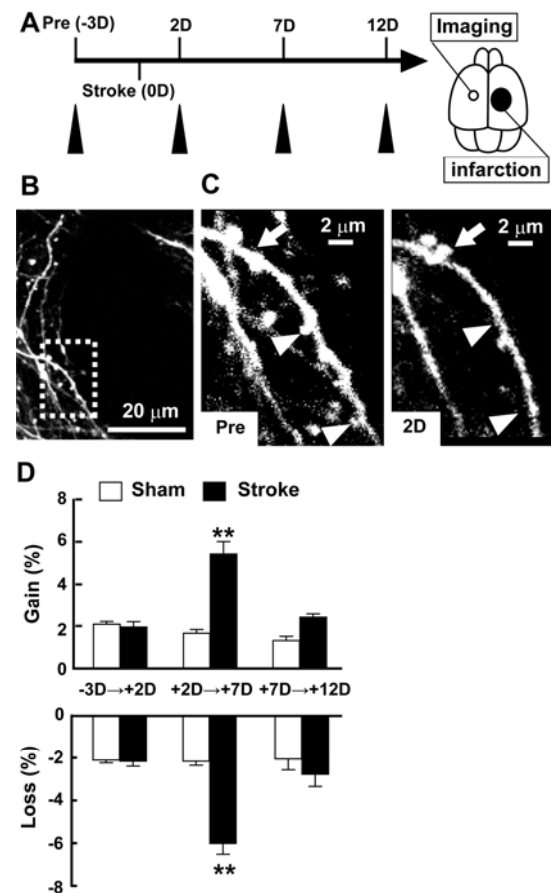


図1; 脳梗塞後のシナプス可塑性亢進

(A) 実験概要。脳梗塞は右側に作成し、左側の体性感覚野を観察した。(B, C) *In vivo* imaging の具体例。矢印は新生スパインを、矢頭は消失スパインを示す。(D) スパインのターンオーバーは脳梗塞後2-7日目で亢進していた。

(2) 視覚野破壊においても、シナプス可塑性が高い時期は脳梗塞後1週間目であることがわかった(Takatsuru et al., *Neurosci. Lett.*, 2011)。このことから、マウスにおける皮質脳梗塞後の神経回路再編成のピークは部位によらず、1週間目にあることがわかった。

(3) 脳梗塞後の機能回復は梗塞後2-7日目で起こるが、電気生理学的所見では、この時期において(a)新規回路からの入力(通常利用していない左末梢→左皮質の回路)が有意に増加していた。(b)しかしながら、一つ一つの応答は小さくなっていた。ことがわかった(図2参照;論文作成中)。

(4) Open-field test および locomotion test においては、機能回復が1週間目よりも遅れる(2-4週間後)ことがわかった(論文作成中)。このことから、単純な機能の回復

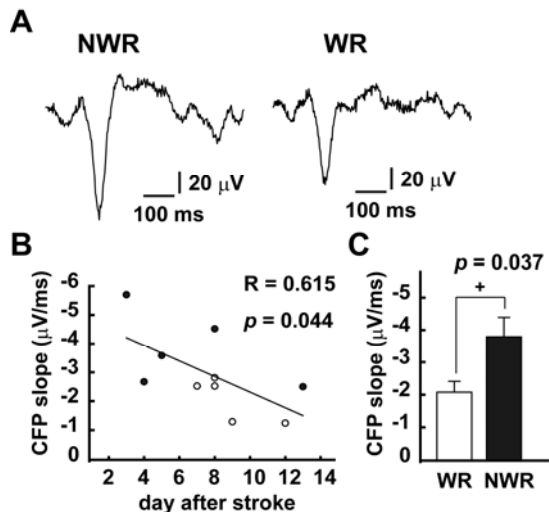


図2；脳梗塞回復後の神経回路形成

(A) 機能未回復群 (NWR) と機能回復群 (WR) の電気生理応答。電気記録は左足を刺激し、左脳で取得した。(B) 機能回復が起こる (脳梗塞後の日数が経過する) ほど、電気生理応答は小さくなっていった。(C) WR 群では有意に電気生理学的応答が減少していた。

と高次機能の回復との間には別のメカニズムが存在することが示唆された。

(5) *In vivo* microdialysis の結果から、脳梗塞からの機能回復期 (2-7 日目) において (a) グルタミンの増加 (b) グリシンの増加 (c) ドパミンの増加、があることがわかった。このことから、神経回路再編成においてはグリア細胞の働き、NMDA 受容体の働き、ドパミン神経回路の働き、が重要である可能性が示唆された (図3、4 参照；論文作成中)。

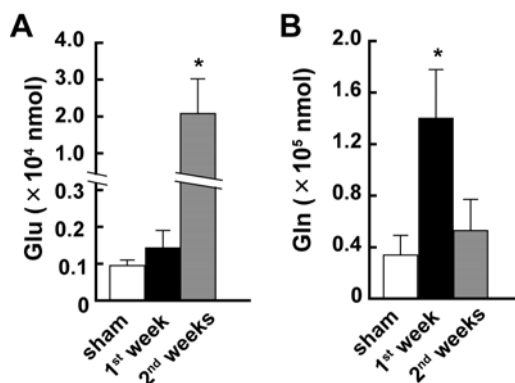


図3；興奮性神経伝達物質の放出量

(A) 脳梗塞後の機能回復・神経可塑性亢進は梗塞後1週間目で盛んであるが、興奮性神経伝達物質 (グルタミン酸) の放出量は増加していなかった。(B) グルタミン酸が主にグリア細胞で代謝されて生じるグルタミンは増加していた。

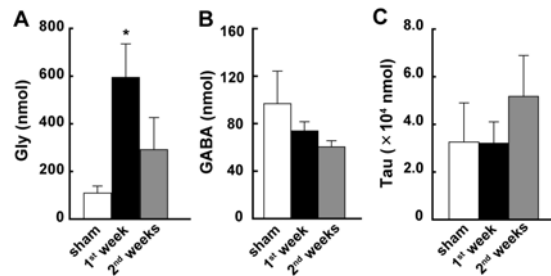


図4；抑制性神経伝達物質など神経回路再編成が盛んである脳梗塞後1週間目でグリシンが有意に増加していた。

(6) 機能回復期の前半 (2-4 日目) にドパミン受容体阻害薬 (ハロペリドール) を投与すると、機能回復に遅れが生じることがわかった。このことから、神経回路再編成においてドパミン神経系の働きが重要であることが示唆された (論文作成中)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計3件)

① Takatsuru, Y., Koibuchi, N., Nabekura, J. (2011) Unilateral infarction of the visual cortex (VC) induced an increase in dendritic spine turnover in contralateral VC. *Neurosci. Lett.* 488, 97-100. 査読有

② 鍋倉淳一、江藤圭、高鶴裕介 (2010) 障害後のシナプス再生および神経回路の再編. *Clin. Neurosci.* 28, 865-868 査読無

③ Takatsuru, Y., Fukumoto, D., Yoshitomo, M., Nemoto, T., Tsukada, H., Nabekura, J. (2009) Neuronal circuit remodeling in the contralateral cortical hemisphere during functional recovery from cerebral infarction. *J. Neurosci.* 29(32), 10081-10086. 査読有

〔学会発表〕 (計5件)

① 局所脳梗塞回復期の健常半球における神経回路再編機構 高鶴裕介、鯉淵典之、鍋倉淳一 第88回日本生理学会大会 (2011年3月28日、横浜 (震災のため誌上開催))

② 体性感覚野梗塞後の機能代償における健常半球の神経回路再編成、高鶴裕介、鯉淵典之、鍋倉淳一、第243回生理学東京談話会、2010.12.4、川越

③ 局所脳梗塞からの機能代償における健常半球の神経再編成、高鶴裕介、鯉淵典之、第57回北関東医学会総会、2010.10.7、群馬

④ Takatsuru, Y., Fukumoto, D., Yoshitomo, M., Nemoto, T., Tsukada, H., Koibuchi, N. and Nabekura, J. Contribution of

contralateral hemisphere on functional recovery from focal infarction in somatosensory cortex. 7th FENS(2010.7.6, Nederland, Amsterdam)

⑤Takatsuru, Y., Fukumoto, D., Yoshitomo, M., Nemoto, T., Tsukada, H., Nabekura, J. The functional remodeling of contralateral hemisphere during the recovery from the focal infarction in somatosensory cortex. IUPS2009 (2009.7.30, 京都)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高鶴 裕介 (TAKATSURU YUSUKE)

群馬大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：30446265