

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460315

研究課題名(和文) アストロサイト活性化による脳梗塞後神経回路再編成の修飾

研究課題名(英文) Neuronal remodeling after focal stroke induced by astrocyte stimulation

研究代表者

高鶴 裕介 (Takatsuru, Yusuke)

群馬大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：30446265

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：健常半球における脳梗塞後の機能回復において、アストロサイトの機能的修飾による神経回路再編成の賦活効果について研究した。機能回復において神経伝達物質の1つであるドパミンの役割が重要であることを解明した。また、特に慢性期においてドパミン受容体選択的アゴニストの一つであるアリピプラゾールの連続投与により、健常半球の神経回路再編成が促進されることが分かった。アリピプラゾールの連続投与はアストロサイトの働きを活性化させることを発見しており、アリピプラゾールによるドパミン受容体を介したアストロサイトの活性化が脳梗塞後の神経回路再編成を促進することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we observed the role of astrocyte on remodeling for functional compensation in contralateral hemisphere of focal stroke. We found that dopamine is one of the strong candidate for contributing the functional remodeling/recovery after focal stroke. We also found that repetitive application of Aripiprazole, one of the partial agonist for dopamine receptor, enhances the remodeling of neuronal circuit in intact hemisphere after focal stroke. Since the Aripiprazole enhances the activity of astrocyte if it repetitively applied, our study suggested that application of aripiprazole enhances the neuronal remodeling after focal stroke via activation of dopaminergic systems.

研究分野：神経生理学

キーワード：脳梗塞 アストロサイト ドパミン アリピプラゾール 神経回路再編成

1. 研究開始当初の背景

脳梗塞は日本人の死因の第3位であり、また、慢性期における後遺症のケア・機能回復を目指したりハビリテーションが、患者の生活の質 (Quality of life; QOL) を高めるのみならず、高騰する医療費の抑制のためにも重要である。研究代表者はこれまで、*in vivo* imaging を中心とした研究手法により、局所脳梗塞後の機能回復における健常半球の役割について明らかにしてきた (Takatsuru et al., J. Neurosci., 2009; Takatsuru et al., J. Neurosci., 2013; Takatsuru et al., Neurosci. Res., 2013)。この研究の中で、健常半球の機能回復過程においては、ごく短い期間 (脳梗塞後1週間以内) のアストロサイト (グリア細胞の一種) の機能的支援による神経回路再編成が重要であることを明らかにしている。しかしながら、この回復過程において、慢性期では神経活動の増加が起きているにもかかわらず、アストロサイトの働きが低下しており、脳内の神経回路が必ずしも正常に機能していない可能性が示唆されてきている (Takatsuru et al., J. Neurosci., 2013, Obi and Takatsuru unpublished data)。現状のモデルでは、特別なリハビリテーションや薬物治療を行っておらず、これらの因子の付加により、神経回路再編成の正常な修飾、機能回復の向上が期待できる。

2. 研究の目的

脳梗塞後の機能回復、特に慢性期における神経回路修復に有効な治療法の開発を行った。この際、アストロサイト (グリア細胞の一種) の働きに着目し、*in vivo* Ca²⁺ imaging を中心として、行動薬理実験、電気生理学の実験を組み合わせることにより、生理的条件下に近い状態で研究を行った。これにより、脳梗塞後慢性期における環境因子付加や薬物投与の有無によるアストロサイトの活性度、および神経回路再編成の様式を検証した。さらに、*in vitro* での形態学的実験、分子生物学的実験を組み合わせ、背景にあるメカニズムの検証を行った。これにより、脳梗塞後慢性期においても機能回復が期待できる環境操作・薬物療法を見出すことを試みた。

3. 研究の方法

体性感覚野に脳梗塞を発症させたマウスを用い、脳梗塞後の各時期における健常半球の神経回路再編成の変遷を電気生理学的に評価する。これまでの研究で明らかになっているグルタミン酸濃度変化以外の因子を明らかにするため、*in vivo* microdialysis 法を用いた神経伝達物質濃度の変化を測定する。特に、今回はモノアミンに着目する薬物の慢性投与 (2種類) を行い、電気生理学的に神経回路再編成に対する修飾効果を検証する。合わせて、*in vivo* Ca²⁺ imaging によりアストロサイトの働きの変化を検証する、ことを行った。これらの結果から神経

回路再編成に対し良好な修飾効果があったものに関して、分子生物学的、形態学的実験を行い、修飾効果の背景にあるメカニズムについて検討することを計画した。また、アストロサイトの働きと脳内酸素動態をリアルタイムに検証するため、酸素感受性イリジウム錯体 BTPDM1 を用いた *in vivo* imaging を行った。

4. 研究成果

本研究課題の成果により、健常半球ではドパミンの放出が脳梗塞後1週間目で特異的に増加していることが分かった (成果1: 10th FENS などで成果発表)。電気生理学的な解析により、脳梗塞後の健常半球において、機能的回復が終了する2週目以降においても神経回路再編成が進み、1つの領域で四肢すべての応答が記録できる異常状態になることが分かった (成果2: 10th FENS などで成果発表。図1参照)。

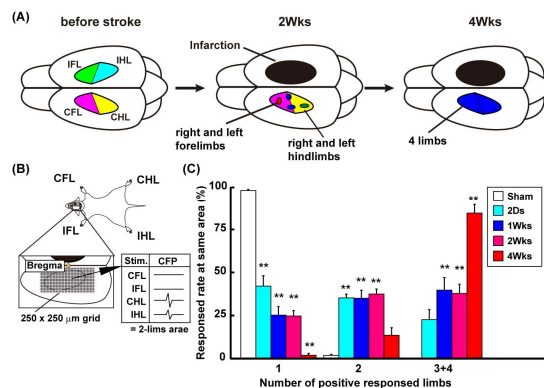


図1: 脳梗塞後慢性期における神経回路再編成。(A) 脳梗塞後4週間目では1つの領域で四肢の応答すべてが記録できるよう変化が起きている。(B) 体性感覚野に bregma を起点として設定した一領域 (250 ミクロン四方) で記録される肢からの応答は4週目で劇的に増加しほとんどの領域で3本以上の肢からの電気生理学的応答が記録できた。

この時、脳梗塞後2週間目以降にアリピプラゾール (選択的ドパミンアゴニスト) を慢性投与すると、2週目以降に誘導される異常神経回路再編成が抑制されることがわかった (成果3: 10th FENS などで成果発表。図2参照)。一方、脳梗塞後3日目から1週間ハロペリドール (ドパミン受容体アンタゴニスト) を投与すると、通常2週目までに見られる体性感覚機能の回復が起こらなくなることが分かった。

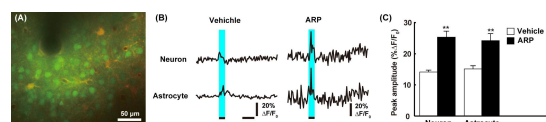


図2: アリピプラゾール連続投与後に見られるアストロサイト活動の増加。

このアリピプラゾールはアストロサイトの活動を賦活することを *in vivo* Ca²⁺ imaging で確認した (成果 4 : 10th FENS など で成果発表。図 3 参照)。以上のことより、脳梗塞後の健常半球における慢性期神経回路再編成にドパミンが重要な役割を果たすことが示唆され、この働きはアリピプラゾール投与によるアストロサイトの活性化で補助できることが明らかとなった。

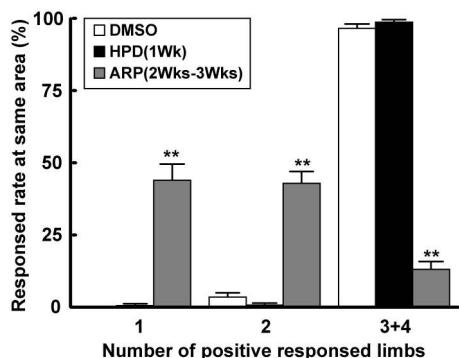


図 3 : 慢性期におけるアリピプラゾールの連続投与は不正神経回路再編成を抑制する。脳梗塞後 2 週から 3 週目にアリピプラゾールを連続投与したところ 4 週目で見られる電気生理学的な過剰応答が抑制された。

また、BTPDM1 を用いた脳内酸素動態の解析において、老齢動物では、高濃度酸素投与後速やかに脳内酸素濃度が低下してしまうことが分かった (成果 5 : GUMI&AMDE2016 など で成果発表。図 4 参照)。また、頻回の体性感覚刺激により、老齢動物において低酸素スパイクが頻発することが分かった (成果 6 : GUMI&AMDE2016 など で成果発表)。

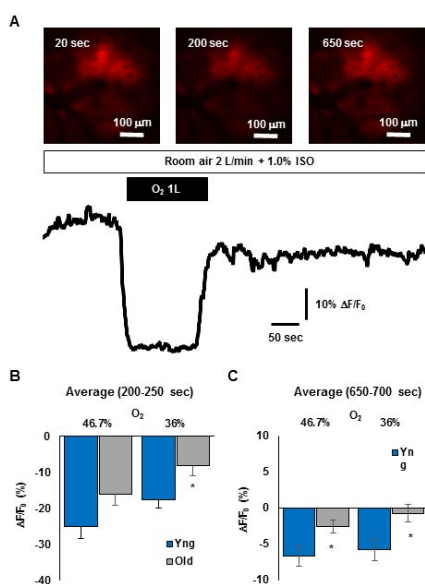


図 4 : 老齢動物における酸素予備能力低下の可視化。BTPDM1 を用いた *in vivo* imaging により、酸素吸入に応じた脳内

酸素濃度の変化を記録することができた。この時、若いマウスでは酸素投与終了後もしばらくの間脳内酸素濃度が高い状態が維持されたが、老齢動物では速やかに基線レベルの酸素濃度に戻ることが明らかになった。

今後、成果 1 - 4 と成果 5 , 6 をそれぞれ論文としてまとめ発表する予定である。また、後者については今後、脳内の酸素動態の変化とアストロサイトの働きについて合わせて検証する予定である。

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 4 件)

Amano I, Takatsuru Y, Toya S, Haijima A, Iwasaki T, Grasberger H, Refetoff S, Koibuchi N, Aberrant cerebellar development in mice lacking dual oxidase maturation factors. *Thyroid*, 査読あり, 26, 741-752, 2016.

doi: 10.1089/thy.2015.0034.

Takatsuru Y, Nabekura J, Ishikawa T, Kohsaka J, Koibuchi N, Early-life stress increases the motility of microglia in adulthood. *J.Physiol.Sci.*, 査読あり, 65, 187-194, 2015.

doi: 10.1007/s12576-015-0361-z.

Takatsuru Y, Koibuchi N, Alteration of somatosensory response in adulthood by early life stress. *Front. Mol. Neurosci.*, 査読あり, 8, article15 (1-7), 2015.

doi:10.3389/fnmol.2015.00015

Toya S, Takatsuru Y, Kokubo M, Amano I, Shimokawa N, Koibuchi N, Early-life-stress affects the homeostasis of glutamatergic synapses. *Eur. J. Neurosci.*, 査読あり, 40, 3627-3634, 2014.

doi: 10.1111/ejn.12728.

[学会発表](計 4 9 件)

高鶴裕介, 鍋倉淳一, 鯉淵典之, 脳梗塞回復期の健常半球におけるアストロサイトの役割. 第 87 回日本薬理学会年会, 2014.19-21, 宮城・仙台.

ほかシンポジウム計 3 件

Takatsuru Y, Koibuchi N, Yoshihara T, Tobita M, Iridium complex probe, BTPDM1, is useful probe for *in vivo* imaging of oxygen dynamics. 3rd International Symposium of Gunma University Medical Innovation and 8th International Conference on Advanced Micro-Device Engineering (GUMI & AMDE2016), 2016.12.9, Kiryu・Japan.

Obi K, Takatsuru Y, Amano I, Koibuchi N, Aripiprazole improves the remodeling of neuronal circuit for functional recovery after stroke in somatosensory cortex. 10th FENS, 2016.7.2-6, Copenhagen · Denmark.

Takatsuru Y, Koibuchi N, Yoshihara T, Tobita M, *In vivo* imaging of oxygen dynamics in aged-animal brain using iridium complex probe. 7th International Conference on Advanced Micro-Device Engineering (AMDE2015), 2015.12.8, Maebashi · Japan.

Takatsuru Y, Nabekura J., Koibuchi N, The neuronal and glial reorganization in the intact hemisphere contributes functional remodeling after focal stroke. 8th FAOPS, 2015.11.23-25, Bangkok · Thailand.

Takatsuru Y, Koibuchi N, Yoshihara T, Tobita M, *In vivo* imaging of oxygen dynamics using Iridium complex probe. 1st International Symposium of Gunma University Medical Innovation and 6th International Conference on Advanced Micro-Device Engineering (GUMI & AMDE2014), 2014.12.5, Kiryu · Japan.

ほか国際学会計 15 件

高鶴裕介, 金子涼輔, 鯉淵典之, 多光子励起レーザー顕微鏡 FVMPE-RS を用いた *in vivo* imaging の実例. 第 63 回北関東医学会総会, 2016 年 9 月 29-30 日, 群馬 · 前橋.

高鶴裕介, 鯉淵典之, 吉原利忠, 飛田成史, イリジウム錯体を用いた加齢性にもなう脳内酸素動態変化の観察. 第 93 回日本生理学会, 2016 年 3 月 22-24 日, 北海道 · 札幌.

小尾紀翔, 高鶴裕介, 天野出月, 鯉淵典之, 局所脳梗塞後の再局在化における DHEA の修飾作用. 第 93 回日本生理学会, 2016 年 3 月 22-24 日, 北海道 · 札幌.

高鶴裕介, 金子涼輔, 鯉淵典之, 群馬大学における多光子励起レーザー顕微鏡の運用実例. 第 61 回北関東医学会総会, 2014.9.25-26, 群馬 · 前橋.

ほか国内学会計 31 件

〔図書〕(計 1 件)

高鶴裕介, 中村佳代, 戸田拓弥, 宮本愛喜子, 鍋倉淳一: メジカルビュー社, 神経損傷後の神経回路再編成, リハビリテーションのためのニューロサイエンス - 脳科学から見る機能回復 -, 西条寿夫, 伊佐正監修, 2015, p75-88.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ等

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 · 講師
研究者番号 : 30446265

(2) 研究分担者

該当なし ()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

該当なし ()

研究者番号 :

(4) 研究協力者

天野 出月 (AMANO Izuki)
小尾 紀翔 (OBI Kisho)
飛田 成史 (TOBITA Seiji)
吉原 利忠 (YOSHIMURA Toshitada)