

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名: 発達期および障害回復期における神経回路の再編成機構

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名

研究代表者 鍋倉 淳一((独)自然科学研究機構生理学研究所 教授)

主たる共同研究者

加藤 宏之(国際医療福祉大学病院神経内科 教授)

塚田 秀夫(浜松ホトニクス(株)中央研究所 PET センター長)

福田 敦夫(浜松医科大学医学部生理学第一講座 教授)

橋本 浩一(東京大学大学院医学研究科 准教授)

3. 研究実施概要

脳発達の最終段階において、神経回路の広汎な再編成が観察される。この現象は主に遺伝子に組み込まれた情報にガイドされて形成された未熟な回路の再構築によって、学習や記憶などの高次機能を含めた脳機能を発現できる成熟回路を形成する過程と考えられる。この過程は既に脳として機能している回路の変化であるため、しばしば行動やリズムなど個体としての脳機能の変化として表現される。このように、発達脳では、広汎な機能回路がまず形成され、その後、より細かな機能回路単位の絞込みが行われ、成熟した回路が完成する。

一方、成熟した脳の障害後の回復期には、多くの未熟期に特有な回路特性が再現することが明らかになってきている。このことから再生回路の再編成においても、発達期と同様のプロセスが再現されることが想定される。したがって、発達期における回路再編成の制御機構を検討することは、機能回復を目的とした回路再構築に向けた方策にも重要な示唆を与える。

本研究では神経回路再編機構について、ヒトおよびモデル動物において検討するとともに、その背景にある神経回路再編メカニズムの理解を深めるために発達期におけるモデル回路の成熟機構の解明をも目指した。これまでに得られた主要な成果は以下のようにまとめられる。

- ① ヒトにおける機能回復過程について軽度片麻痺患者では、発症後急性期に両側大脳半球の広い領域の活動が起こり、その後活動領域の絞込みが生じ障害後の機能回復と活動領域の変化の時期が密接に関連していることが明らかになってきた。(加藤グループ)
- ② 脳虚血障害サルを対象に、脳活動とリハビリテーションによる機能回復について陽電子断層撮影法(PET)を用いて検討した結果、リハビリテーション群において有意に運動機能の回復および脳障害エリアの縮小が認められた。さらに回復に向けたリハビリテーションには「臨界期」の存在が示唆された。(塚田グループ)
- ③ 神経回路再編機構を生体で観察するために、多光子励起顕微鏡の生体応用および技術改良を行い大脳皮質深部レベルまで微細構造観察可能な技術を構築した。この生体イメージング法を大脳虚血障害モデルマウスに適用した結果、障害回復期には脳梗塞周辺部位でシナプスの再編成が亢進していることが判明した。このシナプス再編機構について、脳障害時に活性化するミクログリアのシナプス監視機構が存在することを見出し、障害後にはミクログリアによりシナプス除去が誘発されることが判明した。また、片側体性感覚野梗塞障害後には、対側の感覚野においてシナプス再編が限られた期間に起こり、その後、障害によって失われた機能を代償する神経回路活動が対側半球の相同領域に生じることを発見した。(鍋倉グループ)
- ④ 神経回路の機能発達および障害後変化をもたらす基盤として、シナプス除去とGABA機能の脱分極一過分極スイッチを制御する細胞内機序について検討を行なった。GABA作用は細胞内Cl⁻濃度に依存する。主要細胞内Cl⁻汲み出し分子K⁺-Cl⁻共役担体(KCC2)は、障害時には脱リン酸化による機能喪失、細胞膜における発現低下、さらにタンパク質自体の発現消失が起こり、GABA作用は抑制性から興奮性に変化することが判明した。(鍋倉・福田グループ)

⑤発達・再生時に広範囲な神経回路で起こる余剰回路の除去のモデルとして、未熟期小脳プルキンエ細胞に inputs する余剰な登上線維の除去の検討を行なった。発達に伴い残存する一本の登上線維の終末のみプルキンエ細胞の樹状突起へ移動し、神経細胞体に残存 inputs するその他のシナプスは除去されること、および余剰シナプス除去には P/Q 型 Ca^{2+} チャンネルが関与していることが判明した(橋本グループ)。

4. 事後評価結果

4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

本研究を遂行するにあたり、マウス、サル of 梗塞モデルを作成し、さらには生きたマウスで神経回路微細構造を大脳皮質深部まで可視化できる革新的な生体イメージング技術(多光子励起顕微鏡)を構築した。この生体イメージング技術を用いて、障害回復期における神経回路の再編成過程の解明を進め、優れた成果をあげた。特に、シナプスとミクログリアの相互作用を可視化することによってミクログリアがシナプス除去に関与することを明らかにしたことは画期的な成果である。

また、虚血による脳障害サルを用いて、陽電子断層撮影法(PET)で検討した結果、回復期におけるリハビリテーションの効果には「臨界期」が存在することを示唆したことは、大変興味深い成果である。今後、リハビリテーションの開始時期の違いと神経回路の再編成の関係など「臨界期」に関するメカニズムの解明が期待される。

一方、神経回路再編のメカニズムの追求という点では、神経回路機能発達と障害後神経回路再編成における共通のメカニズムとして、成体において過分極作用を示す GABA が、生後発達初期及び傷害後回復期には脱分極作用を示すこと、この変化は細胞内塩素イオン汲み出し分子 $\text{K}^{+}\text{-Cl}^{-}$ 共役担体(KCC2)の脱リン酸化による機能低下や発現消失によることを明らかにした。

このように、脳障害後の回復過程において、GABA の抑制—興奮スイッチやシナプス連絡の再編などによる神経回路の機能変化が、障害回路または代償回路におこること、および早期に適切なリハビリテーションを行うことで機能回復に向けた神経回路再編が促進されることを示唆した本研究成果は、ヒトの脳血管障害後の機能回復のための治療戦略を考える上で重要な情報となるものである。

本研究では、大脳皮質の深部まで可視化できる生体イメージングシステム(多光子励起顕微鏡)を構築し、脳障害からの機能回復過程の解明に挑み、研究計画に沿って着実に優れた研究成果をだしており、高く評価できる。ただ、各共同研究者の研究成果は、それぞれに興味深いが、本課題の目標達成に向け貢献度が不十分なグループが見られたのは残念である。

これらの研究成果は、原著論文(国内 10 件、国際92件)、招待講演(国内 85 件、国際 27 件)口頭発表(国内 104 件、国際 5 件)、ポスター発表(国内 100 件、国際 74 件)として公表された。

全体としてはランクの高い学術誌に発表されており評価できる。また未発表の成果もあり、今後インパクトの高い論文発表が期待される。これらの成果の一部はマスメディアで(新聞・テレビ)で紹介された(29 件)。また、特許出願(国内1件)もなされた。

下記に主要な成果論文と要約を示す。

独自に改良した多光子励起顕微鏡を用いて、生きたマウスの脳内を撮影した結果、ミクログリア細胞は正常な脳でシナプスに定期的に接触していることを明らかにした。接触は1時間に1回、接触時間は5分間であった。一方、脳梗塞などで障害をうけた場合には、1時間以上、シナプス全体を包み込むように触ることがわかった。また、ミクログリア細胞による接触後、しばしばシナプスが消失することが観察された(Wake H et al., J. Neurosci., 2008)

4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

独自に改良・構築した多光子励起顕微鏡イメージングシステムは、生体において大脳皮質深部を可視化でき、

且つ同一個体で同一部位を数ヶ月にわたり繰り返し観察できる画期的なもので、神経微細構造変化を解析する研究領域における本装置の科学的貢献度は極めて大きい。

本装置を用いて、ミクログリアがシナプスを常時監視し障害のあるシナプスを除去し再編成を促している様子を可視化することに成功した。この発見は、従来よくわかっていなかった脳障害からの機能回復過程におけるミクログリアの役割を明らかにした画期的な成果である。

サル「虚血再還流モデル」を用いた研究で、リハビリテーションを開始するタイミングが運動機能改善効果と相関があることを見だし、いわゆる「臨界期」が存在することが示唆された。また、マウスを用いた研究で、脳梗塞後の機能回復過程では、脳梗塞とは反対側の脳の神経回路の再編と機能回復が順序よく起こること明らかにした。

これまでヒト脳血管障害後の運動機能回復を目指したリハビリテーションは、経験的な部分が多く、特に運動機能回復と脳機能回復との関係について不明な点が多かった。本成果は、ヒトの脳血管障害後の機能回復のための治療戦略を考える上で貴重な情報を与え、リハビリテーションの方法や実施時期・期間などに関し、あらたな方策の開発につながることが期待され、領域の戦略目標達成に大きく貢献するものである。

4-3. 総合的評価

本研究では、研究計画に沿って着実に優れた成果を得ており高く評価できる。特に多光子励起顕微鏡による生体イメージングの研究は、国際的に激しい競争が展開されている中、大脳皮質の深部まで可視化できる生体脳イメージング技術を構築し、神経回路の修復とミクログリアの関連性を可視化したことは国際的にインパクトの高い画期的な成果である。

以上