

「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」

平成 16 年度採択研究代表者

鍋倉 淳一

(自然科学研究機構生理学研究所 教授)

「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」

1. 研究実施の概要

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回路の再構築によって、学習や記憶などの高次脳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の個体としての脳機能の変化として表現される。この発達脳では、広汎に活性化される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。これら多くの変化は、内外環境による神経回路活動に依存性のプロセスであり、高次脳機能においてはしばしば臨界期が存在する。さらに、成熟した脳の障害後の回復期に、障害および関連領域において活動領域および回路の再編成が観察される。また、動物モデルにおいて、種々の障害後早期に、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示唆される。そのため、発達期における回路再編成の抽出と制御機構を検討することは、内外環境に依存した脳機能発達のメカニズムの理解ばかりでなく、成熟した脳におこる障害後の回路再編成と比較することにより、機能回復を目的とした回路再構築に向けた方策にも大きな助言を与えることが可能となる。

2. 研究実施内容

本研究は、障害回復期に一旦形成された機能回路に起こる再編成の理解のため、1) 成熟した脳の障害後、機能回復に伴う大脳皮質活動領域の変化について、ヒトおよび障害モデル動物における非侵襲的計測法による観察と合わせて、背景にある活動回路の再編成の回路基盤を理解する。2) この回路再編の理解のために、発達期および再生期におこる活動神経回路再編成の基本原理の解明を進めることを目的とする。

ヒトの虚血脳硬塞後の活動領域の再編成をfMRIおよび近赤外線トポグラフィーを用いて検討した結果、運動領域の活動再編成が障害後数カ月で観察された一方、言語中枢に関しては数年間の経過で活動領域が変化することが判明し、関連機能する機能により活動領域

の再編成に時間差があることが示唆された。サル大脳皮質虚血／梗塞モデルではアップルテストによる pick-up 時間を指標とした運動機能回復過程および PET を用いたベンゾジアゼピン結合評価を用いた障害領域の変化を検討した結果、運動リハビリ群では対照群に対し活動領域の改善が観察され、現在障害程度別の回復過程の検討を行なっている。

また、これらの結果の背景にある機能回路再編を検討するため、マウスにおける安定した大脳皮質虚血／梗塞モデルの開発に着手した。クリプトンおよび YAG の 2 種類のレーザーを用いて、脳内微小血管の閉塞- 再還流を行ない大脳皮質の限局した部位の梗塞および周辺ペナンプラ領域を作成する技術の確立を行なった (図 1)。さらに、同部位における回路再編の長期観察法の確立として、多光子顕微鏡観察技術の *in vivo* への応用の試みを行ない、現在正常マウスの大脳皮質深部までの推体細胞の可視化に成功している (図 2)。今後、この 2 つの新技术を組み合わせて障害大脳皮質の回路再編の連続観察を行う。

再編成に係わる分子メカニズムとして、GABA の未熟期興奮性が大脳皮質細胞の移動を制御しており、その障害が異常層構造を作ることに加えて、障害細胞では細胞内 Cl^- くみ出し分子である $\text{K}^+ \text{Cl}^-$ 共役担体分子の発現／機能が消失し、GABA の興奮性作用が再出現すること。また、未熟脳に高発現し発達減少する Neuronal Ca^{2+} sensor 1 分子が障害細胞では再発現するなど、障害後には未熟期神経細胞特性が再現することが判明した。また、回路レベルにおける特徴的再編である過剰シナプスの除去には P/Q 型 Ca^{2+} チャネルや GABA 伝達に関係している可能性が各々の遺伝子改変動物の小脳登上線維をモデルに明らかになりつつある。

3. 研究実施体制

「神経回路再編機構研究」グループ

①研究分担グループ長：鍋倉淳一（自然科学研究機構生理学研究所、教授）

②研究項目：発達および回復期における回路再編成のメカニズムの解明

- 1) GABA の未熟および障害による興奮性作用発現メカニズムの解明と回路活動の再編制御の検討。
- 2) 大脳皮質障害回復期における回路再編の解明

図 1：クリプトンレーザー（血管閉塞）
YAGレーザー（再還流）による脳梗塞モデル

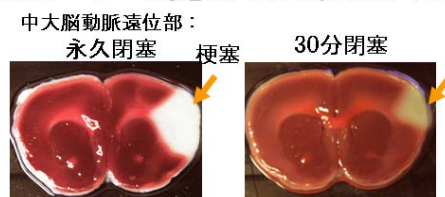
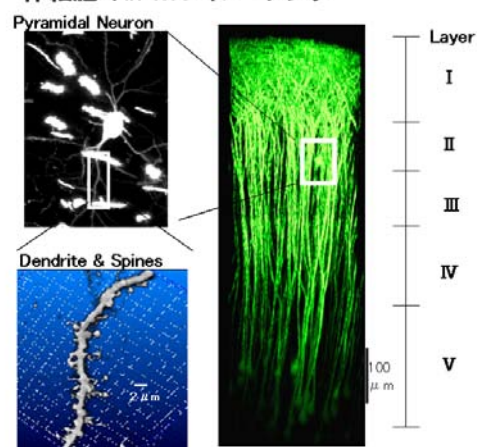


図2: 多光子励起顕微鏡による大脳皮質錐体細胞の*in vivo* イメージング



「ヒト脳機能回復計測」グループ

①研究分担グループ長：加藤宏之（国際医療福祉大学、教授）

②研究項目：脳血管障害患者を対象とした脳機能計測

概要：

- 1) 脳血管障害患者の片麻痺や失語症の機能回復過程における脳の機能再構築、あるいは神経可塑性の出現を、光トポグラフィーおよびファンクショナル MRI を用いた脳機能計測により非侵襲的に解析する。
- 2) 光トポグラフィーを用いたヒト脳機能の計測・解析方法に関し、高精度化の実現を検討する。

「小脳シナプス発達機構」グループ

①研究分担グループ長：橋本浩一（大阪大学、助手）

②研究項目：発達期・再生期の小脳における神経回路の機能的再編成の基本原理の解明

「サル脳活動回復測定」グループ

①研究分担グループ長：塚田秀夫（浜松ホトニクス㈱、PET センター長）

②研究項目：障害モデル動物における活動領域の変化と再臨界期：活動領域の変化について、動物用 PET を用いた検討

「細胞内クロール調節機構解析」グループ

①研究分担グループ長：福田敦夫（浜松医科大学、教授）

②研究項目：神経回路の発達・再編と再臨界期への Cl^- transporter の関与の証明

4. 主な研究成果の発表

(1) 論文（原著論文）発表

<鍋倉グループ>

- Koga H, Ishibashi H, Shimada H, Jang I-S, Nakamura T, Nabekura J.(2005)
Activation of presynaptic GABAA receptors increases spontaneous glutamate release onto noradrenergic neurons of the rat locus coeruleus Brain Research. 1046 24-31.
- Nakamura T, Jeromin A, Smith G, Kurushima H, Koga H Nakapeppu Y Wakabayashi S Nabekura J.(2006) Novel role of neuronal Ca^{2+} sensor-1 as a survival factor up-regulated in injured neurons. Journal of Cell Biology 172:1081-1091.
- Matsumoto N Noda E Nabekura J Run down of GABAergic depolarization during metabolic inhibition of rat hippocampal CA1 neurons Life Science, in press

<橋本グループ>

- Narushima M, Hashimoto K, Kano M. : Endocannabinoid-mediated short-term suppression

of excitatory synaptic transmission to medium spiny neurons in the striatum. *Neurosci Res.* 54 :159-164, 2006.

- Yamasaki M, Hashimoto K, Kano M. : Miniature synaptic events elicited by presynaptic Ca^{2+} rise are selectively suppressed by cannabinoid receptor activation in cerebellar Purkinje cells. *J Neurosci.* 26 :86-95, 2006.
- Hashimoto K, Kano M. : Postnatal development and synapse elimination of climbing fiber to Purkinje cell projection in the cerebellum. *Neurosci Res.* 53 : 221-228, 2005.

<塚田グループ>

- K. Umemura, H. Tsukada, T. Kakiuchi, N. Yamada, H. Matsuura, Positron emission tomographic study of the neuroprotective effect of TRA-418, an anti-platelet agent, in a monkey model of stroke, *J Nucl Med* 46 (2005) 1931-1936.

<福田グループ>

- Wang C, Ohno K, Furukawa T, Ueki T, Ikeda M, Fukuda A, Sato K. : Differential expression of KCC2 accounts for the differential GABA responses between relay and intrinsic neurons in the early postnatal rat olfactory bulb. *Eur J Neurosci.* 21: 1449-1455, 2005.
- Inoue K, Yamada J, Ueno S, Fukuda A. : Brain-type creatine kinase activates neuron-specific $\text{K}^{+}\text{-Cl}^{-}$ co-transporter KCC2. *J Neurochem*, 96, 598-608, 2006.
- Heck N, Kilb W, Reiprich P, Kubota H, Furukawa T, Fukuda A, Luhmann HJ. : GABA-A receptors regulate neocortical neuronal migration *in vitro* and *in vivo*. *Cereb. Cortex*, in press
- Yamamoto S, Yamada J, Ueno S, Kubota H, Furukawa T, Yamamoto S, Fukuda A. : Insertion of $\alpha 7$ Nicotinic Receptors at Neocortical Layer V GABAergic Synapses Is Induced by a Benzodiazepine, Midazolam. *Cereb. Cortex*, in press