

## 研究助成 2015—生活習慣病領域—

### 研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	奈良県立医科大学 先端医学研究機構 脳神経システム医科学分野
氏 名	高橋 弘雄
研究テーマ	脳梗塞後の神経回路再編メカニズムの解明と治療への応用

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

**【背景・目的】** 食生活や高血圧、加齢に起因して進行する動脈硬化は、脳血管疾患の主な原因となる。脳血管疾患は、3大生活習慣病の1つであり、本邦の死亡原因の4位となる極めて発生頻度の高い疾患である。しかしながら、動脈硬化に伴う虚血により脳組織が損傷を受けた場合に、失われた脳機能を回復させるための効果的な再生治療法は未だ確立されていない。そこで本研究は、脳血管疾患の多くを占める脳梗塞に関して、内在性の神経回路の修復機構を解明し、治療に繋がる知見を得ることを目的として行った。脳梗塞後の神経回路の再編において、神経活動依存的な転写因子 **Npas4** が、脳を守るために重要な働きをすることを明らかとした。

**【研究方法】** 中大脳動脈の閉塞手術により、脳梗塞モデルマウスを作製した。脳梗塞の発症直後にニューロンの生死に関わる遺伝子を同定するため、脳梗塞手術2時間後のマウスから、梗塞側と **control** 側の大脳皮質を切り出した。梗塞側で発現が変動する遺伝子を、**RNA** シークエンシング法により網羅的に同定した。野生型および **Npas4** 欠損マウスを用いて、虚血時のニューロンにおける **Npas4** の役割を検討した。

#### 【研究成果】

**①脳梗塞により発現変動する遺伝子の同定** 脳梗塞手術2時間後の大脳皮質で発現が変動する **25** 遺伝子を同定した。リストのトップにある転写因子 **Npas4** は、梗塞巣を囲むような発現パターンを示し、興奮性と抑制性ニューロンの双方で発現することを見出した。

**②虚血条件における **Npas4** の発現誘導メカニズム** 分散培養したニューロンに虚血様負荷をかけて、**Ca<sup>2+</sup>**濃度の変化と **Npas4** の発現を検討した。虚血様負荷を与えたニューロンでは、処理の直後から細胞内 **Ca<sup>2+</sup>**濃度の顕著な上昇が見られ、**Npas4** の発現も増加した。各種阻害剤を用いた解析から、虚血に伴う過剰な **NMDA** 受容体の活性化により、**Ca<sup>2+</sup>**濃度が上昇して、**Npas4** の発現を誘導することが分かった。

**③脳梗塞における **Npas4** の機能解析** 虚血時の **Npas4** の役割を明らかとするため、**Npas4** 欠損マウスを用いた解析を行った。培養ニューロンを用いた解析から、**Npas4** は虚血負荷を受けたニューロンの生存を促進するのに、必要かつ十分な因子であることが分かった。さらに脳梗塞モデルを用いた解析により、**Npas4** 欠損マウスで梗塞巣のサイズが有意に拡大し、予後の運動機能も低下することを明らかとした。

以上の研究により、脳梗塞の直後に発現が誘導される転写因子 **Npas4** は、ニューロンの生存を促進し、脳の機能を守る役割を持つことが明らかとなった。今後は、**Npas4** がニューロンの生存を促進する経路を人為的に活性化して、脳梗塞の新たな治療への応用を検討していく予定である。



## 様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>国内外を問わない。</li> <li>欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2017年7月20-23日(幕張)	第40回日本神経科学学会大会 <b>Takahashi H</b> , Asahina R, Yoshihara S and Tsuboi A. Neural activity-dependent transcription factor Npas4 is required for neuroprotection and survival after stroke. 国内学会・一般講演(口頭)
2	2017年1月8-12日(アメリカ)	Keystone Symposia: Neurogenesis. <b>Takahashi H, Asahina R, Kitano T, Yoshihara S and Tsuboi A.</b> Neural activity-induced transcription factor Npas4 is required for neuroprotection and survival after stroke. 国際学会・一般講演(ポスター)
3	2016年11月30日-12月2日(横浜)	第39回日本分子生物学会 <b>Takahashi H, Asahina R, Kitano T, Yoshihara S and Tsuboi A.</b> Neural activity-induced transcription factor Npas4 is required for neuroprotection and survival after stroke. 国内学会・一般講演(ポスター) 優秀ポスター賞受賞
4	2016年7月20-22日(横浜)	第39回日本神経科学学会大会 <b>Takahashi H</b> , Yoshihara S, Ogawa Y, Asahina R, Kitano T and Tsuboi A. A specific subtype of newborn olfactory bulb interneurons is required for behaviors on odor detection and discrimination. 国内学会・一般講演(口頭)
5	2016年6月5-8日(横浜)	The 17th International Symposium on Olfaction and Taste <b>Takahashi H, Yoshihara S, Ogawa Y, Asahina R, Kitano T and Tsuboi A.</b> A specific subtype of olfactory bulb interneurons is necessary for odor detection and odor-background segregation. 国際学会・シンポジウム(口頭)
6	2016年3月28-30日(郡山)	第121回日本解剖学会総会全国学術集会 Asahina R, <b>Takahashi H</b> , Yoshihara S and Tsuboi A. 脳梗塞時に発現する神経活動依存的遺伝子 Npas4 の解析 国内学会・一般講演(口頭)
7	2016年3月2-5日(メキシコ)	2016 Fusion Conference on Neurogenesis <b>Takahashi H, Yoshihara S, Ogawa Y, Asahina R, Kinoshita M and Tsuboi A.</b> A specific subtype of newborn interneurons in the olfactory bulb is required for behaviors on odor detection and discrimination. 国際学会・一般講演(ポスター)
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	投稿準備中	<b>Takahashi H*</b> , Asahina R*, Yoshihara S and Tsuboi A (*co-first authors). Neural activity-dependent transcription factor Npas4 is required for neuroprotection and survival after stroke.
2		