



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	GABA受容体を標的とする薬理的神経制御と運動療法が脳卒中後の機能回復に与える影響 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	井上, 貴博
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(保健科学)
Dissertation Number	甲第14860号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85137
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takahiro_Inoue_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（保健科学）

氏名：井上 貴博

学位論文題名

GABA 受容体を標的とする薬理的神経制御と運動療法が脳卒中後の機能回復に与える影響

【背景】

脳卒中後の運動機能障害は、本邦のみならず世界の公衆衛生においても影響が大きく、機能回復を促進する治療戦略の開発は喫緊の課題である。今日の脳卒中リハビリテーションにおいて、運動療法は主要な治療介入となっているが、その機能回復効果は限定的である。運動介入による機能回復促進の背景にある機序の 1 つとして、身体運動に伴う神経活動依存的な可塑性修飾が挙げられる。そこで、中枢神経系において主要な抑制作用を担う GABA 受容体の薬理的阻害は、活動依存的可塑性を強化するための易興奮性コンディショニングとして期待される。本研究は、Tonic inhibition (GABA 受容体を介した持続的な抑制様式) を担う $\alpha 5\text{GABA}_A$ 受容体に着目し、3 つの研究を通して、 $\alpha 5\text{GABA}_A$ 受容体阻害の薬理的コンディショニングと運動介入の併用が、脳卒中後の機能回復に与える影響を明らかにすることを目的とした。本研究では脳卒中病型の中でも、特に、脳出血 (ICH) に焦点を当て検証を行った。

【内包損傷を伴う脳出血後の機能障害と神経栄養因子発現の特徴 (第 II 章)】

はじめに、内包損傷を伴う脳出血病態を模した IC-ICH モデルラットの機能障害と大脳皮質運動野における神経栄養因子発現の特徴について精査した。雄性 Wistar ラットを、偽手術による手術侵襲のみを与える SHAM 群 ($n = 7$) と、脳出血を誘導する ICH 群 ($n = 8$) の 2 群に割り当てた。IC-ICH モデルは、血管基底膜破壊酵素のコラゲナーゼ溶液を左線条体・内包領域に微小投与することで作成した。行動学的評価を用いて、運動機能障害、自発的活動性、不安様行動の経時的変化を、脳出血前および脳出血後 3 日から 4 週まで長期的に評価した。脳由来神経栄養因子 (BDNF) 発現は、運動機能局在の中枢である大脳皮質運動野に着目し、脳出血後 4 週目に採取した組織から mRNA 発現と蛋白発現を定量した。その結果、ICH 群では著明な運動機能障害が、脳出血後 4 週間にわたり持続することが確認された。ICH 群の自発的活動性は、脳出血後低下した後に、一時的に改善し、再び低下する所見が認められた。一方で、脳出血に起因する ICH 群の不安様行動は認められなかった。また、脳出血後 4 週目の大脳皮質運動野における BDNF 発現量は、SHAM 群と ICH 群の間に有意な群間差は認められなかった。本章で得られた結果から、IC-ICH モデルラットは、運動機能障害の長期的検証が可能であり、本研究において有用な脳出血モデルとなり得ることが示された。

【GABA 受容体を標的とする薬理的神経制御の検証 (第 III 章)】

次に、 $\alpha 5\text{GABA}_A$ 受容体の特異的阻害薬 (L-655,708) の単回投与が、中枢神経系の神経活動に与え

る影響について検証した。薬剤投与の効果を明確にするため、本章は健常ラットを対象とした。雄性 Wistar ラットを、対照群となる CON 群 (n = 6) と、L-655,708 を投与する L655 群 (n = 6) の 2 群に割り当てた。L-655,708 は 0.5 mg/kg の用量で腹腔内投与した。投与から 30 分後に行動学的評価を実施し、自発的活動性や懸念される副作用への影響について検証した。神経活動の評価には生化学的手法を用いて、神経活動の分子マーカーである最初期遺伝子の発現 (c-Fos mRNA) を各領域 (大脳皮質、海馬、脊髄) で定量した。その結果、大脳皮質運動野における L655 群の c-Fos mRNA 発現量は、CON 群と比較し有意に高値を示した。一方で、大脳皮質感覚野、海馬、脊髄における c-Fos mRNA 発現量に有意な群間差は認められなかった。行動評価において自発的活動性は、CON 群と比較し、L655 群では有意に増強した。また、行動に反映される明らかな副作用は認められなかった。本章の結果から、薬理的 $\alpha 5\text{GABA}_A$ 受容体阻害は、中枢神経系の中でも、とりわけ大脳皮質運動野の神経活動修飾を目的とした薬理的コンディショニングとなり得ることが示された。

【薬理的神経制御を伴う運動療法が脳出血後の機能回復に与える影響 (第IV章)】

最後に、ここまで得られた知見を基に、IC-ICH モデルラットに対する薬理的 $\alpha 5\text{GABA}_A$ 受容体阻害と運動介入の併用効果について検証した。雄性 Wistar ラットを、偽手術による手術侵襲のみを与える SHAM 群 (n = 8)、ICH 手術のみを行う ICH 群 (n = 8)、ICH 手術後に運動介入を行う ICH+EX 群 (n = 8)、ICH 手術後に L-655,708 投与を行う ICH+L6 群 (n = 8)、ICH 手術後に L-655,708 投与と運動介入を併用する ICH+L6EX 群 (n = 8) の 5 群に割り当てた。ICH 手術では、血管基底膜破壊酵素のコラゲナーゼ溶液を左線条体・内包領域に微小投与した。L-655,708 は 0.5 mg/kg の用量で腹腔内投与し、ICH+L6EX 群への投与は運動介入の 10-15 分前に行った。運動介入は、トレッドミルを用いて走行速度 12 m/min の中等度強度で、1日 30 分間の運動介入を実施した。各介入は、脳出血後 1 週から 4 週までの計 3 週間とし、1回/日、5日/週の頻度で実施した。最終介入の 24 時間後に、大脳皮質運動野および脊髄の組織採取を行い、各領域における脳由来神経栄養因子 (BDNF)、軸索発芽マーカー (GAP-43)、シナプスマーカー (Synaptophysin)、成長阻害因子 (Nogo-A) の発現量を定量した。その結果、ICH+L6 群と ICH+EX 群の機能回復は限定的であるが、併用介入を行った ICH+L6EX 群においては、脳出血後の機能回復が効果的に促進されることが示された。ICH+L6 群では大脳皮質 BDNF 発現、脊髄 BDNF 発現、脊髄 GAP-43 発現の増強が認められた。これに加えて、ICH+L6EX 群の脊髄においては、Synaptophysin および Nogo-A の発現増強が認められた。

【考察・結論】

大規模な臨床調査から、内包損傷がある場合、身体機能障害の予後が不良となることが示されているため、IC-ICH モデルラットの著明な運動機能障害の持続は、実際の臨床病態を的確に反映していることが示唆された。 $\alpha 5\text{GABA}_A$ 受容体阻害薬による薬理的介入は、長期的に実施することで、大脳皮質のみならず中枢神経系の幅広い領域への波及性が期待されるが、 $\alpha 5\text{GABA}_A$ 受容体阻害薬のみでは、脳出血後の機能回復効果は乏しいと考えられる。そのため、併用する運動介入の存在が重要であり、第IV章の結果からは、各介入を併用することにより脳出血後の機能回復効果が増強することが明らかとなった。さらに、併用介入による機能回復の背景には、大脳皮質における可塑性修飾だけでなく、出血病巣から離れた脊髄における軸索発芽やシナプス形成、さらには成長阻害因子による神経回路の安定化なども関与していることが示唆された。本研究は、 $\alpha 5\text{GABA}_A$ 受容体を標的とする薬理的神経制御と運動療法の併用が、脳卒中後の機能回復を促進する新たな治療戦略の 1 つとなり得る可能性を示した。