

**【目的】**脳卒中後の機能回復には、失われた機能を代償する神経回路の再構築が必要であると考えられているが、具体的にいつ、どのような神経回路が構築されることが機能回復に必要なのかは分かっていなかった。また、神経回路再構築の分子メカニズムに関しても未解明であった。そこで我々は、脳梗塞モデルマウスを用いて、大脳新皮質の局所的な脳梗塞後にどのような神経回路が再構築されるのか、皮質領野間の神経回路構造変化を明らかにすることを目指した。また、神経回路再構築が起こる際に働く遺伝子を解析することで、神経回路再構築の分子メカニズム解明を目指した。分子メカニズムとしては、神経回路再構築において中心的役割を担うマスター転写因子の同定と、脳梗塞後の炎症から神経修復への切り替えにおいて重要な役割を担うと考えられる細胞外の脂肪酸代謝物に注目して研究を行った。

**【方法】**Photothrombosis 法による大脳新皮質の局所的な脳梗塞あるいは中大脳動脈の閉塞による脳梗塞モデルマウスを用いて実験を行った。大脳新皮質の興奮性神経細胞特異的にカルシウム感受性蛍光タンパク質 GCaMP6f を発現するマウスを用いて、大脳新皮質全域の広域カルシウムイメージングを行った。イソフルラン麻酔下の自発神経活動を計測し、神経活動の相関から皮質領野間の機能的結合強度を見積もった。脳梗塞周囲の組織から FACS によって単離した神経細胞から RNA あるいはゲノム DNA を抽出し、次世代シーケンスによって遺伝子発現やオープンクロマチン領域の解析を行った。

**【結果】**広域カルシウムイメージングによる皮質領野間の機能的結合解析の結果、脳梗塞によって低下した皮質領野間の機能的結合は、脳梗塞 2~3 週間後に回復が見られ、梗塞巣周囲をハブとする結合に増強が見られた。リハビリテーションによって機能的結合の増強が起こったことから、脳梗塞後に活動依存的に皮質領野間の結合が強化されることが機能回復に重要であることが示唆される。脳梗塞後に発現増加する遺伝子を RNA-Seq によって解析した結果、および脳梗塞後にクロマチンがオープンになるゲノム領域を ATAC-Seq によって解析した結果から、脳梗塞後の神経修復で働く転写因子を複数同定した。それら転写因子を Neuro2a 培養細胞に強制発現させた結果から、神経修復で中心的役割を担っている転写因子の候補を見出した。脳梗塞後におけるホスホリパーゼの発現および *Pla2* ノックアウトマウスの解析から、*Pla2g2e* によって産生される脂肪酸代謝物が脳梗塞後の機能回復に重要であることが示された。この脂肪酸代謝物によって発現誘導される *Padi4* 遺伝子の役割を次世代シーケンス解析によって検証したところ、*Padi4* が修復性の神経細胞サブタイプの誘導に重要である可能性が示された。

単離した神経細胞から次世代シーケンス解析を実施

