

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：32104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16365

研究課題名(和文) 第一次運動野損傷後の運動機能回復と共に生じる大規模な神経回路再編成

研究課題名(英文) Large-scale reorganization of neural circuit after primary motor cortical lesion and recovery

研究代表者

山本 竜也 (Yamamoto, Tatsuya)

つくば国際大学・医療保健学部・助教

研究者番号：60724812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：マカサル第一次運動野損傷後に腹側運動前野で生じる機能代償がどのような神経回路編成により制御されるのかを検証するために、解剖学的トレーサーを用いて腹側運動前野ニューロンの投射先を健常個体と損傷後機能回復個体との間で比較したところ、前者よりも後者の方が赤核や小脳核(特に室頂核)へと向かう腹側運動前野ニューロン数が有意に高かった。損傷後に腹側運動前野からの投射を受ける室頂核ニューロンは、主にaldolase C 陰性領域(体性感覚情報処理への関与が示唆されている領域)であった。本研究結果は赤核や小脳核へと投射する腹側運動前野出力経路の増加が第一次運動野損傷後の運動機能回復に寄与することを示唆する。

研究成果の概要(英文)： Previous studies have shown a pivotal role of the ventral premotor cortex (PMv) in an animal model with a focal lesion of the primary motor cortex (M1) and recovery of hand movements. I found potential reorganization of PMv projections to subcortical structures in the chronic stage of M1-lesioned rhesus macaque monkey. The subcortical connections of PMv were compared between two groups of the M1-lesion and motor recovery animals and the intact animals by using biotinylated dextran amine (BDA). Lesion-recovery group showed higher numbers of BDA-labeled axons in red nucleus and deep cerebellar nuclei (particularly, the fastigial nucleus) than in the intact. In the fastigial nucleus, the BDA-labeled terminals were mainly located in the middle to caudal part with no or little expression of aldolase C, supposed to be a somatosensory region. These results suggest that the dynamic increase of PMv projections to cerebellar and red nucleus underlies long-term motor recovery after M1 lesion.

研究分野：神経科学

キーワード：リハビリテーション 脳の可塑性 神経回路 運動麻痺 機能回復 霊長類

## 1. 研究開始当初の背景

第一次運動野は大脳皮質と脊髄とを結ぶ皮質脊髄路ニューロンを豊富に含む領域である。この領域に損傷を受けると運動麻痺が生じる。しかし、このような麻痺は回復することがある。マカクサルを用いた行動・脳領域（脳機能画像解析法・電気刺激法）レベルの解析により、第一次運動野や皮質脊髄路を損傷した後にリハビリ訓練を行うと、手指の把握運動（特に手の巧緻性）が回復すること、また、その背景に大脳皮質運動関連領域（特に腹側運動前野）による機能代償があることが明らかにされていた<sup>1-2</sup>。また、本研究代表者は手の巧緻性が高い個体の皮質脊髄路細胞<sup>3</sup>や $\alpha$ 運動ニューロン<sup>4</sup>で特異的に発現する遺伝子が、損傷後に機能回復したマカクサルの腹側運動前野にて発現上昇することを報告していた<sup>5</sup>。これらの知見は、損傷を受けた経路自体が再生しなくても、直接的な損傷の影響を免れた他の大脳皮質運動関連領域が代償的に機能することにより運動機能が回復することを示唆する。しかし、このような機能代償がどのような神経回路基盤により制御されているのかに関しては不明な点が多かった。

## 2. 研究の目的

本研究では、組織学的手法を用いて、腹側運動前野ニューロンの投射先を健常マカクサルと運動機能回復後の第一次運動野損傷マカクサルとの間で比較することにより、損傷後に生じる機能代償がどのような神経回路の再編成により実現されているのかを明らかにする。次に、シナプスマーカー分子を用いて、損傷後の腹側運動前野ニューロンと新たな投射先であるニューロンとの間に機能的なシナプス結合が形成されていることを確認する。最後に、各中枢神経系領域内の区分に関与するマーカー分子を用いて、損傷後に腹側運動前野ニューロンはどのような性質を持つニューロンと新たなシナプスを形成するのかを検証する。

## 3. 研究の方法

損傷前に精密把握課題を成体マカクサルに学習させる。皮質内微小刺激により第一次運動野の手領域を同定する。その後、神経毒（イボテン酸）を第一次運動野（手領域）に注入し、不可逆的な損傷を作成する。運動麻痺モデルサルに対して、把握運動課題を用いたリハビリテーション訓練を行う。行動解析により、損傷後の機能回復過程を記録する。

腹側運動前野ニューロン投射を可視化させるために、手の巧緻性が損傷前と同程度レベルにまで回復する損傷後3ヶ月に、解剖学

的トレーサー (Biotinylated dextran amine : BDA) を腹側運動前野に注入する。比較のために、健常マカクサルの腹側運動前野にも解剖学的トレーサーを注入する。トレーサー注入1ヶ月後に、脳を取り出し、解剖学的トレーサー可視化キットを用いて腹側運動前野ニューロンの投射先を同定する。投射先のニューロンとのシナプス結合やそのニューロンの特徴を検証するために、シナプスマーカー分子や領域区分マーカー分子を用いた組織学的な解析を行う。また、各個体における第一次運動野損傷領域と解剖学的トレーサー注入領域の大きさをそれぞれ神経細胞体染色 (Nissl 染色) とトレーサー染色 (アビジン/ビオチン) 染色により確認する。

## 4. 研究成果

第一次運動野損傷後に全ての個体で運動麻痺が生じたが、その後、リハビリテーション訓練と共に、手指の把握運動機能が回復した。損傷2ヶ月後に、把握運動機能は損傷前と同程度レベルにまで回復した。このような回復パターンは先行研究での結果と類似するものである<sup>2</sup>。

損傷が第一次運動野（手領域）に作成されていたことを神経細胞体染色により確認した。損傷領域では神経細胞体の脱落やグリア細胞の増生を認めた。また、前頭葉連続切片においてトレーサー染色を行ったところ、概ね全てのトレーサー注入領域 (Core 領域) が腹側運動前野の中で観察された。これらの結果は、第一次運動野（手領域）の損傷および腹側運動前野への解剖学的トレーサー注入が概ね成功していたことを示す。

健常・損傷マカクサル共にトレーサー陽性軸索は様々な中枢神経系領域にて観察された。両者における顕著な違いは赤核および小脳核 (図1) において観察され、第一次運動野損傷後の機能回復個体では腹側運動前野から赤核 (大細胞部) および小脳核 (室頂核・挿入核・歯状核) への投射が顕著に観察されたが、健常個体では乏しかった。定量解析の結果、小脳核の中でも特に損傷同側半球の室頂核において、両者の間に有意な差が認められた。これらの結果は、損傷後に新たに形成された腹側運動前野から小脳核・赤核へと投射する経路が第一次運動野損傷後の運動機能回復に寄与することを示唆する。

損傷後の腹側運動前野ニューロンと室頂核ニューロンとの間にシナプス結合が形成されていることを確認するために、解剖学的トレーサーとシナプスマーカー分子 (Synaptophysin など) を用いた蛍光多重染色を行ったところ、両者の多重染色像が室頂

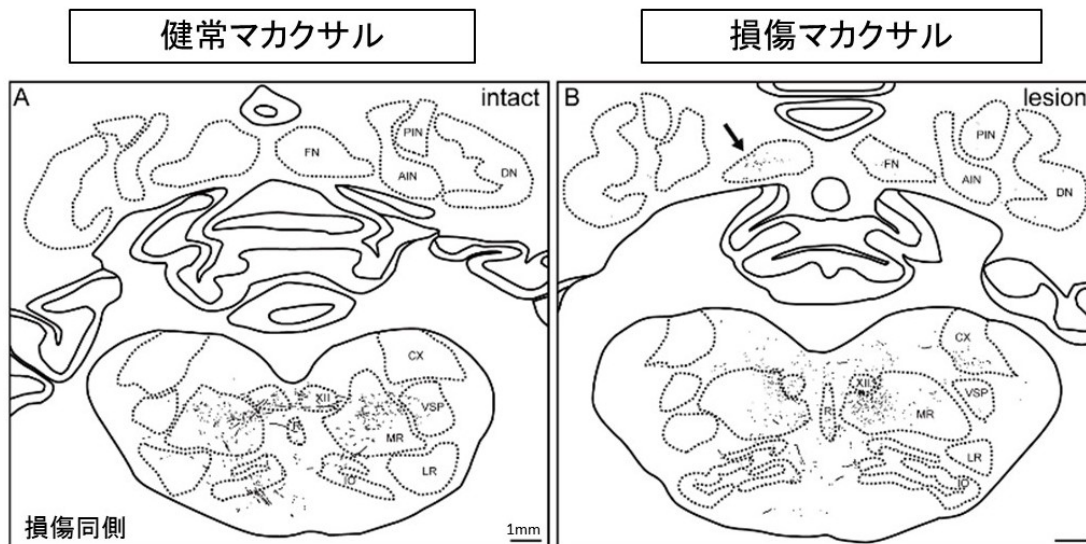


図1. 小脳核への腹側運動前野ニューロン投射  
 損傷個体では腹側運動前野ニューロン軸索が小脳核(特に室頂核)で顕著に観察された(矢印)。  
 小さな黒い実線は腹側運動前野ニューロンの軸索を示す。

核ニューロン上に観察された。この結果は、第一次運動野損傷後に腹側運動前野ニューロンと室頂核ニューロンとの間に機能的なシナプス結合が形成されていたことを示唆する。

第一次運動野損傷後の腹側運動前野ニューロン投射を受ける室頂核ニューロンの特徴を検証するために、小脳や小脳核の区分に関与するマーカー分子 (Aldolase C など) を用いた組学的解析を行ったところ、腹側運動前野ニューロン終末は室頂核の中でも Aldolase C の発現が弱いまたは認められない領域で観察された。Aldolase C 陰性領域は体性感覚情報処理への関与が示唆されている領域である<sup>6</sup>。Dancause ら<sup>7</sup>は、第一次運動野(手領域)損傷後に腹側運動前野から第一次体性感覚野に投射する経路が増加することを報告している。これらの結果を踏まえると、第一次運動野損傷後の機能回復には体性感覚情報処理の変化が重要な役割を担っている可能性がある。

損傷後に再構築される各経路がどのような機能を担うのかについては今後さらなる検証が必要である。本研究結果は第一次運動野(手領域)という局所的な損傷が引き金であるにもかかわらず、中枢神経系全体を巻き込むような大規模な神経回路再編成が生じることを示すものである。このような知見は、脳の可塑性を理解するうえで、また、臨床リハビリテーションにおけるエビデンスを確立するうえで重要な基礎的資料になる。さらに、本研究成果の発展により、脳損傷後の機能回復技術の開発に繋がることが期待される。

<引用文献>

- ① Dancause N, Barbay S, Frost SB, Zoubina EV, Plautz EJ, Mahnken JD, Nudo RJ, Effects of small ischemic lesions in the primary motor cortex on neurophysiological organization in ventral premotor cortex, *Journal of Neurophysiology*, 96(6), 2006, 3506-11
- ② Murata Y, Higo N, Oishi T, Yamashita A, Matsuda K, Hayashi M, Yamane S, Effects of motor training on the recovery of manual dexterity after primary motor cortex lesion in macaque monkeys, *Journal of Neurophysiology*, 99(2), 2008, 773-86
- ③ Higo N, Sato A, Yamamoto T, Nishimura Y, Oishi T, Murata Y, Onoe H, Yoshino-Saito K, Tsuboi F, Takahashi M, Isa T, Kojima T, SPP1 is expressed in corticospinal neurons of the macaque sensorimotor cortex, *Journal of Comparative Neurology*, 518(13), 2010, 2633-44
- ④ Yamamoto T, Higo N, Sato A, Nishimura Y, Oishi T, Murata Y, Yoshino-Saito K, Isa T, Kojima T, SPP1 expression in spinal motor neurons of the macaque monkey, *Neuroscience Research*, 69(1), 2011, 81-6
- ⑤ Yamamoto T, Oishi T, Higo N, Murayama S, Sato A, Takashima I, Sugiyama Y, Nishimura Y, Murata Y, Yoshino-Saito K, Isa T, Kojima T, Differential Expression of Secreted Phosphoprotein 1 in the Motor Cortex among Primate Species and during Postnatal Development and Functional Recovery, *Plos One*, 8(5), 2013, e65701

- ⑥ Sugihara I, Compartmentalization of the deep cerebellar nuclei based on afferent projections and aldolase C expression, *Cerebellum*, 10, 2011, 449-463.
- ⑦ Dancause N, Barbay S, Frost SB, Plautz EJ, Chen D, Zoubina EV, Stowe AM, Nudo RJ, Extensive cortical rewiring after brain injury. *The Journal of neuroscience*, 25, 2005, 10167-10179.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① Higo N, Sato A, Yamamoto T, Oishi T, Nishimura Y, Murata Y, Onoe H, Isa T, Kojima T, Comprehensive analysis of area-specific and time-dependent changes in gene expression in the motor cortex of macaque monkeys during recovery from spinal cord injury, *The Journal of comparative neurology*, 査読有, 526(7), 2018, 1110-1130  
DOI: 10.1002/cne.24396
- ② Yamamoto T, Murayama S, Takao M, Isa T, Higo N, Expression of secreted phosphoprotein 1 (osteopontin) in human sensorimotor cortex and spinal cord: Changes in patients with amyotrophic lateral sclerosis, *Brain research*, 査読有, 1655, 2017, 168-175  
DOI: 10.1016/j.brainres.2016.10.030

[学会発表] (計6件)

- ① 山本 竜也、村田 弓、肥後 範行、脳損傷後の運動機能回復に伴う可塑的变化、第50回 日本生理学会大会 日本理学療法士協会連携企画シンポジウム、2018
- ② Yamamoto T, Hayashi T, Murata Y, Onoe H, Higo N, Increased projections from the ventral premotor cortex to the aldolase-C-negative compartment of fastigial nucleus after primary motor cortex lesion in macaque monkeys, 第40回 日本神経科学大会, 2017
- ③ Yamamoto T, Hayashi T, Murata Y, Onoe H, Higo N, Increased projections from ventral premotor cortex to deep cerebellar nucleus after primary motor cortex lesion in macaque monkeys, 10<sup>th</sup>

FENS Forum of Neuroscience, 2016

- ④ 山本竜也、林拓也、村田弓、尾上浩隆、肥後範行、マカクサル第一次運動野損傷後の機能回復に伴う神経回路再編成 ～腹側運動前野から赤核へと向かう経路～、第51回 日本理学療法学会、2016

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

山本 竜也 (Yamamoto, Tatsuya)  
つくば国際大学・医療保健学部・助教  
研究者番号：60724812

##### (2) 研究協力者

吉田 由子 (Yoshida, Yuuko)