

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H01810

研究課題名(和文) 感性・意欲・情動系神経ネットワークを駆動する運動プライミングの神経基盤の解明

研究課題名(英文) Kansei, motivation and emotion-related neural networks underlying motor priming

研究代表者

高島 一郎 (Takashima, Ichiro)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・情報・人間工学領域・上級主任研究員

研究者番号：90357351

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,900,000円

研究成果の概要(和文)：腹側被蓋野およびマイネルト基底核を電気刺激し、ドーパミンおよびアセチルコリン神経系の賦活化が運動学習機能に与える影響を解析した。ラダー歩行運動中の腹側被蓋野への電気刺激がステップ踏み外しを減少することや、パーキンソン病モデルの運動野皮質への経頭蓋直流電気刺激が左右前肢使用の非対称性を小さくすることなどが明らかになった。また、マイネルト基底核から前頭葉皮質へのトポグラフィカルな投射様式が存在することや、マイネルト基底核の後方部の賦活化が脳損傷後の感覚運動野の過活動を抑制する働きが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではドーパミンを脳内に放出する起始核の賦活化が歩行運動のパフォーマンス向上に寄与することや、脳損傷後の感覚異常をコリン神経核の賦活化により正常化できる可能性が示された。非侵襲的な介入手段である経頭蓋直流電気刺激に関しても、病態モデルで運動機能の改善効果が検証された。今回の研究では、報酬系の活性化など運動プライミングの背景で働く神経回路機能の一端を明らかにすることができ、今後のニューロリハビリテーション技術開発に応用し得る新しい知見を提供することができた。

研究成果の概要(英文)：To elucidate effects of dopaminergic and cholinergic activation on motor learning, we analyzed motor performance and cortical activity during electrical stimulation to the ventral tegmental area (VTA) or to the nucleus basalis of Meynert (NBM). Using the horizontal ladder task, it was found that VTA activation improved stepping performance (foot fault score) of rats. Transcranial direct current stimulation (tDCS) over the motor cortex restored the left-right motor imbalance in rat model of Parkinson's disease. Furthermore, topographical mapping between the NBM and frontal cortex was determined, and electrical stimulation to the posterior part of the NBM was found to suppress excessive sensorimotor activity in the damaged brain. These findings may provide insight for future development of neurorehabilitation.

研究分野：脳機能イメージング、ニューロモジュレーション

キーワード：運動学習 リハビリテーション ドーパミン アセチルコリン ニューロモジュレーション

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 脳損傷後の機能回復には、中枢神経ネットワークの再構築が必要であり、この脳の可塑的变化を、科学的知見に基づき効率よく誘導するニューロリハビリテーション技術の研究が進められていた。運動リハビリに伴う脳の変化を、脳機能イメージングにより画像的に捉え、また、非侵襲的な脳刺激法(電氣的/磁氣的)の効果を検証する臨床データも蓄積されつつあった。しかしその一方、多くのリハビリ現場では、個人差や環境の影響が大きいこともあり、エビデンスよりも経験則を重視する治療法もまた依然有効な理論として併存していた。例えば、やる気の高い患者の方が良好な機能回復を示すことが現場ではよく知られていて、リハビリに意欲を持たせる工夫が行われていたが、脳科学的には、脳の中のやる気を司る領域と運動を司る領域を結び付ける神経回路についてはほとんど何も分かっていなかった。

(2) 申請者らはラットを用いた実験により、腹側被蓋野の賦活化が一次運動野の神経活動を調節することで、結果的に上肢の筋活動を亢進あるいは抑制する現象を報告した(Kunori et al., 2014)。腹側被蓋野ドーパミン神経細胞の活動は、報酬やモチベーションに相関していることがよく知られていたため(Schultz, 1998)、やる気や意欲に関わる神経ネットワークの駆動が、運動出力の生成に深く関与している可能性が考えられた。また、ドーパミン神経系(腹側被蓋野)による運動出力(一次運動野)の調整は、両者の活動タイミング依存的に実現されていることも報告された(Kunori et al., 2016)。ただし、意欲の神経系が、運動の抑制/亢進という両極性の制御を行う必然性については不明のままであった。

(3) 運動プライミングは意識に上らない潜在学習であり、リハビリテーションの分野でその効果が注目されていた(Stoykov et al., 2015)。ミラーセラピー等、視覚情報を利用して運動動作のイメージを作り出させることなどが運動プライミングの代表であるが、その枠組みを拡大し、脳への直接電気刺激や薬物投与を含む脳への操作により、運動野皮質の可塑性を高め、運動学習能力を向上させる介入操作もまた運動プライミングの一形態として着目されるようになっていた。脳内には、運動プライミングを行う経路が多重に準備されており、特に、感性・意欲・情動系神経ネットワークを駆動するパスに関しては、ドーパミンやアセチルコリンの作用機序を含め、その神経基盤の解明が待たれていた。

2. 研究の目的

リハビリテーションの現場で採用される運動療法には、運動プライミングのように無意識の潜在学習を行わせるもの、「褒める」コミュニケーションで報酬系の活性化を図るものなど科学的な根拠が乏しくても経験的に極めて有効とされる論理が存在する。そこで本研究は動物実験により、運動学習時に感性・意欲・情動系神経ネットワークを駆動する脳への操作が、運動学習や運動機能回復に有効に作用することを証明し、ドーパミン系やコリン系の賦活化が、運動学習中の運動野皮質の活動性をどのようにモジュレートするのかを明らかにする。リハビリテーション現場に対し、報酬・情動系のドライブによって運動野がプライミングされるという科学的なエビデンスを提供すると共に、今後のニューロリハビリテーション技術開発に応用し得る新しい知見を得ることを研究の目的とする。

3. 研究の方法

(1) マイネルト基底核の電気刺激と皮質応答の解析

麻酔下ラットのマイネルト基底核に電極を刺入し、露出した前頭皮質から局所フィールド電位(LFP)を記録した。電極先端がターゲット神経核に置かれていることは、100Hz のバースト刺激により、皮質 LFP に脱同期化が起こることで確認した。前頭皮質を膜電位感受性色素(RH-795)で染色した後、単一パルス刺激(Duration 0.3ms, Current 0.15mA)に対する皮質神経応答を記録した。また、マイネルト基底核の電気刺激が、前肢感覚応答に与える影響を解析した。

ラットのマイネルト基底核に免疫毒素 192IgG サボリンを投与し、アセチルコリン作動性ニューロンを選択的に脱落させたモデル動物を作成した。モデル動物の前肢への機械刺激に対する逃避行動や歩行等の運動機能への影響を解析した。さらに、体性感覚皮質における神経活動の変化を、皮質 LFP 記録およびイメージング手法を用いて解析した。

(2) 直流電気刺激と遠隔脳部位への作用解析

麻酔下ラットの感覚運動関連皮質を露出し、一次運動野に直流電気刺激(20min, 50-250 μ A)を与えながら、前肢に感覚刺激(0.4mA, 1.0ms, 1-min ISI)を与え、一次および二次運動野皮質から神経応答の LFP 記録ならびに膜電位イメージング解析を行った。また、一次運動野に投射する視床や腹側被蓋野の細胞を逆行性に標識し、直流電気刺激による活動変化をファイバーフォトメトリーによるカルシウムイメージングで解析した。

(3) 人工硬膜を用いた長期間の膜電位イメージング

従来の膜電位イメージング法では、脳機能回復に伴う皮質神経活動の変化を経時的に追跡して解析することが困難であった。そこで、コラーゲン膜を人工硬膜として利用する手法を開発した。感覚運動野皮質を露出し、脳硬膜を除去した後、露出した大脳皮質を透明なコラーゲン膜で覆って人工硬膜とし、コラーゲン膜を通して脳表の神経活動の光学測定を可能とするチェンバーを頭蓋に設置し、運動課題遂行中の神経活動変化の長期間イメージングを試みた。

(4) 運動課題中の脳電気刺激

ラットの腹側被蓋野に同心円電極を留置し、水平ラダー歩行運動課題を行わせた。水平ラダー

は高さ 30cm、全長 1m で、1cm 間隔に配置したラングを毎日ランダムに抜く実験操作を行った。歩行運動課題では、10 分間の歩行中にラングを踏み外す動作をビデオ撮影し、運動パフォーマンス解析を行った。腹側被蓋野への電気刺激は歩行運動中に 0.2Hz および 2Hz で与えた(単一パルス刺激: Duration 0.6ms、Biphasic 50%、Current 0.3mA)。また、6-ヒドロキシドーパミンを線条体に投与してパーキンソン病モデルラットを作成し、同様の実験を行った。

パーキンソン病モデルラットにおいては、シリンドertestを行い、立ち上がり動作時の四肢使用非対称の程度を解析した。モデルラットの感覚運動野皮質上の頭蓋にシート状電極を留置し、シリンドertest前に 20 分間の経頭蓋直流電気刺激(Current 0.1mA)を行うことで、非対称性に変化が見られるかを調べた。紫外線による局所的な脳損傷作成手法を利用し、運動野に損傷を作成したモデル動物でも同様の実験を行った。

(5) in vitro 脳標本による解析

モルモットの全脳標本やマウスのスライス脳標本を利用し、腹側線条体など辺縁系 - 運動系のインターフェースとして機能する可能性のある脳領域の神経回路解析を行った。全脳標本では、疑似嗅覚刺激として外側嗅索に電気刺激(単発および繰返し刺激)を行い、腹側線条体、扁桃体、海馬、海馬周辺皮質に惹起される神経応答を、電気化学的、電気生理学およびイメージング手法を併用して解析した。スライス標本では、薬理実験により神経回路機能を詳細に解析した。

4. 研究成果

(1) マイネルト基底核の損傷と皮質応答の変化

運動野皮質に惹起される神経興奮を膜電位イメージング法により解析した結果、マイネルト基底核の後方部への刺激が、より効率的に運動野皮質活動を調節するという機能的投射の存在が明らかになった(Nagasaka et al., 2017)。次に、マイネルト基底核の電気刺激を行い、その直後、前肢への感覚刺激によって感覚運動野皮質に惹起される神経活動の膜電位イメージングを行った結果、マイネルト基底核の賦活化が、感覚運動野皮質における感覚応答を抑制し、感覚情報表現をフォーカルにしている可能性が明らかになった。

マイネルト基底核のコリン投射神経細胞を破壊したモデル動物を用いた実験では、前肢への感覚刺激に対する皮質応答の大きさおよび空間的広がりが拡大していることが明らかになった。この感覚応答の増強は皮質へのアセチルコリン受容体作動薬の投与で正常化した。また、本モデル動物の感覚過敏の症状については行動実験の結果からも検証された。以上の実験結果より、マイネルト基底核への電気刺激といった介入操作により、感覚フィードバックの正常化を介して運動学習機能を亢進するという可能性が見出された。

(2) 直流電気刺激による遠隔作用の解析

感覚運動野皮質に直流電気刺激を加えながら、ラット前肢に感覚刺激を与えた際の、一次および二次運動野における神経応答記録の結果を図 1 に示す。経頭蓋直流電気刺激が電極直下の皮質と繊維結合を持つ脳深部の意欲や情動系の神経ネットワークに作用する可能性(fMRI の研究報告)を検証するため、ここでは直接の神経伝達をイメージング法で捉えられる 2 つの運動野皮質を測定対象とした。刺激電極の直下の一次運動野では、直流刺激中(図中のグレー背景期間)に神経応答が大きくなること(図 1 上)や、時間経過に従い徐々に神経活動が高まる長期増強現象が確認されたが、直流刺激を与えた一次運動野と神経結合を持つ二次運動野皮質にまではその効果が及ばないこと(図 1 下)が明らかになった。近接する皮質領域間でリモートアクティベーションの効果が低いというのは予想外の結果であった(Kunori & Takashima, 2019a)。しかしその後、電極配置など刺激条件を変更し、皮質下神経核への遠隔作用を調べた解析により、運動性視床などでカルシウムシグナルの上昇が確認された。

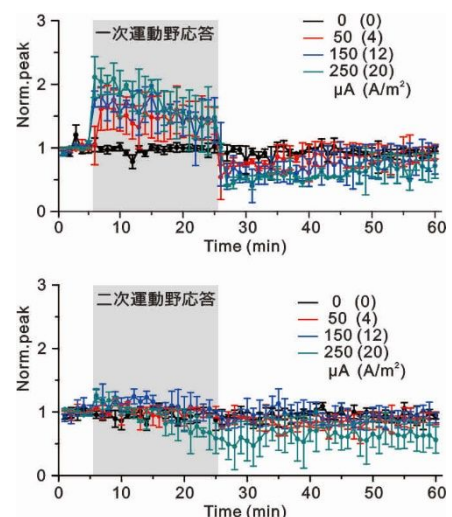


図 1 直流電気刺激の遠隔作用

(3) 運動学習に伴う脳活動の経時イメージング

人工硬膜として透明なコラーゲン膜を底面に設置した円筒状のチャンバー(図 2 左)をラットの感覚運動野皮質上に設置し、コラーゲン膜を通して脳を膜電位感受性色素で染色した。図 2 中央の脳表写真は、コラーゲン膜の移植直後、および一週間後の脳表の状況であり、運動課題訓練期間を通して脳表を良好な状態に保護することができた。図 2 右は、上肢の感覚刺激に対する感覚応答の膜電位イメージングによる結果を示す。一週間に渡って、運動プライミングに伴う脳活動の変化を、イメージング解析することが可能となった(Kunori & Takashima, 2019b)。

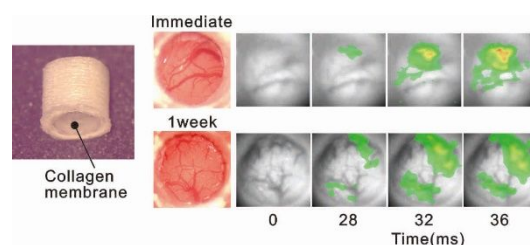


図 2 脳活動変化の長期間イメージング

(4) 運動課題中の脳電気刺激の効果

健常ラットの腹側被蓋野に電気刺激を行い、水平ラダー歩行運動中に動物がステップを踏み外す回数等の運動パフォーマンスをビデオ解析した結果、運動学習中に電気刺激を与えた群において、歩行運動パフォーマンスに有意なスコア向上が確認された。電気刺激頻度は0.2Hzより2Hzの方が効果は高かった。このことから、腹側被蓋野への電気刺激が歩行運動学習のパフォーマンス向上に有効に作用している可能性が示唆された。その一方、パーキンソン病(PD)モデルラットでは、運動障害が発生した側の前肢において、歩行時のラダーグリップが不安定であることが確認され、腹側被蓋野に電気刺激を行った際にグリップ動作の改善を期待したが、その効果は見られなかった。しかし、パーキンソン病モデルラットの四肢機能をシリンダーテストで評価した実験の結果では、5日間の介入操作(経頭蓋直流電気刺激)により、左右前肢使用の非対称性が小さくなること、そしてその効果が数日間維持されることが確認された(図3)。

(5) 嗅覚関連皮質のネットワーク解析

全脳標本を用いた実験から、外側嗅索の電気刺激が高次嗅覚皮質、腹側線条体の他、脳底の広範な辺縁系皮質に神経興奮を惹起する様子が膜電位イメージング法により捉えられた。現時点では、神経興奮と相関する一過性の乳酸シグナル変動や、嗅周囲皮質/嗅内皮質ネットワークの可塑性に遅延性不活性化カリウム電流の関与を示す結果が得られており、運動系神経ネットワークとの関連性についての解析を進めている。

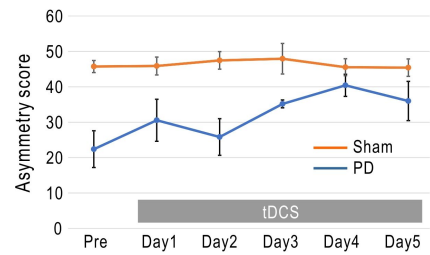


図3 tDCSによるPDモデルラット前肢使用非対称性の改善

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

| | |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名 Kunori Nobuo, Takashima Ichiro | 4. 巻 1720 |
| 2. 論文標題 Evaluation of acute anodal direct current stimulation-induced effects on somatosensory-evoked responses in the rat | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Brain Research | 6. 最初と最後の頁 146318 ~ 146318 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brainres.2019.146318 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Kunori Nobuo, Takashima Ichiro | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 An Implantable Cranial Window Using a Collagen Membrane for Chronic Voltage-Sensitive Dye Imaging | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Micromachines | 6. 最初と最後の頁 789 ~ 789 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi10110789 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Nagasaka Kazuaki, Watanabe Yumiko, Takashima Ichiro | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 Topographical projections from the nucleus basalis magnocellularis (Meynert) to the frontal cortex: A voltage-sensitive dye imaging study in rats | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Brain Stimulation | 6. 最初と最後の頁 977 ~ 980 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brs.2017.06.008 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Watanabe Y, Nik-Mohd-Afizan NAR, Takashima I | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Safety of anodal transcranial direct current stimulation with respect to blood-brain barrier permeability in the rat | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Current Neurobiology | 6. 最初と最後の頁 34 ~ 39 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |

| | |
|--|--------------------|
| 1. 著者名 Mariko Nakata, Kazuaki Nagasaka, Masayuki Shimoda, Ichiro Takashima, Shinya Yamamoto | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Focal brain lesions induced with ultraviolet irradiation | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 7968 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-26117 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

[学会発表] 計19件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shinnosuke Dezawa, Kazuaki Nagasaka, Yumiko Watanabe, Ichiro Takashima |
| 2. 発表標題 Modulation of somatosensory evoked potential by cholinergic basal forebrain in rat |
| 3. 学会等名 Neuro 2019, The 42th Annual Meeting of Japan Neuroscience Society |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Riichi Kajiwara, Yoko Tominaga, Takashi Tominaga |
| 2. 発表標題 D-current related plasticity in the perirhinal-entorhinal network: a voltage-sensitive dye imaging in mouse brain slices |
| 3. 学会等名 Neuro 2019, The 42th Annual Meeting of Japan Neuroscience Society |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 出澤、長坂、渡辺、高島 |
| 2. 発表標題 前脳基底部刺激による感覚皮質神経応答の調節 |
| 3. 学会等名 第56回日本リハビリテーション医学会学術集会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Nobuo Kunori, Ichiro Takashima |
| 2. 発表標題 An implantable cranial window using a collagen membrane for chronic voltage-sensitive dye imaging |
| 3. 学会等名 The 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Ryota Tamura, Nobuo Kunori, Ichiro Takashima |
| 2. 発表標題 Effect of transcranial direct current stimulation to M1 on subcortical neural activity |
| 3. 学会等名 The 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Y.Watanabe, H.Takei, K.Nagasaka, I.Takashima |
| 2. 発表標題 Hippocampal-prefrontal plasticity with transcranial direct current stimulation |
| 3. 学会等名 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 兵藤、長坂、山田、岩崎、高島、梶原 |
| 2. 発表標題 慢性疼痛を生み出す大脳皮質神経回路の膜電位イメージング解析 |
| 3. 学会等名 第14回日本感性工学会春季大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 九里、高島 |
| 2. 発表標題 直流電気刺激が上肢感覚応答に与える影響の光学イメージング |
| 3. 学会等名 第25回脳機能とリハビリテーション研究会学術集会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 出澤、長坂、渡辺、高島 |
| 2. 発表標題 ラットマイネルト核への連発電気刺激が誘発する前頭葉の神経活動解析 |
| 3. 学会等名 第25回脳機能とリハビリテーション研究会学術集会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|----------------------------------|
| 1. 発表者名 九里、梶原、高島 |
| 2. 発表標題 モチベーションの脳内機構による運動出力制御 |
| 3. 学会等名 第8回日本情動学会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 九里、高島 |
| 2. 発表標題 The effect of the cortical DC stimulation on the sensory responses in the S1 and M2 of the rats |
| 3. 学会等名 第41回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 出澤、長坂、渡辺、高島 |
| 2. 発表標題 Stimulation of basal forebrain modulates somatosensory evoked potential in rat dorsal frontal cortex |
| 3. 学会等名 第41回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 後藤、長坂、高島、山本 |
| 2. 発表標題 Effects of brain temperature on cortical evoked potentials |
| 3. 学会等名 第41回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 九里、高島 |
| 2. 発表標題 The effect of the cortical DC stimulation on the sensory responses in the rats |
| 3. 学会等名 SICEライフエンジニアリング部門シンポジウム |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 M.Izzat, I.Takashima, H.Kudo, R.Kajiwara |
| 2. 発表標題 Real-time electrochemical monitoring of lactic-acid released from an in vitro mouse brain slice preparation |
| 3. 学会等名 Society for Neuroscience (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 渡辺、出澤、長坂、高島 |
| 2. 発表標題 ラットマイネルト基底核への電気刺激が誘発する前頭皮質神経活動の解析 |
| 3. 学会等名 Symposium on Human Informatics (SHI) 2017 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|-------------------------------|
| 1. 発表者名 武井、渡辺、高島 |
| 2. 発表標題 経頭蓋電気刺激による神経可塑性の変化 |
| 3. 学会等名 第32回生体・生理工学シンポジウム |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Dezawa S, Nagasaka K, Watanabe Y, Takashima I |
| 2. 発表標題 Analysis of neural responses in rat frontal cortex evoked by single or burst stimulation of the nucleus basalis of Meynert |
| 3. 学会等名 第40回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Kunori N, Takashima I |
| 2. 発表標題 The modulation of the sensory responses of rat S1 by cortical direct current stimulation |
| 3. 学会等名 第95回日本生理学会大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------------------|--|--|----|
| 研究 分 担 者 | 梶原 利一 (Kajiwara Riichi) (60356772) | 明治大学・理工学部・専任准教授 (32682) | |