

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K11384

研究課題名（和文）脳梗塞サルにおけるBMIを用いたリハビリテーションの回復メカニズムの解明

研究課題名（英文）Neural mechanism of BMI rehabilitation in monkeys with cerebral infarction

研究代表者

梅田 達也（Tatsuya, Umeda）

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：90376723

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：マーモセットの上肢運動の回復を調べるにあたり、適切に行動評価を行う必要がある。そこで、BMIリハビリを行うリーチング課題システムを構築し、そして、マーモセットがケージから行動課題用のチェアに乗り、リーチング課題を行うトレーニング手法を確立した。その結果、2頭のサルで、40分間で600回以上、レバー引き動作を行うことができるようになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義
リーチング課題ができるマーモセットのトレーニング手法を開発したことで、上肢運動を制御する神経機構を調べる実験プラットフォームが完成した。この実験プラットフォームを活用した例として、静止時と運動時における感覚応答を記録したところ、一次体性感覚野においてのみ体性感覚情報の調節が行われているというこれまでにない結果を導き出すことができた。

研究成果の概要（英文）：In order to examine the recovery of upper limb movements in marmosets, it is necessary to conduct appropriate behavioral assessments. Therefore, we developed a reaching task system for BMI rehabilitation and established a training method in which marmosets leave their cages to perform the reaching task in a chair for the behavioral task. As a result, two monkeys were able to perform more than 600 lever pulling movements in 40 minutes.

研究分野：神経生理学

キーワード：マーモセット 皮質脳波 上肢運動

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳梗塞は重篤な運動機能障害を引き起こすが、現状のリハビリテーションの手法では回復できない症状がまだ多数ある。近年、脳活動から動作の意図を推定し、ロボットで患肢を動かしたり筋肉への電気刺激によって運動を誘発させたりすることが、従来の手法で難しかった重篤な症状でも機能回復を促進させることが報告される [Lopez-Larraz et al., 2018, NeuroRehabil.; Biasiucci et al., 2018, Nat. Comm.]。この脳と患肢を人工的な神経バイパスでつなぐ BMI リハビリは、今後の手法として大きく期待されている。一方、より効果的な手法の開発には神経基盤に基づくことが必須だが、ヒトを用いた研究しか行われていないため回復メカニズムはよくわかっていない。動物の脳梗塞モデルを用いて「BMI リハビリによる回復に伴い神経回路レベルで何が生じているか？」明らかにすることが求められている。

申請者は、ローズベンガルを静脈投与した動物に光を照射して血栓を作る光血栓生成法で、霊長類の 1 種であるコモンマームセットの一次運動野に局限して脳梗塞を作成し解析を行っている [梅田 et al., 2018, 脳卒中学会]。この脳梗塞サルは、上腕の運動機能は回復するが、指に運動障害を残したままである。運動時の皮質脳活動 (ECoG) と上腕筋活動を同時計測したところ、筋活動に先立って梗塞外領域の活動 (high gamma 帯域の大きさ) が上昇し、動作の意図を解読することに成功した。そこで、梗塞外領域の活動上昇のタイミングで指の筋肉に電気刺激することで、脳梗塞サルが指の巧緻運動の BMI リハビリを行うことが可能であると考えられる。

大脳皮質の活動に同期して脊髄を活性化すると皮質脊髄路が可塑的に増強する [Nishimura et al., 2013, Neuron] ことから、BMI リハビリでも皮質脊髄路の可塑的増強が起こっていると仮説を立てている (後述)。そこで、本研究では、「脳梗塞サルの梗塞外領域と患肢を神経バイパスでつないで機能回復させたときに、皮質脊髄路が可塑的に増強されるか？」を明らかにする。

2. 研究の目的

- ・ BMI リハビリで、脳梗塞サルの指の運動機能を回復するか、検証する。
- ・ 機能回復に伴い大脳皮質から運動ニューロンに至る経路が可塑的に増強するか、検証する。

3. 研究の方法

本研究では、(1) BMI リハビリによって巧緻運動機能が回復するか検証し、(2) BMI リハビリの神経基盤が大脳皮質 脊髄運動ニューロン間の伝達の可塑的増強である、という仮説を調べる。

BMI リハビリを行う実験群、ECoG 活動と無関係なタイミングに電気刺激を与える対照群、刺激を与えない対照群、の 3 実験を、各 3 頭用いて行う。

BMI リハビリの実践 (梗塞後 1 ヶ月間)

脳梗塞サルは、上腕を動かすことができるが、指を動かすことができない。そこで、サルに巧緻性が求められる小さなえさをとるグラスピングタスクを行わせる。サルの一次運動野・運動前野の上に ECoG 電極を、指の伸筋にワイヤー電極を埋め込む。そして、ECoG 電極が光を通すことを利用し、一次運動野に光を照射して脳梗塞を作成する。

梗塞後 1 ヶ月間、梗塞外の領域の 1 つの電極の ECoG 活動 (high gamma 帯域の大きさ) が大きくなったときに、指の伸筋に電気刺激を与える。この電気刺激で指が開きタスクの補助になると考えている。サルが脳活動の大きさから筋活動を調節できるように、ECoG 活動の大きさに比例した強度で刺激を与える。

1 年目に電気刺激を与えない対照群のデータを取得し、自然回復の基準とする。2 年目に行う BMI リハビリの実験で、タスクのパフォーマンスがこの対照群よりもいいことが神経バイパスによる効果があるという判断材料となる。1 か月間の BMI リハビリでパフォーマンスがよければリハビリ効果の機能評価へと進み、なければ BMI リハビリの期間を延ばす。

リハビリ効果の機能評価 (梗塞後 1-2 カ月)

神経バイパスなしでグラスピングタスクを行わせる。手の運動をカメラで記録し、遂行時間や指の軌跡を定量する。対照群と比較して指の巧緻機能の回復が大きいか解析する。BMI リハビリを行った 1 頭目が、電気刺激を与えない対照群と比べて機能回復の効果がない場合、次の動物から BMI リハビリの期間を延ばし、機能回復が生じるか検討する。

大脳皮質から脊髄運動ニューロンに至る経路の評価 (梗塞 2 カ月以降)

機能評価後に、大脳皮質から運動ニューロンに至る経路を下記の解剖学的・電気生理学的実験で調べる。BMI リハビリを行った実験群と対照群の間で比較し、大脳皮質から BMI リハビリでつないだ筋肉の運動ニューロンまでの伝達が増強されているか調べる。

- ・ 解剖学的評価：神経トレーサーを大脳皮質に投与し、大脳皮質から脊髄への投射軸索の分布と数、シナプス前部構造数を定量する。
- ・ 機能的結合の評価：覚醒下で ECoG 電極を通じて大脳皮質を電気刺激し、誘発筋電位を記録する。筋活動の誘発に必要な刺激強度を定量する。さらに、麻酔下で大脳皮質に微小電極を刺入して電気刺激し、運動ニューロンの単一神経活動を記録する。刺激に対する応答の大きさや刺激に反応する神経細胞数を定量する。

4. 研究成果

マーモセットの上肢運動の回復を調べるにあたり、適切に行動評価を行う必要がある。動物が目的の運動を行わせる必要があるが、動物の行動トレーニングが最も時間がかかるところでありトレーニング手法の確立が研究を進捗させるうえで欠かせない。ここではじめに BMI リハビリを行うリーチング課題システムを構築し、そして、マーモセットがケージから行動課題用のチェアに乗り、リーチング課題を行うトレーニング手法を確立した。

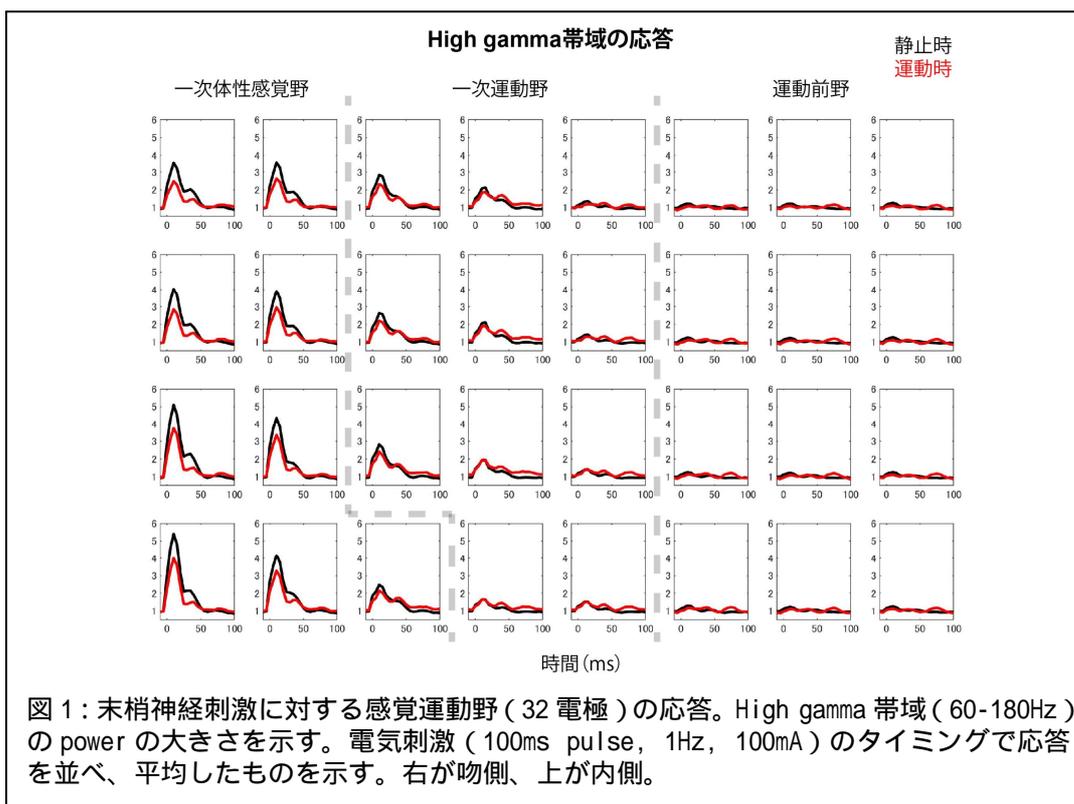
まず、マーモセットが肉体的な負担が少ない状態で保定されるようなチェアを設計した。このとき、ケージから運ぶキャリアとチェアが連結し、スムーズに動物が保定されるようにした。また、首だけを保定することで、チェアから抜け出すことはできないが、体勢に負荷がかからない構造にした。

次に、液体報酬を手掛かりとして、レバーを引く動作をするようにトレーニングを行った。レバーの位置・強度・タイミングをサルに負荷になりにくい条件を検討することで、長時間・多くの回数、レバー引き動作を行うようチューニングした。その結果、2頭のサルで、40分間で600回以上、レバー引き動作を行うことができるようになった。マーモセットを用いた上肢運動でこれほど多くの動作を繰り返し行わせた報告はこれまでのところない。

また、脳活動を基に四肢を動かさせる BMI リハビリを行わせるには、手の動きと神経活動をリアルタイムで関連付けさせる必要がある。そこで、レバーの動きをリアルタイムで計測し、かつ、神経活動を記録するシステムの構築を行った。また、電極を埋め込むための手術を行うシステムの構築を行った。

しかしながら、本研究課題期間中に、動物実験施設の改装・コロナウイルスによる実験停止・京都大学への異動があり、トレーニングを行った動物実験をすべて終了させざるを得なかった。さらに、京都大学への異動後、動物施設の改修、あらたなケージの設置、動物の導入に時間がかかり、再度トレーニングを行うにとどまった。

一方、リーチング課題ができるマーモセットのトレーニング手法を開発したことで、上肢運動を制御する神経機構を調べる実験プラットフォームが完成した。この実験プラットフォームを活用し、静止時と運動時における感覚応答を記録したところ、一次体性感覚野においてのみ体性感覚情報の調節が行われているというこれまでにない結果を導き出すことができた。上肢運動トレーニングの過程で、予想外のデータが記録できたので、報告する。上肢運動トレーニングができるようになったサルの運動前野・一次運動野・一次体性感覚野に ECoG 電極を上肢筋肉に筋活動記録電極を、上肢末梢感覚神経にカフ電極をサルに埋め込んだ。上肢運動中に、ECoG を記録したところ静止時と運動時における末梢神経刺激に対する各電極の high gamma 帯域 (電極近傍のシナプス入力を表すと考えられる) の応答に差が検出された。差分を求めると、一次体性感覚野においてのみゲイン調節が検出された (図 1)。このことは体性感覚情報の調節は一次体性感覚野への入力に限局して行われていることを示唆している。先行研究 (Seki et al., JNP, 2012) では、一次運動野においても調節が示されていたが、感覚運動野を同時記録データからシナプス入力信号 (high gamma 活動) を解析することで、体性感覚情報の調節がより限局された脳領域だけで行われていることが明らかとなった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Umeda Tatsuya, Koizumi Masashi, Katakai Yuko, Saito Ryoichi, Seki Kazuhiko	4. 巻 197
2. 論文標題 Decoding of muscle activity from the sensorimotor cortex in freely behaving monkeys	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 NeuroImage	6. 最初と最後の頁 512 ~ 526
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroimage.2019.04.045	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Umeda, T., Koizumi, M., Katakai, Y., Saito, R., Seki, K.
2. 発表標題 Decoding muscle activity using electrocorticographic signals in freely behaving marmosets
3. 学会等名 29th Annual meeting of Neural Control of Movement（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 梅田達也、小泉昌司、片貝祐子、斎藤亮一、関和彦
2. 発表標題 自由行動下における皮質脳波から筋活動のデコーディング
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------