

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21300205

研究課題名（和文） リハビリテーションによる内的動機付けの神経・分子生物学的基盤

研究課題名（英文） Neuronal and biological bases of the motivation in rehabilitation

研究代表者

尾上 浩隆 (ONOE HIROTAKA)

独立行政法人理化学研究所・分子プローブ機能評価研究チーム・チームリーダー

研究者番号：80214196

研究成果の概要（和文）：

脊髄損傷モデルサルを用いた脳機能画像研究により、損傷後の指の把握運動の機能回復時において、側坐核が一次運動野（M1）領域の活動に同期的に活動することを明らかにした。また、側坐核の把握運動の回復における役割を明らかにするために、あらかじめ側坐核破壊されたサルについて脊髄損傷を行ったところ、脊髄損傷後の把握運動が有意に遅延することが明らかになった。これらの結果は、脊髄損傷後の指の把握運動の機能回復時には、側坐核が重要な役割を果たしていることを示唆している。

研究成果の概要（英文）：

Here, we show that activity of the ventral striatum, including the nucleus accumbens (NAc), which plays a critical role in processing of motivation, increased and its functional connectivity with M1 emerged and was progressively strengthened during the recovery. In addition, functional connectivities among M1, the ventral striatum and other structures belonging to neural circuits for processing motivation were also strengthened during the recovery. In addition, lesion of NAc by ibotenic acid prior to spinal cord injury resulted in the delay of recovery. These results give clues to the neuronal substrate for motivational regulation of motor learning required for functional recovery after spinal-cord injury.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2010年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2011年度	2,800,000	840,000	3,640,000
総計	10,000,000	3,000,000	13,000,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：1. 脊髄損傷、2. リハビリテーション、3. 側坐核、4. モチベーション、5. PET、6. 脳機能イメージング

## 1. 研究開始当初の背景

脊髄損傷や脳梗塞により神経系に損傷を受けた患者に対して、損傷直後から適切なリハビリテーションを施すことは、失われた機能の回復の重要な要素となっている。リハビリテーションによる機能回復には、損傷を逃れた残存組織の機能再編が必要であり、これにはシナプス学習と共通する可塑的な神経機構が関与している可能性がある。回復過程で活動の上昇が見出された側坐核は、腹側被蓋野からの強いドーパミンの入力があり、意欲や動機付け、報酬との関係が深い。ドーパミンは Shultz らによって目的指向性学習における報酬予測誤差信号と見なされており、リハビリテーションによる機能回復に、報酬に基づいた強化学習が重要な役割を果たしていることが考えられる。したがって、リハビリテーションが元来どのように残存組織に作用するのか、またそれはどのような神経機構によって実現されるのかを知ることは重要である。脊髄損傷モデル動物を用いた実験は、これまでも日本国内を含め世界中で行われており、機能回復についての神経機構についても徐々に明らかになってきている。そのような中、最近我々は、頸椎の特定の部位を特異的に切断したサル（マカクザル）を作製し、ポジトロンエミッショントモグラフィ（PET）法を用いた非侵襲的な脳機能画像解析を個々の個体について長期間に行った。そして損傷後の機能回復には一次運動野（M1）と運動前野（PM）が回復過程に依存して活動をダイナミックに変化させ、手の巧緻運動の機能回復に貢献していることをはじめ明らかにした（参考文献1を参照）。このような運動関連領域に加え、意欲や動機付け、報酬との関係が高い側坐核（損傷と反対側）の活動が損傷後の回復過程の早期、後期にわたって認められた。脳梗塞や脊髄損傷患者の多くは運動機能の麻痺と併発して鬱症状を示し、これがリハビリの妨げとなることが多い。また、中枢神経損傷後の心理状態の研究によって、脳卒中患者のうつ症状の程度と運動機能の回復度合いに関係があることが報告されている（Saxena SK, et al. Acta Neurol Scand, 2007）。中枢神経損傷後の情動と運動機能回復との関係や動機付けとリハビリテーションの関係を支える神経機構や分子生物学的機構については、我々の知るかぎり報告がなく、今後のリハビリテーションにおける大きな課題である。

## 2. 研究の目的

サルの脊髄（C5）損傷モデルに、positron emission tomography（PET）による脳イメージング実験を適用し、機能回復過程のメ

カニズムを明らかにすることを目的としている。特に、臨床現場では脊髄損傷や脳卒中後にうつ症状を発症する例がしばしば見られ、それが運動の機能回復を遅らせている可能性が示唆されていること、並びに、これまでの我々の脊髄損傷モデルサルを用いた脳機能画像研究により、損傷後の指の把握運動の機能回復時で運動関連領域のみならず、側坐核の活動の上昇が認められることから、運動機能回復とモチベーションの関係について、神経活動の相関解析や側坐核の破壊の影響、さらに、PETを用いて側坐核におけるドーパミン受容体の変化についての検討を行った。

## 3. 研究の方法

### 実施方法

#### 1) 脊髄損傷後の回復過程における脳機能の変化

##### a. 損傷前の計測

把握運動課題遂行中（図1）のマカクサルにおいて、PET法を用いて $[^{15}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ による脳局所血流（rCBF）の計測を行った。サルには **prehension task**（片手を拘束し、もう片方の手で、芋に手を伸ばし、それを精密把持し、その芋を食べる課題；図1A）と **control task**（両手を拘束し、口元にきた芋を食べる課題；図1B）を行わせ、**prehension task**

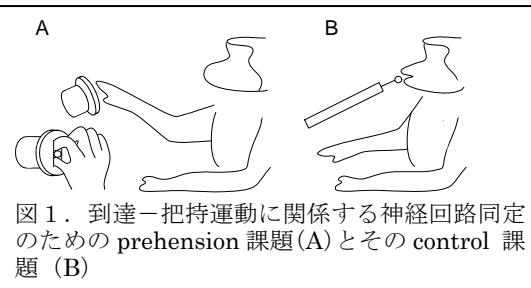


図1. 到達一把握運動に関する神経回路同定のための **prehension** 課題 (A) とその **control** 課題 (B)

中の血流分布から **control task** 中の血流分布を引くことにより到達一把握運動関連領域を求めた。

##### b. 損傷前の計測

皮質運動関連領野に細胞体を持つ錐体細胞の軸索を頸髄レベルで切断し、不可逆的に破壊する。実験殺後に組織染色を行い損傷の位置及び大きさを評価した。

##### c. 運動訓練

脊髄損傷後に、毎日、損傷前の計測時に行ったと同様の把握運動課題を行い、上肢機能の回復を促進させた。

##### d. 損傷後の計測

把握機能の回復後の間もない時期である損傷後1ヶ月と、回復後の安定期である損傷後3ヶ月の時期に、損傷前と同様のPET計測を行った。計測結果を損傷前と損傷後で比

較し、把握課題遂行に関わる脳活動の変化を解析した。

## 2) 脊髄損傷の回復過程に対する側坐核破壊の影響についての実験

実験 1) と同様に、あらかじめ把握運動課題を訓練し、課題遂行を完全にマスターした 3 頭のアカゲサルに対し、グルタミン酸受容体のアゴニストとして強力な神経毒性をもつイボテン酸をステレオタクティックに両側の側坐核に注入し (1 $\mu$ g/site x 7/hemisphere)、側坐核の神経細胞を完全に破壊した。破壊後、把握運動課題の遂行時における運動速度や課題成功率には何ら影響は認められなかったことから、側坐核破壊の約 1 ヶ月後に 1) 同様に脊髄を切断し行動の観察を行った。

## 3) 脊髄損傷後の回復過程におけるの変化

上記の実験とは別の個体 (n=1) において、側坐核におけるドーパミン受容体の結合活性の変化をドーパミン D2/3 受容体に選択性が高い [ $^{11}$ C]FLB457 を用いた計測を行った。測定は覚醒下に頭部を固定して、安静状態での結合能を脊髄損傷前、損傷後の回復期に合わせて、1 ヶ月毎に約 4 ヶ月間計測した。脳局所における結合活性は、小脳における time-activity curve をリファレンスにして Logan's reference tissue model 法を用いて BP 値画像を作成し比較検討した。

## 4. 研究成果

### 1) 脊髄損傷の到達—把持運動時の脳機能の変化

サルを用いた研究では到達—把持運動関連ニューロンが一次運動野、運動前野、頭頂葉、小脳からそれぞれ記録され、貢献の仕方が議論されてきた。しかし、それぞれの領域の相対的な貢献度は、単一ニューロン記録の研究では不明な点が多い。そこで、まず、到達—把持運動に関わる神経回路網を全脳レベルで検討した。その結果、到達—把持運動関連領域は運動の対側の V1/V2、PO、MIP、VIP、LIP、M1、PMd、S1 にあることが明らかになった。腹側経路 (VIP-PMv) の活動は背側経路 (LIP-PMd) に比べて低く、皮質下では、対側の視床枕、同側の小脳核で活動が観られた (参考文献 2)。次に、脊髄損傷の影響を同様の方法で検討した。行動的には、脊髄損傷後一時的な手の麻痺が観られ、約 1 ヶ月前後で完全に回復した (図 2)。脊髄損傷後の機能回復に関係している脳領域を特定するために、この CST 損傷モデルを用いて PET の H $_2^{15}$ O を用いた脳血流測定法による脳機能イメージングを 3 頭のサルで行った。その結果、手の運動の回復がまだ完全ではない術後 1 ヶ月における測定では、両側の一次

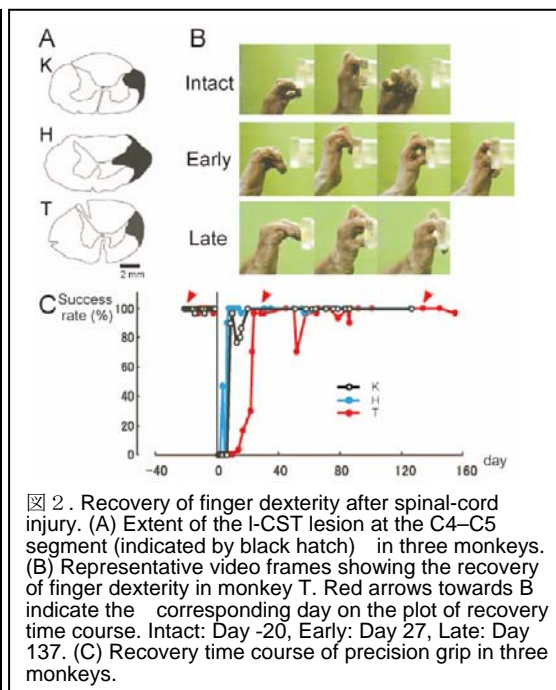


図 2. Recovery of finger dexterity after spinal-cord injury. (A) Extent of the l-CST lesion at the C4-C5 segment (indicated by black hatch) in three monkeys. (B) Representative video frames showing the recovery of finger dexterity in monkey T. Red arrows towards B indicate the corresponding day on the plot of recovery time course. Intact: Day -20, Early: Day 27, Late: Day 137. (C) Recovery time course of precision grip in three monkeys.

運動野の活動の増大が認められたが、完全に回復した術後 3 ヶ月では、切断の反側側における一次運動野と両側の腹側運動前野の活動の増大が認められた (参考文献 1)。また、1 ヶ月、3 ヶ月の両時期において側坐核の活動の増加が認められ、活動の大きさは 1 ヶ月に比べ 3 ヶ月の方が大きい傾向が認められた (図 3)。したがって、これらの領域が CST 損傷後の機能回復に貢献していることが示唆された。

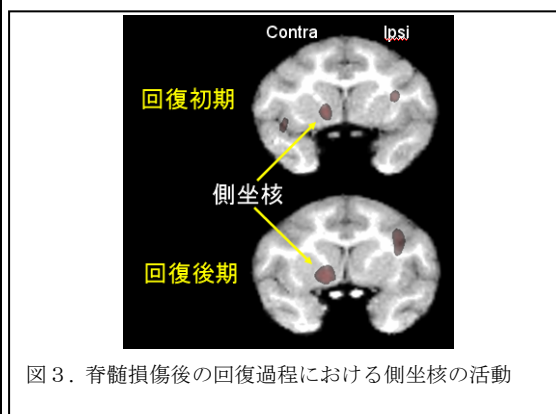


図 3. 脊髄損傷後の回復過程における側坐核の活動

側坐核の機能回復過程における役割を探るために、側坐核を含む大脳辺縁系と一次運動野間の機能的神経結合の変化を、損傷前、損傷後の回復早期、および後期における損傷と対側の側坐核 (co-VSt) と損傷の対側 (co-M1) および同側 (ip-M1) との局所血流の相関性を解析することで検討した。その結果、機能回復中において、損傷前には認められなかった、側坐核と一次運動野間の機能的相関が認められた (図 4)。さらに、損傷と対側の側坐核 (co-VSt) の局所脳血流用

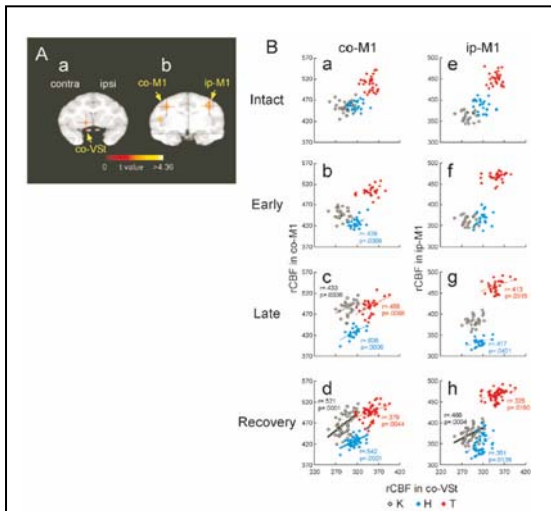


図 4. The correlation of rCBF between the ventral striatum (VSt) and the primary motor cortex (M1) before and after spinal cord injury. (A) Region of interest (ROI) in the ventral striatum (a, co-VSt), contralesional primary motor cortex (left on b, co-M1) and ipsilesional primary cortex (right on b, ip-M1). Each ROI was indicated by crossed point of the red lines. (B) The correlation of rCBF between the VSt and the M1 before and after the spinal-cord injury. Scatter plot diagrams show the correlation of rCBF between the VSt and the co-M1, and between the VSt and ip-M1 during intact (a and e), early recovery (1–2 months after lesion, b and f), late recovery (3–4 months after lesion; c and g) and recovery (including the data from both early and late recovery; d and h) stages. Individual data points indicate the data from individual sessions of the PET scan in each monkey that are shown with different symbols. Numerals beside the regression lines indicate Pearson's correlation coefficients (r) (dotted line: P,0.05, thin line: P,0.01, bold line: P,0.001) and P-values (p). The plots without the r and p-value, indicate no significant correlation.

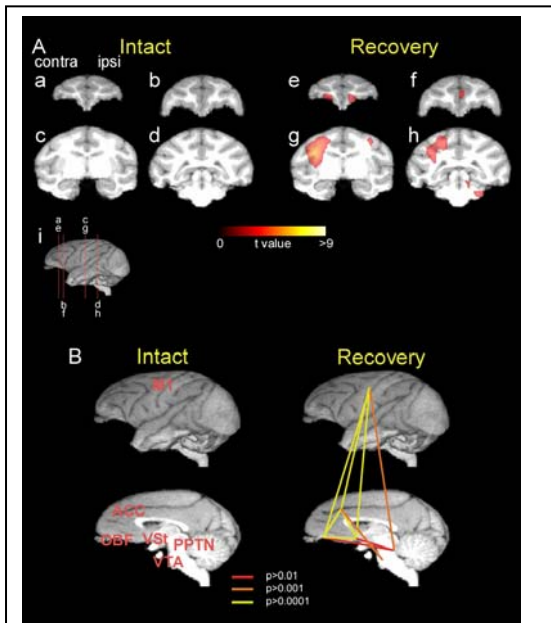


図 5. CST 損傷サルでの機能回復過程における A) 側坐核との機能的神経結合、B) 一次運動野—大脳辺縁系間の機能的神経結合。3 頭の機能イメージングの結果をアカゲザルの標準脳を使って ROI 解析した。

の変化を解析の seed として、画像上で相関

を持つ部位についての検索を行ったところ、機能回復期には、一次運動野と側坐核以外に、大脳辺縁系内の神経核同士の機能的な結合の強化が起こっていることが明らかになった (図 5)。このことは、モチベーションが運動の機能回復を支える要因となっていること、さらには、機能回復時の運動学習において強化学習の神経回路が重要な役割を果たしていることを強く示唆している。

次に、側坐核の脊髄損傷後の運動回復機能への直接の影響を調べるために、あらかじめ訓練した 3 頭のサルの側坐核を神経毒であるイボテン酸で破壊した。破壊後の把持運動の成功率やタスクの回数には全く影響が見られなかった。このことは少なくとも側坐核を破壊しても餌に対するモチベーションが低下していないことを示している。しかし、これらのサルに脊髄損傷を施し、機能回復の時間経過を追ったところ、40 日から 60 日のリハビリ期間において、3 頭ともに把持運動の回復が認められなかった (図 6)。したがって、側坐核は平常時には運動機能に関与していないにもかかわらず、脊髄損傷後の回復に重要な役割を果たしていることが支持された。

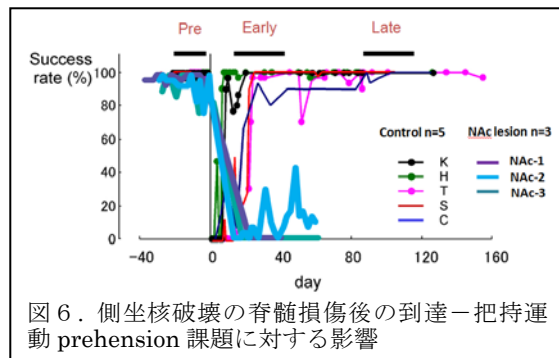


図 6. 側坐核破壊の脊髄損傷後の到達—把持運動 prehension 課題に対する影響

脊髄損傷後の側坐核におけるドーパミン神経の機能回復における役割について検証を行うために、損傷後の回復過程におけるドーパミン受容体の結合能について、ドーパミン D2/3 受容体に選択性が高い  $[^{11}C]$ FLB457 を用いた計測を行った。本実験は、まだ 1 頭目であり、予備試験的な結果ではあるが、回復前期、回復後期において、側坐核、特に損傷と対側における結合能の増加が認められた。したがって、リハビリテーションによる回復期には、側坐核のドーパミン神経伝達が亢進していることが強く示唆された。

以上の結果から、脊髄損傷モデルサルを用いた脳機能画像研究により、把握運動機能の回復過程には、側坐核が同期して活動すること、あらかじめ側坐核を破壊しておくことで運動機能の回復に遅延が起こること、さらに、回復過程には、側坐核におけるドーパミン神経伝達の亢進していることが明らかになった。



したがって、脊髄損傷後の把握運動機能の回復過程には、ドーパミンを中心として動機付けに関係する神経回路がM1領域における可塑的な機能再編に重要な役割を果たしていることが強く示唆された。

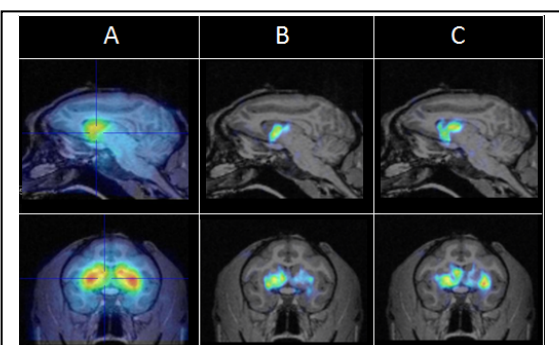


図7. 脊髄損傷後の機能回復に伴う側坐核におけるドーパミン受容体の結合変化、A) 脊髄損傷前の<sup>[11C]</sup>FLB457の結合、B) 回復前期(損傷後1-2ヶ月後)から損傷前を引いた画像、C) 回復後期(損傷後3-4ヶ月)から損傷前を引いた画像

#### 参考文献

1. Nishimura Y, Onoe H, Morichika Y, Perfilev S, Tsukada H, Isa T. Time-dependent central compensatory mechanisms of finger dexterity after spinal-cord injury. *Science*, 318: 1150-1155, 2007.
2. Nishimura Y, Onoe H, Morichika Y, Tsukada H, Isa T. Activation of parieto-frontal stream during reaching and grasping studied by positron emission tomography in monkeys. *Nuerosci Res*, 59(3):243-250, 2007.

#### 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3件)

1. Nishimura Y, Onoe H, Onoe K, Morichika Y, Tsukada H, Isa T. Neural substrate for motivational regulation of motor recovery after spinal-cord injury. *PLoS One*, 2011; 6(9):e24854. (査読有)
2. Nishimura Y, Isa T. Compensatory changes at the cerebral cortical level after spinal cord injury. *The Neuroscientist* (review), 15 : 436-444, 2009. (査読有)
3. Nishimura Y, Isa T. Cortical and

subcortical compensatory mechanisms after spinal cord injury in monkeys. *Experimental Neurology, Special Issue "Plasticity after spinal cord injury"* (review), 235: 152-61, 2012. (査読有)

[学会発表] (計4件)

1. 西村幸男. 脊髄損傷後の運動機能回復戦略、第89回日本生理学大会、長野、2012年3月29-31日.
2. 吉野紀美香、西村幸男、大石高生、伊佐正. 脊髄損傷サルにおける一次運動野手指制御領域から脊髄への軸索投射の定性的及び定量的解析. *Neuro 2010*、神戸、2010年9月2-4日.
3. Sato A, Higo N, Oishi T, Nishimura Y, Yamamoto T, Murata Y, Saito-Yoshino K, Tsuboi F, Takahashi M, Onoe H, Isa T, Kojima T. Area-specific regulation of gene expression in monkey motor cortices during recovery from spinal-cord injury. *Neuro 2010*, 神戸, 2010年9月2-4日.
4. Sugiyama Y, Higo N, Saito-Yoshino K, Murata Y, Nishimura Y, Oishi T, Isa T. Effect of early rehabilitative training after spinal cord lesion in macaque monkeys. *Neuro 2010*, 神戸, 2010年9月2-4日.

[その他]

ホームページ

[http://www.riken.jp/r-world/info/release/news/2012/apr/frol\\_02.html](http://www.riken.jp/r-world/info/release/news/2012/apr/frol_02.html)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

尾上 浩隆 (ONOE HIROTAKA)

独立行政法人理化学研究所・分子プローブ機能評価研究チーム・チームリーダー  
研究者番号：80214196

##### (2) 研究分担者

田原 強 (TAHARA TSUYOSHI)

独立行政法人理化学研究所・分子プローブ機能評価研究チーム・研究員  
研究者番号：20419708

山中 創 (YAMANAKA HAJIME)

独立行政法人理化学研究所・分子プローブ機能評価研究チーム・リサーチアソシエイト  
研究者番号：10415573

(3) 連携研究者

伊佐 正 (ISA TADASHI )

生理学研究所・発達生理学研究室・教授

研究者番号：20212805

西村幸男 (NISHIMURA YUKIO)

生理学研究所・発達生理学研究室・准教授

研究者番号：20390693