

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 19 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24300196

研究課題名(和文) 脊髄損傷後の運動機能回復における側坐核の役割；意欲と可塑性の神経・分子基盤の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the role of the nucleus accumbens in motor function recovery after spinal cord injury; neural and molecular basis relating to motivation and plasticity

研究代表者

尾上 浩隆 (Onoe, Hirotaka)

国立研究開発法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・グループディレクター

研究者番号：80214196

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：意欲ややる気を司る側坐核の運動機能の回復時における役割と神経・分子メカニズムを明らかにするためにサルの脊髄損傷モデルを用いて側坐核の破壊実験、遺伝子解析、イメージング実験を行った。その結果、側坐核の活動は脊髄損傷後における運動機能、特に手の巧緻運動が回復に必要な不可欠であること、また、可塑性的な組織再編に関わる遺伝子の運動野や運動前野における部位特異的、時間依存的な発現が関係している可能性があること、さらに、障害後の意欲やうつ症状の発現には、側坐核におけるセロトニン神経伝達に関係している可能性があることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：In order to clarify the role, and neural and molecular mechanisms of the nucleus accumbens (NAc), which are known to play a crucial role in motivation, in the recovery of motor function after the spinal cord injury by intensive rehabilitation, we performed lesion study, comprehensive gene expression analysis, and imaging experiments using monkey model of spinal cord injury. We found that during recovery after spinal cord damage, the NAc is directly involved in the control of finger movements, and may regulate area-specific and time-dependent gene expression changes in M1, PMd and PMv for plastic functional reorganization. In addition, changes in serotonin neurotransmission in the NAc might be involved in motivation and depressive symptoms after the spinal damage. These results demonstrate that the NAc plays an essential role in the recovery of motor function after the spinal cord injury.

研究分野：脳機能画像解析、分子イメージング

キーワード：脊髄損傷 PET 側坐核 精密把持 マカクサル p11 マイクロアレー

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、損傷直後の早期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。これまでの研究で回復過程において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、内部または外部からの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。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、またそれはいつ、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より効率的なリハビリテーションを考える上で極めて重要である。

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毎について長期間に行った結果、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て明らかにした(Nishimura et al., Science 2007)。また、意欲や動機付けとの関連が高い側坐核(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るとともに、回復期における側坐核とM1領域の活動の間には、損傷前には見られなかった正の相関(同期的活動)が出現することを見出した(Nishimura et al., Science 2007, PLoS One 2011)。これらの結果は、リハビリテーションの過程で認められた側坐核の神経活動は、単に報酬性の増大による受動的なものではなく運動機能を担う神経回路再編に積極的に関与していることが強く示唆された。

2. 研究の目的

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、意欲の減退がしばしば運動機能回復の妨げとなっている。サルの脊髄損傷モデルを用いた脳機能画像研究により見いだされた損傷後の側坐核の活動が、損傷後の回復過程にどのような役割を持つか、側坐核破壊による手の巧緻運動の機能回復への影響や脳機能構造のリモデ

リング、遺伝子発現に対する影響を詳しく解析し、機能回復に深く関与する意欲や動機付けの神経・分子機構を明らかにし、新しいニューロリハビリテーション方法について考案する。

3. 研究の方法

マカクサルの脊髄損傷後の機能回復過程における側坐核の役割について検証し、その神経・分子機構を明らかにするために、側坐核の破壊による脊髄損傷後の回復過程に対する影響を拡散テンソル画像(DTI)およびPET分子イメージングにより解析し、損傷後の回復過程における脳局所の神経繊維連絡の変化やドーパミン、セロトニン神経伝達の変化を同定する。イメージングで見いだされた回復過程に関わる脳領域について、回復過程の特定の時期における遺伝子発現変化をDNAマイクロアレイにより解析し、脳の可塑的变化に関わる分子を明らかにする。さらに、抗うつ薬等の手の巧緻運動の機能回復や側坐核の神経伝達に対する影響を明らかにし、イメージングに基づいた新しいニューロリハビリテーション法を創生する。

脊髄損傷モデルの作製、訓練はこれまで行ってきた方法に準じて以下のように行った。

- (1) 損傷前にサルの前方に置いた縦方向のスリットから小さな正方形の餌を母指と示指の先端でつまみ取る「精密把握課題」を用いて運動トレーニングを行う。
- (2) 頸髄の一部を切断し、不可逆的な脊髄損傷モデルを作製する。
- (3) 損傷後に精密把握課題を用いて運動トレーニングを行う。トレーニングは損傷後に週5日間、1日30分間の精密把握課題を行う。課題の成功率とビデオ解析による指の動きの詳細な分析によって、損傷前および損傷後のトレーニングによる回復具合を定量的に解析する。

脳局所におけるセロトニン神経伝達の状態の測定は、5-HT_{1b}受容体の特異的なPETプローブである¹¹C-AZ10419369を無麻酔下のアカゲザル(*macaca mulatta*)へ静脈投与し、動物用PETを用いて脳画像を測定する。

4. 研究成果

(1) 側坐核の破壊による脊髄損傷後の回復過程に対する影響

手の巧緻運動の訓練を施した6頭の雄のアカゲザルのうちの3頭に対し、脊髄損傷前に側坐核をイボテン酸により破壊した。脊髄損傷前の側坐核の破壊は、一般的に行動、破壊前に習得した精密把握課題の遂行になんら影響を与えなかった。その後、全てのサルについて脊髄損傷すると(図1)側坐核を破壊されたサルは、脊髄損傷後のリハビリにおける運動回数を破壊していないサルと同じ回数を行ったにも関わらず、手指をまとめて動かすような把持運動(power grip)は回復したが、個々の指を独立して動かして物をつ

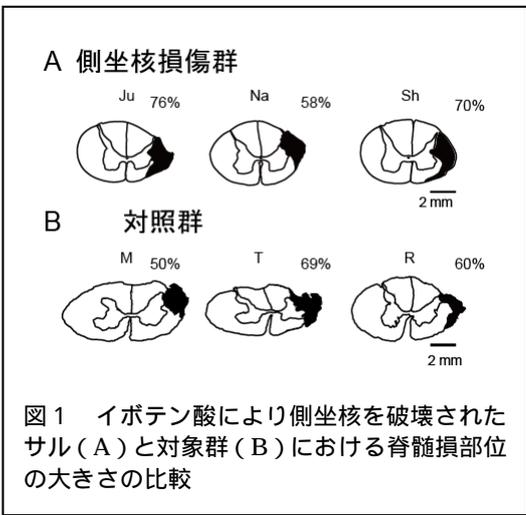


図1 イボテン酸により側坐核を破壊されたサル(A)と対象群(B)における脊髄損傷部位の大きさの比較

まむような精密把持運動(precision grip)を行うことはできず、手の巧緻運動は回復しなかった(図2)。側坐核を破壊された3頭のサルのうちの1頭(Sh)は、スリットの餌を落としてから拾い上げてとるチート(cheat)行為を覚え、観察期間中はスリットから直接

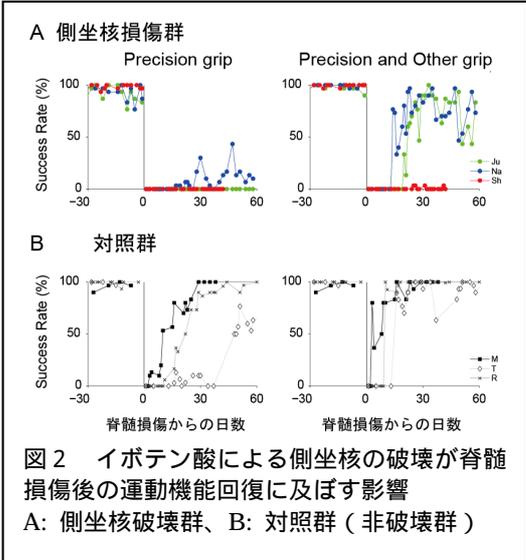


図2 イボテン酸による側坐核の破壊が脊髄損傷後の運動機能回復に及ぼす影響
A: 側坐核破壊群、B: 対象群(非破壊群)

餌をとることはなかった。これらの結果は、脊髄損傷後における運動機能の回復、特に手の巧緻運動の回復に側坐核が重要な役割を果たしていることを示している。

2頭のサルについて、脊髄損傷前に十分な「精密把握課題」のトレーニングを行った後に、頸髄の一部を切断前後および回復期に拡散テンソル画像(DTI)の撮像を行ったが、脊髄損傷前後の脳局所の神経繊維連絡の変化には有意な変化は認められなかった。今後、例数を増やして検討する。

(2) 機能回復関連領域の遺伝子発現変化

脊髄損傷後の代償機構の分子基盤を明らかにするために、イメージングにより時期依存的に機能回復に関係することが示された一次運動野(M1)および、背側と腹側運動前野(PMdとPMv)における遺伝子発現変化を網羅的に解析した。その結果、M1だけでなく

PMdやPMvにおいて両側性に時間依存的な遺伝子発現のプロファイルの変化が認められた。脊損2週目では、多数の遺伝子発現が直接損傷側の脊髄とつながっている対側のM1において変化した。遺伝子オントロジー解析および遺伝子ネットワーク解析によって、観察された遺伝子発現の変化が損傷による直接的な影響による神経萎縮だけではなく、神経の可塑的な変化に関与している可能性が示唆された。運動機能が回復した脊損3ヵ月目の時点では、遺伝子の組織的な発現の変化が、特に両側の運動前野領域間で認められ、可塑性に関与する多数の遺伝子が関係していた。さらに通常ではM1で高発現の遺伝子群が損傷後にPMdとPMvで発現が増加することが確認された(図3)。脊髄損傷後の運動機能回復には、これらの領域特異的、時間依存的な遺伝子発現の変化が関係していると考えられる。

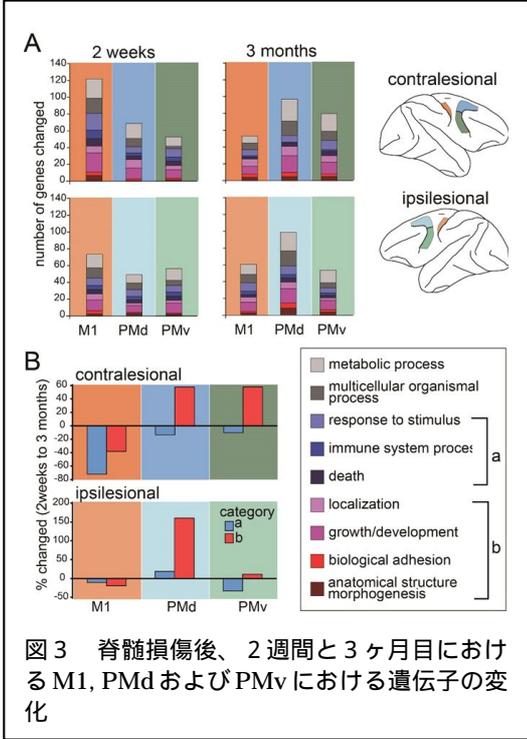


図3 脊髄損傷後、2週間と3ヶ月目におけるM1、PMdおよびPMvにおける遺伝子の変化

(3) 抗うつ薬等の手の巧緻運動の機能回復や側坐核の神経伝達に対する影響

うつ病の原因の一つとして、強いストレスなどにより脳内の神経伝達物質であるセロトニンの濃度が低下することが考えられている。このことから、抗うつ薬としては、現在、脳内のセロトニン濃度を高める薬(セロトニン再取り込み阻害薬)が広く使用されているが、この薬は効果の発現が遅く、作用を示さない患者も多い。最近、麻酔・鎮痛などに使用されているケタミンが、低用量の投与で2時間以内に抗うつ作用を示し(即効性)、その効果が数日間持続すること(持続性)が報告され、既存の抗うつ薬では症状が改善しなかったうつ病の患者にも治療効果が認められたことから、新しいタイプの抗うつ薬とし

て期待されている。ケタミンは、脳内の神経伝達物質であるグルタミン酸の受容体の1つ「NMDA 受容体」に作用するが、側坐核においてうつ症状と関係があるとされるセロトニン神経伝達、特に、セロトニン 1B 受容体との関係は明らかになっていない。そこで、セロトニン 1B 受容体に特異的に結合する PET プロブ、 $[^{11}\text{C}]\text{AZ10419369}$ を用いて、ケタミンがセロトニン神経系に及ぼす影響を検討した。その結果、ケタミンの投与により、側坐核と腹側淡蒼球において $[^{11}\text{C}]\text{AZ10419369}$ のセロトニン 1B 受容体への結合上昇が見られ、脳の2つの領域でセロトニン 1B 受容体の活性が有意に上昇することが明らかになった(図4)。また、この2つの脳領域での

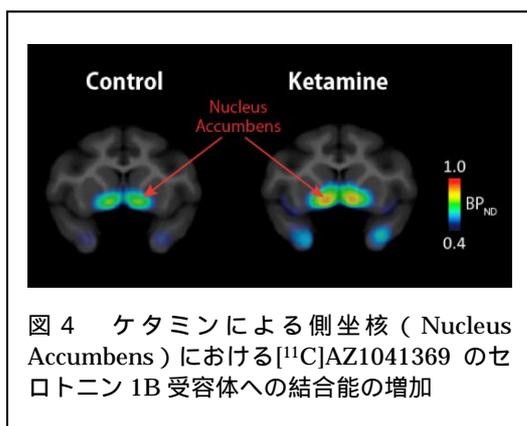


図4 ケタミンによる側坐核 (Nucleus Accumbens) における $[^{11}\text{C}]\text{AZ10419369}$ のセロトニン 1B 受容体への結合能の増加

セロトニン 1B 受容体の結合上昇が、抗うつ作用と関係しているかを調べるために、マウスやラットを用いた実験から、前投与するとケタミンの抗うつ作用が失われることが分かっているグルタミン酸受容体のもう1つのタイプである AMPA 型受容体の機能を阻害する NBQX の影響を検討した。その結果、NBQX を前投与すると、ケタミン投与による側坐核と腹側淡蒼球でのセロトニン 1B 受容体の活性上昇が見られなくなることが明らかにな

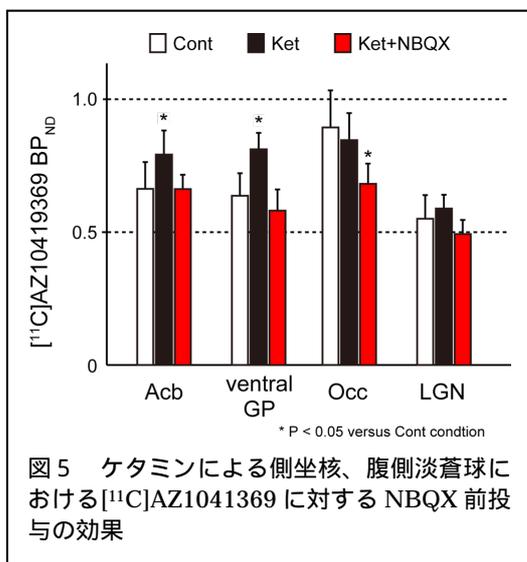


図5 ケタミンによる側坐核、腹側淡蒼球における $[^{11}\text{C}]\text{AZ10419369}$ に対する NBQX 前投与の効果

った(図5)。以上の結果から、この2つの脳領域におけ

るケタミンのセロトニン 1B 受容体への作用が、ケタミンの抗うつ作用のメカニズムに重要な役割を持っていると考えられる。ケタミンは新しいタイプの抗うつ薬として可能性があるが、薬物依存性を持つため、日本ではうつ病患者への投与は認可されていない。しかし、ケタミンの抗うつ作用と側坐核におけるセロトニン 1B 受容体の関連性が示されたことから、ケタミンが脊髄損傷後のうつ症状を緩和し、リハビリテーションの補助につながる可能性が高い。また、今回用いた脳内のセロトニン 1B 受容体の PET によるイメージングは、脊髄損傷後のうつ状態の画像診断にも応用できる可能性があり、回復期の脳の状態をモニタリングしながら効率の高い安全なリハビリにつながる可能性が期待される。

まとめ

意欲ややる気を司る側坐核の運動機能の回復時における役割と神経・分子メカニズムを明らかにするためにサル脊髄損傷モデルを用いて側坐核の破壊実験、遺伝子解析、イメージング実験を行った。その結果、側坐核の活動は脊髄損傷後における運動機能、特に手の巧緻運動が回復に必要な不可欠なことで、また、可塑的な組織再編に関わる遺伝子の運動野や運動前野における部位特異的、時間依存的な発現が関係している可能性があること、さらに、障害後の意欲やうつ症状の発現には、側坐核におけるセロトニン神経伝達に関係している可能性があることが明らかになった。これらの結果は、側坐核の活動が脊髄損傷後の運動機能回復に必須不可欠な役割を果たしていることを示している。

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5件)

Sawada M, Kato K, Kunieda T, Mikuni N, Miyamoto S, Onoe H, Isa T, Nishimura Y. Function of the nucleus accumbens in motor control during recovery after spinal cord injury. *Science*. 査読有, 2015, 350(6256), 98-101.

DOI: 10.1126/science.aab3825

Murata Y, Higo N, Hayashi T, Nishimura Y, Sugiyama Y, Oishi T, Tsukada H, Isa T, Onoe H. Temporal plasticity involved in recovery from manual

dexterity deficit after motor cortex lesion in macaque monkeys. J Neurosci 査読有, 2015, 35(1), 84-95.

DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1737-14.2015

西村幸男, 澤田真寛. 脊髄の損傷からの回復期における側坐核の機能, ライフサイエンス新着論文レビュー, First Author's, 査読無, 2015, Web.

DOI:10.7875/first.author.2015.118

Yamanaka H, Yokoyama C, Mizuma H, Kurai S, Finnema SJ, Halldin C, Doi H, Onoe H. A possible mechanism of the nucleus accumbens and ventral pallidum 5-HT1B receptors underlying the antidepressant action of ketamine: a PET study with macaques. Transl Psychiatry. 査読有, 2014, 4, e342.

DOI: 10.1038/tp.2013.112

Kojima T, Higo N, Sato A, Oishi T, Nishimura Y, Yamamoto T, Murata Y, Yoshino-Saito K, Onoe H, Isa T. Functional annotation of genes differentially expressed between primary motor and prefrontal association cortices of macaque brain. Neurochem Res. 査読有, 2013, 38 (1), 133-40.

DOI :10.1007/s11064-012-0900-4

[学会発表](計14件)

西村幸男. アスリート脳: その秘密を探る研究の最前線, 第93回日本生理学会大会, 2016/3/23, 札幌コンベンションセンター(札幌市).

西村幸男. 脊髄損傷からの機能回復戦略, 岡崎南口ータリクラブ講演会(招待講演), 2015/12/22, 岡崎ニューグランドホテル(岡崎市).

尾上浩隆. 社会性に関するセロトニンの脳内メカニズム; 非ヒト霊長類を用いたPETによる分子イメージング研究.

平成27年度生理学研究所研究会『情動研究会』, 2015/10/7, 生理学研究所(岡崎市).

西村幸男. 心と身体を繋ぐ神経基盤. 第147回スポーツサイエンス研究会(招待講演), 2015/5/20, 早稲田大学所沢キャンパス(所沢市).

Yamanaka H, Yokoyama C, Mizuma H, Doi H, Finnema SJ, Halldin C, Onoe H. Ketamine acts on 5-HT1B receptors in the nucleus accumbens and ventral pallidum: a possible role for its antidepressant action. Neuroscience

2014, SfN's 44nd annual meeting, 2014/11/18, Washington, DC, USA.

Onoe H, Yamanaka H, Yokoyama C, Mizuma H, Finnema SJ, Doi H, Halldin C. Increase in 5-HT1B receptors in nucleus accumbens and ventral pallidum by ketamine as its possible mechanism of antidepressant action: PET study with rhesus monkeys. The 27th Annual EANM Congress, 2014/10/21, Gothenburg, Sweden.

澤田真寛, 吉野-斎藤紀美香, 二宮太平, 大石高生, 山下俊英, 高田昌彦, 尾上浩隆, 西村幸男, 伊佐正. 脊髄部分損傷後の機能回復過程における大規模回路再編. 第37回日本神経科学大会, 2014/9/12, パシフィコ横浜(横浜市). 山中創, 横山ちひろ, 土居久志, Christer Halldin, 尾上浩隆. ケタミンの抗うつ薬作用のメカニズム 側坐核と腹側淡蒼球のセロトニン1Bレセプターの関与. 第37回日本神経科学大会, 2014/9/12, パシフィコ横浜(横浜市). 山中創, 横山ちひろ, 水間広, 大野正裕, 武田千穂, 森智子, Sjoerd J Finnema, Christer Halldin, 土居久志, 尾上浩隆. ケタミンの抗うつ作用メカニズムに側坐核と腹側淡蒼球のセロトニン1Bレセプターが関与する可能性 マカクザルを用いたPET研究. 第9回日本分子イメージング学会, 2014/5/22, 千里ライフサイエンスセンター(豊中市).

Sawada M, Kato K, Onoe H, Isa T, Nishimura Y. Ventral striatum regulates brain activity of motor related areas during the recovery after spinal cord injury. Neuroscience 2013, SfN's 43nd annual meeting, 2013/11/11, San Diego, USA. 澤田真寛, 尾上浩隆, 加藤健治, 伊佐正, 西村幸男. 脊髄損傷後の回復過程における腹側線条体の役割. Neuro2013. 2013/6/22, 国立京都国際会館(京都市).

Kojima T, Higo N, Sato A, Oishi T, Nishimura Y, Yamamoto T, Murata Y, Yoshino-Saito K, Onoe H, Isa T. Functional annotation of genes differentially expressed between primary motor and prefrontal association cortices of macaque brain. Neuroscience 2012, SfN's 42nd annual meeting. 2012/10/18, New Orleans, USA.

Sawada M, Onoe H, Isa T, Nishimura Y. Role of the striatum for the motor recovery after spinal cord injury. Neuroscience 2012, SfN's 42nd annual meeting. 2012/10/15, New Orleans,

USA.

澤田真寛, 尾上浩隆, 伊佐正, 西村幸男. 脊髄損傷後の回復過程における腹側線条体の役割. 第34回日本神経科学学会, 2012年9月18日, 名古屋国際会議場(名古屋市).

〔図書〕(計1件)

西村幸男, 澤田真寛. American Association for the Advancement of Science (AAAS), 側坐核は脊髄損傷後の運動機能回復に関与している, Japanese Scientists in Science 2015 サイエンス誌に載った日本人研究者, 2016, pp.60.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

〔その他〕

・ホームページ情報(研究紹介)

「リハビリテーションによる運動機能回復には側坐核の働きが大切」

<http://www2.clst.riken.jp/bfi/content.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

尾上 浩隆 (ONOE, Hiroataka)

国立研究開発法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・グループディレクター

研究者番号: 80214196

(2)研究分担者

林 拓也 (HAYASHI, Takuya)

国立研究開発法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・ユニットリーダー

研究者番号: 50372115

小島 俊男 (KOJIMA, Toshio)

豊橋技術科学大学・健康支援センター・教授

研究者番号: 00311340

山中 創 (YAMANAKA, Hajime)

国立研究開発法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・特別研究員

研究者番号: 10415573

角元 恭子 (KAKUMOTO, Kyoko)

国立研究開発法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・研究員

研究者番号: 00442583

(3)連携研究者

伊佐 正 (ISA, Tadashi)

生理学研究所・認知行動発達機構研究部門
・教授

研究者番号: 20212805

西村 幸男 (NISHIMURA, Yukio)

生理学研究所・認知行動発達機構研究部門
・准教授

研究者番号: 20390693