

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650329

研究課題名(和文) 上肢運動学習に関する遺伝子、神経成長因子、パフォーマンスの統合的研究

研究課題名(英文) A integrative study of genetics, neural growth factors, and performance on upper-limb motor learning

研究代表者

牛場 潤一 (USHIBA, JUNICHI)

慶應義塾大学・理工学部・准教授

研究者番号：00383985

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：マイクロアレイを用いたELISA法で定量する末梢血BDNF量ならびにPCR法によって口腔粘膜から同定するBDNF遺伝子の機能多型に関して、過去の文献と遺伝子データベースに基づいて既知のターゲットを選定し、健常成人での分類をおこなった。機能多型を有する被験者数は過去の報告よりも低く、十分な統計解析がおこなえるバリエーションは得られなかった。一方、1日1時間の到達運動訓練を連続5日間実施し、磁気共鳴画像法による脳構造変化を定量した結果からは、1-2日目に生じる一次運動野と海馬の体積増加ならびに皮質脊髄路の軸索束のintegrityが、その後生じる運動学習プロセスを説明することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：BDNF level in the peripheral blood was measured by ELISA using microarray. BDNF related polymorphism on gene was also measured from oral mucosa by PCR. Data received was then classified in accordance with the previous findings and gene database. A number of persons with polymorphism was actually much lower than that reported previously, thus a sufficient statistical analysis has not been given to study correlation between BDNF and behavior in motor learning. On the contrary, in a more macroscopic view, I found a nice association between brain structural change and motor performance. Primary motor cortex and hippocampus increased their volume at Day 1 and Day2, and the extent of volume increase explained following motor learning process in horizontal reaching paradigm. Integrity change in the corticospinal tract was also a predictor of following learning process. These study suggests that brain structural change is not only a foot print, but also a driving force of motor learning.

研究分野：リハビリテーション神経科学

キーワード：リハビリテーション 神経科学 遺伝子 医療・福祉 運動学習

1. 研究開始当初の背景

脳卒中の片麻痺に関する運動リハビリテーション研究はこれまで、主として動作解析による改善度を評価するものと、電気生理学的評価による神経系の機能再構築の様子を明らかにするものの2つに分類できる。前者は F. J. Kottke (1980 年代) が運動学習の概念をリハビリテーションに導入して以来、数多くの臨床研究が進められ、理論体系の構築が進んだ。国内では日本リハビリテーション医学会を中心に研究報告が活発に行われており、近年では R. Shadmehr, S. H. Scott、川人光男 (2000 年代) らが中心となって確立した計算論的神経科学 (Scott et al., *Nature* 2011; Kawato et al., *Curr Opin Neurobiol* 2011) を取り込んで、より一層システムチックな研究が加速している。後者は電気生理学の始祖の一人である 1900 年代 C.S. Sherrington に起源を持ち、R. Cohen や N.S. Ward (2000 年代) を中心に、皮質内神経回路や皮質脊髄路の興奮性評価および脳機能イメージングによる研究が進んだ (Dimyan & Cohen, *Nature Rev Neurol* 2011)。国内では日本神経生理学会を中心に、同種の研究活動が活発に行われている。

一方で近年、分子細胞生物学の急速な発展により、神経系の機能再構築に関わる分子メカニズムの一端が解明されてきた。たとえば、脳由来神経成長因子 (BDNF) 遺伝子の 196 番目の塩基が G から A に変化した多型は成人の約 15% に認められ、この多型により BDNF の 66 番目のアミノ酸が Val から Met に変化して、細胞からの BDNF 分泌低下につながることを示された (Pearson-Fuhrhop et al., *Top Stroke Rehabil* 2009)。また、反復的な運動学習をおこなっていると 30 分から数時間のトレンドで BDNF の分泌が促進され、末梢血の血清の抗体染色からもその動向が定量できることも明らかになっている (Vega et al., *Neuroscience* 2008)。このことを鑑みると、今後の脳卒中片麻痺研究は、分子細胞レ

ベル-神経ネットワークレベル-動作レベルを統合的に扱い、複眼的に機能回復メカニズムを捉えることが必要不可欠と思われる。

2. 研究の目的

脳由来神経成長関連因子 (BDNF) の遺伝子機能多型 Val66Met および BDNF 分泌量を定量し、上肢運動学習の過程でこれら分子生物学的背景がアウトカムに及ぼす影響を明らかにする。具体的には、口腔粘膜を採取して DNA を抽出、BDNF 遺伝子の 196 番目塩基の多型を PCR 法により判断する。また、末梢血を採取して血清を抽出、BDNF 抗体を提示したマイクロアレイを用いて ELISA 法により BDNF を定量する。運動課題は、運動軌跡の追跡課題とし、そのパフォーマンス評価および磁気刺激法による皮質内興奮性変化を定量する。

3. 研究の方法

口腔粘膜から DNA を抽出し、BDNF 遺伝子の機能多型を PCR 法で評価するための一連の測定キットの整備と機器操作講習を実施した。これにより、これまで電気生理学や行動神経科学専門にしてきた研究者が、基礎的な分子細胞生物学的実験方法を習得するに至った。

運動学習課題については、Rotary Pursuit Test (RPT) 前後の神経系機能再構築を評価するための予備的検討を健常者 6 名で実施した。複数の RPT 機器を試用したが、取得できる行動指標に制限があり、詳細な脳内モデルブロックの個別的評価が困難なことから、水平面上の前方位置に提示されたターゲットへ指先をあわせる上肢到達運動課題を採用することとした。

4. 研究成果

マイクロアレイを用いた ELISA 法で定量する末梢血 BDNF 量ならびに PCR 法によって口腔粘膜から同定する BDNF 遺伝子の機能多型に関して、過去の文献と遺伝子データベース

に基づいて既知のターゲットを選定し、健康成人での分類をおこなった。機能多型を有する被験者数は過去の報告よりも低く、十分な統計解析がおこなえるバリエーションは得られなかった。一方、1日1時間の到達運動訓練を連続5日間実施し、磁気共鳴画像法による脳構造変化を定量した結果からは、1-2日目に一次運動野と海馬の体積増加が認められた(図1)。

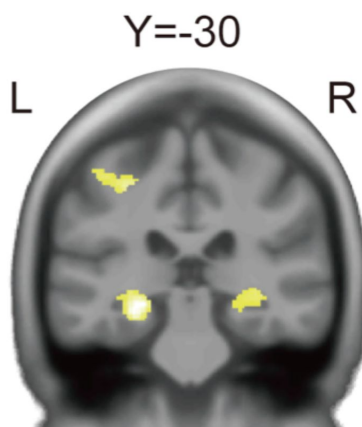


図1 体積増加が認められた脳部位
(黄色：統計的有意であったボクセル。
Uncorrelated $p < 0.001$)

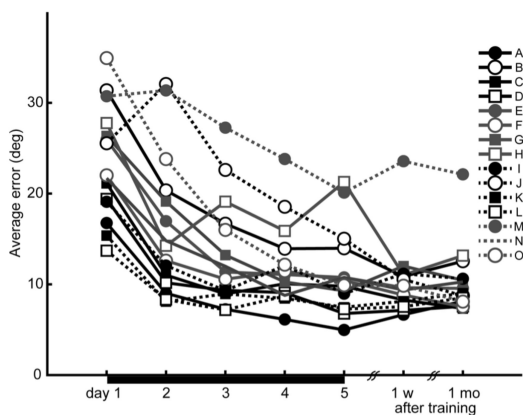


図2 運動学習曲線
(ラインは被験者ごとの結果を表す)

皮質脊髄路の軸索束の integrity についても同様にシグナルの増加を認めた。つぎに、その後に生じる運動学習プロセス(図2)について、指数関数近似をおこなって学習過程

を定量し、脳部位ごとの構造変化指数との間でステップワイズ重回帰解析をおこなったところ、一次運動野、海馬、海馬傍回と学習曲率、学習オフセット値の間に統計的有意な関係を認めた。

1~2日目に認められた一次運動野と海馬の体積増加は、3日目でいったんこの効果の消失があり、その後4-5日目に再び増加するトレンドを持つことも明らかになった。このことは、1~2日目には代謝的な活動が主体的に脳構造に修飾を与え、その後により強固な脳構造変化を生み出す 2 STATE MODEL の存在を示唆していると考えた。

今回の研究ではこのように、「遺伝子」「生体内分子」が生物学的上位階層に与える影響については、今後も継続して検討する必要があるものの、実験プロトコルの標準化に成功したことは有益であった。一方、「脳構造」が「行動」に及ぼす影響については、従来の概念に修正を迫ることができ、成功を収めたといえる。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

Kodama M, Kasuga S, Ono T, Yamashita F, Ebata H, Liu M, Ushiba J. Grey matter structural changes in short timescale can predict reaching performance improvement. The 20th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping, Hamburg, Germany. 2014/06

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

牛場 潤一 (USHIBA, Junichi)
慶應義塾大学・理工学部・准教授
研究者番号：

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：