

令和元年6月18日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10747

研究課題名(和文)急性ラクナ梗塞に対するPETとトラクトグラフィーを用いた新たな病態解明

研究課題名(英文)Alterations of neurite morphology associated with cerebral blood flow during motor recovery in patients with acute lacuna stroke

研究代表者

横田 千晶(Yokota, Chiaki)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・医長

研究者番号：80300979

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：急性ラクナ梗塞例での運動機能回復に伴う脳血流量と神経微細構造変化を明らかにする。急性ラクナ梗塞16例(男14例、平均63歳)に対し、入院後7日と発症3ヶ月後に、運動機能、neurite orientation dispersion and density imaging、150-gas positron emission tomographyにて評価した。3ヶ月後、運動機能は改善、入院後7日の左島皮質、左中心前回、前帯状回は脳血流量が上昇、3ヶ月後、左中心前回の神経密度上昇と右小脳半球での軸索/樹状突起の方向のばらつき減少が示唆され、機能回復過程における脳血流量と神経微細構造の変化が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

実験的研究を含め、複数の研究結果より、脳梗塞発症後間もない時期は、神経可塑性が高まっていることが明らかにされている。しかし、脳梗塞後の機能回復過程における脳血流量と神経線維構築の変化に関しては明らかではない。本研究では、主幹脳動脈に狭窄性病変のないラクナ梗塞例を対象にすることで、血管狭窄に起因する血流量の影響を排除し、巧緻運動障害例を対象とすることで、日常生活を含め、利き手を用いた運動訓練効果に注目した。本研究結果より、急性期脳卒中患者に対して、急性期からの集中的な特異的動作訓練は、標的とした領域の脳血流増加と訓練継続による神経再構築が生じることが示された。

研究成果の概要(英文)：We examined alteration of neurite morphology associated with changes of cerebral blood flow (CBF) during motor recovery in patients with acute lacuna stroke. Motor recovery, neurite orientation dispersion and density imaging, and 150-gas positron emission tomography were assessed at baseline and 3 months after stroke onset. We enrolled 16 patients (63 y. o. in average, 14 males, 15 were right handed) in the present study. Significant motor recovery was confirmed at 3 months. Increased CBF in insular cortex and precentral gyrus in the left side, and right anterior cingulate cortex were observed at baseline. Significant increases of intracellular volume fraction in the left precentral gyrus and decreases of orientation dispersion index in the right cerebellar cortex were demonstrated at 3 months. In conclusion, significant alterations in microstructure in the white matter as well as CBF were demonstrated in patients with acute lacuna stroke during 3 months after stroke onset.

研究分野：脳卒中リハビリテーション

キーワード：急性ラクナ梗塞 脳PET 神経微細構造 脳血流量 機能回復

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、脳の複雑、不均一な神経微細構造を解析し、かつ比較的短時間に撮像可能な非正規分布拡散画像の評価法として neurite orientation dispersion and density imaging (NODDI) が注目されている(1)。NODDI は、細胞内、細胞外、脳脊髄液を区別し、白質と灰白質での神経突起の濃度と分散が求められる。急性ラクナ梗塞における運動機能回復に伴う病態の変化を脳血流代謝および神経微細構造変化より詳細に調べた研究はない。

2. 研究の目的

急性ラクナ梗塞例における運動機能回復に伴う脳血流代謝および神経微細構造変化を ^{15}O -gas positron emission tomography (PET) と NODDI を用いて明らかにすること。

3. 研究の方法

対象は、2016年4月から2017年3月に当院に発症7日以内に入院となった急性脳梗塞例のうち、テント上穿通枝病変、上肢Brunnstrom stage V以上、自立歩行可能例である。

評価は入院後7日と発症3ヶ月後の2点で行った。自立度、運動機能評価は、Functional Independence Measure (FIM)、Fugl-Meyer Assessment (FMA)、timed up & go test (TUG) を用いた。神経微細構造の解析は、3T MRI (Signa Excite HD V12M4; GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA) を用い、NODDI と T1 強調画像 (T1WI) を撮像した。撮像条件は、既報告と同様の条件である(2)。脳循環代謝の変化は、 ^{15}O -gas positron emission tomography (PET) の dual autoradiography (迅速法)で行った(3)。

画像解析は、PET 画像より脳血流量 (Cerebral blood flow; CBF)、脳酸素代謝率 (cerebral metabolic rate of oxygen; CMRO₂) 画像を作成、MRI 画像からは、NODDI により intracellular volume fraction (Vic) および ODI map を作成した。PET 画像と MRI 画像は、Statistical parametric mapping 12 を用いて各症例で重ね合わせを行い、同時期に撮影した MRI T1WI を用いて標準化後、平滑化 (ガウシアンフィルタ、半値幅 6 mm) を適用、全脳を対象に Voxel based analysis の手法で入院後7日と発症3ヶ月後の2点間での paired t-test により統計解析を実施した。統計学的有意水準は $p < 0.001$ (uncorrected) とした。

4. 研究成果

全 16 例 (男 14 例、平均 63.1 歳) が解析対象となった。15 例が右利きで、左病変 9 例であった (表 1)。自立度、運動機能評価は、発症後 7 日に比べて 3 ヶ月後、FIM、FMA、TUG、いずれの項目でも改善した (図 1)。入院後 7 日の PET 画像より、発症 3 ヶ月後に比べて左島皮質、左中心前回、前帯状回にて CBF が上昇し ($p < 0.001$) (図 2)、CMRO₂ には有意差はなかった。NODDI より、入院後 7 日に比べて発症 3 ヶ月後、左中心前回に有意な Vic の上昇と ($p < 0.001$)、左中心後回の Vic の上昇傾向 ($p < 0.005$) (図 3-a)、右小脳半球での有意な ODI の低下 ($p < 0.001$) が見られた (図 3-b)。

表 1 患者背景

	n=16
年齢, 歳 ± SD	63.1 ± 6.8
男性, n (%)	14 (88)
右利き, n (%)	15 (93)
病前 mRS 0, n (%)	15 (93)
既往歴, n (%)	
脳卒中/TIA	3 (19)
高血圧症	14 (88)
脂質異常症	12 (75)
糖尿病	6 (38)
喫煙歴	15 (94)
飲酒歴	9 (56)
左病変, n (%)	9 (56)
入院時 NIHSS, median (IQR)	1 (0-2)
入院日数, 日, median (IQR)	12 (9-14)
入院-初回 MRI, 日, median (IQR)	7 (5-10)
入院-2 回目 MRI, 日, median (IQR)	97 (91.25-101.5)

図1 運動機能評価の変化

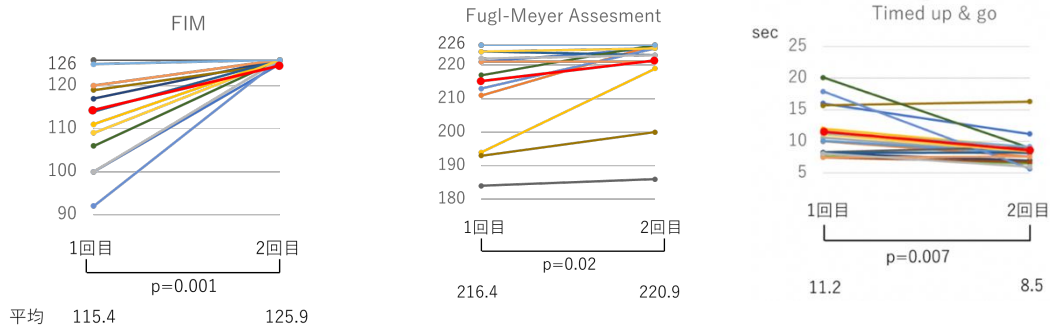
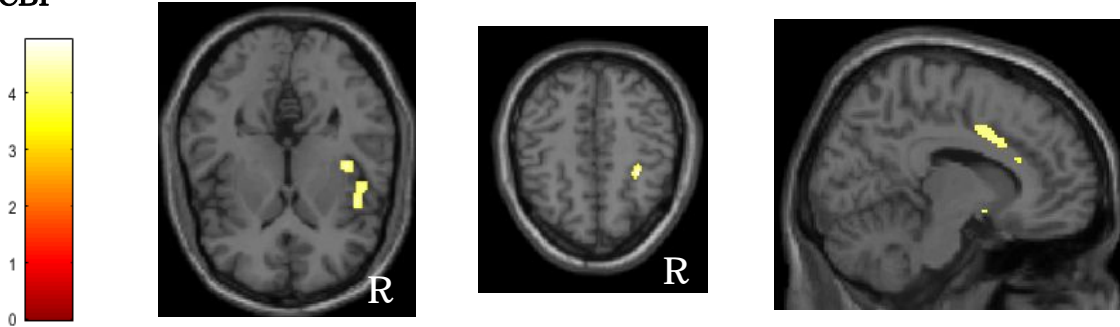


図2 PET 画像 Voxel based analysis (p<0.001)

CBF



1 回目（発症後 7 日）> 2 回目（3 ヶ月後）を示す。

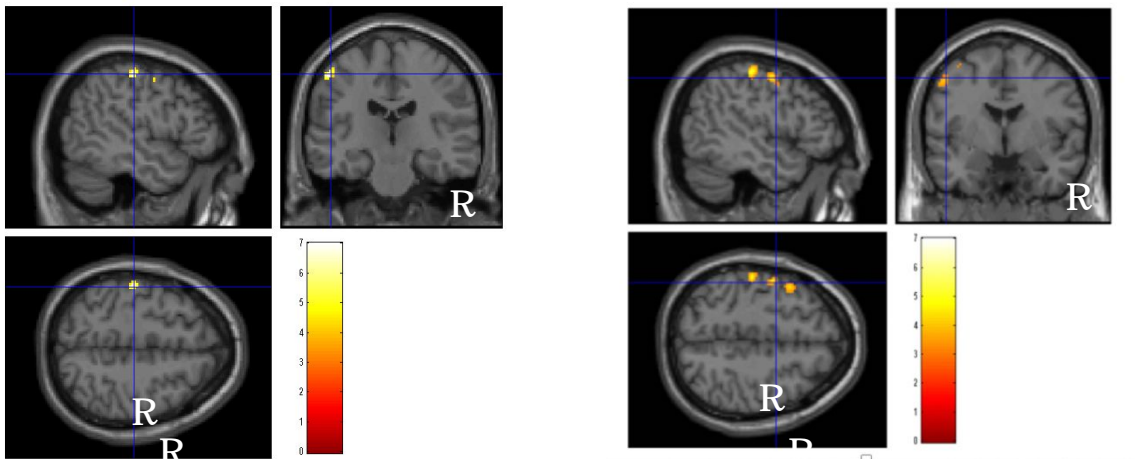
発症後 7 日、左島皮質、左中心前回、前帯状回における CBF が有意に上昇。

図3 MRI NODDI;

a: Vic map

p<0.001

p<0.005



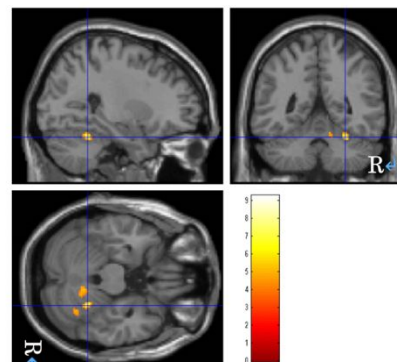
1 回目（発症後 7 日）< 2 回目（3 ヶ月後）を示す。

3 ヶ月後、左中心前回にて Vic が有意に上昇、左中心後回でも Vic の上昇傾向あり。

b: ODI map p<0.001

1 回目(発症後 7 日)> 2 回目(3 ヶ月後)を示す。

発症 3 ヶ月後、右小脳半球における ODI が有意に低下あり



我々は、軽症ラクナ梗塞例では、発症3ヶ月後、自立度、運動機能はいずれも有意に改善し、急性期では左中心前回、左島皮質、前帯状回で脳血流上昇が認められたが3ヶ月後には低下することを示した。更に、NODDIより3ヶ月後の左中心前回においてVicの増加と右小脳半球におけるODIの低下を示した。

本研究で血流上昇が見られた前帯状回の背側後部は、認知機能(前頭前野背外側部)や運動機能(運動前野及び一次運動野)の領域、および痛覚、運動と関連する視床核と繋がり、脊髄に投射する運動線維が含まれている。またこの部位は、ゴールを目指した遂行機能、行動モニタリング、情動などに関わる部位でもある。更に、島皮質は行動発現、情動、知覚などの機能を有し、前帯状回と連絡して運動課題の達成に中心的な役割を有するとされている。本研究では、16例中15例が右利きであったことから、急性期、病変側にかかわらず、課題達成のために右手を多く使うことによる一次運動野の左中心前回と、知覚的フィードバックをくり返しながらか遂行することによる、左島皮質、前帯状回での脳血流上昇が生じたと考えた。脳酸素代謝率に発症後7日と3ヶ月で変化が見られなかったのは、対象が軽微な脳梗塞例であったことが関連している可能性と、PETでの分解能や統計ノイズの可能性が考えられた。

本研究では、3ヶ月後、左中心前回においてVicが有意に上昇し、左中心後回でもVicの上昇傾向が見られた。ラットモデルより、一側性虚血脳損傷後、運動訓練による非障害肢の代償的な動きによって、対側運動皮質において神経細胞が増加した(4)。我々は一過性虚血モデルラットを用いて、充実環境下または標準環境下で飼育した結果、充実環境群にて運動機能が改善し、免疫染色にて梗塞周囲のシナプス小胞の蛋白質であるシナプトフィジンの増加が見られることを報告した(5)。これらの実験的研究結果より、本研究では、右手を使った代償的運動が3ヶ月後の左手の一次運動野の有意な神経突起密度の増加を生じさせたのではないかと考えた。こうした代償的運動の遂行には、急性期の血流変化で見られた、前帯状回、島皮質が関連する知覚的フィードバックが重要であることから、左手の感覚野を含む中心後回でもVicの上昇傾向が見られたのであろう。

本研究では、発症3ヶ月後に右小脳半球においてODIの有意な減少が認められた。これは、右小脳半球における軸索/樹状突起の方向のばらつき減少、均一性の増大を表すと考えられる。小脳は運動野のみならず非運動領域である前頭前野、後頭頂皮質にも広く神経線維を投射し、運動調節や協調運動だけでなく遂行機能、作業記憶など認知機能にも関連していることが知られている(6)。本研究では、同時期に左中心前回での有意なVic上昇が見られたことより、こうした小脳-大脳連関に基づいた運動野と対側小脳の神経微細構造の変化が、結果的に自立度、運動機能改善と関連したのではないかと考えた。3ヶ月後に左中心前回、左島皮質、前帯状回での血流低下が生じたのは、運動訓練による神経線維構造の再構築により、課題達成が容易となり、知覚的フィードバックの役割が低減した可能性がある。

実験的研究を含め、複数の研究結果より、脳梗塞発症後間もない時期は、神経可塑性が高まっていることが明らかにされているが(7, 8)、脳梗塞後の機能回復過程における脳血流量と神経線維構築の変化に関しては明らかではない。本研究では、主幹脳動脈に狭窄性病変のないラクナ梗塞例を対象にすることで、血管狭窄に起因する血流量の影響を排除し、巧緻運動障害例を対象とすることで、日常生活を含め、利き手を用いた運動訓練効果に注目した。本研究結果より、急性期脳卒中患者に対して、急性期からの集中的な特異的動作訓練は、標的とした領域の脳血流増加と訓練継続による神経再構築が生じうることが示された。また、脳卒中後の神経線維連絡の再構築に関し、半球間連絡の障害は機能回復に関わる重要な要因であることが知られている(9)。軽微な病変であれば、対側半球ではなく、病変側の運動野近傍での連絡が重要であるが、

逆に広範囲の障害であると、対側半球も含めた再構築が重要とされている(10)。本研究では対象例が軽微な障害例のみであったが、今後、重症度の異なる例での研究が必要と考えられた。

<引用文献>

1. Zhang H, Schneider T, Wheeler-Kingshott CA, Alexander DC. NODDI: practical in vivo neurite orientation dispersion and density imaging of the human brain. *Neuroimage* 2012;**61**:1000-16.
2. Yasuno F, Ando D, Yamamoto A, Koshino K, Yokota C. Dendrite complexity of the posterior cingulate cortex as a substrate for recovery from post-stroke depression: A pilot study. *Psychiatry Res Neuroimaging* 2019;**287**:49-55.
3. Kudomi N, Hayashi T, Teramoto N, et al. Rapid quantitative measurement of CMRO(2) and CBF by dual administration of (15)O-labeled oxygen and water during a single PET scan-a validation study and error analysis in anesthetized monkeys. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005;**25**:1209-24.
4. Hsu JE, Jones TA. Contralateral neural plasticity and functional changes in the less-affected forelimb after large and small cortical infarcts in rats. *Exp Neurol* 2006;**201**:479-94.
5. Hirata K, Kuge Y, Yokota C, et al. Gene and protein analysis of brain derived neurotrophic factor expression in relation to neurological recovery induced by an enriched environment in a rat stroke model. *Neurosci Lett* 2011;**495**:210-5.
6. Bostan AC, Dum RP, Strick PL. Cerebellar networks with the cerebral cortex and basal ganglia. *Trends Cogn Sci* 2013;**17**:241-54.
7. Murphy TH, Corbett D. Plasticity during stroke recovery: from synapse to behaviour. *Nat Rev Neurosci* 2009;**10**:861-72.
8. Brown CE, Li P, Boyd JD, Delaney KR, Murphy TH. Extensive turnover of dendritic spines and vascular remodeling in cortical tissues recovering from stroke. *J Neurosci* 2007;**27**:4101-9.
9. Carter AR, Astafiev SV, Lang CE, et al. Resting interhemispheric functional magnetic resonance imaging connectivity predicts performance after stroke. *Ann Neurol* 2010;**67**:365-75.
10. Di Pino G, Pellegrino G, Assenza G, et al. Modulation of brain plasticity in stroke: a novel model for neurorehabilitation. *Nat Rev Neurol* 2014;**10**:597-608.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

1. Yasuno F, Ando D, Yamamoto A, Koshino K, Yokota C. Dendrite complexity of the posterior cingulate cortex as a substrate for recovery from post-stroke depression: A pilot study. *Psychiatry Res, Neuroimaging* 2019;**287**: 49-55

〔学会発表〕(計2件)

1. 安藤大祐、越野一博、安野史彦、佐藤健朗、山本明秀、尾谷寛隆、豊田一則、横田千晶 : 急性期ラクナ梗塞の回復過程における脳循環代謝と神経線維密度の変化、第60回日本脳循環代謝学会学術集会,千里ライフサイエンスセンター,大阪,2017年11月3-4日
2. Ando D, Yasuno F, Koshino K, Sato T, Yamamoto A, Odani H, Inoue M, Kazunori T, Yokota C : Changes in cerebral blood flow and metabolism associated with neurite morphology after motor recovery in patients with small vessel disease. 4th European

Stroke Organisation Conference, Göteborg, Sweden. 5/16-18, 2018.

〔図書〕(計1件)

横田千晶：脳卒中リハビリテーション、脳卒中病態学のススメ、2018、p288-294、下畑享良編、南山堂、東京

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：安野史彦

ローマ字氏名：Yasuno Fumihiko

所属研究機関名：国立研究開発法人国立長寿医療研究センター

部局名：病院

職名：医長

研究者番号(8桁)：60373388

(2)研究分担者

研究分担者氏名：越野一博

ローマ字氏名：Koshino Kazuhiro

所属研究機関名：国立研究開発法人国立循環器病研究センター

部局名：研究所

研究者番号(8桁)：90393206

職名：室長

(3)研究分担者

研究分担者氏名：小亀浩市

ローマ字氏名：Kokame Koichi

所属研究機関名：国立研究開発法人国立循環器病研究センター

部局名：研究所

職名：部長

研究者番号(8桁)：40270730

(4)研究分担者

研究分担者氏名：天満敬

ローマ字氏名：Tenma Takashi

所属研究機関名：大阪薬科大学

部局名：薬学部

研究者番号(8桁)：90378787

職名：教授

(5)研究協力者

研究協力者氏名：安藤大祐

ローマ字氏名：Ando Daisuke

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。