

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H01011

研究課題名（和文）予測誤差により脊髄損傷後の巧緻運動の機能回復が駆動される神経機構の解明

研究課題名（英文）Elucidating the neural mechanism to drive the functional recovery of dexterous hand movements after spinal cord injury by prediction error

研究代表者

伊佐 正（Isa, Tadashi）

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：20212805

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 35,100,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトの近縁種であるサルの中脳頸髄（C4/C5髄節）における側索背側部を切断しても訓練により手指の巧緻運動は良く回復する。その際、両側運動関連領域の活動をECoG電極を用いて縦断的に記録したところ、回復初期に損傷同側運動前野において、運動開始時に活動の増加を認めた。この運動開始時の同側運動前野の活動に対する反対側運動前野からの入力の効果を知るために、ウイルスベクター2重感染法とDREADD法を組み合わせ、反対側運動前野から同側運動前野に至る交連線維を可逆的に遮断したところ、損傷前は抑制性であった半球間の相互作用が損傷後は興奮性に転じ、同側運動前野の運動への関与を促進していることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来より脳卒中や脊髄損傷の患者において、障害された手と同側の皮質運動関連領域の活動が増加することが知られていたが、その意義は明らかでなかった。今回の一連の研究により、少なくとも回復初期において、障害同側運動前野の活動が、脱抑制によって、反対側皮質によってもたらされ、かつ機能回復に貢献していることが明らかになったことは、運動障害のリハビリテーション治療を体系づける上での意義は大きいと考える。

研究成果の概要（英文）：Our previous studies showed that after the partial injury of the spinal cord in monkeys, the dexterous hand movements well recovered through rehabilitative trainings. In the present study, we made extensive electrocorticography recordings from bilateral motor-related cortical areas during reach and grasp task, and found that the activity of ipsilesional premotor cortex preceding the movement onset increased during the early recovery period. To study the contribution of the interhemispheric effects from the contralesional side, we selectively blocked the callosal fibers using the double viral vector technique with DREADD, and found that the interhemispheric inhibition before the injury turned to interhemispheric facilitation during recovery and promoted contribution of the ipsilesional premotor cortex to recovery of hand functions.

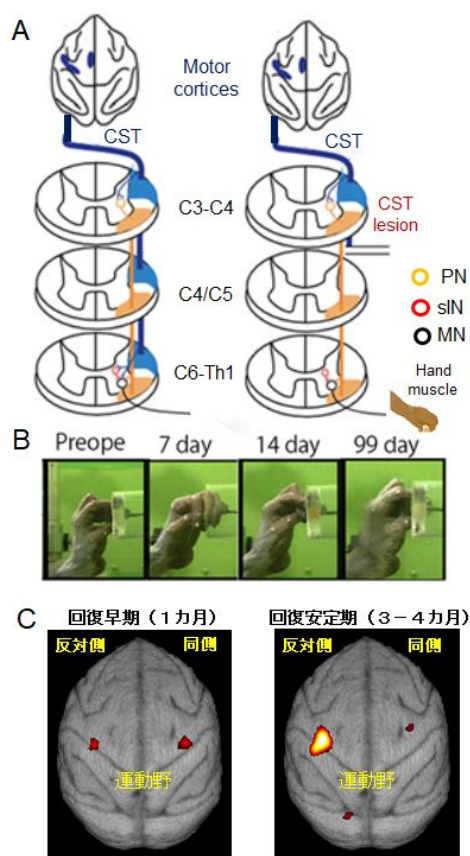
研究分野：神経生理学

キーワード：機能回復 運動制御 脊髄損傷 霊長類 半球間抑制 巧緻運動 回路操作 ウイルスベクター

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高等霊長類においては一次運動野 V 層の錐体細胞は反対側の脊髄に下行し、脊髄運動ニューロンに直接結合する (図 1A 左)。この直接経路が手指の巧緻運動に重要な働きをすることは知られていた (Kuypers 1982, Buys et al. 1986)。我々は頸髄で皮質脊髄路を切断したマカクザルにおいて (図 1A 右)、手指の巧緻運動は一旦障害されるが訓練を繰り返すと数週間で相当程度回復することを見出した (図 1B、Sasaki et al., 2004)。そしてその回復過程の初期 (1 か月以内) において、脊髄損傷による運動予測誤差の急激な増大を反映し、両側の一次運動野及び運動前野において活動が増大することを見出した (図 1C)。そしてこのうち新たに運動時に活動を増加させることが明らかになった損傷同側の一次運動野の機能を GABA 受容体のアゴニストである muscimol の微量注入によって薬理的に可逆的に阻害すると、回復してきていた巧緻運動が再度障害されたことから、回復初期において同側一次運動野が重要な役割を果たすことが明らかにされた (Nishimura et al. 2007)。それでは、この同側一次運動野の活動がどのようなメカニズムによって亢進し、さらに巧緻運動の回復に貢献することを解明するため、両側の一次運動野、運動前野、一次体性感覚野に多数の皮質脳波 (ECoG) 電極を慢性留置して、それらの電極で記録される脳活動間を脊髄損傷前後の経過を縦断的に観察し、電極間の Granger causality を調べたところ、損傷反対側の運動前野から同側の運動前野への信号の流れが損傷後一過性に増大することが明らかになった (Chao et al., 2019)。そこでこの信号の流れが実際に同側一次運動野の活性化と機能回復に貢献するかどうかを、この信号の流れを選択的に遮断することで検証することにした。



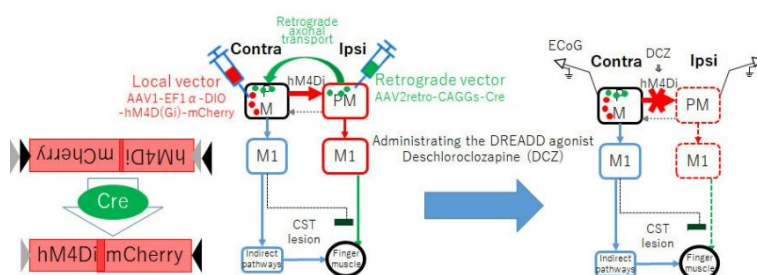
(図 1) A. 皮質脊髄路から手の運動ニューロンへの信号伝達経路 (左) と頸髄での皮質脊髄路損傷モデル (右)。PN: 脊髄固有ニューロン、sIN: 筋節内介在ニューロン、MN: 運動ニューロン。B. 損傷後の精密把持運動の回復過程。C. 機能回復の早期 (左) と安定期 (右) における到達把持運動に関連する脳活動の PET によるイメージング (Nishimura et al. Science, 2007)

2. 研究の目的

頸髄での皮質脊髄路損傷からの回復過程の初期段階において、損傷同側の一次運動野の活動が上昇して機能回復に貢献するが、その活動が損傷反対側運動前野から損傷同側運動前野への交連性経路によって誘発され、機能回復に貢献するのかを検証する。

3. 研究の方法

正面に提示した小さいイモ片を、右手を用いて到達 - 精密把持でつまんで食べる動作を訓練したニホンザル 2 頭において、損傷を行う右側と同側の右運動前野に逆行性ベクター AAV2retro-CAGGs-Cre、反対側 (左) 運動前野に AAV1-EF1a-DIO-hM4Di-mCherry を注入する (図 2)。さらに両側の運動前野、一次運動野、一次体性感覚野に多数の皮質脳波 (ECoG) 電極を慢性的に配置する。そして頸髄損傷前、さらに頸髄損傷後の回復期の各段階において hM4Di の agonist である Deschloroclozapine (DCZ) (Nagai et al. 2020) をサルに投与し、巧緻運動、そして両側皮質における運動関連電位、そしてそれらの間の Granger causality を解析し、反対側運動前野から同側運動前野への信号の流れが損傷前と損傷後に果たす機能を明らかにする。



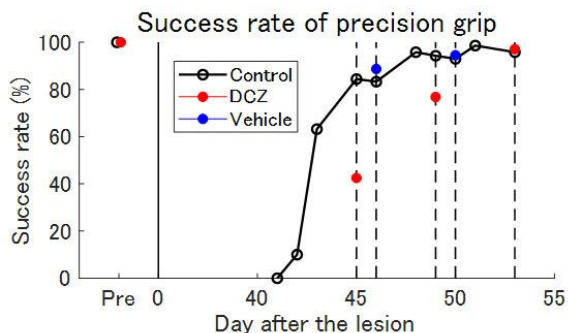
(図 2) 実験手法。損傷同側運動前野 (PM) に AAV2retro-CAGGs-Cre を注入し、損傷反対側 PM に AAV1-EF1a-DIO-hM4Di-mCherry を注入し、DCZ を投与すると損傷反対側 PM から同側 PM への経路が一方方向性に遮断される。

4. 研究成果

まず、脊髄損傷前に DCZ を投与したところ、サルの到達 把持運動に特段の影響は観察されなかった。また、DCZ の投与時の両側運動前野間の皮質脳波活動の強さを Granger causality によって評価したところ、左運動前野から右運動前野への Granger causality が特に低周波帯域 (8-13Hz, 帯域) において減弱したのに対し、反対向きの右運動前野から左運動前野へは特段変化が見られなかった。このことは DREADD 法による経路の遮断が一方方向性できていることを示していた。

その後、中部頸髄(C4/C5 髄節)における側索背側部を切断したが、いずれにサルも既報の通り、訓練により 1 - 2 か月の経過で手指の巧緻運動は良く回復した(図3の白丸)(Sasaki et al. 2004)。その際、両側運動関連領域の活動を ECoG 電極を用いて縦断的に記録したところ、回復初期に損傷同側運動前野において、これも既報の通り、運動開始時に活動の増加を認めた(Nishimura et al. 2007; Chao et al. 2019)。この運動開始時の同側運動野の活動に対する反対側運動前野からの入力を知るために、DCZ の投与によって反対側(左)運動前野から同側(右)運動前野に至る交連線維を可逆的に遮断したところ、回復してきていた手指の巧緻運動は著しく障害された(図3の赤丸)。尚、Vehicle の投与では効果が観察されなかった(図3の青丸)。

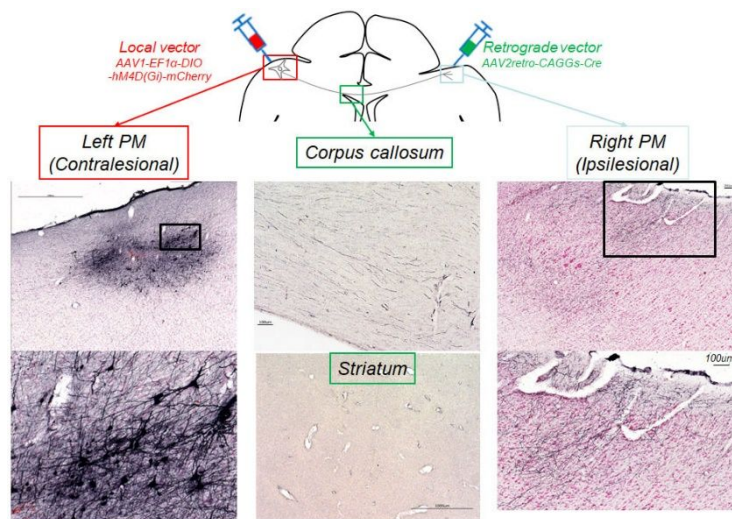
さらに到達把持運動の実行の際の右一次運動野の皮質脳波活動を解析すると、損傷前は DCZ の投与によって運動開始直前の 帯域の活動が増加したのに対し、損傷後回復過程では、逆に減弱していた。このことは、損傷前は抑制性であった半球間の相互作用が損傷後は興奮性に転じ、同側運動前野の運動への関与を促進していることを示唆している。



(図3) 損傷前後の各日における精密把持運動の成功率(白丸)に対して、DCZ投与後(赤丸)及びVehicle(青丸)投与後の成功率。回復過程においてDCZ投与が成功率を顕著に低下させることを示している。

さらに行動実験の終了後、組織切片を作製し、両側 PM 及び脳梁において mCherry に対する免疫組織化学染色を行うと、損傷

反対側 PM においては 2 - 3 層の錐体細胞が染色され、脳梁においては大量の軸索が、そして損傷同側 PM においては全層、特に 2 - 3 層に多くの週末が染色されたが細胞体は染色されなかったことは伝達障害が一方方向性に行われていたことを示している(図4)。さらにげっ歯類などでは、両側皮質間の交連線維の起源となる細胞が線条体に多く軸索側枝を投射することが知られているが、今回線条体において染色された軸索はそれほど多くなかった。従って今回観察された行動と脳活動への影響は、反対側(左)運動前野から同側(右)運動前野への信号のながれとお遮断したためと裏付けられた。



(図4) 両側PM、脳梁(corpus callosum)及び線条体(striatum)における抗mCherry免疫組織化学染色。

5. 結論

以上の結果は、脊髄損傷からの回復初期過程において、損傷反対側の運動前野から損傷同側の運動前野への信号の流れが同側運動野の活動を促進し、機能回復の貢献することが明らかになった。

文献

Buyts EJ, Lemon RN, Mantel GW, Muir RB (1986) Selective facilitation of different hand muscles by single corticospinal neurones in the conscious monkey. *J. Physiol. (Lond)*, 381: 529-549.

Chao ZC, Sawada M, Isa T, Nishimura Y (2019) Dynamic reorganization of motor networks during recovery from partial spinal cord injury in monkeys. *Cerebral Cortex*, 29:3059-3073.

Kuypers HG (1982) A new look at the organization of the motor system. *Prog Brain Res* 57:381–403.

Nagai Y, Miyakawa N, Takuwa H, Hori Y, Oyama K, Ji B, Takahashi M, Huang XP, Slocum ST, DiBerto JF, Xiong Y, Urushihata T, Hirabayashi T, Fujimoto A, Mimura K, English JG, Liu J, Inoue KI, Kumata K, Seki C, Ono M, Shimojo M, Zhang MR, Tomita Y, Nakahara J, Suhara T, Takada M, Higuchi M, Jin J, Roth BL, Minamimoto T (2020) Deschloroclozapine, a potent and selective chemogenetic actuator enables rapid neuronal and behavioral modulations in mice and monkeys. *Nat Neurosci.* 23:1157-1167.

Nishimura Y, Onoe T, Morichika Y, Perfiliev S, Tsukada H, Isa T (2007) Time-dependent central compensatory mechanism of finger dexterity after spinal-cord injury. *Science*, 318: 1150-1155.

Sasaki S, Isa T, Pettersson L-G, Alstermark B, Naito K, Yoshimura K, Seki K, Ohki Y (2004) Dexterous finger movements in primate without monosynaptic corticomotoneuronal excitation. *J. Neurophysiol.*, 92:3142-3147.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Suzuki Michiaki, Onoe Kayo, Sawada Masahiro, Takahashi Nobuaki, Higo Noriyuki, Murata Yumi, Tsukada Hideo, Isa Tadashi, Onoe Hirotaka, Nishimura Yukio	4. 巻 30
2. 論文標題 The Ventral Striatum is a Key Node for Functional Recovery of Finger Dexterity After Spinal Cord Injury in Monkeys	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cerebral Cortex	6. 最初と最後の頁 3259 ~ 3270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cercor/bhz307	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 -
1. 著者名 Kato Rikako, Hayashi Takuya, Onoe Kayo, Yoshida Masatoshi, Tsukada Hideo, Onoe Hirotaka, Isa Tadashi, Ikeda Takuro	4. 巻 online ahead of print
2. 論文標題 The posterior parietal cortex contributes to visuomotor processing for saccades in blindsight macaques	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-01804-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Koshimizu Yoshinori, Isa Kaoru, Kobayashi Kenta, Isa Tadashi	4. 巻 online ahead of print
2. 論文標題 Double viral vector technology for selective manipulation of neural pathways with higher level of efficiency and safety	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gene Therapy	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41434-020-00212-y	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 -
1. 著者名 Zubair Muhammad, Murriss Sjoerd R, Isa Kaoru, Onoe Hirotaka, Koshimizu Yoshinori, Kobayashi Kenta, Vanduffel Wim, Isa Tadashi	4. 巻 online ahead of print
2. 論文標題 Divergent Whole Brain Projections from the Ventral Midbrain in Macaques	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cerebral Cortex	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cercor/bhaa399	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Takakuwa Norihiro, Isa Kaoru, Onoe Hirota, Takahashi Jun, Isa Tadashi	4. 巻 41
2. 論文標題 Contribution of the Pulvinar and Lateral Geniculate Nucleus to the Control of Visually Guided Saccades in Blindsight Monkeys	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1755 ~ 1768
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.2293-20.2020	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 -

1. 著者名 Tadashi Isa	4. 巻 42
2. 論文標題 Dexterous Hand Movements and Their Recovery After Central Nervous System Injury	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annual review of neuroscience	6. 最初と最後の頁 315-335
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1146/annurev-neuro-070918-050436	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 -

1. 著者名 Yoko Sugiyama, Takao Oishi, Akiko Yamashita, Yumi Murata, Tatsuya Yamamoto, Ichiro Takashima, Tadashi Isa, Noriyuki Higo	4. 巻 1714
2. 論文標題 Neuronal and microglial localization of secreted phosphoprotein 1 (osteopontin) in intact and damaged motor cortex of macaques	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain research	6. 最初と最後の頁 52-64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.brainres.2019.02.021.	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 -

1. 著者名 Tatsuya Umeda, Tadashi Isa, Yukio Nishimura	4. 巻 5
2. 論文標題 The somatosensory cortex receives information about motor output	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaaw5388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aaw5388	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Akimasa Ishida, Kenta Kobayashi, Yoshitomo Ueda, Takeshi Shimizu, Naoki Tajiri, Tadashi Isa, Hideki Hida	4. 巻 39
2. 論文標題 Dynamic Interaction between Cortico-Brainstem Pathways during Training-Induced Recovery in Stroke Model Rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 7306-7320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.0649-19.2019	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 -

1. 著者名 Suzuki M, Onoe K, Sawada M, Takahashi N, Higo N, Murata Y, Tsukada H, Isa T, Onoe H, Nishimura Y.	4. 巻 in press
2. 論文標題 The Ventral Striatum is a Key Node for Functional Recovery of Finger Dexterity After Spinal Cord Injury in Monkeys.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cerebral Cortex	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cercor/bhz307	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 -

1. 著者名 Tadashi Isa, Masahiro Mitsuhashi, Reona Yamaguchi	4. 巻 32
2. 論文標題 Alternative routes for recovery of hand functions after corticospinal tract injury in primates and rodents	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Opinion in Neurology	6. 最初と最後の頁 836-843
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/WCO.0000000000000749.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kaoru Isa, Thongchai Sooksawate, ;Kenta Kobayashi, Kazuto Kobayashi, Peter Redgrave, Tadashi Isa	4. 巻 729772
2. 論文標題 Difference in context-dependency between orienting and defense-like responses induced by the superior colliculus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 729772
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/729772	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 8件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 Tadashi Isa
2. 発表標題 Systems neuroscience of functional recovery after brain and spinal cord Injury
3. 学会等名 1st Taiwan Society for Neuroscience Meeting (Plenary Lecture) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tadashi Isa
2. 発表標題 Neural circuit mechanism of functional recovery after brain and spinal cord injury
3. 学会等名 第98回日本生理学大会 萩原生長記念レクチャー (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Satoko Ueno, Reona Yamaguchi, Kaoru Isa, Toshinari Kawasaki, Masahiro Mitsuhashi, Tadashi Isa
2. 発表標題 Massive re-routing of the corticospinal tract fibers accompanying recovery from spinal cord injury in macaque monkey
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masahiro Mitsuhashi, Reona Yamaguchi, Toshinari Kawasaki, Satoko Ueno, Tadashi Isa
2. 発表標題 Contribution of interhemispheric pathways between the motor-related cortical areas during recovery after the corticospinal tract lesion in macaque monkeys
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Reona Yamaguchi, Toshinari Kawasaki, Zenas C Chao, Masahiro Mitsuhashi, Satoko Ueno, Tadashi Isa
2. 発表標題 Global disinhibition across cortical networks for recovery of hand movements after spinal cord injury
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Toshinari Kawasaki, Reona Yamaguchi, Zenas C Chao, Masahiro Mitsuhashi, Satoko Ueno, Yukihiro Yamao, Takayuki Kikuchi, Kazumichi Yoshida, Susumu Miyamoto, Tadashi Isa
2. 発表標題 Resting-state functional connectivity with electrocorticography as a biomarker of motor recovery after spinal cord injury in macaque monkeys
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Satoko Ueno, Reona Yamaguchi, Kaoru Isa, Toshinari Kawasaki, Masahiro Mitsuhashi, Tadashi Isa
2. 発表標題 Massive re-routing of corticospinal projection after functional recovery from spinal cord injury in the macaque monkey
3. 学会等名 第98回日本生理学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yusuke Yamamoto, Reona Yamaguchi, Tomohiko Takei, Zenas C. Chao, Tadashi Isa
2. 発表標題 Activity of frontal network for performance of forced-choice manual response task in blindsight monkey
3. 学会等名 Annual Meeting of the Society for Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tadashi Isa
2. 発表標題 Neural mechanisms and functions of blindsight
3. 学会等名 IBRO2019 Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tadashi Isa
2. 発表標題 Cortical oscillatory network for recovery from spinal cord injury
3. 学会等名 International Symposium on Neural Oscillation 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tadashi Isa
2. 発表標題 Global disinhibition as a key mechanism for the recovery of hand functions after spinal cord injury
3. 学会等名 The 29th Annual Meeting of the Society for Neural Control of Movement (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tadashi Isa
2. 発表標題 How does the non-conscious visuo-motor function emerge after damage to the primary motor cortex?
3. 学会等名 1st CU-KU Symposium and 4th CU-NIPS Symposium "Advances in Neuroscience Research" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊佐 正
2. 発表標題 機能回復の脳科学
3. 学会等名 第3回全国在宅医療医歯薬連合会全国大会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊佐 正
2. 発表標題 基礎研究の魅力：日本神経科学学会会長から
3. 学会等名 第60回日本神経学会学術集会 シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>京都大学大学院医学研究科 高次脳科学講座 神経生物学分野 https://nscinbiol.med.kyoto-u.ac.jp/researchmap 伊佐 正 https://researchmap.jp/tadashi isa/?lang=japanese 京都大学医学研究科神経生物学分野 https://www.med.kyoto-u.ac.jp/organization-staff/research/doctoral_course/r-019/ 京都大学ヒト生物学高等研究拠点 伊佐グループ https://ashbi.kyoto-u.ac.jp/ja/groups/isa/ Project 01 脳・脊髄損傷からの機能回復機構 https://nscinbiol.med.kyoto-u.ac.jp/projects/</p>

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
---------	---------