

令和元年6月13日現在

機関番号：33111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K16445

研究課題名（和文）脳出血後のスキル学習におけるマルチタスクの有効性と脳内作用機序の解明

研究課題名（英文）Effect of motor skills training on the central nerve system after intracerebral hemorrhage in rats

研究代表者

玉越 敬悟 (Tamakoshi, Keigo)

新潟医療福祉大学・リハビリテーション学部・助教

研究者番号：30632658

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、脳出血モデルラットを用いて、スキル学習が神経可塑性関連因子に及ぼす影響について検証した。コラゲナーゼ注入法を用いて脳出血モデルラットを作製し、アクロバティック課題を術後4日目から28日目まで実施した。リアルタイムPCR法を用いて、神経可塑性関連因子のmRNA発現量を解析した。その結果、脳出血後のスキル学習は、感覚運動野におけるグルタミン酸受容体（AMPA受容体）、樹状突起関連因子（MAP2）、脳神経由来神経栄養因子（BDNF）のmRNA発現量を促進させることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳卒中リハビリテーションにおいて、運動療法は運動麻痺を改善させることができ、臨床現場では、様々な運動療法が展開されている。しかし、科学的根拠に基づいた運動療法が提供されているとは言い難く、それぞれの運動療法の効果を早急に追究する必要がある。本研究では、脳卒中後のスキル学習が脳機能を改善させ、機能回復を促進させる有効な運動療法であることを示した。本研究は、脳卒中後の運動療法としてスキル学習の有効性を示した研究資料として重要な意義を持つ。

研究成果の概要（英文）：Motor skills training promote motor functional recovery and enhance synaptic plasticity after stroke. This study was focused on the effects of motor skills training on the expression of AMPA receptors subunits, MAP2, BDNF, and GAP43 mRNA following intracerebral hemorrhage (ICH) in rats. The mRNA expression of AMPA receptor subunits, GluR1, GluR2, GluR3 and GluR4, MAP2, BDNF, and GAP43 in bilateral sensorimotor cortex was analyzed using real-time PCR at 29 days after ICH. Our results suggest that sensorimotor functional recovery following motor skills training after ICH is promoted by dendritic growth and AMPA receptors in the ipsilesional sensorimotor cortex.

研究分野：神経生理学

キーワード：脳出血 スキル学習 神経可塑性

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

### 1. 研究開始当初の背景

脳卒中後遺症である運動麻痺は、日常生活活動を著しく低下させる運動機能障害であり、機能回復や二次的障害の予防のために発症後早期からのリハビリテーションが重要視されている。脳卒中リハビリテーションにおいて、運動療法は運動麻痺を改善させることができる治療であり、臨床現場では、理学療法士や作業療法士によって様々な運動療法が展開されている。しかし、科学的根拠に基づいた運動療法が提供されているとは言い難く、それぞれの運動療法の効果を早急に追究する必要がある。さらに、医療制度改革によって在院日数の短縮化が進む中で、脳卒中患者の社会復帰や在宅復帰を早期に目指すためには、効果的かつ効率的な運動療法を探索もしくは開発することが必要である。申請者は、脳出血モデルラットを用いてスキル学習を取り入れた運動療法の効果について検証している。運動麻痺の機能を回復するためにスキルを必要とする運動を行うと、単純な運動よりも機能回復が促進する (Jones.TA, Journal of Neuroscience, 1999) が、機能回復の特性や脳内作用機序について不明な点が多い。申請者はこれまでの研究で、脳出血モデルラットに両側四肢および全身の協調機能が必要なスキル学習として、アクロバティックタスクを用いて、機能回復の特性や脳内作用メカニズムを検証してきた。これまでの研究成果で、脳出血モデルラットにアクロバティック運動を行うと、前後肢の運動麻痺や協調運動機能の回復を促進させることが分かった。同時に感覚運動野における組織学的、生化学的解析を行い、持続的に活動した神経細胞の増加と、シナプスに豊富に含まれている PSD95 タンパク発現量の増加が関与していることを明らかにした (K.Tamakoshi.et.al.,Behavioural Brain Research, 2014)。本研究は、脳出血後のスキル学習による分子機序を明らかにするとともに、効率的な運動療法を考案することを目的とした。

### 2. 研究の目的

本研究は、脳出血後のスキル学習が感覚運動野における AMPA 受容体に及ぼす影響について検証した。また、樹状突起関連因子 (MAP2)、脳神経由来神経栄養因子 (BDNF)、軸索成長関連因子 (GAP43) に及ぼす影響についても検証した。

### 3. 研究の方法

実験動物には Wistar 系雄性ラット (250~270 g) を用いた。対象を無作為に偽手術群 (SHAM 群; n=6)、脳出血 + 非運動群 (ICH 群; n=6)、脳出血 + スキルトレーニング群 (ICH+AT 群; n=6) の 3 群に分けた。脳出血モデルは、まず、ラットを深麻酔下にて脳固定装置に装着した後、頭頂部の皮膚切開を行い、頭蓋骨表面のプレグマから左外側 3.0 mm、前方 0.2 mm の位置に小穴をあけ、次に、マイクロインジェクションポンプにつないだカニューレを頭蓋骨表面から 6.0 mm の深さまで挿入し、コラゲナーゼ (200 U/ml, 1.2 ul) を注入して作製した。スキルトレーニング群は、全身の協調運動、運動学習が必要なトレーニングとしてアクロバティック課題を実施した。トレーニング内容は、格子台、縄梯子、綱渡り、平行棒、障壁の 5 課題で各コース長 1 m を移動させた。介入は、術後 4~28 日まで、1 日 4 回実施した。感覚運動機能評価は modified limb placing と postural instability test を用いて経時的に実施した。脳出血後 29 日目に深麻酔下で灌流脱血を行い、両側の大脳皮質感覚運動野および線条体を採取した。リアルタイム PCR (ABI 7300 PCR system) を用いて、AMPA 受容体サブユニットである GluR1, GluR2, GluR3, GluR4 の mRNA 発現量を解析した。定量方法は  $\Delta\Delta Ct$  法を用いた。さらに、樹状突起関連因子 (MAP2)、脳神経由来神経栄養因子 (BDNF)、軸索成長関連因子 (GAP43) の mRNA 発現量を解析した。

### 4. 研究成果

運動機能評価から前肢の運動機能障害において、ICH+AT 群は、ICH 群より有意な改善を示した。AMPA 受容体サブユニットの mRNA 発現量の解析から、傷害側大脳皮質の全 AMPA 受容体サブユニットにおいて ICH+AT 群は、ICH 群より有意に高値を示した。非傷害側においては、ICH+AT 群と ICH 群に有意な差はなかった。また、線条体においても両側で ICH+AT 群と ICH 群に有意な差はなかった。ICH+AT 群は、MAP2 および BDNF の mRNA 発現量を増加促進した。これらの結果から、脳出血後のスキル学習は、グルタミン酸受容体、樹状突起関連因子、神経栄養因子の発現促進によって運動機能回復を促進させることが示された。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

Tamakoshi.K, Ishida K, Hayao K, Takahashi H, Tamaki H : Behavioral Effect of Short- and Long-Term Exercise on Motor Functional Recovery after Intracerebral Hemorrhage in Rats. J Stroke Cerebrovasc Dis, 27(12) 3630-3635, 2018

Tamakoshi.K, Nishii Y, Minematsu A : Upward running is more beneficial than level surface or downslope running in reverting tibia bone degeneration in ovariectomized rats. J Musculoskelet Neuronal Interact, 18(4) 493-500, 2018

Tamakoshi.K, Ishida.K, Kawanaka.K, Takamatsu.Y Tamaki.H : Motor skills training enhances AMPA receptor subunit mRNA expression in the ipsilateral sensorimotor cortex and striatum of rats following intracerebral hemorrhage. J Stroke Cerebrovasc

Dis, 26(10), 2232-2239, 2017

Tamakoshi.K, Kawanaka.K, Onishi.H, Takamatsu.Y, Ishida.K : Motor skills training improves sensorimotor dysfunction and increases MAP2 mRNA expression in rats with intracerebral hemorrhage, J Stroke Cerebrovasc Dis, 25(8), 2071-2077, 2016

[学会発表](計 17 件)

玉越敬悟, 大西秀明, 高松泰行, 石田和人: 脳出血後のスキルトレーニングが脳皮質および線条体の AMPA 受容体サブユニットに与える影響. 第 51 回日本理学療法学会(札幌) 2016.5

玉越敬悟, 石田和人, 高松泰行, 中川弘毅, 早尾啓志, 田巻弘之: 脳出血モデルラットにおけるトレッドミル走行の実施時期の違いが運動機能回復および組織傷害に与える影響. 第 94 回日本生理学会(浜松) 2017.3

玉越敬悟, 石田和人, 高松泰行, 中川弘毅, 早尾啓志, 田巻弘之. 脳出血モデルラットにおけるトレッドミル走行の実施時期の違いが運動機能回復および組織傷害に与える影響. 第 52 回日本理学療法学会(千葉), 2017.5

Tamakoshi K, Ishida K, Hayao K, Takahashi H, Tamaki H. Early treadmill exercises inhibit cortical thickness atrophy following intracerebral hemorrhage in rats. The 40st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society(Kobe), Jul. 2017

Tamakoshi K, Ishida K, Hayao K, Takahashi H, Tamaki H. Effect of early and late treadmill training on motor functional recovery and the cerebral cortex after hemorrhage in rats. Society for Neuroscience 2017(USA), Nov. 2017

玉越敬悟, 石田和人, 早尾啓志, 高橋英明, 田巻弘之. 脳出血モデルラットにおける早期トレッドミル走行は脳皮質の萎縮を抑制し機能改善を促進する. 第 24 回脳機能とリハビリテーション研究会学術集会(千葉), 2017.4

玉越敬悟, 石田和人, 早尾啓志, 高橋英明, 田巻弘之. 脳出血後の運動機能障害は脳梗塞と比較して自然回復が早い. 第 24 回脳機能とリハビリテーション研究会学術集会(千葉), 2017.4

玉越敬悟, 石田和人, 早尾啓志, 高橋英明, 田巻弘之. 脳出血後の早期リハビリテーションが運動機能回復および組織傷害に及ぼす影響. 第 25 回日本運動生理学会(横浜), 2017.7

玉越敬悟, 石田和人, 早尾啓志, 高橋英明, 田巻弘之. 脳卒中リハビリテーションの開始時期の違いが運動機能回復および組織傷害に及ぼす影響. 第 16 回コメディカル形態機能学会(名古屋), 2017.9

玉越敬悟, 石田和人, 早尾啓志, 高橋英明, 田巻弘之. 脳出血モデルラットにおける超早期リハビリテーションが運動機能回復および大脳皮質感覚運動野に及ぼす影響. STROKE2018(福岡), 2018.3

Tamakoshi K, Ishida K, Hayao K, Takahashi H, Tamaki H. Effect of very early exercise on motor functional recovery and brain damage after hemorrhage in rats. The 95th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan(Kagawa), Mar. 2018

Tamakoshi K, Ishida K, Hayao H, Takahashi H, Tamaki H. Early rehabilitation inhibits inflammation and aids motor function recovery after intracerebral hemorrhage in rats. The 41st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society(Kobe), 2018.7

玉越敬悟, 石田和人, 高橋英明, 早尾啓志, 田巻弘之. 脳卒中リハビリテーションの開始時期の違いが運動機能障害および大脳皮質感覚運動野に及ぼす影響. 第 25 回脳機能とリハビリテーション研究会学術集会(千葉), 2018.8

玉越敬悟, 田巻弘之. 脳出血モデルラットにおける超早期リハビリテーションが運動機能回復および中枢神経系に及ぼす影響. 第 26 回日本運動生理学会(大阪), 2018.7.28~29

玉越敬悟, 石田和人, 高橋英明, 早尾啓志, 田巻弘之. 脳梗塞後および脳出血後の運動介入が運動機能改善および組織傷害に与える効果の比較検証. 第 23 回日本基礎理学療法学会学術大会(京都), 2018.12

玉越敬悟, 石田和人, 高橋英明, 早尾啓志, 田巻弘之. 脳出血後の早期運動介入は感覚運動野における樹状突起の退縮と神経細胞死を抑制する. 第 61 回脳循環代謝学会(岩手), 2018.10

Tamakoshi K, Hayao K, Takahashi H, Tamaki H. Early exercise inhibits inflammation and promotes neuroprotection in intracerebral hemorrhage rats. 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (Kobe), 2019.3

(2)研究協力者

研究協力者氏名：田巻弘之

ローマ字氏名：TAMAKI HIROYUKI

研究協力者氏名：高橋英明

ローマ字氏名：TAKAHASHI HIDEAKI

研究協力者氏名：早尾啓志

ローマ字氏名：HAYAO KEISHI

研究協力者氏名：石田和人

ローマ字氏名：ISHIDA KAZUTO

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。