

令和 4 年 6 月 11 日現在

機関番号：22101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K17725

研究課題名（和文）半側空間無視マウスモデルの確立と回復能の週齢差に着目した回復促進因子の同定

研究課題名（英文）Establishment of a mouse model of unilateral spatial neglect

研究代表者

石井 大典 (Ishii, Daisuke)

茨城県立医療大学・保健医療学部・准教授

研究者番号：30803291

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：半側空間無視（Unilateral Spatial Neglect: USN）は、大脳半球の損傷により生じる高次脳機能障害の1つで、損傷した大脳半球とは反対側へ注意を向けることや反応することが障害される。USN患者では脳の損傷部位が様々であり、呈する症状も一定でないことからリハビリテーションの効果を検証するのが難しく、USNに対するエビデンスの高い訓練は少ない。そこで本研究は、条件の統制が可能な半側空間無視モデルマウスの作製を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

半側空間無視（Unilateral Spatial Neglect: USN）は、大脳半球の損傷により生じる高次脳機能障害の1つで、損傷した大脳半球とは反対側へ注意を向けることや反応することが障害される。USNを呈した患者は、更衣や移動といった日常生活活動に支障を来し、在宅への復帰が困難となる。USN患者では脳の損傷部位が様々であり、呈する症状も一定でないことからリハビリテーションの効果を検証するのが難しく、USNに対するエビデンスの高い訓練は少ない。そこで、本研究ではUSNのモデルマウスを作製し、統制された条件下で効果的な治療法の開発へと展開するための基盤研究を行った。

研究成果の概要（英文）：Unilateral spatial neglect (USN) is a disorder of higher brain function that occurs after a brain injury, such as stroke, because patients with this condition often have other symptoms due to the presence of several brain lesions, it is difficult to evaluate the recovery mechanisms and effect of training on unilateral spatial neglect. In this study, we induced a focal infarction in the right medial agranular cortex (AGm) of mice using photothrombosis, and created a mouse model of USN.

研究分野：神経科学

キーワード：半側空間無視 脳卒中 動物モデル リハビリテーション

1. 研究開始当初の背景

半側空間無視 (Unilateral Spatial Neglect: USN) は、大脳半球の損傷により生じる高次脳機能障害の 1 つで、損傷した大脳半球とは反対側へ注意を向けることや反応することが障害される。USN を呈した患者は、更衣や移動といった日常生活活動に支障を来し、在宅への復帰が困難となる (Gillen et al. Arch Phys Med Rehabil 2005)。USN 患者では脳の損傷部位が様々であり、呈する症状も一定でないことからリハビリテーションの効果を検証するのが難しく、USN に対するエビデンスの高い訓練は少ない。

近年、若年者では USN の回復能が高く、高齢であるほど USN が残存しやすいこと (Sugawara et al. 理学療法科学 2009) が報告され、USN のリハビリテーションにおいて年齢による回復能力の差に着目した治療法の開発に注目が集まっている。

2. 研究の目的

本研究は、USN の効果的な治療法の開発へと展開するための基盤研究を目的に、まず、若年の USN モデルマウスを作製し、USN 動物モデルに対する評価方法の確立を進めた。

続いて、若い脳と高齢の脳とを比較し、回復レベルの差やその機序に関わる分子メカニズムを調べるため、高齢 USN モデルマウスの作製を試みた。

3. 研究の方法

(1) 局所性脳梗塞マウスの作製

先行研究に準じ (Watson et al. Ann Neurol, 1985) マウスの右 Medial agranular cortex (AGm) に局所性脳梗塞を作製した (図 1)。まず、マウス (C57/BL6J, 12 週齢) に対して、セボフルラン吸入麻酔下にて 1% Rose Bengal の腹腔内投与 (100 mg/kg) を行う。続いて、右 AGm 領域に直径 0.4 μm の光ファイバーを用いて緑色光を 15 分間照射し (波長: 540 nm) 局所性脳梗塞を作製する。Rose Bengal は、540 nm の波長の緑色光を照射されると励起状態になり、活性酸素を発生する。この生成された活性酸素は、血管内皮細胞を傷害することで血小板を活性化し、血栓を形成する (図 1A)。ヒトで多く見られる左空間を無視するマウスモデルを作製するため、右大脳皮質に梗塞を作製した。半側空間無視様行動の最終評価後 (脳梗塞後 18 日目)、脳を取り出し、ニッスル染色後に損傷領域を同定した (図 1C)。

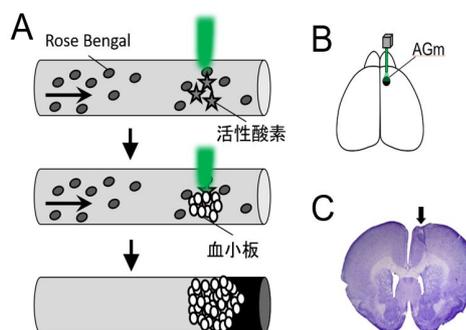


図 1: 脳梗塞の作製

A: Rose Bengal による血栓の形成過程。B: Rose Bengal の腹腔内投与後、右 AGm 領域に光ファイバーを用いて、緑色光を 15 分間照射した。C: 梗塞部位はニッスル染色によって同定された。矢印は梗塞部位を示す。

(2) 半側空間無視様行動の評価

USN 様行動は、マウスを 8 方向迷路上で自由に移動させ、その左レーンの選択率を比較して評価した。具体的な例を図 2 に示す。本迷路において、正常マウスでは分岐点での左選択率は 43% となる (左 - / 全てのレーン) が、左への能動的注意の障害が生じている場合は、右 - または直進を選択する確率が増える。この現象は、临床上、左 USN 患者で認められるもので、USN 患者は左側にある通路や病室を無視する。本行動実験のデータ解析は、ビデオ行動解析システムを用いて定量化した。

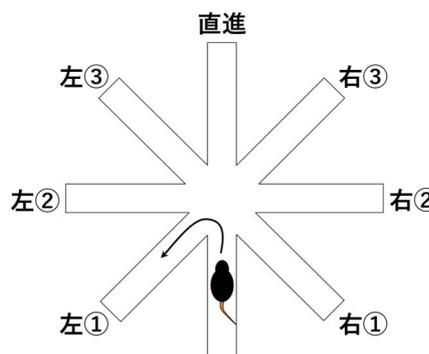


図 2: 半側空間無視の評価

左 - に進入した回数を左進入回数、右 - に進入した回数を右進入回数とする。総進入回数は左・右・直進進入回数の総和とする。

4. 研究成果

(1) 脳梗塞部位の同定

梗塞の大きさが USN の重症度や回復過程に影響するかどうかを調べるため、光血栓法を用いて右 AGm に局所脳梗塞を作製し、その後、行動評価を行った。光血栓法による局所梗塞の

部位を図3に示す。平均梗塞体積は $0.453 \pm 0.036 \text{ mm}^3$ であり、すべての病変がAGm領域内で確認された(図3)。

(2) 半側空間無視様行動

AGm梗塞による半側空間無視様行動を評価するため、8アーム放射状迷路を用いて脳梗塞前テスト(Pre)、脳梗塞後テスト(Postoperative Day; POD)を9回行った(図4)。マウスが迷路の左側のアームを選択する確率を算出した(左選択率)。POD2において、脳卒中群(Stroke群)は対照群に比べ、左選択率が有意に低下した。梗塞作製後に確認された左選択率の低下は、POD6の時点でベースラインのレベルに戻った。

(3) 梗塞部位とUSNの重症度および回復の関連

梗塞サイズ・部位とUSNの重症度、および梗塞部位と回復の関係を検討した。その結果、損傷のサイズが大きいほど、症状の重症度は高く、損傷部位が前方に位置する場合は、回復が遅延した。

これらの結果は、吻側AGm損傷マウスは回復率が低く、半側空間無視の回復には吻側AGmでの神経可塑性が必要であることを示唆している。また、本研究で用いた半側空間無視の評価法は、簡易かつ客観的であり、マウスの空間バイアスを調べるのに有益である。本研究により確立された動物モデルと評価法は、ヒトの半側空間無視の効果的な治療法の開発研究の発展に貢献できる。

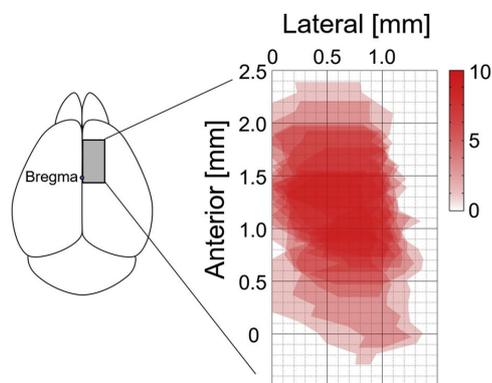


図3: 梗塞部位の同定

カラーコードは、損傷部位が重複している個体数を表す。n = 6以上重なった梗塞部位は、ブレグマの前方約0.6-1.8mm、正中線の外側0-1.1mmであった。

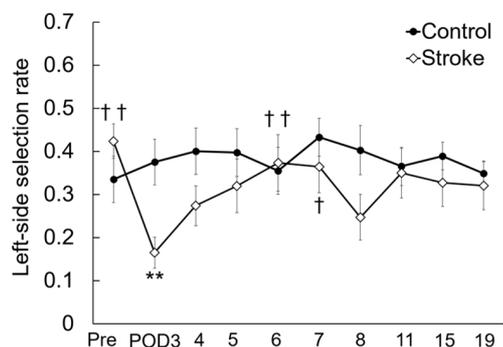


図4: 半側空間無視様行動

脳梗塞作成前(Pre)と脳梗塞作製後(Postoperative Day; POD)の左選択率。

< 引用文献 >

- 1) Robert Gillen, Howard Tennen, Tara McKee. Unilateral spatial neglect: relation to rehabilitation outcomes in patients with right hemisphere stroke. Arch Phys Med Rehabil. 86(4):763-7. 2005.
- 2) 菅原 光晴, 前田 眞治. 左半側空間無視患者 54 例の訓練効果. 理学療法科学. 24 巻 2 号 p. 147-153. 2009.
- 3) B D Watson, W D Dietrich, R Busto, M S Wachtel, M D Ginsberg. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. Annals of Neurology. 17(5), 497-504 1985.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Daisuke Ishii, Hironobu Osaki, Arito Yozu, Kiyoshige Ishibashi, Kenta Kawamura, Satoshi Yamamoto, Mariko Miyata, Yutaka Kohno	4. 巻 401
2. 論文標題 Ipsilesional spatial bias after a focal cerebral infarction in the medial agranular cortex: A mouse model of unilateral spatial neglect	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Behavioural Brain Research	6. 最初と最後の頁 113097
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbr.2020.113097	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 Ishii Daisuke, Takeda Kotaro, Yamamoto Satoshi, Noguchi Akira, Ishibashi Kiyoshige, Tanamachi Kenya, Yozu Arito, Kohno Yutaka	4. 巻 13
2. 論文標題 Effect of Visuospatial Attention on the Sensorimotor Gating System	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnbeh.2019.00001	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 Daisuke Ishii, Kiyoshige Ishibashi, Kotaro Takeda, Hiroshi Yuine, Satoshi Yamamoto, Yuki Kaku, Arito Yozu, Yutaka Kohno	4. 巻 15
2. 論文標題 Interaction of the Left–Right Somatosensory Pathways in Patients With Thalamic Hemorrhage: A Case Report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Human Neuroscience	6. 最初と最後の頁 761186
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnhum.2021.761186	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 Daisuke Ishii, Kiyoshige Ishibashi, Hiroshi Yuine, Kotaro Takeda, Satoshi Yamamoto, Yuki Kaku, Arito Yozu, Yutaka Kohno	4. 巻 15
2. 論文標題 Contralateral and Ipsilateral Interactions in the Somatosensory Pathway in Healthy Humans	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Systems Neuroscience	6. 最初と最後の頁 698758
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnsys.2021.698758	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 Yoshitaka Okamoto, Daisuke Ishii, Satoshi Yamamoto, Kiyoshige Ishibashi, Masahiro Wakatabi, Yutaka Kohno, Kenji Numata	4. 巻 30
2. 論文標題 Relationship Between Motor Function, DTI, and Neurophysiological Parameters in Patients with Stroke in the Recovery Rehabilitation unit	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.105889	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 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Daisuke Ishii, Hironobu Osaki, Arito Yozu, Kiyoshige Ishibashi, Kenta Kawamura, Mariko Miyata, Yutaka Kohno
2. 発表標題 Role of the right frontal orienting field in visuospatial attention
3. 学会等名 第97回 日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Daisuke Ishii, Kotaro Takeda, Satoshi Yamamoto, Akira Noguchi, Kiyoshige Ishibashi, Kenya Tanamachi, Arito Yozu, Yutaka Kohno
2. 発表標題 Laterality effects of the visual information processing on the sensorimotor gating system
3. 学会等名 The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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