

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月27日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500495

研究課題名（和文） 選択反応時間タスクを用いた脳梗塞片麻痺の回復過程の解明

研究課題名（英文） Learning proceeds from sensory side to motor side in hemiplegic rats

研究代表者

金子 秀和 (KANEKO HIDEKAZU)

独立行政法人産業技術総合研究所・ヒューマンライフテクノロジー研究部門・主任研究員

研究者番号：20356801

研究成果の概要（和文）：脳機能障害のリハビリテーション過程は、感覚や運動機能の再学習と密接に関連しており、リハビリテーション技術の高度化のためには脳の可塑性や学習過程の解明が欠かせない。本研究では、感覚運動機能の左右差を評価可能な新規ラット用選択反応時間タスクを健常ラット及び脳梗塞片麻痺ラットに行わせ、感覚運動連合学習と同様に脳損傷後の回復過程においても感覚学習期から運動学習期への学習過程の変遷が見られることを実証した。

研究成果の概要（英文）：Studies on developmental learning of songbirds showed that learning in cognitive process should precede learning in executive process. We hypothesize that learning and rehabilitation processes proceed from sensory side to motor side. To verify the hypothesis, we compared learning curves of rats performing a sensory-motor association task. The rats were trained to respond quickly to a tactile stimulus delivered to its left or right forepaw by moving the stimulated forepaw (compatible) or the other (incompatible). Data indicated that the learning speed of the dominant (i.e., faster reaction time in the compatible condition) forepaw was faster than that of the non-dominant forepaw. The difference in performance between the forepaws appeared first in stimulus detection and then in response execution during the reversal learning. A similar tendency was found in the intact forepaw and the paralyzed forepaw in rats with unilateral sensorimotor cortex lesions. We conclude that the improvement of the task performance proceeds from the sensory system side to the motor system side.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：神経科学

科研費の分科・細目：人間医工学・リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：片麻痺モデル、逆転学習、脳神経疾患、神経科学、動物

## 1. 研究開始当初の背景

脳梗塞、脳出血などの脳血管疾患は脳における循環器系疾患である。厚生労働省「平成17年(2005)患者調査の概況」によれば、脳血

管疾患の患者数は約137万人である。その多くは、脳機能障害によって失われた身体機能を回復するためのリハビリテーションを行っている。しかし、リハビリテーションの効

果が期待できるのは障害後数ヶ月間と短い。このような問題を克服して効果的なリハビリテーション法を開発するには、脳損傷後のリハビリテーション過程のメカニズムを明らかにすることが重要である。

これまで、脳損傷後のリハビリテーション過程に関する研究は主にヒトを対象として進められてきているが、患者ごとに損傷部位や損傷の程度が異なったり、訓練に対するモチベーションが異なったりするため、その効果を評価することは容易ではない。このことは、脳卒中治療ガイドライン 2004 (脳卒中合同ガイドライン委員会。委員長篠原幸人) において、「脳卒中リハ医学・医療での治療法、訓練手技などは、(中略)エビデンスの面からは妥当性が十分とはいえず、今後のさらなる研究が待たれるといえよう」との意見が示されていることからわかる。

動物実験では損傷部位を再現性良く作成することが可能であり、侵襲的な操作を伴う神経生理学的なメカニズムの解明へむけた研究も可能である。これまで、実験動物としてサルを用いた脳損傷実験も行われているが、飼育や実験に必要な経費、実験従事者の命にかかわるような感染症のリスク、高等動物であることによる生命倫理上の問題など、配慮すべき課題が多く存在する。

ラットやマウスなどの小型動物を用いることができれば、これらの問題は軽減される。しかし、ラットなどでこれまでに用いられてきた認知行動実験用タスクの多くは、各試行開始時のラットの姿勢を一定に保てないこと、刺激を一定に加えることができないこと、

応答動作が全身運動を伴うために反応時間の計測精度が低くなってしまふこと、反応時間の差が身体の中の部位の感覚運動機能障害によるものか区別することが困難であるなどの問題があった。したがって、脳梗塞片麻痺に見られるような感覚運動機能の左右差を精度良く評価できるものは無かった。

そこで我々は、左右前肢へのランダムな刺激入力に対して左右どちらか一方の前肢を動かすことで応答するというラット用選択反応時間タスク (Kaneko et al., Behavioural Brain Research, 2006) を提案した。本タスクは、前肢への触刺激入力に対するレバー離し応答によって反応時間や応答の正誤を計測できるため、ヒトの実験と同様の条件下での行動計測とデータ解析が可能である。これまでに、ラットでも対側支配、速度・正確性トレードオフ、刺激応答適合性といったヒトと同様の認知行動特性が観察できることが明らかになっている。

## 2. 研究の目的

脳機能障害のリハビリテーション過程は、感覚や運動機能の再学習と密接に関連しており、リハビリテーション技術の高度化のためには脳の可塑性や学習過程の解明が欠かせない。鳥の歌学習では、感覚学習期から運動学習期へと適切な学習過程を経ることが重要であると示唆されており、我々は、脳梗塞後のリハビリテーション過程においても感覚学習期から運動学習期へと段階を経た学習過程が存在し、それに応じた適切な機能回復訓練法あるいは訓練時期が存在するの

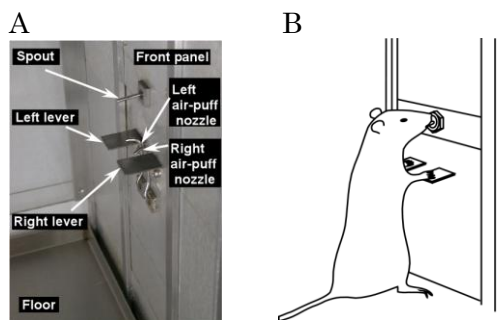


図 1. ラットの行動実験装置。A 実験装置前面、B ラットの姿勢。本装置では、各試行開始時の前肢の位置を 2 本のレバーの上に置きせることで初期姿勢を一定にでき、左右前肢の甲にタスクのキューとなる空圧刺激を安定に加えることができる。また、応答動作はレバーを離すだけの最小の動作である。左右前肢への空圧刺激に対する正反応側を交換することによって逆転課題を実施できる。

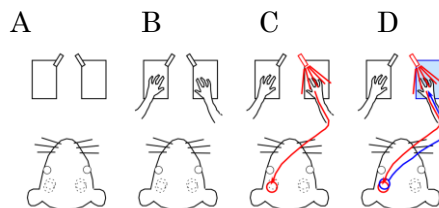


図 2. タスクの流れ。図は刺激側と正反応側が同じ (刺激応答適合性の高い Compatible 条件) である場合を示している。ラットが左右の前肢でレバーを同時に押しっぱらくすると (B)、左右どちらか一方の前肢の甲に向けて空圧刺激が加わる (C)。ラットもヒトと同様に対側支配があるのでこの刺激は反対側の脳の一次感覚野の活動となって現れ、刺激された側のレバーを離せばタスクは成功し (D)、ラットは砂糖水を報酬としてもらえる。そうでなければ、エラーとなる。

ではないかと考えている。しかし、脳梗塞後のリハビリテーション過程を解明するのに適した動物モデルやタスクはこれまでに存在せず、そのメカニズムを神経生理学的な手法によって解明することは困難であった。本研究では、感覚運動機能の左右差を評価可能な新規ラット用選択反応時間タスクを脳梗塞片麻痺ラットに行わせ、脳損傷後の回復過程においても感覚学習期から運動学習期への学習過程の変遷が見られることを実証し、リハビリテーション技術の高度化に寄与する。

### 3. 研究の方法

脳損傷後のリハビリテーション過程に関する研究は主にヒトで行われてきた。しかし、リハビリテーションの効果を脳科学に基づき体系的に説明している文献は多くない。その原因として、患者ごとに損傷部位やその程度が異なることによって実験群と対照群を容易に均一化できないことがあげられる。また、通常の訓練に加えて新規訓練の効果を評価しなければならないため、新規訓練法の効果だけを単独で評価することができないこともあげられる。

実験動物を用いれば、損傷部位を再現性良く作成することや提案する訓練法の効果のみを評価することが可能となる。本研究では、左右どちらか一方の前肢への空圧刺激に対して刺激された前肢あるいはその逆の前肢で反応する選択反応時間タスク（図1及び図2）をラットに学習させ、ラットの利き手の違い、あるいは片側大脳皮質一次感覚運動野前肢領域の破壊によって生じた健側前肢と麻痺側前肢の機能の違いに基づいて逆転学習時の反応時間とエラー率の変化を比較し、逆転学習時に感覚学習期が運動学習期に先行するかどうか検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 健常ラットにおける利き手の効果

一般に利き手は感覚機能及び運動機能がもう一方の前肢に比べて優っている。したがって、利き手の方がタスクの獲得にかかる時間は短くなると考えられる。もしも、学習過程が感覚系から運動系へと移行していくなれば、タスクの学習初期にみられる利き手に依存した感覚機能の違いによる成績の差が、利き手に依存した運動機能の違いによる成績の差よりも先に消失するはずである。そこで、健常ラットに左右前肢による選択反応時間タスクの逆転学習を行わせ、利き手の違いに着目して学習曲線を統計解析した。その結果、逆転学習の直後に左右前肢の感覚機能の違いによる成績の有意差が過渡的に現れた

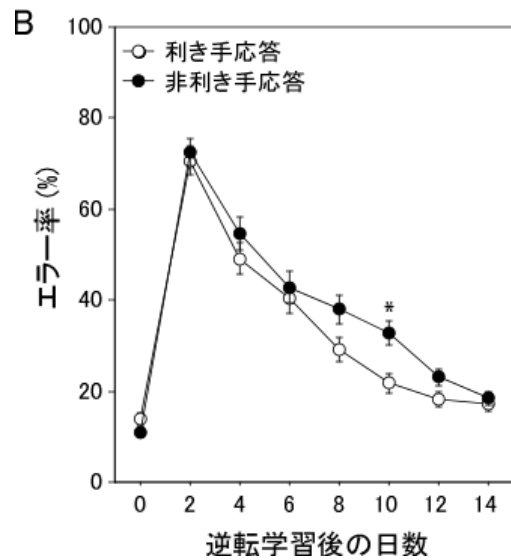
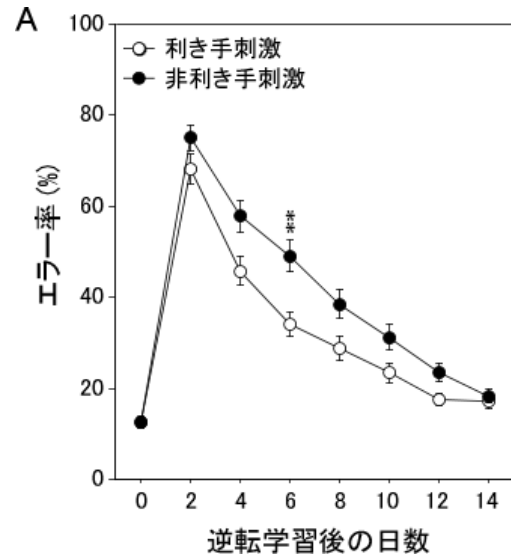


図3. 健常ラットにおける逆転学習でのエラー率の変化。刺激側と正反応側が同じ **Compatible** 条件において反応時間の短い側の前肢をラットの利き手とした。予めエラー率が 15%未満となるように訓練し、その後、正反応側を逆転させ、利き手とそうでない手とで反応時間とエラー率を比較した。尚、データは 2 日間ごとに集計した。その結果、応答前肢が利き手である場合に反応時間が一貫して短い傾向にあった（図は割愛）。これは、反応時間の短い側の前肢をラットの利き手と定義したことによる。その一方で、前肢によるエラー率の違いについては、逆転学習の初期では刺激側前肢の違いに見られ（6 日目）、その後、応答前肢の違いに見られた（10 日目）。(n = 10, \*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01, \*\*\*: p < 0.001, Bonferroni 補正, error bars: SEM)

が (図 3 A)、その有意差は消失し、その後、左右前肢の運動機能の違いによる有意差が生じていた (図 3 B)。利き手とそうでない手での感覚機能の違いによる成績の差が運動機能の違いによるものよりも先に消失していたことから、感覚系に関連した学習が運動系に関連した学習に先行しているのではないかとの知見が得られた。

(2) 脳梗塞片麻痺に伴う学習機能の低下

ラット前肢感覚運動野を損傷した脳梗塞片麻痺モデルでは、損傷部位対側前肢における感覚機能、運動機能の麻痺の生じることが知られている。ここでは、さらに学習機能に変化が生じるか調べるため、選択反応時間タスクを片側前肢感覚運動野梗塞ラットに行わせて麻痺側前肢と健側前肢の間でエラー率の低下に差があるか調べる (図 4)。健側前肢と麻痺側前肢での正反応となる左右前肢を交換することによって、健側と麻痺側の 4 通りの組み合わせでデータを収集し、反応時間、エラー率、学習曲線を統計解析することにより、健側前肢と麻痺側前肢の感覚機能、運動機能、学習機能を評価する。まず、脳損傷前 (0 週目) に刺激側と正反応側前肢が異なる (Incompatible: 刺激応答適合性が低い) 条件での学習を成立させ、脳損傷後 8 週目に刺激側と正反応側前肢が同一の (Compatible) 条件での逆転学習を行わせた。

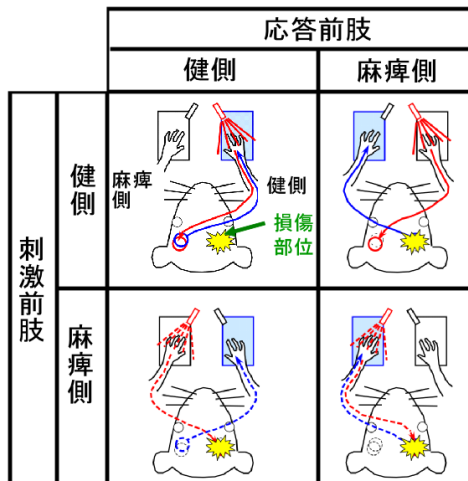


図 4. 脳損傷ラットにおける健側と麻痺側の組合せ。片側大脳皮質一次感覚運動野前肢領域を Photothrombosis によって破壊することで健側前肢と麻痺側前肢を作成した。刺激側と正反応側の組み合わせを逆転学習によって切り替えることによって、図に示すような 4 通りの刺激側と正反応側の組み合わせによるデータが得られる。

尚、脳損傷部位の作成では、脳表面からの光照射によって再現性良く損傷部位を作成することが可能な Photothrombosis 法を用いた。

図 5 は脳損傷後に選択反応時間タスクの逆転学習を実施した際のエラー率の変化を示したものである。脳損傷後 7 週目には、損傷前と同程度のエラー率 (ER) でタスクを遂行可能となっていたので、麻痺側前肢 (損傷部位の対側前肢) の感覚機能と運動機能はタスクの遂行に支障のない程度に回復してい

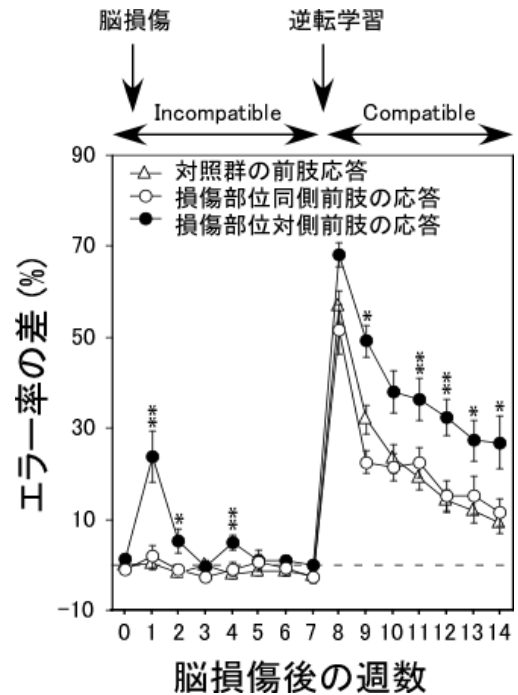


図 5. 脳損傷による学習過程の遅延。横軸は脳損傷後の週数を表している。ラットに予め刺激側と正反応側の異なる Incompatible 条件でのタスクを学習させ、これを 0 週目として、脳損傷部位を作成した。その手術後 8 週目に、正解となる側を変更して逆転学習を行わせた。その結果、8 週目以降の逆転学習時には、麻痺側でエラー率の改善が遅かった。脳損傷直後の過渡的なエラー率の増加は 1 週間程度で消失し、脳損傷後 7 週目には脳損傷前と同じ程度にエラー率が回復していたことから、麻痺側前肢での逆転学習の遅れは麻痺側の感覚機能、運動機能の障害によるものではなく、脳損傷による学習機能の低下が原因であると考えられる。(n = 8, \*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01, \*\*\*: p < 0.001, Bonferroni 補正, error bars: SEM)

たとえられる。しかし、逆転学習では麻痺側前肢でエラー率の低下が緩慢であった。これは、片側前肢感覚運動野損傷によって学習機能の低下したことを示している。これに対して、健側前肢（損傷部位の同側前肢）では、疑似手術を施した場合（対照群）との差がなかった。以上のことから、麻痺側前肢に関連した学習機能が低下していたと考えられる。

### (3) 感覚系から運動系への学習過程の遷移

脳損傷後の感覚運動連合学習が感覚学習期と運動学習期からなることを実証するため、ラットに選択反応時間タスクを学習させ、片側前肢体性感覚運動野の局所脳損傷後の機能回復過程における反応時間とエラー率の変化について調べた (n=8)。ラットには刺激された前肢で応答する場合と、そうでない場合の両方の課題を脳損傷前に学習させておいた。脳損傷前 (0 週目) に対照データを収集し、その後、体性感覚運動野の前肢領域に局所的な虚血領域を作ることによって脳損傷部位を作成した。脳損傷後 7 週間、反応時間とエラー率を計測し、脳損傷後 8 週目に正解となる前肢を反転して逆転学習を行わせた。

脳損傷後の全実験期間を通じて、脳損傷部位の対側前肢に刺激を与えたり、その前肢で応答したりしなければならぬ場合に反応時間が長かった。エラー率 (図 6) は、脳損傷直後に対側前肢で応答する場合に増加した (図 6 B 1 週目、 $p < 0.01$ ) が、その後 1 週間で脳損傷前の状態に回復していた。また、脳損傷後 8 週目から逆転学習をさせたところ、エラー率は訓練に伴って低下した。逆転学習の初期には、刺激が損傷部位の対側前肢に加わった場合の方がそうでない場合に比べてエラー率が高く (図 6 A 中 9 週目、 $p < 0.05$ )、その後、対側前肢で応答する場合の方がそうでない場合に比べてエラー率が高かった (図 6 B 中 13 週目以降、 $p < 0.01$ )。

脳損傷後は全実験期間を通じて、脳損傷部位の対側前肢に関して反応時間が長かったことから (データは割愛)、脳損傷の影響は全実験期間を通じて残っていたといえる。しかし、エラー率が脳損傷後 1 週間で脳損傷前の状態に回復していたことから、脳損傷の 1 週間後にはタスクを成功するのに必要な刺激検出、応答動作の機能が回復していたと考えられる。

脳損傷後 8 週目からの逆転学習において、エラー率が訓練に伴って低下していたので、脳損傷によって学習機能が失われることは無かったといえる。また、逆転学習初期には、刺激前肢の違いによるエラー率の差が見られたが、その後消失し、逆に応答前肢の違いによるエラー率の差がはっきりと見られるようになった。したがって、感覚系の学習が運動系の学習に先行していたといえる。この

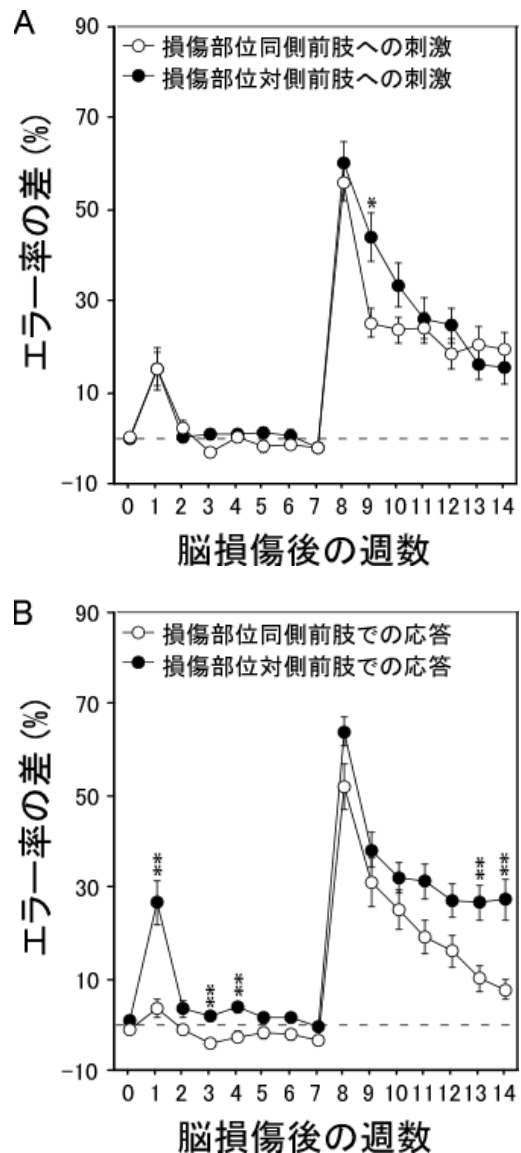


図 6. 前肢機能の違いに応じた逆転学習の進捗の違い。予めタスクを学習させたラットに脳損傷部位を作成した (0 週目と 1 週目の間)。脳損傷直後の過渡的なエラー率の増加は 1 週間程度で消失し、脳損傷後 7 週目には脳損傷前と同じ程度にエラー率が回復していた。その後逆転学習を行わせたところ、前肢機能の違いに応じた学習の進捗の違いが見られた。逆転後しばらくしてから応答前肢の違いによるエラー率の差が顕著になった (B)。一方、刺激前肢の違いによるエラー率の差は逆転学習の初期において見られた (A)。逆転学習初期に見られていた刺激前肢の違いによるエラー率の差がその後消失していたことから、逆転学習の初期に感覚学習が起こっていたと考えられる。(n = 8, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ , Bonferroni 補正, error bars: SEM)

ことは、脳損傷後の再学習も、鳥の歌学習に見られるように運動学習期に先行して感覚学習期があることを示唆している。鳥の歌学習において親鳥の歌を聞かせる時期が必要であるように、脳損傷後のリハビリテーション過程でも感覚学習を進めるべき時期と運動学習を進めるべき時期があるものと考えられる。

健常ラットに選択反応時間タスクの逆転課題を学習させ、利き手の違いに着目して学習曲線を解析することで、一般の感覚運動連合学習が感覚学習期と運動学習期からなるのではないかとの知見が得られた。また、本タスクを脳梗塞片麻痺ラットに適用することで対側前肢を用いる感覚運動学習の過程が遅延することを明らかにした。さらに、選択反応時間タスクを脳梗塞片麻痺ラットに行わせ、脳損傷後の回復過程においても感覚学習期から運動学習期への学習過程の変遷が見られるかどうか検討した。その結果、麻痺側前肢の感覚機能が障害されたことに伴う成績の低下が逆転学習初期に現れて消失し、その後、運動機能が障害されていたことに伴う成績の低下が顕著に現れた。脳損傷による左右前肢の感覚機能の違いによる成績の差が運動機能の違いによるものよりも先に消失していたことから、感覚系に関連した学習が運動系に関連した学習に先行しているのではないかという知見を得た。

本研究成果は、一般の感覚運動連合学習やリハビリ訓練において、感覚系に関連した学習の上に運動系に関連した学習が成り立っていることを示唆するものであり、リハビリ訓練法を開発する上で有用な知見であると考えている。

## 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1件)

- ① Hiroto Sano、Hidekazu Kaneko、Yasuhisa Hasegawa、Hiroshi Tamura、Shinya S. Suzuki、Effects of assistance to response movement on learning a choice reaction time task in rats、Proceedings of the Joint 5th International Conference on Soft Computing and Intelligent Systems and 11th International Symposium on Advanced Intelligent Systems、査読有、2010、pp. 434-439  
なし

[学会発表] (計3件)

- ① 金子秀和、佐野宙人、長谷川泰久、田村

弘、鈴木慎也、ラットを用いたリハビリテーション訓練技術の開発と評価、第25回バイオエンジニアリング講演会講演論文集、pp. 355-356、2013年1月10日、産業技術総合研究所(茨城県)

- ② Hidekazu Kaneko、Hiroto Sano、Yasuhisa Hasegawa、Hiroshi Tamura、Shinya S. Suzuki、Effects of forced response movements on learning a sensory-motor association task in rats、第35回日本神経科学学会大会、2012年09月21日、名古屋国際会議場(愛知県)
- ③ Hidekazu Kaneko、Hiroshi Tamura、Shinya S. Suzuki、Learning proceeds from sensory side to motor side in the acquisition of a choice reaction time task in rats、第34回日本神経科学学会大会、2011年9月16日、パシフィコ横浜(神奈川県)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

金子 秀和 (KANEKO HIDEKAZU)

独立行政法人産業技術総合研究所・ヒューマンライフテクノロジー研究部門・主任研究員

研究者番号：20356801

### (2) 研究分担者

なし ( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

なし ( )

研究者番号：