

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500617

研究課題名(和文) 脊髄介在ニューロンを使った運動機能回復の検討

研究課題名(英文) Recovery of motor functions by using spinal interneuronal systems

研究代表者

大木 紫(OHKI, Yukari)

杏林大学・医学部・教授

研究者番号：40223755

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、脊髄で錐体路が傷害された場合の代替経路として、脊髄介在ニューロンを介した間接経路に注目し、健常者と頸髄症患者で研究を行った。その結果(1)ヒトにも間接経路が存在するが、それを介した運動出力は単一筋の収縮時には観察しにくいこと、(2)この間接経路の効率は運動皮質と末梢神経の連続的組み合わせ刺激で1時間程度増強されること、(3)間接経路は除圧術前の頸髄症患者の手の巧緻運動機能には関与しないが、術後の長期的回復は一部間接経路の働きにより可能であること、を観察した。今後は、開発した長期増強の効果を持続させ、更に臨床現場で用いるため簡便化し、脊髄障害患者の運動機能回復に結び付けたい。

研究成果の概要(英文)：We investigated indirect cortico-motoneuronal (C-M) pathways intercalated by spinal interneurons in humans, to confirm if the pathways are useful for functional recovery in spinal patients. (1) We could observe indirect C-M excitations in upper limb muscles of normal subjects, which were difficult to be evoked when subjects contracted a muscle in isolation. (2) We could induce long-term potentiation in the indirect C-M excitations, by using repetitive combined stimulation of the motor cortex and a peripheral nerve. The potentiation lasted for ca. 1 hour. (3) We performed movement analyses in patients with cervical myelopathy, and revealed that dexterous hand functions were not impaired in parallel with proximal arm functions, which are known to use mainly the indirect pathways. But postoperative recovery of hand functions partly depended on arm functions. We will improve the methods for long-term potentiation in the indirect pathways, for clinical use.

研究分野：人間医工学

科研費の分科・細目：リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード：錐体路 脊髄固有ニューロン 頸髄症 巧緻運動 到達運動

### 1. 研究開始当初の背景

従来、脊髄は脳との連絡のための単なる中継装置と考えられ、そこでの情報処理については注目されてこなかった。例えば運動皮質から上肢筋運動ニューロンへの運動経路を考えた場合、ヒトでは錐体路から運動ニューロンへ直接シナプス結合する経路のみが注目されている。しかし我々も行った動物実験の結果では、錐体路及び錐体外路から介在ニューロンを介した運動ニューロンへの経路が存在し、間接的な運動路を構成している (Alstermark et al., 1999 など)。我々は、脊髄で錐体路が傷害されてもこれらの経路が残っていれば、運動機能の回復は可能ではないかと考えた。

間接経路の一つの候補が、第3-4頸髄に存在する脊髄固有ニューロン(PN)である。健常状態のPNは、主に腕の粗大運動に関わる。しかし脊髄錐体路傷害時には、普段は関与しない手指の巧緻運動の回復にも関わることが、動物実験で示されている (Sasaki et al., 2004)。この回復には脊髄内でのシナプス効率の上昇 (Sasaki et al., 2004) や、脳の再構築とシナプスの新生 (Nishimura et al., 2007) が関与している。すなわち神経系の適応的变化により介在ニューロン系は、本来のターゲットではない筋肉の運動回復にも関与できる可能性がある。

そこで本研究では、ヒトで脊髄介在ニューロン系の存在を明らかにし、この系を用いて脊髄障害時に運動機能回復を促す訓練方法の検討を行った。

### 2. 研究の目的

(1) 間接経路を構成する脊髄介在ニューロンの存在は、ヒトでは直接的に証明されていない。間接経路を患者の機能回復に利用するためにも、まず動物実験で示された間接経路の存在を、ヒトの上下肢で確認する。

(2) 直接経路の発達した霊長類では、間接経路の効率が低下していることが考えられる。脊髄介在ニューロン系にシナプス効率の長期的増強を引き起こす訓練法を開発する。

(3) 脊髄障害患者の病勢評価を行うためにも、回復訓練の効率を評価するためにも、定量的な評価法が必要である。日常的な動作を用いて、脊髄障害患者の上肢運動機能を定量的に評価する方法を開発する。

### 3. 研究の方法

健常者と頸髄症患者の実験については、Helsinki条約を遵守し、内容を説明した上で書面の同意を取った。

(1) 健常者(n=22、20-46歳)で間接経路の活動を観察するため、針筋電図で上肢筋の筋活動を記録し、錐体路の刺激を行った。記録したのは、上腕二頭筋(BB)、浅指屈筋(FDS)、第一背側骨間筋(FDI)であった。また、非侵襲

的な錐体路の刺激としては、運動野(M1)の経頭蓋磁気刺激(TMS)と電気刺激(ES)、頸延髄刺激(CMS)を行った。被験者は、被験筋単独の、もしくは複数の筋の協調的な軽い等尺性収縮を持続した。

(2) 脊髄介在ニューロン系にシナプス効率の長期的増強を引き起こすため、大脳皮質の可塑性誘導に用いられる、連続組み合わせ刺激(RCS)介入法を行った(図1)。このため、健常被験者(n=24; 20-54歳)のBBとFDIから表面筋電図を記録した。組み合わせ刺激として、M1へのTMSと、手首での尺骨神経電気刺激を行った。頸髄介在ニューロン上で空間的促通を起こすため、刺激間隔は主に10ms(神経刺激先行)とし、介入前に空間的促通が観察される刺激強度を決定して用いた。介

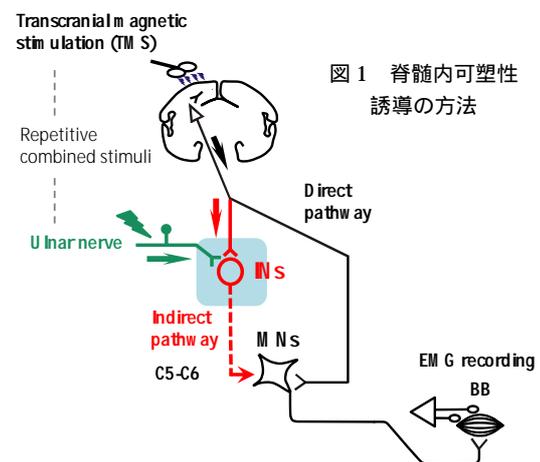


図1 脊髄内可塑性誘導の方法

入は、0.2 Hzで10分間行った。長期的増強効果は、TMSによる誘発筋電図(MEP)や空間的促通効果により判定した。

(3) 脊髄障害患者の病勢評価のため、日常動作を用いた定量的解析法を開発を行った。対象は、杏林大学病院整形外科教室で除圧術を行った頸髄症患者(n=33、64 ± 12歳)と年齢を合わせた健常被験者(n=15、67 ± 10歳)であった。動作としては、腕の到達運動、指の精密把握運動を解析した。

腕の到達運動: 被験者は椅座し、眼前40cmにLEDランプを設置したボードを置いた。被験者は音刺激を合図に、なるべく速く正確にLEDに触るよう指示された。被験者の示指爪上にセンサーをつけ、磁場式3次元位置計測システム(Liberty 240, Polhemus, Colchester, VT, USA)を用い、400 Hzで記録した。計測を行ったパラメータは、1) 反応時間(音刺激から動き出しまで)、2) 動作時間(動き出しからボードに触るまで)、3) 標準化運動距離(NMD、運動の軌道の長さを直線距離で標準化したもの)、4) 絶対誤差(ボードに触った場所とLEDの直線距離)であった。

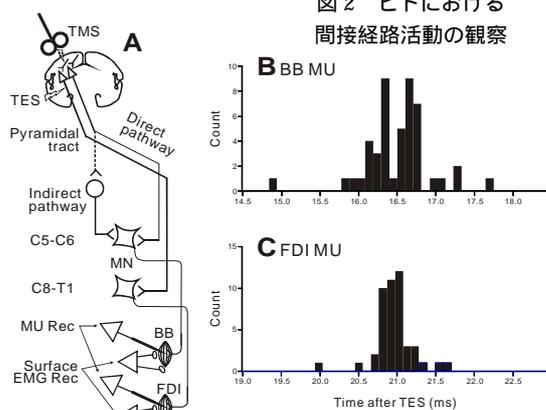
指の精密把握運動: 被験者は椅座し、眼前約20cmの机の上に3cm四方の物体を置いた。被験者は音刺激を合図に物体に手を伸ばし、物体を母指と示指で把持して持ち上げ、音刺

激で再び机上に戻す動作を行った。上述の位置計測システムと物体に設置した圧センサーを用い、以下のパラメータを計測した。腕の到達運動に関しては、1)音からの反応時間、2)運動開始から物体接触までの動作時間を計測した。把持運動に関しては、3)運動開始から指が最大に開くまでの pre-shaping 時間、4)把持力、を計測した。動作解析以外に、通常の臨床検査も実施した。行ったのは、1)日本整形外科学会頸髄症判定基準(JOAスコア)、2)手の10秒テスト(手を握る/開くをなるべく速く繰り返す回数を数える)、3)徒手筋力検査(MMT)、4)TMSを用いたMEP検査、である。

#### 4. 研究成果

(1)針筋電図を用い、健常被験者のBBから、1本の筋線維の活動記録を行った(図2A)。活動を記録している最中に、頭皮上にはった電極に電流を流すと、M1の錐体路細胞が刺激できる(TES)。これにより、錐体路から運動ニューロンを介して筋肉への興奮性入力が生じ、筋線維の活動電位の頻度が上昇することが観察された。

興奮性入力を詳細に解析するため、M1を100回刺激、刺激前後の筋線維活動電位の頻度を0.1ms毎にカウントして、発火頻度のヒストグラム(peristimulus time histogram: PSTH)を作成した(図2B-C)。その結果、BBの筋線維で、活動上昇の潜時は $14.1 \pm 3.1$  ms ( $n=75$ )、持続時間は $1.9 \pm 1.4$  msであった。また65.3%の筋線維で、活動上昇に複数のピークが確認された(図2B)。



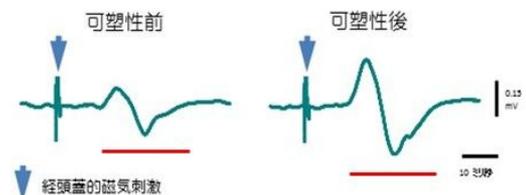
比較のため、錐体路からの単シナプス性入力強いと考えられる手指の筋肉(FDI)で、同様の解析を行った(図2C)。末梢神経の伝導距離が長いため、潜時は $22.2 \pm 1.9$  ms ( $n=35$ )と長くなった。しかし持続時間は $1.2 \pm 0.4$  msであり、複数のピークは20.0%でしか観察されなかった。

しかしこれまでの報告では、ヒト上肢筋で持続時間の長い錐体路入力(すなわち間接経路を介した入力)は観察できていない。我々はこの差が、被験者が行っている課題によるのではないかと考え、更なる実験を行った。我々の実験では被験者は記録中、軽い肘の屈

曲と指の把握運動を同時に行っていた(同時収縮課題)。そこで以前の報告と同じ条件にするため、肘の屈曲のみを行わせ(単独収縮課題)、同じ解析を行った。両課題下のTESによる錐体路入力を14個のBB線維で調べたところ、活動上昇の持続時間は $2.0 \pm 0.9$ (同時収縮)と $1.7 \pm 0.5$ (単独収縮)ms、複数ピークが観察された運動単位は11(同時収縮)と4(単独収縮)個であった。また10個の運動単位で、2種類の課題下のPSTHの形に統計的に有意な差が認められた(Wald-Wolfowitz runs test)。この結果は、間接経路を活性化するには、日常動作により近い複数の筋を組み合わせた運動を行う必要があると考えられた。

(2) 脊髓の介在ニューロン系で可塑的变化を起こすため、RCS法を用い、まず健常者の脊髓で間接経路の強化が行えるかを検討した。図3は、M1にTMSを与えることで得られた、BBのMEP(下線の部分)で、一人の被験者の

図3 可塑性誘導前後の上腕二頭筋活動



結果を示している。それぞれ、RCS介入前(左)と後に、同じ強度でM1を刺激( )した結果である。図からも明らかなように、介入後はMEPの振幅が増大することが観察され、1時間程度持続することが確かめられた。

MEPの増強は、間接経路の効率増加以外の原因でも起こりうる。我々は、幾つかの方法で、間接経路の効率増加を確かめた。

第一に、可塑的变化が大脳皮質で生じている可能性がある。しかし、TESによるMEPにも、同様の長期増強が観察できた。TESは、主に白質で軸索を刺激することが知られており(図2A参照)、効率変化は少なくとも一部は皮質下で起きていると考えられた。

第二に、可塑的变化が錐体路から運動ニューロンへの、直接経路のシナプスで生じる可能性もある。しかし、MEPの開始部分は錐体路から運動ニューロンへの単シナプス性(直接経路)入力を反映するが、我々はこの部分には振幅増大が生じないことを確認した。

第三に、脳幹レベルで長期増強が起こる可能性を考えた。この可能性を除外するため、M1と末梢神経組み合わせ刺激による、空間的促進効果の大きさを、介入前後で比較した。用いた刺激間隔では、両刺激の入力が脊髓内で加重する設定になっており、脳幹の関与は除外できる。結果は、MEPの振幅が増大している期間、空間的促進量も増大することが観察された。

以上より、我々が開発した組み合わせ刺激を用いた介入法は、脊髄介在ニューロンを介した運動性の間接経路の効率を上昇させることがわかった。今後は、持続時間を延ばす方法や、手法の簡便化を図る必要があると思われる。

(3) 介在ニューロンを介した間接的皮質-運動ニューロン経路の機能評価として、動物実験では腕の到達運動が用いられてきた。我々も以前、到達運動中の修正運動の潜時計測が、頸髄症患者の病勢評価に有用であることを報告した (Igarashi et al., 2011, 図4)。この方法は到達運動中にターゲットを変える必要があり、特殊な装置が必要であった。しかし、この時の運動の軌跡 (図4B-C)を見ると、中央のターゲットへの到達運動自体が、頸髄症患者では毎回変動し、滑らかさが失われる傾向が見られた (図4B)。そこでより簡便な評価を行うため、到達運動自体の解析を行った。

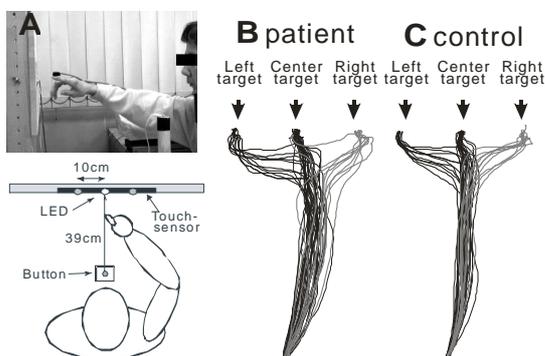


図4 到達運動評価装置と運動の軌跡

除圧術前の患者の JOA スコア (上肢機能) は、 $2.9 \pm 1.2$  であった (6 点満点)。10 秒テストは  $15.8 \pm 5.0$  回で、高齢者の基準 (20 回; Ono ら, 1987) を下回っていた。

術前の患者 (平均 112%) は、年齢を合わせた健康者 (105%) より、有意に NMD が長くなった。これは、患者の到達運動の滑らかさが低下したことを示す。NMD は JOA スコアとは相関を示さなかったが、10 秒テストとは中程度の相関を示した。

JOA スコアを含めたすべてのパラメータは、術後徐々に改善した。3 ヶ月以降の JOA スコアの長期的回復を、術前と術直後の各パラメータの値から予測することを試みた。その結果、JOA スコアのみから予測する ( $r=0.68$ ,  $p<0.01$ ) よりも、JOA スコアと NMD から予測する ( $r=0.85$ ,  $p<0.01$ ) 方が、予測が改善できることが明らかになった。JOA スコアは、主に手の巧緻運動を評価することが知られている。従って今回の結果は、手と腕の運動は独立して障害されるが、手の巧緻運動機能の回復には腕の運動に関わるシステムが一部関与することを示している。そして、手の 10 秒テストには、腕の運動システムが一部関与することが示唆された。

現在、精密把握運動についても同様の解析を行っており、患者では表面素材による把握力の調節と、pre-shaping に変化が見られることを確認した。

## 5. 主な発表論文等

(研究、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

中島剛、小宮山伴与志、大木紫、ヒト脊髄固有ニューロンの機能とその可塑性について、日本運動生理学雑誌、査読無、21、2014、(印刷中)、[http://seiri.taiiku.tsukuba.ac.jp/~jseesp/journal\\_j.html](http://seiri.taiiku.tsukuba.ac.jp/~jseesp/journal_j.html)

大森 雅夫、五十嵐 一峰、佐野 秀仁、高橋 雅人、市村 正一、渋谷 賢、中島 剛、大木 紫、遠藤 隆志、頸髄症患者における巧緻運動機能の客観的評価法の開発、日本整形外科学会雑誌、査読有、87 巻 8 号、2013、S1516、

<http://www.joa.or.jp/jp/index.html>

五十嵐 一峰、渋谷 賢、大木 紫、佐野 秀仁、高橋 雅人、里見 和彦、市村 正一、リーチング運動を用いた頸髄症患者の近位筋運動の簡易的機能評価の開発、Journal of Spine Research、査読有、3 巻 3 号、2012、593、

<http://www.jssr.gr.jp/>

五十嵐 一峰、渋谷 賢、大木 紫、佐野 秀仁、高橋 雅人、里見 和彦、市村 正一、リーチング運動を用いた頸髄症患者の近位筋運動機能評価 簡便法の開発、日本整形外科学会雑誌、査読有、86 巻 3 号、2012、S422、

<http://www.joa.or.jp/jp/index.html>

大木紫、【ミオクロノス -What's myoclonus?】固有脊髄路性ミオクロノス 脊髄固有ニューロンとは。Clinical Neuroscience、30 巻 7 号、2012、786-789 (総説)

<http://www.chugaiigaku.jp/item/detail.php?id=844>

大木紫、渋谷賢、【神経系の左右差 -Broca150 年】左右差の基盤 分子から神経回路まで 利き手の神経基盤、Clinical Neuroscience 29(6): 666-669. 2011 (総説)

<http://www.chugaiigaku.jp/item/detail.php?id=855>

[学会発表] (計 13 件)

大森 雅夫、五十嵐 一峰、佐野 秀仁、高橋 雅人、市村 正一、渋谷 賢、中島 剛、大木 紫、遠藤 隆志、頸髄症患者における巧緻運動機能の客観的評価法の開発、第 43 回日本脊椎脊髄病学会学術集会、2014 年 4 月 17 日~2014 年 4 月 19 日、京都

大木紫、空間内の到達運動制御と身体認知、平成 25 年度東北大学電気通信研究所共同

プロジェクト研究会、2014年2月28日、  
仙台（招待講演）

Nakajima T, Komiyama T, Ohtsuka O,  
Suzuki S, Futatsubashi G, Ohki Y,  
Timing- and activity-dependent  
plasticity of indirect cortico-  
motoneuronal pathways in humans,  
Neuroscience 2013, 2013年11月12日、  
アメリカ

大森 雅夫、五十嵐 一峰、佐野 秀仁、高  
橋 雅人、市村 正一、渋谷 賢、中島 剛、  
大木 紫、遠藤 隆志、頸髄症患者における  
巧緻運動機能の客観的評価法の開発、第28  
回日本整形外科学会基礎学術集会、2013  
年10月17日～2013年10月18日、千葉  
中島剛、小宮山伴与志、大木紫、ヒト脊髄  
固有ニューロンの機能とその可塑性につ  
いて、第21回日本運動生理学、2013年7  
月27日～2013年7月28日、川越（招待講  
演）

中島剛、小宮山伴与志、大塚裕之、鈴木伸  
弥、二橋元紀、大木紫、ヒト間接皮質脊髄  
路における可塑的变化の活動及びタイミ  
ング依存性、日本神経科学学会、2013年6  
月22日、京都

Igarashi K, Shibuya S, Nakajima T, Ohki  
Y, Sano H, Takahashi M, Satomi K,  
Ichimura S, New simplified methods for  
functional assessments of proximal arm  
muscles of patients with cervical  
myelopathy by using target-reaching  
movements. Neuroscience 2012, USA, 2012  
年10月12-15日.

Nakajima T, Komiyama T, Ohtsuka H,  
Suzuki S, Futatsubashi G, Ohki Y,  
Plastic changes in the indirect  
cortico-motoneuronal pathways in humans,  
Neuroscience 2012, USA, 2012年10月  
12-15日.

Nakajima T, Komiyama T, Ohtsuka O,  
Suzuki S, Futatsubashi G, Ohki Y,  
Long-lasting facilitation of non-  
monosynaptic cortico-motoneuronal  
excitation in humans 第35回日本神経科  
学会、名古屋、平成24年9月18-21日  
五十嵐一峰、渋谷賢、大木紫、佐野秀仁、  
高橋雅人、里見和彦、市村正一、リーチ  
ング運動を用いた頸髄症患者の近位筋運動  
機能評価 簡便法の開発、第85回日本整  
形外科学会学術総会、京都、2012年5月  
17日～2012年5月20日

五十嵐一峰、渋谷賢、大木紫、佐野秀仁、  
高橋雅人、里見和彦、市村正一、リーチ  
ング運動を用いた頸髄症患者の近位筋運動  
の簡易的機能評価の開発、第41回日本脊  
椎脊髄病学会、久留米、2012年4月19日  
～2012年4月21日.

Ohtsuka H, Sasada S, Nakajima T,  
Futatsubashi G, Ogata T, Shimizu E,  
Komiyama T, Ohki Y, Excitations from the

cortical arm area to the contralateral  
thigh muscles are partly mediated by  
cervical long propriospinal neurons in  
humans, Neuroscience 2011, USA, 2011  
年11月16日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.kyorin-u.ac.jp/univ/graduate/medicine/aboutus/outline/model/integr-physiol/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大木 紫 (OHKI, Yukari)  
杏林大学・医学部・教授  
研究者番号：40223755

### (2) 研究分担者

### (3) 連携研究者

小宮山 伴与志 (KOMIYAMA, Tomoyoshi)  
千葉大学・教育学部・教授  
研究者番号：70215408

渋谷 賢 (SHIBUYA, Satoshi)  
杏林大学・医学部・助教  
研究者番号：30406996

高橋 雅人 (TAKAHASHI, Masahito)  
杏林大学・医学部・助教  
研究者番号：00419863