

## 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 6 月 3 日現在

機関番号：23903

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012 ～ 2012

課題番号：24800054

研究課題名（和文） 麻痺側前肢の集中的使用が皮質脊髄路の再編に及ぼす影響

研究課題名（英文） Effects of forced-use of impaired forelimb on the reorganization of corticospinal tract

研究代表者

石田 章真（ISHIDA AKIMASA）

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：20632607

研究成果の概要（和文）：

本研究では皮質内微小電気刺激法を用いた皮質マッピング法により、内包出血および麻痺肢集中使用による運動野体部位再現マップの変化を解析した。内包出血後には、前肢支配領域は一旦消失し、一部のラットでは 10 日後に出血前と比べ尾内側部の領域に再出現を認めた。これに対し、麻痺肢集中使用を行ったラットでは、より広い範囲かつ多くのラットで前肢支配領域の再出現を認めた。同群のラットでは前肢機能についても有意に改善を認めた。加えてこれらの領域を muscimol で抑制すると、前肢の機能が低下したことから、同領域が麻痺肢の機能改善に関連していることを見出した。これらの知見は、麻痺肢集中使用法における作用機序の解明において重要なデータであると考えられる。

研究成果の概要（英文）：

The aim of the present study was to determine the effect of forced impaired limb use (FLU) on the reorganization of the residue motor circuit after internal capsule hemorrhage (ICH). Forelimb movements were not elicited at all by intracortical microstimulation (ICMS) in the ipsilesional motor cortex in ICH-received rats on day 1 after ICH. On day 10, ICMS-evoked movements were observed only from small area of the caudal forelimb area (CFA). Comparing the ICH-non-treated control, forelimb movements were elicited from larger area in the CFA and rostral forelimb area (RFA) in the ICH-FLU-treated group. The forelimb motor maps were further expanded in the CIMT-group at day 24. Behavioral assessments showed better recovery in the ICH-CIMT rats than in the ICH rats. Moreover, microinjection of muscimol (1  $\mu$ M, 1  $\mu$ l) into the newly-emerged "forelimb areas" of the CFA and RFA caused apparent impairment of the recovered forelimb movements.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2012 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
総計	1,200,000	360,000	1,560,000

研究分野：医歯薬学

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：リハビリテーション、脳出血、内包、CI療法、上肢機能、皮質内微小刺激法

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 脳血管障害後の上肢運動機能障害は日常生活の活動および社会参画を妨げる大きな問題である。これに対し、脳傷害後に健常側上肢の使用を制限し、麻痺側上肢の集中的な使用を誘導する治療方策 (constraint-induced movement therapy; CIMT) が有効な治療方策として注目されている (Taub E, et al, 1993)。CIMT を代表とする麻痺肢集中使用法に関しては、多施設共同試験により高いエビデンスが示されており (Wolf SL, et al, 2007)、推奨される治療方策とされているが、長期的な機能改善効果は従来の運動療法と変わらないとするメタアナリシスも報告されている (Sirtori V, et al, 2009)。このように効果が不確定とされる背景には、麻痺肢の強制的・集中的使用がどのような機能および因子に影響を及ぼすか、またどのような再編メカニズムで機能改善を導くか、といった基礎的な作用機序についての未知な点が多い現状が一因であると考えた。

(2) 我々はこれまでに、脳損傷ラットを用いた麻痺側前肢の集中的使用効果の検討により、傷害側半球の運動野において分子生物学的・生化学的・形態学的なプロファイルが大きく変化することを見出した。これらの知見は、損傷後の中枢神経系において、傷害側の運動野を起点としたダイナミックな再編が生じている可能性を示唆するものである。こうしたデータを基に、麻痺肢集中使用が中枢神経系の再編にどのような影響を及ぼしているかについての検討を行うことは、麻痺肢集中使用法の作用機序の解明において重要な知見となると考え、以下の研究を立案するに至った。

## 2. 研究の目的

内包部出血モデルラットを用い、麻痺側前肢の集中的な使用による中枢神経系の再編を詳細に解析する。具体的には、大脳皮質運動野の体部位表現マップの変化、神経トレーサーを用いた皮質脊髄路の変化、等の解析から、麻痺側前肢の集中的使用による中枢神経回路の再構築機構を明らかにする。

## 3. 研究の方法

### (1) 研究ストラテジー

#### ① 麻痺肢集中使用による運動野の機能的再編

申請者がこれまでに成果を得てきた内包出血モデルラットを用い、麻痺肢集中使用を実施した際の出血側運動野の経時的マッピングを行う。これにより運動機能に直結する皮質レベルでの再編を確認する事が出来る。

#### ② 麻痺側前肢の集中使用による下行性運動路の構造的再編

神経トレーサーを用い、出血側運動野からの軸索投射を標識し観察する。これにより、同領域での分子生物学的・機能的な変化と運動機能の変化とを直接関連付けることが出来ると考える。

### (2) 具体的な研究方法

Wistar 系雄性成体ラットを用いる。実験のタイムコースを図 1 に示す。

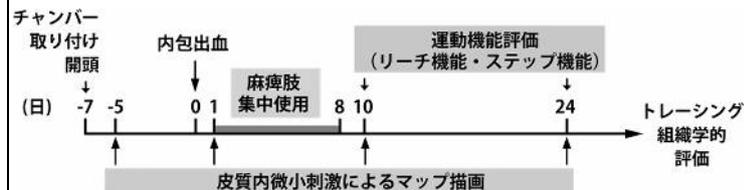


図 1 実験タイムコース

一侧の内包部に微量の collagenase を注入し内包出血を作成する (Masuda T, et al., 2007)。出血後早期 (1-8 日) に非麻痺側前肢をギプスにより拘束し、麻痺側前肢を集中的に使用させる。

麻酔下にて出血側の感覚運動野・前肢領域にあたる部分を開頭する。開頭部にはデルリンチャンバーを設置し密閉する。その後皮質内にタングステン電極を刺入し電気刺激を行う。刺激により誘発される運動を触察から同定し、0.5mm 毎に記録し、運動野の運動マップを作成する。同一個体において、① 内包出血手術前、② 出血直後、③ 集中使用終了直後、④ 集中使用終了 2 週後、の 4 点で経時的にマッピングを行う。

マッピング終了後、吻側もしくは尾側運動野に順行性神経トレーサーである Biotin dextran amine (BDA) を注入する。注入 1 週後に深麻酔下でラットを安楽死させ、脳および脊髄を取り出し、BDA でラベルされた軸索を染色する。顕微鏡下で観察し、皮質内および皮質下 (脳幹・脊髄) への投射、および分枝の程度を網羅的に解析する。

## 4. 研究成果

図 2 に皮質内微小刺激法による出血側運動野のマッピングの結果を示す。赤色が濃いほど、該当箇所を刺激した際に多くのラットで反応がみられた事を示している。

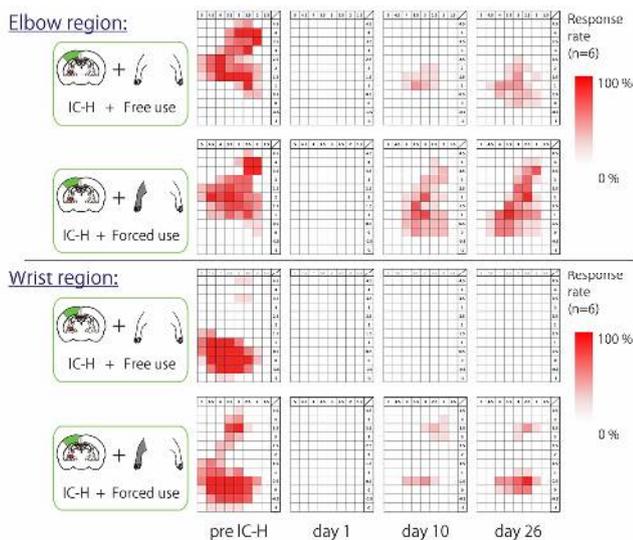
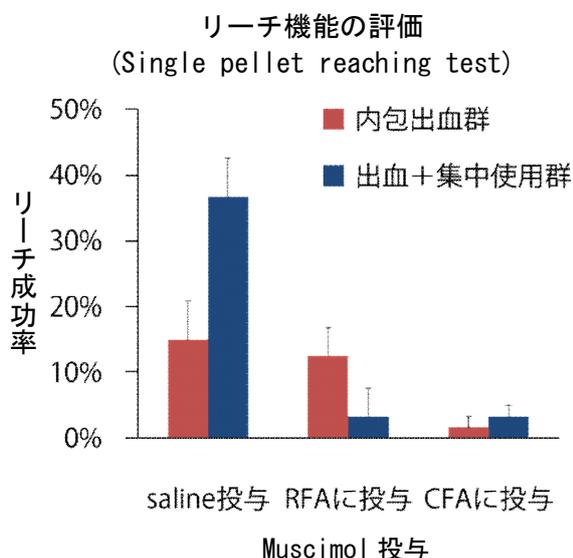


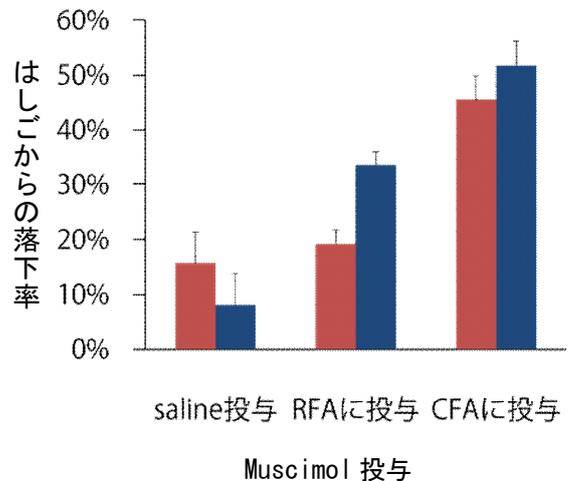
図2 運動野マッピングの結果

内包出血1日後の時点では、麻痺肢に重篤な運動麻痺が生じ、出血側運動野の前肢支配領域において皮質内微小電気刺激に反応する領域は観察されなくなった(図2)。内包出血群(n=5)では、術後10日目に運動野尾側において刺激に反応する前肢領域が観察され、術後24日目には同領域がやや拡大していた。しかし、再出現した前肢領域は出血前に比べ比較的狭い範囲に留まった。出血+集中使用群(n=6)では、術後10日目から出血のみの群に比してより広範な前肢領域の出現が確認され、術後24日目には更に領域の更なる拡大が認められた。また、出血+集中使用群では吻側運動野においても前肢領域の再出現を認めた。

前肢運動機能の評価では、自然回復群と比べ集中使用群では有意な機能改善が認められた(図3)。さらに、再出現した前肢領域に muscimol (1 uM, 1 ul) を投与すると、改善した運動機能が低下することが確認されたのでこれらの領域が機能回復に貢献していることが明らかになった。



### ステップ機能の評価 (Horizontal ladder test)



以上の結果から、内包出血後の麻痺肢集中使用は運動野前肢領域を拡大し、運動機能回を促進することが示唆された。出血後に再出現する前肢支配領域は出血前と比べ尾内側に変移しており、皮質脊髄路の損傷に伴い運動性下行路の再編が生じていることが示唆される。この再編過程において、麻痺肢の集中的な使用はよりダイナミックな前肢支配領域の再建を促進しており、それが前肢運動機能の改善を導出した可能性がある。

本研究では電気生理学的手法を用い、内包出血後の運動野の機能的再編過程を、同一個体で縦断的に解析した。加えて、リハビリテーションの基本的な要素である麻痺肢の使用という事柄が、損傷脳の再建に与える影響を詳細に解析した。これまでの研究成果と併せ、一連の研究成果は上肢運動麻痺に対するリハビリテーションが及ぼさうる影響の理解において重要な知見をもたらすものであると考える。

### 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 Shimada H, Hamakawa M, Ishida A, Tamakoshi K, Nakashima H, Ishida K. Low-speed treadmill running exercise improves memory function after transient middle cerebral artery occlusion in rats. Behavioural Brain Research. (査読有) 243:21-7. 2013.

[学会発表] (計4件)

- ① 石田章真, 梅田達也, 伊佐正, 石田和人, 飛田秀樹. 内包出血後の運動野体部位

再現マップの縦断的解析：麻痺肢の集中使用が及ぼす影響とは. 第 48 回日本理学療法学会大会. 愛知. 2013. 5. 24-26

- ② 石田章真, 梅田達也, 伊佐正, 飛田秀樹. Effect of forced-use of impaired forelimb on cortical map reorganization after capsular hemorrhage in rats. 第 90 回日本生理学会大会. 東京. 2013. 3. 27-29
- ③ 石田章真, 梅田達也, 伊佐正, 飛田秀樹. 内包出血後の麻痺肢集中使用が皮質運動野体部位再現に及ぼす影響. 第 59 回中部日本生理学会. 愛知. 2012. 11. 16-17
- ④ Akimasa Ishida, Sachiyo Misumi, Tadashi Masuda, Kazuto Ishida, Hideki Hida. Induction of NMDA receptor expression in the sensorimotor cortex by intensive use of impaired upper limb relates to functional recovery after capsular hemorrhage in rats. Neuroscience 2012. New Orleans (U.S.A.). 2012.10.16

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/brain-physiol.dir/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石田 章真 (ISHIDA AKIMASA)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教  
研究者番号：20632607