

## 自発的な走行運動は高齢期に失われる脳損傷後の神経可塑性を回復させる

○田中 貴士<sup>1,2)</sup>, 浦 大樹<sup>3)</sup>, 剛 澄仁<sup>3)</sup>, 新井田 要<sup>3)</sup>, 上野 将紀<sup>4)</sup>

- 1) 熊本保健科学大学 保健科学部 リハビリテーション学科
- 2) 金沢医科大学 医学部 解剖学Ⅱ
- 3) 金沢医科大学 総合医学研究所 ゲノム疾患研究分野
- 4) 新潟大学 脳研究所 システム脳病態学分野

### 【目的】

脳が損傷を受けると重篤な機能障害が生じる。我が国では、寝たきりや要介護者の大半を高齢の脳損傷患者が占めているが、高齢期のモデル動物を用いた研究はほとんど進んでいない。近年、損傷を免れた皮質脊髄路等の軸索から生じる発芽が神経回路の再編に重要であり、機能回復を促すことが分かってきた。しかし、高齢期の脳損傷モデルマウスにおいては、皮質脊髄路の軸索発芽が制限され、運動機能が回復しないことを見出した。我々はこれまでに、成体若齢期の脳損傷モデルマウスにおける自発的な走行運動が軸索発芽を顕著に促すことを報告した。本研究では、高齢期における自発的な走行運動がもたらす脳内の遺伝子変化に着目し、走行運動が脳損傷後の軸索発芽の促進に寄与するか否かを検証した。

### 【方法】

実験動物には、10~12週齢の成体若齢期および22~24月齢の高齢期のC57BL/6J雄マウスを用いた。麻酔下で片側運動野を全て消失させる脳損傷モデルを作製した。無作為に運動群と非運動群に振り分け、運動群は脳損傷の前4週間と後4週間の計8週間、自走式の回転運動器を用いて自発的な走行運動を実施した(24時間/日、7日/週)。非損傷側の運動野へ順行性標識剤を注入することで、脳損傷後の頸髄における皮質脊髄路の軸索発芽を組織学的に評価した。また、脳損傷から7、14、21、28日後に麻痺側前肢の運動機能を評価した。統計学的解析として、成体若齢期および高齢期の運動群と非運動群の4群間で比較検定を行った。さらに、脳損傷から14日後に非損傷側の運動野から回収したRNAを用いて網羅的な遺伝子解析を実施し、成体若齢期と高齢期における脳損傷後の脳内遺伝子発現や運動による遺伝子変化を解析した。

### 【結果】

高齢期の運動群において、脳損傷後の軸索発芽や運動機能の有意な回復が認められた( $P < 0.05$ )。脳内の遺伝子発現をみると、高齢期・非運動群では成体若齢期・非運動群と比較し、156の遺伝子に減少が認められた( $\text{adjusted-}P < 0.05$ )。一方、高齢期・運動群では高齢期・非運動群と比較し、36の遺伝子の増加が認められた( $\text{adjusted-}P < 0.05$ )。このうち、20の遺伝子が共通しており、大半をシナプス関連因子が占めていることが示された。

### 【考察】

脳損傷前後の自発的な走行運動によって、高齢期においても成体若齢期のように脳損傷後の軸索発芽や運動機能回復が促進されることが明らかになった。高齢期における脳損傷後の軸索発芽の増加メカニズムの一つとして、運動野におけるシナプス関連遺伝子の発現上昇が関与していることが示唆された。

### 【結語】

自発的な走行運動は、加齢により減少する遺伝子を加齢前の発現パターンに戻し、高齢期に失われていた脳損傷後の神経可塑性を回復させる効果があることを示唆する。

### 【倫理的配慮、説明と同意】

本研究における全ての動物実験は、所属機関の動物実験委員会の承認(承認番号:2018-21、2021-4)を得て実施した。

## マカクサル内包梗塞後における損傷側一次運動野の脳体積変化と運動機能回復との相関

○松田 滉平<sup>1,2)</sup>, 長坂 和明<sup>3)</sup>, 加藤 準平<sup>4)</sup>, 高島 一郎<sup>1,2)</sup>, 肥後 範行<sup>1)</sup>

- 1) 産業技術総合研究所 人間情報インタラクション研究部門
- 2) 筑波大学大学院 人間総合科学学術院 ニューロサイエンス学位プログラム
- 3) 新潟医療福祉大学 リハビリテーション学部
- 4) 筑波大学 医学医療系

【目的】脳卒中後脳体積の変化が運動機能回復と関連するかどうかは、未だに見解が分かれる。しかし今回、ヒトと近縁の種であるマカクサルを用いた内包梗塞モデルと脳構造イメージング解析技術であるvoxel-based morphometry (VBM) を駆使することで、脳卒中後脳体積の変化が運動機能回復と関連することを明らかにした。本成果より、比較的少ない労力で脳画像解析技術を臨床リハ評価へ応用できる可能性も期待されたため報告する。

【方法】マカクサル5頭(4.5-8.8kg)の片側内包後脚にエンドセリン1を注入し梗塞を作製した後、運動回復経過を手指把持課題によって評価した。これと並行して2種類の3.0T MRIスキヤナのどちらか一方で損傷前および損傷してから最大5カ月までのT1強調画像( $n=35$ )を撮像した。取得した画像についてSPM12を使用して脳灰白質、白質、脳脊髄液に分割した後、DARTELを使用して脳灰白質および白質画像の平均画像をそれぞれ作製した。この際に計算された流れ場をもとに、これら分割画像を平均画像に位置合わせし、このときにボクセル毎の体積算出にJacobian modulationを適用した。次にmodulate済みの画像を標準テンプレート(Rohlfing et al., 2012)に位置合わせを行い、最後に半幅幅2mmで平滑化を行った。解析には、脳体積算出への影響が懸念された損傷1日、3日の画像を除いた画像( $n=28$ )を使用した。統計解析にはSPM搭載の線形回帰モデルを使用し、把持課題の成功率を独立変数に、撮像に使用したMRIスキヤナ種を共変量に設定し、さらに個体毎の全脳サイズの影響を取り除くために、これをANCOVAで補正した。なお、本研究のサル個体は先行研究(Murata and Higo, 2016; Kato et al., 2020)で使用したものと同一個体である。

【結果】損傷1週後より運動機能が回復し、損傷後3カ月で全例が損傷前と同等のレベル(損傷前の80%以上に相当)まで回復した。把持課題の成功率と全脳ボクセル体積との線形解析の結果、損傷側一次運動野に限局した脳領域および近接する白質で有意な正の相関を示すシグナルが観察された(統計閾値 $p=0.001$  [ $t=3.47$ ], クラスター閾値 $p=0.05$  [FWE補正済み])。

【考察】損傷側一次運動野および近接する白質において構造可塑性が起きたと考えられる。神経栄養因子の増加や軸索の再構造化が背景にあったと考え、今後は神経可塑性マーカー(growth associated protein 43)等の発現を定量し組織学的な裏付けを試みる。

【結語】マカクサル内包梗塞後、損傷側一次運動野および近接する白質の体積が運動機能回復と関連することを明らかにした。

【倫理的配慮・説明と同意】実験動物の使用に際して国立研究開発法人産業技術総合研究所における動物実験委員会によって実験計画の承認を受けた。実験は、動物の安楽死や倫理基準を定めたNIHガイドライン及びARRIVEガイドラインに則り遂行した。



## 脳出血およびその後の運動が海馬における脳由来神経栄養因子発現に与える影響

○高松 泰行<sup>1)</sup>, 相馬 希帆<sup>2)</sup>, 西尾 太一<sup>3)</sup>, 高村 巴菜<sup>2)</sup>, 三島 大雅<sup>2)</sup>, 井上 貴博<sup>3,4)</sup>, 前島 洋<sup>1)</sup>

1) 北海道大学 大学院保健科学研究院リハビリテーション科学分野

2) 北海道大学 医学部保健学科

3) 北海道大学 大学院保健科学院

4) 日本学術振興会 特別研究員DC

### 【目的】

脳内出血 (ICH)は大脳基底核領域で好発し、罹患患者は運動機能障害のみならず認知機能障害を呈する。認知機能には海馬が関与するが、出血により直接損傷されていない海馬の機能が低下する機序については不明である。また運動は脳由来神経栄養因子 (BDNF)発現を促進し、海馬機能の維持向上に有効であると報告されているが、ICH後の運動がBDNF発現に与える影響については精査されていない。そこで本研究は、ICHおよびその後の運動が海馬BDNF発現に与える影響について検証することを目的とした。

### 【方法】

7週齢Wistar系雄性ラットをSHAM群、ICH群、ICHEX群の3群 (各群n=6)に分け、左線条体～内包領域にSHAM群には生理食塩水を、ICH群とICHEX群にはcollagenaseをそれぞれ注入した。ICHEX群は、術後3日目から速度11 m/分の強度で1日30分間のトレッドミル運動を2週間行った。行動評価には、神経学的評価として5-point scale, 活動性の評価としてopen field test (OFT)を用い、ストレス指標として摂餌量および体重を毎日計測した。術後16日目に海馬を採取し、定量的PCR法によりmRNA発現定量を行った。BDNFに加え、caspase-3 (神経細胞死)、TLR4 (炎症)について解析した。各結果について、Kruskal-Wallis検定あるいは一元配置分散分析で処理し、Bonferroni補正による多重比較を行った。有意水準は5%とした。

### 【結果】

神経学的障害の程度はICH群とICHEX群で差はなく、活動量に関しても群間差はなかった。摂餌量および体重について、ICH群は他群と差はなかったが、ICHEX群はSHAM群に対して低値であった。BDNF発現は、損傷側において、SHAM群と比較してICH群が低値であった。ICHEX群はSHAM群と同程度の発現量であった。Caspase-3発現は、非損傷側において、SHAM群と比較してICHEX群で低値であった。TLR4については両側ともに群間差は認められなかった。

### 【考察】

ICHにより損傷側海馬でBDNF mRNA発現量が減少した。体重、摂餌量、活動量の結果から、ICH後は過度なストレス状態であることは示されず、損傷側海馬でのみBDNF発現が低下したことから、片側ICHに付随して生じた海馬における何らかの機能障害を反映していると考えられる。しかし、神経細胞死や炎症とBDNF発現に一貫した傾向は認められず、ICH後に生じる海馬でのBDNF発現低下の機序については経時的な変化も含めてさらなる検証が必要である。一方で、ICH後の運動はICHに伴う損傷側海馬のBDNF発現減少を抑制することが示された。今後、運動によるBDNF発現低下抑制が認知機能などの行動学的な変化に与える影響について精査する必要がある。

### 【結語】

ICHにより海馬BDNF発現は減少するが、運動にはその発現量を維持させる神経保護的作用を有する可能性が示唆された。

### 【倫理的配慮、説明と同意】

本研究は所属機関の動物実験倫理委員会 (承認番号: 20-0071)の承認を得て実施した。

## 急性期脳梗塞患者における大脳白質病変と認知機能・ADLとの関連

○伊藤 優也, 堀川 学, 佐藤 周平, 大森 俊輔, 照井 由佳, 菊谷 明弘, 高橋 亜紀穂, 成田 ひなた, 佐々木 洸

秋田県立循環器・脳脊髄センター 機能訓練部

【目的】大脳白質病変(white matter lesion:WML)は主に高血圧性灌流障害を成因とする病変であり、MRIのT2画像などで高信号域として確認される。WMLは無症候性脳血管障害に分類されるが、近年では高齢者の認知機能やADL低下に関与することが報告されている。WMLは急性期脳梗塞患者のMRIにおいても頻りに確認され、認知機能の観点から入院中のADL獲得を阻害する因子となり得ると考える。そのため、本研究では急性期脳梗塞患者を対象とし、WMLとADL、認知機能との関連性を検討することを目的とした。

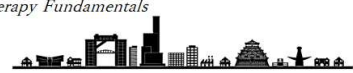
【方法】対象は基準を満たした急性期脳梗塞患者40名(年齢:70.0±10.9歳、性別男性23名 女性17名、在棟期間:15.0±7.5日)とした。主評価項目は年齢、在棟期間、5病日Barthel Index(BI)、退院時BI、BI利得(退院時BI-5病日BI)、BI効率(BI利得/在棟期間)、退院時MMSE、WMLの有無、急性期虚血性変化の範囲(DWI ASPECTS)とした。入院時MRIから確認された側脳室周囲病変(PVH)と深部皮質下白質病変(DSWMH)をFazekas Scale(FS)にて分類し、いずれかがGrade2以上をWML有りとした。WMLの有無から対象をWML群とNormal群(N群)に割り付け、各評価項目を群間比較した。FSとBI、BI利得、BI効率、退院時MMSEの関連性、及び退院時MMSEとBI、BI利得、BI効率の関連性をSpearmanの順位相関係数を用いて検討した。目的変数に退院時MMSE、説明変数にWMLの有無、年齢、性別、DWI ASPECTSを投入した重回帰分析を実施した。有意水準は5%とした。

【結果】群間比較では、退院時MMSEのみ有意差を認め、N群(28.5±1.5点)と比較しWML群(25.6±5.0点)で有意に低値であった(p=0.0183)。PVH(FS)と退院時MMSE(r=0.316、p=0.0466)、DSWMH(FS)と退院時MMSE(r=0.418、p=0.00728)との間に有意な負の相関を認めた。その他の項目では有意な相関は認めなかった。重回帰分析では、退院時MMSEに有意に関連する変数としてWMLの有無(p=0.0096)と年齢(p=0.037)が抽出された(補正R<sup>2</sup>=0.23)。

【考察】結果からWMLが急性期脳梗塞患者の認知機能低下に関連し、病変が高度である程、認知機能低下を来しやすいと考える。一方、WMLや認知機能がADLと関連を認めなかったことに関して、WML群のMMSEを過去の報告に照合すると、多くの者が軽度認知機能低下(MCI)例に属していた。高齢者のWMLを有するMCI例では、基本的ADLよりも手段的ADLの低下が顕著であるとされており、限定的環境で遂行される病棟内ADLでは認知機能低下の影響が少なかったと考える。一方、手段的ADLが求められる退院後の生活ではMCIの影響が顕在化する可能性があるため、退院後のADLへの影響も含めた調査を進めたい。

【結語】WMLは急性期脳梗塞患者の認知機能低下に関連する。

【倫理的配慮、説明と同意】ヘルシンキ宣言に基づき、対象者に対し、本研究の趣旨と個人情報守秘義務について説明し、口頭かつ書面上にて参加の同意を得た。



## 神経因性疼痛のメカニズムと神経因性疼痛ラットモデルにおける運動療法の鎮痛効果

○角園 恵<sup>1,3)</sup>, 吉里 雄伸<sup>1)</sup>, 今井 孝樹<sup>1)</sup>, 中西 和毅<sup>2)</sup>, 谷 明<sup>2)</sup>, 松崎 凌真<sup>2)</sup>, 中小川 智美<sup>2)</sup>, 松岡 輝樹<sup>2)</sup>, 榎間 春利<sup>3)</sup>

- 1)九州看護福祉大学 看護福祉学部リハビリテーション学科
- 2)鹿児島大学大学院 保健学研究科神経運動障害基礎学分野
- 3)鹿児島大学 医学部保健学科基礎理学療法学講座

【目的】神経因性疼痛患者は痛みによって日常生活や社会生活により多くの支障をきたす。しかし、神経因性疼痛は効果的に治療することは非常に困難である。本研究の目的は、慢性絞扼神経損傷 (chronic constriction injury, CCI) モデルを作成し、神経因性疼痛モデルラットにおける定期的な運動による疼痛緩和作用の効果をより詳細に検証し、メカニズムの解明を行い、加えて、海馬における神経因性疼痛による影響を明らかにすることである。

【方法】CCIモデルラットを作成し、運動群 (Ex群) と非運動群 (No-Ex群) の無作為に分けたものと正常群 (Normal群) の3群に分けて実施。運動介入はトレッドミルを使用して、20m/minの速度で30分実施し、CCI後5週間行った。50%疼痛反応閾値を機械的刺激で評価した。免疫組織化学において脊髄後角におけるミクログリア (Iba1) とアストロサイト (GFAP) の活性化、TRAF6の活性化を検討した。さらに海馬歯状回では神経新生細胞マーカーであるDCX及び神経新生に必要な中間前駆細胞のマーカーであるProx1の発現を検討した。

【結果】本研究においては、50%疼痛反応閾値がNo-Exと比較してEx群がCCI後5週で有意に疼痛が低下し、疼痛緩和効果を示す結果となった。脊髄後角ではCCI後3週でIba1、TRAF6がNo-ExとEx群を比較して有意にEx群が低下した。CCI後5週においては、Iba1, GFAP、TRAF6がNo-Ex群と比較してEx群が有意に低下を示した。海馬では、DCXがCCI後3週でNo-Ex群とEx群を比較するとEx群が有意に増加を示した。しかしProx1では有意差を示さなかった。CCI後5週ではDCX及びProx1の両方でNo-Ex群とEx群を比較するとEx群が有意に増加を示していた。

【考察】TRAF6活性化の継続は、アストロサイトのJNK/CCL2経路を活性化することにより1次終末やミクログリアにおいてCCL2の受容体であるCCR2の受容体及びミクログリア上のCCR2受容体の活性化の要因となる可能性が先行研究により報告されている。本研究においてもCCI後3週と5週でTRAF6の発現が有意にEx群で低下しており、運動により抑制効果が得られたと考える。海馬歯状回においては、運動により最も影響が出ると考えられるCCI5週でDCX及びProx1の増加を確認することができた。これらのことより海馬歯状回において、定期的な運動は神経因性疼痛により異常をきたした神経新生機能を改善させることができることを示唆した。

【結語】定期的な運動により脊髄後角ではミクログリア及びアストロサイトの活性化の抑制、TRAF6抑制の効果が示唆された。神経因性疼痛と海馬の影響について、海馬歯状回においては、運動によりDCXの活性化及びProx1の活性化が確認され、神経因性疼痛発症により記憶破壊を伴う可能性のある神経新生低下の抑制効果があることが示唆された。

【倫理的配慮、説明と同意】本研究は鹿児島大学医学部動物実験倫理委員会 (承認番号: M20002) の承認を得て実施した。

## 骨格筋3次元形状計測における3次元超音波イメージングの妥当性検証

○梅原 潤<sup>1,2,3)</sup>, 福田 紀生<sup>2)</sup>, 近田 彰治<sup>4)</sup>, 平島 雅也<sup>2)</sup>

- 1) 関西医科大学 リハビリテーション学部
- 2) 情報通信研究機構 脳情報通信融合研究センター
- 3) 京都大学大学院 医学研究科
- 4) 大阪大学大学院 医学系研究科

【目的】

骨格筋の機能は主にその形態によって決まるため、身体運動を扱うあらゆる分野において正確な筋形態の計測が重要となる。従来、筋形態の計測にはMRIが用いられてきたが、利便性やコスト面の問題により、近年、その代替手法として3次元超音波イメージング (3DUS) が注目されている。これまでに3DUSの計測精度は示されているが、そのほとんどが筋の体積を評価しており、モーメントアームに影響する筋走行や筋土士の接触力による変形といった幾何学的特徴を包含した筋の3次元形状を評価した研究はない。さらに、過去の報告では筋走行が比較的直線的な下肢筋のみを対象としているため、より複雑な形状の肩関節筋で同等の計測精度が得られるかは不明である。本研究の目的は、肩関節筋を対象として、筋の3次元形状計測における3DUSの妥当性を検証することとした。

【方法】

本研究では3DUSとMRIで撮像時の姿勢の再現性を担保することによって、筋の3次元形状の比較を可能とした上で、厳密に3DUSの妥当性を検証した。健康成人10名を対象にポリウレタンフォームで伏臥位姿勢を型取った固定具を作成し、固定具により同一姿勢となった対象者を3DUSとMRIで計測した。3DUSでは、超音波プローブを棘上筋と棘下筋、三角筋後部の皮膚上で動かしながら複数の2次元画像を撮像すると同時に、モーションキャプチャシステムを用いてプローブの姿勢を計測した。プローブの姿勢に基づき2次元画像を再構築することによって3次元超音波画像を取得し、そこから対象筋をセグメンテーションすることで筋の形状モデルを作成した。MRI画像に対してもセグメンテーションを行い、形状モデルを作成した。妥当性の検証には、各筋の形状モデルから求めた体積と3次元形状を用いた。体積に対して、Bland-Altman分析を行い系統誤差の有無を確認した。3次元形状に対して、表面間距離を算出することによって一致度を評価した。

【結果】

棘上筋と棘下筋、三角筋後部の全てにおいて、3DUSとMRIの体積の計測誤差は平均0.51cm<sup>3</sup>以下、標準偏差2.85cm<sup>3</sup>以下であり、Bland-Altman分析からも固定誤差及び比例誤差を認めなかった。3次元形状の一致度に関して、全ての筋において表面間距離の中央値は1.21mm以下、第3四分位でさえ1.89mm以下であった。

【考察】

3DUSとMRIの体積の計測誤差及び表面間距離は十分に小さいことから、3DUSは体積だけでなく、筋の3次元形状もMRIと同等の精度で計測可能な手法であると判断できる。本研究は骨格筋の3次元形状計測における3DUSの妥当性を検証した初めての研究であり、MRIに代わる比較的簡便かつ低コストな筋形態計測手法として、3DUSの有用性と汎用性を向上させた。

【結語】

複雑な形状を有する肩関節筋においても、3DUSはMRIと同等の精度で筋の3次元形状計測が可能な手法である。

【倫理的配慮、説明と同意】

本研究は演者が所属する機構の研究倫理委員会の承認を受けて実施された。

