

平成 31 年 6 月 24 日

## 海外特別研究員最終報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

採用年度 2018

受付番号 201860149

氏 名

中川 創人

(氏名は必ず自署すること)

海外特別研究員としての派遣期間を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。

なお、下記及び別紙記載の内容については相違ありません。

## 記

1. 用務地(派遣先国名) 用務地: トロント (国名: カナダ )

2. 研究課題名(和文) ※研究課題名は申請時のものと変わらないように記載すること。

脊髄損傷患者に対する非侵襲的神経機能修飾による姿勢保持能力向上の試み

3. 派遣期間: 平成 2018 年 4 月 1 日 ~ 平成 2019 年 3 月 31 日

4. 受入機関名及び部局名

Toronto Rehabilitation Institute – University Health Network

5. 所期の目的の遂行状況及び成果…書式任意 **書式任意(A4判相当3ページ以上、英語で記入可)**

(研究・調査実施状況及びその成果の発表・関係学会への参加状況等)

(注)「6. 研究発表」以降については様式 10-別紙 1~4 に記入の上、併せて提出すること。

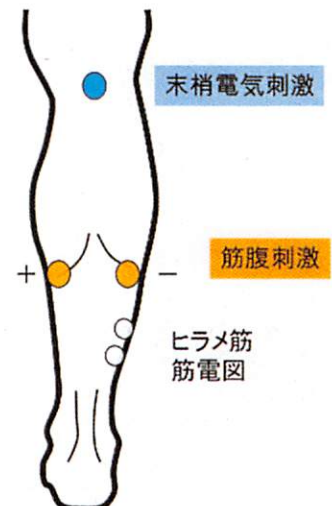
脊髄損傷患者の運動機能リハビリテーションに筋への電気刺激が広く用いられている。電気刺激を用いて麻痺筋の動きを補助するトレーニングを継続していると運動機能の改善がみられることが知られており (Masani et al. 2011; Popovic et al. 2016)、その治療的効果・神経機能修飾効果が注目されている。しかしながら、どのような神経メカニズムにより機能改善が見られるのかは未だ明らかになっていない。研究 1 ではまず、筋への電気刺激の神経メカニズムを検討することを目的とした。研究 2 では、そのメカニズムに基づき、筋への電気刺激を用いた脊髄神経回路機能修飾法を提案し、運動機能、特に姿勢保持能力を向上させることを目指した。

## 【研究 1. 筋への電気刺激による神経回路・筋タイプの動員パターンの検討】

## ＜実験 1: 筋腹刺激が脊髄神経回路に及ぼす影響＞

麻痺筋への治療効果が認められている機能的電気刺激は、筋腹刺激と末梢神経刺激の二種類に大きく分類される。末梢神経刺激によってどのような神経回路が動員されるかについては広く研究がなされている一方 (Knikou 2008)、主に臨床的に治療効果が認められている筋腹刺激についてはほとんど知られていない。実験 1 では、筋腹刺激が Ia 感覚神経を発火させるかどうか、また、運動神経上を逆行性にインパルスが届くことによる脊髄反回抑制が起きるかどうかを検討した。

まず、末梢神経および筋腹電気刺激の二種類の条件下で、刺激の強さを変化させることによる誘発電位の振幅変化を示したリクルートメントカーブを計測することにより、Ia 感覚神経の動員の有無を検討した。末梢神経刺激条件では、膝窩皮膚表面上から脛骨神経を刺激し、筋腹刺



刺激条件では、ヒラメ筋のモーターポイント上に電極を貼付して刺激した。いずれも刺激時間は1ミリ秒であった。刺激強度は、運動閾値以下から刺激装置の最大刺激強度(100 mA)まで少しずつ上げていった。筋電図上に出現する誘発電位を記録し、その振幅値を計測した。結果、末梢神経刺激条件では、よく知られているように、Ia 感覚神経を刺激されることで発現する H 反射が確認され、その後刺激強度を上げていくと運動神経由来の M 波が発現した。一方、筋腹刺激においては、H 反射がいずれの被験者・刺激強度においても見られず、Ia 感覚神経を刺激していない可能性が示唆された。その一方で、筋腹刺激では F 波が比較的低強度でも確認され、運動神経軸索を刺激している可能性が示唆された。

さらに、筋腹刺激が Ia 感覚神経を刺激していないことを確かめるため、相反抑制の有無を検討した。前脛骨筋への末梢神経刺激あるいは前脛骨筋への筋腹刺激の直後(-1 から4ミリ秒後)に、拮抗筋であるヒラメ筋の H 反射が抑制されるかどうかを観察した。前脛骨筋への条件刺激強度は、運動閾値とし、試験刺激は、H 反射振幅が最大 M 波振幅の5%となる刺激強度で行った。その結果、末梢神経刺激による条件刺激では、ヒラメ筋の H 反射が有意に低下した一方、筋腹刺激による条件刺激では変化が見られなかった。つまり、前脛骨筋の筋腹刺激では Ia 感覚神経は発火せず、その結果、拮抗筋への相反抑制は起こらない可能性が示唆された。

筋腹刺激が Ia 感覚神経を発火させないとすると、インパルスが運動神経上で逆行して、脊髓レンショウ細胞を活動させることによる反回抑制が起こり、脊髓神経回路の機能修飾に関与している可能性がある。これを確かめるために、末梢神経刺激によって発現するヒラメ筋の H 反射が、直前のヒラメ筋への筋腹刺激によって抑制されるかどうかを検討した。条件刺激である筋腹刺激は、様々な刺激強度(10~100mA)と試験刺激までの刺激間隔(50~200ミリ秒)にて行った。条件刺激を経て試験刺激によって誘発される H 反射の振幅値と、条件刺激なしの状態での試験刺激によって誘発される H 反射の振幅値を比較し、前者が有意に低値を示していれば、条件刺激によって H 反射が抑制されたと判断した。その結果、30 mA 以上の刺激強度、100 ミリ秒までの刺激間隔であれば、試験刺激による H 反射が抑制されることが確認された。この H 反射の抑制は、筋腹刺激で発現したインパルスが運動神経上で逆行してレンショウ細胞を刺激したことにより、反回抑制が生じたことによると考えられる。

以上のことより、筋腹刺激では、Ia 感覚神経を刺激することなく、運動神経軸索のみを刺激し、レンショウ細胞を介して脊髓回路の抑制を生じさせる可能性が示唆された。電気刺激によって脊髓損傷患者への治療効果が顕著なのは、電気刺激中に随意収縮を組み合わせたときである (Masani et al. 2011; Popovic et al. 2016)。本研究の結果を踏まえると、筋への電気刺激の治療効果のメカニズムとして、随意収縮による下行性信号と、電気刺激による上行性の信号が脊髓運動ニューロン上で交錯し、ヘブ則による運動ニューロンの可塑性が促進され、その結果運動機能が向上するという可能性が考えられる。

以上の成果は、現在国際誌に論文として投稿中である。

## <実験2：筋腹刺激による筋タイプ動員パターンの検討>

一般的に、随意的に筋を収縮させるとき、低強度の際は遅筋線維が優先的に動員され、強度を上げていくにつれ、速筋線維も併せて動員されるというサイズの原理に従う。しかしながら、電気刺激による筋収縮においては、サイズの原理に従うかどうかは一致した見解がない。例えば、末梢神経への電気刺激では、サイズの原理に従うという主張 (Rodriguez-Falces and Place 2013)、サイズの原理の逆、つまり速筋線維から動員されるという主張 (Trimble and Enoka 1990; )、筋タイプに関わらずランダムに動員されるという主張 (Bergquist et al. 2012) がある。筋腹刺激においても同様に、一致した見解がなされていない (Knaflitz et al. 1990; Heyters et al. 1994; Feiereisen et al. 1997; Farina et al. 2004)。これらの研究は、研究間で対象筋や刺激パラメータが異なるという問題点があり、同じパラメータで末梢神経刺激と筋腹刺激を比較したものはほとんどない。そこで、脊髓損傷患者の麻痺筋の代表例であり、立位制御に重要なヒラメ筋を対象として、末梢神経刺激と筋腹刺激におけ



る筋タイプ動員パターンの違いを検討した。

末梢神経刺激では膝窩にて脛骨神経を刺激し、筋腹刺激ではヒラメ筋のモーターポイントを刺激した。刺激時間は1ミリ秒で、刺激強度は5mA から100mA まで2mA 刻みで徐々に強めていった。筋電図の他に、足関節底屈トルクを計測した。電気刺激によって得られる誘発トルク波形より、立ち上がりからピークまでの時間 (Time to Peak)、立ち上がりからピークまでの平均スロープ、最大スロープおよびその発現時間を算出した。

Time to Peak においては、筋腹刺激では低強度から高強度に上がるにつれて増加した。つまり、低強度の際は筋収縮が速く、高強度のときは遅くなり、サイズの原理とは逆の動員パターンである可能性が示された。一方、末梢神経刺激においては、特に低強度刺激の際に筋腹刺激よりも Time to Peak が大きく、高強度になると徐々に小さくなり、筋腹刺激との差はなくなった。これは、サイズの原理に従うパターンのように見えるが、末梢神経刺激では強度を上げると H 反射と M 波という二種類の誘発電位が時間差をもって同時に発現するため、この区間で動員パターンを推測するのは難しい。そこで、M 波の閾値以下の H 反射のみが発現する局面を見てみると、Time to Peak の変化パターンに一定の傾向は見られなかった。つまり、末梢神経刺激ではランダムに筋タイプが動員されるという可能性が示された。また、平均スロープにおいても、低強度のときは筋腹刺激のほうが高値を示し、最大スロープの発現時期も筋腹刺激のほうが早かった。これらのデータも、筋腹刺激がサイズの原理の逆のパターンで筋タイプを動員する可能性をサポートするものである。

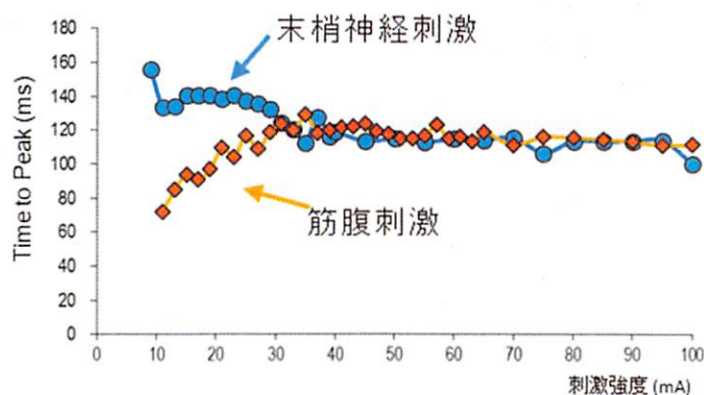


図. 一名の被験者におけるTime to Peakの強度依存的変化

## 【研究2. 筋への電気刺激を用いた連合性ペア刺激による脊髄神経回路修飾法の提案】

研究1において、筋への電気刺激により発現したインパルスが運動神経を逆行性に上行し、脊髄運動ニューロンを修飾する可能性が示された。また、電気刺激治療が随意収縮中に効果的であること(Masani et al. 2011; Popovic et al. 2016) を踏まえると、運動ニューロンへシナプスを介して接続する信号と逆行性の信号をヘブ則に従い適切なタイミング差で運動ニューロンに入力させると、運動ニューロンの可塑性を効果的に操作できる可能性がある。実際に、これをモデル化した Taylor et al. (2009) は、末梢神経刺激による運動神経の逆行性信号と一次運動野磁気刺激による下行性信号を1-3ミリ秒程度のタイミング差で運動ニューロンに到達させることで、脊髄運動ニューロンの可塑性を引き起こし、興奮性および運動機能も修飾することを示した。この連合性ペア刺激は、のちに、脊髄損傷患者にも応用され、同様の手法を行うことにより、麻痺肢の運動機能・巧緻性が向上したことが示された (Bunday and Perez 2012)。しかしながら、これらは対象筋に限られる末梢神経刺激により運動神経上の逆行性信号を生み出している。これに対して、筋腹への電気刺激は、筋表面上のあらゆる筋に刺激が可能なので、末梢神経刺激では刺激できない筋へも応用できる。研究2の目的は、筋への電気刺激を用いた連合性ペア刺激の脊髄神経回路への修飾効果を検討することである。

実験は二種類計画した。一つは皮質磁気刺激による下行性信号と筋への電気刺激による逆行性信号のペア刺激で、皮質脊髄路と運動ニューロン間のシナプス結合の修飾が狙いである。二点目は、末梢神経電気刺激によって Ia 感覚神経を発火させ、同時に筋腹刺激を行い、両者を組み合わせることで、脊髄反射弓のシナプス結合を修飾させることを狙う。派遣中、後者の実験系構築を行った。刺激装置が二台必要なため、末梢神経刺激用の電気刺激装置を作成し、反射を誘発するのに十分な

刺激強度で刺激できることを確認した。また、二つの信号が運動ニューロンに到達する時間差を計算するため、末梢神経刺激による H 反射の潜時、筋腹刺激による M 波、F 波の潜時を調べ、末梢神経刺激による反射信号が脊髄運動ニューロンに到達する時間および筋腹刺激による逆行性信号が運動ニューロンに到達する時間を算出することが可能となった。末梢神経刺激は最大 H 反射振幅が得られる強度、筋腹刺激は 100mA にて行い、刺激間隔は、両信号が 1 ミリ秒の時間差で運動ニューロンが到達するように調整した。シャム刺激として、時間差が-5 ミリ秒になる刺激間隔を設定した。連合性ペア刺激は、0.1Hz にて 100 回行った。評価は、安静時の最大 H 反射振幅、また H 反射のリクルートカーブを記録し、最大 H 反射と最大 M 波の割合、H 反射閾値を算出する。さらに、運動機能の指標として、最大底屈トルク、および静止立位での重心動揺を求める。

以上のことは二年間で行う計画としていたが、派遣は 1 年間で終了したため、連合性ペア刺激を全て遂行することはできなかった。今後の実験実施は受入研究者および共同研究者に依頼する。