

研究報告書

「感覚帰還信号が内包する運動指令成分の抽出と利用」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 関和彦

1. 研究のねらい

脊髄の断面図を見ると、それがあたかも大脳皮質の縮図であることが分かる。背側には感覚入力を担う一次感覚神経からの情報を受ける細胞、腹側には直接筋肉に指令を送る運動ニューロンが位置し、その間(中間層)には両者の関係性を調節する介在ニューロンが位置する。感覚入力をもとに(一次感覚神経)適切な運動を選択し(介在ニューロン)、運動を引き起こす(運動ニューロン)のが中枢神経系の基本機能の一つと考えれば、脊髄神経回路にはその基本要素が全て備わっている。

脊髄は例えば大脳皮質と比較してもその入出力が他の中枢神経系に比べて分かりやすい事から過去盛んに研究がなされ、それを構成する神経ネットワークについては多くの知見が得られている。例えば20世紀初頭には Charles S. Sherrington によって「運動の基礎単位」と定義され全ての複雑な運動は複数の反射の組み合わせによって説明可能だとまで考えられていた。その後、より上位の運動中枢の研究が進み、脊髄反射以外の筋活動制御系も明らかになってきたが、脊髄反射の組み合わせが運動の基本単位を構成しているという考え方は、筋シナジーや運動プリミティブ仮説という形で現在も有力である。

さて、脊髄損傷や脳卒中などで起こる運動障害の多くは、脊髄下行路の遮断に伴う現象であると考えられる事ができる。つまり、上記の手や足の運動を司る脊髄回路は損傷当時は健全なまま残されているが、それらを目的にあわせて組み合わせるのに必要な皮質や上位中枢との連絡が遮断されたために、異常な運動が見られるのであろう。上記のように、脊髄には目的とする運動を構成する基本単位があるので、それを使う事ができないため運動をうまく行う事ができない、という状況に置かれていると考える事もできる。

本研究は、この点に着目し、損傷後も脊髄に健全な形で存在する運動の基本単位を、下行路の細かな制御なしにうまく駆動できないかと発想した。この脊髄神経回路を働かせるためには下行路に変わる駆動信号が必要である。本研究ではこの駆動信号を、感覚帰還信号に求めた。つまり、同じ運動を繰り返す場合、末梢の感覚受容器はいつも同じパターンで刺激され、それによって一次求心神経には定型的な感覚帰還信号が励起される。この感覚帰還信号は必ず運動の詳細な情報が含まれているはずであり、それを解読し、適切な脊髄神経回路(運動プリミティブや筋シナジー要素)をそれにあわせて刺激する事により、多様な運動が制御できるのではないかと考えた。そのため、本研究期間では、①脊髄刺激によって上肢運動を制御する技術、②一次求心神経の活動記録から運動情報を解読する技術、の確立を目標とした。

2. 研究成果

(1) 概要

5年間の研究期間の中では、大別して3つの研究成果が得られた。第一に筋シナジーの脳内表現に関する研究成果である。脊髄刺激によって上肢運動を制御する技術開発のためには、まず脊髄が他の運動中枢と比較してどのような運動を引き起こす事が可能なのかを知る必要があった。そこで、典型的な上肢の固有運動である把握運動やリーチング運動をサルに訓練し、その際の多数の上肢筋の活動と脊髄神経活動を同時記録した(文献2、7)。その結果、脊髄介在ニューロンは複数の手固有筋に対して興奮性に働く事が判明した。この事は、把握運動を制御する際に脊髄刺激が有効に働く事を意味していた。第二に、慢性埋め込み電極による脊髄刺激方法の開発に関する研究成果である。脊髄損傷や脳卒中の患者(モデル動物として文献1)に上記技術を適用するためには、慢性的に電極を脊髄に埋め込み刺激や記録をする技術が必要であるが、霊長類を対象とした当該技術は存在しなかった。そこで、多極アレー電極をサル頸髄に埋め込み約1年間にわたって比較的安定的に脊髄刺激を行い、運動を誘発する技術を確立した(文献 5、投稿中)。第三に一次求心神経活動の光遺伝学による制御技術の確立である。当初の予定では、DRG 細胞から多極電極で信号記録を行い、そこから運動情報を解読する計画であったが、技術的に困難で未だに実現していない(継続中)。一方、研究開始後に急速に進展してきた光遺伝学の技術を用いれば、体性感覚のモダリティ依存的に求心神経活動を抑制でき、どの種類の求心神経にどのような運動情報が内包しているのか、因果関係も含めて検証できる可能性があった。そこで、ウィルスベクターを用いて求心神経に光遺伝子を導入し、光刺激によって活動制御する基盤技術を確立した。

(2) 詳細

研究成果1 「筋シナジーの脳内表現」

我々は、脳と運動神経をつなぐ働きをしている脊髄介在神経に注目。サルがレバーを「つまむ運動」をしている際に、この脊髄介在神経がどのように活動しているのかを記録することに世界で初めて成功した(図1)。さらに、指の運動に関わる筋肉の活動を記録することで、脊髄介在神経の活動が筋肉の活動にどのような影響を及ぼすのかを解析した。その結果、今回記録した多くの脊髄介在神経は一つ一つの筋肉をコントロールしているのではなく、複数の指の筋肉を協調させて活動させていることが明らかになった(図2)。これは、脊髄介在神経が大脳皮質からの神経活動をそのまま運動神経に伝えるだけの単純な中継点ではなく、筋肉を協調させるという複雑な役割を持つことを示している。このような脊髄介在神経は、複雑な手の運動を効率良く行うために重要なのではないかと考えられる。例えば、図2の介在神経Aは複数の指を曲げる筋肉を活動させる働きを持っており、このような介在神経が活動することで複数の指を協調させて物をつまむ運動を引き起こせる可能性が考えられる。この実験結果から、手の運動の際の「指の組み合わせ」が脊髄介在神経によって作られているのではないかと新たな仮説を導くことができた(文献 3、7)。次にそれらの介在ニューロンの活動を運動の時系列にあわせて詳細に解析した。その結果、これらのニューロンには、運動の開始時だけに活動するもの(P型)、運動を継続している際に活動するもの(T型)、またそのどちらでも活動するもの(P+T型)が存在することが分かった(図3A)。さらに、その割合をみてみ

ると多くのニューロンがP+T型を示していることが明らかになった(図3B)。これは、驚くべき結果であった。なぜなら、大脳皮質のニューロンでは、運動開始(P型)か運動継続(T型)のみで活動するものが大半ということが知られていたからである(図3C)。むしろ、このようなP+T型は、手先の筋肉の活動とよく似た特徴であった。そのため、前運動介在ニューロンは大脳皮質からの運動司令(P型やT型)を統合して、最終的な筋活動を作り出している可能性が示された。この結果から、脊髄介在ニューロンは大脳皮質からの情報を筋肉へと単純に「リレー」しているだけではなく、情報の統合や処理を行なっていると考えられる(文献 2)。これらの研究結果は、脊髄刺激によってこれらのニューロンの活性化させる事によって、把握運動の外的制御が可能になる事を強く示唆していた。

研究成果2「慢性埋め込み電極による脊髄刺激方法の開発」

本研究ではサル下位頸髄に多極アレー電極(Microprobe 社 Floating Microelectrode Array)を長期的に埋め込み、上肢運動の誘発閾値の変動を記録する事が第一の目的であった。3頭のサルに当該電極(16 極または 36 極)を埋め込み、麻酔下において定期的に電気刺激を各電極に与え、運動誘発閾値などを観察した。埋め込み後最長 285 日までの運動誘発閾値は埋め込みから2-3ヶ月後に100 μ A から 300 μ A 程度まで平均して上昇するが多かったがその後は一定していた。また、脊髄浅層から深層まで刺激できる様々な長さの刺激電極を埋め込んだが、電極による刺激効果の相違は少なかった。この事は使用した刺激強度の場合、脊髄の広範囲のニューロンが直接・間接に電気刺激によって動員される事を示していた(文献 5、投稿中)。

この実験中に新たな発見があった。つまり、脊髄刺激を様々な腕の初期姿勢において行うと、初期姿勢に応じて刺激効果が変化していた(図4)。この結果は大変興味深かった。つまり、目標到達運動で実際に使われる運動実行プログラムは、手や腕の初期位置によって大きく異なる。例えば、目前にあるコーヒーカップに手を伸ばすとしよう。コーヒーカップより手が右にある場合には、手首や肘の屈筋が動員されて目標が達成される。一方、手が左にある場合は反対に伸筋が動員される必要がある。このように、運動指令(コーヒーカップを掴む)は手指の初期位置(右にあるか、左にあるか)に応じて柔軟に変更される必要があるのである。

上記の結果は、この変換過程に脊髄神経回路が関連しているという仮説を支持する。そこでこの仮説を持って研究を進め、今回、麻酔下のサルの脊髄を電気刺激した際の筋に誘発される反応(誘発筋電図)が、サルの上肢の姿勢によって顕著に変化する事を発見した。この変化は上位頸髄を完全に切断した後も残存したので脊髄内の現象であり、特に手指筋に顕著であった。また、複数のコントロール実験の結果、この筋出力の姿勢依存性は、姿勢に応じた脊髄反射回路などへの求心性入力の差による事が明らかになった。この結果は、多数の求心神経の脊髄入力の総和によって腕の姿勢が脊髄に表現されており(姿勢の内部モデル)、それに応じて脊髄の運動出力が変化している可能性を示唆するものである。特に指においてこの姿勢依存性が大きかった事は、今後脊髄刺激を用いて指運動を制御する場合、前腕の初期位置を考慮に入れた刺激パラメタの調整が必須である事を示唆していた(矢口他、投稿中)。

研究成果3「一次求心神経活動の光遺伝学による制御技術の確立」

ラットの座骨神経または L5-DRG にウィルスベクターを用いてチャンネルロドプシン及びアーキロドプシンを発現させる事に成功した。急性実験の結果、DRG への光刺激によって脊髄における volley 電位が誘発、制御される事が確認された。異なった電動スピードを持つ複数のタイプの感覚神経が光刺激によって興奮し、その振幅と潜時は光刺激強度に依存して変化した。また、慢性留置型の光刺激プローブにおいても同様な知見が得られたので、今後覚醒行動下のラットにおいて実験を行い、reafference の操作に伴う筋活動の変化等を観察する予定である。また、サル上肢において同様の実験を行う準備を進めている。

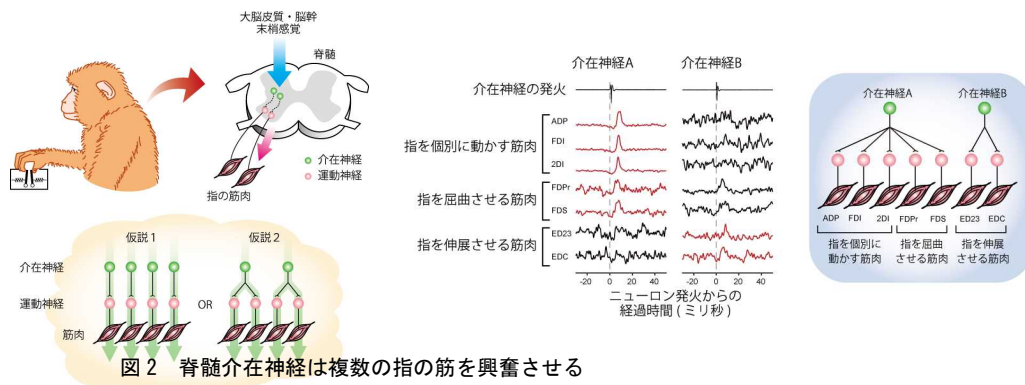
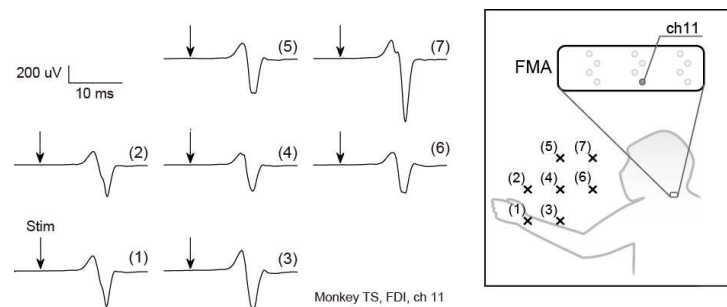
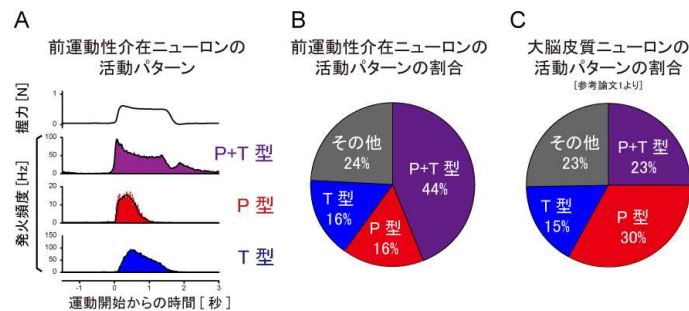


図 1 脊髄と把握運動（二つの仮説）



3. 今後の展開

研究期間の5年間で、脊髄ニューロンへの電気刺激は特に把握運動の再建に有効である事が実験的に証明された。また、脊髄埋め込み電極での把握運動の再建は技術的には確立したので、今後は実際に臨床応用に展開するための前臨床研究を開始する必要がある。特に、脊髄刺激は後角硬膜上への電極留置による痛み制御システムが既にヒトにおいて臨床応用されており、同システムを上記技術に用いる事ができないかにつき、すでに検討を始めている。また、筋シナジー形成は脊髄だけでなく脳幹や皮質など異なった領域も関わっている可能性が高く、これらへの電気刺激を併用することによって、より多様な運動が制御できるようになる。そのためには、この筋シナジーが神経系全体としてどのように生み出されているのかについてさらなる研究が必要である。上記研究成果は、この第一歩と位置づける事ができる。感覚神経情報の解読については、まず DRG や末しょう神経への多極電極留置による多チャンネル記録の技術確立を継続して行う必要がある。一方、光遺伝学により感覚神経のモダリティとそれが内包する運動駆動情報との関係を確立すれば、多チャンネル記録を行った際解読すべき情報と求心神経の種類の関係性を用いることができ、情報解読の制御が飛躍的に進むと期待される。そして、最終的には感覚情報の解読と脊髄刺激による運動制御の組み合わせによる運動支援技術の確立に展開してゆきたい。

4. 評価

(1)自己評価

(研究者)

採択直後に生理学研究所から国立精神・神経医療研究センターへの異動が決まり、霊長類実験セットの立ち上げなどで、研究期間前半の研究がやや停滞した。その結果、特に感覚情報の解読の部分で達成できなかった技術開発が残った事、研究成果の一部が論文化できていない点が反省点である。しかし現在継続している研究によって確立する見込みはついており、2編の論文が投稿後改訂状態にある。従って、研究目的はおおむね達成できたと評価できる。研究開始当初は脊髄介在ニューロンと把握運動制御の関係性は一般的に確立されていなかったが、最近では我々の論文を引用してそれらの関係性を言及する論文も出てきており、一定のレベルの学術的価値がある成果であったと評価できる。また、慢性電極による脊髄刺激技術は上記の通り、比較的速やかにヒトへの展開が可能な技術であるが、研究開発当初は把握運動再建に用いた試みは皆無であった。四肢麻痺患者の最も取り戻したい運動機能が「手指の運動」であるとする調査結果からも分かるように、手指運動再建は BMI 技術にとって重要な課題である。本研究の結果は、この重要なテーマに対する、基盤的知見を提供できたと評価される。まだ、実験中ではあるが、体性感覚のモダリティ特異的な操作技術が確立すれば、長年議論されてきた運動制御における末梢感覚入力の役割について決定的な証拠を提示できる可能性がある。この点で、初期の研究成果は評価できる。

さきがけの脳情報領域では、異なった実験技術や知識を有する多くの若手研究者と交流する機会が与えられた。そして、領域会議での議論などで固まってきたチャレンジングな技術開発をいくつか共同研究という形で実現できた。このような萌芽的な技術の開発は生理学が背景にある私自身では発想できなかった内容である。このような領域内交流が大変円滑にでき

る領域であったので自己に対する評価とは言えないが、あえて評価すれば積極的にこのような共同研究を推進した事は評価できる。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

研究進捗状況は良好であり、研究目標を達成した。脊髄損傷や脳卒中などによる運動障害は、上位中枢からの指令が遮断され、脊髄の神経回路に届かないために起こる。損傷後も何らかの手段で脊髄を駆動して運動を回復することは多くの患者が望むことであるが、そのためには、上位中枢からの駆動信号に相当する信号を確保することが必要である。本研究ではこの駆動信号を、感覚帰還信号に求め、実現に向けて歩を進めた。従来、上位中枢が運動の指令・継続に決定的役割を果たすと考えられてきたが、近年、本研究を含めて脊髄神経回路が重要な役割を果たすこと、運動により末梢の感覚受容器が刺激されるが、その感覚帰還信号には詳細な運動情報が含まれることが明らかにされてきた。実験的に感覚帰還信号を解読し、その情報を型として用いて脊髄の神経回路を刺激する方法を開発すれば、運動そのものを制御できる。このために、サルを用いた研究により、脊髄刺激によって上肢運動を制御する技術、一次求心神経の活動記録から運動情報を解読する技術を開発した。すなわち、第一に把握運動や到達運動で、脊髄介在ニューロンが複数の手固有筋に対して興奮性に働く事を世界で初めて見出した。この事は、脊髄が単なる中継点ではなく、筋の協調運動のセンターの1つであり、大脳皮質からの運動司令、感覚帰還信号を統合して、最終的な筋活動を作り出している可能性を示す。さらに、同じ把握運動でも初期姿勢により運動軌跡が異なることを反映し、異なった脊髄神経活動が得られることを、中枢支配を排除した標本で示した。これらの機能構造は手の把握運動に際して人工的な脊髄刺激を与える BMI システムが有効に働く事とともに、そのパラメータ設定に求心入力を考慮する必要性が高いことを意味する。第二に、多極アレー電極をサル頸髄に埋め込み約1年間にわたって比較的安定的に脊髄刺激を行い、慢性埋め込み電極による脊髄刺激方法を開発した。これは脊髄損傷や脳卒中の患者に実際にこの方法を適用するために必須の動物実験である。第三にウィルスベクターを用いて一次求心神経に光遺伝子を導入し、光刺激によって神経活動を制御する基盤技術を確認し将来への医療応用の展開のための基礎を固めた。

なお、本研究成果が評価され、新学術領域:脳内身体表現の変容機構の理解と制御に計画班代表、革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト、および 臨床研究グループ:脳血管障害とパーキンソン病における脳神経回路障害とその機能回復に関わるトランスレータブル脳・行動指標の開発 機関分担研究者として採択された。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Puentes S., Seki K. et al. Internal capsule stroke in the common marmoset: *Neuroscience* online 2014.10.15
2. Takei T, Seki K. Spinal premotor interneurons mediate dynamic and static

motor commands for precision grip in monkeys. *Journal of Neuroscience*. 2013 33: 8850-8860.

3. Takei T, Seki K: Synaptic and functional linkages between spinal premotor interneurons and hand-muscle activity during precision grip. *Frontiers in Computational Neuroscience*. 2013 7:40.

4. Umeda T, Seki K, Sato M., Nishimura Y., Kawato M., and Isa T. Population coding of forelimb joint kinematics by peripheral afferents in monkeys., *PLoS One* 2012 7(10): e47749.

5. Jonas B Zimmermann., Seki K, Andrew Jackson.: Reanimating the arm and hand with intraspinal microstimulation. *J. Neural Eng.* 2011 8(5). 054001

6. Seki K and Fetz, EE.: Gating of Sensory Input at Spinal and Cortical Levels during Preparation and Execution of Voluntary Movement. *Journal of Neuroscience*, 2012, 32(3): 890-902

7. Takei T, Seki K: Spinal interneurons facilitate coactivation of hand muscles during a precision grip task in monkeys. *Journal of Neuroscience* 2010;30(50): 17041-50

(2)特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. (国際学会発表) H. Yaguchi, D. Kowalski, T. Takei, K. Seki: Posture dependency of the twitch responses induced by intraspinal microstimulation to the primate spinal cord. Neuroscience2014, Washington D. C., USA: 20141115-20141119
2. (国際学会発表) Seki. K: Subcortical control of voluntary movement. 18th Thai Neuroscience Society Conference 2014 and 2nd CU-NIPS Symposium "Frontier in Neuroscience Research" . Bangkok, Thailand: 20141221-20141223
3. (著書) 関和彦:「脊髄反射とその下降路制御」Clinical Neuroscience. Vol.31(8), 中外医学社, 903-906, 2013
4. (国際学会発表) Oya T, Takei T, Seki K: Synaptic distribution patterns of rubromotoneuronal cells onto forelimb muscles for a whole-limb movement in the macaque monkey. 23rd Annual meeting of the Neural control of Movement. Puerto Rico, USA: 20130416 - 20130420
5. (国際学会発表) Seki K., Takei T.: A neural basis for hand muscle synergy in primate spinal cord. 22nd Annual meeting of the Neural control of Movement, Venice, Italy, April 24-25, 2012
6. (学会発表) 関和彦: 随意運動の制御における脊髄神経回路の役割を再考する. 第48回日本リハビリテーション医学会学術集会, 幕張, 11.3, 2011

7. (学会発表) Seki K.: Drexel University, Spinal Control of Primate Grasping Philadelphia, PA, USA, 11. 2011.
8. (国際学会発表) Takei T., Seki K.: Neural basis for hand muscle synergy in primate spinal cord. 5th SfN Satellite Symposium on Motor Systems, Bethesda, MD, USA, P29, 11. 11, 2011.
9. (国際学会発表) Takei T., Seki K.: Neural basis for hand muscle synergy in primate spinal cord. The 41st annual meeting of the Society for the Neuroscience Washington D. C., USA, RR22/185. 03, 11. 13, 2011.
10. (学会発表) 関 和彦, 武井 智彦, 矢口 博彬, 大屋 知徹: 多極アレイ電極を用いたサル頸髄神経活動の記録と電気刺激方法の確立 Application of multi-electrode arrays for recording and stimulating in the cervical spinal cord of a sedated monkey. 第34回日本神経科学大会, 横浜, 9. 17, 2011
11. (学会発表) 関 和彦, 武井 智彦: 把握運動の筋シナジー形成における脊髄介在ニューロンの役割 Spinal interneurons contribute to generation of muscle synergies in primate grasping. 第34回日本神経科学大会, 横浜, 9. 17, 2011.
12. (学会発表) 関和彦: 随意運動の制御における脊髄の役割: 反射や歩行を越えて. 第176回つくばブレインサイエンス・セミナー, つくば, 10. 12, 2010
13. (国際学会発表) Seki K, E. E. Fetz: Modulation of sensory responses at spinal and cortical levels during preparation and execution of voluntary movement. The 40th annual meeting of the Society for the Neuroscience, San Diego, USA, 494. 22/HHH12, 11. 15, 2010.
14. (学会発表) 関和彦: 随意運動の制御における脊髄ニューロン系の役割とその臨床的意義. 第87回日本生理学会大会, 盛岡, 5. 19, 2010.