

茨城県立医療大学大学院博士論文

脳卒中リハビリテーションへの応用に向けた  
電気-磁気連合性ペア刺激の基礎的研究

山本 哲

茨城県立医療大学大学院博士後期課程保健医療科学研究科

保健医療科学専攻理学療法学領域

2017年1月

# 目次

論文要旨	1
第2章 研究1	
左右一次運動野への磁気刺激による運動誘発電位の比を用いた 電気-磁気連合性ペア刺激の新たな評価方法に関する研究	
1. 要旨	4
2. はじめに	4
3. 実験方法	5
4. 実験結果	7
5. 考察	11
第3章 研究2	
左右一次運動野の機能的結合性を用いた電気-磁気連合性ペア刺激の 新たな評価方法に関する研究	
1. 要旨	12
2. はじめに	12
3. 実験方法	13
4. 実験結果	18
5. 考察	23
第4章 結論	24
第5章 謝辞	24
引用文献	25

## 略語一覧

APB; abductor pollicis brevis 短母指外転筋

BOLD; blood oxygenation level dependent

CS; conditioning stimulus 条件刺激

FDR; false discovery rate

fMRI; functional magnetic resonance imaging 機能的磁気共鳴画像

FWE; family wise error

GLM; general linear model 一般線形モデル

M1; primary motor cortex 一次運動野

MEP; motor evoked potential 運動誘発電位

PAS; paired associative stimulation

PAS25; paired associative stimulation (interstimulus interval 25 ms)

S1; primary somatosensory cortex 一次体性感覚野

TMS; transcranial magnetic stimulation 経頭蓋磁気刺激

TS; test stimulus 試験刺激

## 論文要旨

### 【背景】

磁気刺激や電気刺激を用いた非侵襲的な脳刺激法は、脳卒中片麻痺治療において有用な介入となることが期待されている。非侵襲的な脳刺激法の1つに、末梢神経電気刺激とそれに引き続く一次運動野 (Primary motor cortex, 以下 M1) への経頭蓋磁気刺激 (Transcranial magnetic stimulation, 以下 TMS) を組み合わせた Paired associative stimulation (以下 PAS25; 刺激間間隔 25ms) という刺激方法がある。PAS25 は一般に、皮質脊髄路の興奮性を増大させると報告されており、その皮質脊髄路への影響は単発 TMS による運動誘発電位 (Motor evoked potentials, 以下 MEP) の振幅の変化によって評価が行なわれている。一方近年、PAS25 による MEP 振幅は、同条件の PAS25 において減少する対象も存在すると報告がなされた。この報告は、現在使用されている単発 TMS による MEP 振幅を用いた PAS25 の評価に、不安定さが存在することを示している。安定した PAS25 の評価方法が開発されることは、PAS25 の臨床応用に有用となる。

### 【目的】

PAS25 付与において、左右 M1 の変化を含む評価である 2 連続 TMS (研究 1) と、安静 fMRI (研究 2) を用いて、PAS25 が M1 間に及ぼす影響を調べることにより、PAS25 の安定した評価方法を検討することとした。

### 【方法】

[研究 1] 健常成人 10 名を対象とし、右正中神経電気刺激に引き続く左 M1 の TMS (刺激間間隔 25 ms) を 100 回行った (PAS25)。PAS25 前後に、左右 M1 への単発および 2 連続 TMS による短母指外転筋 (Abductor pollicis brevis, 以下 APB) の MEP の計測を行い、皮質脊髄路の興奮性を反映する単発 TMS により生じた MEP の振幅と、2 連続 TMS による MEP 振幅 (試験刺激比) の左右比 (以下、MEP 振幅比 (右/左 APB)) を求めた。

[研究 2] 健常成人 17 名を対象とし、研究 1 と同じプロトコルにて PAS25 を行った。PAS25 の前後に安静 fMRI (functional magnetic resonance imaging) を撮影し、左右 M1 間の機能的結合性の変化を検討した。また、PAS25 前後に左 M1 への単発 TMS を行い、右 APB の MEP の測定を行った。安静 fMRI 画像における M1 領域の同定は、PAS25 を行う前に fMRI を用い、手対立運動課題における賦活領域を運動感覚野と定義し、安静 fMRI による機能的結合性の解析を行った。

### 【結果及び考察】

[研究 1] PAS25 による単発 TMS による MEP 振幅の変化は一定した傾向を認めなかった。一方、MEP 振幅比 (右/左 APB) は、PAS25 前と比較し PAS25 後に、全対象に値の増大が観察された。このことより MEP 振幅比 (右/左 APB) は、安定した PAS25 評価方法であり、ばらつきの大きい単発 MEP より優れた評価方法であると考えられる。

[研究 2] PAS25 前後で、単発 TMS による MEP の振幅は一定した変化を認めなかった。一方、PAS25 前と比較し PAS25 後では、PAS25 刺激側半球である左 M1 から右 M1 への機能的結合性の有意な変化が認められた。さらに、右 M1 から左 M1 への機能的結合性の有意な変化が認められた。このことから、安静 fMRI によって計測される M1 間の機能的結合性は、PAS25 による影響を安定して計測可能な優れた評価であると考えられる。

### 【今後の課題】

PAS25 には複数の刺激プロトコルの報告があり、刺激回数および刺激頻度が報告に

より異なる。本研究では、刺激回数 100 回、刺激頻度 0.2 Hz のプロトコルを用いたが、他の刺激条件においても、本研究の結果について検証を行う必要があると考える。

**【結語】**

2 連続 TMS を用いた MEP 振幅比（右/左 APB）および、安静 fMRI によって計測される M1 間の機能的結合性は、PAS25 による影響を安定して計測可能であり、ばらつきの大きい単発 MEP より優れた評価方法であると考えられる。本研究によって提案された PAS25 の評価方法は、今後の PAS25 の臨床応用に有用な知見となると考えられる。

## 第1章 緒言

近年、脳卒中による運動麻痺に対し、頭皮上から刺激を行い大脳皮質神経細胞の賦活を変えることによって麻痺を回復させる手法が提唱されており[1, 2], 特に、経頭蓋磁気刺激 (Transcranial magnetic stimulation, 以下 TMS) を用いて麻痺回復を試み、その有用性を示した報告[3-6] が散見される。TMS を用いた刺激手法の一つである Paired associative stimulation (PAS) は、TMS と末梢神経電気刺激を組み合わせた一連の刺激で構成される。Stefan ら[7]は、一次運動野 (Primary motor cortex, 以下 M1) への TMS と正中神経への電気刺激の刺激間隔を 25 ms に設定し、これを 90 回繰り返すこと (以下、PAS25) により、単発 TMS により導出される運動誘発電位 (Motor evoked potential, 以下 MEP) の振幅が健常者において増大することを報告した。MEP の振幅は M1 の興奮性を示す[8, 9]とされており、PAS25 によって M1 に生じた変化を調べる手法として用いられている[10-12]。さらに Castel-lacanal ら[13]は、脳卒中患者に PAS25 を行い、同様に MEP の振幅が増大することを報告した。これらの報告により、PAS25 は M1 の興奮性を増大させることから、脳卒中運動麻痺回復に有用であると示唆される。

一方、近年、PAS25 付与後の MEP 振幅は、ばらつくという問題点があることが報告された[14]。これまでに、Stefan ら[7]は、PAS25 により、対象者の 95% で MEP の振幅が増大したと報告している。一方で Lopez-Alonso ら[14]は、同条件の PAS25 を施行したにも関わらず対象者の 39% に MEP 振幅の増大を認め、その他の対象者の MEP 振幅は減少したと報告している。これらの報告は、現在使用されている MEP 振幅による PAS25 の評価に不安定さが存在することを示している。Shin ら[15]は、PAS25 による M1 の興奮性変化を調べる新たな手法として、左および右 M1 の頭皮上にそれぞれ配置したコイルから 2 連続の TMS (刺激間隔 10 ms) を行い、得られた MEP の振幅を用いることによって、PAS25 による定性的な変化を計測できたと報告した。この 2 連続 TMS は、左右 M1 の脳梁を通じた、M1 間の抑制状態を測定する手法として提唱されている[16]。よってこの 2 連続 TMS で計測された、PAS25 による M1 の定性的な変化は、左右の M1 に脳梁を通じた変化が生じたためであると Shin らは考察している。この Shin らの報告は、PAS による影響は、一側の M1 に生じるのみならず反対側の M1 に及ぶことを示しており、これらの影響を含んだ評価を行うことで PAS25 を定性的に評価する方法を新たに作成できる可能性を示唆する。なお、Shin らの報告で行った 2 連続 TMS は、PAS 刺激側から PAS 非刺激側半球の一方向のみ計測しており、PAS 非刺激側から刺激側半球への 2 連続 TMS を行っていないため、2 連続 TMS により得られた MEP 振幅が、左右で変化する割合についての検討を行っていない。そこで本研究 1 では、PAS25 の前後に、PAS 刺激側から PAS 非刺激側、及び PAS 非刺激側から PAS 刺激側に 2 連続 TMS を行い、得られた MEP 振幅の比を算出し、この値を用いて PAS25 が左右 M1 間に及ぼす影響について検討を行った。

また、前述の通り TMS により生じた MEP 振幅は M1 の興奮性 (機能的状態) を反映する。近年、安静状態で撮影した functional MRI (以下、安静 fMRI) を解析したデータは大脳皮質領野間の機能的な結合状態を表すと報告[17, 18]されている。この機能的結合性は、脳卒中の運動麻痺回復と相関があることが報告[19]されており、安静 fMRI の臨床的有用性が示唆されている。さらに安静 fMRI は、TMS[20]や経頭蓋直流電気刺激[21, 22]などの非侵襲的な大脳刺激法により生じた影響の評価に用いられ始めている。そこで研究 2 では、非侵襲的な大脳刺激方法の一つである PAS25 の前後に安静 fMRI を撮影し、PAS25 が左右 M1 に及ぼす影響を調べた。

本研究の目的は、PAS25 付与において、左右 M1 の変化を含む評価である 2 連続 TMS と安静 fMRI を用いて、PAS25 が M1 間に及ぼす影響を調べることにより、PAS25 の安定した評価方法を検討することである。

## 第 2 章 研究 1

### 左右一次運動野への磁気刺激による運動誘発電位の比を用いた 電気-磁気連合性ペア刺激の新たな評価方法に関する研究

#### 1. 要旨

経皮的な末梢神経電気刺激の付加と M1 への磁気刺激を組み合わせた Paired associative stimulation (PAS25 ; 刺激間間隔 25 ms) は、片麻痺治療に有用な介入となることが期待されている。これまでに、健常者を対象とした、PAS25 による運動誘発電位 (MEP) の振幅の変化は、同条件の PAS25 においても増大するという報告と減少するという報告がある。我々は、左および右半球の M1 に対し 2 連続経頭蓋磁気刺激を行い、計測された MEP 振幅の左右比に着目することによって、より安定した PAS25 評価方法の開発を目的に実験を行った。健常成人 10 名を対象とし、PAS25 前後に、左右 M1 への単発および 2 連続 TMS による MEP の計測を行い、皮質脊髄路の興奮性を反映する単発 TMS による MEP の振幅と、2 連続 TMS により生じた MEP 振幅の左右比 (MEP 振幅比 (右/左 APB)) を求めた。結果、PAS25 による単発 TMS の MEP 振幅の変化は一定した傾向を認めなかった。一方 MEP 振幅比 (右/左 APB) は、PAS25 前と比較し PAS25 後に、全対象に値の増大が観察された。このことより MEP 振幅比 (右/左 APB) は、安定した PAS25 評価方法であり、ばらつきの大きい単発 TMS による MEP 振幅より優れた評価方法であると考えられる。

#### 2. はじめに

近年、磁気刺激や電気刺激を用いた非侵襲的な脳刺激法は、脳卒中片麻痺治療において有用な介入となることが期待されている[23-25]。非侵襲的な脳刺激法の 1 つに、末梢神経電気刺激とそれに引き続く M1 への経頭蓋磁気刺激 (TMS) を組み合わせた Paired associative stimulation (PAS) という刺激方法がある。PAS は皮質脊髄路の興奮性を増大[7]または減少[26]させると言われており、その皮質脊髄路への影響は運動誘発電位 (MEP) の振幅で評価が行なわれている。これまでに、Stefan ら[7]は、先行する末梢神経電気刺激と TMS の間隔を 25 ms に設定する (以下、PAS25) ことにより、対象者の 95% で MEP の振幅が増大したと報告している。一方で Lopez-Alonso ら[14]は、同条件の PAS25 を施行したにも関わらず対象者の 39% に MEP 振幅の増大を認め、その他の対象者の MEP 振幅は減少したと報告している。これらの報告は、現在使用されている単発 TMS による MEP 振幅を用いた PAS25 の評価に不安定さが存在することを示している。安定した PAS25 の評価方法が開発されることは、PAS25 の臨床応用に有用となる。そこで、我々はより安定した PAS25 の評価方法の開発を目的に今回、以下の実験を行ったので報告する。

### 3. 実験方法

#### 研究協力者

神経学的な既往のない健常成人 10 名（年齢 20 歳 - 31 歳，男性 7 名，女性 3 名）の研究協力者を対象とした。研究協力者は Edinburgh inventory [27]にて右手利き（Laterality quotient:  $88.4 \pm 21.0$ ）と判断された。

なお，本研究は茨城県立医療大学倫理委員会の承認を得て行った（受付番号 639）。研究の参加に際しては研究への説明を行い，書面での同意を得た。実験に当たって，ガイドライン[28, 29]に基づき TMS による安全性をチェックの上，研究を行った。

#### 運動誘発電位

TMS による MEP の測定には，筋電図・誘発電位検査装置（Neuropack, Nihon Kohden, Japan）を用いた。本研究では，被験筋を短母指外転筋（Abductor pollicis brevis, 以下 APB）として MEP を測定した。銀-塩化銀電極の陰極を APB の筋腹に，陽極を第一中手指節関節に貼付した。MEP の収録時間は，TMS の刺激前 200 ms から刺激後 300 ms の合計 500 ms とし，バンドパスフィルタを 10 - 2000 Hz，サンプリング周波数を 10 kHz とした。測定中は，コンピューター画面上で筋電等のノイズを確認し，ノイズが認められた際には再度測定した。

#### 経頭蓋磁気刺激

TMS 時の計測肢位は，ヘッドレスト付き椅子で肩および肘関節を軽度屈曲位の安静肢位とした。TMS には Magstim 200<sup>2</sup>（Magstim Co, ltd, UK）と，直径 70 mm の 8 の字コイルを用いた。左右半球の M1（それぞれ左 M1，右 M1）において，反対側 APB から最大の MEP 振幅が導出される位置（hotspot）を TMS の刺激部位とした。TMS コイル位置の定位には，コイルナビゲーションシステム（Visor 2, ANT, Netherland）を用いた。

#### Paired associative stimulation

末梢神経電気刺激とそれに引き続く TMS を行う PAS25 は，Stefan ら[7]が用いた方法に準じた。末梢神経電気刺激には MEP 測定と同じ筋電図・誘発電位検査装置を用い，右正中神経手根部を電気刺激部位とした。刺激電極を，正中神経に平行に電極間距離は 2 cm とし配置し（陰極を近位），刺激強度を感覚閾値の 300%（range: 7.2 - 9.6 mA），パルス幅を 200  $\mu$ s とした。電気刺激の 25 ms 後に左 M1（右 APB の hotspot）へ TMS を行った（PAS25）。TMS の強度は MEP の振幅の peak to peak が約 1 mV となる強度とした。刺激回数を 100 ペアとし，検査者の徒手スイッチにより約 5 秒間隔で行った（刺激時間：8.3 分）。

#### 計測プロトコル

本研究は，右正中神経の電気刺激と左 M1 への TMS の組み合わせ刺激である PAS25 の影響（M1 の可塑的变化）を評価するために，図 1 に示す実験プロトコルを組んだ。PAS25 前後に，①左単発 TMS，②右単発 TMS，③右-左の順で 2 連続 TMS，④左-右の順で 2 連続 TMS の 4 条件，各 15 試行を，研究協力者ごとにランダムな順で行った（計測時間：4 条件で 10 分以内）。2 連続 TMS は Ferbert ら[16]が用いた方法に準じた。本方法は，一側の M1 への TMS（Test stimulus, 以下 TS もしくは Test 刺激と表す）に先行して反対側 M1 に TMS（Conditioning stimulus, 以下 CS）を行うものであり，CS によりその反対側 M1 の賦活が抑制される（TS による MEP 振幅が減少する）と

報告されている。CS と TS の刺激間隔は、MEP 振幅の抑制効果が短潜時で最大となるとされる 10 ms [16, 30]とした。TS のコイルの向きは、矢状面に対し 45 度傾けた方向とし、CS のコイルは、互いのコイルが接触しないよう 90 度傾けた[31, 32]。

TMS の刺激強度は Boroojerdi らの方法[33]に準じ、hotspot において MEP 振幅が 0.5-1.5 mV となる強度とし、PAS25 前後で同じ刺激強度を用いた。TMS の頻度は、自作のプログラム (Matlab version 2015b, MathWorks, USA) を用いて 5 - 6 秒のランダムな秒数に 1 回とした。

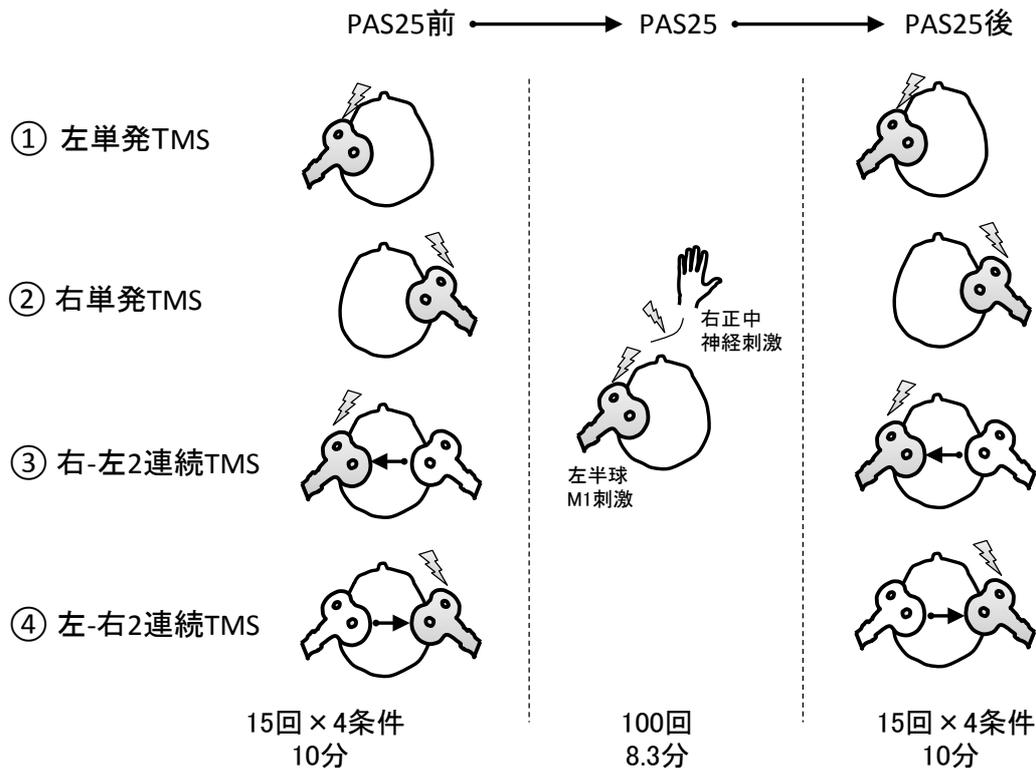


図 1. PAS25 の条件および MEP 測定条件

右正中神経への電気刺激の 25 ms 後に左一次運動野 (M1) に TMS を行う PAS25 (刺激回数 100 回) の前後に、以下の 4 条件の刺激をランダムな順にて各条件 15 回行い、TS (灰色コイル) の反対側 APB で MEP を測定した。①左単発 TMS, ②右単発 TMS, ③右-左 2 連続 TMS, ④左-右 2 連続 TMS とした。

#### データ処理

各条件において測定した MEP について振幅 (peak to peak) を算出し、15 回試行の平均値を算出した。さらに各条件で計測された MEP 振幅を以下の通りに表す。

- ① 左単発 TMS により右 APB に生じた MEP 振幅 : MEP 振幅(右 APB, 左単発 TMS)
- ② 右単発 TMS により左 APB に生じた MEP 振幅 : MEP 振幅(左 APB, 右単発 TMS)
- ③ 右-左の順の 2 連続 TMS により右 APB に生じた MEP 振幅  
: MEP 振幅(右 APB, 右-左 2 連続 TMS)
- ④ 左-右の順の 2 連続 TMS により左 APB に生じた MEP 振幅  
: MEP 振幅(左 APB, 左-右 2 連続 TMS)

2連続 TMS による MEP 振幅の処理は、CS による TS への影響を算出するため、2連続 TMS での MEP 振幅を単発 TMS での MEP 振幅で除した。すなわち、右 M1 から左 M1 への影響の大きさ (Test 刺激比) 値は、式①により算出され、以下、MEP 振幅比 (右 APB) と表す。

$$\begin{aligned} & \text{MEP 振幅比(右 APB)} \\ & = \{ \text{MEP 振幅(右 APB, 右-左 2 連続 TMS)} \} / \{ \text{MEP 振幅(右 APB, 左単発 TMS)} \} \quad \text{式①} \end{aligned}$$

左 M1 から右 M1 への影響の大きさは、式②により算出され、以下、MEP 振幅比 (左 APB) と表す。

$$\begin{aligned} & \text{MEP 振幅比(左 APB)} \\ & = \{ \text{MEP 振幅(左 APB, 左-右 2 連続 TMS)} \} / \{ \text{MEP 振幅(左 APB, 右単発 TMS)} \} \quad \text{式②} \end{aligned}$$

この MEP 振幅比は、1 より小さいほど CS を行った半球からの半球間抑制が大きい状態を示し、1 より大きいほど促通を示す。

さらに、PAS25 の影響を評価するため、式③により左右の MEP 刺激比の比を求め、以下、MEP 振幅比 (右/左 APB) と表す。

$$\text{MEP 振幅比(右/左 APB)} = \{ \text{MEP 振幅比(右 APB)} \} / \{ \text{MEP 振幅比(左 APB)} \} \quad \text{式③}$$

PAS25 前後の MEP 振幅及び MEP 振幅比について、それぞれ paired t-test により検定を行った。有意水準は 5%とした。

#### 4. 実験結果

対象 1 名より計測された、単発 TMS 及び 2 連続 TMS により生じた MEP 15 回の平均波形を示した (図 2)。この対象において、MEP 振幅 (右 APB, 左単発 TMS) は PAS25 後に増大したが (図 2A)、減少した対象は 10 名中 7 名存在した。またこの対象において、MEP 振幅 (右 APB, 右-左 2 連続 TMS) (図 2C) は、PAS25 前と比較し PAS25 後に増大が見られ、減少した対象は 10 名中 3 名であった。

##### 単発 TMS による MEP 振幅

皮質脊髄路の興奮性を反映する単発 TMS による MEP 振幅は、左右ともに、PAS 前と比較し PAS25 後に一定の変化が観察されなかった (図 3) (MEP 振幅(右 APB, 左単発 TMS): PAS25 前  $1.02 \pm 0.40$  mV, PAS25 後  $0.84 \pm 0.69$  mV,  $p = 0.376$ . MEP 振幅(左 APB, 右単発 TMS): PAS25 前  $0.71 \pm 0.43$  mV, PAS25 後  $0.62 \pm 0.35$  mV,  $p = 0.628$ )。また、本研究では PAS25 前の MEP 計測の前に、MEP 振幅が約 1 mV となるように刺激強度を統制する手順を行ったものの、実験時の PAS25 前の MEP 振幅にばらつきが生じた (MEP 振幅(右 APB, 左単発 TMS): PAS25 前 0.52 - 1.55 mV, MEP 振幅(左 APB, 右単発 TMS): PAS25 前 0.15 - 1.43 mV)。

##### 2 連続 TMS による MEP 振幅比

右 M1 に先行する TMS 刺激を行い計測された右-左 2 連続 TMS 条件より求めた MEP 振幅比 (右 APB) は、PAS25 前と比較し PAS25 後に有意な増大を認めた (図 4A) (PAS25

前  $0.94 \pm 0.33$ , PAS25 後  $1.40 \pm 0.51$ ,  $p=0.022$ )。一方, 左 M1 に先行する TMS 刺激を行い計測された左-右 2 連続 TMS 条件より求めた MEP 振幅比 (左 APB) は, PAS25 前と比較し変化はみられなかった (図 4B) (PAS25 前  $1.40 \pm 0.58$ , PAS25 後  $1.06 \pm 0.31$ ,  $p=0.142$ )。

また, PAS25 前に, 先行刺激による試験刺激の MEP 振幅の減少が見られなかった対象が存在した (MEP 振幅比(右 APB); 4 名, MEP 振幅比(左 APB); 7 名)。

### MEP 振幅比(右/左 APB)

2 連続 TMS による MEP 振幅の Test 刺激比の左右半球比である MEP 振幅比(右/左 APB)は, PAS25 前と比較し PAS25 後に有意な値の増大が観察された (図 4C) (PAS25 前  $0.74 \pm 0.33$ , PAS25 後  $1.35 \pm 0.41$ ,  $p<0.001$ )。またこの値は, 全ての対象において PAS25 による増大が見られた。

N = 1

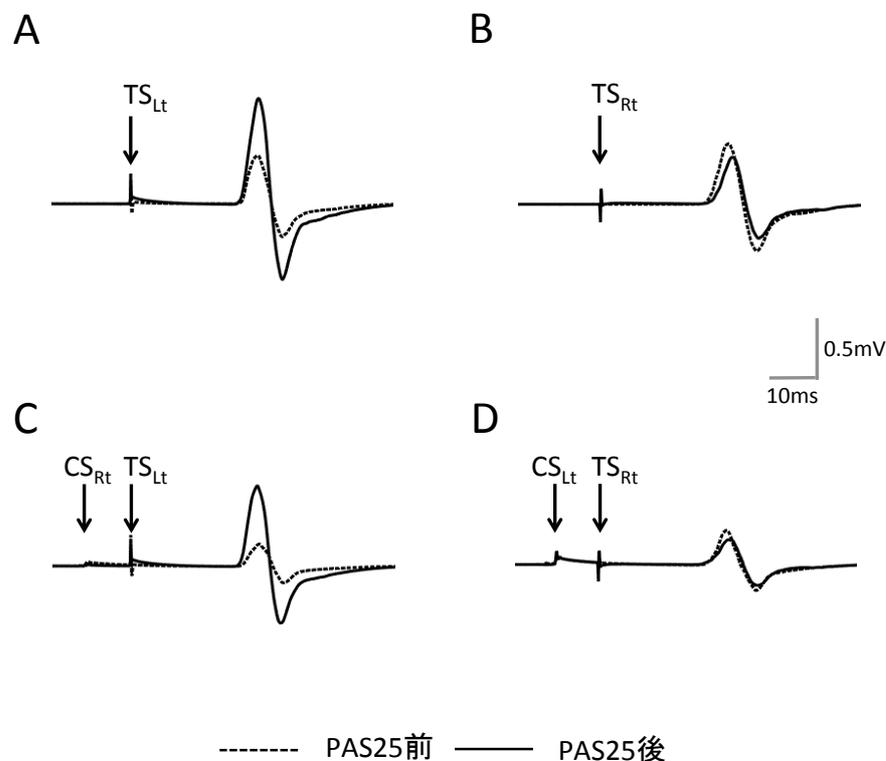
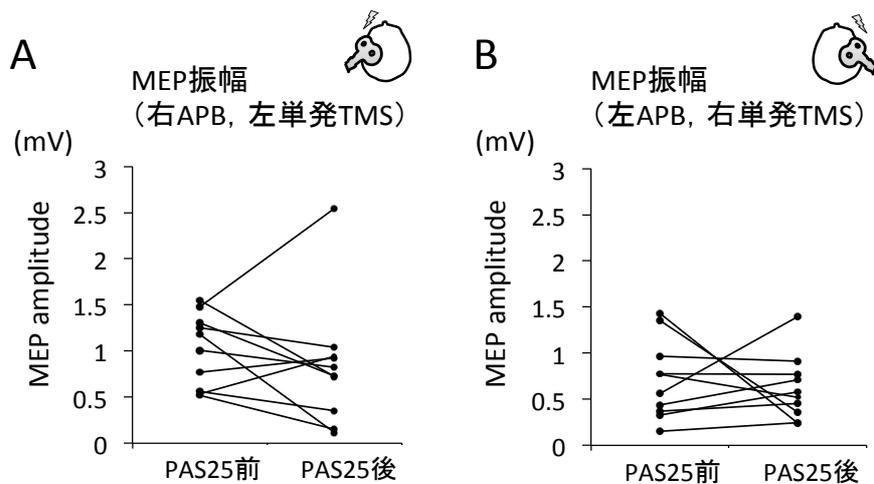


図 2. PAS25 前後における MEP の平均波形

対象 1 名における, 各条件にて測定した MEP の平均波形。PAS25 前に計測した MEP は点線で表し, PAS25 後に計測した MEP は実線で表した。(A) 左 M1 の単発 TMS ( $TS_{Lt}$ ) により, 右 APB に生じた MEP の平均波形。(B) 右 M1 の単発 TMS ( $TS_{Rt}$ ) により, 左 APB に生じた MEP の平均波形。(C) 右-左 M1 の順に 2 連続 TMS を行い, 右 APB に生じた MEP の平均波形。図中の  $CS_{Rt}$  は, 右 M1 に先行的に TMS を行った時点を示し,  $TS_{Lt}$  は左 M1 に TMS を行った時点を示した。(D) 左-右 M1 の順に 2 連続 TMS を行い, 左 APB に生じた MEP の平均波形。図中の  $CS_{Lt}$  は, 左 M1 に先行的に TMS を行った時点を示し,  $TS_{Rt}$  は右 M1 に TMS を行った時点を示した。



**図 3. PAS25 前後における MEP 振幅(右 APB, 左単発 TMS)および MEP 振幅(左 APB, 右単発 TMS)の変化**

PAS25前後に、左および右M1に単発TMSを行いMEPの測定を行った。MEP振幅は peak to peakにて計測した。図中の黒丸は、各条件15回の平均値を示した。(A) 左M1の単発TMS( $TS_{L1}$ )により、右APBに生じたMEP振幅 (MEP振幅(右APB, 左単発TMS))。 (B) 右M1の単発TMS( $TS_{R1}$ )により、左APBに生じたMEP振幅 (MEP振幅(左APB, 右単発TMS))。いずれもPAS25前後でMEP振幅の大きさに有意差は認められなかった。

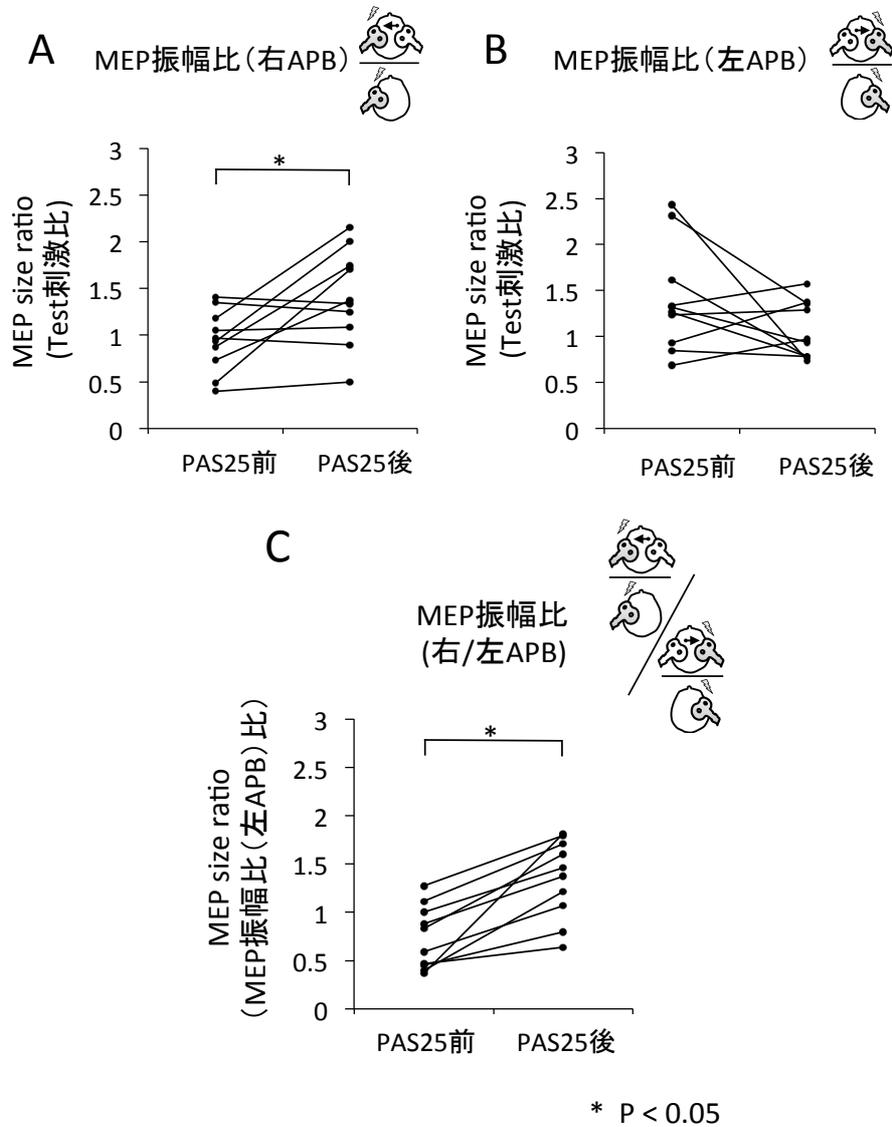


図 4. PAS25 前後における MEP 振幅比の変化

PAS25 前後に、左および右 M1 に 2 連続 TMS を行い MEP の測定を行った。2 連続 TMS による MEP 振幅は単発 TMS による MEP 振幅で除し、条件刺激が試験刺激の MEP に及ぼす影響を算出した。(A) MEP 振幅比(右 APB)および (B) MEP 振幅比(左 APB)は、PAS25 により値が増加した対象と減少した対象が観察された。一方、(A) / (B) で算出された (C) MEP 振幅比(右/左 APB)は、対象の全員に値の増大が観察された。

## 5. 考察

本研究では、PAS25 後に単発 TMS による MEP 振幅の増大は認められなかったが、2 連続 TMS より得た MEP 振幅 (Test 刺激比) の比である MEP 振幅比(右/左 APB)は、PAS25 後に全例でその値が増大した。

これまでに Stefan ら[7]より、PAS25 後の 95%で単発 TMS による MEP 振幅が増大したと報告されている。その一方、Lopez-Alonso ら[14]は対象者の 39%にのみ MEP 振幅の増大が観測され、その他の対象は MEP 振幅が減少したと報告している。本研究は、Lopez-Alonso らの報告にほぼ一致する結果であった。また本研究では、PAS25 付与前後で測定し算出した MEP 振幅比(左 APB)に有意差を認めなかった。そこで、左右の 2 連続 TMS により算出された、MEP 振幅比(右/左 APB)を求めた結果、全例で PAS25 付与後にその値は増大した。これは PAS25 前を基準とした PAS25 後の MEP 振幅比(右 APB)は、常に MEP 振幅比(左 APB)よりも大きくなることを示している。つまり、MEP 振幅比(右/左 APB)を用いることで、単発 TMS および 2 連続 TMS より生じた MEP 振幅で見られた個人差によるばらつきを除くことができたと考えられる。このため MEP 振幅比(右/左 APB)は、安定した PAS25 評価方法であり、ばらつきの大きい単発 TMS による MEP 振幅より、優れた評価方法であると考えられる。単発 TMS による MEP は M1 への磁気刺激により計測され、M1 内外からの興奮性入力と抑制性入力により影響を受ける。一方、左右半球の 2 連続 TMS より得た MEP 振幅は、Test 刺激比を用いて表され、M1 内外からの様々な入力の影響の中から、反対側 M1 からの入力の影響を抽出して評価できると考えられる。

本研究の結果では、Ferbart ら[16]が報告した、先行刺激により Test 刺激の MEP 振幅が抑制される現象が計測されなかった (つまり MEP size ratio が 1 より大きい) 対象が存在した。本研究では PAS25 前の MEP 計測の前に、MEP 振幅が約 1 mV となるように刺激強度を統制する手順を行ったものの、実験時の MEP 振幅にばらつきが生じた。この方法によって計測される抑制の大きさは、磁気刺激の強度によって変化するという報告[34, 35]があることから、本研究では設定された強度条件が相対的に異なったために、一部の対象に MEP 振幅の抑制が計測されなかったことが考えられる。

また、PAS25 には複数の刺激プロトコルの報告があり[36]、刺激回数 (90 - 225 回) および刺激頻度 (0.05 - 0.25 Hz) が報告により異なる。本研究では、刺激回数 100 回、刺激頻度 0.2 Hz のプロトコルを用いたが、他の刺激条件においても、本研究の結果について検証を行う必要があると考える。

## 第3章 研究2

### 左右一次運動野の機能的結合性を用いた電気-磁気連合性ペア刺激の新たな評価方法に関する研究

#### 1. 要旨

Paired associative stimulation は末梢神経電気刺激に引き続く、一次運動野の経頭蓋磁気刺激 (TMS) を組み合わせた刺激系列である。特に刺激間間隔を 25ms とする PAS25 は、脳卒中運動麻痺の回復を促進する手法として注目されている。PAS25 による一次運動野 (M1) の興奮性の変化は、単発 TMS による運動誘発電位 (MEP) の振幅による評価ではばらつきが多いという問題点があり、安定して評価を行う方法の開発が必要である。本研究の目的は、近年、大脳皮質領野間の機能的な結合性を調べる方法として注目されている安静 fMRI を用いて、より安定した PAS25 の評価方法を開発することとした。方法は、健常成人 17 名を対象とし、右正中神経電気刺激に引き続く左 M1 の TMS (刺激間間隔 25 ms) を 100 回行った。PAS25 の前後に安静 fMRI を撮影し、左右 M1 間の機能的結合性の変化を検討した。また、PAS25 前後に左 M1 への単発 TMS を行い、右短母指外転筋 (APB) の MEP の測定を行った。安静 fMRI 画像における M1 領域の同定は、PAS25 を行う前に fMRI を用い、手対立運動課題における賦活領域を運動感覚野と定義し、安静 fMRI による M1 間の機能的結合性の解析を行った。結果、PAS25 前後で、MEP の振幅は一定した変化を認めなかった。一方、PAS25 前と比較し PAS25 後では、PAS25 刺激側半球である左 M1 から右 M1 への機能的結合性の有意な変化が認められた。さらに、右 M1 から左 M1 への機能的結合性の有意な変化が認められた。これらの結果から、安静 fMRI によって計測される M1 間の機能的結合性は、PAS25 による影響を安定して計測可能な優れた評価であると考えられる。

#### 2. はじめに

Paired associative stimulation (PAS) は、末梢神経電気刺激に引き続く、一次運動野の TMS を組み合わせた刺激系列である。特に刺激間間隔 25ms とする PAS25 は、脳卒中運動麻痺の回復を促進する手法として注目されている。一方 PAS25 による一次運動野の興奮性の変化は、単発 TMS による MEP 振幅で評価する際には値がばらつき、不安定であるという報告があるため[14]、他の手法によって PAS25 を安定して評価する方法の開発が必要である。

機能的 MRI (fMRI) は、課題付与による脳血流の変化を非侵襲的に調べる方法として多くの研究で用いられている[37, 38]。fMRI は、課題の遂行による神経細胞の発火を契機とする多量の血液の流入 (Blood oxygenation level dependent 効果, 以下 BOLD) によって、MRI 信号の増大が得られることを解析原理とする。

さらに近年、課題付加を伴わない安静状態において fMRI を計測解析する方法 (安静 fMRI) によって、大脳皮質領野間の機能的結合状態を表すことができると報告[17, 18]されている。大脳皮質の神経細胞の、互いに構造的、機能的に結合のある領域は、安静時においても BOLD 信号の時系列変化の相関が見られることが、安静 fMRI の解析原理となっている[39]。そしてこの安静 fMRI で機能的結合が見られる領域は、課題施行下の fMRI で賦活する領域と空間的な位置が重なることが報告され[17]、安静 fMRI 解析の安定性について述べられている。また、運動関連領域における機能的結合性は、脳卒中運動障害[40]や、運動機能の回復[41]と相関を認めたと報告されており、安静 fMRI の臨床的有用性が示唆されている。さらに、安静 fMRI を用いた解析

は、TMS[42]や経頭蓋直流電気刺激[21]などの非侵襲的な大脳刺激法により生じた影響の評価に用いられ始めている。

これらのことから、本研究はPAS25の前後に安静fMRIを撮影し、PAS25によって左右M1に及ぼされる機能的結合の変化を測定することによって、より安定したPAS25評価方法の開発を目的に今回、以下の実験を行ったので報告する。

### 3. 実験方法

#### 研究協力者

神経学的な既往のない健常成人17名（年齢20歳-34歳，男性12名，女性5名）の研究協力者を対象とした。研究協力者はEdinburgh inventory [27]にて右手利き（Laterality quotient:  $87.0 \pm 20.1$ ）と判断された。

なお、本研究は茨城県立医療大学倫理委員会の承認を得て行った（受付番号672）。研究の参加に際しては研究への説明を行い、書面での同意を得た。実験に当たって、磁気刺激の安全ガイドライン[28, 29]に基づきTMSによる安全性のチェックを行い、またMRI撮影を行う上で安全確認を行った上、研究を行った。

#### 運動誘発電位

TMSによるMEPの測定には、筋電図・誘発電位検査装置（Neuropack, Nihon Kohden, Japan）を用いた。本研究では、被験筋を右APBとしてMEPの測定を行った。銀-塩化銀電極の陰極を右APBの筋腹に、陽極を第一中手指節関節に貼付した。MEPの収録時間は、TMSの刺激前200msから刺激後300msの合計500msとし、バンドパスフィルタを10-2000Hz，サンプリング周波数を10kHzとした。測定中は、コンピューター画面上で筋電等のノイズを確認し、ノイズが認められた際には再度測定した。

#### 経頭蓋磁気刺激

TMSの計測姿勢はストレッチャー上にて肩および肘関節は軽度屈曲位の安静背臥位とした。TMSにはMagstim 200<sup>2</sup>（Magstim Co, ltd, UK）と、直径70mmの8の字コイルを用いた。刺激部位は左M1とし、右APBから最大のMEP振幅が導出される位置（hotspot）とした。TMSコイル位置の定位は、研究協力者の頭部にキャップを被せ、キャップ上にコイル位置の目印を書き入れることにより、同じ位置を刺激できるように設定を行った。TMSの刺激強度は、後述するPAS25で用いた刺激強度と同じものを用い、さらにPAS25前後においても同じ刺激強度を用いた。

#### Paired associative stimulation

末梢神経電気刺激とそれに引き続くTMSを行うPAS25の設定は、研究1と同様、Stefanら[7]が用いた方法に準じた。末梢神経電気刺激にはMEP測定と同じ筋電図・誘発電位検査装置を用い、右正中神経手根部を電気刺激部位とした。刺激電極を、正中神経に平行に電極間距離は2cmとして配置し（陰極を近位）、刺激強度を感覚閾値の300%（range: 3.6 - 10.2 mA）、パルス幅を200 $\mu$ sとした。電気刺激の25ms後に左M1（右APBのhotspot）へTMSを行った（PAS25）。TMSの強度はMEPの振幅のpeak to peakが約1mVとなる強度とした。刺激回数を100ペアとし、検査者の徒手スイッチにより約5秒間隔で行った（刺激時間：8.3分）。

#### MRI撮影

磁場強度1.5テスラのMRI装置（Toshiba, Japan）を用いて、以下の3種類の頭部

MRI 画像の撮影を行った。撮影姿勢は開眼安静背臥位とし、体動のないように事前に指示を行った。

安静 fMRI は、大脳皮質内の機能的結合性を評価するために行った。撮影肢位は安静背臥位とした。撮影パラメーターは以下の通りとした (Echo planar imaging, TE 40 ms, TR 3750 ms, Flip angle 80 度, Field of view 220 mm, matrix 64 \* 64, スライス枚数 40 枚, スライス厚 3.2 mm, Gap 0.8 mm)。

課題 fMRI は、安静 fMRI の解析に用いるために行った。課題は、右手もしくは左手の対立運動 (母指-示指, 母指-中指, 母指-環指, 母指-小指の順に指腹を合わせる運動, 1 つの対立運動毎に 0.5 秒の速度で行う) とした。課題 30 秒, 休憩 30 秒のブロックデザインとし, 各課題 3 回行った。撮影パラメーターは以下の通りとした (Echo planar imaging, TE 40 ms, TR 3750 ms, Flip angle 80 度, Field of view 220 mm, matrix 64 \* 64, スライス枚数 40 枚, スライス厚 3.2 mm, Gap 0.8 mm)。

構造 MRI の撮影は、安静 fMRI 画像解析の際に標準画像への位置合わせを行うために行った。撮影パラメーターは以下の通りとした (Gradient echo, TE 5.5 ms, TR 13.5 ms, Flip angle 25 度, Field of view 220 mm, matrix 256 \* 256, スライス枚数 200 枚, スライス厚 1.0 mm, Gap 0 mm)。

## 計測プロトコル

本研究は、右正中神経の電気刺激と左 M1 への TMS のペア刺激である PAS25 の影響 (M1 の可塑的变化) を評価するために、図 5 に示す実験プロトコルを組んだ。

PAS25 前後に、①安静 fMRI (計測時間 12 分 18 秒), ②左単発 TMS (計測時間 2 分以内) を行った。なお、PAS25 前の安静 fMRI の撮影に先立ち、課題 fMRI の撮影を行った (計測時間 6 分 12 秒)。また、PAS25 後に構造 MRI 画像の撮影を行った (計測時間 3 分 41 秒)。

## データ処理 (課題 fMRI)

MRI 装置で得られるデータは DICOM 形式で保存されるため、フリーソフトウェア dcm2nii [43] を用いて Analyze 形式に変換を行い、SPM 8 [44] (University College London, UK) を用いてデータ解析を行った。

課題 fMRI 画像の前処理は、位置合わせ、標準化、スムージングの順に行った。位置合わせでは、実験中の頭部の動きの補正を行った。標準化では、テンプレート (標準脳) を用い、個人間で異なる脳画像の形態を正規化した。スムージングは、最終的に脳賦活画像を得るためのフィルタ処理を行った。

手対立課題における賦活領域を解析するために、課題 fMRI 画像の個人解析を行った。前処理後の脳画像データを、右手課題・左手課題の 2 条件を説明変数とした一般線形モデル (General Linear Model, 以下 GLM) に組み込んだ。GLM の説明変数の偏回帰係数を計算し、有意水準  $p < 0.05$ , Family wise error (以下 FWE) にて統計的に有意に賦活するボクセルを特定した。

また、後述する安静 fMRI の解析に用いるために、手対立課題時に、課題反対側 M1 内で賦活する領域 (クラスター) の位置を求めた。ここで、右手課題で左 M1 を含み賦活する領域を Seed: 左 M1 と示し、左手課題で右 M1 を含み賦活する領域を Seed: 右 M1 と示す。このクラスターを 2 値画像 (賦活領域は 1, 賦活がない領域は 0 の 2 値で構成される画像) として保存した。

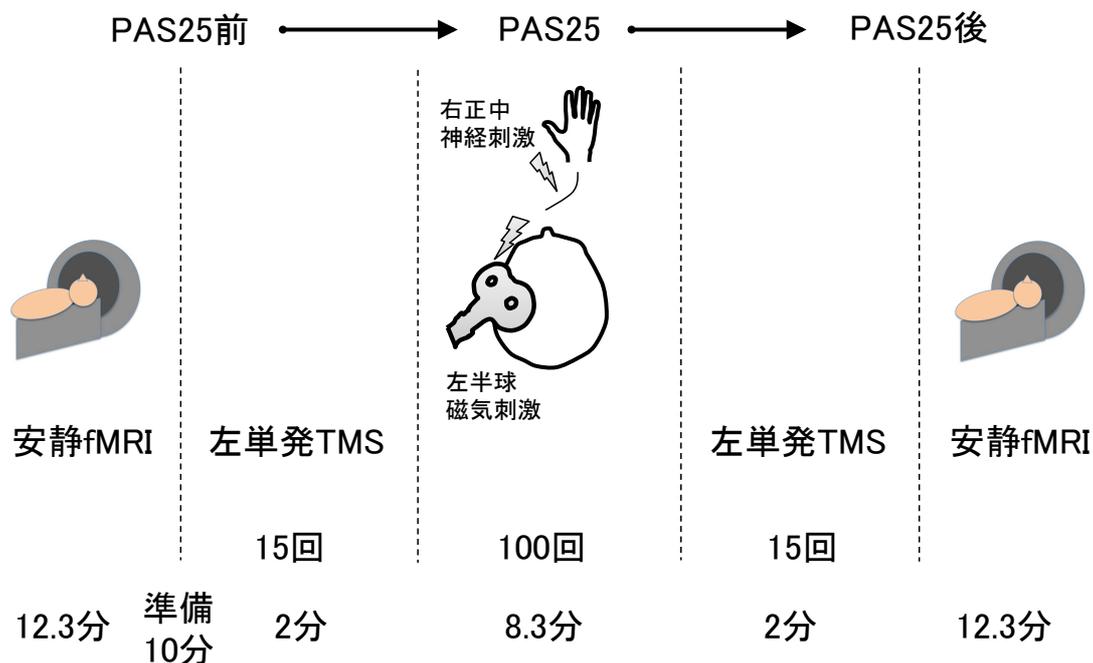


図 5. 実験条件

PAS25 は、右正中神経電気刺激に引き続く左 M1 へ磁気刺激（刺激間隔 25 ms）を、合計 100 回行った（約 8.3 分間）。PAS25 による M1 の興奮性を評価するために PAS25 の前後に、左単発 TMS による右 APB における MEP の計測を行った（約 2 分間）。さらに、安静 fMRI の計測を行った（12.3 分間）。

### データ処理（安静 fMRI）

安静 fMRI 解析ソフトウェアは AFNI [45] (version Feb 11 2016, NIMH, USA) を用いた。解析は、Seed-based correlation analysis 法による相関解析を用い、大脳皮質領野間の機能的結合性の解析を行った（図 6）。Seed-based correlation analysis 法は、安静 fMRI のデータ解析方法の一つであり、Seed point と定義した領域の BOLD 信号の時系列経過と、他の脳領域に相関がある領域を解析することにより、大脳皮質領野間の機能的結合性を算出する方法である[17]。データ処理は、AFNI で解析するためにソフトウェア (dcm2nii[43]) を用いて NIfTI 形式に変換を行った。前処理は、実験中の体動を補正するために位置合わせを行い、撮影した構造画像を用いて空間的に標準化（標準画像：TT\_N27+tlrc）を行い、スムージング（ボクセルサイズ  $3 \text{ mm}^3$ ）を行った。安静 fMRI データには、神経活動由来以外の成分（呼吸 0.2 Hz, 心拍 1.0 Hz）を含むことが知られている[46]ため、フィルタリング（0.01 - 0.1 Hz）を行った。また、体動が 1 回の TR（3.75 秒）撮影する時間に、0.2 mm 以上の動きがあったと判断されたデータは、該当の TR に得られた画像を除外した。除外された TR 数が全体の 20%を超える研究協力者のデータは、この後の解析から除外した。

前処理後の画像を用い、課題 fMRI で求めた 2 値画像内に含まれるすべてのボクセルの時系列における BOLD 信号値を得た。さらにこの輝度を平均化し、代表的な時系

列データを作成した。この代表的な時系列データと相関する領域を AFNI のサブプログラム (3dfim+) を用いて求めた。

グループ解析に先立ち、相関画像の Z 値変換を行った上で、以下の①及び②を行った。なお、①及び②のそれぞれに対して、Seed point が左 M1, 右 M1 の解析を行った。

① PAS25 前, PAS 後の各条件における Seed point との機能的結合領域

(1 sample t-test,  $p < 0.05$ , False discovery rate (以下 FDR))

② PAS25 前 - PAS25 後における条件間の差 (paired t-test,  $p < 0.05$ , uncorrected)

ここで、①及び②ともに 30 ボクセル以上の賦活クラスターを解析し表示した。

さらに、②で有意な変化を有したボクセル (Seed 反対側 M1 内) における、各個人の相関係数 R を求めた。この相関係数を PAS25 前と PAS25 後で paired t-test により比較を行った。有意水準は 5%とした。

### データ処理 (運動誘発電位)

TMS を行い測定した MEP について振幅 (peak to peak) を算出し、15 回試行の平均値を算出した。この時に計測された MEP を、研究 1 と同様に MEP(右 APB, 左単発 TMS) と表した。PAS25 前後の MEP 振幅について、paired t-test により検定を行った。有意水準は 5%とした。

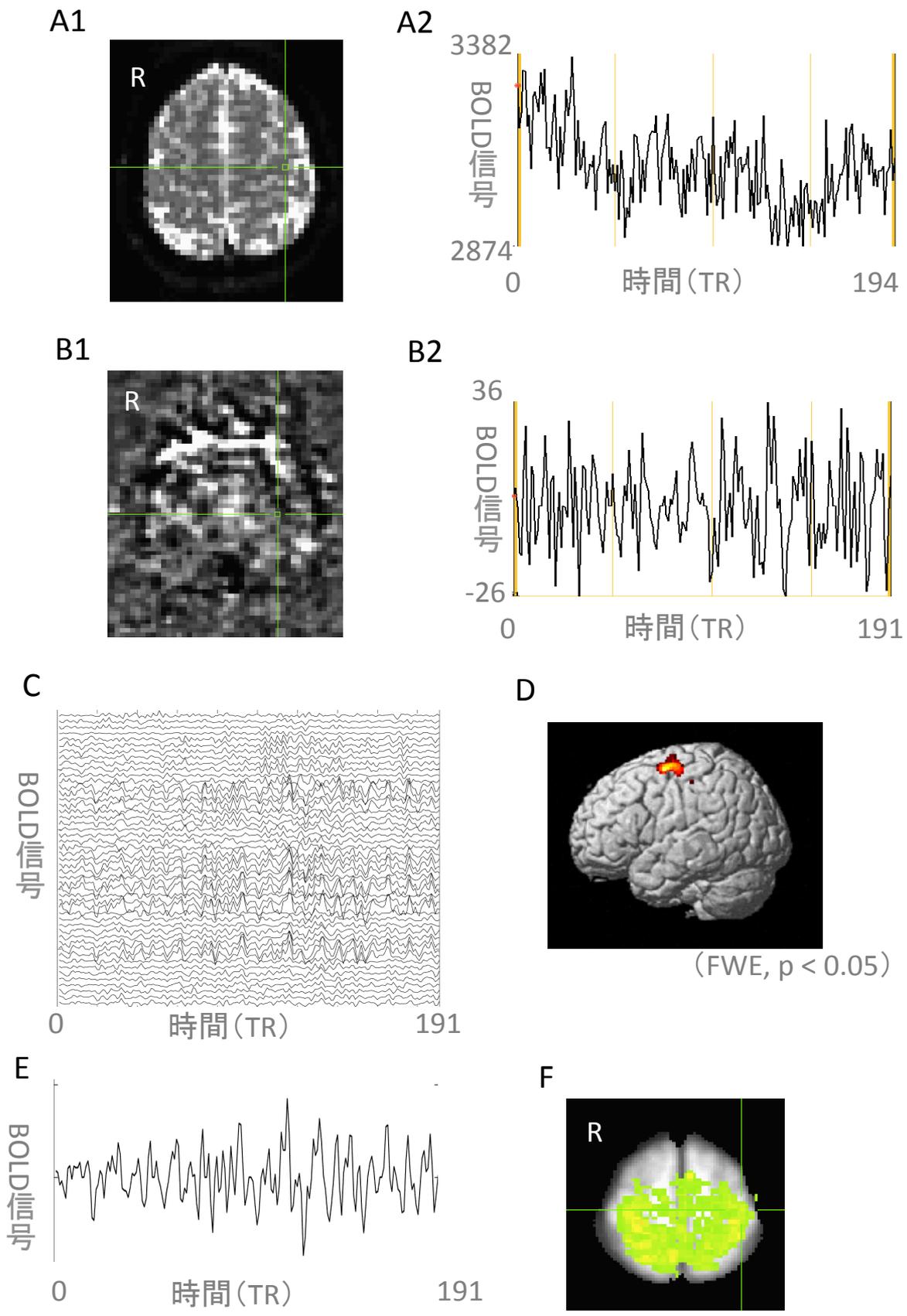


図 6. 安静 fMRI 画像のデータ処理

【個人解析】 前処理前の安静 fMRI 画像 (A1)。図 A1 中の緑線の交点の BOLD 信

号の経時変化 (TR = 3750 ms) (A2)。図 A1 と同じスライス位置での前処理後の安静 fMRI 画像 (B1)。図 B1 中の緑線の交点の BOLD 信号の経時変化 (B2)。図 B2 では、図 B1 と比較して基線が安定し、BOLD 信号値が標準化された。課題 fMRI で賦活した領域 (D) 内の、BOLD 信号の経時変化 (C)。X 軸は時間 (単位: TR) を示し、Y 軸は BOLD 信号強度を示す。Y 軸の基線を等間隔に変え並べられたデータの数は、課題 fMRI で賦活したボクセル数を示し、それぞれのボクセルの BOLD 信号の経時変化が示されている。図 C のデータで BOLD 信号の平均値を求め、代表的な BOLD 信号の経時変化データを作成した (E)。図 E の BOLD 信号の経時変化と相関のある領域を求めた。

【グループ解析】PAS25 前, PAS 25 後それぞれに 1-sample t-test を行い、Seed point と有意な相関を持つ領域の解析を行った (F)。

#### 4. 実験結果

研究協力者 17 名中、課題 fMRI で M1 に有意な賦活領域を認めない 1 名を解析から除き、さらに安静 fMRI で実験中の体動が大きかった 2 名を除いたため、合計 14 人のデータで主な安静 fMRI 解析を行った。さらに安静 fMRI 解析において Seed point 反対側 M1 の相関係数 R の算出が不可能であった 2 名を除いた結果、全てのデータの解析対象となったのは 12 名であった。MEP 振幅の解析対象は 14 名とした。

##### 安静 fMRI

###### Seed : 左 M1

PAS25 前 (図 7A) および PAS25 後 (図 7B) とともに、Seed 反対側である右 M1 を含む広範囲において、有意に相関のある領域が認められた。PAS25 前と比較し、PAS25 後において、右 M1 を含む領域 ( $x = -26 \text{ mm}$ ,  $y = 22 \text{ mm}$ ,  $z = 66 \text{ mm}$ ) の相関領域の減少がみられた (図 7C)。さらに、この領域の相関係数 R (Z 変換後) は、PAS25 前と比較し、PAS25 後に有意な減少が認められた ( $p = 0.009$ ) (図 9A)。

###### Seed : 右 M1

PAS25 前 (図 8A) および PAS25 後 (図 8B) とともに、Seed 反対側である左 M1 を含む広範囲において、有意に相関のある領域が認められた。PAS25 前と比較し、PAS25 後において、左 M1 を含む領域 ( $x = 40 \text{ mm}$ ,  $y = 20 \text{ mm}$ ,  $z = 60 \text{ mm}$ ) の相関領域の減少がみられた (図 8C)。さらに、この領域の相関係数 R (Z 変換後) は、PAS25 前と比較し、PAS25 後に有意な減少が認められた ( $p = 0.001$ ) (図 9B)。

##### MEP 振幅 (右 APB, 左単発 TMS)

皮質脊髄路の興奮性を反映する左単発 TMS による右 APB の MEP 振幅は、PAS 前と比較し PAS25 後に一定の変化が観察されなかった (図 10) (PAS25 前:  $1.03 \pm 0.61 \text{ mV}$ , PAS25 後:  $0.93 \pm 0.66 \text{ mV}$ ,  $p = 0.909$ )。また、本研究では PAS25 前の MEP 計測の前に、MEP 振幅が約 1 mV となるように刺激強度を統制する手順を行ったものの、実験時の PAS25 前の MEP 振幅にばらつきが生じた (PAS25 前: 0.22 - 2.1 mV)。

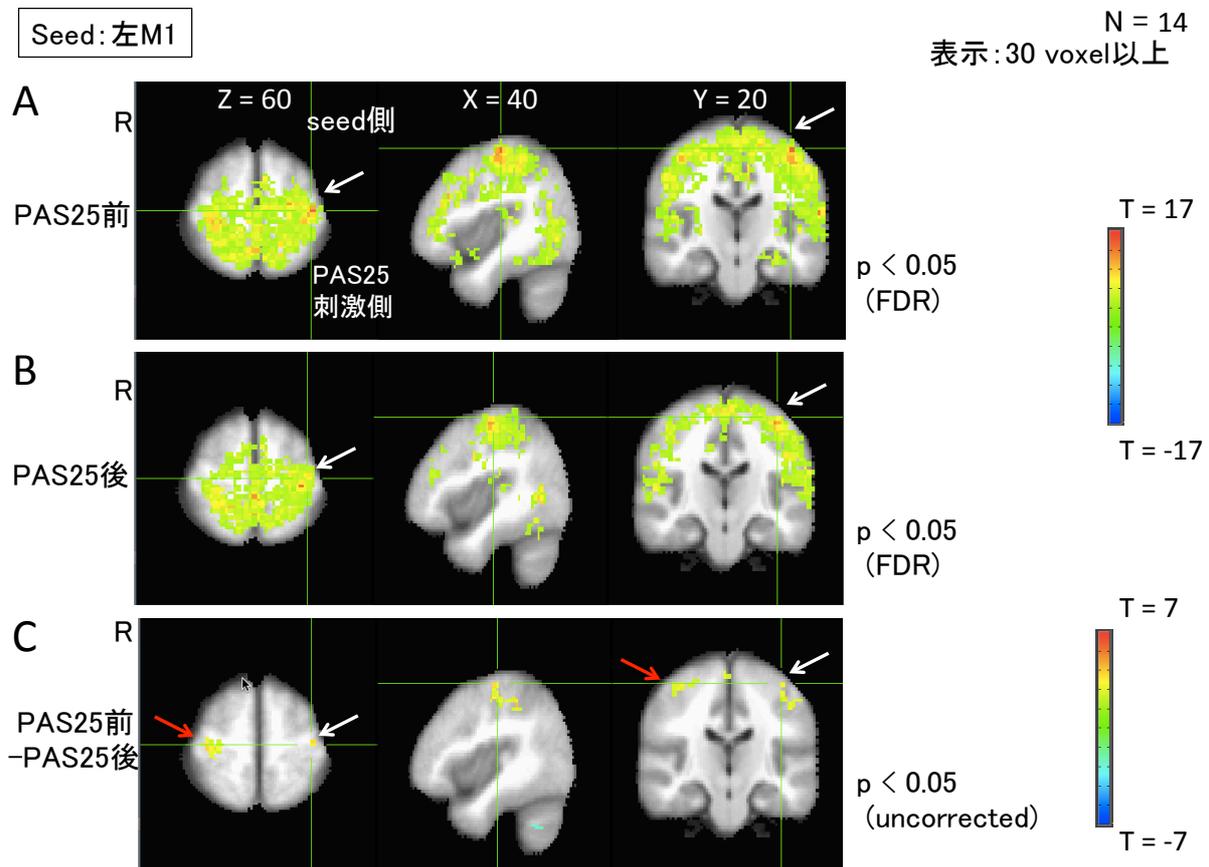
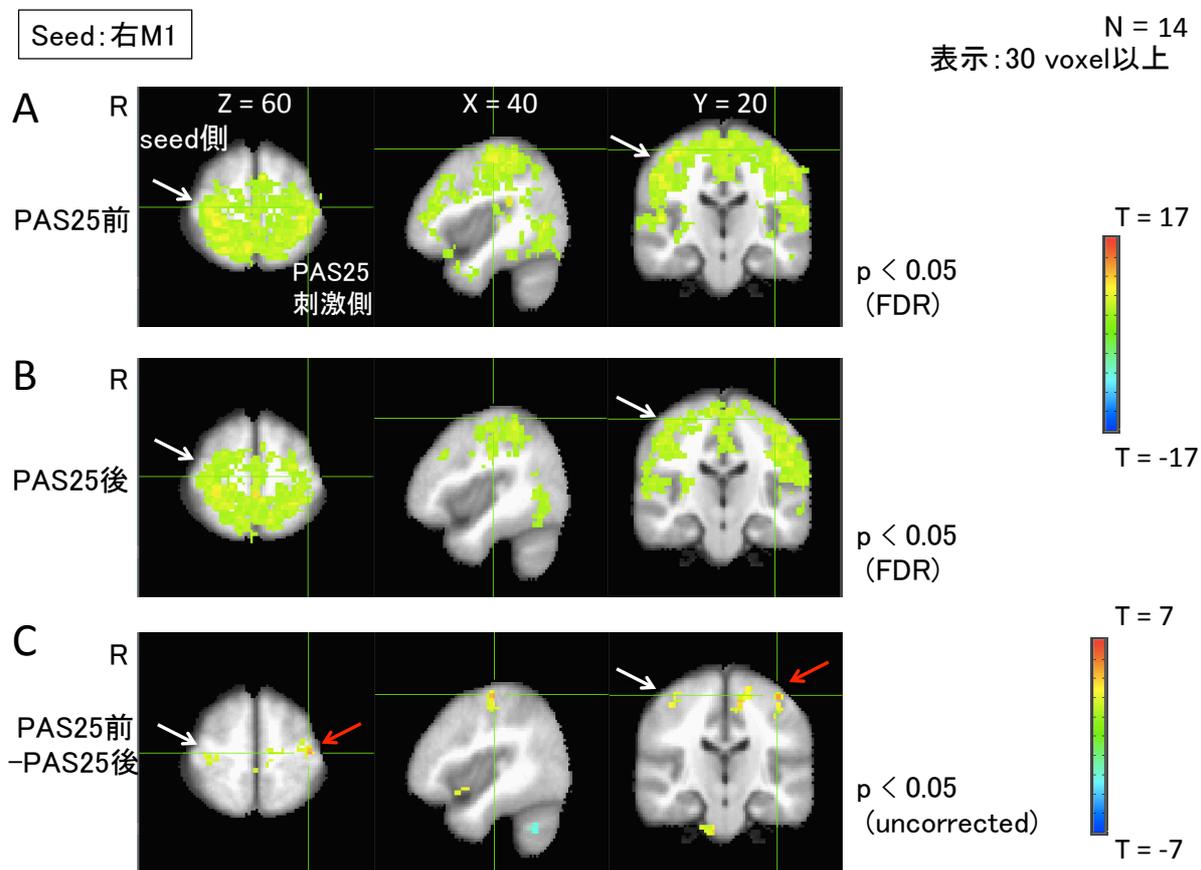


図 7. PAS25 によって機能的結合性が変化した領域 (Seed point: 左 M1)

PAS25 施行前後の安静 fMRI データによって解析された、左 M1 と機能的結合性を有する領域を示した。データの解析は、Seed-based correlation analysis による相関解析を用いた。相関の Seed point (白矢印) は、PAS25 前に施行された右手対立課題 fMRI で賦活した左 M1 領域とした。(A) PAS25 前および (B) PAS25 後のデータ解析は、それぞれ 1 sample t-test を行い、Seed point と有意な相関のある領域を示した (FDR,  $p < 0.05$ )。 (C) PAS25 前と PAS25 後のデータに paired t-test を行い、Seed point と有意に相関のある領域を示した (uncorrected,  $p < 0.05$ )。

PAS25 前と比較し、PAS 後で Seed point (左 M1) の反対側である右 M1 (赤矢印) との機能的結合性が減少していることが示された。

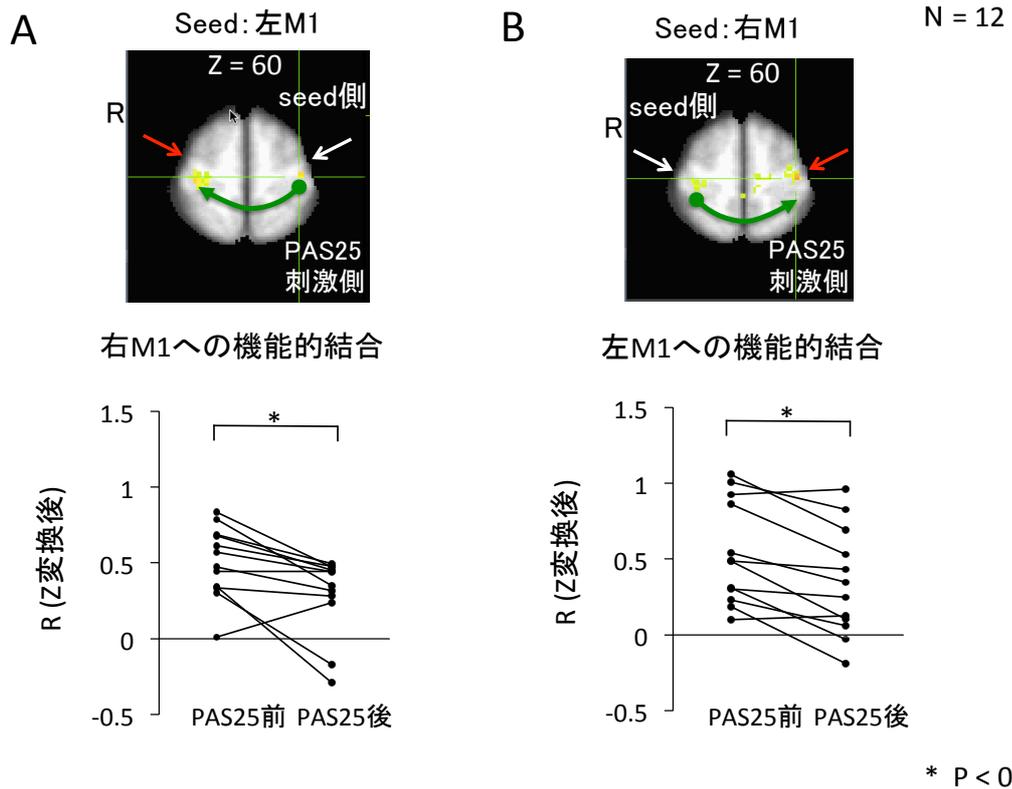


**図 8. PAS25 によって機能的結合性が変化した領域 (Seed point : 右 M1)**

図 7 に示した解析方法と同様に、PAS25 施行前後の安静 fMRI データによって解析された、右 M1 と機能的結合性を有する領域を示した。相関の Seed point (白矢印) は、PAS25 前に施行された左手対立課題 fMRI によって賦活した右 M1 領域とした。

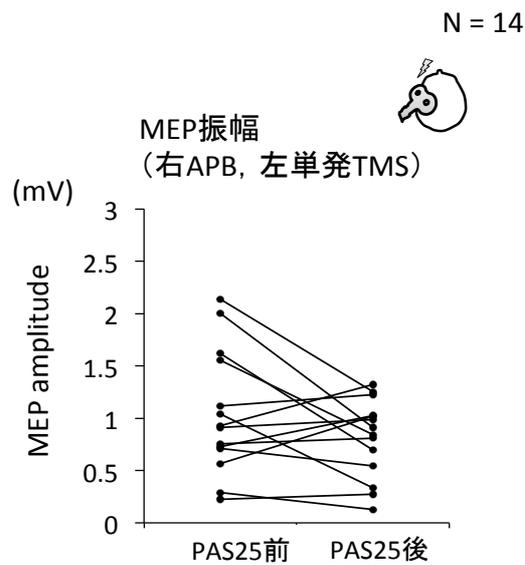
(A) PAS25 前、(B) PAS25 後に見られた、Seed point と有意な機能的結合性を示した領域 (FDR,  $p < 0.05$ )。 (C) PAS25 前と PAS25 後のデータに paired t-test を行い、Seed point と有意に相関のある領域を示した (uncorrected,  $p < 0.05$ )。

Seed point が左 M1 とした時と同様に、PAS25 前と比較し、PAS 後で Seed point (右 M1) の反対側である左 M1 (赤矢印) との機能的結合性が減少していることが示された。



**図 9. Seed point の反対側の M1 における安静 fMRI 相関係数の変化**

図 7C, 図 8C において, Seed point (白矢印) の反対側 M1 の機能的結合性の減少領域 (赤矢印) における, PAS25 前後の相関係数を示した。(A) 左 M1 から右 M1 への機能的結合領域における相関係数。(B) 右 M1 から左 M1 への機能的結合領域における相関係数。PAS25 前と比較し, PAS25 後に, 両方向の機能的結合性が減少していることが示された ( $p < 0.05$ )。



**図 10. PAS25 前後における MEP 振幅(右 APB, 左単発 TMS)の変化**

PAS25前後に、左M1に単発TMSを行い右APBのMEPの測定を行った。MEP振幅は peak to peakにて計測した。図中の黒丸は、各条件15回のMEP振幅の平均値を示した。MEP振幅は、PAS25前後で有意差は認められなかった。

## 5. 考察

本研究の結果にて、単発 TMS により導出された MEP 振幅は、PAS25 前後で有意な変化は見られなかった。これまでに Stefan ら[7]より、PAS25 後の 95%の対象に、単発 TMS による MEP 振幅が増大したと報告されている。その一方、Lopez-Alonso ら[14]は、PAS25 により MEP 振幅が増大した対象は 39%、減少した対象は 61%であり、PAS25 による MEP 振幅の変化はばらつくと報告されている。本研究の結果は、Lopez-Alonso らの報告を支持し、単発 TMS による MEP 振幅は、PAS25 による M1 の変化を安定して表すことはできなかった。

一方、PAS25 刺激側半球を Seed point とした時の、PAS25 非刺激側 M1 との機能的結合は、PAS25 前と比較し PAS25 後に有意な低下が見られた。PAS25 による非刺激 M1 への変化については、PAS25 付与によって、PAS25 刺激側 M1 から非刺激側 M1 への半球間抑制が減少したと報告[15]がある。また本研究の結果より、PAS25 非刺激側半球を Seed point とした時の、PAS25 刺激側 M1 への機能的結合は、PAS25 後に有意な低下が認められた。末梢神経電気刺激を用い、左右の大脳皮質への影響を調べた報告[47]では、一側手指の触覚刺激によって、触覚刺激反対側の一次体性感覚野

(Primary somatosensory cortex, 以下 S1) の脳血流が増大し、さらに刺激同側の S1 の脳血流が減少したと述べている。一側手指の触覚刺激が反対側 S1 の賦活を引き起こすことはよく知られているが、この刺激が同側 S1 の賦活を減少させることは着目すべき点である。そしてこの同側 S1 の賦活減少は、脳梁を通じて生じたとの報告[48]がある。これらの報告は、左右の大脳半球は脳梁を通じた機能的な連絡が存在するため、一側の刺激によって他方の半球の興奮性が変化し得ることを示唆する。これらのことより、末梢神経電気刺激と TMS のペア刺激である PAS25 においても、一側 M1 のみに変化を及ぼすのではなく、両側 M1 に影響を及ぼすことが示唆され、本研究の結果を支持する。

なお本研究の展望として、安静 fMRI で解析された機能的結合と、先行研究[15]で報告された半球間抑制の変化の互いの関連は明らかではないため、今後、安静 fMRI と 2 連続 TMS の同時計測等による評価が必要になると考えられる。また、安静 fMRI データの解釈については、安静 fMRI 解析は安定した手法であると報告されており[49]、神経の自発活動の由来について報告は散見される[50]ものの現在のところ不明確であり、安静 fMRI 解析の方法論は確立していないことに留意する必要がある。

これらのことから、単発 TMS による MEP 振幅は、PAS25 による M1 の変化を安定して評価することは困難であるが、安静 fMRI による左右 M1 間の機能的結合を用いた解析を行うことにより、PAS25 による変化を安定して表すことができると考えられた。

## 第4章 結論

研究1では、PAS25による単発TMSのMEP振幅の変化は一定した傾向を認めなかった。一方、MEP振幅比(右/左APB)は、PAS25前と比較しPAS25後に、全対象に値の増大が観察された。このことよりMEP振幅比(右/左APB)は、安定したPAS25評価方法であり、ばらつきの大きい単発TMSによるMEP振幅より優れた評価方法であると考えられた。

研究2では、PAS25前後で、MEPの振幅は一定した変化を認めなかった。一方、PAS25前と比較しPAS25後では、PAS25刺激側半球である左M1から右M1への機能的結合性の有意な変化が認められた。さらに、右M1から左M1への機能的結合性の有意な変化が認められた。このことから、安静fMRIによって計測されるM1間の機能的結合性は、PAS25による影響を安定して計測可能な優れた評価であると考えられた。

PAS25には複数の刺激プロトコルの報告があり、刺激回数および刺激頻度が報告により異なる。本研究では、刺激回数100回、刺激頻度0.2Hzのプロトコルを用いたが、今後の課題として、他の刺激条件においても本研究の結果の検証を行う必要があると考える。

本研究より、2連続TMSを用いたMEP振幅比(右/左APB)および、安静fMRIによって計測されるM1間の機能的結合性は、PAS25による影響を安定して計測可能であり、ばらつきの大きい単発TMSによるMEP振幅より優れた評価方法であると考えられる。本研究によって提案されたPAS25の評価方法は、今後のPAS25の臨床応用に有用な知見となると考えられる。

## 第5章 謝辞

本研究は指導教員沼田憲治教授の指導のもとに行われました。本稿を終えるにあたり、終始丁寧かつ的確なご指導をいただき本稿作成を導いてくださいましたことに深く感謝いたします。

また、本研究での対象者としてご協力いただいた方々および、実験に協力いただいた研究室の皆様に深く感謝いたします。

## 引用文献

1. Corti M, Patten C, Triggs W. Repetitive transcranial magnetic stimulation of motor cortex after stroke: a focused review. *Am J Phys Med Rehabil*, 2012; 91 (3): 254-270.
2. Hummel F, Cohen L. Non-invasive brain stimulation: a new strategy to improve neurorehabilitation after stroke? *Lancet Neurol*, 2006; 5 (8): 708-712.
3. Khedr EM, Ahmed MA, Fathy N, Rothwell JC. Therapeutic trial of repetitive transcranial magnetic stimulation after acute ischemic stroke. *Neurology*, 2005; 65 (3): 466-468.
4. Mally J, Dinya E. Recovery of motor disability and spasticity in post-stroke after repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). *Brain Res Bull*, 2008; 76 (4): 388-395.
5. Chang WH, Kim YH, Bang OY, Kim ST, Park YH, Lee PK. Long-term effects of rTMS on motor recovery in patients after subacute stroke. *J Rehabil Med*, 2010; 42 (8): 758-764.
6. Dafotakis M, Grefkes C, Eickhoff SB, Karbe H, Fink GR, Nowak DA. Effects of rTMS on grip force control following subcortical stroke. *Exp Neurol*, 2008; 211 (2): 407-412.
7. Stefan K, Kunesch E, Cohen LG, Benecke R, Classen J. Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain*, 2000; 123 Pt 3 572-584.
8. Rossini PM, Rossi S. Transcranial magnetic stimulation: diagnostic, therapeutic, and research potential. *Neurology*, 2007; 68 (7): 484-488.
9. Kobayashi M, Pascual-Leone A. Transcranial magnetic stimulation in neurology. *Lancet Neurol*, 2003; 2 (3): 145-156.
10. Fratello F, Veniero D, Curcio G, Ferrara M, Marzano C, Moroni F, Pellicciari MC, Bertini M, Rossini PM, De Gennaro L. Modulation of corticospinal excitability by paired associative stimulation: reproducibility of effects and intraindividual reliability. *Clin Neurophysiol*, 2006; 117 (12): 2667-2674.
11. Cirillo J. Motor cortex plasticity induced by paired associative stimulation is enhanced in physically active individuals. *J Physiol*, 2009; 587 (24): 5831-5842.
12. Muller-Dahlhaus F, Lucke C, Lu MK, Arai N, Fuhr A, Herrmann E, Ziemann U. Augmenting LTP-Like Plasticity in Human Motor Cortex by Spaced Paired Associative Stimulation. *PLoS One*, 2015; 10 (6): e0131020.
13. Castel-Lacanal E, Marque P, Tardy J, de Boissezon X, Guiraud V, Chollet F, Loubinoux I, Moreau MS. Induction of cortical plastic changes in wrist muscles by paired associative stimulation in the recovery phase of stroke patients. *Neurorehabil Neural Repair*, 2009; 23 (4): 366-372.
14. Lopez-Alonso V, Cheeran B, Rio-Rodriguez D, Fernandez-Del-Olmo M. Inter-individual variability in response to non-invasive brain stimulation paradigms. *Brain Stimul*, 2014; 7 (3): 372-380.
15. Shin H, Sohn Y. Interhemispheric transfer of paired associative stimulation-induced plasticity in the human motor cortex. *Neuroreport*, 2011; 22 (4): 166-170.
16. Ferbert A, Priori A, Rothwell JC, Day BL, Colebatch JG, Marsden CD. Interhemispheric inhibition of the human motor cortex. *J Physiol*, 1992; 453 525-546.
17. Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med*, 1995; 34 (4): 537-541.
18. van den Heuvel MP, Hulshoff Pol HE. Exploring the brain network: a review on resting-state fMRI functional connectivity. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2010; 20 (8): 519-534.
19. Park CH, Chang Wh Fau - Ohn SH, Ohn Sh Fau - Kim ST, Kim St Fau - Bang OY, Bang Oy Fau - Pascual-Leone A, Pascual-Leone A Fau - Kim Y-H, Kim YH. Longitudinal changes of resting-state functional connectivity during motor recovery after stroke. *Stroke*, 2011; 42 1357-1362.
20. Nettekoven C, Volz LJ, Kutscha M, Pool EM, Rehme AK, Eickhoff SB, Fink GR, Grefkes C. Dose-dependent effects of theta burst rTMS on cortical excitability and resting-state connectivity of the

- human motor system. *J Neurosci*, 2014; 34 (20): 6849-6859.
21. Amadi U, Ilie A, Johansen-Berg H, Stagg CJ. Polarity-specific effects of motor transcranial direct current stimulation on fMRI resting state networks. *Neuroimage*, 2014; 88 155-161.
  22. Pena-Gomez C, Sala-Lonch R, Junque C, Clemente IC, Vidal D, Bargallo N, Falcon C, Valls-Sole J, Pascual-Leone A, Bartres-Faz D. Modulation of large-scale brain networks by transcranial direct current stimulation evidenced by resting-state functional MRI. *Brain Stimul*, 2012; 5 (3): 252-263.
  23. Uy J, Ridding M, Hillier S, Thompson P, Miles T. Does induction of plastic change in motor cortex improve leg function after stroke? *Neurology*, 2003; Oct 14;61 (7): 982-984.
  24. Di Lazzaro V, Dileone M, Pilato F, Capone F, Musumeci G, Ranieri F, Ricci V, Brija P, Di Iorio R, de Waure C, Pasqualetti P, Profice P. Modulation of motor cortex neuronal networks by rTMS: comparison of local and remote effects of six different protocols of stimulation. *J Neurophysiol*, 2011; 105 (5): 2150-2156.
  25. McKay D, Ridding M, Thompson P, Miles T. Induction of persistent changes in the organisation of the human motor cortex. *Exp Brain Res*, 2002; 143 (3): 342-349.
  26. Wolters A, Sandbrink F, Schlottmann A, Kunesch E, Stefan K, Cohen LG, Benecke R, Classen J. A temporally asymmetric Hebbian rule governing plasticity in the human motor cortex. *J Neurophysiol*, 2003; 89 (5): 2339-2345.
  27. Oldfield R. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia*, 1971; 9 (1): 97-113.
  28. Rossi S, Hallett M, Rossini P, Pascual-Leone A. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin Neurophysiol*, 2009; 120 (12): 2008-2039.
  29. Rossini P, Burke D, Chen R, Cohen L, Daskalakis Z, Di Iorio R, Di Lazzaro V, Ferreri F, Fitzgerald P, George M, Hallett M, Lefaucheur J, Langguth B, Matsumoto H, Miniussi C, Nitsche M, Pascual-Leone A, Paulus W, Rossi S, Rothwell J, Siebner H, Ugawa Y, Walsh V, Ziemann U. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: Basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee. *Clin Neurophysiol*, 2015; 126 (6): 1071-1107.
  30. Ni Z. Two Phases of Interhemispheric Inhibition between Motor Related Cortical Areas and the Primary Motor Cortex in Human. *Cereb Cortex*, 2008; 19 1654-1665.
  31. Harris-Love M, Perez M, Chen R, Cohen L. Interhemispheric inhibition in distal and proximal arm representations in the primary motor cortex. *J Neurophysiol*, 2007; 97 (3): 2511-2515.
  32. Vercauteren K, Pleysier T, Van Belle L, Swinnen SP, Wenderoth N. Unimanual muscle activation increases interhemispheric inhibition from the active to the resting hemisphere. *Neurosci Lett*, 2008; 445 (3): 209-213.
  33. Boroojerdi B, Diefenbach K, Ferbert A. Transcallosal inhibition in cortical and subcortical cerebral vascular lesions. *J Neurol Sci*, 1996; 144 (1-2): 160-170.
  34. Morishita T, Uehara K, Funase K. Changes in interhemispheric inhibition from active to resting primary motor cortex during a fine-motor manipulation task. *J Neurophysiol*, 2012; 107 (11): 3086-3094.
  35. Daskalakis Z, Christensen B, Fitzgerald P, Roshan L, Chen R. The mechanisms of interhemispheric inhibition in the human motor cortex. *J Physiol*, 2002; 543 (Pt 1): 317-326.
  36. Carson RG, Kennedy NC. Modulation of human corticospinal excitability by paired associative stimulation. *Front Hum Neurosci*, 2013; 7 823.
  37. Tombari D, Loubinoux I Fau - Pariente J, Pariente J Fau - Gerdelat A, Gerdelat A Fau - Albucher J-F, Albucher Jf Fau - Tardy J, Tardy J Fau - Cassol E, Cassol E Fau - Chollet F, Chollet F. A longitudinal fMRI study: in recovering and then in clinically stable sub-cortical stroke patients. *NeuroImage*, 2004; 23 827-839.

38. Ward NS, Brown MM, Thompson AJ, Frackowiak RS. Neural correlates of outcome after stroke: a cross-sectional fMRI study. *Brain*, 2003; 126 (Pt 6): 1430-1448.
39. Koch MA, Norris DG, Hund-Georgiadis M. An investigation of functional and anatomical connectivity using magnetic resonance imaging. *Neuroimage*, 2002; 16 (1): 241-250.
40. Carter AR, Astafiev SV, Lang CE, Connor LT, Rengachary J, Strube MJ, Pope DL, Shulman GL, Corbetta M. Resting interhemispheric functional magnetic resonance imaging connectivity predicts performance after stroke. *Ann Neurol*, 2010; 67 (3): 365-375.
41. Xu H, Qin W, Chen H, Jiang L, Li K, Yu C. Contribution of the resting-state functional connectivity of the contralesional primary sensorimotor cortex to motor recovery after subcortical stroke. *PLoS One*, 2014; 9 (1): e84729.
42. Fox MD, Halko MA, Eldaief MC, Pascual-Leone A. Measuring and manipulating brain connectivity with resting state functional connectivity magnetic resonance imaging (fcMRI) and transcranial magnetic stimulation (TMS). *Neuroimage*, 2012; 62 (4): 2232-2243.
43. dcm2nii. <http://www.cabiatl.com/mricro/mricron/dcm2nii.html>.
44. Statistical parametric Mapping. <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>.
45. Cox RW. AFNI: software for analysis and visualization of functional magnetic resonance neuroimages. *Comput Biomed Res*, 1996; 29 (3): 162-173.
46. Mayhew JE, Askew S, Zheng Y, Porrill J, Westby GW, Redgrave P, Rector DM, Harper RM. Cerebral vasomotion: a 0.1-Hz oscillation in reflected light imaging of neural activity. *Neuroimage*, 1996; 4 (3 Pt 1): 183-193.
47. Hlushchuk Y, Hari R. Transient suppression of ipsilateral primary somatosensory cortex during tactile finger stimulation. *J Neurosci*, 2006; 26 (21): 5819-5824.
48. Ragert P, Nierhaus T, Cohen LG, Villringer A. Interhemispheric interactions between the human primary somatosensory cortices. *PLoS One*, 2011; 6 (2): e16150.
49. Chen S, Ross TJ, Zhan W, Myers CS, Chuang KS, Heishman SJ, Stein EA, Yang Y. Group independent component analysis reveals consistent resting-state networks across multiple sessions. *Brain Res*, 2008; 1239 141-151.
50. Jann K, Kottlow M, Dierks T, Boesch C, Koenig T. Topographic electrophysiological signatures of FMRI Resting State Networks. *PLoS One*, 2010; 5 (9): e12945.