

加齢によって変化する運動関連脳内ネットワークの特定と強化

佐々木 亮 樹*

AGE-RELATED CHANGES IN MOTOR NETWORKS AND ITS PLASTICITY

Ryoki Sasaki

Key words: aging, functional connectivity, primary motor cortex, motor learning, TMS-EEG.

緒 言

加齢は我々が生きるうえで避けられない普遍のイベントであり、さまざまな機能低下を引き起こすことが知られている。そのなかでも顕著にみられる加齢変化の 1 つは、運動機能の低下であり、多くの人が周知する事実である。この運動機能の低下には、筋量や柔軟性低下などに伴う末梢性要因が関与することがわかっているが、中枢性要因、すなわち脳も同様に運動機能の低下に寄与することが脳イメージング装置の発達によって明らかになりつつある⁸⁾。

運動には一次運動野 (M1) が大きく関与しているが、その領域の活動が加齢によって変化することが数多く報告されている。例えば、高齢者では M1 の可塑性機能が若年者と比べて低下しており^{4,7)}、その低下は運動機能の低下と関連することが示されている¹⁾。これらの報告から、加齢に伴う M1 の生理学的変化は、運動機能低下の原因の 1 つであることが示唆される。この背景を踏まえ、高齢者の M1 の可塑性機能を高めることで運動機能を強化する試みがこれまで行われてきたが、一致した見解が得られていないのが現状で

ある。

これまでの脳イメージング装置を用いた研究では、M1 のような単一領域の評価に焦点を当ててきた。一方、実際の運動は、複数の運動関連脳領域が相互に活動することで行われている。そのため、加齢に伴う中枢性の変化を正確にとらえるには、伝統的な単一脳領域の評価に加えて、M1 を基点とした複数脳領域のネットワーク変化も明らかにしていく必要があると考えられる。しかし、加齢がどのような運動関連ネットワークに影響を及ぼすのかは十分に明らかになっていない。したがって、本研究では、高齢者において M1 を含む運動関連ネットワークは低下するのか、そして、そのネットワークは強化することが可能なのかを明らかにすることを目的とした。これらを解明するため、本研究では若年者と高齢者を対象とし、M1 への経頭蓋磁器刺激 (Transcranial magnetic stimulation; TMS) と脳電図 (Electroencephalogram; EEG) を組み合わせた新手法 TMS-EEG を使用することで、M1 の興奮性および M1 を基点とした大脳ネットワークの解析を行った。本研究では、高齢者において M1 の興奮性および特定の運動関連脳内ネットワーク、運動機能が低下しており、

* アデレード大学医学部生理学分野 Discipline of Physiology, Biomedicine of School, The University of Adelaide, Adelaide, Australia.

非侵襲的脳刺激法による可塑性誘導によって、これらを強化することができると仮説を立てた。

方 法

A. 対象者

本研究には19名の健常若年者と13名の健常高齢者が参加した。TMSによって運動誘発電位 (Motor-evoked potential; MEP) が生じない被験者が若年者で5名と高齢者で1名いたため、対象から除外された。最終的に実験1では、14名の若年者 (平均 $\pm$ SD = 26.0 $\pm$ 5.4歳) と12名の高齢者 (64.5 $\pm$ 5.7歳) が参加し、実験2では、14名の若年者 (26.0 $\pm$ 5.4歳) と4名の高齢者 (64.5 $\pm$ 5.6歳) が参加した (実験2の高齢者群ではコロナウイルスの蔓延により、リクルートが難しくなったため4名のみとなった)。実験1と実験2の両方に参加した被験者は、実験間で少なくとも1週間以上の間隔を空けた。全被験者は右利きであり、中枢神経活動に影響を与える薬の服用はなかった。対象者に対してTMSの安全性に関するスクリーニングを書面にて行い、本実験の参加に問題がないことを確認したうえで実験を行った。本研究はヘルシンキ宣言の趣旨に則り、アデレード大学倫理委員会の承認のもとで行われた (承認番号: H-026-2008)。被験者は、実験に参加する前に、その内容に関する情報を書面および口頭で十分に確認した後、同意書に署名した。

B. 実験準備とプロトコル

被験者は背もたれのある椅子に座り、実験中は安静状態で開眼を維持した。右の第一背側骨間筋に対して筋電図電極をbelly-tendon法で貼付した。また、10-10法で61チャンネル電極が接続してい

る EEG キャップを頭部に装着し、全電極の抵抗はゲルにて10 k Ω 以内に維持された。

実験1 (運動関連ネットワークの探索): 各被験者は、右示指を使用した視覚追従課題 (Block 1) を行い、運動機能の測定を行った。次に、M1へのTMSを行い、MEPとTMS誘発電位 (TMS-evoked potential; TEP) の計測を行った。

実験2 (運動関連ネットワークの強化): 実験1の結果をもとにM1の興奮性を増大させる反復的磁気刺激 (repetitive paired-pulse TMS; iTMS) を15分間施行した¹⁰⁾。介入は、M1の可塑性を誘導するpaired-pulseを使用した本条件と単発刺激を使用したコントロール条件を設け、別日 (> 1 week) にランダムな順序で各被験者にそれぞれの介入が同じ時間帯 (11a.m. or 2 p.m.) で行われた。1つのセッションにつき、約3時間を費やした。その介入前後で、運動課題 (介入前: Block 1, 介入後: Block 2-9)、MEP、TEPの計測をそれぞれ行った。

C. TMS

TMS本体 (Magstim, Dyfed, UK) に接続されたTMSコイル (branding iron coil) は、頭部に垂直かつ矢状面に対して45度の角度でM1に設置された。M1へのTMSは、posterior-to-anterior currentになるようにコイルの向きを各被験者で統一した。筋電図よりMEP、EEGよりTEPをそれぞれ異なるブロックで記録した。MEPは0.5~1.0 mVを誘発するTMS強度に設定し、TEPは安静時運動閾値のTMS強度にそれぞれ設定した。TMSは、4秒に1回の頻度で行われ、MEPは15回、TEPは100回それぞれ計測した。Brainsight Neuro-navigation System (Rogue Research, Montreal, Canada)

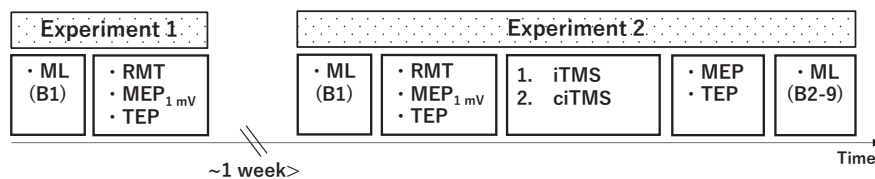


図1. 実験プロトコル

Fig.1. Experimental protocol.

Participants visited the laboratory for each session that were approximately 3 hours long, held at the same time of day and were separated by a period of at least one week.

B; block, ciTMS; control repetitive single-pulse transcranial magnetic stimulation, iTMS; repetitive paired-pulse transcranial magnetic stimulation, MEP; motor-evoked potential, ML; motor learning, RMT; resting motor threshold, TEP; TMS-evoked potential.

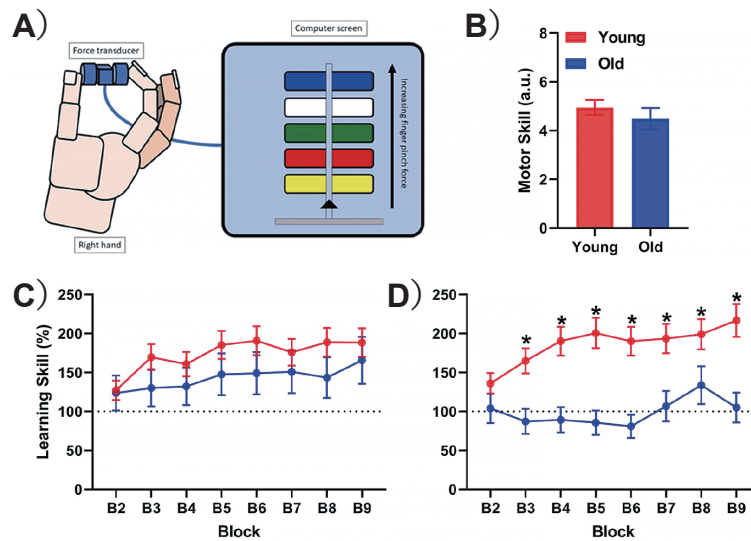


図 2. 視覚追従課題の概要図とグループ間の比較

Fig.2. Visuo-motor task and comparisons between young and old.

A) Visuo-motor task, B) Motor skill between young and old groups in experiment 1, C) Learning skill in young and old groups before and after iTMS in experiment 2, D) Learning skill in young and old groups before and after control iTMS in experiment 2.

*: $P < 0.05$ compared to old group. Mean $\pm$ SEM.

を使用することで、TMS コイルの位置は一定の場所を保持した。TMS にて TEP を記録する際は、磁器刺激に伴う聴覚誘発電位の混入を最小限にするため、被験者はホワイトノイズをイヤホンから聴き、その上からヘッドホンで両耳を覆った。

D. 運動機能と運動学習の評価

運動機能 (Block 1) と運動学習 (Block 2-9) の評価には、右示指の外転運動を伴う視覚追従課題を用いた (図 2 A)⁶⁾。被験者は、評価の前に 5 つの色の順番を記憶した (赤→青→緑→黄→白)。その後、画面に現れた 5 つの色のターゲットに対して被験者は、示指の外転運動によって動かすカーソルを記憶した色の順番にてできるだけ正確かつ速く動かすように努めた。被験者は、5 つの色に対する 5 回の運動トライアルを介入前に 1 回、介入後に 8 回行った。

E. データ解析

MEP: 介入前後で記録された各 15 個の MEP の peak-to-peak 値を算出し、加算平均を行った。各トライアルは、背景筋活動を含むかどうかを目視で確認し、それらを含むトライアルを除外した。平均化した介入後の MEP 振幅値は、介入前の MEP 振幅値で正規化を行った。

運動課題: 各トライアルで計測されたエラーと運動時間を使用して次の計算式より motor skill を算出した⁵⁾: $\text{Motor skill} = (1 - \text{Error}) / \text{Error} (\ln (\text{movement time}))^{1.627}$ 。motor skill は、各ブロックで 5 つのトライアルを平均化して表した。実験 2 における介入後の motor skill スコアは、介入前の motor skill スコアにて正規化した。

TMS-EEG: データの事前処理は、推奨されているプロトコルに準拠して行った⁹⁾。事前処理後には、Brainstorm Software による OpenMEEG BEM head model と LCMV beamformer を用いて全脳レベル (合計 15000 ボクセル) でのソース解析を行った (図 3, ソース解析の手順は以下を参照: <https://neuroimage.usc.edu/brainstorm/Tutorials>)。実験 1 では、M1 の興奮性を評価するため、TEP の N45 成分 (TMS 後 40~50 ms の区間) を使用した。また、M1 の磁気刺激に伴う運動関連ネットワークの評価には、Corrected imaginary phase locking value (ciPLV) を用いて磁気刺激後の 1 秒区間 (20~1020 ms) に対して β 帯域の機能的結合を M1 -seed にて算出した (M1 -seed $\times$ 15000 ボクセル)。実験 2 では、実験 1 と同様に、TEP の N45 成分と ciPLV を介入前後で算出した。

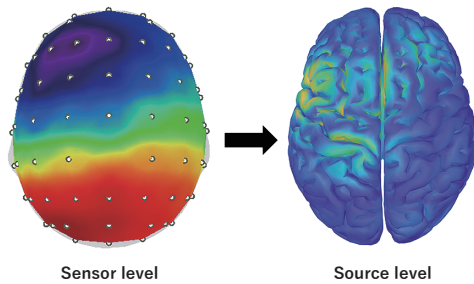


図3. EEGによるソースレベルの解析

Fig.3. EEG analysis on source level.

LCMV beamformer was performed to estimate whole brain activity at source level.

F. 統計解析

統計解析には、SPSS (SPSS; IBM, Armonk, NY, USA)、MATLAB (R2019b, The Mathworks, USA)、Brainstorm (v07-Jan-2022) をそれぞれ使用した。

MEP: 正規化した MEP 振幅値に対してグループ (若年者と高齢者) × 介入 (本条件とコントロール条件) を要因とした Generalized linear mixed model を使用した。モデルは Gamma 分布を適応し、identity link function を MEP 振幅値に対して使用した。ランダムな被験者効果 (intercept と slope) の影響はすべて含まれた。主効果と交互作用に対する事後検定は、Bonferroni 法が用いられ、 $P < 0.05$ を有意差があると定義した。すべての値は、平均値 ± 標準誤差にて表した。

運動課題: 実験 1 の motor skill に対して、グループ間 (若年者と高齢者) にて Mann-Whitney test を行った。実験 2 では、MEP と同様の手法で正規化した motor skill に対してグループ (若年者と高齢者) × 介入 (本条件とコントロール条件) × ブロック (Block 2-9) を要因とした Generalized linear mixed model を使用した。

TMS-EEG: 実験 1 では、TEP の N45 成分の区間 (40~50 ms) および機能的結合の解析で得られた M1-seed の ciPLV に対してグループ間 (若年者と高齢者) における 10000 回の Permutation t-test をクラスター解析にてそれぞれ実施した。クラスターは隣り合うボクセルが 2 つ以上 $P < 0.05$ を示すものと定義した。実験 2 では、TEP の N45 成分または ciPLV 値を使用して、各グループにおける介入前後で 10000 回の Permutation t-test におけるクラスター解析をそれぞれ実施した。

結 果

実験中に TMS に伴う副作用を訴える者はいなかった。また、運動課題後に筋疲労を訴える被験者はいなかった。

A. MEP

実験 2 の MEP 解析では、グループ間 ($F_{1,525} = 0.273, P = 0.601$)、条件間 ($F_{1,525} = 0, P = 1$)、グループ × 条件間の交互作用 ($F_{1,525} = 0.061, P = 0.806$) はいずれも有意差を認めなかった (若年者: 本条件 $96.3 \pm 7.0\%$, コントロール条件 $119.9 \pm 9.5\%$, 高齢者: 本条件 $131.6 \pm 19.9\%$, コントロール条件 $118.1 \pm 11.6\%$)。

B. 運動機能と運動学習

実験 1 の最初のブロックにおけるグループ間の比較では、motor skill において有意差は認められなかった ($P = 0.643$) (図 2 B)。実験 2 の Block 2-8 からなる learning skill の解析では、グループ間 ($F_{1,2259} = 11.804, P < 0.001$)、条件間 ($F_{1,2259} = 4.386, P = 0.036$)、ブロック間 ($F_{1,2259} = 2.366, P = 0.021$)、グループ × 条件間の交互作用 ($F_{1,2259} = 9.495, P = 0.002$) のそれぞれで有意差を認めた。グループ間では、若年者のほうが高齢者よりも learning skill が有意に優れていた ($P < 0.001$)。本条件では、コントロール条件と比較して learning skill の向上を認めた ($P = 0.036$)。ブロック間では、Block 2 と比較して Block 8-9 にて learning skill の向上を認めた ($P < 0.049$)。また、交互作用における事後検定では、本条件ではグループ間に有意差がないのに対して ($P = 0.155$)、コントロール条件では若年者のほうが高齢者よりも learning skill が有意に優れていた ($P < 0.001$) (図 2 C, D)。一方、その他の交互作用は有意差を認めなかった (all $P > 0.37$)。

C. TMS-EEG

各グループの実験 1 で計測した TEPs のパタフライブロットを図 4 A, B に示した。TEP の N45 成分におけるグループ間の比較では、M1 を含む運動関連領域および一次体性感覚野の活動が高齢者で有意に低下を示した ($P < 0.05$)。一方、M1-seed の機能的結合では、グループ間で有意なクラスターは認められなかった ($P > 0.65$)。更に実験

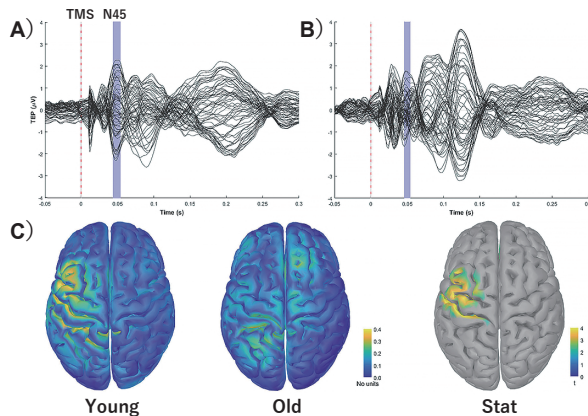


図4. 加齢に伴う TEP の N45成分の変化

Fig.4. Age-related change in N45 of TEPs.

A) Grand-average of butterfly plot in young group. B) Grand-average of butterfly plot in old group. C) Comparison between young and old groups on N45 of TEPs. The colored voxels on the brain map in Stat represent significant difference between groups ($P < 0.05$).

2では、TEPのN45成分またはM1-seedの機能的結合は各グループ間の介入前後ではいずれも有意差を示さなかった ($P > 0.10$)。

考 察

本研究では、加齢に伴う運動関連脳内ネットワークの特定および、非侵襲的脳刺激を使用してそのネットワークと運動機能の強化を図ることを目的とした。新手法TMS-EEGによって計測したTEPのN45成分は高齢者で低下を示したものの、M1を基点とした運動関連ネットワークは、加齢によって変化を示さなかった。可塑性誘導後には、MEP、N45成分、運動関連ネットワークのいずれにおいても各グループで変化を示さなかったが、興味深いことに高齢者グループにおいて運動学習の促進を図ることに成功した。

多くの先行研究では、高齢者ではM1の可塑性機能や抑制機能が低下することが報告されており^{2,7)}、これらと関連して運動機能の低下が引き起こることが明らかになっている。一方、本研究では、新手法であるTMS-EEGを使用してTEPのN45成分が高齢者で低下していることを初めて明らかにした。N45成分はM1のgamma-aminobutyric acid (GABA)を含む抑制活動を反映していることから³⁾、本研究結果は高齢者においてM1のGABAの活動が低下していることを示唆している。一方、本研究の仮説に反して、運動関連ネ

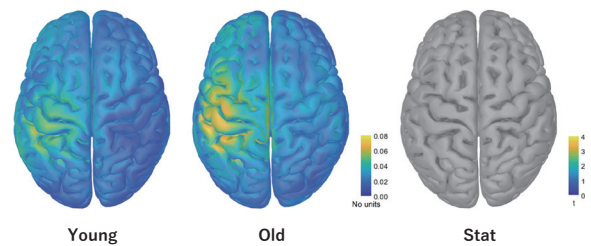


図5. 加齢に伴う M1-seed の機能的結合の変化

Fig.5. Age-related change in M1-seed functional connectivity. Grand-average of beta-band M1-seed functional connectivity in young and old groups. The brain map in Stat did not show any significant differences between groups ($P > 0.11$).

ットワークは高齢者で低下を示さなかった。その理由として、加齢は運動関連ネットワークよりも、N45成分のようなM1の活動そのものに大きく影響を与えるということかもしれない。しかし、本研究では機能的結合の解析はβ帯域やM1-seedのみに限定したため、αやγなどの他の帯域や、補足運動野や運動前野などをseedとした更なる解析が要求されるかもしれない。

非侵襲的脳刺激は、皮質脊髄路の興奮性を表すMEP、M1の興奮性を表すTEP、運動関連ネットワークを表すM1-seedの機能的結合のそれぞれに影響を及ぼさなかったが、高齢者の運動学習を促進することができた。本研究で使用した非侵襲的脳刺激法は、MEPおよびTEPのN45成分を変動させることが先行研究より示されている¹⁰⁾。しかし、本研究では、その結果を再現できなかったことから、その効果には被験者間にて大きなばらつきがあるのかもしれない。また、M1-seedの運動関連ネットワークも変化しなかったことから、MEP/TEPと同様に被験者間で大きなばらつきがあるのか、または運動関連ネットワークの変化を誘導するには有効な手法ではないかもしれない。それにもかかわらず、本介入は高齢者の運動学習を高めることが示された。どのようなメカニズムで運動学習を促進しているのかは本研究からは説明できないが、非侵襲的脳刺激法は、高齢者の運動機能を高める有用なツールになる潜在性が示された。しかし、本研究で使用した生理学的指標からは、脳内の可塑的变化をとらえることができなかったため、異なる解析手法、または機能的核磁気共鳴法や脳磁図などの異なる脳イメージング装置を使用して、将来的にその詳細なメカニズムを

解明する必要がある。また、実験2の高齢者グループでは、4名の少ないサンプルだったため、本研究で得られた結果は高い信頼性があるとはいえない。そのため、今後、サンプル数を増やし同様の結果が得られるかについても引き続き検討していく。

総 括

本研究では新手法 TMS-EEG を使用し、高齢者では特定の運動関連ネットワークの変化は示されなかったが、M1におけるGABAを含む抑制性ネットワークが低下していることが初めて示された。また、非侵襲的脳刺激法は、M1の興奮性およびM1-seedの運動関連ネットワークに影響を及ぼさなかったが、高齢者において運動学習を特異的に強化することが示された。その脳内メカニズムは本研究のみでは明らかにできなかったが、非侵襲的脳刺激法は高齢者の運動学習を高める有効なりハビリテーション手法になるかもしれない。

謝 辞

本研究に対して助成を賜りました公益財団法人明治安田生命厚生事業団のご支援に深く感謝を申し上げます。

参 考 文 献

- 1) Cassady K, et al. (2019): Sensorimotor network segregation declines with age and is linked to GABA and to sensorimotor performance. *Neuroimage*, **186**, 234-244.
- 2) Cuypers K, et al. (2020): Task-related measures of short-interval intracortical inhibition and GABA levels in healthy young and older adults: a multimodal TMS-MRS study. *Neuroimage*, **208**, 116470.
- 3) Darmani G, et al. (2016): Effects of the selective alpha5-GABAAR antagonist S44819 on excitability in the human brain: a TMS-EMG and TMS-EEG phase I study. *J Neurosci*, **36**, 12312-12320.
- 4) Ghasemian-Shirvan E, et al. (2020): Age-related differences of motor cortex plasticity in adults: a transcranial direct current stimulation study. *Brain Stimul*, **13**, 1588-1599.
- 5) Hand BJ, et al. (2022): Motor cortex plasticity and visuo-motor skill learning in upper and lower limbs of endurance-trained cyclists. *Eur J Appl Physiol*, **122**, 169-184.
- 6) Opie GM, et al. (2020): Investigating the influence of paired-associative stimulation on multi-session skill acquisition and retention in older adults. *Clin Neurophysiol*, **131**, 1497-1507.
- 7) Opie GM, et al. (2017): Priming theta burst stimulation enhances motor cortex plasticity in young but not old adults. *Brain Stimul*, **10**, 298-304.
- 8) Rempe MP, et al. (2022): Spontaneous sensorimotor beta power and cortical thickness uniquely predict motor function in healthy aging. *Neuroimage*, **263**, 119651.
- 9) Rogasch NC, et al. (2017): Analysing concurrent transcranial magnetic stimulation and electroencephalographic data: a review and introduction to the open-source TESA software. *Neuroimage*, **147**, 934-951.
- 10) Sasaki R, et al. (2022): Modulation of I-wave generating pathways with repetitive paired-pulse transcranial magnetic stimulation: a transcranial magnetic stimulation-electroencephalography study. *Neuromodulation*, in press.