

博士論文

視覚運動系列学習における
前補足運動野および補足運動野の機能解析

清水 崇宏

視覚運動系列学習における
前補足運動野および補足運動野の機能解析

医学系大学院博士課程 脳神経医学専攻神経内科学

指導教官：辻 省次 教授

清水 崇宏

目次

| | |
|---|------|
| 序論 | ……5 |
| 第1章 ヒト前補足運動野、補足運動野に対する QPS が明示的視覚運動系列学習に与える影響 ～2×10 課題を用いた検討～ | |
| 1-1 系列習得に対する影響 | |
| 1-1-1 序文 | ……29 |
| 1-1-2 方法 | ……29 |
| 1-1-3 結果 | ……43 |
| 1-1-4 実験1に対する考察 | ……64 |
| 1-2 学習した系列の遂行に対する影響 | |
| 1-2-1 序文 | ……66 |
| 1-2-2 方法 | ……66 |
| 1-2-3 結果 | ……71 |
| 1-2-4 実験2に対する考察 | ……76 |
| 第2章 ヒト前補足運動野に対する QPS が暗示的視覚運動系列学習に与える影響 ～系列反応時間課題 (Serial Reaction Time Task) を用いた検討～ | |
| 2-1 序文 | ……78 |
| 2-2 方法 | ……78 |

| | |
|-----------|-------|
| 2-3 結果 | ……85 |
| 2-4 考察 | ……88 |
| 全体を通しての考察 | ……89 |
| 結語 | ……101 |
| 謝辞 | ……102 |
| 参考文献 | ……103 |

要旨

ヒト前補足運動野、補足運動野はともに系列運動学習に関与すると報告されているが、その詳細な役割には不明な点が多い。本研究では 2×10 課題および系列反応時間課題と 4 連発経頭蓋反復磁気刺激法 (QPS) を用いて、ヒト系列運動学習における前補足運動野、補足運動野の働きを検討した。前補足運動野は明示的学習において新たな系列の習得に関与することが示唆された。補足運動野は既に習得した系列運動の遂行に関与することが示唆された。また QPS-5 では学習の阻害、QPS-50 で学習の促進傾向がみられ、QPS による学習修飾のメカニズムとして恒常的メタ可塑性の存在が示唆された。

序論

我々人間の日常は、数多くのスキル・手続き記憶に支えられている。歯を磨く・ハンを使うなど、特別に意識せずに我々が行う日常の活動は、幼少時から時間をかけて獲得されたスキルである。このような習熟したスキルによって生活が営まれる一方で、我々はピアノの弾き方やワープロの使い方など、新しいスキルを学び始める。このような試行錯誤を伴う新しいスキルの獲得と習熟したスキルの無意識的な遂行は手続き記憶の重要な特徴であり、手続き記憶の神経機構を明らかにするうえで、両者はどちらも重要な要素であると考えられる。

このような手続き記憶の獲得は、運動学習とも呼ばれる。運動学習は「感覚情報と運動情報をマッチさせる内在的モデルを確立すること」と考えられている (Wolpert et al. 1995)。運動学習の早期においては、ある運動は未熟であり、感覚情報のフィードバックに依存しており、多大な注意を要する (Atkeson 1989)。学習が進むと運動の正確性、速さは増していき、それに伴い感覚情報のフィードバックへの依存度は減少していき (Preilowski 1977)、最終的には注意を払わず、ほとんど自動的にある運動を行うことが可能になる。これらの知見から、現在では運動学習の課程は以下に述べるような 3 つのステージからなると考えられている (Halsband 2006)。1) initial stage: 感覚情報をガイドとし

たゆっくりとしたパフォーマンスで、運動自体も不安定であり、パフォーマンスの時間が大きく変化する。2) **intermediate stage**: 徐々に感覚情報と運動のマッチングが進み、スピードが増加する。3) **advanced stage**: 素早く自動的、習熟したパフォーマンス。パフォーマンスの時間は一定する。

我々は既に獲得した動作を自動的に行いながら、新たな動作を学習することに集中することができる。既に獲得したひとつひとつの動作はある目的を達成するために組み合わされて系列運動となる。そのため系列運動学習は円滑な随意運動を実現するうえで重要な要素と考えられている (Jenkins et al. 1994, Keele and Summers 1976, Rosenbaum 1985, Willingham et al. 1989)。

これらの観察を念頭に、手続き記憶の神経機構を明らかにすることを目指し、Hikosaka らはサルにおいて 2×5 課題と呼ばれる行動課題を開発した (Hikosaka et al 1995)。この行動課題の詳細な方法については後述するが、 4×4 のマトリックス上に 2 つ同時に提示される視覚刺激に対応した正しいボタン押しの順序を学習するという視覚運動系列学習課題である。この課題において、被検者はまず試行錯誤をしながら正しいボタンの押し方を習得する。この段階では、被検者には集中力・注意力が必要とされ、単純な運動課題というより認知課題としての側面が強い。被検者が一度、正しい押し方を習得した後は、ボタンの押し方のミスは減少していき、更にボタンを押すのに要する反応

時間が減少し、課題遂行のスピードが上昇し、課題遂行の後半にはほとんどミスをすることなくボタンを押すことができるようになり、被検者は自動的にボタンを押すことができるようになる。この段階ではほとんど認知機能を要することはなく、運動課題としての側面が強くなる。このように2×5課題は手続き記憶の獲得過程をよく再現していると考えられ、ひとつの課題の中で異なる学習の段階を観察することができる点が本行動課題の特徴である。それに加えて、実験者はほぼ無限に系列パターンを作成することが可能であるため、新しい手続き記憶を繰り返し学習することができる (Hikosaka et al. 1995)。またサルにおいて学習した系列の記憶が1か月に渡り保持されることが確認されており (Hikosaka et al. 1995)、既に学習した手続き記憶の遂行や、長期的な手続き記憶についても調べるのが可能である。ヒトに対する学習課題としてこれを拡張した2×10課題が開発されており (Hikosaka et al. 1996, Sskai et al. 1998, Sakai, Kitaguchi and Hikosaka 2003)、本研究ではこの2×10課題を用いた。

系列学習において、被検者が系列の存在を認識した状態で学習を行う場合を明示的系列学習、系列の存在を認識しない状態で学習する場合を暗示的系列学習と呼ぶが、それぞれ異なる脳部位が関与していると想定されている。Honda

らは、視覚運動系列学習課題のひとつである系列反応時間課題 (Serial reaction time task, SRTT) と positron emission tomography (PET) を用いて、明示的系列学習と暗示的系列学習に関連する脳部位の違いについて検討を行い (右手使用)、暗示的学習には一次感覚運動野 (primary sensorimotor cortex, SM1) が関連し、明示的学習時、正しい系列の習得には後部頭頂葉 (posterior parietal cortex, PPC)、楔前部、両側運動前野、特に左側の前補足運動野 (presupplementary motor area, pre-SMA)、左視床、右背外側前頭前野 (dorsolateral prefrontal cortex, DLPFC)、反応時間の短縮には前頭-頭頂ネットワークが関連し、明示的学習が完了した段階になると反応時間の短縮は一次感覚運動野と補足運動野後部 (supplementary motor area, SMA または SMA proper) が関連すると報告した (Honda et al. 1998.)。

ヒトにおいて pre-SMA、SMA proper は前頭葉背内側、下肢の一次運動野の前方に位置する (Picard & Strick 1996, 2001) (図 1a)。pre-SMA、SMA ともに上前頭回 (superior frontal gyrus) に位置し、pre-SMA が Brodmann 6aβ 野、SMA が Brodmann 6aα 野に相当するとされている (Nachev et al. 2008)。pre-SMA と SMA の境界、中心傍溝近傍に前頭眼野 (supplementary eye field, SEF) が存在している (Grosbras et al. 1999, Yamamoto et al. 2004)。SMA を電気刺激すると運動の誘発 (例: ゆっくりした姿勢変化)、運動の抑制 (発語の

停止)の両者が引き起こされうる (Freund 1996, Fried et al. 1991)。SMA の後方から前方に向かうほど、このような運動の誘発または抑制を起こすのに強い電流が必要となり、機能の差異があると考えられたことから、SMA の中でも前方の部分を pre-SMA、後方の部分を SMA proper または SMA と分けて呼ばれるようになった (Matsuzaka et al. 1992)。

サルにおける実験より pre-SMA および SMA はいずれも大脳基底核と密接な線維連絡を持つことが明らかとなっている (図 1b)。SMA・pre-SMA に対して淡蒼球内節 (internal segment of globus pallidus, GPi) より視床を介して大脳皮質に投射する神経線維は小脳から投射する線維の 3~4 倍あり、これは他の大脳運動皮質よりも多い。(Akkal, Dum and Strick 2007)。また pre-SMA・SMA・SEF はいずれも線条体に対して遠心性線維を有し (Inase et al. 1999, Parthasarathy et al. 1992)、それらの中には直接 GPi 投射するものと間接的に GPi に投射するものがある。これらの経路は大脳皮質-基底核ループ仮説 (Alexander et al. 1990, DeLong 1990) における興奮性細胞と抑制性細胞の組み合わせから、直接路の活動は大脳皮質を興奮させ、間接路の活動は大脳皮質を抑制するという拮抗的なバランスによって運動発現が適切に制御されるというものであるが、pre-SMA・SMA と大脳基底核の線維連絡はこの大脳皮質-基底核ループの直接路・間接路を満たしている。さらに近年では pre-SMA・SMA

から視床下核（subthalamic nucleus, STN）に直接投射する線維の存在が報告され、ハイパー直接路（hyperdirect pathway）と呼ばれている（Nambu et al. 1996）。この線維連絡は大脳皮質－基底核ループの中で起こっている活動に素早くブレーキをかけるような役割を果たすと考えられている（Frank et al. 2007）。

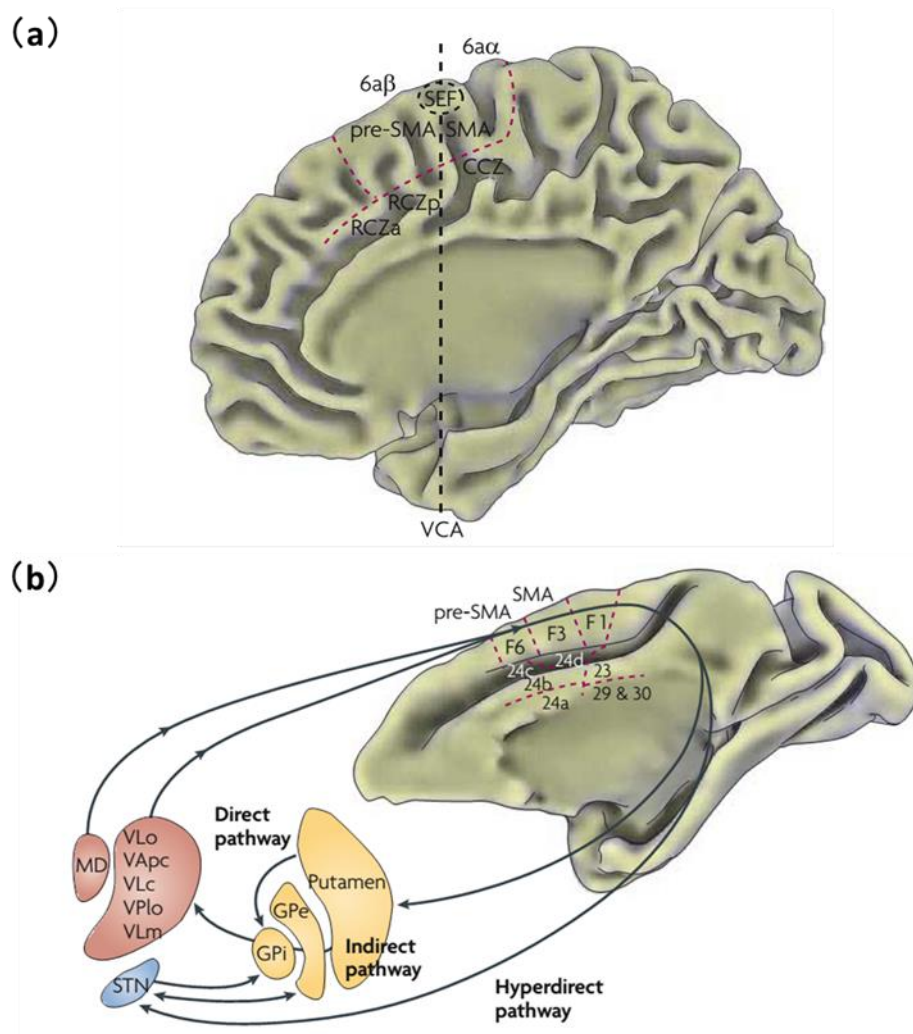


図 1. pre-SMA・SMA の解剖学的位置と繊維連絡 (Nachev, Kennard, Husain 2008 より引用)

上述のように pre-SMA・SMA は大脳基底核との密接な連絡を有していることから、大脳基底核機能障害による運動障害の病態への関与が推定される。近年、中脳黒質・線条体のドパミンニューロン変性が原因である Parkinson 病において、MRS で pre-SMA の機能低下を示唆する NAA/Cr 比の低下があり、それがパーキンソン病進行例における認知機能低下と関連していたという報告 (Camicioli et al. 2007, Martin et al. 2008) や、PET で SMA の活動低下がみられておりそれに関連して系列運動学習の障害されていることなどが報告されている (Jahanshahi et al. 1995)。これらの報告から pre-SMA および SMA の活動低下や、それに関連した学習障害が Parkinson 病の病態生理に関わっていることが示唆されているが、その詳細については不明な点が多い。2013 年に Vandebossche らは、Parkinson 病患者ではワーキングメモリーが関与する系列運動学習課題が障害され、その障害の程度が「すくみ足 (freezing of gait)」の程度と正の相関を認めたと報告した (Vandebossche et al. 2013)。すくみ足とは足を踏み出そうという意思があるにもかかわらず全く足が前にでない、または著しく歩幅が減少してしまう現象である。すくみ足は Parkinson 病患者において大きな障害となるほか、頻回の転倒の原因となるため重要な症状であるが、すくみ足発現のメカニズムについては不明なままであったが、Vandebossche らの報告により、運動学習障害との関係があると考えられ、

運動学習がすくみ足の治療として有用である可能性が提唱されている。また、薬物治療と並んで有効な Parkinson 病治療法である深部脳刺激療法 (Deep brain stimulation, DBS) を施行している患者において、DBS on 時に off 時と比較して系列学習が改善したとの報告もあり (中島ら. 2008, Mure et al. 2012)、系列学習は Parkinson 病において治療効果の指標にもなりうると考えられる。近年では、SMA に反復経頭蓋磁気刺激を一定期間に渡って与えたところ、運動症状の改善が認められた報告もある (Hamada et al. 2008b, Shirota et al. 2013)。しかし、その作用機序や最適な刺激条件についてはまだ十分に明らかとされておらず、健常人において SMA・pre-SMA の機能を調べること、また運動学習がどのような刺激でどのように修飾されるかを明らかとすることはパーキンソン病などの基底核障害による疾患の治療の解明において重要であると考えられる。

先行研究から pre-SMA は系列学習の初期段階において正しい系列の習得のような認知に関連する役割を果たし、SMA proper は学習した系列を遂行する、より純粋な運動に関連する役割を果たす可能性が推定された。しかしながら、PET や fMRI は学習課題中の脳全体としての応答を観察したものであり、特定の脳部位に直接介入した結果ではないという点に留意する必要がある。そこで今回、

ヒトの脳に非侵襲的に局所的な興奮性の変化をもたらし、特定の脳部位の機能を変化させることができる反復経頭蓋磁気刺激法（repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS）を用いて、pre-SMA・SMAを刺激することにより、視覚運動系列学習課題におけるpre-SMAおよびSMAの果たす機能について明らかにすることを目的として実験を行った。

経頭蓋磁気刺激（transcranial magnetic stimulation: TMS）は1985年に英国のBarkerらにより初めて報告された非侵襲的なヒト脳刺激法である（Barker, Jalinous and Freeston 1985）。TMSにおいては、急速に変化する電流をコイル内に発生させることにより誘導磁場の変化を解して脳内に誘導電流を惹起し、神経細胞を電氣的に刺激することができる（図 2）。従って、大脳を電気刺激するのと同様な効果を誘発できる。ただし、刺激の局在性に関しては十分とは言えない。しかし、経頭蓋的に電気刺激を大脳に行う場合と比較して、刺激に伴う疼痛が殆どないのが特徴である。8の字コイル（図 3）を用いることにより、局所的な刺激が可能となり、特定の脳部位の機能を調べるのが可能となった（Reis et al. 2008）。

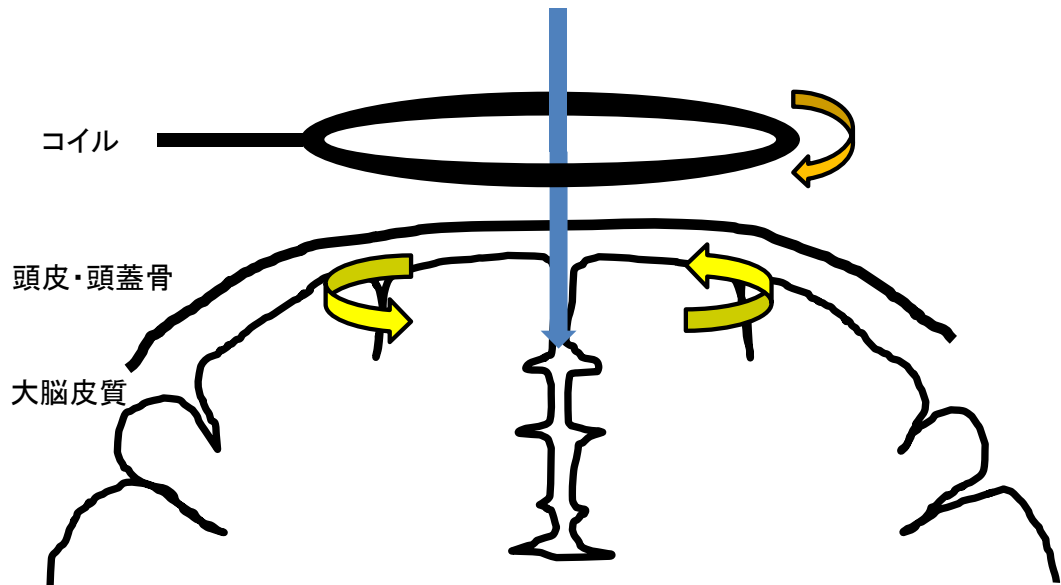


図 2. 経頭蓋磁気刺激 (TMS)

TMS においては頭皮上においたコイルにごく持続の短い電流 (⇨) が流れる。すると、電流に比例した誘導磁場 (⇩) が生じる。誘導磁場は疼痛を伴うことなく頭蓋内に及び、誘導磁場の急激な変化はその周囲に誘導電流 (⇨) を惹起する。このようにして非侵襲的に脳組織を刺激することができる。



図 3. 8 の字コイル

直径 8cm の円形コイルが左右に連結しており、2 つの円の接している部分の直下で刺激を行う。

この磁気刺激を一定時間反復して与えた後に単発の磁気刺激を与えると誘発される筋電図反応の大きさが変化することが知られている。たとえば 1Hz の頻度で磁気刺激を与える (rTMS) とその後の筋電図反応は小さくなり (抑制性効果)、5Hz の頻度で rTMS を与えるとその後の筋電図反応は大きくなる (促進性効果)。この筋電図の反応の大きさは大脳皮質興奮性の変化の指標となる (Cooke and Bliss 2006)。低頻度刺激で抑制性、高頻度刺激で促進性の効果を誘導し、効果が刺激頻度依存性である点、刺激後に長時間効果が持続する点、TMS で誘導される後効果が N-methyl-D-aspartate (NMDA) 依存性である点など、シナプス可塑性の基本性質を兼ね備えていることが示され、この興奮性の変化の基盤として長期増強 (Long-term potentiation, LTP) や長期抑圧 (Long-term depression, LTD) があると推定されている。

今回の実験系では反復磁気刺激法の一手法である 4 連発経頭蓋反復磁気刺激法 (Quadripulse stimulation, QPS) (Hamada et al. 2008a) を用いた。QPS は我々の研究室で開発した刺激法であり、单相性の電位変化を生じる磁気刺激装置 4 台から 4 連パルス刺激を 1 組のバーストとして 5 秒毎 30 分間にわたって 360 バースト、合計 1440 発の TMS パルスを与えることにより (図 4a)、脳に刺激終了後 60 分以上持続する可塑性様の効果を誘導することができる。4 連パルスの刺激間隔 (interstimulus interval; ISI) を変化させることで、ヒト一次

運動野において興奮性の増強・減弱の両者を誘導することが可能であり、ISI 5ms で最大の促進性効果、ISI 50ms で最大の抑制性効果が得られる。これらの効果は 60 分以上持続することが確認されている (図 4b)。また、QPS においてバーストの ISI を長いものから短いもの (1.5 ms, 5 ms, 10 ms, 30 ms, 50 ms, 100 ms, 1250 ms) に変化させていくと 50ms~1000ms の ISI の低頻度刺激では抑制性の効果をもたらすが、10ms 以下の高頻度刺激では促進性効果をもたらす。このように QPS で得られる興奮性変化は刺激頻度依存性であり、刺激頻度と興奮性変化の関係は S 字状となり、LTP/LTD 様可塑性誘導閾値が存在する (図 4c)。動物実験では刺激頻度と誘導された可塑性には非線形の関係性があり、シナプス学習則の一つである Bienenstock-Cooper-Munro (BCM) 理論で予測された LTP 誘導閾値が存在する。この結果から QPS の効果は細胞実験で得られるような可塑性と近いものであると考えられている。

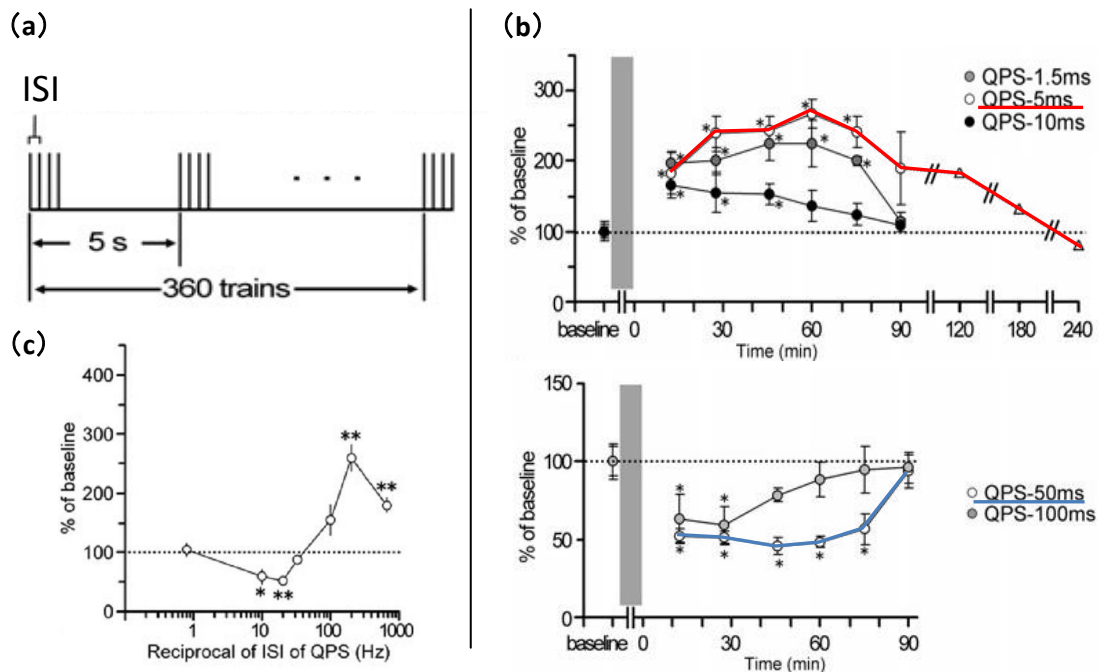


図 4. Quadripulse stimulation (QPS) のプロトコル (a) と MEP の経時的変化 (b)、刺激頻度と後反応の関係 (c) (Hamada et al. 2008a より改変)

(a) QPS は単相性の TMS パルスをある刺激間隔 (ISI) の 4 連発のバーストとして 5 秒間に 1 回繰り返す刺激法である。

(b) QPS による運動誘発電位 (MEP) の経時的変化を示す。短い ISI では促進性効果が得られ、ISI 5ms でその効果が最大となる。長い ISI では抑制性効果が得られ、ISI 50ms でその効果は最大となる。

(c) QPS の刺激頻度と後反応の関係を示す。縦軸に筋電図反応の変化 (QPS 後の筋電図の大きさ/QPS 前の筋電図の大きさ)、横軸に ISI の逆数すなわち刺激頻度 (Hz) とると、その関係性は S 字状の非線形であり、これはシナプス可塑性の理論的基盤である BCM カーブと類似している。

Hebb は「細胞 A の軸索が細胞 B の興奮を引き起こすのに十分なほど近接して存在し、その発火活動に、反復してまたは持続して関与する場合には、一方の、あるいは双方向の細胞に何らかの成長過程や代謝的な変化が生じ、細胞 B

を発火させる細胞群のひとつとして細胞 A の効率が增大する。」という学習のシナプス仮説を唱えた (Hebb 1949)。この仮説に基づくシナプス可塑性のルールは「Hebb 則」と呼ばれ、学習や記憶の神経学的基盤と考えられている。Bliss と Lomo はウサギの貫通線維路を単一パルスで刺激した際の海馬歯状回でのシナプス伝達応答を観察し、貫通線維路を高頻度に連続して刺激したときに、その刺激前後で単一パルスに対するシナプス応答が増大し、数日間にもわたって維持されることを報告した (Bliss and Lomo 1973, Bliss and Gardner-Medwin 1973)。この現象は長期増強 (LTP) と呼ばれ、Hebb により提唱された仮説とよく合致するものであった。当初、記憶と関わりの深い海馬で観察されたことから、LTP は記憶の基礎現象であると注目され、その後、LTP は大脳皮質、小脳、扁桃体などの様々な脳領域で見つかり、新皮質での学習には LTP が関与すると考えられている (Riout-Pedotti et al. 1998, Riout-Pedotti et al. 2000)。

Hebb 説は脳における一般的な学習メカニズムのひとつであると広く考えられている。LTP にはさまざまな分子機構が存在することがわかっており、脳領域や細胞種、生物の年齢によっても大きく異なるが、Hebb 則と特に関連深いのは NMDA 型グルタミン酸受容体依存的な LTP である。

1997 年に Markram らによってスパイクタイミング依存可塑性 (spike timing-dependent plasticity, STDP) という法則が報告された。これは前シナプ

ス細胞が後シナプス細胞に対して同時または少しだけ先行して発火した場合にのみ LTP が誘導され、それよりもずれて発火すると LTD が誘導されるというものである (Markram et al. 1997)。2 つの入力の時間差については動物種や脳部位によって差はあるものの、おおむね 20msec 以内とされる (Dan and Poo 2006)。

Paired associative stimulation (PAS) という刺激法では正中神経に対する電気刺激と TMS を刺激間隔 10~25ms で 90~200 ペア行くと、刺激間隔 10ms で約 30%の筋電図反応の振幅低下、25ms で筋電図反応の振幅を 50~70%増大する。この現象は 30 分以上持続し、体部位特異的 (正中神経支配領域) に誘導される。末梢体性感覚刺激の M1 錐体細胞への入力と TMS による経シナプ的な M1 錐体細胞への入力という 2 つの M1 入力の前後関係によって LTP/LTD を生じるという意味で、PAS による効果は STDP の一種である。また NMDA 受容体拮抗薬を服用するとこの効果は阻害され (Stefan et al. 2002)、PAS による興奮性変化は NMDA 受容体依存性であると考えられ、動物実験で報告されている STDP とよく似た効果を起こすことが可能である。

また、PAS による MI 可塑性と手指の反復運動によって生じる使用依存的可塑性の間には相互作用がある (Ziemann et al. 2004, Jung and Ziemann 2009)。この結果は日常生活での運動学習や患者での継続的なリハビリテーションの治

療効果と PAS によって誘導される人為的な可塑性が共通の脳内機構をもつことを示している。

ラットの視覚野のスライス実験や運動野の実験で、可塑性誘導刺激の前に薬剤により神経細胞を脱抑制させた際に、ある閾値以上に脱抑制しておくとも LTP が起こり、ある閾値以下に脱抑制すると同じ刺激であっても LTD が起こることが示されている。このように先行する神経活動の程度により、同一の刺激であっても反対向きの可塑性を起こす結果となり、この閾値依存性の可塑性誘導変化は「Gating」と呼ばれる (Ziemann and Siebner 2008)。動物実験では大脳皮質で LTP が誘導されにくく、通常 γ -アミノ酪酸 (γ -aminobutyric acid、GABA) 拮抗薬などの脱抑制が必要である。これにより皮質神経細胞が脱抑制され、LTP が誘導されやすくなると考えられる。Gating は LTD が先行した際にも起こりうるものである。Gating 理論に従うと、QPS により学習に先行して興奮性の増強を起こしておくとも、学習による LTP が起こりやすくなり、学習が促進されると考えられる。また興奮性の減弱が先行した際には、学習が阻害されると考えられる。

このような一種の positive-feedback 機構が存在すると、LTP や LTD は行き過ぎた興奮性の増大または減少を引き起こす可能性があり、神経活動を不安定

にさせると考えられるが、動物実験により行き過ぎた興奮性の変化を抑制し、神経活動を一定に保つような機構の存在が示されており、これは「恒常的メタ可塑性 (Homeostatic metaplasticity)」と呼ばれる。

恒常的メタ可塑性の最もよい実験系はプライミング刺激である (Huang et al. 1996, 図 5)。これは通常 LTP を誘導するテタヌス刺激に先行してそれ自体は LTP を誘導しない刺激 (プライミング) を行くと、テタヌス刺激では LTP が誘導されにくくなるというものである。

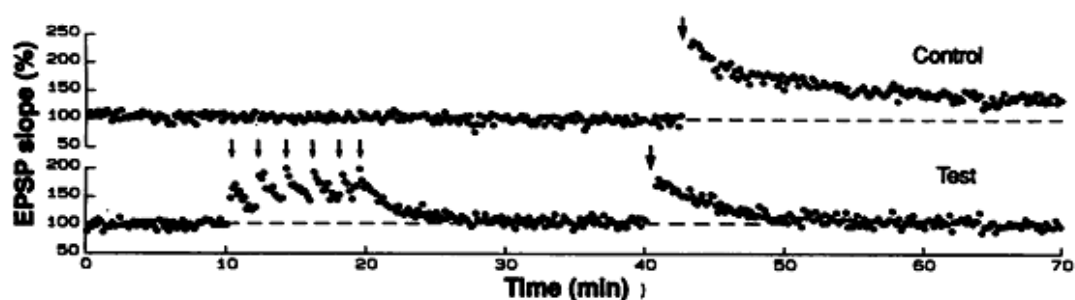


図 5. プライミング刺激による LTP への影響
(Huang et al. 1992 より一部改変)

縦軸は興奮性後シナプス電位 (EPSP)、横軸は時間を示す。コントロール経路 (上段) ではテタヌス刺激 (100Hz、0.5 秒、太い矢印) により LTP が誘導される。テスト経路 (下段) では長期効果を起こさない弱いプライミング刺激 (30Hz、0.15 秒、細い矢印) を先行させると同じテタヌス刺激を行っても LTP が誘導されない。

恒常的メタ可塑性を説明する理論的基盤はシナプス学習則のひとつである BCM 理論 (Bienenstock, Cooper and Munro 1982) である。これは BCM 理論の特徴である sliding modification threshold と恒常的メタ可塑性の類似性が高いためである。Modification threshold (θ_M) とは LTP と LTD の変換点を指し、これが先行するシナプス活動により左右方向に移動するため sliding θ_M と呼ばれる (図 6)。例えば、先行する後シナプス活動が高い場合、sliding θ_M が右にシフトする。その結果、通常であれば LTP を誘導する後シナプス活動でも LTP を誘導できなくなる。

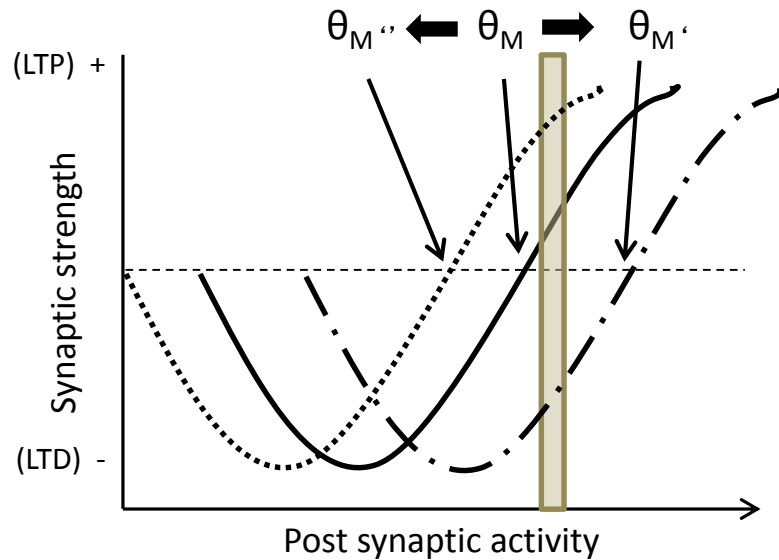


図 6. Bienenstock-Cooper-Munro (BCM) 理論
(Bienenstock, Cooper and Munro 1982 より改変)

後シナプス活動とシナプス結合の関係性。シナプスの入力による後シナプス活動が一定のレベルよりも活発であると LTP が誘導され、それ以下であると LTD が誘導される。結果としてシナプス活動とシナプス結合強度は非線形の S 字状カーブとなる (実線)。LTP/LTD の変換点は Modification threshold (θ_M) と呼ばれる。 θ_M は先行するシナプス活動により変動するため sliding θ_M と呼ばれる。例えば、先行する後シナプス活動が高い場合、 θ_M が $\theta_{M'}$ に移動しカーブが右側にシフトする (破線)。そのため本来は LTP を誘導する後シナプス活動 (■) であっても LTD が誘導される。逆に先行する後シナプス活動が低い場合、 θ_M が $\theta_{M''}$ に移動しカーブが左側にシフトする (点線)。そのため本来は弱い LTP を誘導する後シナプス活動 (■) であっても強い LTP が誘導される。

動物実験ではプライミング刺激により LTP を誘導できる刺激頻度が上昇すること、プライミング刺激により本来であれば LTP を誘導する刺激頻度で LTD が誘導されること、刺激反応曲線の LTP/LTD 変換点がシフトすることが示され、

この現象は sliding θ_M と合致している (Kirkwood 1996, Wang and Wagner 1999, Zhang et al. 2005)。動物実験でのメタ可塑性の例を図 7 に示す。

恒常的メタ可塑性に従うと、高頻度 QPS により学習前に誘導された興奮性の増強 (プライミング刺激) によって、その後のシナプス活動は興奮性を減弱する方向に向かいやすくなるため、大脳皮質の神経細胞に学習に伴って起こるはずの LTP が起こりにくくなり、結果として、学習が阻害されると考えられる。逆に学習に先行して興奮性を減弱させた場合には、学習が促進すると考えられる。

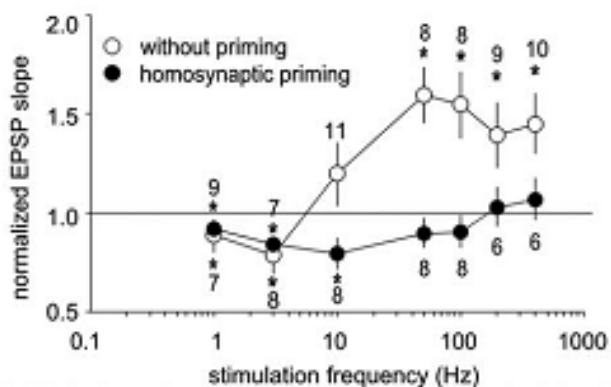


図 7. 動物実験におけるメタ可塑性 (Zhang et al. 2005 より引用)

動物実験におけるメタ可塑性の一例を例示する。コントロール (○) では刺激頻度依存性に EPSP が変化し、50Hz 以上の高頻度刺激では LTP が誘導され、1Hz、3Hz の低頻度刺激では LTD が誘導される。10Hz 前後に LTP/LTD の変換点が存在する。一方、プライミング刺激を先行させると (●)、LTP 閾値が上昇し、どの刺激頻度でも LTP が誘導されにくくなり曲線が右方にシフトしている。

ヒト大脳皮質に非侵襲的に可塑性を誘導できる方法として、QPSのほか、一定の間隔で単純な磁気刺激を繰り返し 1Hz 前後の低頻度刺激で抑制性効果、5Hz 前後の高頻度刺激で促通性効果をもたらす rTMS、50Hz の 3 発のバーストを 5Hz で繰り返す theta burst stimulation (TBS) (Huang et al. 2005)、正中神経に対する電気刺激と TMS を刺激感覚 10~25ms で 90~200 ペア行くと、刺激感覚 10ms で抑制性、25ms で促通性効果をもたらす paired associative stimulation (PAS) (Stefan et al. 2000, Wolters et al. 2003)、経頭蓋直流電気刺激 (transcranial direct current stimulation, tDCS) (Nitsche and Paulus 2001)、経頭蓋交流電気刺激 (transcranial alternating current stimulation, tACS) (Antal et al. 2008)、経頭蓋ランダムノイズ刺激 (transcranial high-frequency random noise stimulation, RNS) (Terney et al. 2008) などが報告されている。近年、これらを総称して非侵襲的脳刺激 (Non-invasive Brain Stimulation, NiBS) と呼ぶ。NiBS により運動学習の修飾を試みた先行研究では、“Gating 理論に合致する変化を示したもの” (Muellbacher et al. 2002)、“恒常的メタ可塑性に合致する両方向性の変化を示したもの” (Jung and Ziemann 2009)、“部分的に恒常的メタ可塑性に合致する変化を示したもの” (Kuo et al. 2008) が存在し、一定の見解を得ていない。学習に対する NiBS の効果は、被検者の脳の状態 (Healthy であるか疾患患者であるか)、刺激法の

違い、用いる学習課題の種類などにより変化する可能性もある。

我々の実験における作業仮説として、pre-SMA は新しい系列の習得に関連し、SMA は学習した系列の遂行に関与するのであれば、pre-SMA を刺激することにより 2×10 課題において新しい系列学習時のエラー回数が増加し、SMA を刺激することにより課題遂行のスピードが増加するというものである。

これまでヒト pre-SMA および SMA を刺激して行動課題に対する影響を検討した報告は少ない。そこで、2×10 課題と pre-SMA、SMA に対する QPS を組み合わせることで、ヒトにおいて運動学習における pre-SMA および SMA の機能を検討した。QPS を用いて学習に関連した脳部位に局所的な興奮性の変化を起こすことで、刺激部位に応じた異なる変化が観察されれば、学習関連部位であると考えることができる。

そこで、以下のような実験を行った。

実験 1 として、学習前に pre-SMA・SMA に QPS を与え、刺激条件間で学習の正確性や課題遂行の速度に違いがあるかを検討した。pre-SMA に対する刺激により特に学習早期の成績に変化が起こり、エラー回数に変化が認められる可能性がある。一方、SMA に対する刺激により学習後期の成績に変化が起こり、学習に伴う反応時間の短縮の変化が認められる可能性がある。実験 2 では、ある系列を十分に学習した後に pre-SMA・SMA に QPS を与え、刺激条件間で

系列遂行の正確性や速度に違いがあるかを検討した。

実験 3 では、系列反応時間課題 (serial reaction time task, SRTT) と呼ばれる異なる視覚運動系列学習課題を用いて、課題学習前に pre-SMA に QPS を与え、単純な視覚刺激に対応するボタン押しの正確性と暗示的な視覚運動系列学習に対する影響を検討した。

また各実験において促通性刺激 (ISI 5ms) と抑制性刺激 (ISI 50ms) の双方の刺激を使用してその効果について検討することで、QPS による学習促進または学習阻害のメカニズムについても考察した。

第 1 章

ヒト前補足運動野、補足運動野に対する QPS が
明示的視覚運動系列学習に与える影響

～2×10 課題を用いた検討～

1-1 系列習得に対する影響

1-1-1 序文

Hikosaka、Sakai らはヒトの視覚運動系列学習に関連する脳部位を 2×10 課題と fMRI を用いて検討した。これらの報告によれば 2×10 課題において、正しい系列動作を試行錯誤で習得している学習早期には pre-SMA、DLPFC が活動し、正しい系列を習得しミスが少なくなる段階以降の学習後期には楔前部 (precuneus)、頭頂間溝 (intraparietal sulcus) が活動し、学習関連部位と推定されている (Hikosaka et al. 1996, Sakai et al. 1998)。また学習を伴わない系列運動に関連して SMA が活動し、試行回数に相関して SMA の活動が増加する (Hikosaka et al. 1996)。これらの知見を背景として、本実験では 2×10 課題の学習前に QPS を用いてヒト pre-SMA・SMA に局所的な興奮性の変化を誘導し、課題の成績にどのような影響があるか検討を行った。

1-1-2 方法

倫理面への配慮

本研究開始前に東京大学大学院医学系研究科倫理委員会に申請を行った。研究課題名「不均一連発磁気刺激法を用いた、ヒト大脳皮質興奮性調節とその治療応用に関する研究」として申請し、審査番号 1435 - (1) として承認されてい

る。

健常被検者への実験開始前に、上記で承認された書式の説明用文書を用いて説明を行い、同意書へ署名していただくことで自由意思での参加を確認した。説明用文書にも記載の通り、不快感その他に伴う途中で中止が可能であり、中止による不利益がないことを事前に説明するとともに、磁気刺激中にも適宜、不快感などについて確認したが、全ての被検者で問題なく、最後まで遂行することができた。また、事後に特記すべき有害事象は認められなかった。

被検者

健常成人を対象に行った。被検者は全員右利きであり、エジンバラ利き手スコア(Oldfield 1971)によって確認を行った。pre-SMA 刺激群 16 名 [男性 14 名、女性 2 名、平均 39.4 歳 (23 - 51 歳)]、SMA 刺激群 16 名 (pre-SMA 刺激と同一の被験者群) を対象とした。2×10 課題の内容について深い知識を有する者は被験者から除外した。また実験においては強制力が働かない状態となるように十分な配慮を行った。

Quadripulse Stimulation (QPS)

今回の実験系では刺激法として反復磁気刺激法の一手法である 4 連発経頭蓋

反復磁気刺激法 (Quadripulse stimulation; QPS) (Hamada et al. 2008a) を用いた。QPS は我々の研究室で開発した刺激法であり、コンバインモジュール (Magstim 社) によって連結された単相性の電位変化を生じる磁気刺激装置 (Magstim 2002; Magstim 社) 4 台から 4 連パルス刺激を 1 組のバーストとして 5 秒毎 30 分間にわたって 360 バースト、合計 1440 発の TMS パルスを単一のコイルから与える刺激法である (図 4a, 図 9)。QPS により刺激終了後 60 分以上持続する脳可塑性様の効果を誘導することができる。4 連パルスの刺激間隔 (interstimulus interval; ISI) を変化させることで、ヒト一次運動野において興奮性の増強・減弱の両者を誘導することが可能である。ISI 5ms (QPS-5) において興奮性の増強が最も強く認められ、ISI 50ms (QPS-50) において興奮性の減弱が最も強く認められる (Hamada et al. 2008a, 図 4b) ことから、今回の実験においては QPS-5、QPS-50 を用いた。また対照刺激として刺激装置に繋いでいないコイルを頭皮上に置き、刺激装置に繋いだコイルから出る刺激音を聞かせる疑似刺激 (Sham 刺激) を行った。また先述のとおり QPS においては刺激頻度と興奮性の変化が S 字状の関係にあり (Hamada et al. 2008a, 図 4c)、これは動物実験で報告されているシナプス後膜の長期増強・長期抑圧と刺激頻度との関係と類似しており、QPS は可塑性類似の効果を誘導できると考えられる。



図 9. QPS に用いる装置

コンバインモジュール（中央）に単相性の電位変化を生じる磁気刺激装置 (Magstim 200²) 4 台が 4 台連結されている。

刺激部位（前補足運動野、補足運動野、後部頭頂葉）

前補足運動野・補足運動野刺激の部位

前補足運動野刺激（以下、pre-SMA 刺激と記載）として、先行研究にならい頭皮上の右前脛骨筋 hot spot の 6cm 前方に 8 の字コイルの中心を置いた (Hadland et al. 2001, Rushworth et al. 2002)。また補足運動野刺激（以下、SMA 刺激と記載）として頭皮上の右前脛骨筋 hot spot の 3cm 前方に 8 の字コイルの中心を置いた (Terao et al. 2001, Matsunaga et al. 2005, Hamada et al. 2009) (図 10)。

前脛骨筋の hot spot は、頭皮上で Cz を通る矢状線に沿って 1cm ずつコイルを動かし、前脛骨筋から測定される MEP の振幅が最大になる場所を探ること

で決定した。

pre-SMA 刺激と SMA 刺激の頭皮上位置の平均は、pre-SMA 刺激が Cz の 5-6cm 前方、SMA 刺激が Cz の 2-3cm 前方であり、先行研究と同様であった (Hikosaka et al. 1996, Lee et al. 1999, Matsunaga et al. 2005, Terao et al. 2001)。

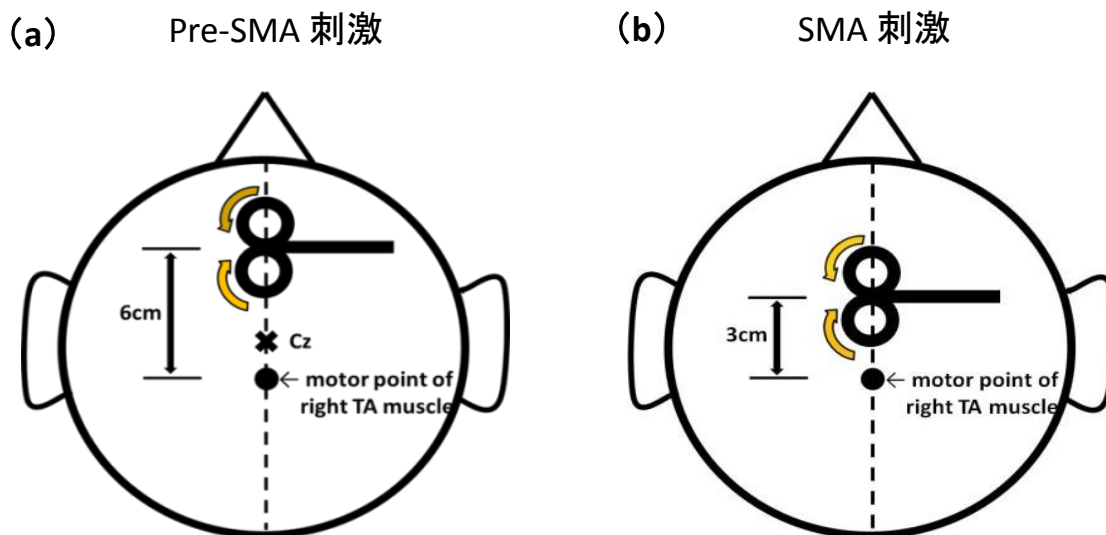


図 10. pre-SMA 刺激の頭皮上位置 (a) と SMA 刺激の頭皮上位置 (b)

(a) pre-SMA 刺激として、先行研究にならい頭皮上の右前脛骨筋 hot spot の 6cm 前方に 8 の字コイルの中心を置いた。

(b) SMA 刺激として、先行研究にならい頭皮上の右前脛骨筋 hot spot の 3cm 前方に 8 の字コイルの中心を置いた。

また、我々はニューロナビゲーションシステム (eXimia 2.2.0, Nextim Ltd., Helsinki, Finland) を使い、MRI 画像が入手できた 9 名の被検者において、算出された磁気刺激の最大電場 (EF_{max}) と各被検者の MRI 構造画像をマッチン

グし、頭皮上の刺激部位が pre-SMA 刺激・SMA 刺激として適切かどうか確認を行った。pre-SMA と SMA の境界として vertical commissure anterior (VCA) line が用いられるが (Matsuzaka et al. 1992, Vorobiev et al. 1998)、我々の検討では pre-SMA 刺激・SMA 刺激による EF_{max} の座標は VCA line から前後方向にほぼ等距離にあり、刺激部位として適切であると考えられた。1 被検者のナビゲーション結果を図 11 に例示する。

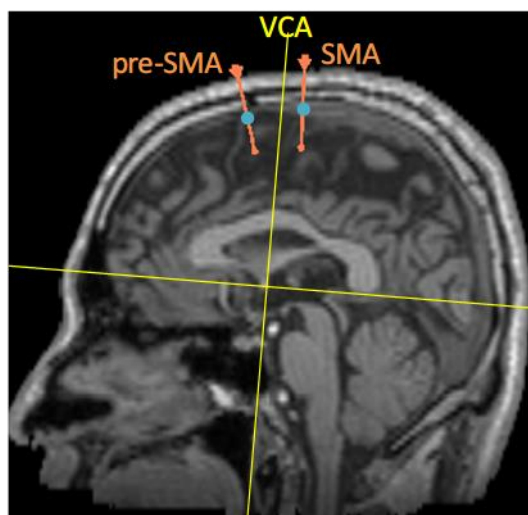


図 11. ニューロナビゲーション結果の 1 被検者例

ニューロナビゲーションシステムを用いて確認した pre-SMA 刺激・SMA 刺激による EF_{max} の 1 被検者例を例示する。オレンジ色で示された線(—)の上端が頭皮上に置かれた刺激コイルの位置であり、そこから下方向に延びるオレンジ色の線はコイルの刺激により誘導された磁界の方向を表す。水色の丸印(●)がそれぞれ計算された EF_{max} 座標である。横走る黄色線は前交連と後交連を結ぶ線 (AC-PC line)、前交連を通り AC-PC line に対して垂直な線を VCA line と呼び、pre-SMA と SMA の境界として用いられる。pre-SMA 刺激・SMA 刺激による EF_{max} は、VCA line を挟んで前後方向に等距離にあり、刺激部位として適切であると考えられた。

QPS の刺激強度・刺激時間

先行研究 (Hamada et al. 2008a) と同様に右第一背側骨間筋の運動時閾値の 90% の刺激強度で、30 分間の刺激を行った。

2×10 課題 (Hikosaka et al. 1995, Sakai, Kitaguchi and Hikosaka 2003)

学習課題として 2×10 課題を用いた。これは Hikosaka らが開発したサルに対する 2×5 課題、Sakai らによりヒトに対して 2×10 課題として報告されているものと同様の課題である。

4×4 に配置された 16 個の赤色 LED ボタンとホームキーからなる装置を使用した (メディカルトライシステム社, 図 12)。



図 12. 2×10 課題に用いたデバイス

4×4 に配置された 16 個の赤色 LED ボタンとホームキーからなる装置を使用した (メディカルトライシステム社)。装置のフットプリントは 116mm (横) × 180mm (縦) である。

被検者は静かな室内でこのデバイスの正面に座って課題を施行した。学習課題のシエーマを図 13 に示す。被検者は右手の示指のみを使用する。ホームキーを押すと課題が開始され、ボタンを離れた 500msec 後に 16 個の LED のうち 2 個の LED が同時に点灯する。これを「セット」と呼ぶ。被検者は決められた順番で 2 つのボタンを押さなければならず、試行錯誤により正しい押し方を習得する。10 個のセット(これを「ハイパーセット」と呼ぶ) が決められた順番で繰り返し提示される。被検者が正しい押し方をした場合には次のセットが提示され、間違った場合は一番はじめのセットに戻る。また被検者が 10 個のセットを全て正しく押した場合には、ハイパーセットを 1 回成功したとカウントし、またはじめのセットから順番に提示される。ハイパーセットを合計 20 回成功すると課題終了となる。被検者はできるだけ素早く、かつ正確にボタンを押すように指示される。

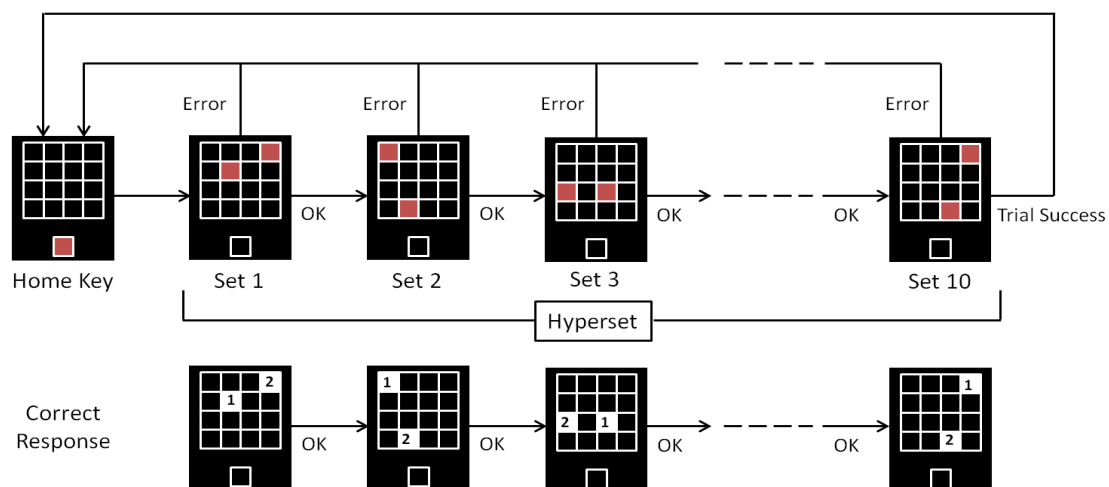


図 13. 2×10 課題のシエーマ

行動指標

2×10 課題の行動指標として、課題完遂（20回ハイパーセットを成功する）までの誤反応の総数を「エラー回数」として測定し、系列遂行の正確性の指標とした。また縦軸に成功したハイパーセットの数、横軸に試行数をプロットすることで学習曲線を作成し、「学習曲線における50%到達地点の回数」を学習の指標とした。

課題遂行速度の指標として「button-press reaction time (BPRT)」、
「movement time (MT)」、
「set completion time (SCT)」の3つを測定した。

BPRT・MT・SCTのシェーマを図14に示す。BPRTは視覚刺激が提示されてから1つ目のボタンを押すまでの時間であり、学習した系列の再生 (retrieval) や運動開始のリズム・タイミングといった要素を含んだ指標である (Nakamura et al. 1998)。MTは1つ目のボタンを離してから2つ目のボタンを押すまでの時間であり、純粋な運動の速さを表す指標である (Nakamura et al. 1998)。SCTは1つのセットを正解するのにかかる時間すなわち視覚刺激が提示されてから2つ目のボタンを離すまでの時間 (BPRT+MT+2つ目のボタンを押している時間) であり全般的な課題遂行の速さの指標となる。

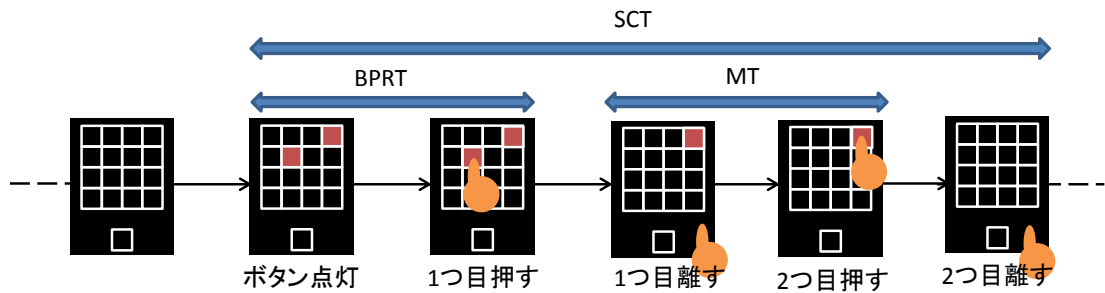


図 14. 課題遂行速度の指標のシェーマ

Button press reaction time (BPRT) はセットが提示されてから被検者が一つ目のボタンを押すまでの時間である。

Movement Time (MT) は被検者が一つ目のボタンを離してから二つ目のボタンを押すまでの時間である。

Set completion time (SCT) はセットが提示されてから被検者が二つ目のボタンを離すまでの時間である。

またハイパーセットを成功した試行において BPRT、MT、SCT について、 n 回目 ($1 \leq n \leq 20$) に成功した試行の平均 (例: $BPRT_n$) を 1 回目に成功した試行の平均 (例: $BPRT_1$) の比 ($BPRT_n / BPRT_1$) を求め、学習に応じた速度上昇 (以下、「加速」とする) の指標とした。これらの指標は全試行の平均と比較して、正しい系列を習得したのちの遂行速度のスピードアップの過程 (先述の運動学習における intermediate stage ~ advanced stage) について観察することができるものであると考えられる。

実験プロトコル

実験 1 のプロトコルを図 8 に示す。被検者の pre-SMA, SMA のいずれかに 30 分間の QPS を与える。QPS 施行後に 2×10 課題を施行し、刺激条件間で成績指標を比較した。クロスオーバーデザインで、被検者を各群にランダムに割り当てた。

反復磁気刺激の安全性ガイドライン (Rossi et al. 2009) によれば、1 日あたり 2000 発の QPS を与えても有害事象はなかったとされており、また一次運動野に対する QPS の効果は 60 分～120 分程度持続するとされていることから

(Hamada et al. 2008a)、1 週間のインターバルをおくことにより、刺激効果の持越しはないと考えられた。

また、一度学習した系列の記憶が 1 か月程度は保持されることがサルの実験において示されていることから (Hikosaka et al. 1995)、同一被検者に対しては、毎回、必ず異なるハイパーセットを割り当てた。また学習課題の難易度が変化することを避けるため、同一ボタンの連続、ハイパーセット内での同一セットの提示がないように系列を作成した。pre-SMA 刺激、SMA 刺激ともに同様のプロトコルで実験を行った。

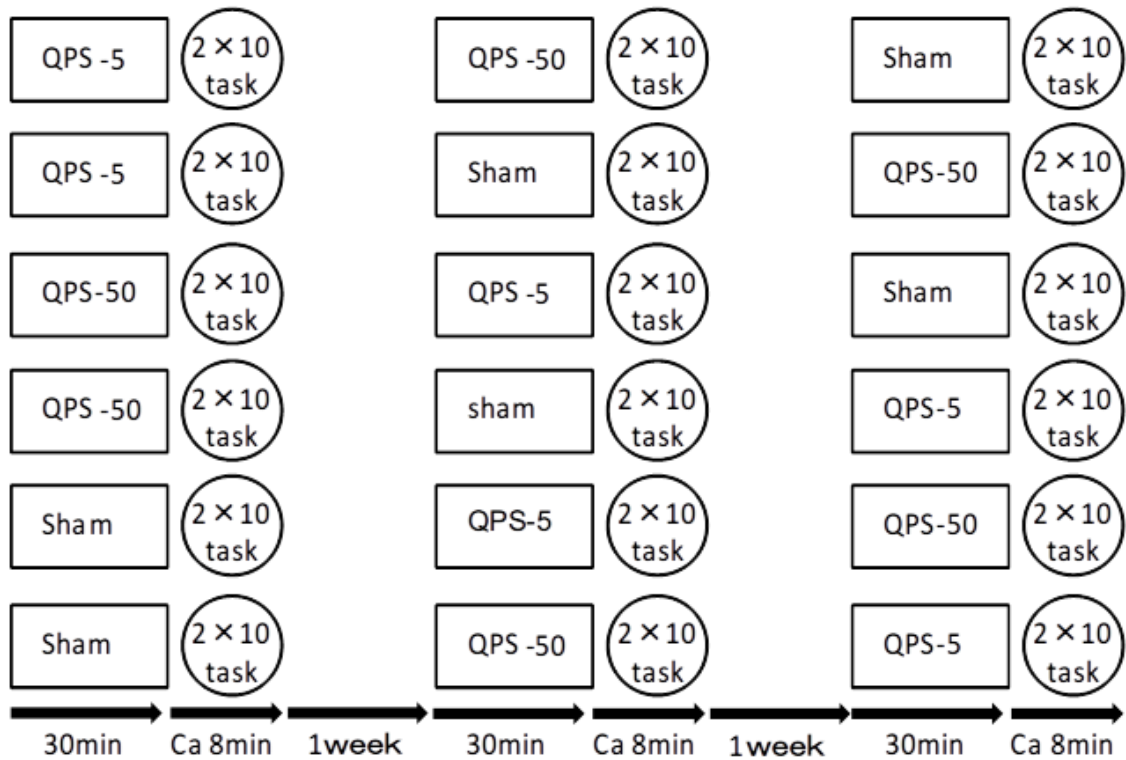


図 8. 実験 1 のプロトコル

データ分析

エラー回数、学習曲線における 50%到達地点の回数、BPRT の平均、MT の平均、SCT の平均に対する”刺激部位(pre-SMA、SMA)”および”QPS 条件(QPS-5、QPS-50、Sham)” の効果を反復測定のある二元配置分散分析 (two-way repeated-measures analysis of variance, two-way rmANOVA) を用いて検定を行った。また、学習に応じた加速の指標 (MT_n/MT_1 、 $BPRT_n/BPRT_1$ 、 $SCT_n/$

SCT₁) については、①pre-SMA 刺激、SMA 刺激の各々に対して反復測定のある二元配置分散分析 (two-way repeated-measures analysis of variance, two-way rmANOVA) を用いて、”QPS 条件 (QPS-5、QPS-50、Sham)”、”施行回数 n (n=2、3、・・・20)” の効果についての検定、②反復測定のある三元配置分散分析 (three-way repeated-measures analysis of variance, three-way rmANOVA) を用いて、”刺激部位 (pre-SMA、SMA)”、”QPS 条件 (QPS-5、QPS-50、Sham)”および”施行回数 n (n=2、3、・・・20)” の効果についての検定を行った。①で有意だが②で有意でない指標に関して、刺激部位の効果について検討するため、③19 回目および 20 回目のハイパーセット成功試行において全被験者 (pre-SMA 16 名、SMA16 名、合計 32 名) の Sham 刺激における BPRT19/ BPRT1、BPRT20/ BPRT1 の平均および標準誤差 (SE) から、BPRT19/ BPRT1、BPRT20/ BPRT1 の 95%信頼区間を求め、各被験者の 19 回目・20 回目の試行について BPRTn/ BPRT1 の値が 95%信頼区間の上限よりも大きいものを「加速が小さい」、95%信頼区間内におさまるものを「加速に変化なし」、95%信頼区間の上限よりも大きいものを「加速が大きい」として、刺激条件毎にその人数を求め、 χ^2 独立性の検定を行った。分散分析にて統計学的有意を示した要因について、Dunnett の方法を用いて *Post hoc* 比較を行った。

また 2×10 課題の遂行においては空間記憶も関与すると考えられるが、空間

記憶能力には男女差があることが報告されており (Silverman et al. 2007)、2 × 10 課題の成績に性差がある可能性がある。本実験の被験者群は男女比が男性に偏っていることから、男性被験者のみ (N = 14) での行動指標の検定も同様の方法で行うこととした。

統計学的分析には SPSS Statistics 17.0.0 (IBM 社, New York, NY) を使用した。全ての検定において統計学的有意水準を 0.05 とした。データは全て mean ± 1 SEM で記載した。

1-1-3 結果

2×10 課題を施行して得られる結果の 1 被検者例を図 15 に示す。先行研究と同様に試行錯誤を伴う正しい系列習得とそれに続く遂行速度の上昇がみられた。

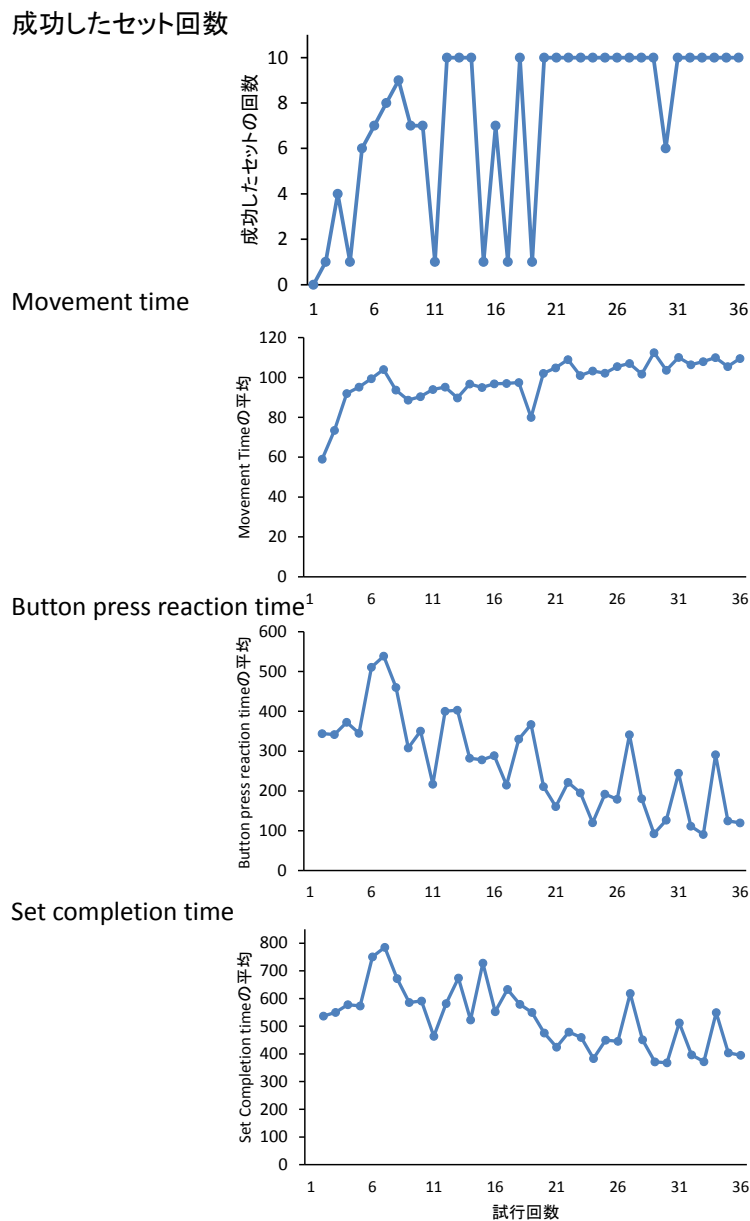


図 15. 2×10 課題の結果 (1 被検者例)

はじめは試行錯誤しながら正しい押し方を習得し、徐々に間違いが少なくなり、それに伴い遂行が速くなっていく様子が観察できる。

実験 1 で得られた各行動指標の平均を表 1 に示す。

以下、各行動指標について結果を記載する。

エラー回数

two-way rmANOVA の結果、エラー回数については、QPS 条件の主効果を認め、刺激部位と QPS 条件の交互作用を認めた[刺激部位 : $F(1, 15) = 0.440$, $p = 0.517$ 、QPS 条件 : $F(1.236, 18.540) = 5.757$, $p = 0.022$ 、刺激部位×QPS 条件 : $F(1.362, 20.424) = 4.160$, $p = 0.044$]。この結果より、*Post hoc* 比較として、Pre-SMA 刺激・SMA 刺激それぞれにおいて QPS 条件の効果を比較した。pre-SMA 刺激において、QPS-5 群で Sham 刺激群と比較してエラー回数が有意に大きかった ($p = 0.043$, Dunnett)。QPS-50 群では Sham 刺激群と比較してエラー回数が小さくなる傾向はあったが、統計学的に有意な差は認めなかった($p = 0.352$, Dunnett、図 16a)。一方、SMA 刺激においては、エラー回数について QPS 条件の有意な効果を認めなかった (QPS-5 群 : $p = 0.981$, QPS-50 群 : $p = 1.000$, Dunnett、図 16b)。

男性被検者のみで検定をおこなったが、two-way rmANOVA の結果、エラー回数については、QPS 条件の主効果を認め、刺激部位と QPS 条件の交互作用を認めた[刺激部位 : $F(1, 13) = 0.182$, $p = 0.677$ 、QPS 条件 : $F(1.238$,

16.097) = 6.450, $p = 0.017$ 、刺激部位×QPS 条件 : $F(1.392, 18.095) = 4.661$, $p = 0.034$]。 *Post hoc* 比較では pre-SMA 刺激において、QPS-5 群で Sham 刺激群と比較してエラー回数が有意に大きく ($p = 0.042$, Dunnett)、QPS-50 群では Sham 刺激群と比較してエラー回数に有意な差は認めなかった ($p = 0.334$, Dunnett)。一方、SMA 刺激においては、エラー回数について QPS 条件の有意な効果を認めなかった (QPS-5 群 vs Sham 刺激群 : $p = 0.963$, QPS-50 群 vs Sham 刺激群 : $p = 0.963$, Dunnett)。このように男性被検者のみでもエラー回数の結果に明らかな変化は認めなかった。

学習曲線における 50%到達地点の回数

今回の実験で得られた学習曲線を図 17a および b に示す。

two-way rmANOVA の結果、エラー回数については、QPS 条件の主効果を認め、刺激部位と QPS 条件の交互作用を認めた[刺激部位 : $F(1, 13) = 0.894$, $p = 0.362$ 、QPS 条件 : $F(2, 26) = 7.636$, $p = 0.002$ 、刺激部位×QPS 条件 : $F(2, 26) = 3.395$, $p = 0.049$]。この結果より、*Post hoc* 比較として、Pre-SMA 刺激・SMA 刺激それぞれにおいて QPS 条件の効果を比較した。pre-SMA 刺激において QPS-5 群において Sham 刺激群と比較して学習曲線における 50% 到達地点の回数が有意に大きく ($p = 0.048$, Dunnett、図 16a)、学習曲線は

QPS-5 群で右方にシフトしており、正しい系列の学習が阻害されたことが示唆された。QPS-50 群では Sham 刺激群と比較して、学習曲線における 50% 到達地点の回数に統計学的に有意な差は認めなかった($p = 0.438$, Dunnett)。

一方、SMA 刺激においては、学習曲線における 50%到達地点の回数について QPS-5 群と Sham 刺激群、および QPS-50 群と Sham 刺激群の間に有意な差を認めなかった (QPS-5 群 : $p = 0.652$, QPS-50 群 : $p = 0.859$, Dunnett、図 16b)。

男性被検者のみで検定をおこなったが、two-way rmANOVA の結果、学習曲線における 50%到達地点の回数については、QPS 条件の主効果を認め、刺激部位と QPS 条件の交互作用を認めた[刺激部位 : $F(1, 13) = 0.894$, $p = 0.362$ 、QPS 条件 : $F(1.659, 21.564) = 7.636$, $p = 0.005$ 、刺激部位 \times QPS 条件 : $F(2, 26) = 3.395$, $p = 0.049$]。Post hoc 比較では pre-SMA 刺激において、QPS-5 群で Sham 刺激群と比較して学習曲線における 50%到達地点の回数が有意に大きく ($p = 0.019$, Dunnett)、QPS-50 群では Sham 刺激群と比較して有意な差は認めなかった ($p = 0.524$, Dunnett)。一方、SMA 刺激においては、学習曲線における 50%到達地点の回数について QPS 条件の有意な効果を認めなかった (QPS-5 群 vs Sham 刺激群 : $p = 0.587$, QPS-50 群 vs Sham 刺激群 : $p = 0.936$, Dunnett)。このように男性被検者のみでも学習曲線における 50%到

達地点の回数の結果に明らかな変化は認めなかった。

遂行速度の指標（全試行の平均）

BPRT、MT、SCT の平均をそれぞれ図 18、図 19、図 20 に示す。

two-way rmANOVA の結果、BPRT の平均、MT の平均、SCT の平均いずれにおいても刺激部位の主効果、QPS 条件の主効果、刺激部位と QPS 条件の交互作用を認めなかった [BPRT の平均 刺激部位: $F(1, 15) = 2.873, p = 0.111$ 、QPS 条件: $F(2, 30) = 0.897, p = 0.418$ 、刺激部位×QPS 条件: $F(1.272, 19.082) = 1.342, p = 0.271$ 、MT の平均 刺激部位: $F(1, 15) = 0.522, p = 0.481$ 、QPS 条件: $F(2, 30) = 0.548, p = 0.584$ 、刺激部位×QPS 条件: $F(2, 30) = 0.812, p = 0.453$ 、SCT の平均 刺激部位: $F(1, 15) = 5.591, p = 0.052$ 、QPS 条件: $F(2, 30) = 0.833, p = 0.445$ 、刺激部位×QPS 条件: $F(1.206, 18.086) = 0.753, p = 0.421$]。この結果より、pre-SMA および SMA に対する QPS は遂行速度の平均には変化を与えないと考えられた。

男性被験者のみの検定でも、BPRT の平均、MT の平均、SCT の平均いずれにおいても刺激部位の主効果、QPS 条件の主効果、刺激部位と QPS 条件の交互作用を認めなかった [BPRT の平均 刺激部位: $F(1, 13) = 3.137, p = 0.100$ 、QPS

条件 : $F(2, 26) = 0.928, p = 0.409$ 、刺激部位×QPS 条件 : $F(1.345, 17.484) = 0.828, p = 0.409$ 、MT の平均 刺激部位 : $F(1, 13) = 0.287, p = 0.601$ 、QPS 条件 : $F(2, 26) = 0.880, p = 0.427$ 、刺激部位×QPS 条件 : $F(2, 26) = 0.761, p = 0.477$ 、SCT の平均 刺激部位 : $F(1, 13) = 5.086, p = 0.062$ 、QPS 条件 : $F(2, 26) = 1.019, p = 0.375$ 、刺激部位×QPS 条件 : $F(1.249, 16.235) = 0.562, p = 0.502$]。
このように男性被検者のみでも速度の指標の平均に明らかな変化は認めなかった。

加速の指標

加速の指標 (BPRT_n/ BPRT₁、MT_n/ MT₁、SCT_n/ SCT₁) をそれぞれ図 21、図 22、図 23 に示す。

以下、各加速の指標についての結果について記載する。

BPRT の加速

pre-SMA 刺激において、BPRT_n/ BPRT₁については two-way rmANOVA の結果、試行回数の有意な効果を認めたが [$F(18, 270) = 21.361, p < 0.001$]、QPS 条件の有意な効果は認めず [$F(2, 30) = 0.578, p = 0.567$]、QPS 条件と試行回数の上に交互作用を認めなかった [$F(36, 540) = 0.839, p = 0.583$]ことから、試行回数にかかわらず、QPS-5 群、QPS-50 群、Sham 刺激群の間で BPRT の加

速に差を認めなかったと考えられた。

一方、SMA 刺激において、BPRT_n/BPRT₁については、two-way rmANOVA の結果、試行回数の有意な効果を認め [$F(18, 270) = 21.198, p < 0.001$]、QPS 条件の有意な効果を認めたが [$F(2, 30) = 3.383, p = 0.047$]、QPS 条件と試行回数 数の間に交互作用を認めなかった [$F(36, 540) = 1.308, p = 0.258$]ことから、試 行回数によらず BPRT の加速に QPS 条件による有意な差を認めたと考えられた。

Post hoc 比較の結果、QPS-5 群で Sham 群と比較して有意に加速が小さく ($p = 0.001$, Dunnett)、QPS-50 群で Sham 群として有意に加速が大きかった ($p = 0.001$, Dunnett) (図 21b)。

しかしながら、刺激部位の影響がないかどうか本来であれば検証する必要が あり、”刺激部位 (pre-SMA、SMA)”、”QPS 条件 (QPS-5、QPS-50、Sham)” および ”施行回数 n (n=2、3、・・・20)” の効果について three-way rmANOVA を行った結果、試行回数の効果は有意であったが [$F(2.216, 33.239) = 26.126, p < 0.001$]、刺激部位および QPS 条件の主効果は認めず、刺激部位と QPS の交互 作用も認めなかった [刺激部位 : $F(1, 15) = 1.238, p = 0.283$ 、QPS 条件 : $F(2, 30) = 2.303, p = 0.117$ 、刺激部位×QPS 条件 : $F(1.248, 18.718) = 1.159, p = 0.310$ 、QPS 条件×試行回数 : $F(7.185, 107.772) = 1.153, p = 0.336$ 、刺激部位 ×QPS 条件×試行回数 : $F(7.063, 105.945) = 0.592, p = 0.763$]。データのばら

つきが大きいいため、three-way rmANOVA で QPS 条件の主効果および刺激部位と QPS 条件の交互作用が統計学的有意とならなかったものと考えられた。

そこで QPS による BPRT の加速の変化と刺激条件の関連について次の方法で検討することとした。19 回目および 20 回目のハイパーセット成功試行において全被験者 (pre-SMA 16 名、SMA16 名、合計 32 名) の Sham 刺激における BPRT₁₉/ BPRT₁、BPRT₂₀/ BPRT₁ の平均はそれぞれ 0.66、0.67、標準偏差 (SD) はそれぞれ 0.18、0.25、標準誤差 (SE) は $0.18/\text{SQRT}(32) = 0.03$ 、 $0.25/\text{SQRT}(32) = 0.04$ であった。このことから BPRT₁₉/ BPRT₁、BPRT₂₀/ BPRT₁ の 95%信頼区間はそれぞれ 0.60 – 0.73、0.58 - 0.76 となる。各被験者の 19 回目・20 回目の試行について BPRT_n/ BPRT₁ の値が 95%信頼区間の上限よりも大きいものを「加速が小さい」、95%信頼区間内におさまるものを「加速に変化なし」、95%信頼区間の上限よりも大きいものを「加速が大きい」として、刺激条件毎にその人数を求め、 χ^2 独立性の検定を行った。各刺激条件 16 名毎と被験者数が少なく、 $p = 0.069$ と有意な関連はなかったが、調整済み残差による頻度の差をみると、SMA に対する QPS-5 において加速が小さい被験者が多く (調整済み残差 +2.2)、SMA に対する QPS-50 において加速が大きい被験者が多い傾向があった (調整済み残差 +1.7)。調整済み残差の結果は、先に述べた two-way rmANOVA の結果と同様の傾向であり、SMA に対する QPS-5 は

BPRT の加速を小さくし、SMA に対する QPS-50 は BPRT の加速を大きくする効果があることが推測された。 χ^2 独立性の検定に用いた度数、および調整済み残差について、表 2 に示す。

男性被験者のみの検定においても、three-way rmANOVA で試行回数の効果は有意であったが [$F(2.141, 27.827) = 23.283, p < 0.001$]、刺激部位および QPS 条件の主効果は認めず、刺激部位と QPS の交互作用も認めなかった [刺激部位 : $F(1, 13) = 0.841, p = 0.376$ 、QPS 条件 : $F(2, 26) = 2.933, p = 0.071$ 、刺激部位 \times QPS 条件 : $F(1.264, 1.427) = 0.885, p = 0.385$ 、QPS 条件 \times 試行回数 : $F(6.317, 82.120) = 1.150, p = 0.341$ 、刺激部位 \times QPS 条件 \times 試行回数 : $F(6.966, 90.557) = 0.617, p = 0.740$]。男性被験者のみにおいても、BPRT の加速の結果に明らかな変化はないものと考えられた。

MT の加速

pre-SMA 刺激において、 MT_n/MT_1 については two-way rmANOVA の結果、試行回数の有意な効果は認めず [$F(18, 270) = 1.817, p = 0.139$]、QPS 条件による有意な効果も認めず [$F(2, 30) = 0.279, p = 0.759$]。QPS 条件と試行回数間に交互作用を認めなかった [$F(36, 540) = 1.304, p = 0.257$] (図 22a)。また SMA 刺激においても MT_n/MT_1 については、two-way rmANOVA の結果、試行回数

の有意な効果を認めず [$F(18, 270) = 1.495, p = 0.230$]、QPS 条件の有意な効果も認めず [$F(2, 30) = 0.944, p = 0.400$]、QPS 条件と試行回数間に交互作用を認めなかった [$F(36, 540) = 1.659, p = 0.109$] (図 22b)。pre-SMA 刺激・SMA 刺激のいずれにおいても試行回数を重ねることによる MT の加速は有意ではなく、QPS により MT の加速が変化することもなかったと考えられた。

また、“刺激部位 (pre-SMA、SMA)”、“QPS 条件 (QPS-5、QPS-50、Sham)” および “施行回数 n ($n=2, 3, \dots, 20$)” の効果について three-way rmANOVA を行った結果、刺激部位、QPS 条件および試行回数のいずれの主効果も認めず、交互作用も認めなかった [刺激部位 : $F(1, 15) = 0.096, p = 0.761$ 、QPS 条件 : $F(2, 30) = 0.688, p = 0.511$ 、試行回数 : $F(2.805, 42.069) = 1.862, p = 0.154$ 、刺激部位 \times QPS 条件 : $F(2, 30) = 0.651, p = 0.529$ 、刺激部位 \times 試行回数 : $F(5.283, 79.251) = 0.853, p = 0.522$ 、QPS 条件 \times 試行回数 : $F(7.566, 113.495) = 1.517, p = 0.163$ 、刺激部位 \times QPS 条件 \times 試行回数 : $F(7.495, 112.423) = 1.382, p = 0.216$]。

これらの結果より、pre-SMA および SMA に対する QPS は MT の加速に影響を与えないことが示唆された。

男性被験者のみの検定においても、three-way rmANOVA で刺激部位、QPS 条件および試行回数のいずれの主効果も認めず、交互作用も認めなかった

[刺激部位 : $F(1, 13) = 0.167, p = 0.690$ 、QPS 条件 : $F(1.535, 19.954) = 0.387, p = 0.630$ 、試行回数 : $F(18, 234) = 1.194, p = 0.267$ 、刺激部位×QPS 条件 : $F(1.652, 21.471) = 0.770, p = 0.452$ 、刺激部位×試行回数 : $F(18, 234) = 0.861, p = 0.626$ 、QPS 条件×試行回数 : $F(36, 468) = 1.398, p = 0.066$ 、刺激部位×QPS 条件×試行回数 : $F(36, 468) = 1.423, p = 0.056$]。男性被験者のみにおいても、MT の加速の結果に明らかな変化はないものと考えられた。

SCT の加速

pre-SMA 刺激において、SCT_n/ SCT₁については two-way rmANOVA の結果、試行回数との間に有意な効果を認めたが [$F(18, 270) = 25.535, p < 0.001$]、QPS 条件の有意な効果は認めず [$F(2, 30) = 0.399, p = 0.675$]、QPS 条件と試行回数の方に交互作用を認めなかった [$F(36, 540) = 0.844, p = 0.576$]ことから、試行回数によらず QPS-5 群、QPS-50 群、Sham 刺激群の間で SCT の加速に差を認めなかったと考えられた (図 23a)。

SMA 刺激においても、SCT_n/ SCT₁については、two-way rmANOVA の結果、試行回数の有意な効果を認めたが [$F(18, 270) = 24.123, p < 0.001$]、QPS 条件の有意な効果は認めず [$F(2, 30) = 2.814, p = 0.076$]。QPS と試行回数の方

に交互作用を認めなかった [$F(36, 540) = 1.243, p = 0.286$]。試行回数によらず SCT の加速に QPS 条件による差を認めないものと考えられた (図 23b)。

また、“刺激部位 (pre-SMA、SMA)”、“QPS 条件 (QPS-5、QPS-50、Sham)” および “施行回数 n ($n=2, 3, \dots, 20$)” の効果について three-way rmANOVA を行った結果、試行回数の効果は有意であったが [$F(2.332, 34.980) = 29.776, p < 0.001$]、刺激部位および QPS 条件の主効果は認めず、刺激部位と QPS の交互作用も認めなかった [刺激部位 : $F(1, 15) = 0.395, p = 0.539$ 、QPS 条件 : $F(2, 30) = 1.741, p = 0.193$ 、刺激部位 \times QPS 条件 : $F(1.352, 20.274) = 0.789, p = 0.422$ 、刺激部位 \times 試行回数 : $F(6.238, 93.575) = 0.934, p = 0.477$ 、QPS 条件 \times 試行回数 : $F(7.416, 111.247) = 1.298, p = 0.255$ 、刺激部位 \times QPS 条件 \times 試行回数 : $F(7.051, 105.762) = 0.586, p = 0.767$]。

これらの結果より、pre-SMA および SMA に対する QPS は SCT の加速に影響を与えないことが示唆された。

男性被験者のみの検定においても、three-way rmANOVA で試行回数の効果は有意であったが [$F(18, 234) = 25.576, p < 0.001$]、刺激部位および QPS 条件の主効果は認めず、交互作用も認めなかった [刺激部位 : $F(1, 13) = 0.224, p = 0.644$ 、QPS 条件 : $F(1.991, 25.879) = 2.081, p = 0.145$ 、刺激部位 \times QPS 条件 : $F(1.357, 17.635) = 0.788, p = 0.424$ 、刺激部位 \times 試行回数 : $F(18, 234) = 0.955,$

$p = 0.513$ 、QPS 条件×試行回数 : $F(36, 468) = 1.127$, $p = 0.285$ 、刺激部位×
 QPS 条件×試行回数 : $F(36, 468) = 0.575$, $p = 0.978$]。男性被験者のみにおいて
 ても、SCT の加速の結果に明らかな変化はないものと考えられた。

| (a) | エラー回数 | | |
|---------|----------|----------|----------|
| | QPS-5 | QPS-50 | Sham |
| pre-SMA | 24.8±2.7 | 14.5±1.5 | 18.1±1.8 |
| SMA | 18.7±1.6 | 18.2±2.9 | 18.4±1.7 |

| (b) | 50%到達地点の回数 | | |
|---------|------------|----------|----------|
| | QPS-5 | QPS-50 | Sham |
| pre-SMA | 30.9±1.9 | 22.6±1.5 | 25.3±1.9 |
| SMA | 26.4±1.3 | 23.6±1.6 | 24.6±1.8 |

| (c) | Button Press Reaction Time (ms) | | |
|---------|---------------------------------|------------|------------|
| | QPS-5 | QPS-50 | Sham |
| pre-SMA | 493.9±40.9 | 449.9±35.6 | 455.2±45.4 |
| SMA | 453.5±36.8 | 447.6±49.7 | 448.4±44.6 |

| (d) | Movement Time (ms) | | |
|---------|--------------------|------------|------------|
| | QPS-5 | QPS-50 | Sham |
| pre-SMA | 178.7±9.2 | 179.8±12.4 | 181.4±14.0 |
| SMA | 177.8±13.5 | 171.9±15.1 | 184.9±13.9 |

| (e) | Set Completion Time (ms) | | |
|---------|--------------------------|------------|------------|
| | QPS-5 | QPS-50 | Sham |
| pre-SMA | 808.9±46.4 | 771.7±46.7 | 779.6±54.2 |
| SMA | 766.8±43.4 | 747.9±56.5 | 773.5±53.3 |

表 1. 実験 1 における各行動指標の結果

各刺激部位、各 QPS 条件における行動指標の結果を示す。表記は平均±1SEM である。

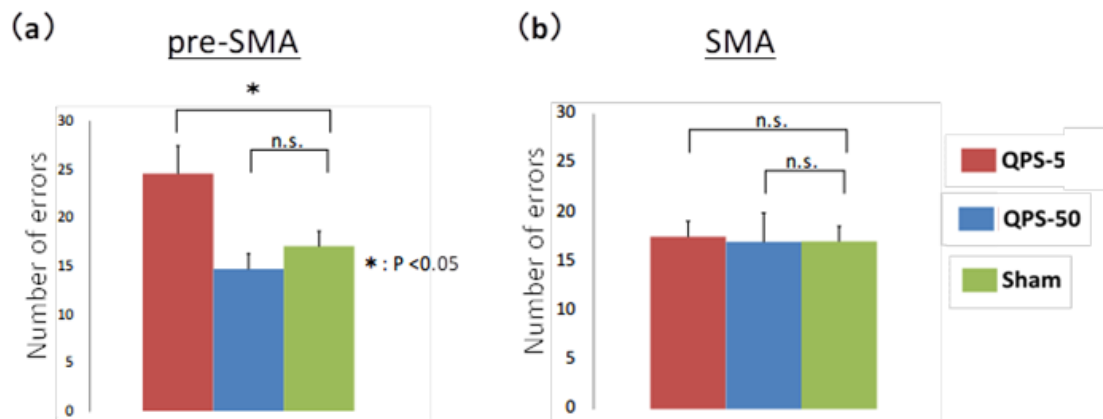


図 16. エラー回数に対する QPS の効果

(a) pre-SMA 刺激において、QPS-5 群(赤)において Sham 刺激群 (緑) と比較してエラー回数が有意に増加した。QPS-50 群 (青) においては Sham 刺激群と比較してエラー回数が減少する傾向はあったが、統計学的に有意ではなかった。

(b) SMA 刺激において QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺激群と比較してエラー回数に有意な差を認めなかった。

エラーバーは 1SEM を示す。 * : $p < 0.05$

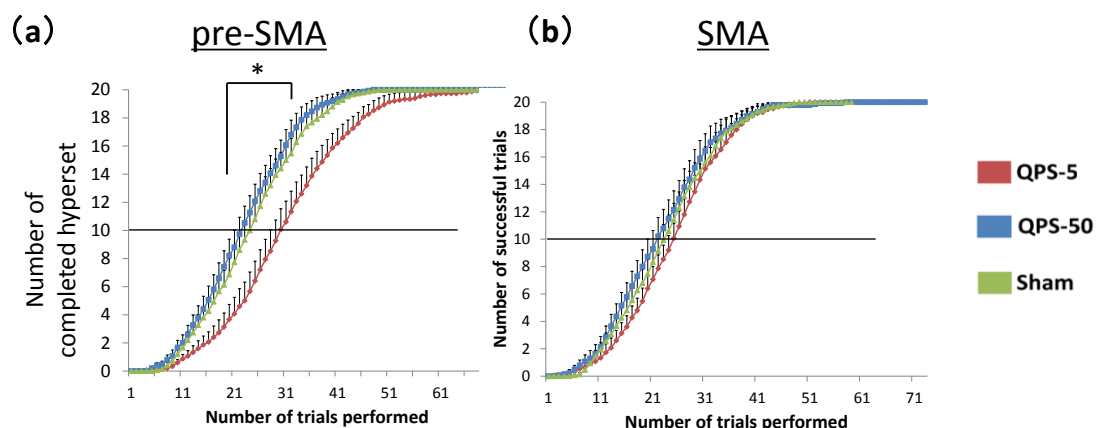


図 17. QPS による学習曲線の変化

縦軸に達成したハイパーセットの回数、横軸に全試行回数をプロットし学習曲線を作成した。50%到達地点を黒線で示す。エラーバーは 1SEM を示す。

* : $p < 0.05$

(a) pre-SMA 刺激において、QPS-5 群(赤)において Sham 刺激群 (緑) と比較して学習曲線が右方にシフトし、50%到達地点の回数が有意に増加した。QPS-50 群 (青) においては Sham 刺激群と比較して 50%到達地点の回数が減少する傾向はあったが、統計学的に有意ではなかった。

(b) SMA 刺激において QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺激群と比較して 50%到達地点の回数に有意な差を認めなかった。

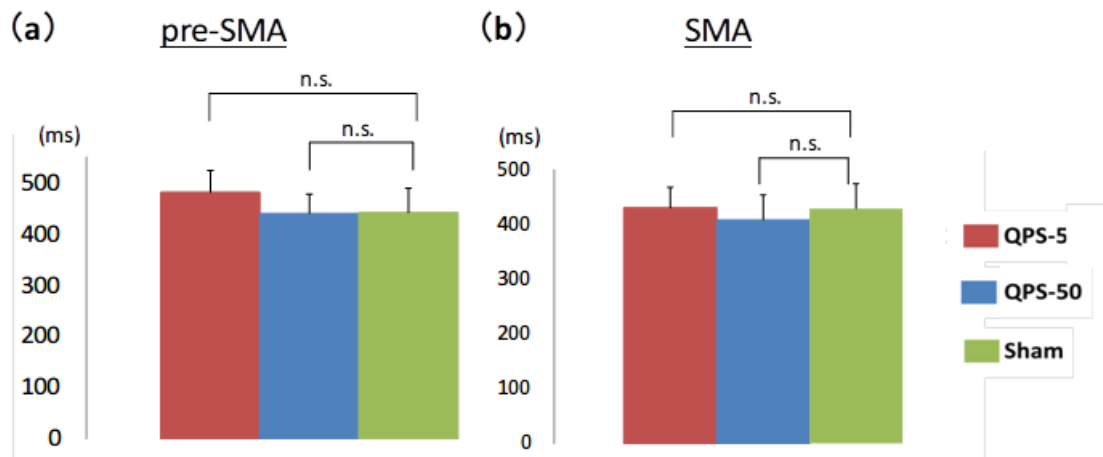


図 18. Button press reaction time (BPRT) の平均に対する QPS の効果
各刺激条件における 2×10 課題の全試行における BPRT の平均を示す。エラー
バーは 1SEM を示す。

(a) pre-SMA 刺激において QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺
激群と比較して BPRT の平均に有意な差を認めなかった。

(b) SMA 刺激において QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺
激群と比較して BPRT の平均に有意な差を認めなかった。

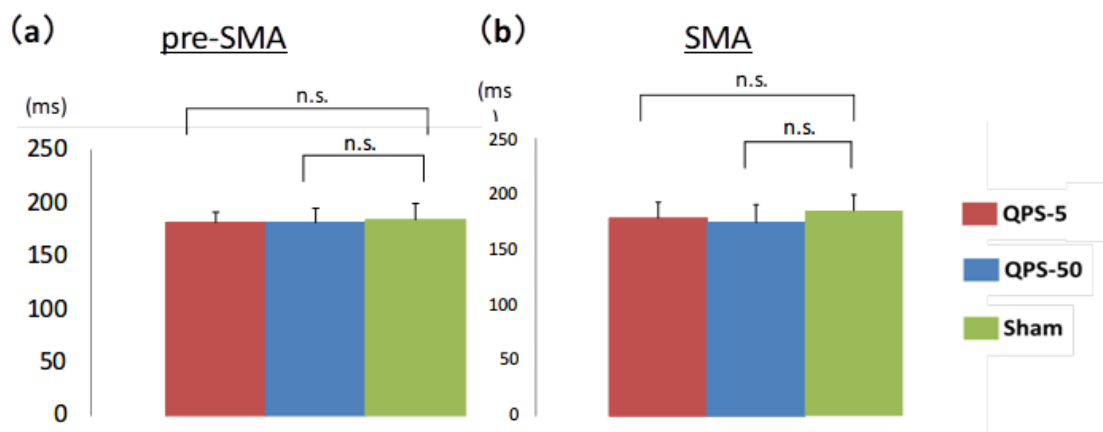


図 19. Movement time (MT) の平均に対する QPS の効果
各刺激条件における 2×10 課題の全試行における MT の平均を示す。エラー
バーは 1SEM を示す。

(a) pre-SMA 刺激において QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺
激群と比較して MT の平均に有意な差を認めなかった。(b) SMA 刺激にお
いて QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺激群と比較して MT
の平均に有意な差を認めなかった。

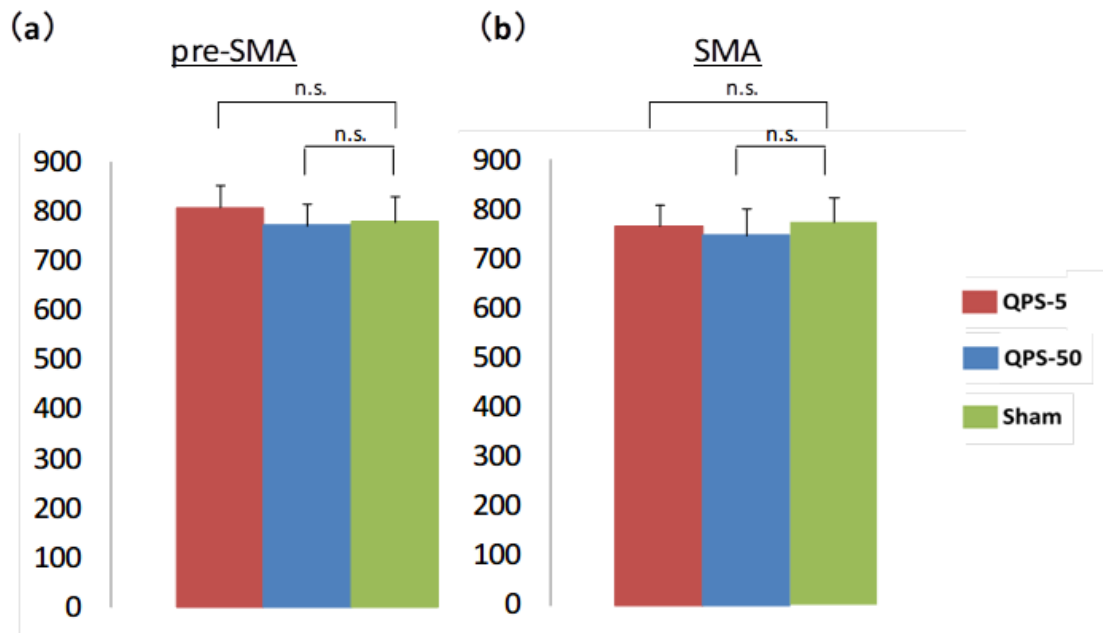


図 20. Set completion time (SCT) の平均に対する QPS の効果
各刺激条件における 2×10 課題の全試行における SCT の平均を示す。エラーバーは 1SEM を示す。

(a) pre-SMA 刺激において QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺激群と比較して SCT の平均に有意な差を認めなかった。

(b) SMA 刺激において QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺激群と比較して SCT の平均に有意な差を認めなかった。

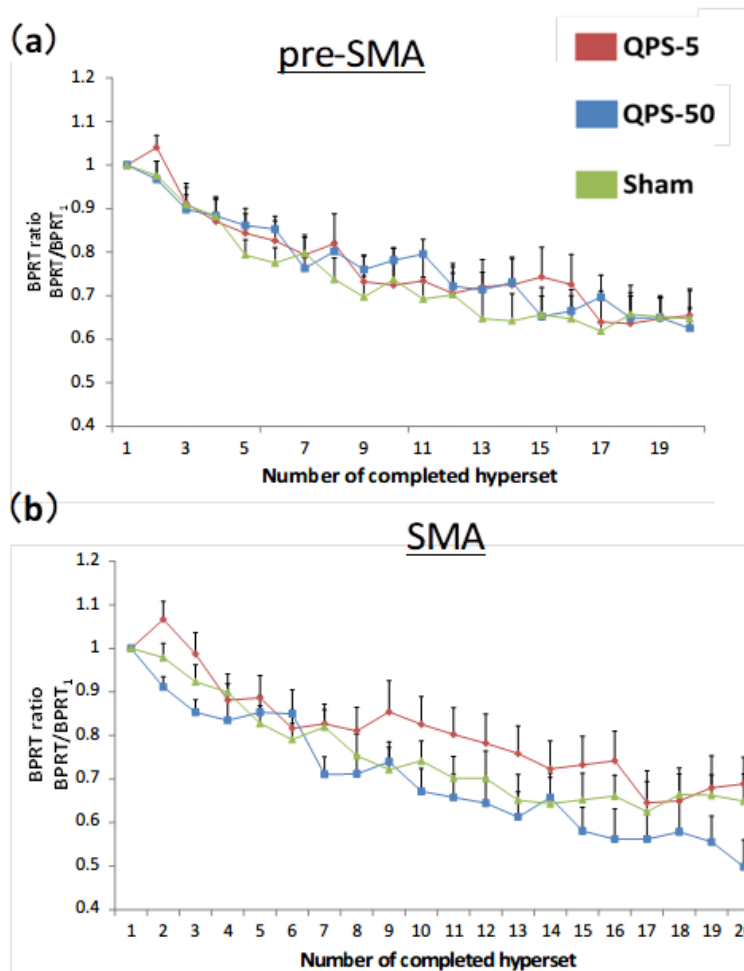


図 21. Button press reaction time (BPRT) の加速に対する QPS の効果

ハイパーセットを成功した試行において、 n 回目 ($1 \leq n \leq 20$) に成功した試行での BPRT の平均 (BPRT_n) と、1 回目に成功した試行の平均 (BPRT₁) の比 (BPRT_n/BPRT₁) を求めた。縦軸に BPRT_n/BPRT₁、横軸にハイパーセット成功回数をプロットした。エラーバーは 1SEM を示す。

(a) pre-SMA 刺激において QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺激群と比較して BPRT の加速に有意な差を認めなかった。

(b) SMA 刺激において QPS-5 群で Sham 刺激群と比較して BPRT の加速が有意に小さく、QPS-50 群において Sham 刺激群と比較して BPRT の加速が有意に大きかった。

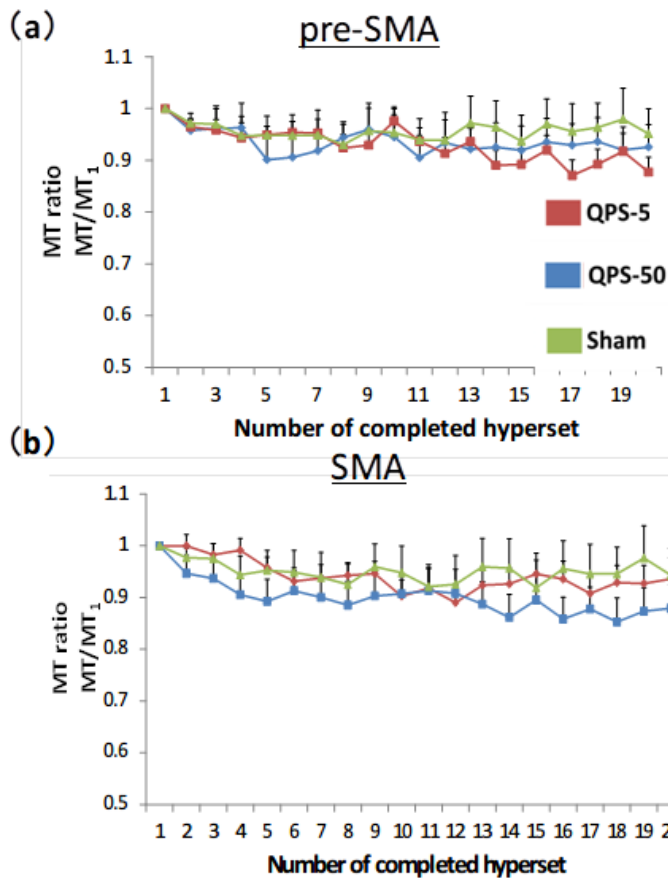


図 22. Movement time (MT) の加速に対する QPS の効果
ハイパーセットを成功した試行において、 n 回目 ($1 \leq n \leq 20$) に成功した試行での MT の平均 (MT_n) と、1 回目に成功した試行の平均 (MT_1) の比 (MT_n / MT_1) を求めた。縦軸に MT_n / MT_1 、横軸にハイパーセットを成功した回数をプロットした。エラーバーは 1SEM を示す。

(a) pre-SMA 刺激において QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺激群と比較して MT の加速に有意な差を認めなかった。

(b) SMA 刺激において QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺激群と比較して MT の加速に有意な差を認めなかった。

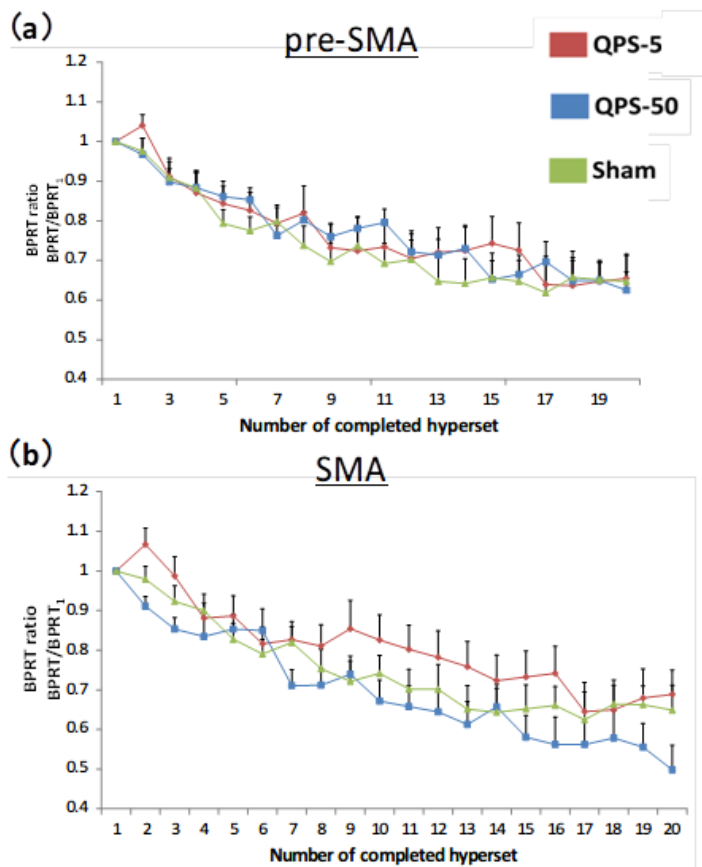


図 23. Set completion time (SCT) の加速に対する QPS の効果

ハイパーセットを成功した試行において、 n 回目 ($1 \leq n \leq 20$) に成功した試行での SCT の平均 (SCT_n) と、1 回目に成功した試行の平均 (SCT_1) の比 (SCT_n / SCT_1) を求めた。縦軸に SCT_n / SCT_1 、横軸にハイパーセットを成功した回数をプロットした。エラーバーは 1SEM を示す。

(a) pre-SMA 刺激において QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺激群と比較して SCT の加速に有意な差を認めなかった。

(b) SMA 刺激において SMA 刺激において QPS-5 群で Sham 刺激群と比較して SCT の加速が有意に小さく、QPS-50 群において Sham 刺激群と比較して SCT の加速が有意に大きかった。

| | 刺激条件 | | | | 合計 | |
|-----------|------------------|-------------------|--------------|---------------|------|-----|
| | pre-SMA QPS-5 | pre-SMA QPS-50 | SMA QPS-5 | SMA QPS-50 | | |
| 加速の変化 小さい | 度数 | 15 | 10 | 17 | 5 | 47 |
| | 調整済み残差 | 1.4 | -0.7 | 2.2 | -2.9 | |
| 変わらない | 度数 | 8 | 10 | 7 | 12 | 37 |
| | 調整済み残差 | -0.6 | 0.3 | -1.0 | 1.2 | |
| 大きい | 度数 | 9 | 12 | 8 | 15 | 44 |
| | 調整済み残差 | -0.9 | 0.4 | -1.3 | 1.7 | |
| 合計 | 度数 | 32 | 32 | 32 | 32 | 128 |

表 2. BPRT₁₉/BPRT₁、BPRT₂₀/BPRT₁ の変化
 (χ^2 独立性の検定に用いた度数、および調整済み残差)

19 回目および 20 回目のハイパーセット成功試行において全被験者の Sham 刺激における BPRT₁₉/BPRT₁、BPRT₂₀/BPRT₁ の 95%信頼区間を求め、各被験者の 19 回目・20 回目の試行について BPRT_n/BPRT₁ の値が 95%信頼区間の上限よりも大きいものを「加速が小さい」、95%信頼区間内におさまるものを「加速に変化なし」、95%信頼区間の上限よりも大きいものを「加速が大きい」として、刺激条件毎にその人数を求め、 χ^2 独立性の検定を行った。調整済み残差による頻度の差をみると、SMA に対する QPS-5 において加速が小さい被験者が多く、SMA に対する QPS-50 において加速が大きい被験者が多い傾向があった。

1-1-4 実験 1 に対する考察

pre-SMA に対する QPS-5 によって Sham 刺激と比較してエラー回数が有意に増加し、学習曲線における 50%到達地点の回数も有意に増加した。一方、pre-SMA に対する QPS-50 ではエラー回数が減少する傾向があったが、統計学的に有意な効果ではなかった。pre-SMA 刺激では遂行速度の指標や加速の指標には変化を認めなかった。

SMA 刺激ではエラー回数や 50%到達地点の回数には変化を認めなかったが、BPRT の加速が刺激部位毎の検定では Sham 刺激と比較して QPS-50 で大きく、QPS-5 で小さかった。また χ^2 検定でも QPS-50 で加速が大きく、QPS-5 で加速が小さい傾向があった。刺激部位の効果も含めた three-way rmANOVA では有意な効果を検出することはできなかったが、SMA に対する QPS により BPRT の加速に変化がもたらされるものと推測された。

pre-SMA 刺激と SMA 刺激の結果から、pre-SMA は正しい系列の習得に関与し、SMA は学習した系列の遂行において、特に加速する段階で関わることを示唆された。

pre-SMA 刺激で認めたエラー回数の変化は、正しい系列学習が阻害されたことによるものか、あるいは単純なボタン押し動作の精度低下によるものかという点は実験 1 の結果からは判断が困難であるため、十分に学習した系列の遂行

時のエラー回数の変化や他の系列運動学習課題でのエラー回数の変化についても検討する必要があると考えた。

SMA 刺激で BPRT・SCT の加速に変化を認め、SMA は既に学習した系列の遂行に関わることが示唆されたが、十分に学習した系列の遂行（運動学習における advanced stage）においても SMA が関わるのか、ある程度の時期（運動学習の intermediate stage）のみに関わるのか、という点は実験 1 では判断が困難であるため、十分に学習した系列の遂行に対する SMA 刺激の効果を検討する必要があると考えられた。

1-2 学習した系列の遂行に対する影響

1-2-1 序文

実験 1 では新しい系列の習得において、pre-SMA 刺激でエラー回数が増加し、SMA 刺激では学習に伴う BPRT の加速に変化が認められた。

サルの前-SMA・SMA を Muscimol で局所的に機能阻害した先行研究 (Nakamura et al. 1998) やヒトでの fMRI を用いた先行研究 (Hikosaka et al. 1996) の結果から、既に十分に学習した系列運動の遂行に SMA は関与し、pre-SMA は関与しないことが示唆されている。

そこで実験 2 では pre-SMA、SMA に対する QPS が既に十分に学習した系列運動の遂行に対して与える影響について検討した。

1-2-2 方法

倫理面への配慮

本研究開始前に東京大学大学院医学系研究科倫理委員会に申請を行った。研究課題名「不均一連発磁気刺激法を用いた、ヒト大脳皮質興奮性調節とその治療応用に関する研究」として申請し、審査番号 1435 - (1) として承認されている。

健常被検者への実験開始前に、上記で承認された書式の説明用文書を用い

て説明を行い、同意書へ署名していただくことで自由意思での参加を確認した。説明用文書にも記載の通り、不快感その他に伴う途中で中止が可能であり、中止による不利益がないことを事前に説明するとともに、磁気刺激中にも適宜、不快感などについて確認したが、全ての被検者で問題なく、最後まで遂行することができた。また、事後に特記すべき有害事象は認められなかった。

被検者

健常成人を対象に行った。pre-SMA 刺激 10 名（男性 7 名、女性 3 名、平均 38.3 歳、30 - 49 歳、このうち 2 名の男性被験者、2 名の女性被験者は実験 1 に参加）、SMA 刺激 11 名（男性 9 名、女性 2 名、平均 38.5 歳、30 - 45 歳このうち 4 名の男性被験者、1 名の女性被験者は実験 1 に参加）を対象とした。被検者は全員右利きであり、エジンバラ利き手スコア(Oldfield 1971) によって確認を行った。2×10 課題の内容について深い知識を有する者はあらかじめ被験者から除外した。また実験においては強制力が働かない状態となるように十分な配慮を行った。

実験プロトコル

実験 2 のプロトコルを図 24 に示す。実験 1 と同様の 2×10 課題を用いた。実験 2 では被検者にまず同じ系列 (ハイパーセット) の課題を 3 回完遂させた (被検者はあるハイパーセットを合計 60 回成功したことになる)。これにより被検者はこの系列を十分学習し、ほとんどミスすることなく系列を遂行することができる状態となる。3 回の課題施行後、pre-SMA または SMA に対して 30 分間の QPS を与えた。QPS 施行後に刺激前と同様の系列を再度施行し、刺激前 3 回目 (pre3) と刺激後 (post) における成績指標を QPS-5、QPS-50、Sham 刺激群で比較した。実験 1 と同様にクロスオーバーデザインで行い、実験毎に 1 週間の間隔を空けた。

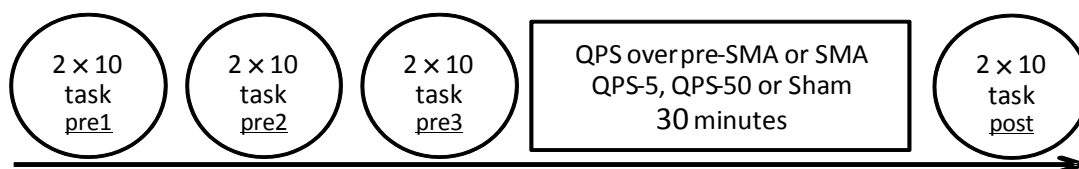


図 24. 実験 2 のプロトコル

被検者に同じ系列 (ハイパーセット) を 3 回 (合計 60 回ハイパーセットを成功させるまで) 繰り返し試行させた後に 3 条件 (QPS-5、QPS-50、Sham) のいずれかで 30 分間の QPS を pre-SMA・SMA のいずれかに与えた。QPS 後、刺激前と同様のハイパーセット 20 回完遂するまで試行した。

Quadripulse Stimulation (QPS)

実験 1 と同様の刺激強度、刺激時間で QPS を行った。

刺激部位

実験 1 と同様に pre-SMA 刺激として頭皮上の右前脛骨筋 hot spot の 6cm 前方、SMA 刺激として頭皮上の右前脛骨筋 hot spot の 3cm 前方に 8 の字コイルの中心を置き、刺激をおこなった。

成績指標

実験 2 では実験 1 と同様の 2×10 課題を用いた。系列遂行の正確性の変化の指標として、“刺激前 3 回目のエラー回数と刺激後のエラー回数の差分 ($\text{Error}_{\text{post}} - \text{Error}_{\text{pre3}}$)” を測定した。また、系列遂行速度の変化の指標として、“刺激後の BPRT (全施行の平均) と刺激前 3 回目の BPRT (全施行の平均) の比 ($\text{BPRT}_{\text{post}}/\text{BPRT}_{\text{pre3}}$)”、“刺激後の MT (全施行の平均) と刺激前 3 回目の MT (全施行の平均) の比 ($\text{MT}_{\text{post}}/\text{MT}_{\text{pre3}}$)” を測定した。

データ分析

エラー回数の差分 ($\text{Error}_{\text{post}} - \text{Error}_{\text{pre3}}$)、BPRT の比 ($\text{BPRT}_{\text{post}}/\text{BPRT}_{\text{pre3}}$)、

MT ($MT_{\text{post}}/MT_{\text{pre3}}$) の比に対する” 刺激部位 (pre-SMA, SMA)”、” QPS 条件 (QPS-5、QPS-50、Sham)” の効果を反復測定のある二元配置分散分析 (two-way repeated-measures analysis of variance, two-way rmANOVA) を用いて統計学的検定を行った。rmANOVA で統計学的有意を示した要因について、Dunnett の方法を用いて *Post hoc* 比較を行った。

また 2×10 課題の遂行においては空間記憶も関与すると考えられるが、空間記憶能力には男女差があることが報告されており (Silverman et al. 2007)、 2×10 課題の成績に性差がある可能性がある。本実験の被験者群は男女比が男性に偏っていることから、男性被験者のみでの行動指標の検定も同様の方法で行うこととした。

統計学的分析 には SPSS Statistics 17.0.0 (IBM 社, New York, NY) を使用した。全ての検定において統計学的有意水準を 0.05 とした。データは全て mean \pm 1 SEM で記載した。

1-2-3 結果

実験 2 で得られた行動指標の結果を表 3 に示した。

以下、各行動指標について結果を記載する。

エラー回数の差分 ($\text{Error}_{\text{post}} - \text{Error}_{\text{pre3}}$)

two-way rmANOVA の結果、エラー回数の差分には刺激部位の主効果、QPS 条件の主効果、刺激部位×QPS 条件の交互作用のいずれも認めなかった[刺激部位 : $F(1, 19) = 0.057, p = 0.814$ 、QPS 条件 : $F(2, 38) = 2.681, p = 0.081$ 、刺激部位×QPS 条件 : $F(2, 38) = 0.237, p = 0.790$]。pre-SMA 刺激、SMA 刺激のいずれにおいても、既に十分に学習した系列遂行の正確性に対する影響はないと考えられた。エラー回数の差分に対する QPS の効果を図 25 に示す。

男性被験者のみの検定においても、two-way rmANOVA の結果、大きな変化は認めなかった [刺激部位 : $F(1, 14) = 0.007, p = 0.933$ 、QPS 条件 : $F(1.738, 24.336) = 3.667, p = 0.046$ 、刺激部位×QPS 条件 : $F(1.738, 24.336) = 0.137, p = 0.845$]。

BPRT の比 ($\text{BPRT}_{\text{post}}/\text{BPRT}_{\text{pre3}}$)

two-way rmANOVA の結果、BPRT の比には刺激部位の主効果、QPS 条件の

主効果、刺激部位×QPS条件の交互作用のいずれも認めなかった[刺激部位： $F(1, 19) = 1.540, p = 0.230$ 、QPS条件： $F(1.508, 28.659) = 0.273, p = 0.763$ 、刺激部位×QPS条件： $F(1.508, 28.659) = 0.273, p = 0.700$]。pre-SMA刺激、SMA刺激のいずれにおいても、既に十分に学習した系列遂行のBPRTに対する影響はないと考えられた。BPRTの比に対するQPSの効果を図26aに示す。

男性被験者のみの検定においても、two-way rmANOVAの結果、大きな変化は認めなかった [刺激部位： $F(1, 14) = 1.040, p = 0.325$ 、QPS条件： $F(2, 28) = 2.867, p = 0.074$ 、刺激部位×QPS条件： $F(2, 28) = 0.194, p = 0.825$]。

MTの比 ($MT_{\text{post}}/MT_{\text{pre3}}$)

two-way rmANOVAの結果、MTの比には刺激部位の主効果、QPS条件の主効果、刺激部位×QPS条件の交互作用のいずれも認めなかった[刺激部位： $F(1, 19) = 1.245, p = 0.279$ 、QPS条件： $F(1.402, 26.641) = 0.193, p = 0.746$ 、刺激部位×QPS条件： $F(1.402, 26.641) = 0.793, p = 0.422$]。pre-SMA刺激、SMA刺激のいずれにおいても、既に十分に学習した系列遂行のMTに対する影響はないと考えられた。MTの比に対するQPSの効果を図26bに示す。

男性被験者のみの検定においても、two-way rmANOVAの結果、大きな変化は認めなかった [刺激部位： $F(1, 14) = 0.806, p = 0.384$ 、QPS条件： $F(2, 28) =$

0.154, $p = 0.858$ 、刺激部位 \times QPS 条件 : $F(2, 28) = 0.515, p = 0.603$]

| (a) | エラー回数の差分 | | |
|---------|------------------|-----------------|------------------|
| | QPS-5 | QPS-50 | Sham |
| pre-SMA | 0.20 \pm 0.65 | 1.20 \pm 0.90 | -0.90 \pm 1.08 |
| SMA | -0.73 \pm 0.68 | 1.45 \pm 0.48 | -0.09 \pm 0.89 |

| (b) | Button Press Reaction Timeの比 | | |
|---------|------------------------------|-----------------|-----------------|
| | QPS-5 | QPS-50 | Sham |
| pre-SMA | 0.97 \pm 0.09 | 0.83 \pm 0.06 | 1.00 \pm 0.04 |
| SMA | 1.06 \pm 0.2 | 0.88 \pm 0.05 | 0.99 \pm 0.04 |

| (c) | Movement Timeの比 | | |
|---------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | QPS-5 | QPS-50 | Sham |
| pre-SMA | 1.01 \pm 0.04 | 1.09 \pm 0.09 | 1.01 \pm 0.03 |
| SMA | 1.03 \pm 0.02 | 0.99 \pm 0.02 | 1.02 \pm 0.03 |

表 3. 実験 2 における各行動指標の結果

実験 2 における各行動指標の結果を示す。数値は全て平均 \pm 1SEM である。

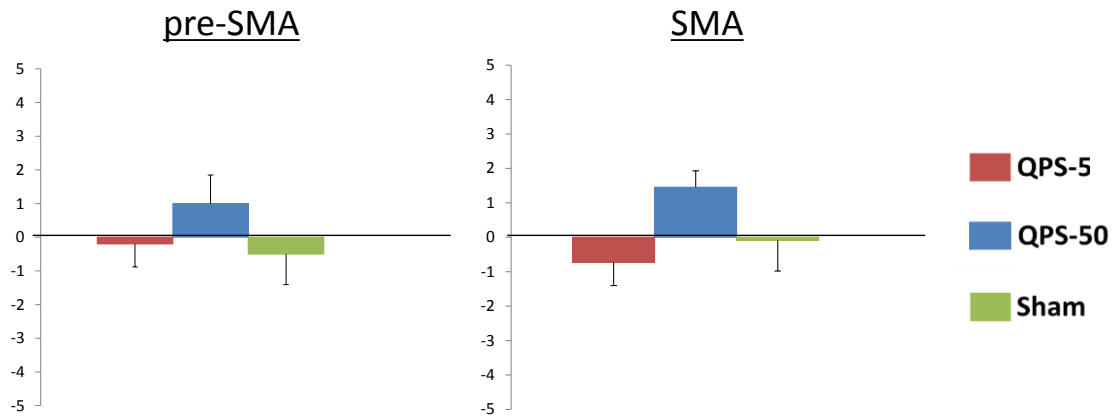
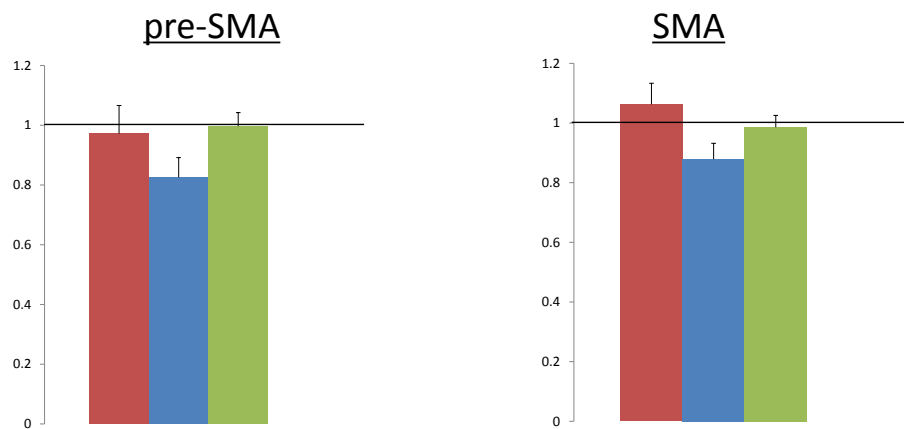


図 25. エラー回数の差分に対する QPS の効果

各刺激条件における刺激後のエラー回数 ($\text{Error}_{\text{post}}$) と刺激前 3 回目のエラー回数 ($\text{Error}_{\text{pre3}}$) の差分 ($\text{Error}_{\text{post}} - \text{Error}_{\text{pre3}}$) を示す。pre-SMA 刺激・SMA 刺激ともいずれの QPS 条件の間にも有意な差を認めなかった。エラーバーは 1SEM を示す。

(a)



(b)

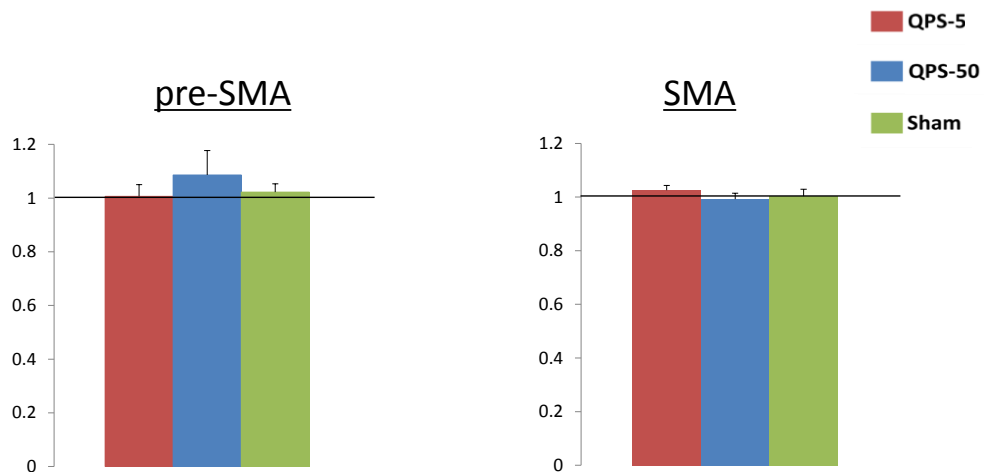


図 26. 速度指標の変化に対する QPS の効果

(a. BPRT の比 b. MT の比)

- (a) 各刺激条件における刺激後の Button Press Reaction Time ($BPRT_{post}$) と刺激前 3 回目の Button Press Reaction Time ($BPRT_{pre3}$) の比 ($BPRT_{post}/BPRT_{pre3}$) を示す。pre-SMA 刺激・SMA 刺激ともいずれの QPS 条件の間にも有意な差を認めなかった。
- (b) 各刺激条件における刺激後の Movement Time (MT_{post}) と刺激前 3 回目の Movement Time (MT_{pre3}) の比 (MT_{post}/MT_{pre3}) を示す。pre-SMA 刺激・SMA 刺激ともいずれの QPS 条件の間にも有意な差を認めなかった。

エラーバーは 1SEM を示す。

1-2-4 実験 2 に対する考察

実験 2 では既に学習した系列運動について、その遂行の正確性・速さに対して pre-SMA および SMA に対する QPS が与える影響を検討した。刺激直前の試行と刺激後の試行におけるエラー回数の差分については、pre-SMA 刺激・SMA 刺激ともにいずれの刺激条件においても有意な効果を認めなかった。また既に学習した系列運動遂行の速さに関しても、pre-SMA および SMA 刺激において、BPRT・MT については有意な変化を認めなかった。この結果からは pre-SMA、SMA ともに既に十分に学習した系列の遂行(先述の運動学習における advanced stage)において、正確性・速さの両面について関与しないことが示唆された。

第2章

ヒト前補足運動野に対する QPS が

暗示的視覚運動系列学習に与える影響

～系列反応時間課題 (Serial Reaction Time Task) を用いた検討～

2-1 序文

本実験では pre-SMA に対する QPS が系列反応時間課題 (Serial Reaction Time Task, SRTT) の成績に与える影響について検討した。

SRTT は視覚運動系列学習課題のひとつであるが、 2×10 課題と比較すると、被検者が課題遂行中途中までは系列学習を自覚しない (暗示的学習、implicit learning) という点、課題遂行中に学習を伴わない視覚刺激に対応したボタン押しの正確性、速度についても検討することができる点が実験 1 と異なる。

2-2 方法

倫理面への配慮

本研究開始前に東京大学大学院医学系研究科倫理委員会に申請を行った。研究課題名「不均一連発磁気刺激法を用いた、ヒト大脳皮質興奮性調節とその治療応用に関する研究」として申請し、審査番号 1435 - (1) として承認されている。

健常被検者への実験開始前に、上記で承認された書式の説明用文書を用いて説明を行い、同意書へ署名していただくことで自由意思での参加を確認した。説明用文書にも記載の通り、不快感その他に伴う途中での中止が可能であり、中止による不利益がないことを事前に説明するとともに、磁気刺激中にも適宜、

不快感などについて確認したが、全ての被検者で問題なく、最後まで遂行することができた。また、事後に特記すべき有害事象は認められなかった。

被検者

被検者

健常成人 6名（男性 5名 女性 1名平均 32.5 歳 28 – 45 歳、このうち 3名が実験 1 に参加、4名が実験 2 に参加した）。被検者は全員右利きであり、エジンバラ利き手スコア(Oldfield 1971) によって確認を行った。SRTT の内容について深い知識を有する者は被験者から除外した。また実験においては強制力が働かない状態となるように十分な配慮を行った。

実験プロトコル

実験 3 のプロトコルを図 27 に示す。まず行動課題の手法に慣れるため、実験開始前にランダムなボタン押しにて手技の練習を行った。pre-SMA に対して 30 分間の QPS を与えた後に SRTT を施行し、QPS-5、QPS-50、Sham 刺激群の成績を比較した。実験 1・2 と同様にクロスオーバーデザインで、実験毎の間隔は 1 週間とした。

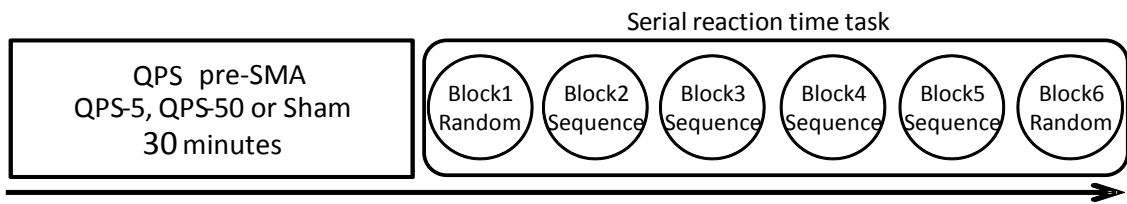


図 27. 実験 3 のプロトコル

Quadripulse Stimulation (QPS)

実験 1 と同様の QPS を同様の刺激強度、刺激時間で行った。

刺激部位

実験 1 と同様に pre-SMA 刺激として頭皮上の右前脛骨筋 hot spot の 6cm 前方に 8 の字コイルの中心を置き、刺激をおこなった。

系列反応時間課題 (Serial Reaction Time Task, SRTT)

(Nissen and Bullemer 1987, Willingham et al. 1989)

被験者は目の高さに置かれたモニタの前に座る。刺激の呈示位置を示す 4 つの印 (正方形) が横一列に呈示される。被験者は、その印の上のどこかに刺激呈示されると、それぞれの位置に対応するキー (PC キーボードの F5 - F8 キー) を右手の対応する指 (示指- F5、中指- F6、環指- F7、小指- F8) をできるだ

け素早くかつ正確に押して反応するように指示される。正しいボタンが押されると、呈示された視覚刺激は直ちに消え、500ms 後に次の視覚刺激が提示される。被検者が間違ったボタンを押した際には、視覚刺激が消えず、被検者は正しいボタンを押しなおす必要がある。

課題は 6 つのブロックからなり、1 つのブロックについて 120 試行が行われる。ブロック 1 とブロック 6 では視覚刺激がランダムに提示される（ただし同じ位置が続くことはなく、各ポジションの総提示回数は同じである）。

ブロック 2 から 5 では 12 個のポジションからなる系列（向かって左から 1、2、3、4 とすると、例えば 1-2-4-3-2-1-3-4-2-3-1-4）が繰り返し合計 10 回提示される。刺激が出現する位置に規則性があることは、被験者には知らせない。暗示的学習を確認するため、課題終了後に被検者に対して系列に気付いたかどうか問い、もし気付いた場合にはその系列を書き出してもらった。干渉効果を避けるため、6 つの系列を作成し、各被検者が 1 つの系列を 1 回のみ施行するように割り当てた。

行動指標

反応時間 (Response time : RT)

各試行において、視覚刺激が提示されてから被検者がボタンを押すまでの時

間を測定した。これを反応時間 (response time, RT) と呼ぶ。各ブロックにおける RT の平均を被検者毎に計算した。被検者が間違っただボタンを押した試行、200ms 未満または 3000ms 以上の試行、各被検者毎に平均+3 SD 超える試行は、RT の平均の算出から除外した。

エラー回数

各ブロックにおいて視覚刺激と異なるボタンを押した回数を測定した。ランダム提示のブロック (ブロック 1・ブロック 6) におけるエラー回数 (Error random)、系列提示のブロック (ブロック 2-5) におけるエラー回数 (Error sequence) を分けて記載した。

系列学習の程度 : **Block5** での反応時間(平均)と **Block6** での反応時間(平均)の差
(RT6 - RT5)

ある被検者の各ブロックでの反応時間の平均の推移を図 28 に示す。ランダム提示 (ブロック 1) の後、系列提示 (ブロック 2 から 5) の間、反応時間は単調に減少していくが、ブロック 6 でランダム提示に戻ると反応時間は大きく増加する。系列提示とランダム提示間の反応時間の差分の大きさが、SRTT での系列学習の指標として広く用いられている (Willingham et al. 1989)。本実験では、ブロック 5 での反応時間の平均とブロック 6 での反応時間の平均の差分を系列

学習の程度の指標として用いた。

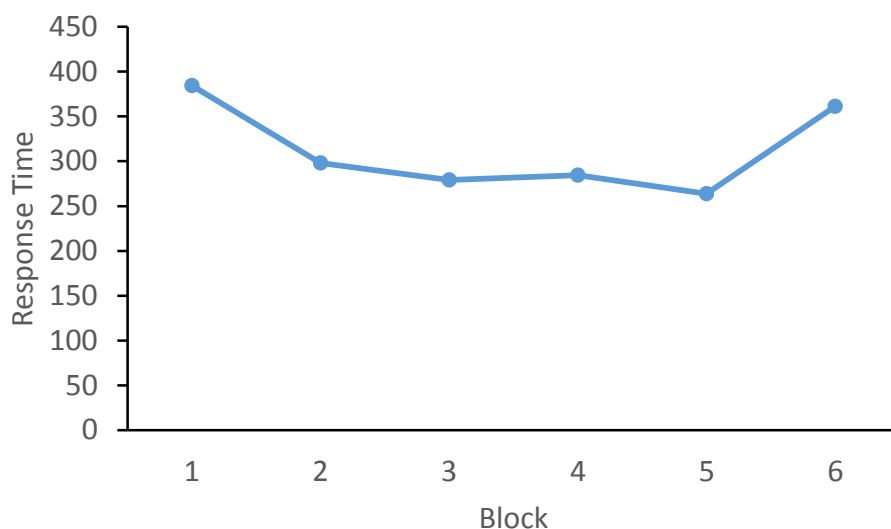


図 28. ある被検者の各ブロックでの反応時間の平均の推移

ある被検者の各ブロックでの反応時間の平均の推移を示す。縦軸が反応時間、横軸がブロックである。ランダム提示（ブロック 1）の後、系列提示（ブロック 2 から 5）の間、反応時間は単調に減少していくが、ブロック 6 でランダム提示に戻ると反応時間は大きく増加する。ブロック 5 と 6 の反応時間の平均の差を系列学習の指標として用いた。

データ分析

「反応時間」に対する”ブロック（ブロック 1-6）”、および”QPS 条件（QPS-5, QPS-50, Sham）”の効果を反復測定のある二元配置分散分析（two-way repeated-measures analysis of variance, two-way rmANOVA）を用いて検定を行った。「エラー回数」、「ブロック 5 での反応時間(平均)とブロック 6 での反応時間(平均)の差」に対する QPS の効果を反復測定のある一元配置分散分析（one-way repeated-measures analysis of variance, one-way rmANOVA）を

用いて検定を行った。rmANOVA で統計学的有意を示した要因について
Dunnett の方法を用いて *Post hoc* 比較を行った。

2-3 結果

1名の女性被験者で1回目の実験で系列の存在に気づき、実験後に系列を書き出すことができたため、その後の実験から除外した。またその実験についても、データ解析から除外した。また5名の被験者のうち4名で同一パターンの繰り返しを自覚したが、実験後に系列を書き出すことは不可能であったため、5名の結果についてデータ解析を行った。

実験3で得られた各行動指標の結果を表4および図29に示す。

反復測定のある二配置分散分析では反応時間と「Block (Block1-6)」の間に有意な効果を認めた [$F(5, 51) = 13.743, p < 0.001$]。Post hoc 比較では Block3 と Block6 ($p = 0.023$, Dunnett)、Block4 と Block6 ($p = 0.001$, Dunnett)、Block5 と Block6 ($p < 0.001$, Dunnett)の間で有意な差を認めた (図29a)。反応時間について「QPS (QPS-5, QPS-50, Sham)」の有意な効果を認めなかった [$F(2, 51) = 2.647, p = 0.081$]。Block と QPS の間に交互効果を認めなかった [$F(10, 51) = 0.242, p = 0.990$]。

学習の程度 (RT6-RT5) についても QPS による有意な効果を認めなかった [$F(2, 12) = 1.050, p = 0.389$] (図29b)。

エラー回数は Random block [$F(2, 12) = 0.509, p = 0.614$]、Sequence block [$F(2, 12) = 0.007, p = 0.993$] のいずれにおいても QPS の有意な効果を認めな

かった (図 29c、図 29d)。

| (a) | Response Time (ms) | | |
|---------|--------------------|--------------|--------------|
| | QPS-5 | QPS-50 | Sham |
| Block 1 | 436.4 ± 42.7 | 410.3 ± 36.1 | 423.8 ± 29.4 |
| Block 2 | 412.6 ± 41.6 | 386.5 ± 32.2 | 385.5 ± 35.2 |
| Block 3 | 381.1 ± 21.9 | 349.9 ± 33.9 | 369.1 ± 33.2 |
| Block 4 | 353.6 ± 20.7 | 343.1 ± 30.9 | 352.0 ± 33.1 |
| Block 5 | 355.5 ± 24.5 | 335.9 ± 27.3 | 330.2 ± 28.7 |
| Block 6 | 415.5 ± 25.4 | 394.9 ± 22.3 | 401.9 ± 27.2 |

| (b) | RT6-RT5 (ms) | | |
|-----|--------------|-------------|-------------|
| | QPS-5 | QPS-50 | Sham |
| | 60.0 ± 7.5 | 59.0 ± 10.4 | 66.4 ± 16.1 |

| (c) | エラー回数 | | |
|----------|------------|------------|------------|
| | QPS-5 | QPS-50 | Sham |
| Random | 15.2 ± 5.5 | 21.8 ± 7.1 | 14.8 ± 4.2 |
| Sequence | 19.0 ± 5.0 | 18.2 ± 4.8 | 18.6 ± 5.0 |

表 4. 実験 3 における各行動指標の結果

実験 2 における各行動指標の結果を示す。(a) 各ブロックにおける反応時間、(b) ブロック 5 での反応時間(平均)とブロック 6 での反応時間(平均)の差 (RT6 - RT5)、(c) ランダムブロックとシークエンスブロックにおけるエラー回数の平均。数値は全て平均±1SEM である。

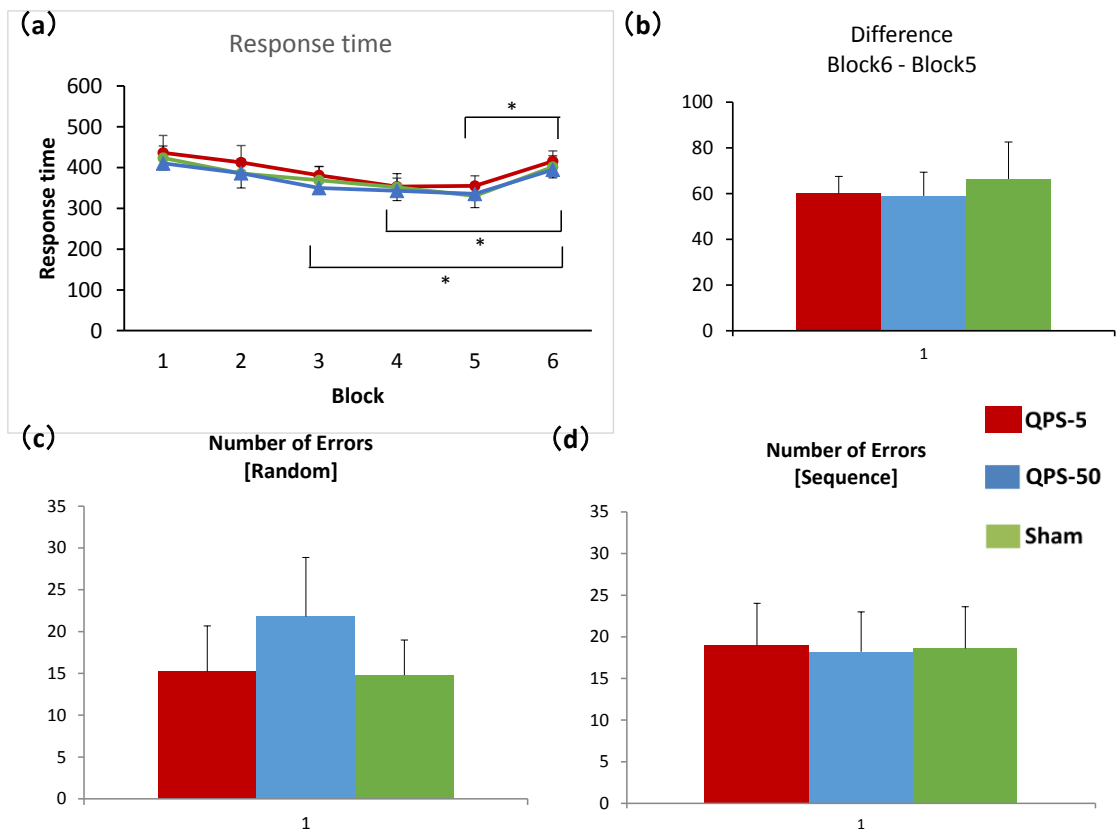


図 29. QPS が SRTT の成績に与える影響

(a) 縦軸は各ブロックにおける response time (RT) の平均、横軸はブロックである。ブロック 3 とブロック 6、ブロック 4 とブロック 6、ブロック 5 とブロック 6 の間にそれぞれ有意な差を認め、系列の学習効果が十分にあると考えられた。

(b) ブロック 5 とブロック 6 における RT の差の平均を学習効果の指標として用いた。これが大きいほど学習がうまくいったことを示す。QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺激群と比較して有意な差を認めず、SRTT の学習効果に対する pre-SMA 刺激の影響はないものと考えられた。

(c) ランダムブロックにおけるエラー回数を示す。QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺激群と比較してランダムブロックでのエラー回数に変化を認めなかった。ランダムブロックは純粋な 4-choice simple reaction task であり、pre-SMA に対する QPS により単純なボタン押し動作の精度に変化が起こらないことを示唆する。

(d) シークエンスブロックにおけるエラー回数を示す。QPS-5 群、QPS-50 群のいずれにおいても Sham 刺激群と比較してシークエンスブロックでのエラー回数に変化を認めなかった。

エラーバーは 1SEM を示す。* : $p < 0.05$

2-4 実験 3 に対する考察

pre-SMA に対する QPS は SRTT の成績に影響を与えなかった。ランダムブロックは純粹な 4-choice simple reaction task であり、ランダムブロックにおいてエラー回数に変化がなかったことから、pre-SMA に対する QPS でボタン押し動作の精度自体が低下することはないものと考えられた。また系列の学習効果（ブロック 5 とブロック 6 の反応時間の差）にも影響がなかったこと、シーケンスブロックにおけるエラー回数に変化がなかったことから、pre-SMA に対する QPS は SRTT における暗示的な系列学習に影響を及ぼさないと考えられた。

ただし、実験 3 は被験者数が実験 1 と比べて少なく、この被験者数の差が結果に影響している可能性が除外できない。この点は結果の解釈において留意する必要がある。

全体を通しての考察

実験 1・実験 2 の結果を表 5 にまとめる。

| | pre-SMA | SMA | |
|--|---------|-----|---------|
| Error (2 × 10 new) | ○ | × | ○: 影響あり |
| Error (2 × 10 learned) | × | × | |
| BPRT mean (2 × 10 new) | × | × | ×: 影響なし |
| BPRT mean (2 × 10 learned) | × | × | |
| MT mean (2 × 10 new) | × | × | —: 未観察 |
| MT mean (2 × 10 learned) | × | × | |
| SCT mean (2 × 10 new) | × | × | |
| SCT mean (2 × 10 learned) | × | × | |
| BPRT _n /BPRT ₁ (2 × 10 new) | × | ○ | |
| MT _n /MT ₁ (2 × 10 new) | × | × | |
| SCT _n /SCT ₁ (2 × 10 new) | × | ○ | |
| Error (SRTT random) | × | — | |
| Error (SRTT sequence) | × | — | |
| RTs (SRTT sequence) | × | — | |

表 5. 実験 1・実験 2 の結果まとめ

実験 1・2 の結果、pre-SMA に対する QPS によって、新たな系列の学習においてエラー回数が増加したが、課題全体を通じての平均的な遂行速度には変化を認めず、学習に伴う遂行速度の上昇にも変化を認めなかった。一方、SMA に

対する QPS では新たな系列の学習においてエラー回数および課題全体を通じての平均的な遂行速度には変化を認めなかったが、学習に伴う BPRT の加速、SCT の加速に変化を認めた。SCT の加速については、学習に伴う MT の加速に変化を認めなかったことから、主に BPRT の変化による影響と考えられる。

既に学習した系列遂行において、pre-SMA に対する QPS、SMA に対する QPS はエラー回数・課題遂行速度のいずれにも影響しなかった。

また pre-SMA に対する QPS は系列反応時間課題における系列学習の程度、ランダムブロックでのエラー回数、シーケンスブロックでのエラー回数のいずれにも影響しなかった。

pre-SMA の機能

新しい系列学習におけるエラー回数の増加から、pre-SMA は視覚運動系列学習において正しい系列の習得に関与していることが示唆された。この結果は、pre-SMA は既に学習した系列の遂行時ではなく、新しい系列の学習の際に活動するという 2×10 課題を用いた先行研究 (Hikosaka et al. 1996, Nakamura et al. 1998, Sakai et al. 1998) と合致する。また、サルの pre-SMA を Muscimol で局所的に機能阻害すると、新しい系列の学習においてエラー回数が増加し、既に学習した系列の遂行ではエラー回数が増加しない (Nakamura et al. 1999)

ことが報告されており、pre-SMA に対する QPS-5 は前補足運動野の機能を阻害したと考えられる。新しい系列の学習におけるエラー回数の増加は注意の障害、単純なボタン押し動作の拙劣化など様々な要因により起こりうる (Nakamura et al. 1998) が、SRTT を用いた実験 3 において、ランダムに視覚呈示がなされるブロックにおいて、pre-SMA に対する QPS によりエラー回数・反応時間ともに変化がなかったことから、pre-SMA に対する QPS によって単純なボタン押し動作の拙劣化や注意の障害が起きたことは考えにくい。また SRTT は系列の存在が被検者に知らされない暗示的系列学習であると考えられ、SRTT では学習の程度に変化がなかったことから、明示的な条件で pre-SMA が働くと考えられる。2×10 課題を用いたヒト fMRI での研究では、単に系列の学習ではなく visuo-motor association を要する条件下で pre-SMA が活動する (Sakai et al. 1999) と報告されている。visuo-motor association には、誤反応した際に、ある視覚刺激に対しての運動応答のルールを変更することが必要となる。先行研究では視覚刺激に対しての運動応答のルールを変更すること、即ちタスクの切り換え (task switching) に pre-SMA が関連する (Rushworth et al. 2002) と報告されており、新しい系列学習におけるエラー回数の増加は QPS により task switching が修飾された結果を見ている可能性がある。

また我々の実験では、pre-SMA 刺激・SMA 刺激とも新しい系列学習におけ

る BPRT の平均および MT の平均には変化を認めなかった。サルの pre-SMA・SMA を Muscimol で局所的に機能阻害した実験では、新しい系列の学習・既に学習した系列の遂行の両者において、BPRT の延長を認め、この効果は SMA でより顕著であった。また MT の遅延を認めた例もあった (Nakamura et al. 1998)。この差が生じた理由としていくつかの可能性が考えられる。Muscimol は GABA 作動薬であるが、QPS は SICI や LICI といった皮質内の GABA 機能を反映する指標に変化を与えないことが報告されており (Hamada et al. 2008a)、Muscimol と QPS の作用機序の違いが成績変化の違いに関連している可能性がある。また、ヒトとサルによるボタン押しへの動機づけや「できるだけ早くボタンを押す」という課題遂行ルールが異なっている可能性があり、単純な運動速度の指標であり最も変化が起こりにくい MT も延長した例もあったことから、サルではボタンを押し行為自体が不安定となった可能性も考えられる。

SMA の機能

SMA 刺激では上述のように pre-SMA と異なり、新しい系列の学習においてエラー回数には影響がみられなかった。一方で、SMA 刺激では、新しい系列の学習において BPRT の加速に変化がみられた。MT の加速に変化を認めなかったことから、SMA は正しい系列を学習した後に動作遂行を加速する段階で関与

し、純粹な運動自体のスピードよりは、ある運動と運動を適切なタイミングで遂行することに関与している可能性が示唆された。

先行研究では Muscimol によるサルの SMA 機能を阻害すると、既に学習した系列の遂行における BPRT が延長し、MT も既に学習した系列において延長したと報告されている (Nakamura et al. 1999)。この結果からは SMA が学習した系列の遂行において、動作自体を素早く行うことに関与している可能性も考えられるが、先述のように QPS と Muscimol の作用機序の違いやヒトとサルの違いの影響が考えられる。Muscimol は SMA の機能を全般的に低下させると考えられるが、QPS は SMA におけるシナプス伝達効率を変化させると考えられ、そのため学習が関連する BPRT・SCT の加速のみが変化した可能性がある。

他の系列学習と同様に、 2×10 課題において被検者は視覚刺激提示前に手を自由に動かしてよいことから、学習が進むと視覚刺激提示に先行して次の提示部位に被検者が先回りして視線を動かす「anticipatory saccade」、視覚刺激提示に先行して次の提示部位に被検者が先回りして手を動かして待機する「anticipatory movement」と呼ばれる現象が起こることが知られており、これらの現象は BPRT の加速に関与すると考えられる (Miyashita et al. 1996)。我々の実験では、anticipatory saccade・anticipatory movement の発生について記録は出来なかったが、 2×10 課題を用いたサルの機能阻害実験では pre-SMA・

SMA の機能を阻害しても anticipatory saccade の発生は減少しなかったことから、anticipatory saccade は他の脳部位によりコントロールされていることが示唆されている (Nakamura et al. 1999)。

一方で、系列運動の指タップを同期して行いながら、異なるリズムの指タップを行う際に EEG で SMA に活動関連電位が記録され、両手で異なるリズムをタッピングする際に、両手で同じリズムをタッピングするのと比較して SMA が強く活動するという報告 (Lang et al. 1990) や、両手の示指でミラー運動を行う時と parallel movements を行う時の脳活動を fMRI で比較すると、parallel movements を行う時に SMA がより活動するという報告 (Sadato et al. 1997) から、SMA が運動の時間的構成 (temporal organisation) に関わっていることが示唆され、2×10 課題の BPRT の変化はこのような SMA の働きを反映している可能性がある。

サル単一神経ユニット記録やヒトの fMRI を用いた先行研究では SMA proper は系列運動の遂行に関与するとされている (Tanji and Shima 1994, Grafton et al. 1992, 1994, 1995, Jenkins et al. 1994, Seitz and Roland 1992, van Mier et al. 1998)。

また SMA の機能阻害実験では、両側 SMA を阻害すると習得済みの系列課題のエラーが増加すると報告されている (Halsband 1987, Shima and Tanji 1998)。

我々の実験では、左 SMA を主に刺激していると想定しており、片側 SMA と両側 SMA では機能変化が異なる可能性がある。また先行研究の結果から、既に学習した系列を正しく（エラーなく）遂行するには、小脳歯状核（Lu et al. 1998）や線条体後部（Miyachi et al. 1997）、一次運動野（Aizawa et al. 1991）といった SMA とは異なる脳部位が関連する可能性も考えられる。

部位ごとの機能分担

以上、我々の実験により pre-SMA・SMA に対する QPS は視覚運動系列学習を修飾することができることが示された。正しい系列の習得には pre-SMA が、正しい系列習得後の系列遂行の加速には SMA が関与すると考えられた。

QPS が視覚運動系列学習を修飾するメカニズム

先述の通り、NiBS はヒトの脳に興奮性の変化を誘導し、学習を修飾することが可能であるが、そのメカニズムは十分に明らかとなっていない。今回、我々はそのメカニズムを推定する目的で興奮性刺激である QPS-5 と抑制性刺激である QPS-50 を用いた。今回の一連の実験において QPS により変化を認めた行動指標について、QPS-5 と QPS-50 による影響に分けて表 6 に示す。

| | | pre-SMA | SMA | |
|-----------------------------------|--------|---------|-----|--------------------|
| Error (new) | QPS-5 | ↓ | × | ↑: 学習促進 ↓: 学習阻害 |
| | QPS-50 | × | × | |
| BPRT _n /BPRT1 (new) | QPS-5 | × | ↓ | ×: 影響なし |
| | QPS-50 | × | ↑ | |
| SCT _n /SCT1 (new) | QPS-5 | × | ↓ | |
| | QPS-50 | × | ↑ | |

表 6. QPS 条件による行動指標に対する効果の違い

我々の実験では pre-SMA 刺激・SMA 刺激ともに QPS-5 により学習が阻害される方向に影響がみられた。また、SMA 刺激では QPS-50 により学習が促進する方向に影響がみられた。

QPS-5 により一次運動野には興奮性の効果を生じるが、同様に pre-SMA・SMA に対する QPS も pre-SMA・SMA に興奮性の変化を生じたと考え、pre-SMA に学習に先行して興奮性の増強が生じた結果、それに続く学習が阻害された。また SMA 刺激では一次運動野に抑制性の効果を生じる QPS-50 により、学習を促進する方向に影響がみられた。これらの現象は動物実験で示されている「恒常的メタ可塑性」に類似している。興奮性のプライミング刺激である QPS-5 により LTP を誘導できる変換点が変わり、本来 LTP を起こす学習刺激

により、LTP が起こらなくなり結果として学習が阻害された、逆に抑制性のブライミング刺激である QPS-50 により LTP を誘導できる変換点に変化し、学習刺激による LTP が起こりやすくなり学習が促進されたという変化が起きた可能性が考えられる。

しかし、pre-SMA においては QPS-50 が学習の促進を起こすかという点については傾向がみられたものの、統計学的に有意ではなく、一部の先行研究と同様 (Kuo et al. 2008) に全てがメタ可塑性に沿う結果ではなかった。学習の促進が有意とならなかったひとつの理由として天井効果の存在が考えられる。

我々と類似の結果を示した Kuo らの報告では視覚運動系列学習課題である SRTT を用いており、一方、恒常的メタ可塑性に沿った両方向性の学習修飾を認めた報告では、Rapid thumb adduction という単純な use-dependent plasticity に関連するより単純な学習課題を用いている。異なる学習課題の間では、学習に要する神経機構も異なる可能性が考えられ、NiBS の効果に差がみられる原因となっているかもしれない。また、QPS が皮質興奮性の増強・減弱と両方向性の効果をきたすメカニズムはよく分かっておらず、興奮性の増強を誘導する QPS-5 により活動が変化する神経細胞のポピュレーションと興奮性の減弱を誘導する QPS-50 により活動が変化する神経細胞のポピュレーションが異なっている可能性も考えられ、それが学習に対する効果の程度の違いに関与し

ている可能性も考えられる。

今回の実験の結果より、健常人において pre-SMA・SMA に対する QPS-5 が学習を阻害する効果をもたらすことは一貫しており、Gating 理論に沿う結果ではなかった。

QPS-50 は一部の実験において学習を促進したが、その効果は一定しなかった。学習のステージや学習に動員される神経細胞のポピュレーションの違いなどが効果の違いに影響している可能性がある。今後、異なる学習課題や異なる刺激部位での実験を行い、その詳細を明らかにしていく必要がある。

これまで QPS によって筋電図反応においては可塑性様の効果を得られることは示されていたが、今回の一連の実験において、QPS で介入することで学習課題の成績に変化をおよぼすことが可能であるということは新たな知見である。また学習の変化の仕方はメタ可塑性に類似したものであり、特に QPS-5 による学習阻害効果は一貫したものであった。また今回の一連の実験を通じて QPS による介入によりヒトにおいて視覚運動系列学習における pre-SMA、SMA の役割の違いを示すことができた。

本研究の限界

実験 3 は実験 1 の pre-SMA 刺激・SMA 刺激および実験 2 と被験者数に違いがあり、結果に影響している可能性が除外できない。結果をより確かなものとするために、今後、実験 3 の被験者を増やす必要があると考える。

実験 1、実験 2 とともに被験者数の少なさもあり、検定に多重比較補正を適応していないため、有意差が検出されやすくなった点に留意が必要である。

また実験 1・2 で用いた 2×10 課題は比較的複雑な学習課題であり、運動学習のみではなく、様々な要素を含んだ課題である。特に新しい系列の学習初期には位置情報の記憶や、タスクの切り替え・誤反応の抑制といった cognitive control の要素が含まれると考えられる。TMS など介入した結果、学習に変化が生じた場合、その個々の要素の影響がどの程度あるのか、という点については分離することが困難であり、複数の要素の変化が合わさった状態をみていく点に注意する必要がある。これに関連して、系列遂行中には複数の脳部位が同時に関与している可能性があるが、我々の実験では QPS により起きた学習課題の成績変化が刺激部位単独の機能変化のみにより起きたものか、他の脳部位とのネットワークの機能変化により起きたものか、観察が不可能であり、結果の解釈には注意を要する。2×10 課題における新しい系列学習の関連部位として、pre-SMA 以外にも線条体前方 (Miyachi et al. 1997) や背外側前頭前野、楔前部 (Sakai et al. 1998) などが報告されており、pre-SMA はこれらの部位との機能

連絡を持つことから、fMRI や TMS-EEG といった全脳の機能を同時に観察することができる手法を組み合わせることで、学習に関連する神経機構をより詳細に検討することができると考えられる。

今後の課題

今回、健常人での検討においては前補足運動野や補足運動野に対する QPS により系列運動学習が修飾され、そのメカニズムとして恒常的メタ可塑性の可能性が考えられた。特に促通性の効果をもたらす QPS-5 が学習を阻害する効果は一貫していた。同様のことを Parkinson 病患者 (Morgante et al. 2006) に適用した場合、可塑性の異常が生じているため Gating 理論により、健常人とは逆に先行する QPS-5 により学習刺激による LTP が起こりやすくなり、学習が促進する可能性がある。先にのべたように Parkinson 病患者の系列学習障害はすくみ足に関連している可能性があり、もし Parkinson 病患者において QPS により、学習を促進することが出来れば、すくみ足の治療手段となる可能性がある。今回の研究から pre-SMA および SMA に対する QPS は系列運動学習を修飾することが可能であることが示されたことより、Parkinson 病患者に対する治療応用において有望な刺激部位である可能性があり、今後、検討する価値があると考えられる。

結語

QPS と 2×10 課題、系列反応時間課題を組み合わせることにより、視覚運動系列学習におけるヒト前補足運動野、補足運動野の機能を検討した。

前補足運動野は系列の存在が明示された条件下における新しい系列学習において、正しい系列を獲得することに関連することが示唆された。

補足運動野は正しい系列を獲得したのちに、課題遂行速度が加速する段階で関与し、ある運動と運動を適切なタイミングで遂行することに関連している可能性が考えられた。

前補足運動野および補足運動野に対する QPS による学習修飾のメカニズムとして、恒常的メタ可塑性が関与している可能性があるが、今後、更なる検討が必要である。

謝辞

本研究を遂行するに当たりご指導を賜りました、東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学教室の辻省次教授、福島県立医科大学医学部神経内科学講座の宇川義一教授、北里大学医学部神経内科の花島律子先生、東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学教室の寺尾安生先生に深謝致します。

また、北里大学医学部神経内科の堤涼介先生、大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科学教室の岡部慎吾先生、寺田さとみ先生、濱田雅先生、弓削田晃弘先生、代田悠一郎先生、大南伸也先生、松田俊一先生、田中信行先生、徳重真一先生、および東北文化学園大学医療福祉学部リハビリテーション学科理学療法専攻の古林俊晃教授にご協力、ご助言を頂き、考察を深めることができました。ここに御礼申し上げます。

参考文献

- 中島円, 下泰司, 大山彦光, 石井尚人, 新井一. パーキンソン病に対する両側視床下核脳深部刺激療法は視覚運動順序学習機能を改善させる. *機能的脳神経外科学* 47: 96-98, 2008.
- Abbott LF and Nelson SB.** Synaptic plasticity: taming the beast. *Nat Neurosci* 3: 1178-1183, 2000.
- Abraham WC and Bear MF.** Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 19(4): 126-130, 1996.
- Aizawa H, Inase M, Mushiake H, Shima K and Tanji J.** Reorganization of activity in the supplementary motor area associated with motor learning and functional recovery. *Exp Brain Res* 84: 668-671, 1991.
- Akkal D, Dum RP and Strick PL.** Supplementary motor area and presupplementary motor area: targets of basal ganglia and cerebellar output. *J Neurosci* 27: 10659-10673, 2007.
- Alexander CE and Crutcher MD.** Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci* 13: 266-271, 1990.
- Antal A, Boros K, Poreisz C, Chaieb L, Terney D and Paulus W.** Comparatively weak after-effects of transcranial alternating current stimulation (tACS) on cortical excitability in humans. *Brain Stimul* 1(2): 97-105, 2008.
- Atkeson CG.** Learning arm kinematics and dynamics. *Annu Rev Neurosci* 3: 171-176, 1989.
- Barker AT, Jalinous R and Freeston IL.** Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet* 11;1(8437): 1106-1107, 1985.

- Bienenstock EL, Cooper LN and Munro PW.** Theory for the development of neuron selectivity: Orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *J Neurosci* 2: 32-48, 1982.
- Bliss TV and Lomo T.** Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol (Lond.)* 232(2): 331-356, 1973.
- Bliss TV and Gardner-Medwin AR.** Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol (Lond.)* 232(2): 357-374, 1973.
- Camicioli RM, Hanstock CC, Bouchard TP, Gee M, Fisher NJ, Martin WR.** Magnetic resonance spectroscopic evidence for presupplementary motor area neuronal dysfunction in Parkinson's disease. *Mov Disord* 22(3):382-6, 2007.
- Cooke SF and Bliss TV.** Plasticity in the human central nervous system. *Brain* 129(7): 1659-1673, 2006.
- Dan Y and Poo MM.** Spike timing-dependent plasticity: from synapse to perception. *Physiol Rev* 86(3): 1033-1048, 2006.
- DeLong MR.** Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci* 13: 281-285, 1990.
- Dudek SM and Bear MF.** Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proc Natl Acad Sci* 89: 4363-4367, 1992.
- Frank MJ, Samanta J, Moustafa AA and Sherman SJ.** Hold your horses: impulsivity, deep brain stimulation, and medication in parkinsonism. *Science* 318: 1309-1312, 2007.
- Freund HJ.** Historical overview. *Adv Neurol* 70: 17-27, 1996.

- Fried I, Katz A, McCarthy G, Sass KJ, Williamson P, Spencer SS and Spencer DD.** Functional organization of human supplementary motor cortex studied by electrical stimulation. *J Neurosci* 11: 3656-3666, 1991.
- Grafton ST, Hazeltine E and Ivry R.** Functional mapping of sequence learning in normal humans. *J Cognit Neurosci* 7: 497-510, 1995.
- Grafton ST, Mazziotta JC, Presty S, Friston KJ, Frackowiak RSJ and Phelps ME.** Functional anatomy of human procedural learning determined with regional cerebral blood flow and PET. *J Neurosci* 12: 2542-2548, 1992.
- Grafton ST, Woods RP and Tyszka M.** Functional imaging of procedural motor learning: relating cerebral blood flow with individual subject performance. *Hum Brain Map* 1: 221-234, 1994.
- Grosbras MH, Lobel E, Van de Moortele PF, LeBihan D and Berthoz A.** An anatomical landmark for the supplementary eye fields in human revealed with functional magnetic resonance imaging. *Cereb Cortex* 9: 705-711, 1999.
- Hadland KA, Rushworth MF, Passingham RE, Jahanshahi M and Rothwell JC.** Interference with performance of a response selection task that has no working memory component: an rTMS comparison of the dorsolateral prefrontal and medial frontal cortex. *J Cogn Neurosci* 13(8): 1097-108, 2001.
- Halsband U.** Motorisches Lernen. In: Gauggel, S., Herrmann, M.(Eds.), *Handbuch der Neuro- und Biopsychologie*. Hogrefe, Göttingen, 2006.
- Hamada M, Terao Y, Hanajima R, Shirota Y, Nakatani-Enomoto S, Furubayashi T, Matsumoto H and Ugawa Y.** Bidirectional long-term motor cortical plasticity and metaplasticity induced by quadripulse transcranial magnetic stimulation. *J Physiol* 586: 3927-3947, 2008a.
- Hamada M, Ugawa Y and Tsuji S.** High-frequency rTMS over the

supplementary motor area for treatment of Parkinson's disease. *Mov Disord* 23: 1524-1531, 2008b.

Hamada M, Hanajima R, Terao Y, Okabe S, Nakatani-Enomoto S, Furubayashi T, Matsumoto H, Shirota Y, Ohminami S and Ugawa Y. Primary motor cortical metaplasticity induced by priming over the supplementary motor area. *J Physiol* 587: 4845-4862, 2009.

Hebb DO. The Organization of Behavior: A Neuropsychological Theory New York, Wiley & Sons: 1949.

Hikosaka O, Rand MK, Miyachi S and Miyashita K. Learning of Sequential Movements in the Monkey: Process of Learning and Retention of Memory. *J Neurophysiol* 74: 1652-1661, 1995.

Hikosaka O, Sakai K, Miyauchi S, Takino R, Sasaki Y and Pütz B. Activation of human presupplementary motor area in learning of sequential procedures: a functional MRI study. *J Neurophysiol* 76: 617-621, 1996.

Honda M, Deiber MP, Ibáñez V, Pascual-Leone A, Zhuang P and Hallett M. Dynamic cortical involvement in implicit and explicit motor sequence learning. A PET study. *Brain* 121(11): 2159-2173, 1998.

Huang YY, Colino A, Selig DK and Malenka RC. The influence of prior synaptic activity on the induction of long-term potentiation. *Science* 7; 255 (5045): 730-733, 1992.

Huang YZ, Edwards MJ, Rounis E, Bhatia KP and Rothwell JC. Theta burst stimulation of the human motor cortex. *Neuron* 20;45(2): 201-206, 2005.

Inase M, Tokuno H, Nambu A, Akazawa T and Takada M. Corticostriatal and corticosubthalamic input zones from the presupplementary motor area in the macaque monkey: comparison with the input zones from the supplementary motor area. *Brain Res* 833: 191-201, 1999.

Jahanshahi M, Jenkins IH, Brown RG, Marsden CD, Passingham RE and

- Brooks DJ.** Self-initiated versus externally triggered movements. I. An investigation using measurement of regional cerebral blood flow with PET and movement-related potentials in normal and Parkinson's disease subjects. *Brain* 118: 913-933, 1995.
- Jenkins IH, Brooks DJ, Nixon PD, Frackowiak RS and Passingham RE.** Motor sequence learning: a study with positron emission tomography. *J Neurosci* 14: 3775-3790, 1994.
- Jung P and Ziemann U.** Homeostatic and Nonhomeostatic Modulation of Learning in Human Motor Cortex. *J Neurosci* 29(17): 5597-5604, 2009.
- Kirkwood A, Rioult MC and Bear MF.** Experience-dependent modification of synaptic plasticity in visual cortex. *Nature* 381(6582): 526-528, 1996.
- Kuo MF, Unger M, Liebetanz D, Lang N, Tergau F, Paulus W and Nitsche MA.** Limited impact of homeostatic plasticity on motor learning in humans. *Neuropsychologia* 46: 2122-2128, 2008.
- Lang W, Obrig H, Lindinger G and Deecke L.** Supplementary motor area activation while tapping bimanually different rhythms in musicians. *Exp Brain Res* 79: 504-514, 1990.
- Lee KM, Chang KH and Roh JK.** Subregions within the supplementary motor area activated at different stages of movement preparation and execution. *Neuroimage* 9: 117-123, 1999.
- Lu X, Hikosaka O, and Miyachi S.** Role of monkey cerebellar nuclei in skill for sequential movement. *J Neurophysiol* 79: 2245-54, 1998.
- Martin WR, Wieler M, Gee M, Hanstock CC, Camicioli RM.** Intact presupplementary motor area function in early, untreated Parkinson's disease. *Mov Disord* 23(12):1756-9, 2008.
- Markram H, Lübke J, Frotscher M and Sakmann B.** Regulation of synaptic efficacy by coincidence of postsynaptic APs and EPSPs. *Science*

275(5297): 213-215, 1997.

Matsunaga K, Maruyama A, Fujiwara T, Nakanishi R, Tsuji S and Rothwell JC. Increased corticospinal excitability after 5 Hz rTMS over the supplementary motor area. *J Physiol* 562: 295-306, 2005.

Matsuzaka Y, Aizawa H and Tanji J. A motor area rostral to the supplementary motor area (presupplementary motor area) in the monkey: neuronal activity during a learned motor task. *J Neurophysiol* 68 (3): 653-662, 1992.

Miyachi S, Hikosaka O, Miyashita K, Kárádi Z and Rand MK. Differential roles of monkey striatum in learning of sequential hand movement. *Exp Brain Res* 115: 1-5, 1997.

Morgante F, Espay AJ, Gunraj C, Lang AE, Chen R. Motor cortex plasticity in Parkinson's disease and levodopa-induced dyskinesias. *Brain* 129(4): 1059-1069, 2006.

Muellbacher W, Richards C, Ziemann U, Wittenberg G, Wetz D, Boroojerdi B, Cohen L and Hallett M. Improving hand function in chronic stroke. *Arch Neurol* 59: 1278-1282, 2002.

Mure H, Tang CC, Argyelan M, Ghilardi MF, Kaplitt MG, Dhawan V, Eidelberg D. Improved sequence learning with subthalamic nucleus deep brain stimulation: evidence for treatment-specific network modulation. *J Neurosci* 32(8):2804-2813, 2012.

Nachev P, Kennard C and Husain M. Functional role of the supplementary and pre-supplementary motor areas. *Nat Rev Neurosci* 9(11): 856-69, 2008.

Nakamura K, Sakai K and Hikosaka O. Neuronal activity in medial frontal cortex during learning of sequential procedures. *J Neurophysiol* 80: 2671-2687, 1998.

- Nakamura K, Sakai K and Hikosaka O.** Effects of Local Inactivation of Monkey Medial Frontal Cortex in Learning of Sequential Procedures. *J Neurophysiol* 82: 1063-1068, 1999.
- Nambu A, Takada M, Inase M and Tokuno H.** Dual somatotopical representations in the primate subthalamic nucleus: evidence for ordered but reversed body-map transformations from the primary motor cortex and the supplementary motor area. *J Neurosci* 16: 2671-2683, 1996.
- Nissen MJ and Bullemer P.** Attentional requirements of learning: evidence from performance measures. *Cognit Psychol* 19: 1-32, 1987.
- Nitsche MA and Paulus W.** Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. *Neurology* 57(10):1899-901, 2001.
- Oldfield RC.** The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 9: 97-113, 1971.
- Parthasarathy HB, Schall JD and Graybiel AM.** Distributed but convergent ordering of corticostriatal projections: analysis of the frontal eye field and the supplementary eye field in the macaque monkey. *J Neurosci* 12: 4468-4488, 1992.
- Picard N and Strick PL.** Motor areas of the medial wall: a review of their location and functional activation. *Cereb. Cortex* 6: 342-353, 1996.
- Picard N and Strick PL.** Imaging the premotor areas. *Curr Opin Neurobiol* 11: 663-672, 2001.
- Preilowski B.** Phases of motor skills acquisition: a neuropsychological approach. *Hum Mov Stud* 3: 169-181, 1977.
- Reis J, Swayne OB, Vandermeeren Y, Camus M, Dimyan MA, Harris-Love M, Perez MA, Ragert P, Rothwell JC and Cohen LG.** Contribution of

transcranial magnetic stimulation to the understanding of cortical mechanisms involved in motor control. *J Physiol* 586(2):325-51, 2008.

Rioul-Pedotti M-S, Friedman D, Hess G and Donoghue JP. Strengthening of horizontal cortical connections following skill learning. *Nature Neurosci* 1: 230-234, 1998.

Rioul-Pedotti MS, Friedman D and Donoghue JP. Learning-induced LTP in neocortex. *Science* 290: 533-536, 2000.

Rossi S, Hallett M, Rossini PM, Pascual-Leone A; Safety of TMS Consensus Group. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin Neurophysiol* 120(12):2008-2039, 2009.

Rushworth MF, Hadland KA, Paus T and Sipila PK. Role of the human medial frontal cortex in task switching: a combined fMRI and TMS study. *J Neurophysiol* 8: 2577-2592, 2002.

Sadato N, Yonekura Y, Waki A, Yamada H and Ishi Y. Role of the supplementary motor area and right premotor cortex in the coordination of bimanual finger movements. *J Neurosci* 17: 9667-9674, 1997.

Sakai K, Hikosaka O, Miyauchi S, Takino R, Sasaki Y and Pütz B. Transition of brain activation from frontal to parietal areas in visuo-motor sequence learning. *J Neurosci* 18: 1827-1840, 1998.

Sakai K, Hikosaka O, Miyauchi S, Sasaki Y, Fujimaki N and Pütz B. Presupplementary motor area activation during sequence learning reflects visuomotor association. *J Neurosci* 19: RC1, 1999.

Sakai K, Kitaguchi K and Hikosaka O. Chunking during human visuomotor sequence learning. *Exp Brain Res* 152: 229-242, 2003.

Seitz RJ and Roland PE. Learning of sequential finger movements in man: a combined kinematic and positron emission tomography (PET) study. *Eur*

J Neurosci 4: 154-165, 1992.

Shirota Y, Ohtsu H, Hamada M, Enomoto H, Ugawa Y; Research Committee on rTMS Treatment of Parkinson's Disease. Supplementary motor area stimulation for Parkinson disease: a randomized controlled study. *Neurology* 80(15): 1400-5, 2013.

Silverman I, Choi J, and Peters M. The hunter-gatherer theory of sex differences in spatial abilities: data from 40 countries. *Archives of Sex Behavior* 36: 261-268, 2007.

Stefan K, Kunesch E, Cohen LG, Benecke R and Classen J. Induction of plasticity in the human motor cortex by paired associative stimulation. *Brain* 123(3): 572-84, 2000.

Stefan K, Kunesch E, Benecke R, Cohen LG and Classen J. Mechanisms of enhancement of human motor cortex excitability induced by interventional paired associative stimulation. *J Physiol* 543(2): 699-708, 2002.

Tanji J and Shima K. Role for supplementary motor area cells in planning several movements ahead. *Nature* 371: 413–416, 1994.

Terao Y, Ugawa Y, Enomoto H, Furubayashi T, Shiio Y, Machii K, Hanajima R, Nishikawa M, Iwata NK, Saito Y and Kanazawa I. Hemispheric lateralization in the cortical motor preparation for human vocalization. *J Neurosci* 21: 1600–1609, 2001.

Terney D, Chaieb L, Moliadze V, Antal A and Paulus W. Increasing human brain excitability by transcranial high-frequency random noise stimulation. *J Neurosci* 28(52): 14147-14155, 2008.

Vandenbossche J, Deroost N, Soetens E, Coomans D, Spildooren J, Vercruyse S, Nieuwboer A, Kerckhofs E. Impaired Implicit Sequence Learning in Parkinson's Disease Patients With Freezing of Gait. *Neuropsychology* 27(1):28-36, 2013.

- Van Mier H, Tempel LW, Perlmutter JS, Raichle ME and Petersen SE.** Changes in brain activity during motor learning measured with PET: effects of hand of performance and practice. *J Neurophysiol* 80: 2177-2199, 1998.
- Vorobiev V, Govoni P, Rizzolatti G, Matelli M and Luppino G.** Parcellation of human mesial area 6: cytoarchitectonic evidence for three separate areas. *Eur J Neurosci* 10(6): 2199-2203, 1998.
- Wang H and Wagner JJ.** Priming-induced shift in synaptic plasticity in the rat hippocampus. *J Neurophysiol* 82(4): 2024-2028, 1999.
- Willingham DB, Nissen MJ and Bullemer P.** On the development of procedural knowledge. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 15: 1047-1060, 1989.
- Wolpert DM, Ghahramani Z and Jordan MI.** An internal model for sensorimotor integration. *Science* 269: 1880-1882, 1995.
- Wolters A, Sandbrink F, Schlottmann A, Kunesch E, Stefan K, Cohen LG, Benecke R and Classen J.** A temporally asymmetric Hebbian rule governing plasticity in the human motor cortex. *J Neurophysiol* 89(5): 2339-2345, 2003.
- Yamamoto J, Ikeda A, Satow T, Matsushashi M, Baba K, Yamane F, Miyamoto S, Mihara T, Hori T, Taki W, Hashimoto N and Shibasaki H.** Human eye fields in the frontal lobe as studied by epicortical recording of movement-related cortical potentials. *Brain* 127: 873-887, 2004.
- Zhang L, Kirschstein T, Sommersberg B, Merkens M, Manahan-Vaughan D, Elgersma Y and Beck H.** Hippocampal synaptic metaplasticity requires inhibitory autophosphorylation of Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II. *J Neurosci* 25(33): 7697-7707, 2005.

Ziemann U, Ilić TV, Pauli C, Meintzschel F and Ruge D. Learning modifies subsequent induction of long-term potentiation-like and long-term depression-like plasticity in human motor cortex. *J Neurosci* 24: 1666-1672, 2004.

Ziemann U and Siebner HR. Modifying motor learning through gating and homeostatic metaplasticity. *Brain Stimul* 1(1): 60-66, 2008.