

脊髄不全損傷ラットに低侵襲機能的神経筋電気刺激  
治療の効果：三次元動作解析を用いた解析結果

氏名 守屋 淳詞

所属 山口大学大学院医学系研究科  
システム統御医学系専攻 整形外科分野

平成 29 年 12 月 31 日

## 〈目次〉

1. 要旨	3
2. 研究の背景	4
3. 対象と方法	4
(1) 対象	4
(2) 脊髄損傷ラットの作成	4
(3) NMES治療	4
(4) 運動機能の評価	5
(5) 統計評価	7
5. 結果	7
6. 考察	12
7. 結語	13
8. 謝辞	13
9. 参考文献	13

## 脊髄不全損傷ラットに低侵襲機能的神経筋電気刺激治療の効果：三次元動作解析を用いた解析結果

### 〔要旨〕

【目的】脊髄損傷後のリハビリテーションは運動機能改善の鍵を握る治療の一つと考えられている。効果的なリハビリテーションは神経回路の再編成を促す治療として期待されている。神経筋電気刺激（neuromuscular electrical stimulation: NMES）は麻痺筋の筋疲労を減少させ、中枢神経の再構築を促すと考えられている。

今回の研究目的は、脊髄損傷後の併用療法として急性期に併用可能なリハビリテーションとして、針電極を使用したラット NMES 治療モデルを考案し、刺激条件の設定を行ってきた。今回ラット脊髄不全損傷後の NMES 治療の短期治療効果について、三次元動作解析による評価を行ったので報告する。

### 【方法】

生後 12 週の Fisher ラット(体重平均 165g)を 15 匹使用した。脊髄損傷作成装置(IH-400 Impactor)を使用して胸椎 Th9 レベルで 150kdyn の Force で脊髄損傷を起こした。NMES 治療群では、損傷後 7 日目に治療を開始した。刺激電極には針電極を使用し、刺激筋には足関節の主動筋である前脛骨筋と腓腹筋を選択した。経皮的に各筋の Motor point 近傍に針電極を設置し、過去の実験データを基に覚醒条件下で左右各筋を歩行リズムで 15 分間刺激した。損傷後 14 日目に 4 台の CCD カメラで両上下肢各関節に設置したカラーマーカを撮影し、三次元歩行解析した。NMES 治療を行った(iSCI-NMES)、脊髄損傷の無治療(iSCI-NT)、脊髄損傷のない正常コントロール(normal-CT)を比較した。

### 【結果】

三次元歩行解析では、iSCI-NMES 群で Interlimb Coordination, Circular phase の改善を認めた。iSCI-NMES は iSCI-NT グループよりも接地時と離床時のつま先のクリアランスが改善された

### 【まとめ】

三次元動作解析により、NMES 治療の短期での運動機能改善効果を確認できた。今後は脊髄再生治療との併用効果について検討していく予定である。

【背景】 脊髄損傷の治療としては、二次損傷を防ぐことで神経の壊死を防止する Neuroprotection, 軸索伸長を促進する方法, 細胞移植等の様々な治療が研究されている。しかし、単独の治療では限界があり、いくつかの有効な治療を組み合わせた、Combination therapy が必要である。脊髄損傷ラットにおいてもリハビリテーションは不可欠であり、有効な機能改善への鍵を握ると考えられる(1)。効果的なリハビリテーションは神経回路の再編成を促す治療として期待されている。脊髄損傷後のリハビリテーション治療としては、部分体重免荷のトレッドミル歩行訓練(2-4)、神経筋電気刺激 (neuromuscular electrical stimulation: NMES) (3-6)、両者の併用療法などがある。NMES は麻痺筋の筋疲労を減少させ、筋萎縮、骨密度の低下も改善する効果があるとされているが、その機能改善の詳細なメカニズムは不明である(5-7)。

実験の長期の目的は、脊髄損傷後の併用療法としての、NMES 治療モデルの確立と、その機能改善のメカニズムの解明、さらに移植・再生治療後の併用療法としての有効性の検討を目指すことである。リハビリテーション治療の効果を判定するには詳細な下肢運動機能評価法を確立する必要がある(8)。そこで、本研究の目的は客観的下肢運動機能評価法としてのラット 3 次元歩行解析の有用性について検討することである。

#### 【対象と方法】

動物実験は山口大学動物使用委員会より実験許可 (Act No 105) を得て、山口大学生命科学実験施設でおこなった。使用した動物は 15 匹のメスの Fischer ラット (strain F334; Barcelona, Spain)、週齢は 12 週、体重は 165 g (155-170)。脊髄損傷ラットを 10 匹に作成した。うち 5 匹は NMES 治療を行った (iSCI-NMES)、5 匹は無治療 (iSCI-NT)、5 匹は脊髄損傷のない正常コントロール (normal-CT) とした。

#### 脊髄損傷ラットの作成

脊髄損傷は第 9 胸椎レベルで行った。麻酔はケタミン 25mg+キシラジン 1mg を筋注した。2 cm の正中切開を加えて第 9 胸椎の椎間関節面を温存して椎弓切除した。脊髄損傷作成装置 IH-400 Impactor (Precision Systems and Instrumentation, LLC, Lexington, KY, USA) を使用して 150kdyn の圧力で脊髄不全損傷を作成した。手術手技は手術用顕微鏡下 (Carl Zeiss AG, Jena, Germany) に行った。術後 5 日間合成ペニシリン (ビペラシリンナトリウム) 10mg を 1 日 2 回投与、排尿管理は 2 週間 1 日 2 回行った。

#### NMES 治療

NMES 治療は専用の台に乗せて 3%セボフルレンで吸入麻酔下に針電極を設置し、覚醒させて電気刺激を行った。刺激電極は針電極を使用し、刺激筋には足関節の主動筋である前脛骨筋と腓腹筋を選択した。経皮的に各筋の Motor point 近傍に針電極を刺激しながら設置した (周波数 75 Hz; 刺激幅 40  $\mu$ sec; 強度 1 mA; 間隔 200 msec)。針電極が至適位置に挿入されたかは Strength-duration カーブ (以下 SD カーブ) を用いて確認した。今回の研究では実験前に毎回刺激幅 20, 40, 60, 100, 200, 500  $\mu$ sec で各々刺激を加えて最低刺激

強度をプロットし反比例グラフになることを確認した。反比例グラフが過去のカーブと異なるときは再挿入して再確認した。

4チャンネル独立神経刺激装置(STG2004; Multi Channel Systems, Reutlingen, Germany)を使用した。過去の実験データを基に左右各筋を歩行リズムで15分間刺激した(9)(Fig.3B)。刺激強度はSDカーブでえられた40 $\mu$ secの最小刺激強度の1.5倍とし周波数は75Hzにした。各筋肉の刺激のタイミングは、正常ラットの歩行時の左右の足関節の動きを測定した過去の実験データを基に15分間刺激を覚醒下に3日間行った(10)。刺激中の動作を三次元歩行解析システムのKinemaTracer®(Kissei Comtec Co., Ltd., Nagano, Japan)を使用して下肢の動作解析を刺激直後0分、5分、10分、15分を測定した。

### 運動機能の評価

肉眼評価と三次元歩行解析システムで評価した。

肉眼評価は脊髄損傷ラット歩行評価方法のBasso, Beattie and Bresnahan (BBB)を用いた(11)。この評価は術後1, 3, 7, 10, 14日目に評価した。

三次元歩行解析は術後14日目にトレッドミルの上で四肢の運動評価を行った。

評価前に2%セボフルレンで吸入麻酔をかけた。上下肢の毛を剃って上下肢の16関節にマーカーを設置した(Fig1)。マーカーは6mmの半球状の人形の目にエアブラシで青、オレンジ、赤、緑、黄色に塗り作成した。

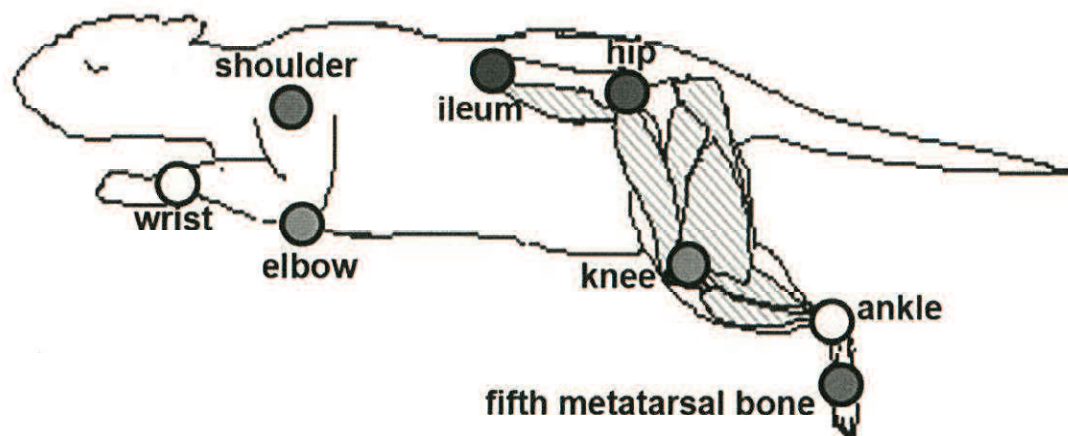


Figure 1. マーカーの設置位置：両側の手関節・肘関節・肩関節・腸骨棘・大腿骨大転子・膝関節・足関節外果・第5中足骨に直径6mmのマーカーを設置した。

トレッドミル(TMC-100; Melquest Co., Ltd., Toyama, Japan)で 8.2 と 13.7 cm/sec で歩行し, 120fps で撮影できる Kinema Tracer system(Kissei Comtec Co., Ltd.), で撮影し, サンプリングレートを 1000Hz とし、三次元解析を行った。このシステムは歩行の各周期におけるストライド長, ステップ長, さらに各関節の角度, 角度プロットグラフ等の歩行のパラメーターを評価できる。4台のカメラをトレッドミルの左右前方・左右後方に配置して, 56×106×206 mmのオリジナルクリアボックスに 18カ所のマーキング点を付けてカリブレーションしてから撮影した。iSCI-NMES と iSCI-NT のグループはトレッドミルのスピードを 8.2 と 13.7 cm/sec で測定した。正常ラットは 8.2, 13.7, 27.4 cm/sec で測定した(トレッドミルの設定値 30rpm が 8.2 cm/sec, 50rpm が 13.7, 100rpm が 27.4)。撮影時間はシステム最大時間 11 秒とした。なお iSCI ラットも 27.4cm/秒での測定を試みたが, この速度で歩行することは出来なかった。

歩行解析時はラットの後肢が接地するタイミングを(TD: touch down), 離床するタイミングを(LO: lift off)として基準とした(10)。右側の TD から TD を 1 周期の歩行サイクルを標準化し集積して解析した。標準化の方法は 1 周期を 201 のポイントと分割した。

左右対称性歩行の評価には interlimb angle-angle plot と SYM-Index を使用した(10)。interlimb angle-angle plot は横軸を右側の角度, 縦軸を左側の角度とし 201 ポイントをプロットして描写した。

SYM-Index は

$$SYM\_E = \sqrt{\frac{\sum_n \left( \frac{\theta_{RH_i} - \theta_{LH_{i+100}}}{\sqrt{2}} \right)^2}{n}}$$

足関節で例示すると 1 周期 201 ポイントの中のある時点  $i$  での右足関節の角度が( $\theta_{RAi}$ )の時, 左足関節の  $\theta_{LA(i+100)}$ と比較するところで Symmetry error を標準化した。

定量評価として Circular phase を使用した。右後肢の接地から右後肢の接地までの 1 周期の中で, 左後肢足の接地のタイミングを表示するグラフである。正常では平均値が 0.5, 各点の重心の位置がバラツキ R で表され, 対称性が良好な場合は 1 に近づき, 対称性が不良な場合は 0 に近づく(Fig2)。

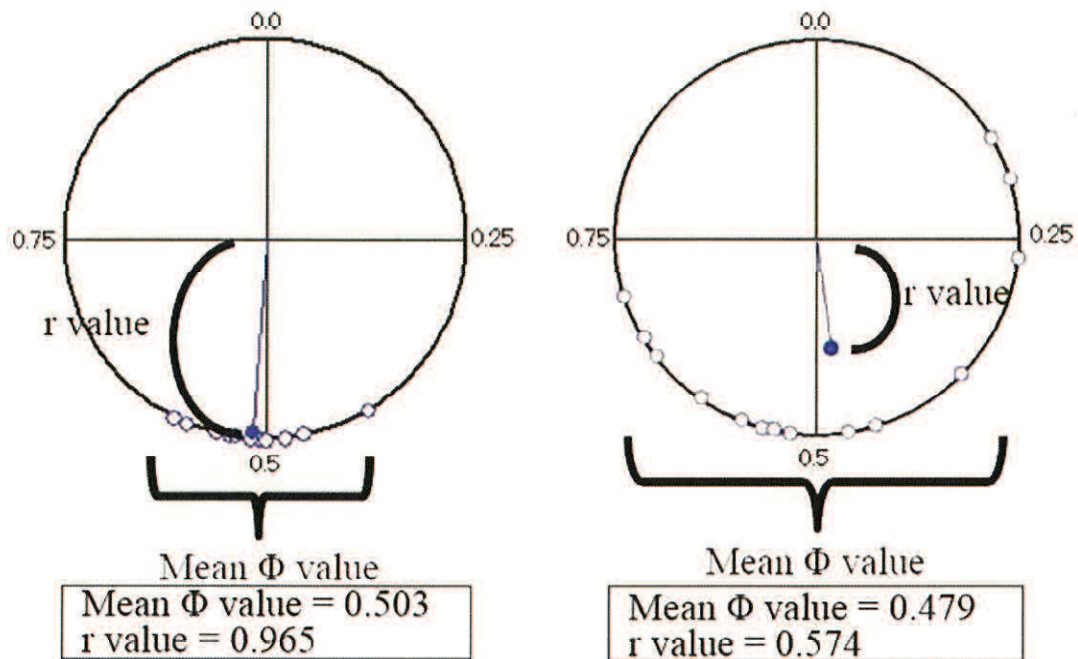


Figure 2. Circular phase: 右後肢の接地から右後肢の接地までの1周期の中で、左後肢足の接地のタイミング接地した状態を各々プロットしている.平均値  $\Phi$  と R で表す. $\Phi$  は平均値で正常では 0.5 になる.r は各々のプロットの重心値でバラツキを表す.対称性が良好な場合は 1 に近づき、対称性が不良な場合は 0 に近づく  
 (A)正常ラットの歩行時のサンプルである平均値  $\Phi$  は 0.503、R 値 0.965、一方(B)は脊髄損傷ラットで平均値  $\Phi$  は 0.479、R 値 0.574 と正常ラットよりもバラツキが大きくなっている。

### 統計評価

Welch test を使用して ISCI-NMES, ISCI-NT, normal-CT を検定した.有意差は 0.05 で判定した.

### 【結果】

NMES 刺激中の足関節の動きは Fig3A・3B で示すように左右が交互に運動する.Fig4 は刺激開始 0 分、5 分、10 分、15 分時点での 10 回分の平均足関節の動きを示している.刺激直後は平均 39 度の角度が、5 分で 18 度に低下、その後も著明に低下するが 15 分の時点でも動きは残っている.

平地歩行評価方法である BBB スコアの平均値は ISCI-NT グループが術後 1 日目で  $0 \pm 0$ ; 3 日目  $0.8 \pm 0.4$ ; 7 日目で  $5.0 \pm 1.2$ ; 10 日目で  $11.6 \pm 2.3$ ; 14 日目で  $14.4 \pm 1.0$  であった. ISCI-NMES グループでは術後 1 日目で  $0 \pm 0$ ; 3 日目で  $1.4 \pm 0.5$ ; 日目で  $6.2 \pm 1.2$ ; 10 日目で  $10.4 \pm 2.3$ ; 14 日目で  $14.8 \pm 0.7$ . いずれの時点でも統計的な有意差は見られなかった(Fig5).

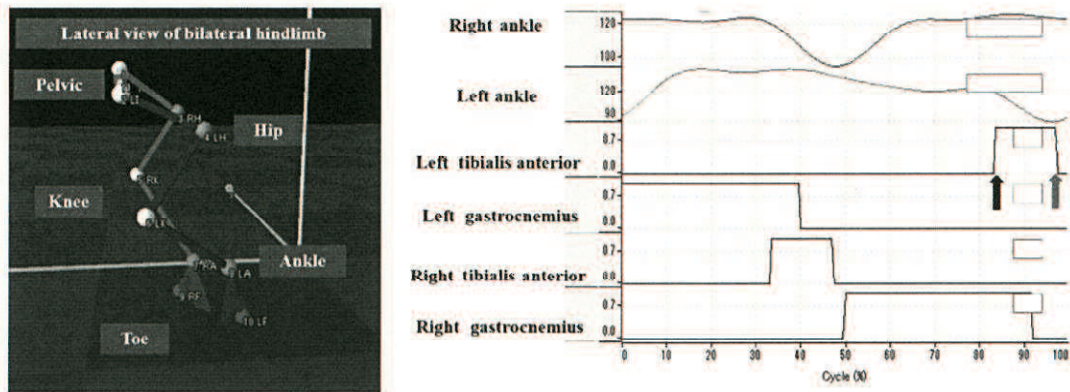


Figure 3.スティックフィギアと電気刺激中のモニター (A)スティックフィギアでは両下肢の足関節の刺激中の運動が見られる。(B)上の2つが右足関節と左足関節の運動で足関節の角度が表されている, 下の4つが電気刺激入力状態でmAが表されている.この図では左腓腹筋, 右前脛骨筋, 右腓腹筋, 左前脛骨筋の順に刺激した状態が表されている.

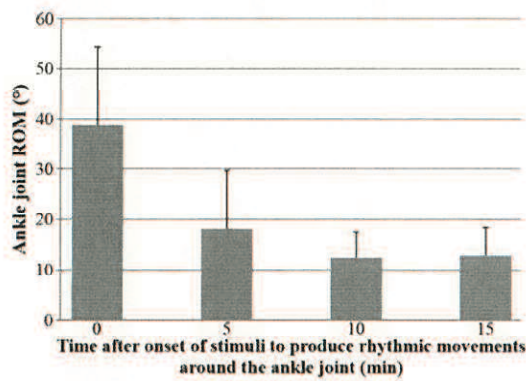


Figure 4. 足関節の運動可動域(ROM) : 刺激開始から10分間は徐々に減少し10分でプラトーになる.

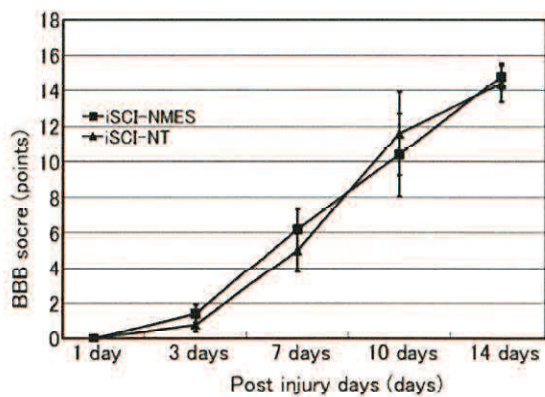


Figure 5. Basso, Beattie and Bresnahan (BBB) スコア : iSCI-NMES と iSCI-NT グループでは違いは見られなかった.



### 歩行周期

KinemaTracer®で測定した画像から歩行周期における評価を行った。

normal-CT グループでは立脚期は歩行速度 8.2 cm/sec で  $86.2 \pm 2.4\%$ , 13.7 cm/sec で  $80.8 \pm 2.9\%$ , 27.3 cm/sec で  $67.7 \pm 4.8\%$ であった。遊脚期は 8.2 cm/sec で  $13.8 \pm 2.4\%$ , 13.7 cm/sec で  $19.2 \pm 2.9\%$ , 27.3 cm/sec で  $32.3 \pm 4.8\%$ であった。両側支持期は 8.2 cm/sec で  $33.6 \pm 10.3\%$ , 13.7 cm/sec で  $30.4 \pm 9.4\%$ , 27.2 cm/sec で  $16.6 \pm 7.1\%$ であった。正常ラットでは速度が速くなれば立脚期 ( $P < 0.01$ )と両側支持期( $P < 0.01$ )が減少し遊脚期( $P < 0.01$ )が長くなった。歩幅は 8.2 cm/sec で  $7.5 \pm 3.4$  cm, 13.7 cm/sec で  $9.3 \pm 4.4$  cm, 27.3 cm/sec で  $11.2 \pm 5.5$ cm であった。

ISCI-NMES グループでは立脚期が, 8.2 cm/sec で  $78.9 \pm 6.5\%$ , 13.7 cm/sec で  $73.4 \pm 6.2\%$ であった。遊脚期は 8.2 cm/sec で  $21.1 \pm 6.5\%$ , 13.7 cm/sec で  $26.6 \pm 6.2$ であった。両側支持期は 8.2 cm/sec で  $25.7 \pm 15.2\%$ , 13.7 cm/sec で  $16.0 \pm 10.8\%$ であった。歩幅は 8.2 cm/sec で  $10.3 \pm 2.0$  cm, 13.7 cm/sec で  $11.7 \pm 1.8$  cm であった。

ISCI-NT グループでは立脚期が 8.2 cm/sec で  $79.9 \pm 7.0\%$ , 13.7 cm/sec で  $73.8 \pm 7.8\%$ であった。遊脚期は 8.2 cm/sec で  $20.1 \pm 7.0\%$ , 13.7 cm/sec で  $26.2 \pm 7.8$ であった。両側支持期は 8.2 cm/sec で  $31.3 \pm 18.9\%$ , 13.7 cm/sec で  $20.8 \pm 16.9$ であった。歩幅は, 8.2 cm/sec で  $7.8 \pm 3.7$  cm, 13.7 cm/sec で  $10.4 \pm 4.8$  cm であった。

ISCI-NMES グループと iSCI-NT グループではいずれでも有意差は見られなかった(Fig. 6).

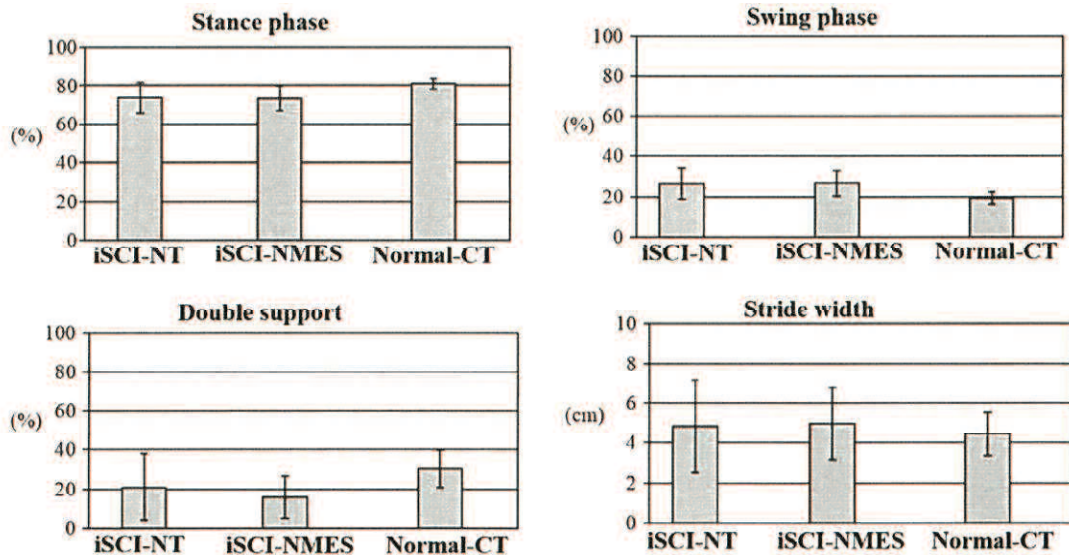


Figure 6. 13.7cm/sec での 3 群間の歩行周期のグラフ：立脚期，遊脚期，両脚支持期，歩幅共にいずれの群でも有意差は見られなかった。

下肢の運動角度の平均

Fig.7 では normal-CT , iSCI-NMES, iSCI-NT グループの下肢の角度を示している。iSCI-NMES グループでは股関節の ROM が改善にしており、遊脚期に足関節が背屈状態から底屈に移行しており着地の準備が出来ている。

Fig.8 は足関節外果の運動状態である。iSCI-NT と iSCI-NMES グループでは足関節の垂直方向の運動が減少し特に遊脚期初期の足部引き上げが低下した。

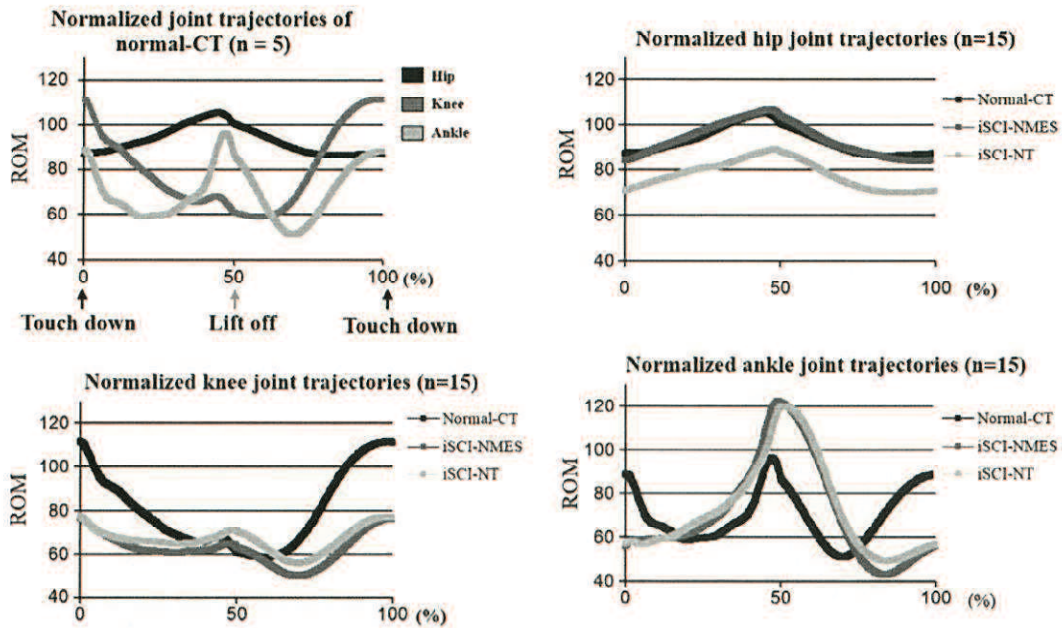


Figure 7. 各関節の平均化グラフ : (A) normal-CT group (n=5)における股関節・膝関節・足関節の角度変化グラフ  
 B) normal-CT, iSCI-NMES, iSCI-NT の3群の股関節の動きを表している。(C) normal-CT, iSCI-NMES, iSCI-NT の3群の膝関節の動きを表している。(D). normal-CT, iSCI-NMES, iSCI-NT の3群の足関節の動きを表している。

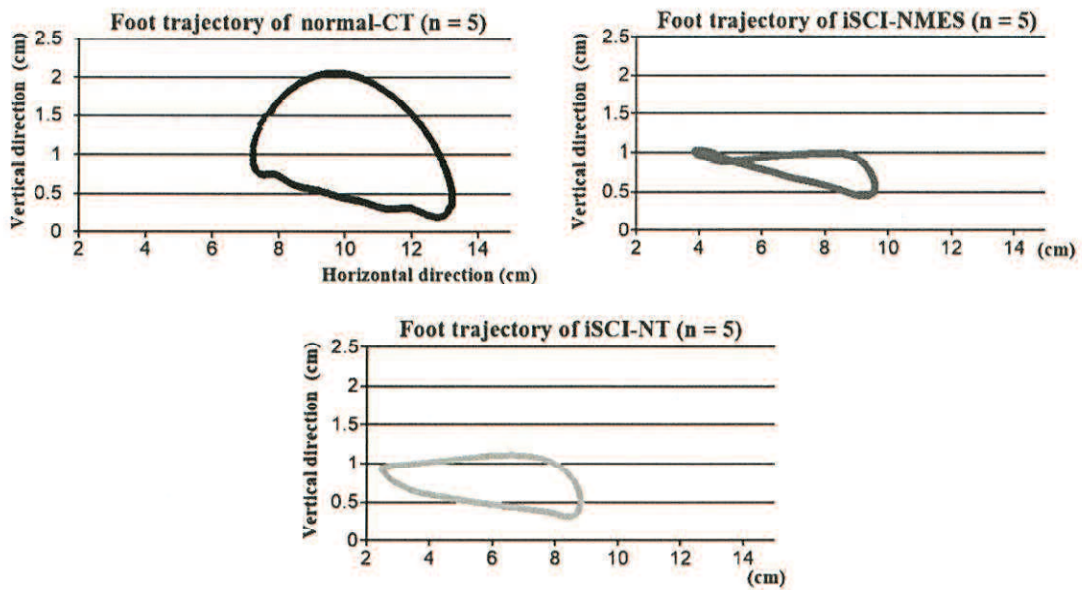


Figure 8. 第5中足骨の運動の矢状断を図に表している。(A) normal-CT, (B) iSCI-NMES, (C) iSCI-NT.

### Circular phase

Fig. 9. は circular phase の結果である。normal-CT グループでは 8.2 cm/sec で平均  $\Phi$  値が  $50.3 \pm 4.3\%$ , R 値が  $0.81 \pm 0.03$ , 13.7 cm/sec で  $\Phi$  値が  $49.2 \pm 5.9\%$ , R 値  $0.87 \pm 0.05$ , 27.3 cm/sec で  $\Phi$  値  $51.5 \pm 3.2\%$ , R 値が  $0.92 \pm 0.03$  であった。

iSCI-NT グループでは 8.2 cm/sec で  $\Phi$  値が  $39.6 \pm 7.3\%$ , R 値が  $0.57 \pm 0.08$ , 13.7 cm/sec で  $\Phi$  値が  $50.0 \pm 5.3\%$ , R 値が  $0.59 \pm 0.12$  であった。iSCI-NMES グループでは 8.2 cm/sec で  $\Phi$  値が  $47.3 \pm 17.7\%$ , R 値が  $0.51 \pm 0.26$ , 13.7 cm/sec で  $\Phi$  値が  $60.3 \pm 14.6\%$ , R 値が  $0.73 \pm 0.09$  (Fig. 10A)。 $\Phi$  値はいずれのグループにも有意差は見られなかった。一方 R 値は 8.2 cm/sec の速度では normal-CT と比較して iSCI-NT と iSCI-NMES グループでは優位に値が低くなっていた。13.7 cm/sec の速度では iSCI-NMES グループは iSCI-NT グループより改善傾向が見られたが統計的有意差は見られなかった ( $P=0.06$ ; Fig. 9B)。

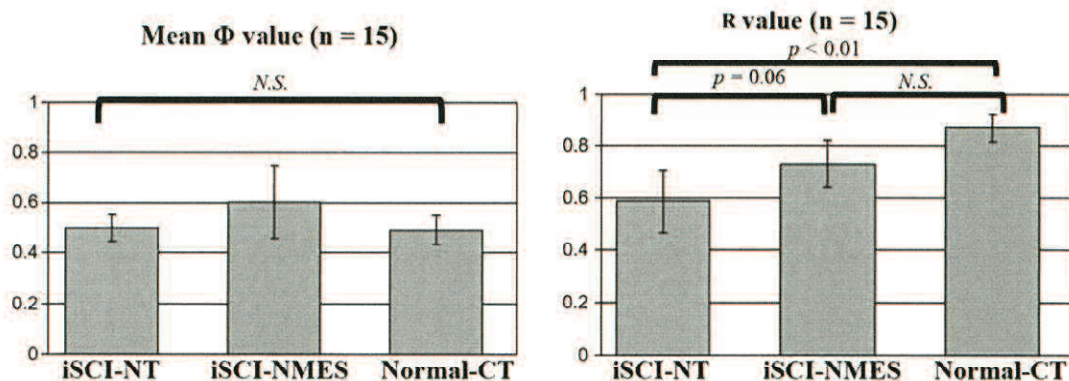


Figure 9. 13.7cm/sec での circular phase における平均値  $\Phi$  と R 値を表している。(A) 平均値  $\Phi$  の値にはいずれの群でも有意差は見られなかった。(B) R 値では iSCI-NMES では iSCI-NT よりもばらつきが少ない normal-CT に近づいていたが,  $p=0.06$  と有意差はなかった。

三次元歩行解析で足関節の Intralimb Coordination は歩行速度 13.7cm/sec で SYM-Index が normal-CT は 7.6 ( $\pm 2.0$ ), iSCI-NMES 群では, 18.0 ( $\pm 7.9$ ), iSCI-NT 群で 17.7 ( $\pm 9.0$ ) であった(Fig.10).

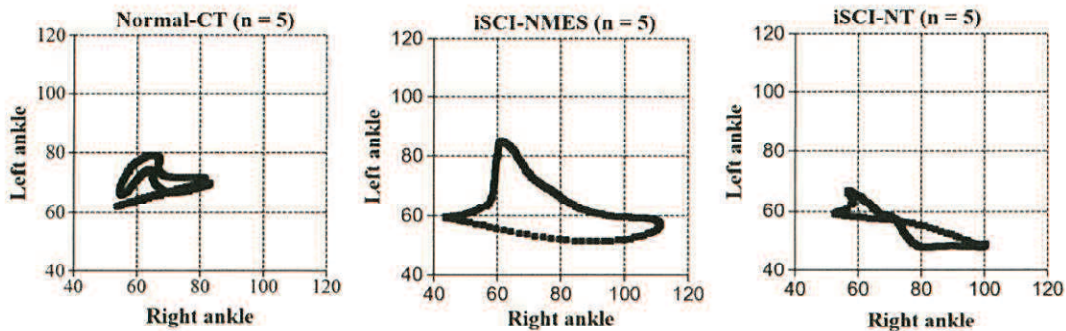


Figure 10. Angle-angle plots 図：各群の平均化した図である (A) normal-CT, (B) iSCI-NMES, (C) iSCI-NT

#### 【考察】

脊髄損傷の治療としては、細胞移植等の様々な治療が研究されている。しかしながら確立した治療方法はなく、運動機能を回復するためには様々な治療の組み合わせが必要である(1)。リハビリテーションは必要不可欠で運動機能回復のキーとなる重要な治療と考えられている。本研究のラット後肢を神経筋電気刺激することは、他の様々な治療と併用が可能である。我々は以前麻酔下に正常ラットの足関節の主要筋肉を刺激することで歩行リズムにあわせた電気刺激方法の確立を報告した(8)。今回の研究は以前行った正常ラットの足関節の刺激と同様に脊髄不全損傷ラットの足関節をリズムカルに運動させることが出来た(Fig3)。

様々な治療の組み合わせを行うためには、各々の回復の評価が必要である。機能回復の評価として主に BBB Score が利用されてきたが、どうしても検者による主観的な評価になってしまう。また歩行時の足趾の動きが重要な評価ポイントとなるが、ラットの歩行は人間よりも早く、趾が小さいため、趾の踏み返しを評価することは非常に難しい。また Open filed にラットを移動させた直後は歩行するが、すぐに端にうづくまってしまう習性がある。そのため詳細かつ正確に評価するためには 3 次元評価が望ましい。

Jung ら(9)は脊髄損傷ラットの評価に 30-35 cm/sec の最大速度でトレッドミルを歩かせて歩行解析を行っている。歩行解析を行う上では、一定速度で歩行している状態を撮影する必要がある。しかし動物という特性上、一定速度で歩くことは難しく、早く歩いたり、ゆっくり歩いたり、急に走ったり、立ち止まったりしてしまう。ラットにとってトレッドミルの速度が余裕ある場合では、速く歩いたり・ゆっくり歩いたりなど歩行速度にバラツキが出る。一方トレッドミルの速度が上昇するに従って、ラットの歩行速度が一定化してくることは肉眼でも確認できる。このことを歩行解析において、正常ラット群の Circular phase で歩行速度が 8.2cm/sec よりも 13.7cm/sec, 27.3cm/sec の方がより r 値が 1 に近づいてくることから数値として確認でき、統計的にも有意差が出現した。すなわち歩行解析を行うのであれば、ラットが歩行可能な範囲で出来るだけ速い速度で測定した方が、適切な結果が得られる。150Kdyn で脊髄を圧迫した脊損ラットにとっては、27.3cm/sec で歩行は不能で、

13.7cm/secであれば全ての脊損ラットが歩行可能であった。そのため脊損の治療で歩行解析は13.7cm/secが一定の目安と考え脊損コントロール群とFES75Hz治療群での比較では13.7cm/secで行った。

歩行周期ではnormal-CT, iSCI-NMES, iSCI-NTグループのいずれで群でも歩行時の速度と共に、立脚期と両脚支持期の割合が減少し、遊脚期が増加した。各群間の有意差は見られなかった(Fig.9)。行周期を横軸に設定して、足関節の角度を縦軸設定すると人間ではつま先離床直後と踵接地の2点で背屈するため2峰性を形成している(10)。一方正常ラットでは着地がつま先接地のためつま先接地後に足関節を背屈して足部全体を接地する。人間とラットは異なる歩行形態だが結果としては人間と同様の2峰性を形成する。

iSCI-NMESとiSCI-NTグループはいずれもToe off時点での足関節が過度に底屈し足を引きずる状態であった。iSCI-NMESでは遊脚期後期に足関節の背屈状態から底屈がなされ、つま先接地の準備がなされたが、iSCI-NTでは見られず、べた足で着地した(Fig7.CとD)。また股関節の運動ではiSCI-NMESはiSCI-NTよりも正常に近づいていた(Fig7B)。

第5中足骨の垂直方向の運動はiSCI-NMESとiSCI-NTグループともにnormal-CTよりも高さが上がらず、両者の違いは見られなかった(Fig.8)。これらから考えられることは、股関節の運動は改善しており、足関節もリズムカルに運動するが、膝関節の遊脚期の運動が十分でないことを示唆する。今回の実験は刺激筋に足関節の主動筋である前脛骨筋と腓腹筋を選択したため、足関節の機能は回復したが膝関節を運動させる筋肉は回復が十分でなかったと考えた。circular phases図とangle-angle plots図ではiSCI-NMESとiSCI-NTグループに優位な改善は見られなかった。Jungら(9)の報告のように歩行リズムの改善は見られたが、筋力の回復見られなかった。

#### 【結語】

三次元歩行解析では、iSCI-NMES群でInterlimb Coordination, Circular phaseの改善を認めた。iSCI-NMESはiSCI-NTグループよりも接地時と離床時のつま先のクリアランスが改善された。今回の研究ではJungら(8)の報告と同様に3日間だけの短い期間での刺激であり、評価も術後2週間と短い。今後は刺激期間と評価期間の長期化が必要である。さらには刺激条件を変更することで評価を重ねたい。

#### 【謝辞】

本論文は筆者が山口大学大学院医学系研究科システム統御医学系専攻整形外科分野博士課程の研究成果をまとめたものである。同専攻教授田口敏彦先生には指導教官として本研究の実施の機会を与えて戴き、その遂行にあたって終始、ご指導を戴いた。ここに深謝の意を表す。同専攻教授寒竹司先生には実験実技の練習・助言を戴くとともに本論文の細部にわたりご指導を戴いた。ここに深謝の意を表す。本専攻整形外科教室の各位には研究遂行にあたり日頃より有益なご討論ご助言を戴いた。ここに感謝の意を表す。

#### 【参考文献】

1. Ramer LM, Ramer MS and Steeves JD: Setting the stage for functional repair of spinal cord injuries: A cast of thousands. *Spinal Cord* 43: 134-161, 2005.
2. Barbeau H, McCrea DA, O'Donovan MJ, Rossignol S, Grill WM and Lemay MA: Tapping into spinal circuits to restore motor function. *Brain Res Brain Res Rev* 30: 27-51, 1999.
3. Wirz M, Zemon DH, Rupp R, Scheel A, Colombo G, Dietz V and Hornby TG: Effectiveness of automated locomotor training in patients with chronic incomplete spinal cord injury: A multicenter trial. *Arch Phys Med Rehabil* 86: 672-680, 2005.
4. Beekhuizen KS and Field-Fote EC: Massed practice versus massed practice with stimulation: Effects on upper extremity function and cortical plasticity in individuals with incomplete cervical spinal cord injury. *Neurorehabil Neural Repair* 19: 33-45, 2005.
5. Field-Fote EC and Tepavac D: Improved intralimb coordination in people with incomplete spinal cord injury following training with body weight support and electrical stimulation. *Phys Ther* 82: 707-715, 2002.
6. Popovic MR, Thrasher TA, Adams ME, Takes V, Zivanovic V and Tonack MI: Functional electrical therapy: retraining grasping in spinal cord injury. *Spinal Cord* 44: 143-51, 2006.
7. Field-Fote EC: Electrical stimulation modifies spinal and cortical neural circuitry. *Exerc Sport Sci Rev* 32: 155-160, 2004.
8. Kanchiku T, Kato Y, Suzuki H, Imajo Y, Yoshida Y, Moriya A, Taguchi T and Jung R: Development of less invasive neuromuscular electrical stimulation model for motor therapy in rodents. *J Spinal Cord Med* 35:162-169, 2012.
9. Jung R, Belanger A, Kanchiku T, Fairchild M and Abbas JJ: Neuromuscular stimulation therapy after incomplete spinal cord injury promotes recovery of interlimb coordination during locomotion. *J Neural Eng* 6: 055010, 2009.
10. Thota AK, Watson SC, Knapp E, Thompson B and Jung R: Neuromechanical control of locomotion in the rat. *J Neurotrauma* 22: 442-465, 2005.
11. Basso DM, Beattie MS and Bresnahan JC: A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma* 12: 1-21, 1995.