

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01332

研究課題名(和文) 温度・電気・薬物の各ニューロモデュレーションによるてんかん発作抑制効果の比較研究

研究課題名(英文) A comparative study of the anti-epileptic efficacy of neuromodulation by brain cooling, electrical stimulation, and intracortical drug administration.

研究代表者

井上 貴雄 (INOUE, Takao)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80513225

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、温度・電気・薬物による各ニューロモデュレーションのてんかん発作抑制効果について比較した。電気・温度・薬物による脳への刺激を1つのデバイスで達成するためのデバイスを新たに作製し、麻酔下のラットに対して右体性感覚野を開頭し、本デバイスを設置した。デバイス中央部に設けられた穴より皮質下にペニシリンGを投与することでてんかん様異常脳波を誘発し、その後各ニューロモデュレーションによるてんかん発作抑制効果を比較した。その結果、電気刺激の効果はばらつきが大きい一方で、冷却と薬物による発作抑制効果は相補的な関係にあった。ニューロモデュレーションの組み合わせによる治療技術は有効な可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, we compared the anti-epileptic effect of each neuromodulation by temperature, electricity, and drug. To achieve stimulation of the brain by three neuromodulators with one device, we created a new device that can apply three modulations with one device. A cranial window was made on the right somatosensory-motor cortex of anesthetized rats, and this device was attached to the brain surface. I induced Epileptiform discharges by intracortical administration of Penicillin G via a hole provided in the central part of the device. Then the inhibitory effect of Epileptiform Discharges by each neuromodulation was compared. As a result, the effect of electrical stimulation varied considerably, while inhibitory effects by cooling and drugs were complementary. It is suggested that the techniques based on a combination of neuromodulation can improve the treatment effects for intractable epilepsy.

研究分野：脳情報工学

キーワード：てんかん 局所脳冷却 ニューロモデュレーション

## 1. 研究開始当初の背景

多くの医療機器は、医学と工学の技術が融合して生まれてくるが、近年はその連携が密となり、手術支援ロボット「ダヴィンチ」やリハビリ支援用ロボットスーツ「HAL」などロボット技術を用いて外界環境(体外)を患者に適応させる技術が増えてきている。一方、患者自身の内界環境(体内)を医工連携技術で適応させる体内埋込型の医療機器も意外な程に多い。最も有名な装置は、不整脈治療に使用される胸部植込み型の心臓ペースメーカーが挙げられる。歴史は古く、1932年に既に開発されている。この電気刺激を用いた医療機器は脳神経外科領域にも浸透し、ニューロモデュレーション技術として成長してきた。ニューロモデュレーションは、神経(ニューロン)を調節(モデュレート)することで治療効果を引き出す方法・技術であり、一般的には、神経に微弱な電気を流すことによりさまざまな神経性の疾患を和らげることができる。特に、パーキンソン病などによる震えや歩行困難の症状を抑えるための脳深部刺激療法(Deep Brain Stimulation)は、脳内に電極を刺し込まなければならないが、薬剤よりも優れた治療効果を得られるため、広く認知されている。この電気刺激によるニューロモデュレーション技術は、長年にわたり安全性が確認され、緩和的ではあるが確実に病態を制御しうるため、パーキンソン病だけではなく、さまざまな神経疾患へと適用を広げてきた。中でも、てんかん治療に関しては、ここ数年ニューロモデュレーションによる治療技術が日本でも脚光を浴びはじめている。迷走神経刺激法(Vagus Nerve Stimulation: VNS)が緩和的治療法として、2010年7月より、本邦でも保険適用を得た。また、焦点部位の異常活動の検知に対するオンデマンド電気刺激法(Responsive Neurostimulator: RNS™)も2013年末に米国FDAの認可を受けた(Rukovets, Neurol Today, 2013)。基礎研究の領域でも、GABA作動薬の経髄膜的投与による治療法の研究が2000年代初頭より行われ、すでにマカクザルを用いた実証試験に成功している(Ludvig, J Neurosci Methods 203:275-83,2012)。これらの技術は異常脳活動を電氣的・薬物的に攪乱・抑制するものである。電気刺激は、長年の研究・臨床適用による安全性と制御性の十分な実績があり、脳内投薬は研究段階ではありつつも、脳の異常興奮を薬物で抑えるという点では、臨床効果を期待できる。一方で、電気刺激は発作抑制効果、脳内投薬は薬物による強力な神経興奮抑制の制御技術に対する限界に直面している。

脳の直接的な冷却は、脳保護効果やてんかん性異常脳波の抑制効果があることが報告されており、我々は治療装置としての点に着目し、基礎研究を進めている。ペルチェ素子からなる冷却デバイスを用い、薬物誘発てんかん性異常脳波が20~25の焦点領域の冷

却で抑制されることを明らかにした(Imoto, J Neurosurg 104(1):150-6,2006, Tanaka, J Neurosurg 108(4):791-7,2008、特許第3843054)。さらに、15までの冷却であれば正常な神経機能が維持されることを動物実験により得た(Fujii, Epilepsia 53(3):485-93,2012)。一方、10以下では神経機能の一過性脱落を起こすが、0冷却でも、大脳の組織破壊は起きないことも明らかにした(Oku, J Neurosurg 110(6):1209-17,2009)。以上より、世界に先駆けて、難治性てんかん患者の焦点切除術時に焦点冷却を行い、異常脳波の抑制効果を確認し、局所脳冷却のニューロモデュレーション技術としての有効性に確信を得た。

以上より、申請者は、局所脳冷却が電気・薬物よりも勝る技術と考えてきたが、技術的な面を考慮すると、温度・電気・薬物のそれぞれの手法に優劣が存在している。そこで、申請者は本研究課題において、同一の疾患・病態に対して各ニューロモデュレーション技術を適用し、その利点・問題点を比較評価する必要があると考えた。

## 2. 研究の目的

神経活動を調節することで治療効果を引き出す手法「ニューロモデュレーション」は電気刺激法が先行している。しかし、近年では「温度」や「薬物」、さらには「光」を用いたニューロモデュレーション技術の発展が目覚ましい。申請者は、温度によるニューロモデュレーション技術「サーマルニューロモデュレーション」の研究を続け、その効果と限界を理解してきた。一方で、電気や薬物によるニューロモデュレーションにも、その特性により限界を有していることがわかってきた。本研究では、難治性てんかんに対する治療法としてのニューロモデュレーションに着目し、温度・電気・薬物による各ニューロモデュレーションのてんかん発作抑制効果を比較した。

## 3. 研究の方法

### (1)ニューロモデュレーションデバイスの試作

電気・温度・薬物による脳への刺激を1つのデバイスで達成するべく、本研究では図1のようなデバイスを試作した。材料は生体適合性に優れ、かつ加工しやすいSUS316Lを使用した。デバイス自体を電気を流す金属材料とし、リード線用のコンタクトピンを取り付けることでデバイス自体を電気刺激用電極とした。脳冷却は、デバイス内部に流路を作り冷却水を還流することによりデバイスの温度を降下させ、デバイスと脳の接触部の温度を制御する方法を採用した。薬物の注入については、デバイス中央に25Gのニードルを用いて穴を貫通させ、この穴をガイドカニューレとして薬物注入が直接できるようにした。

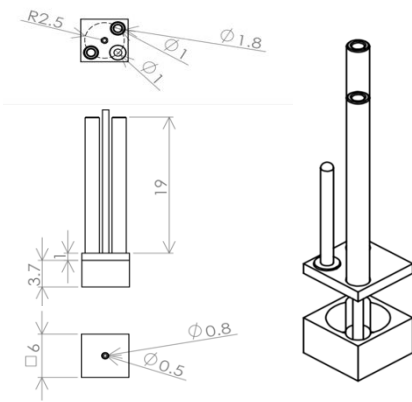


図1 ニューロモデュレーションデバイスの図面

## (2) 冷却と薬物による効果比較

麻酔下のラットを脳定位固定装置にとりつけた後、左体性感覚野にデバイスが設置できるよう開頭を実施した。その後、デバイスをマニピュレータを用いて脳表に密着するように固定した。

デバイス中央のガイドカニューレを利用してペニシリンGを200IU非室内投与することで、焦点性のでんかん様異常脳波 (Epileptiform Discharges: EDs) を誘発させた。このEDsを電気刺激、脳冷却、薬物のそれぞれで抑制するために、刺激パラメータを次の通り設定した。

電気刺激：50  $\mu$ A, 50 Hz, 2 s

脳冷却：脳表温 15

薬物：icilin (TRPM8 作動薬) 3 mM

電気刺激と脳冷却については先行研究に基づき設定した。薬物は今回は icilin を用いた。icilin は擬似的冷却効果を引き出すとともに、異常脳波を抑制することが報告されているため (Pezzoli et al., 2014)、脳冷却との比較・検討がしやすいと考え採用した。

## 4. 研究成果

### (1) ニューロモデュレーションデバイスの評価

実際に試作したデバイスを図2に示す。実際に動物に使用する上で、面取りを実施し脳に障害を与えることなく接触するようにした。

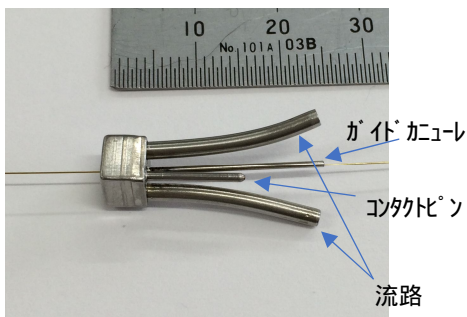


図2 試作したニューロモデュレーションデバイス

このデバイスを用いて、それぞれのニューロモデュレーション効果が得られるかを確認し、全て正常に機能することを確認した。

ただし、薬物注入に関しては硬膜をインジェクション針が硬膜を貫通させる必要があり、デバイスを脳表に設置するだけですべてのニューロモデュレーションができるわけではないことに注意が必要であった。電気刺激については、デバイスと脳が接触する部分全てが刺激部位となるため、部位選択的な細かい刺激をすることに注意が必要であった。冷却デバイスに関しては、ペルチェ素子を使わず冷却水を還流する方式を採用したため、温度制御性に問題が残ると考えられたが、冷却水温と流量が一定であれば、ほぼ設定温度に調整できることがわかった。

### (2) 冷却と薬物による効果の違い

本デバイスを用いて各ニューロモデュレーションによるてんかん発作抑制効果の比較検討を進めようとしたが、電気刺激については、再現性良く発作抑制効果を確認できなかったため、冷却と薬物による評価を中心に実験を実施した。

脳冷却は先行研究と同じく冷却開始から発作の完全な抑制までには時間が掛かるが最終的に異常脳波を十分に抑制し、冷却後には再び異常脳波が再発生するという可逆的現象を引き起こした。一方、icilinにおいては、薬物注入後、速やかに強力なてんかん様異常脳波の抑制効果を示したが、持続時間は数分間と短かった。

以上より、てんかん様異常脳波の抑制方法の一つとして、薬物と冷却を同時に実施することにより、急速な発作抑制効果を薬物で引き出しその後の持続的な抑制を冷却で実施するという方法が実現できればオンデマンドな発作抑制技術として電気刺激よりも効果的な方法となりうると考えられた。

### <引用文献>

Pezzoli et al., Dampened neural activity and abolition of epileptic-like activity in cortical slices by active ingredients of spices, Scientific Reports, 2014

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

### 〔雑誌論文〕(計1件)

Takao Inoue, Masami Fujii, Hiroyuki Kida, Toshitaka Yamakawa, Yuichi Maruta, Tatsuji Tokiwa, Yeting He, Sadahiro Nomura, Yuji Owada, Takeshi Yamakawa, Michiyasu Suzuki, Epidural Focal Brain Cooling Abolishes Neocortical Seizures in Cats and Non-human Primates, Neuroscience Research, 査読有, 122, 2017, 35-44  
doi: 10.1016/j.neures.2017.04.007

### 〔学会発表〕(計5件)

Takao Inoue, Yeting He, Sadahiro Nomura, Yuichi Maruta, Hiroyuki Kida, Toshitaka Yamakawa, Yuya Hirayama, Hirochika Imoto, Michiyasu Suzuki, Temperature-dependent alterations of bicuculline-induced generalized seizures by focal brain cooling, AES2016, 2016年

丸田雄一、井上貴雄、井本浩哉、児玉孝憲、野村貞宏、鈴木倫保、経験的モード分解 (EMD; empirical mode decomposition) データを用いた HFO 脳波解析、第 46 回日本臨床神経生理学会、2016年

井上貴雄、山川俊貴、野村貞宏、平山祐哉、庭山雅嗣、五島久陽、杉本至健、白尾敏之、山根亜希子、井本浩哉、鈴木倫保、多面的脳活動計測と局所脳冷却による病態脳制御技術の開発、第 3 回脳神経外科 BMI 懇話会、2016年

井上貴雄、清水俊吾、木田裕之、丸田雄一、井本浩哉、野村貞宏、鈴木倫保、長時間にわたる局所脳冷却がラット脳実質に及ぼす影響、第 39 回日本神経科学大会、2016年

井上貴雄、平山祐哉、野村貞宏、山川俊貴、丸田雄一、白尾敏之、井本浩哉、鈴木倫保、局所脳冷却によるてんかん治療、SSI2015 (計測自動制御学会 システム・情報部門 学術講演会) 2015年

〔図書〕(計 0 件)

なし

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

なし

取得状況 (計 0 件)

なし

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井上 貴雄 (INOUE, Takao)  
山口大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：80513225

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者  
なし