

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月22日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659681

研究課題名（和文） 海馬のてんかん発生に関わる神経ネットワークスケールの測定

研究課題名（英文） Neural network scale involved in genesis of hippocampal seizures

研究代表者

中里 信和 (NAKASATO NOBUKAZU)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：80207753

研究成果の概要（和文）： てんかん発生に関わる神経ネットワークの空間的広がりと大きさを描出する新しい技術の基礎的知見を得ることを目標に研究を行った。光感受性遺伝子（チャンネルロドプシン2）を用いた海馬の誘発てんかん発作モデルを用い、多点記録脳波を数理解析（Granger causality analysis）することで、海馬長軸方向の情報の流れ（information flow）がてんかん発作生成に重要であることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）： This study was aimed to investigate neural network dynamics involved in the genesis of epileptic seizures. We used optogenetically induced model of hippocampal seizures. Multi-contact local field potentials were recorded during induction of hippocampal seizures and the information flow was analyzed statistically. Granger causality analysis revealed importance of information flow along longitudinal hippocampal axis during genesis of epileptic seizures.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード： 機能脳神経外科学 てんかん

### 1. 研究開始当初の背景

てんかんの本態は神経ネットワークの機能的異常である。てんかんの有病率は1%と神経疾患の中でもきわめて高く、薬物治療が奏功しない25%の症例には外科治療が検討されるが、てんかん発生に関わる神経細胞のネットワーク異常そのものを描出する検査法は未だに存在しない。

臨床では形態学的画像診断が重視されるが、形態学的異常を伴わない難治てんかんが最

大40%存在する。例えば海馬に発生するてんかんの原因は、歯状回の細胞脱落と苔状線維の異常発芽として解剖学的に特徴づけられてきた。しかし最近の知見では、細胞脱落のない歯状回内でも mossy cell を介した興奮性フィードバックによって機能的にてんかん活動が生じうる事が判明した。神経細胞の異常興奮が形成する「ネットワーク異常」を空間的・時間的に高い精度で描出する機能画像の開発が必要とされている。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、てんかん発生に関わる神経ネットワークの空間的広がりと大きさを描出するための新しい診断技術について、基礎的知見を得ることである。

脳波の高次統計学的解析を応用し、てんかん発生過程に伴う活動の時間空間的動態を評価し、てんかん原性に関わる神経ネットワークの描出を試みる。これは、将来的にてんかんの新しい診断技術となる可能性があり、特に海馬のてんかん原性獲得機序に対して新たな知見を加える。

## 3. 研究の方法

### (1) 光刺激誘発発作の脳波解析

われわれが報告した脳内光誘発てんかんモデルを用いた ( $n = 3$ )。光感受性遺伝子 (チャンネルロドプシン 2) を神経細胞に導入した遺伝子改変ラットを用いて、ケタミン麻酔下に海馬に光ファイバーを導入し、470nm 青色光を 10 Hz および 20 Hz の周波数で間欠的に 10 秒間照射しててんかん発作を誘発した。海馬長軸に並行に多点電極 (150  $\mu\text{m}$  間隔、16 極) を刺入して、てんかん発作発生時の脳波を同時測定した。このモデルは、刺激による雑音なくてんかん発作発生時の脳波を記録できるのが利点である。

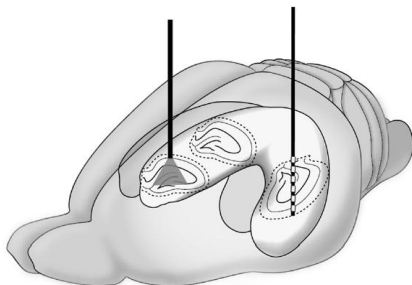


図 1. 実験モデル. 背側海馬に光ファイバーを挿入し、誘発したてんかん発作脳波を長軸に刺入した多点電極で測定.

近接する電極間 (距離 450  $\mu\text{m}$  以下) において脳波の coherence と Granger causality を算出した。Granger causality は、海馬の腹側から背側方向および背側から腹側方向について求められるが、方向の優位性について指数を算出した (Granger index)。

(2) Mn 増強 MRI による賦活域の検討: Mn が電位依存性 Ca チャンネルによって神経細胞に取り込まれる特性を利用して、神経活動の賦活域を空間的に画像化した。Mn 80mg/kg を腹腔内投与した 4 時間後に、研究①で用いた海馬誘発てんかん発作モデルを用いて海馬のてんかん発作を 10 回誘発した ( $n = 4$ )。Mn 投与から光ファイバーを刺入し光刺激を行わない群をコントロールとして用意した ( $n = 4$ )。Mn 投与から 24 時間後に T1 強調像の MRI を撮像し、高信号変化として脳の賦活領域を評価した。

## 4. 研究成果

(1) 海馬におけるてんかん発作誘発時の脳波を、雑音の混入無く記録可能であった。発作の誘発前、光刺激中、発作終了にかけて、coherence は進行性に上昇する傾向があった。Granger causality は、発作開始時に刺激部から遠位方向に高まり、発作の終了に向けて逆転する傾向が見られた。Coherence と Granger index をプロットすると、てんかん発作の発生は、①安静時、②発作開始、③発作終了、の 3 つの状態に特徴づけられた。

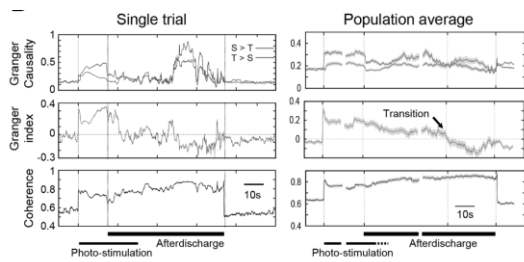


図 2. 発作の開始から終了における coherence と Granger causality の時間経過

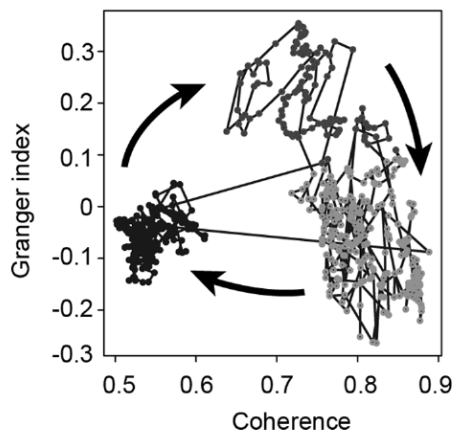


図 3. Coherence と Granger index の遷移によって、てんかん発作の発生は3つの状態に特徴づけられた。

(2) 海馬誘発てんかん発作後の Mn 増強 MRI は、刺激側海馬の高信号変化として観察された。高信号変化は海馬全長にわたって見られ、さらに対側海馬から同側新皮質領域に広く観察された。

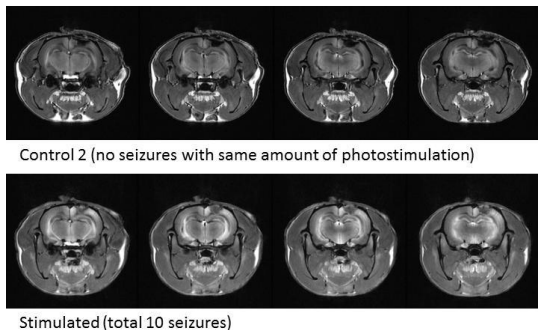


図 4. コントロール (上段) およびてんかん発作誘発後 (下段) の Mn 増強 MRI

本研究から、海馬におけるてんかん発作生成に海馬長軸方向の神経ネットワークが重要な役割を担っており、その時間空間的動態を統計学的に示すことができた (図 4)。また、MRI を併用することで、てんかん発作に関わる神経ネットワークの空間的広がりを描出することが可能であった。

てんかん発作の抑制には、海馬長軸方向の神経線維離断が有効であることを支持する研究結果である。ネットワーク病として新しいてんかん治療戦略への応用が期待される。

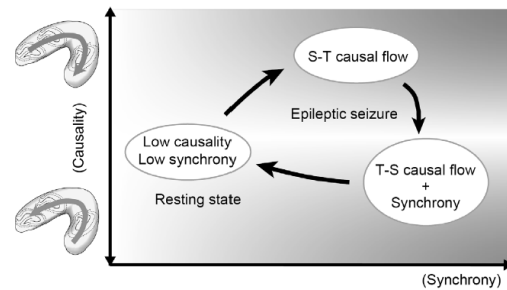


図 5. てんかん発作発生における海馬の状態遷移。発作の開始時は、刺激部から遠位方向に情報の流れが高まり、発作の終了に向けてそれが逆転する傾向が見られた。一方、活動の同期性は発作の終了に向けて進行性が高まる。

## 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 2 件)

- Osawa S, Iwasaki M, Hosaka R, Matsuzaka Y, Tomita H, Ishizuka T, Sugano E, Okumura E, Yawo H, Nakasato N, Tominaga T, Mushiake, H. Optogenetically induced seizure and the longitudinal hippocampal network dynamics. PloS One 8:e60928, 2013.

doi:10.1371/journal.pone.0060928 (査読有り)

2. Okumura E, Iwasaki M, Sakuraba R, Itabashi I, Osawa S, Jin K, Itabashi H, Kato K, Kanno A, Tominaga T, Nakasato N. Time-varying inter-hemispheric coherence during corpus callosotomy. Clin Neurophysiol, 2013. (in press) doi: 10.1016/j.clinph.2013.05.004 (査読有り)

[学会発表] (計2件)

1. 2013年1月17日 第36回日本てんかん外科学会 シンポジウム口演(岡山). 大沢伸一郎、岩崎真樹、保坂亮介、松坂義哉、富田浩史、石塚徹、菅野江里子、奥村栄一、八尾寛、中里信和、虫明元、富永悌二: オプトジェネティクスを用いた海馬発作モデルにおける神経ネットワークの状態遷移.
2. Dec 1, 2012 66th Annual Meeting of American Epilepsy Society (San Diego, CA, USA) "A novel hippocampal seizure model using optogenetics", by Shin-ichiro Osawa, Masaki Iwasaki, Ryosuke Hosaka, Yoshiya Matsuzaka, Hiroshi Tomita, Toru Ishizuka, Eriko Sugano, Eiichi Okumura, Hiromu Yawo, Nobukazu Nakasato, Teiji Tominaga, Hajime Mushiake

[その他]

ホームページ等

<http://www.epilepsy.med.tohoku.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中里 信和 (NAKASATO NOBUKAZU)

東北大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号: 80207753

### (3) 連携研究者

神 一敬 (JIN KAZUTAKA)

東北大学・大学院医学系研究科・講師  
研究者番号: 20436091

岩崎 真樹 (IWASAKI MASAKI)

東北大学・病院・助教

研究者番号: 00420018