

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293209

研究課題名(和文) ヒトてんかん焦点の発動原理のダイナミズム(wideband EEGのミクロ視野)

研究課題名(英文) Generator mechanisms of ictal dynamic system in human epileptogenic zone by wide-band EEG

研究代表者

池田 昭夫 (Ikeda, Akio)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90212761

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 7,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、てんかん焦点におけるてんかん発作の発現のダイナミズムを、主に神経細胞とグリア相互の機能連関の視点から明らかにした。即ち、てんかん発作時の解析から、DC電位とHF0が、てんかん焦点の中核領域に出現し、DC電位が高周波律動にしばしば先行すること、この傾向が内側側頭葉てんかんと比較して、新皮質てんかんで顕著であることを明らかにした。慢性のてんかん焦点ではグリアがてんかん発作の開始において神経細胞の爆発的興奮に先行して活動して、発作を惹起していることが強く示唆された。以上から、世界で初めて臨床データでDC電位に能動的と受動的DC電位の概念を導入することが実データに基づき成功した。

研究成果の概要(英文)： Ictal DC shifts occurred earlier than or as early as ictal HFO significantly. It could suggest more active role of glia in not only generating DC shifts but also presumably in ictogenesis. It is hypothesized as “the active DC shifts” as opposed to “the passive DC shifts” in acute symptomatic seizures. Namely, potassium homeostasis with Kir4.1 channel activity in the astrocytes as the functional syncytium may play an important role not only after seizure but also immediately before seizure generation. Glia may be an also a target of the drug to suppress the seizures and an potential index of epileptogenic area from both electrophysiological and neuroimaging points of view.

Furthermore, beyond both ictal DC and HFO, interictal state of DC or slow shifts and HFO in combination may be a next concern, because interictal information still have a room to delineate the epileptogenicity, as previously raised but failed concept of “red spike” as opposed to “green- and yellow spike”.

研究分野：臨床てんかん学

キーワード：脳神経疾患 臨床神経生理学 てんかん グリア 大脳皮質

1. 研究開始当初の背景

近年てんかん焦点においてグリア細胞の興奮性すなわちアミノ酸および細胞外カリウム増加に対する緩衝機能の障害が指摘され、てんかん焦点の発現と難治化にグリア細胞の関与の可能性が示唆されている。てんかん焦点でほぼ必ずグリオシスを認めることは周知の事実であり、グリア細胞の機能異常がこれらの重要な修飾因子であることが強く予想される。またヒトてんかん焦点からのユニット記録による微小発作から臨床発作への移行に関する研究が行われているが、異常神経活動の単なる漸増現象のみで、臨床発作に至らない。その解離の原因についてグリアの関与が大きいことが強く示唆されている。しかしヒトのてんかんにおけるグリア細胞の病的意義は具体的に解明されていない。

2. 研究の目的

本研究では、てんかん焦点におけるてんかん発作の発現のダイナミズムを、主に神経細胞とグリア相互の機能連関の視点から明らかにする。具体的な研究目的は以下である。

- (1) ヒト脳波記録において近年同定された、①グリア細胞活動を反映する DC 電位、②脳内細胞の活動電位を反映する高周波律動 (high frequency oscillation : HFO) のマクロ記録に置ける相関を明らかにする。
- (2) 実験動物でのマイクロ記録においててんかん焦点における発作時の両者の役割と関連を明らかにする。
- (3) てんかん外科によって摘出された難治てんかん焦点の病理標本と上記①・②との関連を検討し、電気活動の背景にある病態を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 広域周波数脳波解析からの発作時 DC 電位、高周波律動 (HFO) の記録解析：硬膜下電極の慢性留置を行なった難治部分てんかん患者において、標準化周波数 1000 あるいは 2000 Hz、時定数 10 秒で皮質脳波を記録、てんかん発作直前・直後の発作間欠期 (前後とも 30 分間) に観察範囲を拡張して、低周波及び高周波数帯域の活動の空間的局在、時間的動態について解析を行なった。てんかん焦点の局在及び発作開始時点は、皮質脳波を含めた臨床所見に基づいて総合的に同定した。またこのデータに対して脳内発生源推定ソフト (sLORETA) を用いて、脳内発生源をより正確に推定する信号としての DC 電位の信頼度を検証した。

(2) 非侵襲的計測による発作時 DC 電位の記録解析：てんかんの診断、難治部分てんかんの術前評価目的で、頭皮上長時間ビデオ脳波モニタリングを施行した患者を対象に発作時脳波を時定数 10 秒で記録し、

発作時 DC 電位の解析を開始した。

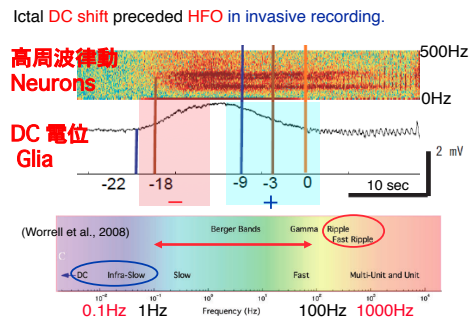
(3) ミクロ電極からの記録：ピロカルピン投与でのラットのけいれんモデルと、てんかんモデル動物 (常染色体優性外側側頭葉てんかんモデルラット) におけるマイクロ及びマクロ脳波記録と免疫組織化学的解析を行った。

(4) 手術症例での DC 電位の発現と病理所見の相関を検討した。

4. 研究成果

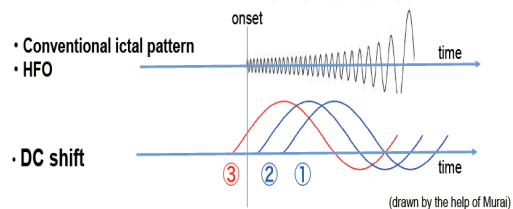
(1) ヒトてんかん患者における侵襲的計測による広域周波数脳波解析 (DC 電位、高周波律動 (HFO) の記録解析) :

a) てんかん発作時の解析から、DC 電位と HFO が、てんかん焦点の中核領域に出現し、DC 電位が HFO にしばしば先行すること、この傾向が内側側頭葉てんかんと比較して、新皮質てんかんで顕著であることを明らかにした。この結果は長年に薬剤難治の部分てんかん患者の脳内電極での記録結果に基づいている。すなわち、慢性のてんかん焦点ではグリアがてんかん発作の開始において神経細胞の爆発的興奮に先行して活動して、発作を惹起していることが強く示唆された (以下の図)。



一方急性症候性発作においては、その限りではなく、むしろ HFO あるいは通常の発作時脳波変化が先行して発作時 DC 電位が後続した。b) 以上から、世界で初めて臨床データで DC 電位に能動的と受動的 DC 電位の概念を導入することが実データに基づき成功した (以下の図)。

Hypothesis of active vs. passive DC shift in the ictal period



	③ Active DC shift	② ① Passive DC shift
Clinical state	Chronic epilepsy	Acute symptomatic seizure

c) さらに発作時のみならず、発作間欠期にもグリアとニューロンの病的相互作用がてんかん焦点に存在する可能性を示した。多数例での解析を効率的に進めるために緩電位と HFO の共起を自動検出するプログラムを開発し、視察の結果と一致することを示した

(国内学会発表)。これにより、従前からは脳波での徐波は専ら大脳皮質の機能低下の指標として鹿捕らえられていなかった臨床脳波の常識を覆し、てんかん性徐波という概念を明確にすることができ、red slow と称することを臨床脳波学において提唱することができた。

d) 脳内発生源推定ソフト (sLORETA) を用いた発作時 DC 電位、HFO の 3 次元電流源推定を多数例で行い、HFO よりも DC 電位の電流源が画像・脳磁図による病変とより合致することを明らかにした (国内学会発表)。

e) 低周波数と高周波数の相互作用を位相振幅カップリングの手法で解析し、正常皮質・てんかん原性皮質ともに覚醒時と比較して徐波睡眠期に異周波数間結合が強まることを示した。以上から、DC 電位の発現機構のグリアと HFO 発現機構の神経細胞群の関係を難治てんかん患者データで明らかにでき、てんかん焦点では発作準備状態の神経細胞にグリアが発作開始を惹起することが強く示唆された。

(2) ミクロ電極からの記録：ピロカルピン投与でのラットのけいれんモデルと、てんかんモデル動物 (常染色体優性外側側頭葉てんかんモデルラット) におけるミクロ及びマクロ脳波記録に着手し、てんかん発症過程において、グリア細胞のカリウム緩衝機能が障害されていることを免疫組織化学的に明らかにした (国内学会発表)。また発作時 DC 電位はモデル動物でも記録されかつ受動的と能動的 DC 電位が成立した。(3) 手術症例での DC 電位の発現と病理所見の相関：手術症例で DC 電位および HFO の発現部位とニューロン・グリアの病理所見を解析し DC 電位の出現する焦点部位に一致してアストロサイトのカリウム緩衝機構に直接関与する以上所見が得られた (未発表)。

以上の結果から、ヒトの難治のてんかん焦点におけるグリアの能動的関与を脳波所見、動物実験、病理所見から実証的に証明でき、今後の臨床てんかん学の発展のみならず創薬、焦点検索方法など、あらゆる局面において画期的な情報を提供することができた。

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 19 件)

1. Moyer JT, Gnatkovsky V, Ono T, Otáhal J, Wagenaar J, William C. Stacey W, Noebels J, Ikeda A, Staley K, de Curtis M, Litt B, Galanopoulou AS: Standards for data acquisition and software-based analysis of in vivo electroencephalography recordings from animals: report from the ILAE-AES joint translational task force,

Epilepsia (in press) 査読有

2. Zijlmans M, Worrell G, Duempelmann M, Stieglitz T, Barborica A, Heers M, Ikeda A, Usui N, Le Van Quyen M: How to record high frequency oscillations in epilepsy: a practical guideline, *Epilepsia* (in press) 査読有
3. Shilpa K, D'Ambrosio R, Duveau V, Roucard, Corinne R, Garcia-Cairasco N, Ikeda A, de Curtis M, Galanopoulou A, Kelly K: Methodological standards and interpretation of video-EEG in adult control rodents. A TASK1-WG1 report of the AES/ILAE Translational Task Force of the ILAE, *Epilepsia* (in press) 査読有
4. Raimondo JV, Heinemann U, de Curtis M, Goodkin HP, Dulla CG, Janigro D, Ikeda A, Lin CCK, Jiruska P, Galanopoulou AS, Bernard C, TASK1-WG4 group of the AES/ILAE Translational Task Force of the Neurobiology Commission of the ILAE: Methodological standards for in vitro models of epilepsy and epileptic seizures, *Epilepsia* (in press) 査読有
5. Borgil B, Matsuhashi M, Fumuro T, Nohira H, Nakano N, Iida K, Katagiri M, Shimotake A, Matsumoto R, Kikuchi T, Kunieda T, Kato A, Takahashi R, Ikeda A: We could predict good responders to vagus nerve stimulation: a surrogate marker by slow cortical potential shif. *Clin Neurophysiol* (in press) 査読有
6. Imamura H, Matsumoto R, Takaya S, Nakagawa T, Shimotake A, Kikuchi T, Sawamoto N, Kunieda T, Mikuni N, Miyamoto S, Fukuyama H, Takahashi R, Ikeda A. Network specific change in white matter integrity in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 2016, 120:65-72. 査読有
7. Inoue Y, Yagi K, Ikeda A, Sasagawa M, Ishida S, Suzuki A, Yoshida K; Japan Levetiracetam N01221 Study Group: Efficacy and tolerability of levetiracetam as adjunctive therapy in Japanese patients with uncontrolled partial onset seizures. *Psychiatry Clin Neurosci* 2015, 69: 640-648. doi: 10.1111/pcn.12300. 査読有
8. Shibata S, Kunieda T, Inano R, Sawada M, Yamao Y, Kikuchi T, Matsumoto R, Ikeda A, Takahashi R, Mikuni N, Takahashi J, Miyamoto S: Risk factors for infective complications with long term subdural electrode implantation in patients with medically intractable partial epilepsy. *World Neurosurg* 2015, 84: 320-326. doi: 10.1016/j.wneu.2015.03.048. 査読有
9. Fumuro T, Matsuhashi M, Miyazaki T, Inouchi M, Hitomi T, Matsumoto R, Takahashi R, Fukuyama H, Ikeda A: Alfaband desynchronization in human parietal area during reach planning. *Clin*

- Neurophysiol 2015, 126: 756-762. 査読有
10. Fumuro T, Matsumoto R, Shimotake A, Matsuhashi M, Inouchi M, Urayama S, Sawamoto N, Fukuyama H, Takahashi R, Ikeda A: Network hyperexcitability in a patient with partial reading epilepsy: converging evidence from magnetoencephalography, diffusion tractography, and functional magnetic resonance imaging. Clin Neurophysiol 2015, 126: 675-681. 査読有
 11. Hashi S, Yano I, Shibata M, Masuda S, Kinoshita M, Matsumoto R, Ikeda A, Takahashi R, Matsubara K: Effect of CYP2C19 polymorphisms on the clinical outcome of low-dose clobazam therapy in Japanese patients with epilepsy. Eur J Clin Pharmacol 2015, 71: 51-58. 査読有
 12. Kanazawa K, Matsumoto R, Imamura H, Matsuhashi M, Kikuchi T, Kunieda T, Mikuni N, Miyamoto S, Takahashi R, Ikeda A: Intracranially recorded ictal direct current shifts may precede high frequency oscillations in human epilepsy. Clin Neurophysiol 2015, 126: 47-59. 査読有
 13. Hashi S, Yano I, Shibata M, Masuda S, Kinoshita M, Matsumoto R, Ikeda A, Takahashi R, Matsubara K: Effect of CYP2C19 polymorphisms on the clinical outcome of low-dose clobazam therapy in Japanese patients with epilepsy. Eur J Clin Pharmacol, 2015, 71: 47-59 査読有
 14. Yamao Y, Matsumoto R, Kunieda T, Shibata S, Shimotake A, Kikuchi T, Satow T, Mikuni N, Fukuyama H, Ikeda A, Miyamoto S: Neural correlates of mirth and laughter: a direct electrical cortical stimulation study. Cortex 2015, 66: 134-140, 査読有
 15. Fumuro T, Matsuhashi M, Miyazaki T, Inouchi M, Hitomi T, Matsumoto R, Takahashi R, Fukuyama H, Ikeda A: Alpha-band desynchronization in human parietal area during reach planning. Clin Neurophysiol 2015, 126: 756-762, 査読有
 16. Fumuro T, Matsumoto R, Shimotake A, Matsuhashi M, Inouchi M, Urayama S, Sawamoto N, Fukuyama H, Takahashi R, Ikeda A: Network hyperexcitability in a patient with partial reading epilepsy: Converging evidence from magnetoencephalography, diffusion tractography, and functional magnetic resonance imaging. Clin Neurophysiol 2015, 126: 675-681 査読有
 17. Kanazawa K, Matsumoto R, Imamura H, Matsuhashi M, Kikuchi T, Kunieda T, Mikuni N, Miyamoto S, Takahashi R, Ikeda A: Intracranially-recorded ictal direct current shifts may precede high frequency oscillations in human epilepsy. Clin Neurophysiol 2015, 126: 47-59. 査読有
 18. Kanazawa K, Matsumoto R, Shimotake A, Kinoshita M, Otsuka A, Watanabe O, Tanaka K, Takahashi R, Ikeda A: Persistent frequent subclinical seizures and memory impairment after clinical remission in smoldering limbic encephalitis. Epileptic Disord 2014 Sep; 16(3): 312-7 査読有
- [学会発表] (計 10 件)
1. Ikeda A: Advanced techniques in HFO analysis. (symposium) Workshop HFOs and the Epileptogenic Zone, 11th Asian & Oceanian Epilepsy Congress(AOEC) (2016/05/13-16, Hongkong, China)
 2. Ikeda A: Exploring the mysteries of EEG: Can infraslow and DC shift improve epilepsy treatment? (招待講演) The Masakazu Seino Memorial Lecture, 11th Asian & Oceanian Epilepsy Congress(AOEC) (2016/05/13-16, Hongkong, China)
 3. Ikeda A: HFO synchronization and epilepsy network, Parallel session Stereo-EEG and Brain Networks (symposium), 11th Asian & Oceanian Epilepsy Congress(AOEC) (2016/05/13-16, Hongkong, China)
 4. Ikeda A: Glia, DC shifts/red slow, and epilepsy (招待講演), 2016 Annual Meeting of Korean Neurological Association (4th to 5th of November 2016 1, Seoul, Korea)
 5. Ikeda A, Matsumoto R, Kunieda T, Yamao Y, Kikuchi T: Intraoperative, higher cortical function monitoring (symposium), Intraoperative neuromonitoring(IONM) Satellite Symposium, 016 Annual Meeting of Korean Neurological Association (Nov 4, 2016, Seoul)
 6. Ikeda A: EEG biomarker of epilepsy (symposium), CAO-AOEC Joint Symposium at the 10th AESC, 10th Asian Epilepsy Surgery Congress (AESC) (Nov 5, 2016, Songdo, Korea)
 7. Ikeda A: Interictal slow shifts by macroinvasive electrodes, Consensus for recording and analysis of wide-band EEG in clinical epilepsy (symposium), Annual meeting of American Clinical Neurophysiology Society, (Feb 11, 2017, Phoenix, AZ, USA)
 8. Ikeda A, et al: Cortico-cortical Evoked Potentials -a practical review, (symposium), Annual meeting of American Clinical Neurophysiology Society, (Feb 11, 2017, Phoenix, AZ, USA) Ikeda A: Epileptic slow shifts: neocortical epilepsy, How to record & analyze wide-band EEG in clinical epilepsy. slow shifts & HFO Skills workshop. (招待講演) 2015 American Clinical Neurophysiology Society (ACNS) Annual meeting (2015 年ア

メリカ臨床神経生理学会) (2015/2/3-8, Houston, USA)

9. Ikeda A: Newly identified temporal lobe epilepsies: amygdala enlargement, autoimmune epilepsy, autosomal dominant lateral temporal lobe epilepsy (ADLTE). (招待講演) Joint Workshop by Japanese Society of Neurology(JSN) and Indonesian Society of Neurology (ISN), RSCM (2015年日本神経学会インドネシア神経学会合同ワークショップ) (2015/3/24-25, Jakarta, Indonesia)
10. Ikeda A: Hands on and case discussion. (招待講演) Joint Workshop by Japanese Society of Neurology (JSN) and Indonesian Society of Neurology (ISN), RSCM (2015年日本神経学会インドネシア神経学会合同ワークショップ) (2015/3/24-25, Jakarta, Indonesia)

[図書] (計 7 件) 編集図書のみ記載

1. てんかんフロンティア、未来への new trend, 鶴紀子、田中達也、池田昭夫(編)、新興医学、東京、2017, 総計 141 ページ.
2. 池田昭夫主編集: 松本理器, 人見健文副編集: デジタル脳波記録・判読の手引き. 東京, 診断と治療社, 2015, 総計 102 ページ.
3. 兼本浩祐主編集: 池田昭夫ら副編集: 臨床てんかん学. 東京, 医学書院, 2015, 総計 671 ページ.
4. 中里信和総監修: 池田昭夫ら監修: 神経救急・脳神経外科周術期におけるてんかん発作の管理 ホスフェニトインによる実践集, 東京, ライフ・サイエンス, 2015, 総計 209 ページ.
5. 池田昭夫企画: 特集てんかん医療の多様な展開: 基礎から臨床まで 最新医学, 2015, 70, 総計 106 ページ.
6. 池田昭夫主編集; 松本理器、木下真幸子副編集: 症例から学ぶ戦略的てんかん診断・治療. 東京、南山堂、2014, 総計 242 ページ.
7. 日本てんかん学会 (亀山茂樹、馬場啓治主編集; 池田昭夫、副編集): てんかん専門医ガイドブック てんかんにかかわる医師のための基本知識. 東京、診断と治療社、2014, 総計 303 ページ.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

てんかん・運動異常生理学講座のホームページにて研究成果、業績等を発信している。

<http://epilepsy.med.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田昭夫 (IKEDA, Akio)
京都大学・医学研究科・教授
研究者番号: 90212761

(2) 研究分担者

松本理器 (MATSUMOTO, Riki)
京都大学・医学研究科・准教授
研究者番号: 00378754
岡田知久 (OKADA, Tomohisa)
京都大学・医学研究科・准教授
研究者番号: 30321607
國枝武治 (KUNIEDA, Takeharu)
愛媛大学・医学研究科・教授
研究者番号: 60609931
人見健文 (HITOMI, Takefumi)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号: 50402904
井内盛遠 (INOUCHI, Morito)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号: 30532600
小林勝哉 (KOBAYASHI Katsuya)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号: 70737121

(3) 連携研究者

松橋真生 (MATSUHASHI, Masao)
京都大学・脳機能総合センター・准教授
研究者番号: 40456885

(4) 研究協力者

なし