

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462208

研究課題名(和文) 脳梁刺激による皮質興奮性の制御の試み

研究課題名(英文) The effect of corpus callosal stimulation on epileptic cortical hyperexcitability

研究代表者

押野 悟 (Satoru, Oshino)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：40403050

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、抑制性白質線維の電気刺激で、てんかんにおける皮質の異常興奮性を制御できないかを動物実験で検証したものである。全身麻酔下に、ネコのペニシリン誘発性のてんかん性異常波が脳梁刺激で変化するかを計測したが、明らかな抑制効果は確認されなかった。逆に一部の刺激条件で異常波が増幅する結果が得られた。これらより、脳梁線維が皮質の興奮性に影響するという仮説は実証されたが、人工的な電気刺激では生理的な抑制作用が逆に阻害される可能性が示唆された。今回の貴重な経験から、白質刺激を用いることで、てんかん波が遠隔に伝播するメカニズムを解明できる可能性があるかと推察し、来年度以降の研究に応用する予定である。

研究成果の概要(英文)：Corpus callosum is the largest bundle of white matter and which consists of mainly inhibitory fiber. We studied whether there were some inhibitory effects of corpus callosum stimulation on epileptic cortical hyper-excitability. Using cat model under general anesthesia, we recorded "Penicillin induced epileptic discharge" and its change under the stimulation of corpus callosum. As a result, we could not find certain inhibitory change on the epileptic discharge. Conversely, the epileptic discharge was increased by stimulation in some of the cases, although the parameters of stimulation were varied. These results indicates that corpus callosum stimulation has certain impact on cortical excitability, but electrical stimulation with the parameters we have attempted does not induced its physiological inhibitory effect. This interesting findings lead us to apply this model to new research, which investigates epileptic propagation through white matter.

研究分野：脳神経外科

キーワード：機能脳神経外科 てんかん

1. 研究開始当初の背景

てんかんの有病率は1.0%と高く、その20-30%が薬剤抵抗性である。それら難治性てんかんに対して外科治療が検討されるが、内側側頭葉てんかん以外の病態ではまだ効果が確立されていない。特に器質的病変がない前頭葉や頭頂葉てんかん例では、限局した領域に発作焦点が推定されても、機能障害が危惧されるため広範囲の切除ができず、結果てんかんの制御も不十分となる例も少なからず経験する。

てんかんの外科治療では焦点切除や離断が主流であるが、他の機能的脳神経外科の領域では、それらの破壊的手法に代わり、深部脳刺激(DBS)を中心としたニューロモデュレーションと呼ばれる治療法が発展、普及してきた。特にパーキンソン病やジストニアに対しては、従来破壊できなかった部位を電気刺激することで著しい臨床効果が得られている。てんかんに対しては視床を標的としたDBSが臨床応用され一定の効果が報告された¹が、まだ治療法として普及していない。

本研究は、ニューロモデュレーションの手法でてんかん焦点周囲の皮質抑制機能を強化し、発作を制御しようとする着想のものである。そして、その刺激部位として白質線維、特に脳梁を選択した。脳梁は左右の大脳半球を連結する最大の交連線維束であり、その連絡は半球の広範囲に及ぶ。てんかん外科ではこの脳梁を切断する「脳梁離断術」が行われるが、その手術前後でのてんかん性異常波の出現様式を脳磁図で解析したところ、両側対称性だった棘波が消失するのみならず、離断された脳梁線維が分布する領域で棘波の形態や局在が大きく変化した²。このことから脳梁線維が皮質の興奮性に大きく影響することが推察される。

左右の大脳半球間には脳梁を介した抑制/促進の相互作用があり、例えば片手の運動時に観察される両側対称性の皮質活動に深く関与していると考えられている。本研究代表者は脳主幹動脈閉塞性病変を有する患者に通常とは逆に運動と同側半球に過剰な帯域の脱同期(ERD)が検出される現象を見出し、虚血病変側からの脳梁を介した抑制機能の障害が要因と考察した³。また一次運動野近傍にてんかん焦点を有する患者群で手や口の運動時に同部位の異常棘波が減衰すること、そして棘波の減衰と運動時のERDの強度に相関がみられることも報告した⁴。これは運動企図により脳梁を介した皮質抑制作用が増強し、てんかん性活動が抑制されたと考えられる。

これらの先行研究から、脳梁線維が本来持つ抑制機能を、電気刺激により増強させることで、てんかんにみられる異常興奮性を制御できないかという着想に至り、本研究を開始した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、白質刺激でてんかんに伴う大脳皮質の異常興奮性を抑制できないかを動物実験で検証することであった。刺激する白質線維として脳梁を選択し、実験にはてんかんモデルがあり、かつ脳梁に直接手術操作を加えることができるネコを用いることとした。まず上記の実験のためのシステム、器具の調達と実験系の確立、その後、それらを用いて実際の脳梁刺激の効果を観察した。

3. 研究の方法

実験は大阪大学医学部附属動物実験施設で承認された計画書に基づいて実施した。尚、当初はレーザースペックルによる皮質血流の同時計測を検討していたが、予算の関係から脳波変化の観察、解析を主とした。

成ネコ(3-5 kg)を用い、前投薬で鎮静後、気管内挿管・全身麻酔管理下とした。頭部を定位装置に固定し、正中の皮膚切開の後、両側に開頭を設け、脳表を露出した。まず、専用のシート電極を用いて皮質脳波を計測し、コントロールとした。次いで、手術顕微鏡を用いて半球間裂から脳梁表面に到達し、刺激電極を設置した。左側半球の脳表にペニシリンG溶解液(40,000I.U./ml)を10 μ lずつ、皮質内(深度1.0-1.5mm)に注入した。

注入後5-10分で注入側に棘波を主体としたてんかん性異常波が観察され、15-20分対側半球にも同様の棘波が観察された。

次に脳梁の電極に種々の条件下で電気刺激を与え、皮質脳波の変化を観察した。刺激条件には、周波数、パルス幅、電流値などの項目があり、初回の数回の実験で試行錯誤した結果、パルス幅は100 μ s、電流値は1mAにして周波数のみを1, 5, 10, 25, 50Hzと変化させ、5分間の刺激中と、刺激後5分間の脳波変化を観察・記録し、オフラインで解析した。

実験器具、電極などに改良を加え、計6回実験を実施した。

4. 研究成果

実験の進行と結果

初年度は、幾つかのシミュレーションを経て、皮質脳波計測と脳梁刺激用の電極を作成し、1例目の実験で皮質脳波が計測できるか(電極の形状、実験室の環境、ノイズなど)、

脳梁に到達し刺激電極を留置できるか、また留置後も安定して刺激できるか、想定した皮質てんかんモデルで棘波などの異常波が観察されるか等を確認した。

実験室の環境、皮質脳波の計測などには問題はなく、予定通り計測できた。脳梁刺激用電極は、先端が2極のボール状で、定位装置で把持できるシャフトがある型のものを作成したが、実際は脳の拍動により電極の接触が不安定になることが判明した。そのため、画鋲型の刺入電極を作成し、シャフトを固定

するのではなく柔らかいリード線のものに改良した(図1・左)。

次年度は、上記を刺激電極用いて2例に実験を実施した。電極を刺入すること、及びその後の固定は安定したものの、2例目では半球間の癒着により脳梁の露出自体が難しく、3例目は脳梁表面に動脈が走行していたため、予定した部位に刺入できなかった。半球間裂の形状の個体差が想定以上に大きかったこと、また手術操作自体の難易度が高く、電極を毎回脳梁の同じ位置に刺入するのは難しいことが判明した。またこの2例で、脳梁の刺激部位と皮質との生理学的な連絡を確認する、誘発電位(加算波形)やオシロスコープで観察したが、残念ながら刺激に伴う反応は得られなかった。脳梁と脳表との線維連絡を実験中に短時間で同定することは難しいと判断した。これらの経験から、計測用電極を大型にし、脳表を広く覆うことで、脳梁と連絡する脳表部位を網羅することとした。また3例ともペニシリンの投与で投与側には速やかにてんかん性異常波が出現したが、その程度、持続時間には個体差があった。また反対側に棘波はみられるものの、一過性で消失するものから重積波形になるものまで差は大きく、脳波をモニタリングしながらペニシリンの投与量を調整する必要があると考えた。そのため、ペニシリン投与用の孔を設けたシート電極に改良した(図1・右)。

また、半球間裂を剥離する際の実験器具や
血圧モニター器具なども更新した

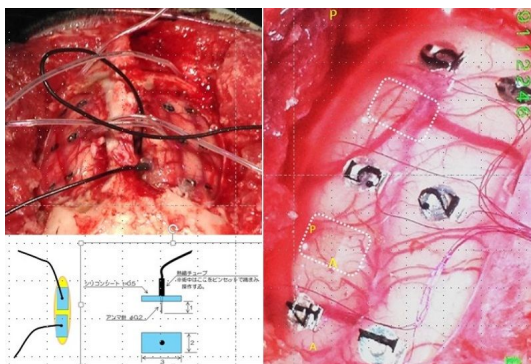


図1 刺激・計測用電極の工夫

脳梁刺激には画鋸型の刺入電極を用いることで、脳の拍動に対しても安定して刺激できるようになった。脳表計測用のシート電極にはシリコン部に操作孔を設けることで、脳波を計測しながらペニシリン投与量を調整できるようになった。

最終年度は、改良した上記の器具を用いて3例に実験を実施した。実験自体は予定通り遂行でき、脳梁に安定して刺激を与えることができた。脳梁を1,5,10,25,50Hzの周波数で5分ずつ刺激したが、ペニシリンで誘発された両側性の棘波の振幅や頻度が減少するといった抑制性的変化は観察されなかった。一

方で、刺激後により明らかに棘波の形状が変化し頻度が増すという現象が2例で観察された。またH27年度に実施した1例でも同現象は観察されたが、刺激条件は1Hzの例もあれば5Hz以上で複数回観察された例もあり一定の傾向はなかった。背景脳波に見られる変化としては、刺激後は刺激前と比較して、高周波成分が増す傾向が観察されたが、個体差が大きく統計学的な比較については現在検討中である。

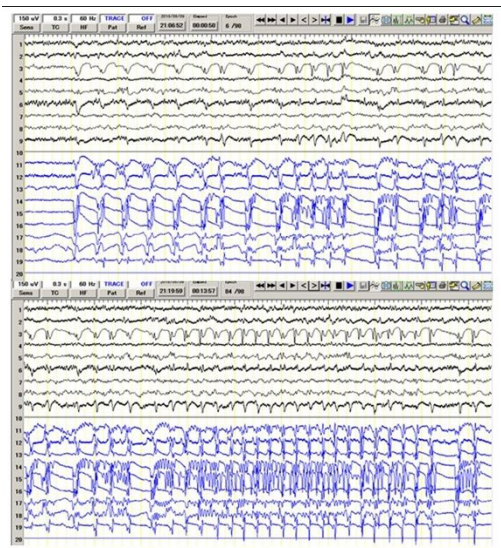


図2 脳梁刺激前(上)と刺激後(下)の皮質脳波(双極誘導)

各脳波は上9列がペニシリン投与の反対半球、下9列が投与側で双極誘導で表示した。下段は1Hzでの刺激終了後4分での波形で、上段でみられた高振幅棘波の頻度が増し、その高振幅棘波の間に、形状の異なるより高周波の棘波が出現した。同現象はペニシリン非注入側でもみられた。背景脳波では20Hz以上の高周波帯域の活動が増していた。

まとめと考察

本研究では、まず全身麻酔下にネコを用いて脳梁を刺激しつつ皮質脳波を計測する実験系を確立した。ペニシリンの皮質内投与でてんかん性異常波を誘発し、脳梁刺激によりそれらが抑制される結果を期待したが、残念ながら同所見は確認されなかった。

今回は既報⁵に則りペニシリン誘発のてんかん性異常波を対象としたが、同手法では恐らく組織内に化学的で非可逆的な変化が生じるため、てんかん原性が強すぎた、つまり白質刺激による抑制効果では制御できない程度であった可能性も考えられた。そのため、非注入側に波及した異常波も評価対象としたが、既報と異なり、非注入側に波及した棘波の頻度、程度の個体差も大きかった。

逆に一部の例でてんかん性異常波が増強するという興味深い現象が観察された。背景活動にも変化が生じたことから、脳梁を刺激することで皮質興奮性が変化するという

仮説は実証されたと考えられる。つまり、人工的な電気刺激では脳梁線維が持つ生理的な抑制効果を誘発することはできず、逆に阻害される可能性が推察された。今回は、刺激のパラメーターのうち、周波数以外のパルス幅や強度（電流値）は一定にせざるを得なかったが、特にパルス幅の白質線維に対する影響なども今後検討する必要がある。実臨床のてんかん頭蓋内脳波では、白質を介し遠隔部への発作波が伝播する現象が観察される。脳梁刺激で、皮質興奮性が高まるのであれば、てんかんの伝播に関しても白質を介した興奮性の変化が先行する可能性があるとして推察される。今回の実験系、知見を用いて、てんかん波が遠隔に伝播するメカニズムを解明できる可能性があるとして推察し、来年度以降の研究に応用する予定である。

引用文献

Fisher R, et al. Electrical stimulation of the anterior nucleus of thalamus for treatment of refractory epilepsy, *Epilepsia* 51, 2010, 899-908

Oshino S, et al Change of magnetic epileptic discharge after anterior corpus callosotomy; *The Journal of Japan Biomagnetism and Bioelectromagnetics Society* 22(1) 2009, 220-221

Oshino S, et al. Ipsilateral motor-related hyperactivity in patients with cerebral occlusive vascular disease; *Stroke* 39, 2008, 2769-2775

Yanagisawa T et al. Movement induces suppression of interictal spikes in sensorimotor neocortical epilepsy; *Epilepsy Res.* 87, 2009, 12-17

大脳皮質ペニシリン焦点におけるカテコールアミンの変動に関する研究, 白壁武博; 岡山医学会雑誌 88, 223-238

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7件)

押野 悟、貴島 晴彦

X:難治てんかんに対する迷走神経刺激術、新NSNOW IからXIIまで
脳神経から見た脳神経外科手術、査読有、5巻、2016、132-141

貴島 晴彦、押野 悟、吉峰 俊樹
非痙攣性てんかん重積の病態と治療、
脳神経外科ジャーナル別冊、査読有、2016、229-235

Edakawa K, Yanagisawa T, Kishima H, Fukuma R, Oshino S, Khoo HN,

Kobayashi M, Tanaka M, Yoshimine T,
Detection of Epileptic Seizures Using
Phase-Amplitude Coupling in
Intracranial Electroencephalography,
Scientific reports, 査読有, 6巻, 2016,
25422

Doi: 10.1038/srep25422

Khoo HM, Kishima H, Tani N, Oshino S,
Maruo T, Hosomi K, Yanagisawa T,
Kazui H, Watanabe Y, Shimokawa T,
Aso T, Kawaguchi A, Yamashita F,
Saitoh Y, Yoshimine T
Default mode network connectivity in
patients with idiopathic normal
pressure hydrocephalus,
J Neurosurg, 査読有, 124巻, 2016,
350-358

Doi: 10.3171/2015.1.JNS141633

Tani N, Kishima H, Khoo HM,
Yanagisawa T, Oshino S, Maruo T,
Hosomi K, Hirata M, Kazui H, Nomura KT,
Aly MM, Kato A, Yoshimine T,
Electrical stimulation of the
parahippocampal gyrus for prediction
of post-hippocampectomy verbal memory
decline, *J Neurosurg*, 査読有, 125(5)巻,
2016, 1053-1060

Doi: 10.3171/2015.7.JNS15408

Kishima H, Nakamura H, Oshino S,
Tanaka H, Yoshimine T,
Adult hemimegalencephaly associated
with multiple cerebral aneurysms,
Neurology, 査読有, 84(24)巻, 2015,
2460-2461

Doi: 10.1212/WNL.0000000000001685

Khoo HM, Kishima H, Oshino S,
Yoshimine T,
Low-frequency subthalamic nucleus
stimulation in Parkinson's disease: a
randomized clinical trial,
Mov Disord, 査読有, 29(12)巻, 2014,
1569-1570,

DOI: 10.1002/mds.25953

[学会発表](計18件)

柳澤 琢史、貴島 晴彦、福間 良平、
小林 真紀、枝川 光太郎、押野 悟、
平田 雅之、細見 晃一、清水 豪士、
吉峰 俊樹
脳磁図によるてんかんネットワークの
可視化
第39回日本てんかん外科学会
2016年1月21日 仙台

谷 直樹、貴島 晴彦、クー ウィミン、
柳澤 琢史、押野 悟、圓尾 知之、

細見 晃一、平田 雅之、加藤 天美、
吉峰俊樹
海馬傍回電気刺激による海馬切除後言語
性記憶障害予測
第 39 回日本てんかん外科学会
2016 年 1 月 21 日 仙台

押野 悟、貴島 晴彦、柳澤 琢史、
枝川 光太郎、小林 真紀、田中 將貴、
平田 雅之、Khoo Hui Ming、吉峰 俊樹
頭蓋内電極留置のpitfallと工夫
第 39 回日本てんかん外科学会
2016 年 1 月 21 日 仙台

枝川 光太郎、柳澤 琢史、貴島 晴彦、
押野 悟、小林 真紀、田中 將貴、
Khoo Hui Ming、平田 雅之、吉峰 俊樹
Phase Amplitude Coupling によるてんか
ん脳波解析
第 39 回日本てんかん外科学会
2016 年 1 月 21 日 仙台

押野 悟、貴島 晴彦、平田 雅之、
枝川 光太郎、柳澤 琢史、小林 真紀、
田中 將貴、下野 九里子、青天目 信、
吉峰 俊樹
小児難治性てんかんに対する半球・多脳
葉離断術の長期機能予後
日本脳神経外科学会第 74 回学術総会
2015 年 10 月 15 日 札幌

枝川 光太郎、柳澤 琢史、貴島 晴彦、
押野 悟、小林 真紀、田中 將貴、
KHOO HUI MING、平田 雅之、吉峰 俊樹
Cross-Frequency Coupling によるてんか
ん発作の同定
日本脳神経外科学会第 74 回学術総会
2015 年 10 月 15 日 札幌

押野 悟、貴島 晴彦、柳澤 琢史、
小林 真紀、枝川 光太郎、田中 將貴、
浅井 克則、平田 雅之、数井 裕光、
鐘本 英輝、吉峰 俊樹
舌の一次感覚野から摘出した難治性てん
かん・海綿状血管腫の一例
第 17 回日本ヒト脳機能マッピング学会
2015 年 7 月 2 日 大阪

小林 真紀、貴島 晴彦、押野 悟、
枝川 光太郎、柳澤 琢史、Khoo Hui Ming、
谷 直樹、圓尾知之、平田 雅之、
吉峰 俊樹
幼児てんかん患者に対する頭蓋内電極留
置術における術中・周術期の工夫点
第 38 回日本てんかん外科学会
2015 年 1 月 15 日 東京

枝川 光太郎、柳澤 琢史、貴島 晴彦、
押野 悟、Khoo Hui Ming、小林 真紀、
井上 洋、平田 雅之、吉峰 俊樹

周術期てんかん患者における
Cross-Frequency Coupling の観点からの
発作時頭蓋内脳波解析
第 38 回日本てんかん外科学会
2015 年 1 月 15 日 東京

押野 悟、貴島 晴彦、平田 雅之、
柳澤 琢史、枝川 光太郎、小林 真紀、
細見 晃一、下野 九理子、青天目 信、
沖永 剛志、加藤 天美、吉峰 俊樹
小児難治性てんかんに対する外科手術と
機能予後
第 44 回日本臨床神経生理学会学術大会
2014 年 11 月 20 日 福岡

貴島 晴彦、押野 悟、柳澤 琢史、
細見 晃一、枝川 光太郎、Khoo Hui Ming、
谷 直樹、圓尾 知之、小林 真紀、
井上 洋、平田 雅之、吉峰 俊樹
MRI で病変を認めない難治性てんかんに
対する外科治療 - これまでとこれから -
日本脳神経外科学会第 73 回学術総会
2014 年 10 月 10 日 東京

枝川 光太郎、柳澤 琢史、貴島 晴彦、
押野 悟、井上 洋、Khoo Hui Ming、
圓尾 知之、齋藤 洋一、吉峰 俊樹
周術期てんかん患者における
Cross-Frequency Coupling の観点からの
発作前の頭蓋内脳波解析
日本脳神経外科学会第 73 回学術総会
2014 年 10 月 10 日 東京

押野 悟、貴島 晴彦、平田 雅之、
柳澤 琢史、枝川 光太郎、Khoo Hui Ming、
井上 洋、谷 直樹、圓尾 知之、
細見 晃一、小林 真紀、清水 豪士、
吉峰 俊樹
てんかんの病態からみた頭蓋内脳波の有
用性について
第 48 回日本てんかん学会学術集会
2014 年 10 月 3 日 東京

貴島 晴彦、押野 悟、平田 雅之、
細見 晃一、柳澤 琢史、枝川 光太郎、
加藤 天美、吉峰 俊樹
側頭葉てんかんの外科治療：最近の話題
第 48 回日本てんかん学会学術集会
2014 年 10 月 3 日 東京

圓尾 知之、貴島 晴彦、押野 悟、中村 元、
谷 直樹、細見 晃一、Khoo Hui Ming、
枝川 光太郎、小林 真紀、吉峰 俊樹
レーザースペックル脳血流計と脳波同時
解析を用いたてんかんモデル動物におけ
る経時的脳機能解析
第 48 回日本てんかん学会学術集会
2014 年 10 月 2 日 東京

谷 直樹、貴島 晴彦、クー ウィミン、

押野 悟、圓尾 知之、細見 晃一、
柳澤 琢史、平田 雅之、吉峰 俊樹
側頭葉てんかん脳での機能的結合
第 48 回日本てんかん学会学術集会
2014 年 10 月 2 日 東京

貴島 晴彦、押野 悟、平田 雅之、
谷 直樹、圓尾 知之、Khoo Hui Ming、
柳澤 琢史、井上 洋、枝川 光太郎、
吉峰 俊樹
内側側頭葉てんかんに対する経下部側頭
葉皮質による選択的海馬扁桃核切除術と
その機能予後について
第 23 回脳神経外科手術と機器学会
2014 年 4 月 19 日 福岡

Oshino S, Kishima H, Hirata M,
Yanagisawa T, Edakawa K, Khoo HM,
Inoue Y, Tani N, Kobayashi M,
Yoshimine T
The efficacy of the study with
intracranial electroencephalography
in relation to epileptic pathology
The 8th Asian Epilepsy Surgery
Congress(AESC2014)
Oct.5,2014 Tokyo, Japan

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

押野 悟 (OSHINO Satoru)
大阪大学大学院・医学系研究科・助教
研究者番号：40403050

(2) 研究分担者

貴島 晴彦 (KISHIMA Haruhiko)
大阪大学大学院・医学系研究科・教授
研究者番号：10332743

三好 智満 (MIYOSHI Tomomitsu)
大阪大学大学院・医学系研究科・助教
研究者番号：70314309

中村 元 (NAKAMURA Hajime)
大阪大学大学院・医学系研究科・助教
研究者番号：80533794

枝川 光太郎 (EDAKAWA Kohtaroh)
大阪大学大学院・医学部附属病院・医員
研究者番号：40722806

小林 真紀 (KOBAYASHI Maki)
大阪大学大学院・医学部附属病院・医員
研究者番号：10570575