

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29日現在

機関番号： 15501
 研究種目： 挑戦的萌芽研究
 研究期間： 2011～2012
 課題番号： 23650326
 研究課題名（和文） 脳血管障害に対する脳局所冷却を用いた急性期リハビリテーション法の開発
 研究課題名（英文） Neuroprotective effects of focal brain cooling on acute cerebrovascular disease
 研究代表者
 井上 貴雄（INOUE TAKAO）
 山口大学・大学院医学系研究科・学術研究員
 研究者番号： 80513225

研究成果の概要（和文）：

ラット脳梗塞モデルに対する局所脳冷却の効果を調べた。光塞栓法により形成された皮質梗塞巣を 15℃の温度で冷却を実施したところ、脳梗塞の拡大が抑えられた。また、運動機能に関しても速やかな回復が見られ、機能回復に対しても有効であることがわかった。さらに、ネコ・サルの脳梗塞モデルに対しても十分な冷却性能を持つデバイスを試作し、中大型動物による冷却実験が実施可能となった。

研究成果の概要（英文）：

We investigated whether FBC has a favorable effect on focal cerebral ischemia (FCI). Under general anesthesia, a small burr-hole was made and FCI was induced in the rat primary sensorimotor area (SI-MI) using photothrombosis. After that, FBC was performed. We report the novel finding that epileptiform discharges were suppressed in the ischemic border, the infarct area was reduced and neurobehaviour was preserved by FBC.

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	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野： 複合領域

科研費の分科・細目： 人間医工学、リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード： 局所脳冷却、てんかん放電、ローズベングル、脳虚血、ペナンブラ、ニューロモデュレーション、ラット、ネコ

1. 研究開始当初の背景

脳卒中の約 70% を占める脳梗塞は、介護を要する率でも第一位であるが、脳梗塞リハビリテーションの決定的治療技術は、未だに無い。1950 年代から行われている低体温療法による脳保護の試みの一つとして、今村らは、頭蓋内出血に対する低体温療法後のリハビリテーション実施が、リハビリテーションゴールまでの期間を短くし、高次脳機能障害を減少させることを報告しているが、合併症

の発生やリハビリテーション開始の遅延という問題点があった (Imamura et al., 1997)。

我々は難治性てんかん患者のための治療装置としての慢性埋め込み型脳冷却デバイスの開発を進めており、動物実験のみならず、臨床研究も開始し、てんかん性異常神経活動に対して冷却がその興奮性を可逆的に変化させるという特異的抑制効果があることを見出している (Imoto et al. 2006, 特許第 3843054, Tanaka et al. 2008, Fujioka et al. 2008, Oku et al. 2009, 特願 2009-236291,

Fujioka et al. 2010, Fujii et al. 2010)。脳梗塞においては梗塞巣周辺における興奮性の上昇が進む一方で、神経細胞の可塑性が生じていることが分かっており (Fujioka et al., 2004)、神経細胞の破壊と修復が共存している状況下にある。そこで、本研究では梗塞巣周辺の温度を制御することによって、その興奮性をモデュレートできれば、リハビリテーションにおける新たな治療法となるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究のテーマは「脳局所冷却による脳梗塞リハビリテーション治療法の開発」であった。我々は、脳梗塞急性～亜急性期において脳梗塞巣周辺における神経細胞が過剰興奮と可塑性の不安定な状態を呈していることを発見している (Fujioka et al., 2010)。そこで、脳局所冷却によるニューロモデュレーションによって機能回復を促進するべく、脳神経・脳代謝活動に及ぼす影響を計測・解析することで、外科的治療～急性期リハビリテーションへと続く脳血管障害の体系的治療法の開発に繋げる。

3. 研究の方法

本研究では、3つの研究を実施した。

(1) ラットを用いた脳梗塞実験

ラットの体性感覚運動野に対して光塞栓法を用いて脳梗塞巣を作成し、脳代謝系と神経活動の記録を実施することで、脳梗塞に対する脳局所冷却の治療効果に関する基礎データを採取し、脳梗塞急性期における脳局所冷却による治療の有効性を調べると同時に、脳梗塞前後における運動機能を評価することで機能改善を調べた。

(2) 中型動物を用いた冷却実験

ネコ運動野と体性感覚野の機能局在がはっきりしているネコを用いて、脳梗塞の実験に先立って臨床応用に必要な長期冷却と冷却自体が引き起こす脳実質への影響に関して詳細に調べた。冷却開始前に冷却直下の脳血流と体性感覚誘発電位 (SEP) を刑事的に調べ、その後、48時間の冷却 (15℃) を実施し、脳血流と SEP の変動を調べた。

(3) 大型動物に対する冷却デバイス埋込み

サル運動野と体性感覚野をまたぐ領域に冷却デバイスを設置する方法と冷却直下に脳梗塞を形成する方法を検討した。

4. 研究成果

(1) ラットを用いた脳梗塞実験

冷却実施後、脳梗塞巣の広がりをも TTC 染色により調べた結果、冷却によって梗塞巣の拡大が抑制されていた (図 1)。また、ラット体性感覚-運動野に対する脳梗塞によって障害を受けた前肢の運動機能への影響を前肢の握力によって評価した所、脳梗塞巣の拡大が抑えられたことによって前肢握力の速やかな回復が確認された (図 2)。以上の結果より、ラットでは皮質に形成される脳梗塞に対して急性期の局所脳冷却が治療効果を有していることがわかった。

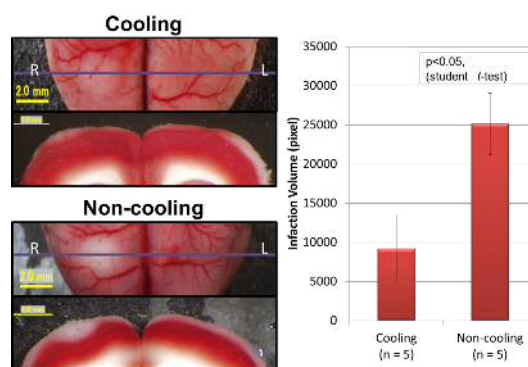


図 1

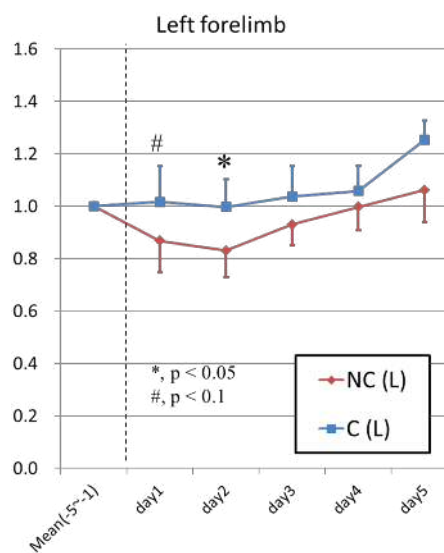


図 2

(2) 中型動物を用いた冷却実験

冷却によって脳血流は、顕著な低下を示したが、SEP は機能脱落に繋がるような振幅の低下は見られず、逆に 24 時間経過後に SEP の

増大が見られた。この現象は冷却を実施している間続いた（図3）。今後長期冷却の影響に関しては、さらなる検討が必要であるが、長期冷却を実施したとしても脳機能は維持されると可能性が示唆された。

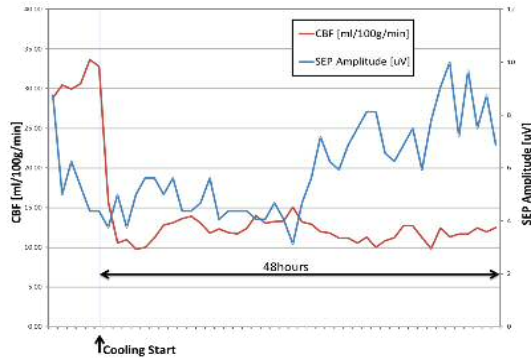


図3

(3) 大型動物に対する冷却デバイス埋込み

チタン製の冷却デバイスを新たに開発した。サイズは厚さを5mm以下に抑えることで頭蓋骨と冷却デバイスをそのまま置換できるような形状とした。実際にサルの頭部への、この冷却デバイスの埋込にも成功した（図4）。これによって、サルを用いた脳梗塞モデルに対しても局所脳冷却実験が可能となった。



図4

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）

- ① Yeting He, Masami Fujii, Takao Inoue, Sadahiro Nomura, Yuichi Maruta, Fumiaki Oka, Satoshi Shirao, Yuji Owada., Hiroyuki Kida., Ichiro Kunitsugu, Toshitaka Yamakawa, Tatsuji Tokiwa, Takeshi Yamakawa, Michiyasu Suzuki, 2013. Neuroprotective effects of focal brain cooling on photochemically-induced cerebral infarction in rats: Analysis from a neurophysiological perspective. Brain Research, 査読有, Vol.1497, 2013, 53-60.10.1016/j.brainres.2012.11.041
- ② Masami Fujii, Takao Inoue, Sadahiro Nomura, Yuichi Maruta, Yeting He, Hiroyasu Koizumi, Satoshi Shirao, Yuji Owada, Ichiro Kunitsugu, Toshitaka Yamakawa, Tatsuji Tokiwa, Satoru Ishizuka, Takeshi Yamakawa, Michiyasu Suzuki: Cooling of the epileptic focus suppresses seizures with minimal influence on neurologic functions. Epilepsia, 査読有, Vol.53, 2012,485-493. 10.1111/j.1528-1167.2011.03388.x

〔学会発表〕（計17件）

- ① 賀業霆、井上貴雄、丸田雄一、木田裕之、岡史朗、野村貞宏、藤井正美、大和田祐二、山川俊貴、山川烈、鈴木倫保"局所脳冷却は脳皮質虚血により誘発されるてんかん性放電を抑制する"第36回日本てんかん外科学会、Jan 17, 2013、岡山（岡山コンベンションセンター）
- ② 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 suppresses Neocortical Seizures in Cats and Non-human Primates" 66th Annual Meeting of American Epilepsy Society (AES2012), Dec 3, 2012, San Diego (San Diego Convention Center), USA
- ③ Yeting He, Masami Fujii, Takao Inoue, Sadahiro Nomura, Yuichi Yuichi Maruta, Yuji Owada, Hiroyuki Kida, Toshitaka Yamakawa, Tatsuji Tokiwa, and Michiyasu Suzuki "Local brain hypothermia suppresses perifocal

epileptiform discharges induced by focal cerebral ischemia in rats" 66th Annual Meeting of American Epilepsy Society (AES2012), Dec 3, 2012, San Diego (San Diego Convention Center), USA.

- ④ 賀業霆、井上貴雄、丸田雄一、木田浩之、岡史朗、野村貞宏、藤井正美、大和田祐二、山川烈、鈴木倫保"Protective effects of focal brain cooling on photochemically-induced cerebral infarction"第 24 回脳循環代謝学会総会、Nov 9, 2012、広島（リーガロイヤルホテル広島）
- ⑤ 藤井正美、井上貴雄、賀業霆、丸田雄一、井本浩哉、田中信宏、奥高行、藤岡裕士、米田浩、小泉博靖、野村貞宏、鈴木倫保、山川烈"機能神経外科の新たなアプローチ：Thermal neuromodulation"日本脳神経外科学会 第 71 回学術総会、Oct 17-19, 2012、大阪（大阪国際会議場）
- ⑥ 賀業霆、藤井正美、井上貴雄、野村貞宏、木田裕之、丸田雄一、国次一郎、山川烈、鈴木倫保"Focal brain cooling suppresses periodic epileptiform discharges and lessens brain injury after focal cerebral ischemia in rats"第 46 回日本てんかん学会(JES2012), Oct 11, 2012、東京（都市センターホテル）
- ⑦ 井上貴雄、藤井正美、木田裕之、山川俊貴、丸田雄一、賀業霆、常盤達司、野村貞宏、大和田祐二、山川烈、鈴木倫保"霊長類を用いた痙攣誘発てんかんモデルに対する局所脳冷却と運動機能への抑制効果"第 46 回日本てんかん学会(JES2012), Oct 11, 2012、東京（都市センターホテル）
- ⑧ Takao Inoue, Masami Fujii, Tatsuji Tokiwa, Yuichi Maruta, Hiroyuki Kida, Yeting He, Toshitaka Yamakawa, Hirochika Imoto, Sadahiro Nomura, Kenichi Hirano, Masanori Niiyama, Hiromi Yamazaki, Yuji Owada, Takeshi Yamakawa, Michiyasu Suzuki: "Challenges and Opportunities for development of a focal cooling device for intractable epilepsy" Korean Epilepsy Congress (KEC2012), June 8, 2012, Incheon (Songdo Convensia), Korea
- ⑨ 井上貴雄、藤井正美、常盤達司、山川俊貴、丸田雄一、木田裕之、賀業霆、野村

貞宏、山川烈、鈴木倫保"霊長類を用いたてんかん発作に対する局所脳冷却療法の確立"第 21 回脳神経外科手術と機器学会、Mar 30, 2012、大阪（ホテル阪急インターナショナル）

- ⑩ 井上貴雄、藤井正美、賀業霆、丸田雄一、野村貞宏、常盤達司、山川俊貴、山川烈、鈴木倫保"局所脳冷却によるてんかん発作抑制のための至適冷却温度についての検討"第 35 回日本てんかん外科学会、Jan 20, 2012、東京（東京ステーションコンファレンス）
- ⑪ Masami Fujii, Takao Inoue, Sadahiro Nomura, Yuichi Yuichi Maruta, Yeting He, Tatsuji Tatsuji Tokiwa, Toshitaka Yamakawa, Yuji Owada, Takeshi Yamakawa, Michiyasu Suzuki: "Cooling of the epileptic focus suppresses seizures with minimal influence on neurological functions" 65th American Epilepsy Society Annual Meeting, Dec 2-6, 2011, Baltimore (Baltimore Convention Center), USA.
- ⑫ Yeting He, Masami Fujii, Takao Inoue, Yuichi Maruta, Sadahiro Nomura, Tatsuji Tatsuji Tokiwa, Takeshi Yamakawa, Michiyasu Suzuki: "Effect of focal brain cooling on epileptic seizures and neurological functions" 5th Asian Epilepsy Surgery Congress (AESC 2011), Nov 10, 2011, Hong Kong(Hong Kong Academy of Medicine),
- ⑬ Takao Inoue, Masami Fujii, Yeting He, Yuichi Maruta, Hiroyuki Kida, Sadahiro Nomura, Tatsuji Tokiwao, Toshitaka Yamakawa, Kenichi Hirano, Masanori Niiyama, Hiromi Yamazaki, Takeshi Yamakawa, Michiyasu Suzuki: "Development of a focal cerebral cooling system for the treatment of intractable epilepsy -An experimental study in cats and non-human primates-" IEEE SMC 2011, Oct 10, 2011, Anchorage (Hilton Anchorage), USA.
- ⑭ Masami Fujii, Takao Inoue, Yeting Yeting He, Yuichi Maruta, Hirochika Imoto, Hiroyasu Koizumi, Sadahiro Nomura, Tatsuji Tokiwa, Satoshi Ishizuka, Toshitaka Yamakawa, Takeshi Yamakawa, Michiyasu Suzuki: "Alternative treatment of intractable

epilepsy with focal brain cooling -A review of our past studies-", IEEE SMC 2011, Oct 10, 2011, Anchorage (Hilton Anchorage), Alaska USA.

- ⑮ 藤井正美, 井上貴雄, 賀業霆, 井本浩哉, 丸田雄一, 小泉博靖, 野村貞宏, 常盤達司, 山川俊貴, 山川烈, 鈴木倫保"新治療法開発の手がかりを求めて 大脳局所冷却療法"第 45 回日本てんかん学会, Oct 6-7, 2011、新潟 (新潟コンベンションセンター)
- ⑯ Masami Fujii, Takao Inoue, Yeting He, Hirochika Imoto, Nobuyuki Tanaka, T Oku, Yuichi Maruta, Hiroyasu Koizumi, Sadahiro Nomura, Yuji Owada, Takashi Saito, Toshitaka Yamakawa, Tatsuji Tatsuji Tokiwa, Takeshi Yamakawa, Michiyasu Suzuki: "Alterative treatment of intractable epilepsy with focal brain cooling" 29th International Epilepsy Congress, Aug 31, 2011, Rome (Rome Marriott Park Hotel), Italy.
- ⑰ Takao Inoue, Yeting He, Masami Fujii, Hiroshi Fujioka, Tatsuji Tokiwa, Hiroyuki Hiroyuki Kida, Hirochika Imoto, Yuichi Maruta, Sadahiro Nomura, Takeshi Yamakawa, Michiyasu Suzuki, Consortium of Advanced Epilepsy Treatment (CADET) "Inhibitory effects of focal brain cooling for motor cortical seizures in cats and nonhuman primates" 29th International Epilepsy Congress, Aug 29, 2011, Rome, Italy (Rome Marriott Park Hotel).

6. 研究組織

(1)研究代表者

井上 貴雄 (INOUE TAKAO)

山口大学・大学院医学系研究科・学術研究員
研究者番号：80513225

(2)研究分担者

鈴木 倫保 (SUZUKI MICHIIYASU)

山口大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：80196873

藤井 正美 (FUJII MASAMI)

山口大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：90181320

(3)連携研究者

野村 貞宏 (NOMURA SADAHIRO)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20343296

(4)研究協力者

賀 業霆 (HE YETING)

山口大学・大学院医学系研究科・大学院生