

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26242040

研究課題名(和文) 迷走神経刺激療法のトランスレーショナル研究

研究課題名(英文) Translational study of vagus nerve stimulation

研究代表者

高橋 宏知 (Takahashi, Hiroaki)

東京大学・先端科学技術研究センター・講師

研究者番号：90361518

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,700,000円

研究成果の概要(和文)：迷走神経刺激療法 (Vagus nerve stimulation; VNS) は、難治性てんかん発作に対する緩和的治療の一つで、体内に電気刺激装置を埋植し、左迷走神経を間歇的かつ慢性的に刺激する。VNSによる臨床的てんかん発作抑制効果が広く認められる一方で、その作用機序は未だ解明されていない。本研究では、動物実験と臨床研究により、VNSが大脳皮質の神経活動に与える影響を調べ、てんかん病態、知覚・認知、記憶・学習など脳の諸機能において、VNSの影響を考察した。

研究成果の概要(英文)：Vagus nerve stimulation (VNS) is a palliative treatment of refractory epilepsy. VNS stimulates left vagus nerves intermittently with chronically implanted cuff electrodes. While VNS is generally recognized as being effective for inhibition of epileptic seizure, the mechanism of action still remains unknown. In the present study, we carried out both animal experiments and clinical studies to elucidate how VNS affects the neural activity in the cerebral cortex, which might modify higher-order brain functions such as perception, cognition, learning and memory as well as epileptic pathology.

研究分野：神経工学

キーワード：脳 神経活動 電極

1. 研究開始当初の背景

迷走神経刺激療法 (Vagus nerve stimulation; VNS) は、難治性てんかん発作に対する緩和的治療の一つで、体内に電気刺激装置を埋植し、左迷走神経を間歇的かつ慢性的に刺激する。VNS による臨床的てんかん発作抑制効果が広く認められる一方で、その作用機序は未だ解明されていない。

VNS は、セロトニン系やノルアドレナリン系を賦活し、脳活動に広範な調整作用を及ぼすと考えられている。さらに、迷走神経は、内臓知覚・運動機能や心肺・発汗機能など、自律神経系にも関わっている。したがって、VNS は、生体に対して非常に広範な影響を及ぼしていると考えられる。例えば、最近の研究では、VNS により、抗うつ効果や認知・記憶機能の向上が報告されている。VNS が、脳の可塑性を促すとすれば、様々な疾患の先進的な治療に応用できる可能性を秘めている。例えば、耳鳴を緩和するために、音学習により聴皮質に可塑性を促す治療が試みられている。この TRT に VNS を併用すれば、その治療効果は飛躍的に向上する可能性がある。

VNS が大脳皮質に与える影響を調べ、さらに、その生理学的な作用機序を明らかにできれば、てんかん病態の理解や新しい治療の足掛かりとなるかもしれない。さらに、知覚・認知、記憶・学習、情動・感情など脳の諸機能において、VNS の影響を明らかにできれば、精神疾患や認知症、脳卒中後のリハビリなど、VNS の適応に様々な可能性が広がるかもしれない。そのためには、VNS が大脳皮質の活動に与える影響を精査すること、さらには、その活動と脳の諸機能との関連を考察することが鍵となる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、迷走神経刺激療法 (VNS) による脳活動の調整機能を明らかにし、さらに新たな利用方法を探索することである。具体的には、(i) 大脳皮質内の神経活動や皮質・視床の相互作用に対して、VNS が及ぼす影響を調べ、てんかん発作の発生と抑制のメカニズムを明らかにすること、(ii) VNS による神経活動の調整が、知覚・認知と記憶・学習機能に及ぼす影響を調べて、VNS と音学習を併用した耳鳴治療 (TRT) の可能性を探索することである。

3. 研究の方法

動物実験では、ラットに VNS 装置を埋植した後、微小電極アレイを用いて、皮質・視床の神経活動を調べた (図 1)。具体的な作業仮説として、VNS による多様な影響は、VNS に対する応答が部位ごとに異なるからではないかと考えた。聴覚野は解剖学的な特徴から深さごとに分類でき、視床からの入力に中間層 (4 層)、聴覚野内の情報処理は浅層 (2/3 層)、聴覚野からの出力は深層 (5/6 層) と考えられている。入力や情報処理を担う 4 層や

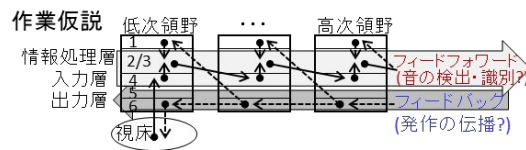
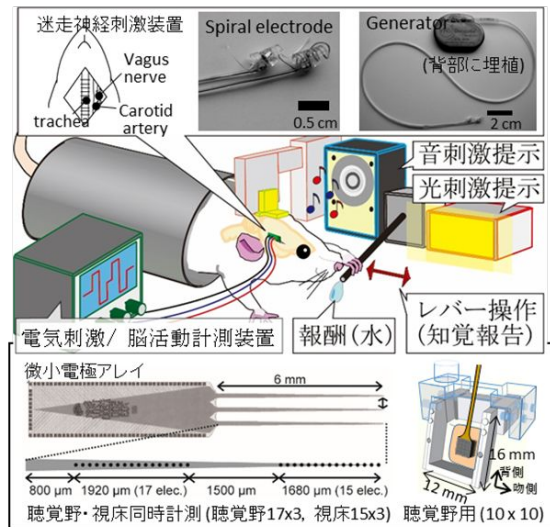


図1 動物実験の概要

2/3 層の発振パターンが明確になれば、低次領域から高次領域へ向かうボトムアップ方向の情報流は強くなり、その結果として、音の識別・検出機能が向上し得る。逆に、5/6 層は、高次領域から低次領域へ向かうトップダウン情報を扱う。てんかん発作の焦点 (原性域) は高次領域にあることが多いので、5/6 層における発振や情報流の低下は、抗てんかん作用をもたらし得る。

臨床研究では、VNS 刺激の即時的効果について、頭蓋内電極および NIRS (近赤外線分光法) を用いて調べた (方法は成果の項参照)。さらに本邦における薬剤抵抗性てんかんに対する迷走神経刺激療法の使用成績をまとめて報告するとともに、診療ガイドラインを作成した。

研究体制として、研究代表者の高橋が動物実験を担当し、研究分担者の川合と國井が臨床研究を担当し、動物実験と臨床研究の有機的な連携を推進した。

4. 研究成果

4.1 動物実験

(i) 視床・聴覚野を同時計測する実験系

2 つの微小電極アレイを併用して、ラットの聴覚野と視床からの、局所電場電位 (LFP) とマルチユニット活動 (MUA) の 3 次元多点同時計測系を構築した。この実験系では、脳表の傾きをレーザー変位計で計測し、脳表に垂直に電極を刺入した。その結果、5 mm の刺入による電極先端の位置誤差は 100 μm 未満であり、この手法により視床に確実に電極を設置できることを組織学的に示した。また、表面電極アレイの計測による聴皮質表面の周波数局在性と、刺入電極アレイの計測による聴皮質 4 層の周波数選択性が一致した。さらに、刺入電極アレイの計測による視床の周

波数局在性は、先行研究と類似していた。視床の任意の電極を電気刺激したところ、聴覚野では局所的な神経活動を計測できた。このとき、視床の刺激部位の周波数選択性と聴覚野の計測部位の周波数選択性は一致していた。これらのことから、本研究で構築した聴覚野・視床系の3次元多点同時計測の妥当性を示した。

(ii) ラット聴覚野を定量化する実験系

頭部拘束下で聴覚野を確認するための行動実験を実施しながら、電気生理計測できる実験系を構築した。頭部を実験系に固定された動物は、レバーを引くことで各種課題を遂行する。なお、ラットはあらかじめ断水しておき、実験中には、レバー経由で与える水を報酬として与える。外界からの刺激として、前方に設置したスピーカからの音刺激、およびLEDライトからの光刺激を提示できる。実験系に動物の頭部を固定するために、3Dプリンタでヘッドアタッチメントを設計・製作し、外科的にラットの頭蓋骨に埋植し、実験中はヘッドアタッチメント部を把持した。また、この実験系で覚醒下の神経反応計測を実現するために、聴覚野硬膜上から皮質脳波を計測できる微小電極アレイを設計・製作した。

ラットを固定した後、レバー操作により知覚を報告するように訓練したところ、ラットの可聴閾値音圧を調べることができた。さらに、この行動実験中に閾値付近でのラット聴覚野のLFPを調べたところ、知覚を報告した試行でのみ現れる特徴的な神経反応を同定できた。ラットに強音を短時間曝露したところ、レバー引き行動の頻度の低下から、難聴症状も定量化できた。このように、ラットの主観的な聴覚野を把握したうえで、神経反応の計測を実現できる実験系を構築できた。

(iii) 耳鳴に相関する神経反応

ラットの行動実験から示唆される耳鳴症状と、聴覚野の自発活動の位相同期強度との関係を調べた(図2)。音響外傷による耳鳴ラットモデルを作成し、音響曝露前後で耳鳴症状の行動指標を調べた。さらに、麻酔下で聴覚野内の自発活動を計測した。特徴周波数(CF)ごとに計測点を分類し、各CFの計測点群間のLFPの同期強度を位相同期度(phase locking value; PLV)によって定量化した。その結果、10 kHzの音響曝露から2-8日後に、実験動物は32 kHz付近に耳鳴を示唆する行動を示した。帯域について、曝露音領域と耳鳴周波数を含む高音領域(22-45 kHz)とのPLVに着目すると、曝露群のPLVは対照群のPLVよりも有意に高かった。上記のPLVは、耳鳴症状の行動指標と有意に相関した。これらの結果から、耳鳴症状が聴覚野の神経活動の同期強度に反映されることが示唆された。

(iv) VNSが聴覚野の同期に与える影響

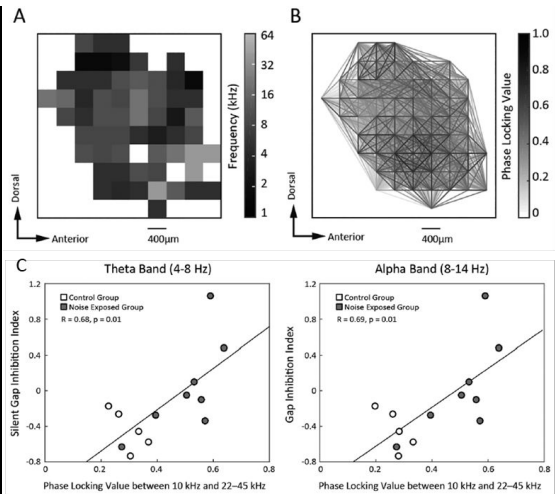


図2 耳鳴を呈するラットの動物実験。A 聴覚野の周波数マップ。B 聴覚野の同期パターン。C 耳鳴に相関する聴覚野の同期。

VNSが聴覚野各層の情報表現にどのような影響を及ぼすかを明らかにするために、ラットの聴覚野を対象として、VNS提示前と提示中に、微小電極アレイで皮質2/3, 4, 5/6層のLFPを計測した。音に対する過渡的な誘発電位と、定常的な神経活動における帯域強度、位相同期度を定量化し、それぞれの特徴量を用いて機械学習に刺激音の周波数を識別させ、識別精度をVNS前後で比較した。機械学習には、スパースロジスティック回帰(SLR)を用いた。

自発活動には特徴的な空間パターンがみられないが、過渡的な誘発電位の振幅は非常に局在した空間パターンを示した。実際に、SLRは自発活動と誘発電位を高い精度で識別できた。VNS後にも、これらの高い識別精度は全ての層で維持されており、有意な識別精度の変化はみられなかった。VNSによる聴覚野各層の受容野の変化は非常に小さいため、頑健な空間パターンには大きな影響を与えなかった結果、識別精度が変化しなかったと考える。

一方、定常的な神経活動は、誘発電位と比較すると、誘発活動の空間パターンは弱く局在していた。SLRは、全ての層および周波数帯域において、チャンスレベルよりも有意に高い識別精度を示した。VNS後には、自発活動と誘発活動の弁別制度は、2/3層の帯域強度と5/6層のLow-帯域強度で有意に上昇し、5周波数の識別精度は、5/6層の帯域強度で上昇したが、5/6層のHigh-帯域のPLVでは低下した。このように、VNSは、定常的な神経活動の情報表現に、層ごとに特徴的な影響を及ぼす。これらの情報表現の変化は、知覚や学習への影響の神経メカニズムであると考えられる。

(v) VNSが視床・聴覚野の誘発反応に与える影響

ラットの視床と聴覚野の各層から神経活動を多点同時計測し、神経細胞の受容野、線

り返される音刺激への順応の強さを定量化し、VNS 前と VNS 中で比較した。その結果、VNS により、視床の神経活動は変化しなかった。一方、VNS は、皮質 2/3 層では受容野の反応閾値が下げ、4 層と 5 層ではバンド幅を広げた。また、6 層の反応閾値は上がる傾向が認められた。さらに、VNS は、聴皮質 2-6 層の誘発反応を強め、順応が弱めた。これらの結果は、VNS が、視床-皮質系におけるフィードフォワード経路を活性化させ、フィードバック経路を非活性化させること、また、皮質において抑制性の神経活動を弱めることを示唆する。

VNS による受容野の変化は、学習中の可塑性と類似している。したがって、本研究の結果は、VNS は 2/3 層での可塑性を促進させることで、行動レベルでも学習を亢進させる可能性を示している。さらに、視床の電気刺激も、VNS と同様、てんかん発作を抑制する効果が見られること、および視床-皮質系に対して繰り返し刺激を与え続けると短期的な可塑性が生じることから、VNS は、視床-皮質経路を活性化させることにより、皮質における可塑性を促進させる可能性を示した。

4. 2 臨床研究

(i) VNS 即時的効果の検討 (頭蓋内脳波)

焦点診断目的に両側頭蓋内電極留置を行ったが結果として電極抜去時に VNS 植込術を行った患者を対象として、VNS 刺激前後の頭蓋内脳波記録を行った。刺激前 10 分、刺激中 30 分、刺激後 20 分の脳波を計測した。てんかん性放電の頻度、高周波帯域 (high gamma 帯) 脳律動活動、単一ニューロンの発火頻度の変化について解析した。

VNS 刺激によって、てんかん性放電の頻度には有意な変化がみられなかったが、側頭葉内側のてんかん焦点近傍における高周波脳律動活動が有意に増加した。単一ニューロン活動は VNS 後に増加傾向を示した。VNS の即時的脳波変化が確認され、てんかん焦点における機能低下が想定される抑制性介在ニューロンの機能正常化を介して VNS が発作抑制効果を発揮している可能性が示唆された。尚、本症例は術後 2 年の経過で 80%以上発作減少を示した著効例であることが確認された。ヒトにおける VNS 時の頭蓋内脳波記録自体が極めて稀であることに加え、本症例では微小電極による単一ニューロン記録を実施しており、非常に貴重な成果と考える。

(ii) VNS 即時的効果の検討 (NIRS)

VNS 刺激が脳血流にもたらす即時的な影響について、NIRS を用いて検討した。難治性てんかんに対して VNS 埋め込み術を受けた 21 症例を対象とした。VNS 刺激 (治療 dose, half dose) のみに対する血流応答と VNS 刺激時に verbal fluency (VF) 課題を行った場合の前頭部の血流応答を計測した。これらの血流応答と発作抑制効果との関連を調べるため、

responders (8 例) / non-responders (13 例) 間での比較を行った。

VNS 刺激のみを行った場合には、刺激強度に関わらず有意な血流応答は認めなかった。VNS 刺激と同時に VF 課題を行った場合、Responder 群では血流応答の大きさと初期血流応答の速さが、刺激強度に依存して増大した。一方、Non-responder 群の血流応答は、強度依存性の反応は見られなかった (図 3)。VNS は神経細胞を直接的に賦活・抑制するというより、神経活動を調節・最適化する作用により抗てんかん効果を発揮していることが示唆された。

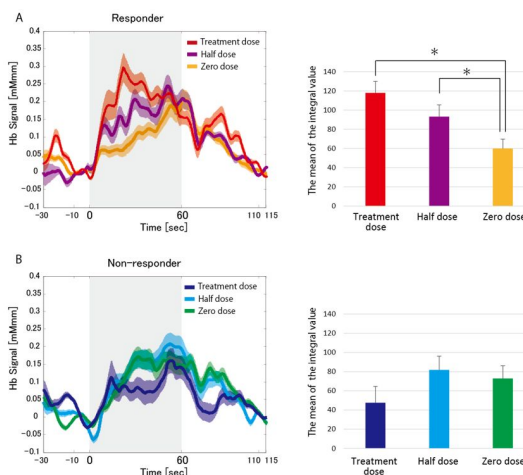


図 3 VF 課題に同期して VNS 刺激を行った際の NIRS における Hb 信号変化 (A: responder, B: non-responder)

(iii) VNS 使用成績調査およびガイドラインの作成

本邦における VNS 保険適応取得後 3 年に渡り、VNS 植込術を行った全例を対象として使用成績調査を行った。全年齢層の全てのてんかん症候群を含んだ解析で、発作抑制率の経時的な上昇を認め、3 年で 58.8%の治療反応率 (50%以上発作減少率) に達した。QOL の改善も示された。90%以上の長期フォロー成績は世界的にみても貴重な成果である。本成果およびその他の high level evidence に基づいて systematic review を行い、最も普及しているてんかん診療ガイドラインの 8 年ぶりの改訂版に掲載された。

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 20 件)

Tomoyo I. Shiramatsu, Kazusa Takahashi, Takahiro Noda, Ryohei Kanzaki, Haruka Nakahara, and Hirokazu Takahashi: "Microelectrode mapping of tonotopic, laminar, and field-specific organization of thalamo-cortical pathway in rat." Neuroscience 332: pp. 38-52, 2016

Tomoyo I. Shiramatsu, Takahiro Noda, Kan Akutsu, and Hirokazu Takahashi: “Tonotopic and field-specific representation of long-lasting sustained activity in rat auditory cortex.” *Frontiers in Neural Circuits* 10: Article #59 (15 pp), 2016
Rie Hitsuyu, Tomoyo Isoguchi Shiramatsu, Takahiro Noda, Ryohei Kanzaki, Takeshi Uno, Kensuke Kawai and Hirokazu Takahashi: “Effects of Vagus Nerve Stimulation on Neutral Adaptation in Rat Auditory Cortex.” *Electronics and Communications in Japan* 100 (5): pp. 34-43, 2017
Satohiro Tajima, Takeshi Mita, Douglas J. Bakkum, Hirokazu Takahashi, and Taro Toyozumi: “Locally embedded presages of global network bursts.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114 (36): pp. 9517-9522, 2017
Kawai et al.: “Outcome of vagus nerve stimulation for drug-resistant epilepsy: the first three years of a prospective Japanese registry.” *Epileptic Disord* 19:327-338, 2017

〔学会発表〕(計 8 2 件)

高橋宏知:「人工知能 vs 生命知能 -脳をリバースエンジニアリングする-」, 第7回 超異分野学会 本大会 (東京, 2018年3月2日)

Hirokazu Takahashi: “Neural correlates of perceptual organization in the auditory cortex.” The 4th annual meeting of the Society for Bioacoustic (東京, 2017年12月9日)

Hirokazu Takahashi: “Stimulus Phase Locking of Cortical Oscillation for Perceptual Organization.” The 5th Joint Meeting of the Acoustical Society of America and Acoustical Society of Japan (Hawaii, USA, 2016年11月28日)

Hirokazu Takahashi: “Evolved intelligence from the Darwinian principle.” Tokyo lectures of language evolution (東京, 2015年4月2日)

〔図書〕(計 3 件)

高橋宏知:「メカ屋のための脳科学入門 脳をリバースエンジニアリングする」, 日刊工業新聞社, 東京, 2016 (全206頁)

高橋宏知:「続 メカ屋のための脳科学入門 [記憶・学習/意識 編]」, 日刊工業新聞社, 東京, 2017 (全217頁)

「てんかん診療ガイドライン」作成委員

会, 日本神経学会監修, 「てんかん診療ガイドライン 2018」, 医学書院

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

研究代表者 (高橋)

<http://www.brain.rcast.u-tokyo.ac.jp/~தாகாஷி/>

自治医大脳神経外科 (分担研究者川合)

<https://www.jichi.ac.jp/brain/top.html>

東京大学脳神経外科 (分担研究者國井)

<http://www.h.u-tokyo.ac.jp/neurosurg/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 宏知 (TAKAHASHI, Hirokazu)

東京大学・先端科学技術研究センター・講師

研究者番号: 90361518

(2) 研究分担者

川合 謙介 (KAWAI, Kensuke)

自治医科大学・脳神経外科・教授

研究者番号: 70260924

(3) 研究分担者

國井 尚人 (KUNII, Naoto)

東京大学・医学部付属病院・助教

研究者番号: 80713940