

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K17739

研究課題名（和文）脳血管疾患に対する静磁場刺激の効果とメカニズムの解明

研究課題名（英文）The effect and mechanism of static magnetic field stimulation on cerebrovascular disease

研究代表者

高松 泰行（Takamatsu, Yasuyuki）

北海道大学・保健科学研究所・助教

研究者番号：40802096

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、経頭蓋的静磁場刺激（transcranial static magnetic stimulation: tSMS）の効果および作用メカニズムについて検証した。ヒトを対象した研究では、一次運動野に対する静磁場刺激は刺激半球の神経活動抑制に加えて、対側半球の神経活動を一時的に高める作用を有し、半球間抑制にも影響を与えることが明らかとなった。マウス脳スライスを用いた基礎研究では、静磁場刺激により細胞膜の透過性亢進、神経細胞の発火閾値上昇を認めた。さらに、ラットを用いたin vivo研究においても、静磁場刺激はその直下にある脳領域へ抑制的に作用し、行動学的な変化をもたらすことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳血管疾患のリハビリテーションの効果をより高める新規手法として注目されているのがニューロモジュレーションであり、経頭蓋的静磁場刺激（transcranial static magnetic stimulation: tSMS）はその一つである。基礎実験を通して経頭蓋的静磁場刺激が有する神経活動抑制効果の生物学的なメカニズムの一端を明らかとしたこと、健康成人に対する静磁場刺激が非刺激半球の神経活動を一時的に亢進させる作用を示したことは、脳血管疾患患者への臨床応用へ向けた研究資料として、学術的および社会的意義を有した成果であったと考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study examined the effect and mechanism transcranial static magnetic field stimulation. In human studies, static magnetic field stimulation of the primary motor cortex has the effect of temporarily increasing neural activity in the contralateral hemisphere in addition to suppressing neural activity in the stimulated hemisphere, and also affects interhemispheric inhibition. In a basic study using brain slices of mice, static magnetic field stimulation increased the permeability of cell membranes and increased the firing threshold of neuron. Furthermore, in vivo studies using rats also showed that static magnetic field stimulation acts suppressively on the brain region directly beneath it, resulting in behavioral changes.

研究分野：リハビリテーション科学

キーワード：静磁場刺激 神経活動 モジュレーション リハビリテーション 脳血管疾患

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

脳血管疾患は運動機能障害、嚥下障害、高次脳機能障害などを引き起こし、罹患患者の日常生活動作 (activities of daily living: ADL) や quality of life (QOL) を著しく低下させる。リハビリテーションは脳の可塑的变化を惹起し、運動機能回復を促進することができる。近年、脳の可塑的变化をさらに高めることを目的に、磁気や電気で脳を刺激し、神経活動を操作する「ニューロモジュレーション」と呼ばれる手法が注目されている。

両側の大脳半球は交連線維である脳梁を介して結合しており、相互に抑制し合い、半球間の均衡を保っている。通常の大脳において、一方の半球で神経活動が活性化すると、他方の半球では神経活動が抑制される「半球間抑制」という現象が確認されている。脳血管疾患により半球間抑制の破綻した状態に対するリハビリテーション手法として、非侵襲的に脳を刺激できる経頭蓋磁気刺激 (transcranial magnetic stimulation: TMS) が注目されている。TMS はコイルに電流を流すことで生じる磁場により、脳内で電場を誘導し、渦電流を発生させる。低頻度 TMS (1 Hz) を非損傷側の大脳皮質に与えることで神経活動を抑制して、上記の病的バランスを回復させて臨床的改善が得られることが報告されている。しかし、本邦では保険適応外であり、装置が高価であることなどを理由に、実施可能な施設が限られている。

近年、小型で安価な磁石をネオジム合金で作成することが可能となり、人間の生体とくに脳に静磁場が影響することが神経科学において注目されている。先行研究では、小型磁石による経頭蓋的静磁場刺激 (transcranial static magnetic stimulation: tSMS) により、神経活動が抑制されることが示されており、TMS と同様の神経活動抑制効果を有する新規ニューロモジュレーション手法として期待できる。

### 2. 研究の目的

tSMS には安価に入手可能な小型磁石を用いており、臨床場面での汎用性が高いと考えられる。また、その磁場の強さは、一般的な脳機能検査で用いられる MRI と比較して弱く、低侵襲で安全な刺激様式である。しかし、小型磁石による tSMS の効果に関して、健常成人を対象とした報告は増えているが、脳血管疾患患者を対象とした報告はない。また、tSMS が有する神経活動抑制作用のメカニズムについては、磁場による細胞膜の変形によりイオンチャンネルやトランスポータの機能が低下するためと考えられているが、その詳細な作用メカニズムは明らかとなっていない。tSMS の臨床応用を目指すために、1. 臨床研究による効果検証、2. 基礎研究による作用メカニズムの解明、この2つの実験を遂行していく必要がある。

本研究は、(1) 一側運動野に対する tSMS が対側半球の神経活動および半球間抑制に与える影響を検証すること (健常成人を対象とした臨床研究) (2) tSMS が生体に及ぼす作用メカニズムを解明すること (細胞・動物を用いた基礎研究) を目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 研究課題1「一側運動野に対する tSMS が対側半球の神経活動および半球間抑制に与える影響」

##### (1) 対側半球の神経活動に与える影響について

右利きの健常成人 19 名を対象とし、左一次運動野にネオジム磁石 (表面磁束密度 5340 G) を用いて tSMS (実刺激) を 30 分間実施した。偽刺激にはステンレス鋼を用いた。Single-pulse TMS を用いて、刺激前、刺激直後、10 分後、30 分後に左右の第一背側骨間筋から MEP を順に計測した。

##### (2) 半球間抑制に与える影響について

右利きの健常成人 19 名を対象とし、左一次運動野にネオジム磁石 (表面磁束密度 5340 G) を用いて tSMS (実刺激) を 30 分間実施した。偽刺激にはステンレス鋼を用いた。Paired-pulse TMS を用いて、刺激前後の tSMS 実施半球から非実施半球への半球間抑制を第一背側骨間筋から MEP 計測することで解析した。

#### 研究課題2「tSMS が生体に及ぼす作用 (基礎研究)」

##### (3) マウス脳スライスを用いた in vitro 研究

実験動物には C57BL/6J マウス (3-4 週齢) を用い、深麻酔下にて素早く脳を摘出し、300  $\mu\text{m}$  厚の冠状切片を作成し、人工脳脊髄液中にインキュベートし、60 分間回復させた。その後、同液中にインキュベートした状態で、ネオジム磁石を用い、30 分間静磁場刺激を加えた。刺激が終了した 10 分後および 20 分後に、whole-cell current clamp 法を用いて大脳皮質運動野第 II/III 層の錐体細胞より神経活動を記録した。得られたデータより、静止膜電位、最大立ち上がり・立ち下がり勾配、基電流、入力抵抗を算出し、静磁場刺激を加えていない対照群と比較、検討した。

##### (4) ラットを用いた in vivo 研究

実験動物には Wistar 系ラット (7 週齢) を用い、深麻酔下にて経頭蓋的にポリエチレンチューブを歯科用セメントで固定する処置を実施した。設置したポリエチレンチューブにネオジム磁

石をはめ込み、覚醒かつ自由行動下で静磁場刺激 (in vivo tSMS) を実施した。偽刺激にはステンレス鋼を用いた。In vivo tSMS が活動量 (open field test)、前肢使用の対称性 (Cylinder test)、運動機能 (ladder test) に与える影響を偽刺激時とのクロスオーバーデザインにより検証した。さらに、運動野に刺激を行う群と非運動野に刺激を行う群を設け、その特異性、局在性についても検証した。

#### 4. 研究成果

##### 研究課題 1 「一側運動野に対する tSMS が対側半球の神経活動および半球間抑制に与える影響」

###### (1) 対側半球の神経活動に与える影響について (図1)

左一次運動野に対する tSMS を 30 分間実施した時、右第一背側骨間筋から検出される MEP は刺激前に比べて、有意に減少し、その効果は刺激 30 分後まで持続した。一方で、左第一背側骨間筋から検出される MEP は刺激直後のみ一時的に有意に増加した。

すなわち、tSMS を加えた半球では神経活動が抑制され、対側半球では神経活動が一時的に増加することが示された。なお、偽刺激時にはこれらの変化は確認されなかった。

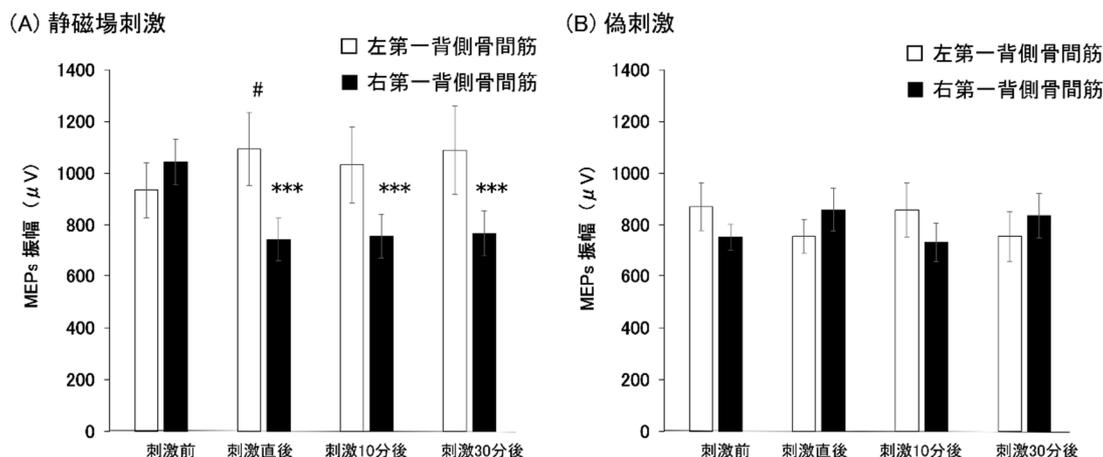


図1: 一側運動野に対するtSMSが対側半球の神経活動に与える影響

###### (2) 半球間抑制に与える影響について (図2)

左一次運動野に対する tSMS を 30 分間実施した時、tSMS を加えた半球から非刺激半球への半球間抑制が有意に減弱した。なお、偽刺激時にはこの変化は確認されなかった。

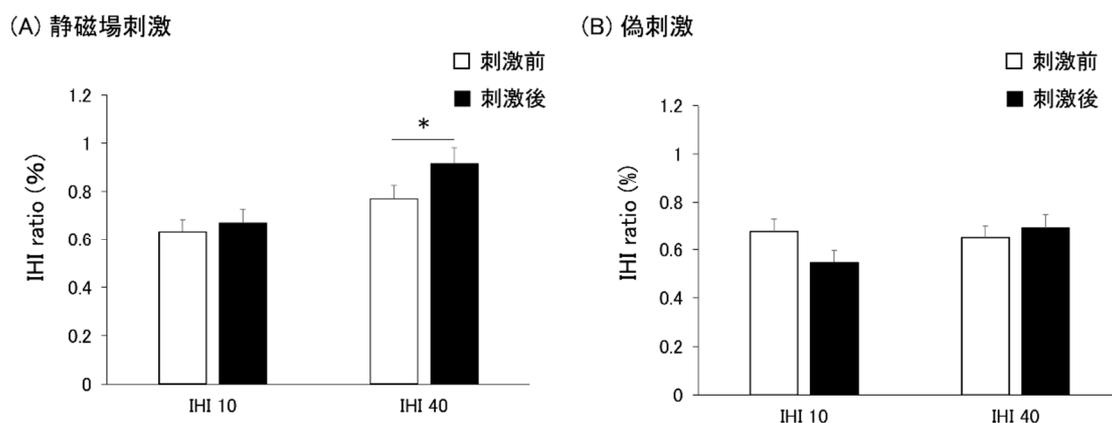


図2: 一側運動野に対するtSMSが半球間抑制に与える影響

これらの結果から、ヒト一次運動野に対する tSMS は非刺激側である対側一次運動野の神経活動を一時的に亢進させる遠隔効果を有するが、それには静磁場による半球間抑制の抑制作用が関与している可能性が示唆された。本成果は国際学術誌に掲載されている。

## 研究課題2「tSMSが生体に及ぼす作用(基礎研究)」

### (3) マウス脳スライスを用いた *in vitro* 研究(図3)

活動電位の計測の結果、静止膜電位、最大立ち上がり・立ち下がり勾配には静磁場刺激の影響を認められなかった。基電流は、静磁場刺激10分後において、対照群と静磁場刺激20分後に対して有意に高値であった。入力抵抗は静磁場刺激10分後において、対照群と静磁場刺激20分後に対して有意に低値であった。また、入力電流と発火頻度の関係性に群間差を認め、静磁場刺激終了10分後では発火頻度を高めるためにはより多くの電流が必要であることが示された。一方、静磁場刺激20分後では対照群と差は認められなかった。本成果は国際学術誌に投稿中である。

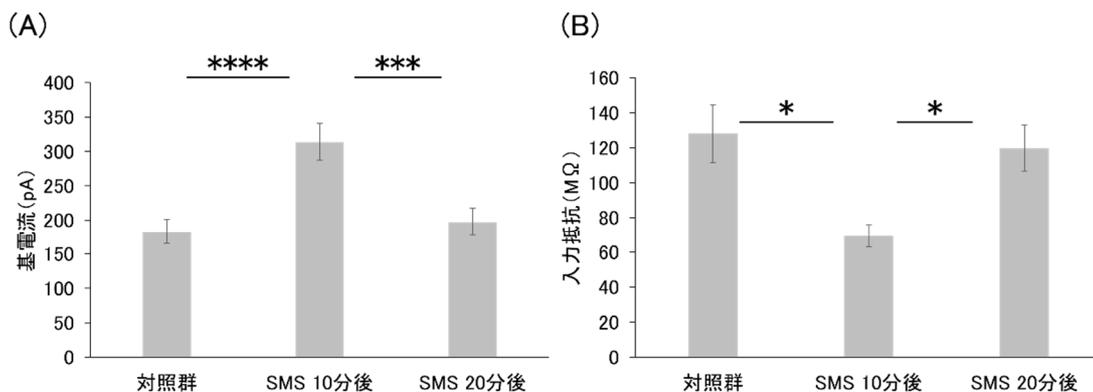


図3: 静磁場刺激がマウス神経細胞の神経活動に与える影響

### (4) ラットを用いた *in vivo* 研究

*In vivo* tSMSは自由行動下での活動量や前肢使用の対称性に影響は与えなかった。しかし、運動野への *in vivo* tSMS時、ladder testにおいて、正確なステップ割合が偽刺激時に比べて有意に低下することが示された。その効果は非運動野では認められなかった。

このことから tSMSはその直下にある脳領域へ抑制的に作用し、行動学的な変化をもたらすことが示された。本成果は国際学術誌に掲載されている。

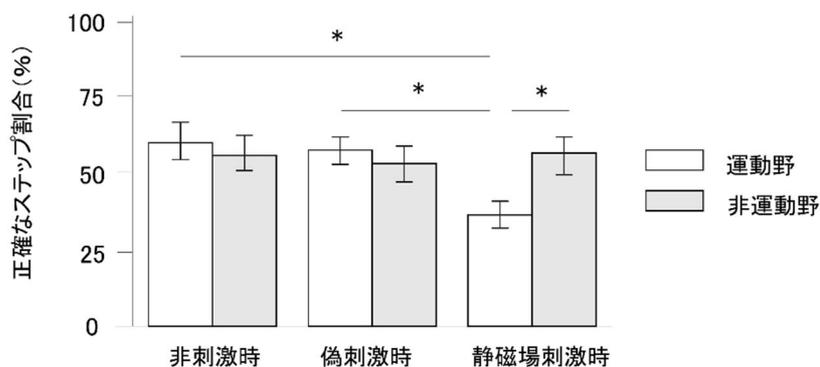


図4: 静磁場刺激がラットの運動機能(Ladder test)に与える影響

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

|   |                           |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Takamatsu Yasuyuki, Koganemaru Satoko, Watanabe Tatsunori, Shibata Sumiya, Yukawa Yoshihiro, Minakuchi Masatoshi, Shimomura Ryota, Mima Tatsuya | 4. 巻<br>11                |
| 2. 論文標題<br>Transcranial static magnetic stimulation over the motor cortex can facilitate the contralateral cortical excitability in human                 | 5. 発行年<br>2021年           |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports  | 6. 最初と最後の頁<br>5370 ~ 5370 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s41598-021-84823-4   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）   | 国際共著<br>-                 |

|  |                               |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名<br>Takamatsu Yasuyuki, Inoue Takahiro, Okamura Misato, Ikegami Ryo, Maejima Hiroshi                   | 4. 巻<br>753                   |
| 2. 論文標題<br>In vivo local transcranial static magnetic field stimulation alters motor behavior in normal rats | 5. 発行年<br>2021年               |
| 3. 雑誌名<br>Neuroscience Letters   | 6. 最初と最後の頁<br>135864 ~ 135864 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1016/j.neulet.2021.135864  | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                     |

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>高松泰行, 井上貴博, 岡村美里, 池上遼, 前島洋                        |
| 2. 発表標題<br>一次運動野に対する in vivo 経頭蓋的静磁場刺激は正常ラットの運動機能に抑制性変化をもたらす |
| 3. 学会等名<br>第126回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第98回日本生理学会大会 合同大会          |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Yasuyuki Takamatsu, Satoko Koganemaru, Tatsunori Watanabe, Yoshihiro Yukawa, Masatoshi Minakuchi, Ryota Shimomura, Tatsuya Mima                               |
| 2. 発表標題<br>Transcranial static magnetic stimulation over the unilateral primary motor cortex induces the different changing of cortical excitability on both hemispheres |
| 3. 学会等名<br>Neuro2019   |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Adya Saran Sinha, Yasuyuki Takamatsu, Tenpei Akita, Tatsuya Mima, Atsuo Fukuda   |
| 2. 発表標題<br>Static magnetic fields reduce excitability of pyramidal neurons by enhancing membrane Cl <sup>-</sup> conductance in the mouse motor cortex. |
| 3. 学会等名<br>Neuro2019  |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>高松泰行, Adya Saran Sinha, 秋田天平, 福田敦夫, 美馬達哉 |
| 2. 発表標題<br>静磁場刺激はマウス神経細胞の膜興奮性を一時的に低下させる             |
| 3. 学会等名<br>第33回日本生体磁気学会大会                           |
| 4. 発表年<br>2018年                                     |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Yasuyuki Takamatsu, Adya Saran Sinha, Tenpei Akita, Atsuo Fukuda, Tatsuya Mima                     |
| 2. 発表標題<br>Static magnetic fields can temporarily alter the membrane excitability of mouse pyramidal neurons. |
| 3. 学会等名<br>第41回日本神経科学大会   |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Yasuyuki Takamatsu, Adya Saran Sinha, Tenpei Akita, Atsuo Fukuda, Tatsuya Mima                 |
| 2. 発表標題<br>The effect of static magnetic fields on the membrane excitability of pyramidal neurons in mice |
| 3. 学会等名<br>Neuroscience 2018 (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>高松泰行, 湯川喜裕, 水口雅俊, 下村亮太, 美馬達哉       |
| 2. 発表標題<br>ヒト一次運動野に対する経頭蓋的静磁場刺激が対側一次運動野に与える影響 |
| 3. 学会等名<br>第48回日本臨床神経生理学会学術大会                 |
| 4. 発表年<br>2018年                               |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>高松泰行                                    |
| 2. 発表標題<br>脳刺激・薬理的ニューロモジュレーションを併用した脳卒中リハビリテーション    |
| 3. 学会等名<br>計測自動制御学会 ライフエンジニアリング部門シンポジウム2021 (招待講演) |
| 4. 発表年<br>2021年                                    |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|