

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09506

研究課題名(和文) 経頭蓋直流電気刺激を用いた急性期脳梗塞治療の有効性と作用機序に関する検討

研究課題名(英文) Investigation of the efficacy and mechanism of transcranial direct current stimulation for the treatment of acute cerebral infarction.

研究代表者

中村 元 (Nakamura, Hajime)

大阪大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：80533794

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：脳梗塞急性期に経頭蓋直流電気刺激(tDCS)が脳血流に与える影響を検討するために、マウス中大脳動脈閉塞モデルとレーザースペック脳表血流計を用いた実験系を作成し、tDCSの有無による血行動態の可視化を試みた。本研究では、tDCSのOn-Offによる血流変化や皮質拡延性抑制(CSD)の抑止効果を証明するには至らなかったが、正常脳および虚血巣周辺部においてtDCSのOn-Offに関わらず、刺激側の緩やかな血流増加を認めた。これらの結果から、tDCSは即時的ではなく緩徐な血流増加を誘発する可能性があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、脳梗塞発症直後にtDCSを行い、その脳表血流を持続的に可視化する手法を確立した。残念ながらtDCSによる劇的な脳血流増加や脳梗塞縮小効果を証明するには至らなかったが、正常脳組織において刺激側の緩徐な血流増加傾向を認めたことは、大きな収穫であったと思われる。今後tDCSは、脳梗塞急性期のみならず超高齢者の慢性脳虚血状態に対する新たな介入方として期待が持てるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：To investigate the effects of transcranial direct current stimulation (tDCS) on cerebral blood flow during the acute phase of cerebral infarction, we created an experimental system using mouse middle cerebral artery occlusion model and laser speckle flowmetry (LSF). In this experiment, we attempted to visualize hemodynamic change in the presence and absence of tDCS. Unfortunately, we could not prove the effect of tDCS On-Off on blood flow or the inhibition of cortical spreading depression (CSD), however, we observed a gradual increase in cerebral blood flow on the stimulated side regardless of tDCS On-Off in the normal brain and in the peri-infarct area. These results suggest that tDCS may induce a very slow, but not immediate, increase in cerebral blood flow. tDCS may not only have a direct effect on blood vessels, but may also affect other mechanisms of cerebral infarction exacerbation, such as inflammatory responses. We will continue to explore further based on these findings.

研究分野：脳血管障害

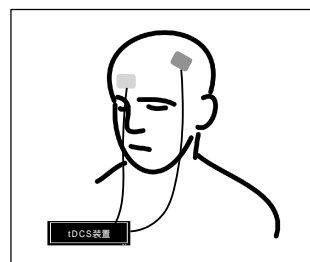
キーワード：急性期脳梗塞 経頭蓋直流電気刺激 皮質拡延性抑制

## 1. 研究開始当初の背景

近年、脳梗塞発症直後の患者に対して線溶剤静注療法や機械的血栓除去術(血管内治療)が盛んに行われるようになり、脳梗塞による死亡率は減少してきた。しかし、死に至らずとも後遺症で苦しむ患者も数多く存在するため、脳梗塞の増悪を防ぎ、後遺症を軽減する新たな治療法の開発は、社会的にも意義が大きい。

今日に至るまで、脳循環代謝や免疫応答など、さまざまな側面から脳梗塞増悪機序や新規治療法の研究がなされてきたが、現在、脳梗塞急性期患者に対して行われている治療は、血行再建療法(急性期再開通療法)、脳保護薬投与、抗血栓薬投与、抗浮腫薬投与、などに限られている。また、脳梗塞に対する細胞治療の研究も盛んに行われているが、現時点では広く日常診療で使用できるレベルではない。このような現状から、いつでも、どこでも、誰にでも、迅速に行える脳梗塞の治療法を開発することが望まれている。

我々は、リハビリテーション領域においてすでに臨床応用されている「経頭蓋直流電気刺激(Transcranial Direct Current Stimulation: tDCS)」に着目した。これは、頭皮上から数ミリアンペア程度の微弱な直流電流を患者の頭部に通電することにより、脳細胞の静止膜電位を変化させ、脳の興奮性を調整する非侵襲的脳刺激法であり、麻痺の改善のみならず学習能力や作業機能の向上を認めたと報告がある[1]。tDCSは大きな副作用がなく、装置も単純なため、汎用性の高い安全な治療法といえる。また、非侵襲的に脳細胞の膜電位やグリア細胞に作用することが知られており[2,3]、微小循環障害や炎症反応などが引き起こされている虚血巣周辺部(ペナンプラ)において、善悪両方の影響を及ぼす可能性がある。このような特徴から、脳梗塞患者への応用を試みる報告が散見されつつあるが、効果的な刺激タイミングや虚血巣周辺領域に与える影響については不明な点も多かった[4,5]。

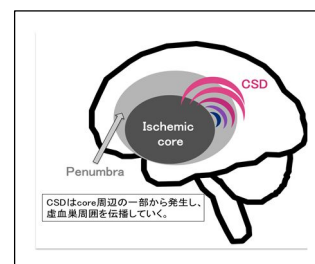


本研究では、脳梗塞急性期にtDCSがペナンプラに及ぼす直接的な影響を考察するために、マウス急性脳梗塞モデルおよびレーザースペック脳表血流計(Laser speckle flowmetry: LSF)を用いた実験系を作製し、刺激の有無による血行動態の可視化を試みた。

## 2. 研究の目的

先述のように、tDCSは主にリハビリテーション領域で使用されてきたが、その作用機序や脳に与える影響に関しては不明な点も多い。また、急性期脳梗塞への応用に関する報告は散見されるものの、刺激中の脳の状態を可視化した報告や、皮質拡延性抑制(cortical spreading depression: CSD)[6]をはじめとする様々な現象に与える影響を検証した報告はこれまでに存在しない。

本研究の目的は、脳梗塞急性期にtDCSを行うことにより、脳組織の血流変化が誘発され、ペナンプラの救済に寄与するのかが否かを明らかにすることである。tDCSの脳血流増加効果が明らかになれば、汎用性と安全性が高い新たな治療法の開発につながる可能性がある。



## 3. 研究の方法

本研究は、マウス脳梗塞モデル(中大脳動脈閉塞モデル)を用いて行った。実験手順の概略を以下に記載する。

- (1) 実験マウスには雄BL6種(9-10週齢)を使用し、2%イソフルレンを用いた吸入麻酔を行った。
- (2) スレッドを用いて中大脳動脈閉塞モデル(永久閉塞モデル)を作製。
- (3) スレッド挿入後にマウスを仰臥位から伏臥位に体位変換し、LSFモニタリングおよびtDCSに備えて頭部を固定。
- (4) LSFにはOMEGAZONE OZ-1 SYSTEM10(オメガウェーブ株式会社、東京)を使用。
- (5) tDCSはMaster-9(AMPI, Israel)およびISO-Flex(AMPI, Israel)を使用。
- (6) 頭皮を正中切開し、頭蓋骨を露出。
- (7) LSFを用いて経頭蓋で大脳表面の血流を確認し、閉塞側の脳表血流低下を確認。

- (8) 後頸筋正中および閉塞側側頭筋に針電極（OA215-105、株式会社ユニークメディカル、東京）を刺入し、tDCS に備える。過去の報告[7]に則り、刺激時は前者を陽極、後者を陰極とした（Figure 1）。
- (9) セッティング完了後、30 分間はコントロールの画像を採取。その後、刺激（+）と刺激（-）を 20 分ずつ 2 度交互に行い、脳表血流変化を LSF で連続モニタリングした。なお、刺激の設定は 250  $\mu$ A（5.5mA/cm<sup>2</sup>）の連続直流刺激とした（Figure 2）。
- (10) 刺激終了後はマウスを安楽死させ、脳組織のサンプルを採取した。
- (11) LSF データに関しては、OMEGAZONE OZ-1 SYSTEM10（オメガウェーブ株式会社、東京）を用いて定量的に評価解析した。

Figure 1

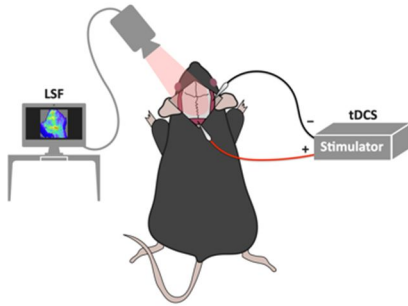
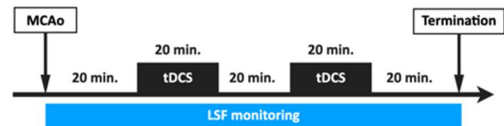


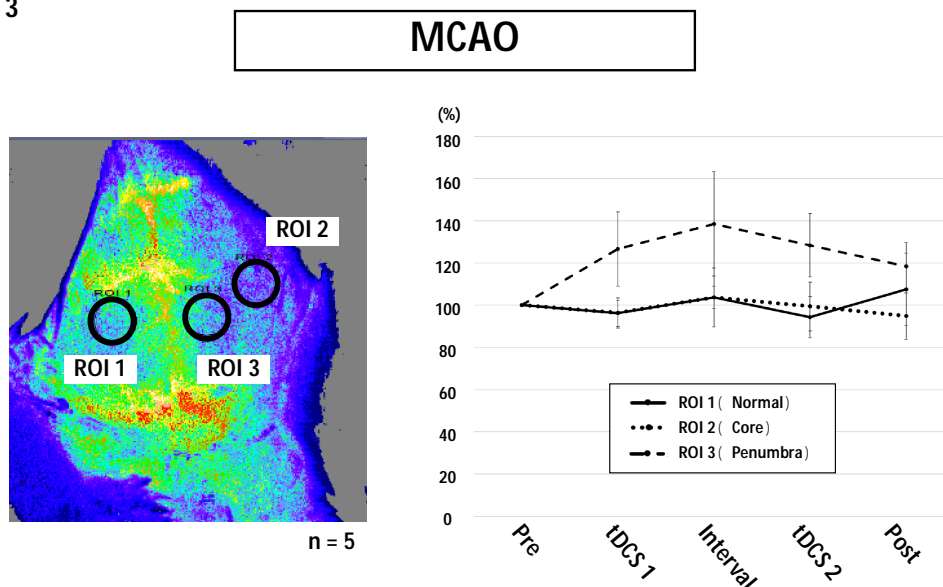
Figure 2



#### 4. 研究成果

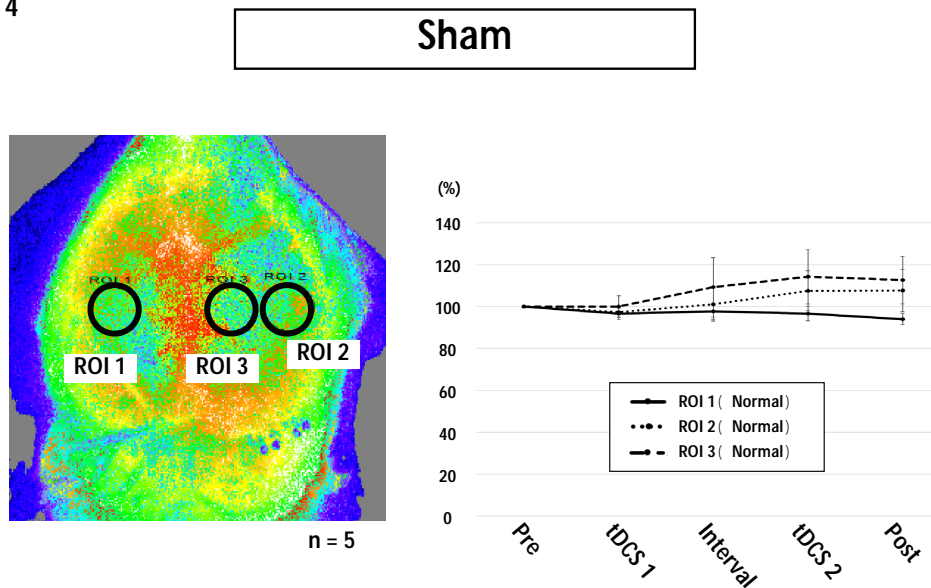
- ・ MCAo+tDCS 群（以下 M 群） Sham+tDCS 群（以下 S 群）の 2 群に分けて実験を行った。
- ・ M 群で、健常側 MCA 領域と閉塞側 MCA 領域に ROI を設定し、脳表血流を比較したところ、閉塞側の血流は健常側の  $62.9 \pm 5.8\%$ （mean  $\pm$  SE）であった。
- ・ M 群では、健常側 MCA 領域（正常脳）、閉塞側 MCA 領域（虚血コア）、閉塞側 ACA-MCA 境界領域（ペナンプラ）の 3 カ所に ROI を設定し、単位面積あたりの血流変化の推移を検討した。Pre、tDCS-1、Interval、tDCS-2、Post の各時間での単位面積あたりの脳血流量の推移を調べたところ、ペナンプラ領域で血流増加を認めたが（Figure 3）、tDCS の有無で有意差を認められず、経時的な側副血行路の発達を見ている可能性が高いと思われた。

Figure 3



- ・ S 群でも同様に健常側 MCA 領域（正常脳）、閉塞側 MCA 領域（正常脳）、閉塞側 ACA-MCA 境界領域（正常脳）に ROI を設定し、健常脳における tDCS の影響を検討したが、こちらも tDCS の有無による有意差は認めなかった。しかし、非刺激側と比較して刺激側で血流増加傾向を認めため、正常脳における tDCS の緩徐な血流増加効果の可能性が示唆された（Figure 4）。

Figure 4



・なお、今回の解析方法では、M群およびS群のいずれにおいても tDCS 中に CSD の発生は認められず、CSD 発生に及ぼす tDCS の影響は解析できなかった。

・上記結果から、1) 脳梗塞急性期の tDCS は、LSF で検知できる急激な血流変化を誘発しないこと、2) 正常脳においては緩徐な血流増加を誘発する可能性があること、が明らかになった。しかし、tDCS は血流変化のみならず炎症反応に影響を及ぼす可能性や、LSF で検知できない微弱な血流変化を誘発する可能性があるため、本知見をもとに今後も探索を行う予定である。

<引用文献>

- 1) Kincses T et al.: Facilitation of probabilistic classification learning by transcranial direct current stimulation of the prefrontal cortex in the human. *Neuropsychologia*. 42:113-117. 2004
- 2) Monai H et al.: Calcium imaging reveals glial involvement in transcranial direct current stimulation-induced plasticity in mouse brain. *Nat Commun*. 7:11100. 2016
- 3) Ruohonen J, Karhu J: tDCS possibly stimulates glial cells. *Clin Neurophysiol*. 123:2006-9. 2012
- 4) Rossi C et al.: Transcranial direct current stimulation of the affected hemisphere does not accelerate recovery of acute stroke patients. *Eur J Neurol*. 20:202-204. 2013
- 5) Sattler V et al.: Anodal tDCS combined with radial nerve stimulation promotes hand motor recovery in the acute phase after ischemic stroke. *Neurorehabilitation and Neural Repair*. 29:743-54. 2014
- 6) Nakamura H et al.: Spreading depolarizations cycle around and enlarge focal ischaemic brain lesions. *Brain*. 133:1994-2006. 2010
- 7) Pruvost-Robieux, E. et al. Design and Methodology of a Pilot Randomized Controlled Trial of Transcranial Direct Current Stimulation in Acute Middle Cerebral Artery Stroke (STICA). *Front Neurol* 9, 816. 2018

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	尾崎 友彦  (Ozaki Tomohiko)  (00723123)	大阪大学・医学系研究科・招へい教員   (14401)	
研究分担者	貴島 晴彦  (Kishima Haruhiko)  (10332743)	大阪大学・医学系研究科・教授   (14401)	
研究分担者	川端 修平  (Kawabata Shuhei)  (20764062)	大阪大学・医学部附属病院・医員   (14401)	
研究分担者	井筒 伸之  (Izutsu Nobuyuki)  (20834170)	大阪大学・医学部附属病院・医員   (14401)	
研究分担者	西田 武生  (Nishida Takeo)  (30533806)	大阪大学・医学系研究科・助教   (14401)	
研究分担者	角野 喜則  (Kadono Yoshinori)  (60770675)	大阪大学・医学系研究科・特任研究員   (14401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	高垣 匡寿  (Takagaki Masatoshi)  (70724433)	大阪大学・医学系研究科・助教     (14401)	

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