

令和 5 年 9 月 13 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03794

研究課題名(和文)長期電気刺激と外科的介入による大脳マルチスケールでの機能的及び形態的变化の研究

研究課題名(英文)Multi-scale investigation of cerebral anatomo-functional changes induced by long-term electrical stimulation and surgical intervention

研究代表者

川合 謙介 (Kawai, Kensuke)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：70260924

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：大脳への電気刺激や外科的介入がもたらす機能的及び形態的变化の解明を目的として研究を行い、ラットではVNSが聴覚野において、コリン作動性システムを介してフィードフォワード経路を強化し、ノルアドレナリン作動性システムを介してフィードバック経路を減衰させており、複数の神経調節系を介して大脳皮質のゲインを変調する可能性を見出した。また、ヒト海馬多切術後の機能的ネットワーク(FC)変化をfMRIで調べたところ、術後1ヶ月での一過性記憶機能低下に対応して海馬内でのFC低下があり、6ヶ月での記憶機能回復に対応してFC回復が認められた。一方、海馬と前頭前野や小脳とのFCの回復にはばらつきがみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、大脳への電気刺激や外科的介入が大脳の機能的ネットワークにもたらす変化を明らかにすることによって、VNSや海馬多切術の効果発現機構の解明につながるものである。さらに自律神経系による大脳皮質機能の調節機構はいまだ不明な点が多く、その解明という学術的意義が大きい。また、欧米ではさまざまな精神・神経疾患に対するニューロモデュレーション治療が急激に進歩・普及しているが、日本への導入が大幅に遅れている。その背景には効果発現機構が未解明で至適刺激条件の合理的決定法が不明という課題があり、本研究の成果はこれらの課題解決の端緒となる点で臨床的・社会的にも有意義なものである。

研究成果の概要(英文)：We conducted research with the aim of elucidating the functional and morphological changes caused by electrical stimulation to the brain or surgical intervention. In rats, vagus nerve stimulation (VNS) was found to enhance the feedforward pathway through the cholinergic system and attenuate the feedback pathway through the noradrenergic system in the auditory cortex, suggesting the potential modulation of cortical gain through multiple neuromodulatory systems. Additionally, using fMRI, we examined the functional network (FC) changes in the human hippocampus after hippocampal transection. We observed a decrease in FC within the hippocampus corresponding to the transient decline in memory function at one month post-surgery, and a recovery of FC corresponding to the restoration of memory function at six months post-surgery. However, there was variability in the recovery of FC between the hippocampus and the prefrontal cortex or the cerebellum.

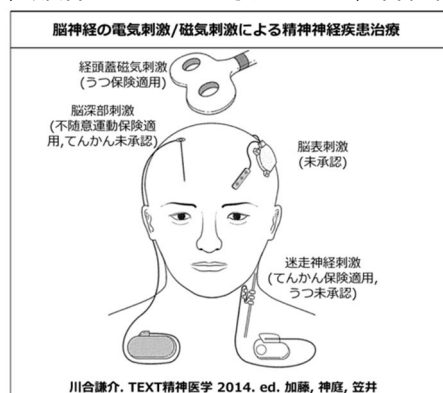
研究分野：脳神経外科学

キーワード：大脳電気刺激 迷走神経刺激 神経ネットワーク てんかん 記憶

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

さまざまな精神・神経疾患に対するニューロモデュレーション治療が急激に進歩・普及している。日本でも、不随意運動に対する深部脳刺激療法(DBS)、難治てんかんに対する VNS、各種精神症状に対する精神科電気痙攣療法が保険適用の標準治療となっており、2019年6月にはうつ病に対する経頭蓋磁気刺激療法が保険適用となった(右図)。しかし、日本では植込型電気刺激は DBS、VNS を除き、その導入も研究も遅れている。薬剤抵抗性てんかんに対する DBS や発作反応型頭蓋内脳波検知刺激装置(RNS)は、欧米ではすでに承認され急速に普及しつつあり、活発な研究成果や新知見の報告が増えている。治療抵抗性うつ病に対する VNS も同様だが、本邦では未承認で、関連する研究もきわめて限られている。



本邦導入の障壁の背景には様々な要因があるが、学術的には 1)効果発現機構が未解明である、2)至適刺激条件は効果と副作用を見ながら経験則で決めざるを得ない、という二つの大きな課題がある。特に、長期間の刺激が病態抑制や生理的機能改善を長期安定してもたらず事実を、急性刺激による一時的な機能的変調のみで説明することは困難である。VNS は、急性刺激による発作抑制効果も有するが、主たる効果は治療開始後数ヶ月で発現し始め長期安定して持続する(Kawai 他, Epileptic Disord 2017 など)。また、RNS も頭蓋内電極で検知した発作に対する直接的な抑制効果のみならず、年単位の長期継続でてんかん原性自体が抑制される可能性が示唆された(Kokkinos 他, JAMA Neurol 2019)。しかし、このような効果を実際に検証し、その機構に迫るような研究はきわめて限られており、詳細は不明である。また、長期効果の機構解明には、機能的変調のみならず、その基盤となる構造的変化の存在が想定されるが、そのような情報はさらに限られている。

2. 研究の目的

上記背景を踏まえて、本研究は脳への電気刺激や外科的介入がもたらす脳全体としての機能的変化及び形態的变化を明らかにしようとする。刺激部位に対する直接の電気刺激効果や、手術部位やその近傍の変化のみならず、これらの介入が脳全体に及ぼす影響を検討する。さらにこのような変化を、大脳皮質局所から脳全体までマルチスケールに捉えるために、(1)ラット VNS モデルを用いた聴覚野皮質と海馬における局所微小ネットワーク特性の変化と形態的变化の検証、(2)ミニプタ脳表電気刺激モデルを用いた脳回単位での多点脳表脳波と functional near-infrared cortical imaging (fNCl) による機能的ネットワーク特性の変化と形態的变化の検証、(3)ヒトてんかん手術および VNS による脳全体のネットワークと形態变化の検証を行うことを立案した。

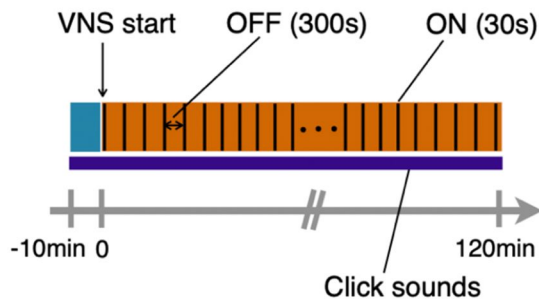
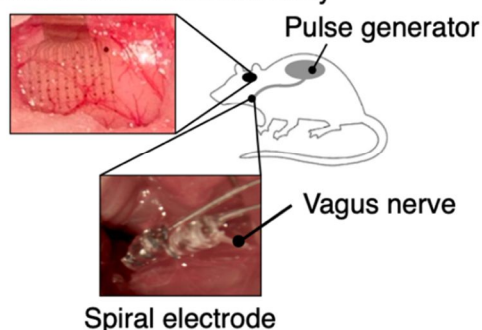
3. 研究の方法

(1)ラット VNS モデルを用いた聴覚野皮質における機能的ネットワーク特性の変化の検証

われわれは、ラット VNS モデルを用いて、急性刺激が聴覚野大脳皮質における微小多点同期性の恒常性維持を介して、発作抑制や生理的機能の維持に働いている可能性を示した(Shiramatsu 他, Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc 2016 など)。また、VNS は聴覚野の表層で誘発活動を強化するが、深層では強化しないことを発見し、VNS がフィードフォワード (FF) 経路とフィードバック (FB) 経路のバランスを変化させる可能性を示した(Takahashi 他, Sci Rep 2020)。VNS はコリン作動性システムとノルアドレナリン作動性システムを介して大脳皮質活動の調整を行うことも知られているので、VNS がこれらの神経伝達物質を介して FF-FB バランスを調節しているかどうかを検証した。

ラット聴覚野に微小電極アレイを留置し、VNS が聴覚誘発活動に与える効果を確認した後、コリン作動性拮抗薬やノルアドレナリン作動性拮抗薬を聴覚野に局所投与し VNS 効果の変化を評

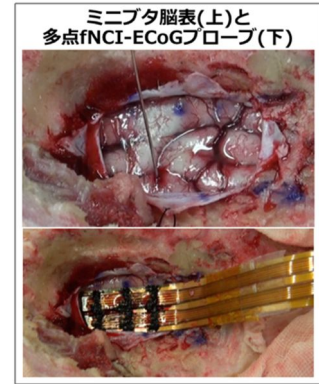
Surface microelectrode array



価した(下図)。FF-FB バランスの指標の一つとしては大脳皮質の帯域別オシレーション活動の変化を検証した。

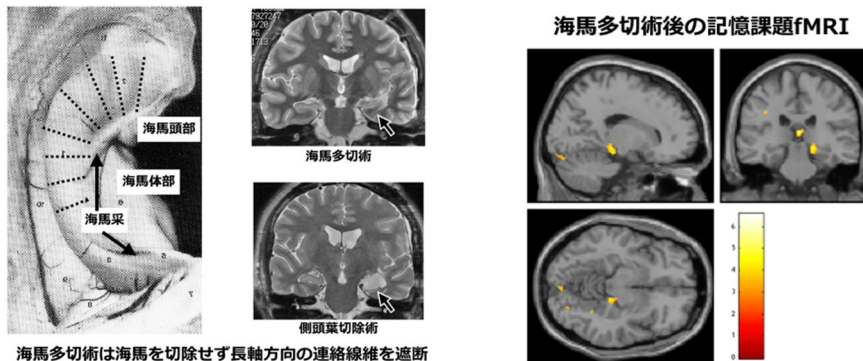
(2)ミニプタ脳表電気刺激モデルを用いた脳回単位での多点脳表脳波と fNCI による機能的ネットワーク特性の変化と形態的变化の検証

ミニプタはラットより露出できる脳表が大きく、ヒトに類似した明確な脳回を有するため、脳回単位での解析に適している。われわれは、ミニプタ脳表多点における fNCI と脳表脳波を同時に計測できるシート型プローブ(多点 fNCI-ECOG プローブ)を開発し(右図)、鼻粘膜刺激による体性感覚誘発活動においてその整合性を確認した。単一皮質切開を加えた前後のミニプタ脳表から多点 fNCI-ECOG プローブで脳活動の記録を行い、脳回をまたぐ多点同期性の変化についての解析を進めている。本研究では単一皮質切開モデルに加えて、脳表電気刺激の長期効果を機能的・形態的に検証することを立案したが、残念ながら新型コロナウイルス蔓延により施設間移動が困難となり、さらにミニプタの供給が途絶えてしまったため、この項目については研究の継続を断念することとなった。



(3)ヒトてんかん手術および VNS による大脳全体のネットワークと形態変化の検証

側頭葉切除後には、術前後の fMRI による記憶課題での賦活領域や安静時ネットワークの解析により、側頭葉内側以外の広範囲にネットワークの変化が生ずることが報告され(Sidhu et al. Brain 2016 など)、われわれは 2017 年度より記憶を温存する海馬多切術において同様の解析を行うことで、記憶の一時的障害とその後の回復の背景をなす機能的ネットワーク変化を解析してきた(下図)。本研究ではさらに症例数を増やしてこの機能的ネットワーク解析を進めた。



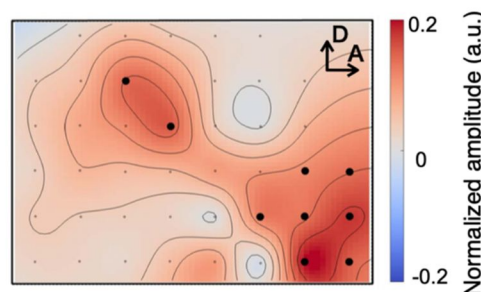
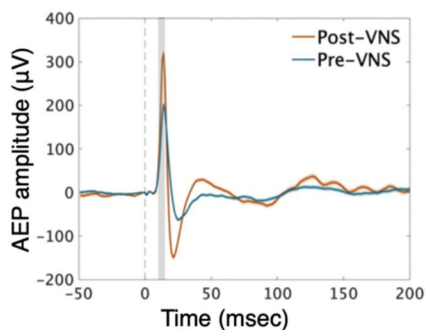
海馬多切術は海馬を切除せず長軸方向の連絡線維を遮断

てんかん外科海馬多切術前後の機能的ネットワークを調査するため、MHT 施行例 4 名の術前、術後 1 ヶ月、術後 6 ヶ月の安静時 fMRI 計測を施行し、MHT 前後の海馬と他脳領域間の機能的結合(FC)の変化を調査した。安静時 fMRI 計測データから術側海馬-皮質/皮質下領域の FC の解析を行い、術前に海馬との相関係数が上昇・低下した領域を抽出した。

4. 研究成果

(1)ラット VNS モデルを用いた聴覚野皮質における機能的ネットワーク特性の変化の検証

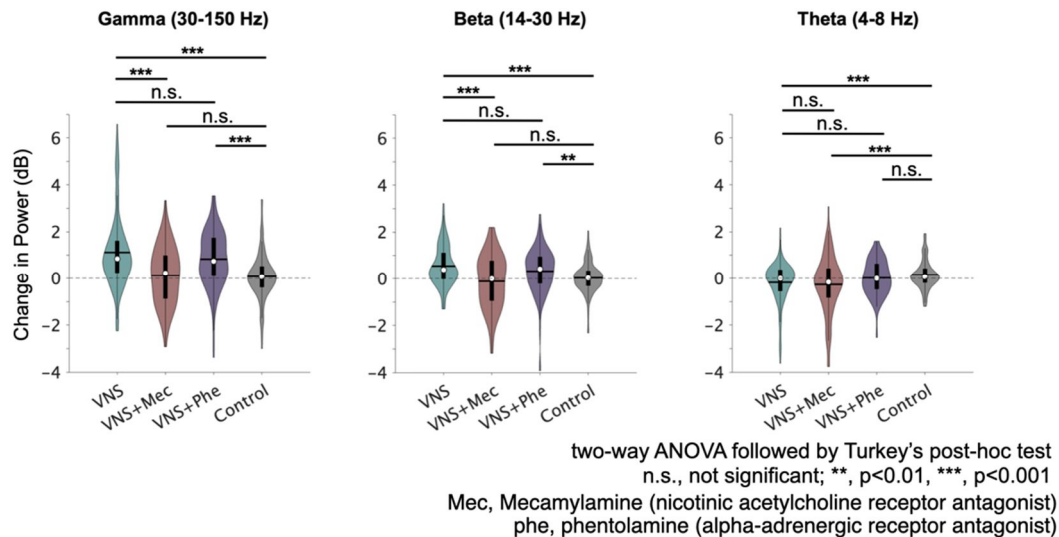
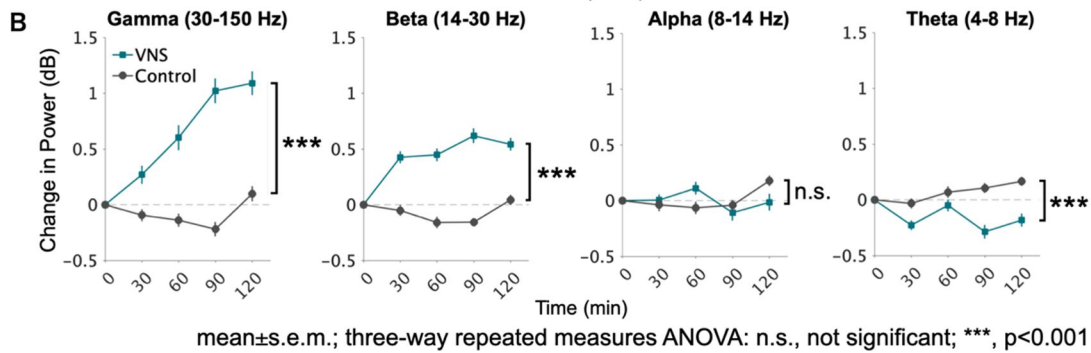
VNS は低次聴覚野における聴性誘発電位を増加させ、これまでの研究結果と一致した(下図)。さらに、VNS は聴覚によって誘発される パワーと パワーを増加させ、逆に パワーを減少さ



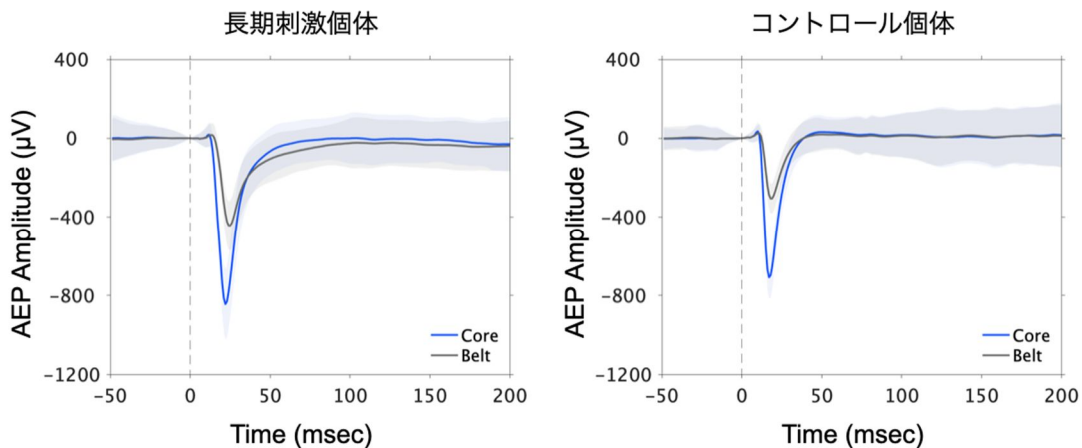
n=10 rats; cluster-based permutation test: ●, p<0.05

せることがわかった。聴覚野へのコリン作動性拮抗薬の局所投与は、VNS による および パワーの増加を選択的に抑制し、ノルアドレナリン作動性拮抗薬は パワーの減少を抑制した(次頁図)。これらの結果は、VNS が聴覚野において、コリン作動性システムを介して FF 経路を強化し、ノルアドレナリン作動性システムを介して FB 経路を減衰させることを示唆している。VNS が神経調節系を介して皮質のゲインを変調させているという知見は、今後 VNS が知覚や行動適応に

与える影響を解明していく上で重要な情報となる可能性がある。



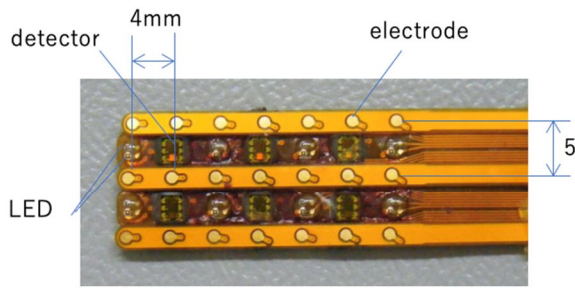
なお、当初計画した長期刺激実験については、ラットに VNS を埋め込み、VNS の長期刺激 (1 ヶ月) を行った。その後、露出した聴覚野に剣山型の微小電極アレイを刺入し、局所電場電位を多点同時計測した。領域間の情報処理のバランスを考察するため、聴覚野をコア領域 (低次聴覚野) とベルト領域 (高次聴覚野) に分け、コア領域において明瞭な聴性誘発電位を確認した。VNS 長期刺激による局所ネットワークの変化について解析を続けている。下に長期刺激によるクリック音の対する聴性誘発電位の例を示す。また、皮質神経活動の経時変化を長期的に追跡するため、新たに開発した表面電極アレイで聴覚野から計測を行ったが、ノイズの発生により正確な神経活動計測が困難な状況であった。表面電極アレイの慢性留置が可能な計測系を確立すべく、実験を続けている。



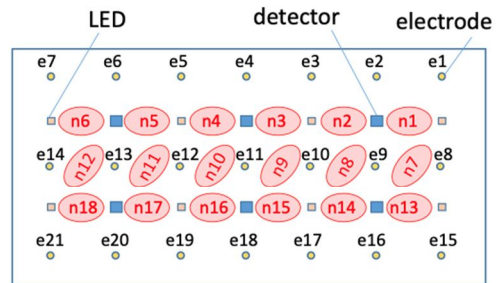
また、やはり当初計画した海馬および聴覚皮質の体積、層構成、介在ニューロン数、海馬神経細胞樹状突起の分岐状態定量化、海馬前駆細胞数、BDNF と bFGF の発現など、形態学的変化の検証については今後の課題となった。

(2) ミニプタ脳表電気刺激モデルを用いた脳回単位での多点脳表脳波と fNCI による機能的ネットワーク特性の変化と形態的变化の検証

本研究期間には、従来までの測定用シートに比して、プローブ間隔を小さくした新たな計測デバイスを制作し、ミニプタ鼻粘膜刺激による体性感覚誘発電位と NIRS 信号を従来よりも高い精度で計測できることを検証した。



NIRS · ECoG測定プローブの写真



e[1-21] : electrode, n[1-18] : NIRS

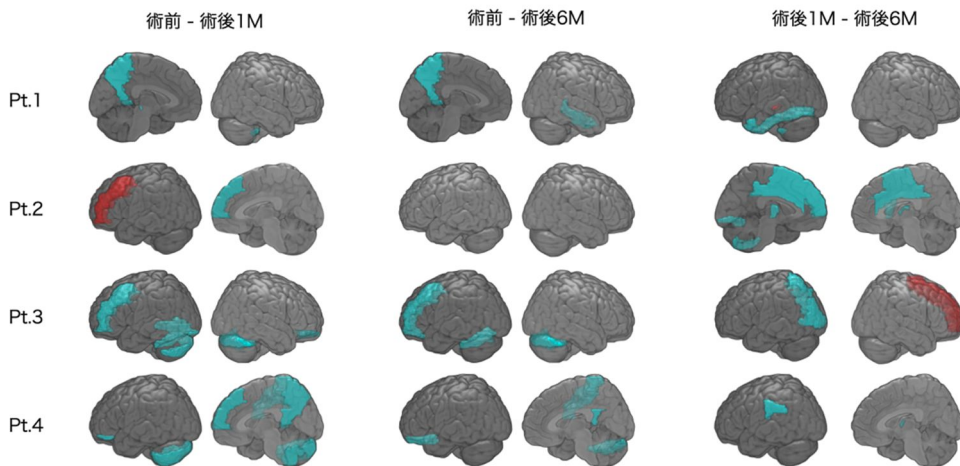
電極・プローブレイアウト (黒字は電極位置、赤字はNIRS測定領域)

(3) ヒトてんかん手術および VNS による大脳全体のネットワークと形態变化の検証

術側海馬頭部-体尾部間の FC は、1 例において術後 1 ヶ月で低下していたが、術後 6 ヶ月では全例で術前からの変化を認めなかった。一方で、4 例中 3 例で、術側海馬-前頭前野/小脳間の FC が、術後 1 ヶ月の時点で低下していた。術後 6 ヶ月時点では、その 3 例中 1 例では改善を認めたが、1 例では小脳のみで低下、残りの 1 例では前頭前野/小脳との FC の低下は継続していた。これらの結果から、MHT によって海馬と解剖学的結合性を持つ前頭前野や小脳との機能的結合性が低下することが示された。近年、海馬と解剖学的な結合性を持つ前頭前野や小脳が時空間情報推定処理を担うという報告や時空間情報推定処理が海馬長軸方向に沿って行われている報告もあることから、本研究結果成果を踏まえて、今後の研究として MHT による時空間情報推定処理能力の変化を検証することを検討している。

また、本研究計画で予定されていた VNS 埋め込み患者の MRI 計測計画において、本研究では埋込み型の VNS と同等の効果を持つと考えられる経皮的耳介迷走神経刺激療法 (transcranial auricular vagus nerve stimulation, taVNS) を採用し、fMRI 計測を行うシステム (taVNS-fMRI) を構築することが出来た。臨床用 MRI 機器を使用するため、コロナ禍の影響もあり、残念ながら研究期間内に taVNS-fMRI 計測の実施は困難であったが、将来的な研究の展望として、本研究計画で得られた安静時脳活動の解析方法を駆使して、taVNS-fMRI 計測で取得した安静時脳活動の fMRI データから VNS による大脳全体のネットワークの変化の検証を検討している。

海馬多切術後、術前、術後1ヶ月、術後6ヶ月における安静時脳活動から抽出した大脳皮質-海馬ネットワークの経時的変化



海馬との機能的コネクティビティが変化した大脳皮質領域 (赤色: 上昇、青色: 低下)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kunii Naoto, Koizumi Tomoyuki, Kawai Kensuke, Shimada Seijiro, Saito Nobuhito	4. 巻 15
2. 論文標題 Vagus Nerve Stimulation Amplifies Task-Induced Cerebral Blood Flow Increase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Human Neuroscience	6. 最初と最後の頁 726087
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnhum.2021.726087	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -
1. 著者名 INAJI Motoki, YAMAMOTO Takamichi, KAWAI Kensuke, MAEHARA Taketoshi, DOYLE Werner K.	4. 巻 61
2. 論文標題 Responsive Neurostimulation as a Novel Palliative Option in Epilepsy Surgery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurologia medico-chirurgica	6. 最初と最後の頁 1~11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2176/nmc.st.2020-0172	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -
1. 著者名 Takahashi Hirokazu, Shiramatsu Tomoyo I., Hitsuyu Rie, Ibayashi Kenji, Kawai Kensuke	4. 巻 10
2. 論文標題 Vagus nerve stimulation (VNS)-induced layer-specific modulation of evoked responses in the sensory cortex of rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8932
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-65745-z	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -
1. 著者名 石下洋平, 川合謙介	4. 巻 26
2. 論文標題 てんかんにおける迷走神経刺激療法	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 最新精神医学	6. 最初と最後の頁 419-425
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 川合謙介	4. 巻 74
2. 論文標題 てんかんと自律神経	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BRAIN and NERVE: 神経研究の進歩	6. 最初と最後の頁 271-277
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 井林賢志, 川合謙介	4. 巻 59
2. 論文標題 てんかん等に対する迷走神経刺激療法	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 自律神経	6. 最初と最後の頁 212-220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス 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 -

[学会発表] 計2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Shinichi Kumagai, Akane Matsumura, Tomoyo Isoguchi Shiramatsu, Kensuke Kawai, Hirokazu Takahashi
2. 発表標題 Modulation of neural activities in auditory cortex by vagus nerve stimulation
3. 学会等名 The 45th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society,
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinichi Kumagai, Tomoyo Isoguchi Shiramatsu, Akane Matsumura, Kensuke Kawai, Hirokazu Takahashi
2. 発表標題 Cortical oscillations modulated by vagus nerve stimulation in auditory pathways
3. 学会等名 Association for Research in Otolaryngology 46th Annual MidWinter Meeting
4. 発表年 2022年

〔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	石下 洋平 (Ishishita Yohei) (30835632)	自治医科大学・医学部・講師 (32202)	
研究分担者	島崎 久仁子 (Shimazaki Kuniko) (40142153)	自治医科大学・医学部・非常勤講師 (32202)	
研究分担者	手塚 正幸 (Tetsuka Masayuki) (40721311)	自治医科大学・医学部・助教 (32202)	
研究分担者	中嶋 剛 (Nakajima Takeshi) (60625995)	自治医科大学・医学部・講師 (32202)	
研究分担者	國井 尚人 (Kunii Naoto) (80713940)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	
研究分担者	佐藤 信 (Makoto Sato) (80742345)	自治医科大学・医学部・助教 (32202)	
研究分担者	高橋 宏知 (Takahashi Hirokazu) (90361518)	東京大学・大学院情報理工学系研究科・准教授 (12601)	

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	大谷 啓介 (Otani Keisuke) (90790676)	自治医科大学・医学部・講師 (32202)	
研究分担者	大貫 良幸 (Onuki Yoshiyuki) (90835993)	自治医科大学・医学部・講師 (32202)	

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