

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 14 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592105

研究課題名(和文) 経頭蓋磁気刺激による皮質拡延性抑制の誘導と非侵襲的な脳虚血耐性の獲得

研究課題名(英文) Induction of spreading depression by transcranial magnetic stimulation and noninvasive acquisition of ischemic tolerance of brain

研究代表者

小林 正人 (Kobayashi, Masahito)

埼玉医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60245511

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：定位脳手術装置に固定した動物に対して磁気刺激を行い、皮質拡散抑制(Spreading Depression:SD)を安定して導出・記録する刺激条件を明らかにした。経頭蓋磁気刺激(transcranial magnetic stimulation:TMS)では50 Hzで3連発刺激するtrainを5Hzで繰り返すtheta burst法が最もSDを誘発しうることが示された。またこの刺激法が、虚血に対する耐性を上昇する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We have examined the condition of transcranial magnetic stimulation to induce SD in the experimental animal model. With the theta burst method (trains of three stimuli of 50 Hz were repeated 5 times in a second) SD was induced most constantly. And this method seems to induce tolerance to the transient ischemia of the brain.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：脳虚血耐性 皮質拡散抑制 経頭蓋磁気刺激

1. 研究開始当初の背景

(1) 脳は虚血に対し極めて脆弱であり、かつ再生が望めない臓器である。脳梗塞を発症すると、治療後も重篤な後遺障害を残すことが多い。動物実験では短時間の虚血や低濃度の神経毒投与の負荷によって強力な虚血耐性を獲得することが明らかとなり、脳梗塞治療への応用が期待されている。近年、この前処置として皮質拡延性抑制：spreading depression; SD が注目されている。これは脳に対する侵襲（虚血など）や電気刺激の後に生じる一過性の脱分極とその後の活動の抑制が周囲の脳に伝搬していく現象である。この SD は安全に虚血耐性を獲得させる手段になりうるものとして臨床への応用が大いに期待されている。

(2) 経頭蓋磁気刺激(transcranial magnetic stimulation: TMS)は電磁誘導を利用して頭皮上から脳皮質を電気刺激する方法である。被験者に苦痛を伴うことがなく、安全に行えることから、脳機能の様々な研究や検査法として用いられてきた。近年、連続的に刺激を行う方法(repetitive TMS (rTMS))によるうつ状態や不随意運動の治療効果やリハビリテーションの促進などが報告され、治療法としての応用が注目されている。動物実験では磁気刺激の後に SD 様の脱分極が生じている事が報告されている。我々の研究グループではこの安全な脳刺激法を用い「磁気刺激による spreading depression」に着目し研究計画を立案した。

(3) これまで研究者は経頭蓋磁気刺激法を用いて動物実験およびヒトを対象とした研究を行ってきた。動物実験では脳神経を経頭蓋磁気刺激で刺激し、その反応を記録して被刺激部位を明らかにした。また、共同研究者と協力し、rTMS 後の線条体の細胞外 dopamine 濃度の変化を記録した。ヒトを対象とした実

験では、経頭蓋磁気刺激だけでなく機能的 MRI や MRS を用いて、大脳半球間抑制と機能的 MRI 上に認める信号の関連や、一側大脳半球の抑制が同側の手の運動に及ぼす影響を明らかとし、また脳卒中患者を対象として予後と MRS の関連を検討してきた。

2. 研究の目的

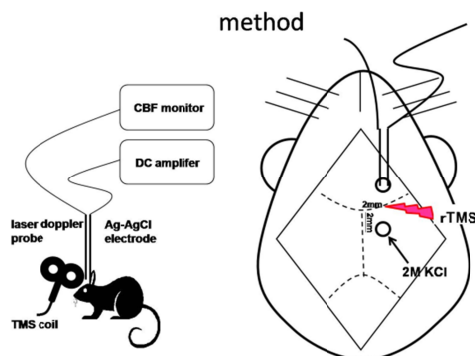
本研究では、動物実験レベルで SD を生じうる TMS の刺激条件およびその効果を明らかにし、更にその知見を元に、新たな脳梗塞予防法の開発を目指した。

3. 研究の方法

(1) 定位脳手術装置に固定した rat に対して動物実験を行った(図1)。非侵襲的な連続経頭蓋磁気刺激を用いて、spreading depression (SD)を導出する条件を探索した。

吸入麻酔で麻酔導入後、全身麻酔下に脳表を 4×4mm 露出し、2×3mm の脳綿電極を脳表に置き、脳波を測定・記録しつつ、動物用のコイルを使用して連続経頭蓋磁気刺激(rTMS)条件(刺激強度、頻度、回数)を変化させた。磁気刺激前後の脳波の変化を記録し、SDを誘導する条件を探索した。

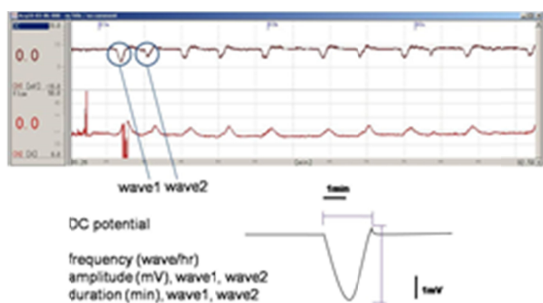
図 1



刺激条件は、刺激間隔 2msec の連続二連発刺激 10 Hz を 10 秒間、刺激間隔 2msec の連続 4 連発刺激 10Hz を 5 秒間、50 Hz で 3 連発刺激を与える train を 5 Hz で繰り返す theta burst を用いて刺激を行った。また、

④磁気刺激コイルは脳表から離し、磁気刺激装置の音のみを聞かせる条件を control 群とした。また、それぞれの群において、刺激後に 0.5mol KCl 溶液を脳表に 10 μ L 滴下して SD を誘発し、SD の増強の有無も検討した(図 2)。この際、rTMS の刺激パターンは sham 刺激(磁気刺激の音のみを聞かせる)と低頻度刺激(1Hz、10 分間)、高頻度刺激(20Hz、3 秒間を 1 分毎に 10 回繰り返す)としそれぞれについて測定を行った。

図 2 SD の測定



(2) 最も強力にSDを誘発しうる磁気刺激(theta burst)を開頭手術は行わず全身麻酔下に実験動物(5匹)に与えた後通常通り飼育を続け、4日目に塞栓系法による2時間の脳虚血負荷を与え、脳虚血による脳の障害の程度を検討した。すなわち、脳虚血負荷4日後にペントバルビタール(100 mg/kg, i.p.)により安楽死後、迅速に脳を摘して脳組織標本作製し、梗塞体積を測定して虚血耐性効果を比較検討した。梗塞巣の体積の測定にはNIH Image ソフトウェアを用い、前頭葉極から 2-14mmを2mm厚にスライスした断面から、皮質および白質の梗塞巣の合計体積を算出した。

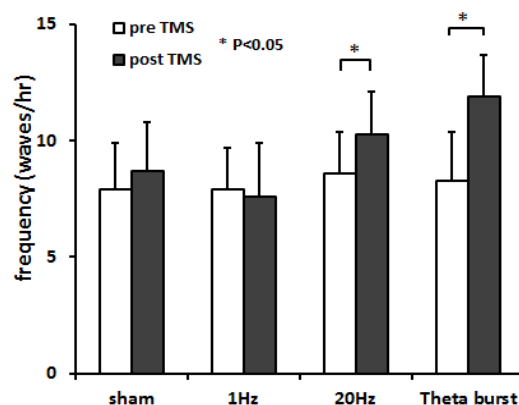
4. 研究成果

(1) 吸入麻酔薬による全身麻酔では、脳皮質の活動を抑制するので、ペントバルビタールの腹腔内投与と麻酔薬に変更することでSDの導出が容易となると考えられた。一方、ペントバルビタールの投与により potassium channel を抑制し虚血耐性が誘導されない可能性が示唆された。我々の実

験系では SD を安定して導出しうる適切な条件を八口セン濃度は 2.0%、KCl は 1mol であると確認し実験系を確立した。

(2) rTMS 刺激の前後の SD を比較すると、頻度はコントロール刺激と低頻度刺激では変化がなかったが、高頻度刺激では有意に増大し特に theta burst 法で顕著でありもっとも SD を誘導しやすいと考えられた。(図 3)

図 3



(3)

Theta burst による磁気刺激群と磁気刺激を行わず刺激装置の音のみ聞かせた群(対照群)に対し、刺激の後 4 日目に塞栓系法による 2 時間の脳虚血負荷を与え、脳虚血による脳の障害の程度を比較したところ、有意差は認めないものの、虚血に対する耐性が上昇する可能性が示唆された。(図 4,5)

図 4 対照および磁気刺激群の脳梗塞巣(白)

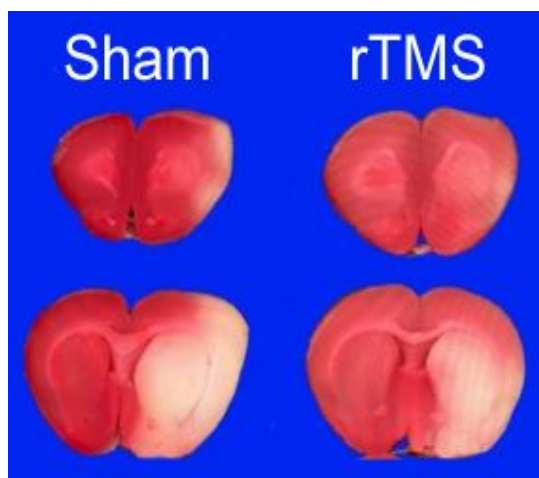
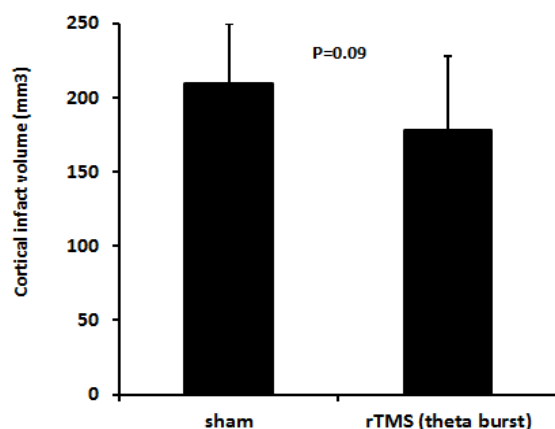


図 5 対照および磁気刺激群の脳梗塞巣の比較



rTMS 群では期待された虚血耐性が有意には認められなかったが、吸入麻酔薬が gap junction の阻害作用を持つことや、大脳皮質の活動を抑えるために SD が導出されにくかったことなどが原因として推察された。しかし、ペントバルビタールの腹腔内投与では、同麻酔薬がカリウムチャンネルを抑制するため虚血耐性が得られにくい可能性もあり、全身麻酔を必要とする動物実験の限界を示唆する結果とも考えられた。

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 3 件)

Miki Ohta, Masahito Kobayashi, Kenji Wakiya, Sachiko Takamizawa, Takamitsu Fujimaki. Preoperative assessment of hemifacial spasm by the coronal heavily T2-weighted MR cisternography. Acta Neurochir(Wien)(査読あり) 2014, 156 巻, p.565-569 doi: 10.1007/s00701-013-1941-4
 Tadashige Kano, Masahito Kobayashi, Takayuki Ohira, Kazunari Yoshida, Takashi Kawase. Speech-induced modulation of interhemispheric inhibition. Neuroscience Letters (査読あり) 2012, 531 巻 p.86- 90

doi: 10.1016/j.neulet.2012.10.027.

Shigeo Ohba, Masahito Kobayashi, Takashi Horiguchi, Satoshi Onozuka, Kazunari Yoshida, Takayuki Ohira, Takeshi Kawase. Long-term surgical outcome and biological prognostic factors in patients with skull base meningiomas. J Neurosurg (査読あり). 2011, 114 巻 p.1278-1287 doi: 10.3171/2010.11.JNS10701

[学会発表](計 7 件)

小林正人、磁気刺激と言語・認知機能-研究と臨床応用.第 43 回日本臨床神経生理学会学術大会(招待講演)平成 25 年 11 月 7 日 高知県立県民文化ホール

小林正人、Repetitive transcranial magnetic stimulation once a week induces sustainable long-term relief of post-stroke central pain. International stroke conference. 平成 25 年 2 月 6 日 Honolulu, Hawaii, USA

小林正人、経頭蓋磁気刺激による脳卒中後難治性疼痛に対する治療の試み.第 37 回脳卒中学会総会.平成 24 年 4 月 27 日 福岡国際会議場

小林正人、より低侵襲で確実な脳深部刺激電極植え込み術のための我々の工夫.第 51 回日本定位・機能神経外科学会.平成 24 年 1 月 21 日東京ステーションコンファレンス

小林正人、経頭蓋磁気刺激による脳卒中後の難治性疼痛に対する治療の試み.第 41 回日本臨床神経生理学会学術大会(招待講演).平成 23 年 11 月 10 日 グランシップ(静岡市)

小林正人、術後残存頭蓋底髄膜腫に対するガンマナイフの治療:脳神経温存と再発防止.日本脳神経外科学会第 70 回総会.平成 23 年 10 月 13 日 パシフィコ横浜

小林正人、Correlation between intracortical inhibition and clinical symptoms after STN-DBS in Parkinson's disease: TMS study.

8th Meeting of the Asian Australasian
Society of Stereotactic and Functional
Neurosurgeons. 平成 23 年 6 月 17 日 Jeju,
Korea

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

小林 正人 (KOBAYASHI Masahito)

埼玉医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60245511

(2)研究分担者

堀口 崇 (HORIGUCHI Takashi)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：70245520

(3)連携研究者

()

研究者番号：