

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：83902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2017

課題番号：25351001

研究課題名(和文) 脳活動を指標にした感覚情報処理抑制系の解明

研究課題名(英文) Inhibitory mechanisms indexed by brain activity

研究代表者

乾 幸二 (Inui, Koji)

愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・機能発達学部・部長

研究者番号：70262996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：私達は、聴覚野プレパルス抑制(PPI)が介在細胞による抑制を反映している可能性について検討しました。連続音の中に突然の音圧増加(10dB)を挿入する刺激を用いました。弱い変化刺激(プレパルス、5dBの増加)を挿入することによってPPIが観察されました。PPIの時間経過は、約20-60ミリ秒および600ミリ秒で頂点となるいくつかの時間的に異なる抑制を示しました。さらに、バクロフェンおよびジアゼパムを用いて、薬理的に少なくとも2つの抑制機序がGABAに関連することを確認しました。統合失調症などの多くの疾患が抑制系に問題があると考えられており、本手法は臨床的に有用であると期待されます。

研究成果の概要(英文)：Little is known about inhibitory interneurons in humans. We sought to clarify whether prepulse inhibition (PPI) in the auditory cortex reflected inhibition via interneurons using magnetoencephalography. An abrupt increase in sound pressure by 10 dB in a continuous sound was used to evoke the test response, and PPI was observed by inserting a weak (5 dB increase for 1 ms) prepulse. The time course of the inhibition evaluated by prepulses presented at 10-800 ms before the test stimulus showed several temporally distinct inhibitions peaking at approximately 20-60 and 600 ms. We separated at least two inhibitory mechanisms pharmacologically using baclofen (GABA-B agonist) and diazepam (GABA-A allosteric modulator). Although many diseases such as schizophrenia may have deficits in the inhibitory system, we do not have appropriate methods to evaluate them; therefore, the easy and non-invasive method described herein may be useful clinically.

研究分野：感覚情報処理

キーワード：介在細胞 抑制 GABA 脳磁図 脳波

1. 研究開始当初の背景

神経回路は、興奮を伝える錐体細胞と抑制性にそれを制御する介在細胞とから成ります。どちらも信号処理に不可欠ですが、後者の役割はほとんどわかっていません。ヒトでその活動を観察する方法がないためです。一方、多くの疾患が抑制系に問題があると考えられており、抑制系機能の評価法が望まれます。

2. 研究の目的

非侵襲的脳機能計測を用いて抑制系機能の評価する手法の確立を目指しました。

3. 研究の方法

変化関連脳活動(Inui et al., 2010, 2012)は、持続する感覚刺激に何らかの変化が発生した際に惹起される脳活動で、脳波や脳磁図で明瞭に観察することができます。この変化関連脳活動を指標として、プレパルス抑制の手技で抑制系を評価しました。テスト用の変化刺激(テスト刺激)の前に微弱な変化刺激(プレパルス)を挿入しますと、テスト刺激に対する脳応答が減弱します。図1が聴覚系プレパルス抑制(PPI)の例です。プレパルスそれ自体は脳活動をほとんど惹き起こしませんが、直後のテスト応答を抑制します。これを基本手技として研究を行いました。

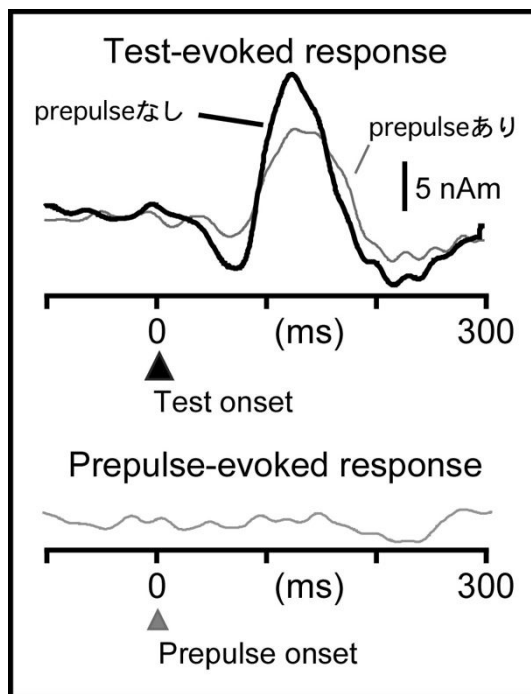


図1.聴覚変化関連脳活動とprepulse inhibition. テスト刺激は持続音に発生する突然の音圧増加(5dB)。Prepulse(25ms, 3dB増)は、それ単独では明瞭な活動を惹起せず、テスト応答を抑制する。

4. 研究成果

(1) 抑制の時間経過

プレパルス抑制が介在細胞によるものであるとすると、応答の減弱はIPSPの強度を反映することになります。ここで重要なのはIPSPの時間経過で、IPSPを直接観察することはできませんから、プレパルス-テスト間の時間を変えて、抑制の時間経過を観察しました。図2が結果で、大きく分けて、短潜時抑制と長潜時抑制の二つの機序があることがわかります。

ヒトのデータで介在細胞を特定することはできませんが、一般にパッチクランプで知られる介在細胞の性質では、短潜時抑制はBasket細胞、長潜時抑制はマルチノッチ細胞のIPSP時間経過に類似します。従って、プレパルス-テスト間隔を選択することで、複数の抑制機序を調べることができる可能性を示唆しました(発表文献)。

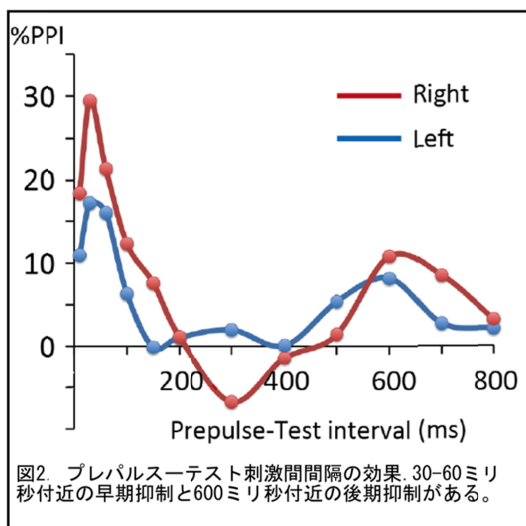
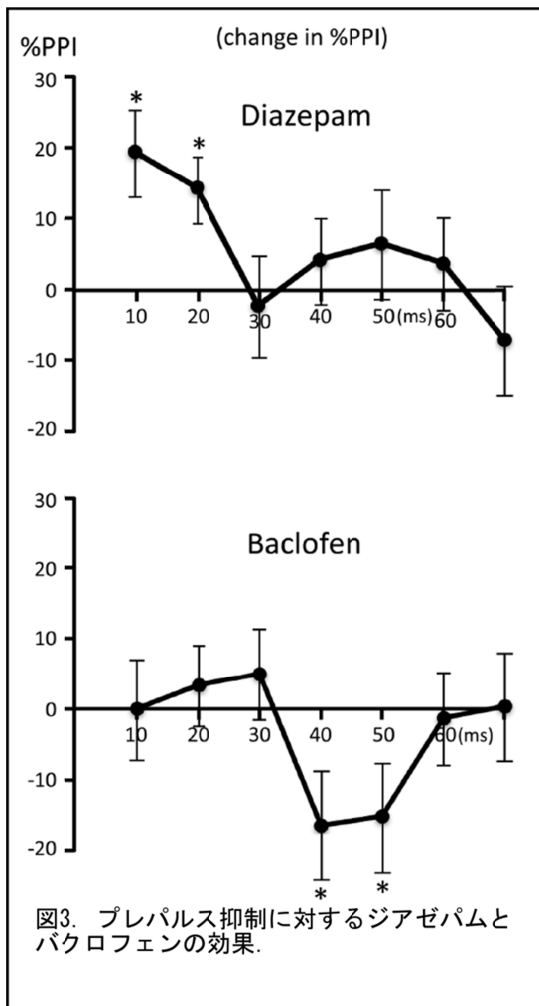


図2. プレパルス-テスト刺激間隔の効果. 30-60ミリ秒付近の早期抑制と600ミリ秒付近の後期抑制がある。

(2) GABAの関与

介在細胞による抑制を反映するのだとすると、GABA放出によるIPSPを介しての抑制ということになります。これを確認するために、GABA関連薬の効果調べました。(1)と同じ計測を行い、バクロフェン10mg(GABA-B受容器作動薬)とジアゼパム5mg(GABA-A受容器のモジュレーター)経口投与前後で抑制率を比較しました。コントロール(プラセボ投与)と比較した場合の効果を示したのが図3です。縦軸が抑制率、横軸はプレパルス-テスト間隔です。ジアゼパムは、10-20ミリ秒の抑制を増強しました。従って、短潜時抑制にはGABA-A受容器が関与していると考えられます。一方、バクロフェンは40-50ミリ秒の抑制を減弱しました。短潜時抑制の後半部分にGABA-B受容器が関与することを示唆しますが、抑制を減弱させた機序に若干の考察が必要です。この研究では、バクロフェン10ミリグラムを経口投与しましたが、この容量で期待される髄液中濃度は0.1μM程度であり、この濃度ではシナプス前

GABA-B 受容器に対する効果が、シナプス後受容器に対する効果をはるかに上回ることが知られています。従って、今回の実験条件下では、シナプス前 GABA 自己受容器刺激による、GABA 放出抑制作用の影響が観察されたと考えられます。バクロフェン投与によるてんかんの誘発事例が知られており、このような機序が関与した可能性が考えられます（発表論文）。



(3) 長潜時抑制

図2に示すように、600 ミリ秒付近に抑制のピークがあります。短潜時抑制と比較して、抑制の閾値が高いという特徴がありました。潜時と持続が長く、閾値が高いことから、過剰な発火があった時に働く暴走抑制に関与するのではないかと考えられました。抑制能力を評価する上で問題になるのが、抑制の閾値が高いことで、微弱なプレパルスでは抑制率は10%程度でした。臨床検査にも利用できる可能性を考えて、最適パラダイムに関する研究を行いました。

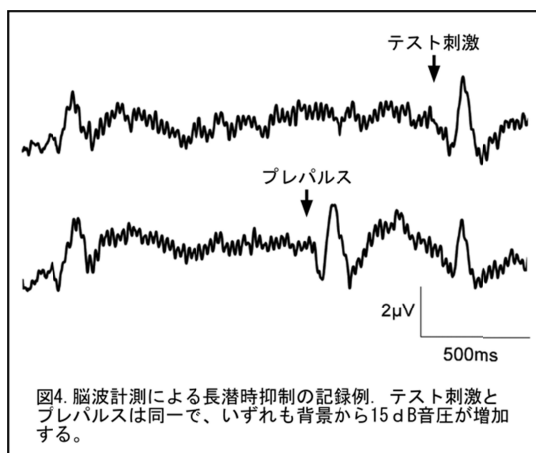
プレパルス-テスト間隔を300~800 ミリ秒で変化させた場合、最も強い抑制は600ミ

リ秒で観察されました（およそ30%）。間隔が最も短い300ミリ秒では、P50/N100成分で求めた抑制率は10%程度であり、N100/P200成分での抑制は認められませんでした（-20%程度）。従って、通常想定される神経伝達物質の枯渇等の機序は否定的で、介在細胞によるものという考えを支持しました。

次に間隔を600ミリ秒に固定し、プレパルス強度の効果を調べました。テスト刺激は背景65dBに対して、15dBの音圧増加です。プレパルスは、背景から3,6,9,12,15dB増加の5種類です。予想どおり、音圧増加の程度が大きいほど、抑制率は大きくなりました。15dB増加のプレパルスで20~40%の抑制でした。一方、短潜時抑制で用いる微弱変化(3dB)では、抑制の求められないケースが多く認められました。

15dBのプレパルス条件は、同一の変化刺激を600ミリ秒間隔で2回連続呈示するわけですから、プレパルスに対する応答をテスト応答として用いることができるかもしれません。その場合、テスト単独呈示の刺激条件を省略することができ、測定時間が短縮できます。これを確認するために、テスト刺激単独の応答を指標にする場合と、プレパルスに対する応答を指標にする場合の抑制率の相関をみました。その結果、どの成分を用いて抑制率を算出しても、両者の間に有意な相関がありました。脳波でも脳磁図と同様の結果でした。図4に、脳波での計測例を示します。

これらの結果から、長潜時抑制については、同一の変化刺激を600ミリ秒間隔で呈示し、第1刺激に対する応答を基準に用いて第2刺激に対する応答の減弱を求める方法が適していると考えられました（発表論文）。



いずれの抑制も誘発脳電位を用いて観察できます。被験者は無音ビデオをみているだけでよく、負担も少ないです。多くの疾患で抑制系の機能異常が推定されていますから、臨床検査として用いることができるのでは

ないかと期待されます。

<引用文献>

Inui K, Tsuruhara A, Kodaira M, Motomura E, Tanii H, Nishihara M, Keceli S, Kakigi R. Prepulse inhibition of auditory change-related cortical responses. *BMC Neurosci* 13:135, 2012.

Inui K, Urakawa T, Yamashiro K, Otsuru N, Takeshima Y, Nishihara M, Motomura E, Kida T, Kakigi R. Echoic memory of a single pure tone indexed by change-related brain activity. *BMC Neurosci* 11:135, 2010.

Inui K, Urakawa T, Yamashiro K, Otsuru N, Nishihara M, Takeshima Y, Keceli S, Kakigi R. Non-linear laws of echoic memory and auditory change detection in humans. *BMC Neurosci* 11:80, 2010

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7件)

Inui K, Takeuchi N, Sugiyama S, Motomura E, Nishihara M. GABAergic mechanisms involved in the prepulse inhibition of auditory evoked cortical responses in humans. *PLoS One*.

13:e0190481, 2018. doi: 10.1371/journal.pone.0190481.eCollection 2018.

Takeuchi N, Sugiyama S, Inui K, Kanemoto K, Nishihara M. New paradigm for auditory paired pulse suppression. *PLoS One*. 12:e0177747, 2017.

Motomura E, Inui K, Nishihara M, Tanahashi M, Kakigi R, Okada M. Prepulse inhibition of the auditory off-response: A magnetoencephalographic study. *Clin EEG Neurosci*. 49:152-158, 2018. doi: 10.1177/1550059417708914.

Inui K, Nakagawa K, Nishihara M, Motomura E, Kakigi R. Inhibition in the human auditory cortex. *PLOS ONE* 11: e0155972, 2016.

doi:10.1371/journal.pone.0155972.

Tanahashi M, Motomura E, Inui K, Ohoyama K, Tanii H, Konishi Y, Shiroyama T, Nishihara M, Kakigi R, Okada M. Auditory change-related cerebral responses and personality traits.

Neurosci Res. pii:

S0168-0102(15)00224-2, 2015..

doi:10.1016/j.neures.2015.08.005.

Nishihara M, Inui K, Morita T, Kodaira M, Mochizuki H, Otsuru N, Motomura E, Ushida T, Kakigi R. Echoic memory:

investigation of its temporal resolution by auditory offset cortical responses. *PLoS*

One. 9:e106553, 2014. doi:

10.1371/journal.pone.0106553.

eCollection 2014.

Nakagawa K, Inui K, Yuge L, Kakigi R.

Inhibition of somatosensory-evoked cortical responses by a weak leading stimulus. *Neuroimage*, 101: 416-424, 2014.

[産業財産権]

取得状況(計1件)

名称: 抑制性回路の評価及びその利用
発明者: 乾幸二、竹島康行、鈴木雅也、熊谷直也

権利者: 自然科学研究機構、東海光学株式会社

種類: 特許

番号: 特許第 628340 号

出願年月日: 2016年6月17日

取得年月日: 2018年2月9日

国内外の別: 国内

6 . 研究組織

(1)研究代表者

乾 幸二 (INUI Koji)

愛知県心身障害者窓口二一・発達障害研究

所・部長
研究者番号：70262996

(2)研究分担者
元村 英史 (MOTOMURA Eishi)
三重大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：10324534

(3)研究分担者
西原 真理 (NISHIHARA Makoto)
愛知医科大学・医学部・教授
研究者番号：60380325