

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：15501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25540136

研究課題名(和文) 脳局所冷却による全般性てんかん治療効果の実験的検証と理論的解明

研究課題名(英文) Experimental and theoretical investigations on effects of focal brain cooling on the generalized seizures

研究代表者

鈴木 倫保 (SUZUKI, Michiyasu)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：80196873

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：全般性てんかんに対する局所脳冷却の効果を動物実験とNEURONを用いたシミュレーションにより調べた。ラット右体性感覚野領域に局所脳冷却デバイスを慢性留置し、ビククリンの腹腔内投与によって、全般性の発作を誘発させた。誘発された全般性の発作波は局所脳冷却によって、両側性に温度依存的抑制を受け、けいれん発作も抑制された。しかしながら、冷却期間中に発作波は再び出現した。シミュレーションでは、局所脳冷却は視床-大脳皮質神経回路のループを遮断することによって発作を制したが、非冷却側における視床-大脳皮質神経回路のループが再び異常脳波Dsを形成したことで、発作再燃につながった可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The goal of the study was to investigate the effects of focal brain cooling (FBC) on bicuculline-induced generalized tonic-clonic seizures (GTCSs) in rats. A cooling device was implanted in the right somatosensory cortex in rats. Five days after implantation, GTCSs were produced by intraperitoneal injection of bicuculline under free-moving conditions. Ten minutes after GTCS onset, the temperature of the cortical surface was reduced to 15, 10 or 5° C for 10 min. ECoG and seizure symptoms were continuously monitored and the severity of each GTCS was scored using the Racine stage. Temperature reduction to 15, 10 and 5 significantly improved Racine stages and suppressed epileptiform discharges (EDs). These findings indicate that FBC has an anticonvulsant effect on GTCSs and may suppress EDs in the cooled cortex and in the remote cortex, which has nerve fiber connections from the cooled cortex via the corpus callosum.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：局所脳冷却 てんかん ビククリン 全般性てんかん

1. 研究開始当初の背景

てんかん患者の有病率は100人に1人程度と多い。このうち抗てんかん薬が効かない難治性てんかん患者は約3割にもなるが(本邦で約30万人)、てんかん焦点の外科的切除の適応となる患者は限られている。そのため、埋込み型デバイスによる治療法の開発が海外では積極的に進められている。我々も脳局所冷却を用いた治療法の開発に取組み、動物実験において、てんかん焦点の直接冷却が発作に対し強い抑制効果を持つことを確認してきた (Imoto et al. 2006, Tanaka et al. 2008, Oku et al. 2009, Fujii et al. 2012, Kida et al 2012)。一方で、局所脳冷却では、無焦点性の全般発作までは、制御できないと考えてきたが、予備実験的に局所脳冷却デバイスを自然発生てんかんラットに対し慢性留置し、発作発生時に局所脳冷却を実施したところ、大脳皮質を一側性に冷却するだけでも、脳全体で起こる異常脳活動が抑制を受けることがわかってきた(図1)。

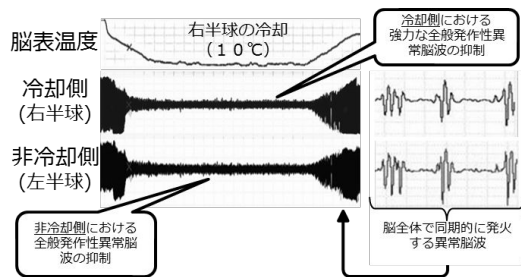


図 1

この現象は、全般性てんかんに対する治療可能性を持ち、局所脳冷却の医療機器化を進める上で非常に重要である。しかしながら、神経の過剰興奮が脳の広範囲に渡って異常に同期化するにも関わらず、局所の冷却で全般発作が抑制される事は、局所的なシナプス伝達の抑制のみでは説明できない。一方、てんかん発作は強い非線形ダイナミクスを有しており、てんかん理論モデルで有名な Jansen の非線形微分方程式では5%ほどの外部刺激による摂動で発作状態から発作間欠状態、またはその逆のような劇的な変化が生じることが示されている (Grimber. Neural Compt, 2006)。そこで、申請者らは、てんかん発作の非線形ダイナミクスに局所脳冷却の要素を外部刺激として導入することでメカニズム解明につながるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、全般性てんかん発作に対する局所脳冷却が引き起こす発作抑制効果を実験的に検証し、理論的に解明することである。局所脳冷却は、異常脳活動が一部分に限られる部分発作のみならず、脳全体で起こる全般発作をも抑制する可能性を有してい

る。しかし脳全体が同期的に興奮している全般発作が、なぜ脳の一部の冷却で抑制されるかについては不明であり、現象の解明も既存のアプローチでは困難である。そこで、てんかん性異常脳波の非線形性に着目し、動物実験と数理モデルによるシミュレーションの双方より脳の冷却が引き起こすダイナミックな状態遷移を調べることで、全般発作に対する局所脳冷却の発作抑制メカニズムの理解に繋げる。

3. 研究の方法

(1)動物実験

吸入麻酔下にて、ラットの右体性感覚野領域を開頭し、ペルチエ素子からなる局所脳冷却デバイスが脳表に接触するように慢性埋め込みを実施した。脳波を計測するための記録電極は、体性感覚野の上肢の領域にそれぞれ1つずつ設置し、Ref 電極は小脳に設置した(図2)。ラットが回復した後、ピククリン(投与量:1ml、濃度:10mg/ml)の腹腔内投与によって、全般性の発作を一時的に誘発させた。ピククリンの投与から10分後、全般性の発作が起きている状況下で冷却デバイスを駆動し、局所脳冷却を10分間実施した。冷却終了後は10分間の復温を実施することによって、全般発作の局所脳冷却に対する可逆性を確認した。冷却温度は、非冷却、15、10、5度の4種類とし、1回の実験で一種類の温度での実験を実施し、3日毎に異なる冷却温度での実験を繰り返した。けいれん発作の評価には Racine スコアを用いることで、けいれん発作の重篤度を5段階で評価した。すべての実験が終了した後、組織学的評価のために、灌流固定を実施した。

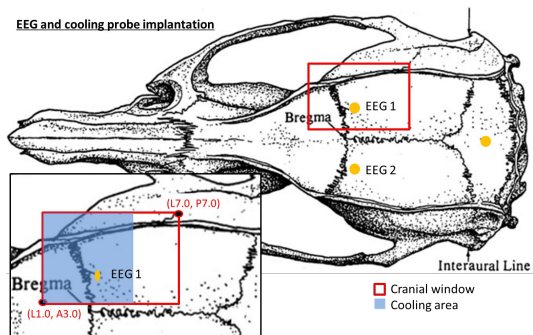


図 2

(2)シミュレーション

神経回路網のシミュレーターである NEURON を用い大脳皮質 - 視床ネットワークを模擬した神経回路網を構築し、シミュレーションを実施した。既存の一側性の大脳皮質 - 視床ネットワークモデルを用い、そのモデルをベースに大脳皮質の冷却による発作抑制効果を調べた。

4. 研究成果

(1)動物実験

ビククリンの腹腔内投与から 10 分以内に全身性のけいれんをともなう発作が出現した。計測脳波も、両側性の棘波が確認された。さらに、時折、全般性てんかん特有の異常脳波である Spike and wave discharges (SWDs) も確認された。誘発された全般性のけいれん発作は非冷却下において安定して 30 分間持続した。

この全般性のけいれん発作と異常脳波が確認された状況下で一側の体性感覚野の局所脳冷却を実施したところ、異常脳波は両側性に抑制を受けた。異常脳波の抑制の度合いは温度依存적であり、低い温度ほど強力に異常脳波を抑制した。けいれん発作も異常脳波の抑制に合わせて緩和された。しかしながら、10 度、15 度の冷却においては、冷却期間中に発作波が再び出現した(図 3)。10 分間の冷却後の復温時には、5 度の局所脳冷却で抑制を受けていた異常脳波も再び確認することができた。

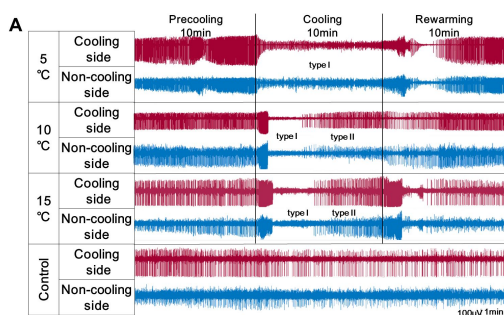


図 3 脳波計測による発作抑制の評価

全般性の異常脳波が抑制を受けると同時に、けいれん発作についても緩和効果を確認できた。冷却前はラシーンスコアで 3 以上のけいれん発作が確認されたが、冷却中にそのスコアは有意に低下した(図 4)。冷却終了後の復温時には、再びスコアが上昇した。

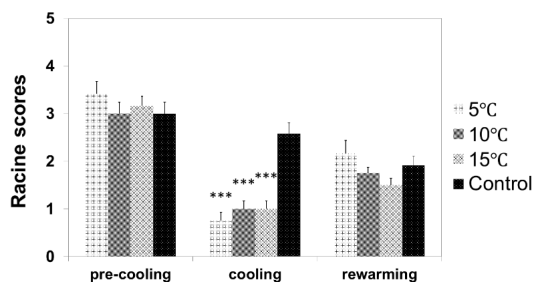


図 4 Racine スコアによる発作抑制の評価

実験実施後、組織学的評価を実施した。冷却デバイスを脳表に設置したことにより脳表が圧迫され形状に変化があり、冷却デバイス接触部にグリオーシスが確認されたが、冷却デバイスの慢性留置と局所脳冷却による脳表の重篤な損傷はなかった。

## (2)シミュレーション

大脳皮質 視床ネットワークモデルでは、特有の脳波である SWDs を誘発することができた。この SWDs は大脳皮質の活動を抑制することで、消失させることができ、局所脳冷却による発作抑制効果と一致した。一方で、発作再燃に関しては、両側性のモデルでの評価が必要であり、現在モデル構築中である。引き続き、シミュレーションによる評価を進めることで、発作再燃に関する知見を今後得ていく予定である。

## (3)考察

ラット体性感覚野に対する一側性の局所脳冷却は、全般発作を両側性に抑制することができたが、その効果は一過性であった。この現象は、2つの異なる現象が組み合わさっていると考えられる。局所脳冷却が視床 - 大脳皮質神経回路のループを遮断することによって、SWDs の発生を抑制し、さらに、脳梁を経由した異常脳波の伝搬をも遮断することで、全般発作を両側性に抑制したが、非冷却側においては、視床 - 大脳皮質神経回路のループの抑制がかけられていないため、非冷却側において SWDs が誘発され、発作再燃につながった可能性がある。この時、冷却側においても異常脳波が発生していたことより、完全に発作を抑えるためには両側体性感覚野の冷却が必要と考えられる。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

Yeting He et al., "Anticonvulsant properties of focal brain cooling in experimental generalized tonic-clonic seizures", Neuroscience 2014, 2014 年 11 月 17 日 Washington D.C. (USA)

賀業靈 他, "Anticonvulsant effects of focal brain cooling on rat generalized seizures model", 第 37 回日本てんかん外科学会, 2014 年 2 月 6 日, 大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
無し

〔その他〕  
無し

## 6 . 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 倫保 (SUZUKI, Michiyasu)  
山口大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：801969873

(2)研究分担者

石塚 智 (ISHIZUKA, Satoru)  
九州工業大学・大学院生命体工学研究科・  
准教授  
研究者番号：40124804

(3)連携研究者

井上 貴雄 (INOUE, Takao)  
山口大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：80513225

(4)研究協力者

賀 業霆 (HE, Yeting)  
山口大学・大学院医学系研究科・大学院生