

様式A 1 (4)

厚生労働科学研究費補助金総括研究報告書

平成 16 年 4 月 9 日

厚生労働大臣 坂口 力 殿

住所 〒102-0082 東京都千代田区一番町20-10 606
 研究者 氏名 ヤマウチ ノゲル 山内 繁
 (所属機関) 国立身体障害者リハビリテーションセンター研究所

平成 15 年度から実施した厚生労働科学研究費補助金 (身体機能解析・補助・代替機器開発 研究事業) に係る研究事業を完了したので、次のとおり報告する。

研究課題名 (課題番号) 高次脳機能障害診断のための経頭蓋磁気刺激による誘発脳波計測システム等の開発 (H15-711-003)

国庫補助金精算所要額 金 95,500,000 円也
 (うち間接経費 0円)

- 1 厚生労働科学研究費補助金総合研究報告書概要版及びこれを入力したフロッピーディスク (別添1のとおり)
- 2 厚生労働科学研究費補助研究報告書表紙 (別添2のとおり)
- 3 厚生労働科学研究費補助金研究報告書目次 (別添3のとおり)
- 4 厚生労働科学研究費補助金総括研究報告書 (別添4のとおり)
- 5 厚生労働科学研究費補助金分担研究報告書 (別添5のとおり)
- 6 研究成果の刊行に関する一覧表
 該当事項なし
- 7 研究成果による特許権等の知的財産権の出願・登録状況
 該当事項なし
- 8 健康危険情報
 該当事項なし

(別添 2)

厚生労働科学研究費補助金

身体機能解析・補助・代替機器開発研究事業

高次脳機能障害診断のための経頭蓋磁気刺激による
誘発脳波計測システム等の開発に関する研究

平成 15 年度 総括研究報告書

主任研究者 山内 繁

平成 16 年 (2004 年) 4 月

(別添 3)

目 次

I 総括研究報告書

高次脳機能障害診断のための経頭蓋磁気刺激による誘発脳波計測システム等の開発に関する研究	1
山内 繁	

II 分担研究報告

1 開発機器の臨床応用を通して得られたデータの生理学的検証に関する研究	9
中島 八十一	
2 刺激装置と記録装置の開発と生体への応用に関する研究	11
上野 照剛	
3 拡散テンソル MRI 法を用いて高次脳機能障害診断に必要な白質の解剖生理学的研究に関する研究	17
三木 幸雄	
4 経頭蓋磁気刺激に対応可能なマルチチャンネルの誘発脳波計の開発に関する研究	20
鎗田 勝	

III 研究成果の刊行に関する一覧表

IV 研究成果の刊行物・別刷り

(別添 4)

厚生科学研究費補助金 (身体機能解析・補助・代替機器開発研究事業)

総括研究報告書

高次脳機能障害診断のための経頭蓋磁気刺激による誘発脳波計測システム等の開発

主任研究者 山内 繁 国立身体障害者リハビリテーションセンター研究所

研究要旨

磁気刺激による誘発脳波を記録するために、ヒトにおける誘発脳波の記録を可能にし、その一般的性質が明らかにされた。また動物実験を通して、磁気刺激の安全性の確認とともに治療の有効性の確認のための実験を実施した。磁気刺激による誘発脳波を効率良く記録することを可能にする実験機を作成された。以上から磁気刺激による誘発脳波の臨床応用に向けて、基礎的研究がなされた。さらに拡散テンソルMRI画像の研究を通して、神経線維連絡を描出することを可能にした。

分担研究者

中島八十一

国立身体障害者リハビリテーションセンター研究所感覚機能系障害研部長

上野照剛

東京大学医学部医用生体工学 教授

三木幸雄

京都大学放射線科助手

鎗田 勝

日本光電研究開発本部 本部長

MRIなどの形態学的画像診断で陰性とされる症例が30%あり、これらの症例を適切に診断・評価する検査法の開発が本邦でも待たれている。この事実は、このような障害者を対象として医療・福祉サービスを提供するための統一的な診断・評価の実施を困難にする。近年全国的な拡がりを見せている、これらの障害者が医療・福祉サービスを適切に受けられていないとする主張の一因はこの点にもある。そこで統一的な診断・評価の実施を可能にするために、TMSによる誘発脳波計測システムを開発する。

A 研究目的

本邦では、器質的脳疾患により高次脳機能障害をもつに至った患者が毎年約7万人発生している。その原因疾患は脳血管障害、頭部外傷、低酸素脳症が3大要因となっている。この障害者の診断上の難点は高次脳機能を客観的に、また個別に診断・評価を可能にする神経生理学的方法がないことにある。例えば頭部外傷による高次脳機能障害者が累積して100万人を数える米国では、

高次脳機能障害の診断で求められている内容には2種類あり、高次脳機能障害の原因となる器質的脳病変の有無についての診断と、高次脳機能障害の各症状の重症度に対応した神経機構損傷の程度についての診断である。さらに検査法としては、全国的にどこでも実施できることと、個別診断が可能であることが求められている。PET、MEGは装置が大掛かりであり、全国的な普及は将来に待た

ねばならない。またfMRIを加えて、それらの検査法の現状は個別診断が可能であるとは言い難い。TMSによる誘発脳波では、設備にかかる経費と運用に必要なスタッフ数はPET、MEG、fMRIと比較して最も小さい。また、検査に課題を課す必要かないことで、得られる結果に患者あるいは障害者の「やる気」により左右される可能性はない。まして詐病について考慮する必要かない。さらに高次脳機能障害の主要な病変部位である脳の白質の機能を明確にすることができる点でPET、fMRIより優れる。また、拡散テンソルMRI法による画像診断はそれ自体が高次脳機能障害診断に有用であるばかりでなく、TMSによる誘発脳波の記録を解剖生理学的に根拠あるものにし、病理学的結果について有力な支持を提供する。

高次脳機能障害者については、その診断・評価を容易にかつ全国的に共通化できることの要望が、医療と福祉の現場で高まっている。現状では検査結果の施設間での比較検討ができず、同じ患者または障害者が異なる施設で診断・評価を受けると異なる結果となる可能性がある。そこでTMSによる誘発脳波が客観的な診断を提供すれば、高次脳機能障害を有する者が全国で統一のかつ適切に医療と福祉サービスを受けられるようになる。

B 研究方法

主任研究者山内繁はすべてを統括する。

1 健常者での TMS による誘発脳波の基礎データ蓄積 (中島)

・高次脳機能障害診断に必要な前頭葉起源及

びそれに関連する誘発脳波の記録とその証明

・TMSによる誘発脳波に混入する生体由来のアーチファクトの検証

2 磁気刺激装置の開発と動物実験を含めた生体への影響の研究 (上野)

・低ノイズ磁気刺激コイルの設計・試作
・ラットを用いた磁気刺激の生体影響の調査
・海馬におけるLTP(長期増強現象)への影響の検討

3 高次脳機能障害の画像診断と大脳線維連絡の画像解析のための基礎的研究 (三木)

・ファントムおよび健常者を用いた、拡散テンソル画像法の至適撮像条件の確立

4 磁気刺激に対応可能なマルチチャンネルの誘発脳波計の試行的作成 (鎗田)

・記録時間帯の決定とそれに応じた磁気刺激ノイズの除去の確認

・増幅器の設計ならびに作成

倫理面への配慮 大前提として、すべての研究は所属する施設の倫理委員会の承認を経て実施される。

TMSについては、日本神経科学学会研究倫理委員会「ヒト脳機能の非侵襲的研究」の倫理問題等に関する指針を遵守する。被験者及び保護者・関係者から、口頭ならびに文書にてインフォームトコンセントを徹底し、被験者または保護者・関係者が納得し自発的な協力を得てから実施する。また被験者には、検査時間や無用な苦痛を与えないように配慮する。被験者の個人情報等

に係るプライハシーの保護ならびに如何なる不利益も受けないように十分に配慮する。

すべての研究について、結果の公表については検査承諾と同様に被験者及び保護者・関係者から、口頭ならびに文書にてインフォームドコンセントを徹底し、承諾を得る。また、個人が特定できないように格別の注意を払う。

東京大学で実施される動物実験については、東京大学の動物実験委員会の承認を経て、動物実験における指針を遵守して行う。

C 研究結果

中島はTMS（経頭蓋磁気刺激法）による誘発脳波成分のうち、健常者について経脳梁的誘発脳波N13成分と中潜時誘発脳波N100成分について検討を行った。N13成分については、側頭筋及び眼輪筋の筋電図の重畳を見ることから、同筋電図を同時記録することにより、独立した脳波成分として記録・解析が可能であることを示した。N100成分については、入力経路と振幅及び潜時に影響与える因子が検討された。その結果、入力経路については、三叉神経と聴神経の刺激に伴う誘発成分ではなく、大脳皮質の直接磁気刺激により誘発される成分であることが確認された。また、この成分は磁気刺激の強度の増大により振幅が増大する一方で潜時は変化しなかった。また、前頭葉の認知活動により振幅が増大するが潜時は不変であった。したかつて外因性成分と内因性成分としての両面の性質をもつことか明らかにされた。

上野は、経頭蓋磁気刺激、特に高頻度磁気刺激の安全性の検討、および生体影響をラットを用いて調べた。経頭蓋磁気刺激は、

運動機能検査、脳神経の可塑性、脳機能部位の同定、さらには、神経疾患への治療への応用など多くの分野に用いられるようになってきたか、その生体への影響に関してはまたわからないことが多い。本研究では、磁気刺激の安全性の検討、さらには、治療への応用を目指して、脳損傷モデルラットに及ぼす高頻度経頭蓋的磁気刺激の効果について組織化学的な解析を用いて、果質および海馬における影響を検討した。その結果、ラットにおいて MPTP により海馬 CA3 で神経細胞変性がみられることか組織化学的手法により明らかとなった。また、MPTP 脳損傷ラットでは、磁気刺激により損傷を受けた神経細胞を回復させる効果、損傷の影響を軽減する効果、および神経細胞保護効果を示すことが組織化学的手法により明らかとなった。このように、経頭蓋磁気刺激は、脳神経疾患の治療への応用の可能性あることがわかった。

三木は1.5T及び3Tの静磁場強度を持つMRI診断装置にマルチチャンネルコイルを導入し、脳の拡散テンソル画像を撮像した。拡散テンソル画像解析ソフトウェアを用いて大脳の神経線維束描出を行うとともに、拡散テンソル画像の至適撮像条件を検討した。マルチチャンネルの導入および至適撮像条件の決定によって、歪みの少ない良好な画質の拡散テンソル画像の撮像が可能となった。3T装置は、1.5T装置に比べ、より細い神経線維束の描出が可能であることか明らかになった。高次脳機能障害を来す種々の疾患における神経線維連絡の病理を明らかにすることか期待される。

鎗田は TMS（経頭蓋磁気刺激）による誘発反応を観測し、記録時間帯の決

定とそれに応じたノイズ除去の確認をすることを目的とする。我々は TMS から放射される電磁障害を除去する脳波測定システムの 8 チャンネル実験モデルを試作し、実験を行なった。TMS 直後 5ms から脳波反応を測定することかできた。このアーチファクトフリーアンプを用いて 3 つのレベルの刺激強度で刺激を行い TMS による誘発反応を測定することかできた。誘発反応の幾つかのコンポーネントが刺激後 9ms、20ms、50ms において現れた。小脳刺激後 9ms において大きな誘発反応が観測された。これら反応の振幅は刺激強度に相関があった。右上肢運動野への刺激では、反応波形に明確なピークは観測できなかった。後頭葉刺激では他の部位への刺激に比べ、Cz、Fz への誘発反応の伝播が見られた。これらの実験の結果、記録時間帯は刺激直後 5ms から 500ms 程度とすればよいことか明らかとなった。

山内は主任研究者として以上をすべて総括した。

D 考察

磁気刺激による誘発脳波については、その生理学的特性は明らかにされてこなかった。本研究で初めて、大脳皮質を起源とする電位であることを確定する方法か示され、またその入力経路が明らかにされることにより、生体信号として認知されるために必要な一般的性質か確立された。そこで高次脳機能障害を診断するために用いられる整理現象として基盤が整えられたと言える。また、動物実験を通して、脳の生化学的特性から判断して磁気刺激か生体に対して有

利に働く可能性か示されたことは磁気刺激か治療法としても活用可能なことか示された。加えて、磁気刺激による誘発脳波を効率的にデータ収集するための機器開発の端緒かつけられたことは、高次脳機能障害の診断法の確立のために大きな役割を果たすと考えられる。拡散テンソル法を用いた MRI による画像診断では神経線維連絡が視認できることから、高次脳機能障害の診断に不可欠な大脳白質病変の描出に期待がかかる。

E 結論

磁気刺激による誘発脳波を記録するために、中島はヒトにおける誘発脳波の記録を可能にし、その一般的性質を明らかにした。上野は動物実験を通じて、磁気刺激の安全性の確認とともに治療の有効性の確認のための実験を実施した。鎗田は磁気刺激による誘発脳波を効率良く記録することを可能にする実験機を作成した。以上から磁気刺激による誘発脳波の臨床応用に向けて、基礎的研究がなされた。三木は拡散テンソル MRI 画像の研究を通じて、神経線維連絡を描出することを可能にした。

F 健康危険情報

特記すべき事項なし

G 研究発表

1 論文発表

1 中島八十一。高次脳機能障害支援モデル事業の現状と検討課題。認知神経科学 6 (1)

28-35、2004

2 Ogiue-Ikeda M, Kawato S, and Ueno S
The effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on long-term potentiation in rat hippocampus depends on stimulus intensity Brain Research,

993(1-2), 222-226, 2003

3 Ogiue-Ikeda M, Sato Y, and Ueno S A new method to destruct targeted cells using magnetizable beads and pulsed magnetic force IEEE Transactions on Nanobioscience, Vol 2 No 4, 262-265, 2003

4 Eguchi Y, Ogiue-Ikeda M, and Ueno S Control of orientation of rat Schwann cells using an 8T static magnetic field Neuroscience Letters, 351(2), 130-132, 2003

5 Yamaguchi H, Tsurita G, Ueno S, Watanabe S, Wake K, Taki M, Nagawa H, 1439 MHz pulsed TDMA fields affect performance of rats in a T-maze task only when body temperature is elevated, Bioelectromagnetics, 24(4), 223-230, 2003

6 Iramina K, Maeno T, Nonaka Y, and Ueno S Measurement of evoked electroencephalography induced by transcranial magnetic stimulation, Journal of Applied Physics, 93(10), 6718-6720, 2003

7 Huang SF, Iramina K, Yumoto M, and Ueno S Measurement of visually evoked magnetic fields associated with pattern recognition IEEE Transactions on Magnetism, 39(5) 3331-3333, 2003

8 Maeno T, Kaneko A, Iramina K, Eto F, Ueno S Source modeling of the P300 event-related response using magnetoencephalography and electroencephalography measurements, IEEE Transactions on Magnetism, 39

Issue(5), 3396 -3398, 2003

9 Ogiue-Ikeda M, Kawato S, and Ueno S The effect of transcranial magnetic stimulation on long-term potentiation in rat hippocampus IEEE Transactions on Magnetism, 39(5) 3390 -3392, 2003

10 Eguchi Y, Tatsuoka H, and Ueno S Nerve excitation and recovery processes under strong static magnetic fields Journal of Applied Physics, 93(10) 6742-6744, 2003

11 Ogiue-Ikeda M and Ueno S, "Magnetic Cell Orientation Depends on Cell Type and Cell Density," IEEE Trans Magn (in press)

12 Ogiue-Ikeda M, Sato Y, and Ueno S, "Destruction of Targeted Cancer Cells Using Magnetizable Beads and Pulsed Magnetic Force," IEEE Trans Magn (in press)

13 Yamaguchi S, Ogiue-Ikeda M, Sekino M, and Ueno S, "The Effect of Repetitive Magnetic Stimulation on the Tumor Generation and Growth," IEEE Trans Magn (in press)

14 Iramina K, Maeno T, and Ueno S, "Topography of EEG Responses Evoked by Transcranial Magnetic Stimulation to the Cerebellum," IEEE Trans Magn (in press)

15 Shimono T, Miki Y, Toyoda H, Egawa H, Uemoto S, Tanaka K, Hattori H, Kanagaki M, Itoh K, Konishi J MR Imaging with Quantitative Diffusion Mapping of Tacrolimus-induced Neurotoxicity in Organ Transplant Patients European

- Radiology, 2003, 13 986-993
- 16 Matsui M, Mizutani K, Miki Y, Mezaki T, Takahashi Y, Shibasaki H Adult-onset leukoencephalopathy with vanishing white matter European Journal of Radiology Extra, 2003, 46 90-92
- 17 Fushimi Y, Miki Y, Ueba T, Kanagaki M, Takahashi T, Yamamoto A, Haque TL, Takahashi JA, Hashimoto N and Konishi J Lilliequist membrane three-dimensional constructive interference in steady state MR imaging Radiology 2003, 229 360-365
- 18 Haque TL, Miki Y, Kanagaki M, Takahashi T, Yamamoto A, Konishi J, Nozaki K, Hashimoto N, Konishi J MR contrast of ferritin and hemosiderin in the brain Comparison among gradient-echo, conventional spin-echo and fast spin-echo sequences European Journal of Radiology 2003, 48 230-236
- 19 Nakai T, Muraki S, Bagarinao E, Miki Y, Takehara Y, Matsuo K, Kato C, Sakahara H and Isoda H Application of independent component analysis to magnetic resonance imaging for enhancing the contrast of gray and white matter NeuroImage 2004, 21 251-260
- 20 Itasaka S, Miki Y, Tomimoto H, Kamei I, Tsutsui K Appearance of leukoaraiosis may be attenuated with compression by a chronic subdural hematoma, European Journal of Radiology, 2004, 49(3) 193-197
- 21 Kanagaki M, Miki Y, Takahashi JA, Shibamoto Y, Takahashi T, Ueba T, Hashimoto N, Konishi J CT and MRI findings of neurohypophyseal germinoma European Journal of Radiology, 2004, 49(3) 204-211
- 22 Yamamoto A, Miki Y, Fushimi Y, Okada T, Tomimoto H Mid-anterior surface of the callosal splenium subependymal or subpial? AJNR Am J Neuroradiol, in press
- 23 Haque TL, Miki Y, Kashi S, Yamamoto A, Kanagaki M, Takahashi T, Fushimi Y, Asato R, Murase N, Shibasaki H, Konishi J Dynamic MR imaging in Tolosa-Hunt syndrome, European Journal of Radiology, in press
- 24 Tomimoto H, Lin J, Matsuo A, Ihara M, Ohtani R, Shibata M, Miki Y, Shibasaki H Different mechanisms of corpus callosum atrophy in Alzheimer's disease and vascular dementia J Neurol, in press
- 2 学会発表
- 1 中島八十一, 河野 豊
経頭蓋磁気刺激による短潜時誘発脳波の記録時に混入するアーチファクト
第33回日本臨床神経生理学会・学術大会(旭川, 2003年10月)
- 2 河野 豊, 中島八十一
経頭蓋磁気刺激後約100msに記録される誘発電位
第33回日本臨床神経生理学会・学術大会(旭川, 2003年10月)
- 3 Nakajima, Y, and Kohno, Y
Scalp-recorded potentials evoked by TMS Evoked Potentials International Conference XIV (Leipzig, March 30, 2004)

- 4 上野照剛「磁気を用いた脳機能計測と制御」第42回日本エム・イー学会大会、OS14-1、札幌、2003 6
- 5 伊良皆啓治、前野崇、上野照剛「脳磁気刺激時における脳波計測」第42回日本エム・イー学会大会、OS14-6、札幌、2003 6
- 6 荻上真理、川戸佳、上野照剛「経頭蓋磁気刺激がラット海馬における長期増強現象に与える影響」第42回日本エム・イー学会大会、OR33-5、札幌、2003 6
- 7 山口さち子、荻上真理、上野照剛「マウスメラノーマ細胞における電気刺激の影響」第42回日本エム・イー学会大会、P19-4、札幌、2003 6
- 8 荻上真理、佐藤裕子、上野照剛「磁性ビーズとパルス磁気刺激を用いた標的細胞破砕法」第42回日本エム・イー学会大会、P19-5、札幌、2003 6
- 9 船水博文、荻上真理、川戸佳、上野照剛「ラットにおける高頻度経頭蓋磁気刺激の効果」第18回日本生体磁気学会、大阪、2003 6
- 10 伊良皆啓治、前野崇、上野照剛「後頭部磁気刺激による誘発脳波計測」第33回日本臨床神経生理学学会・学術大会、D2P1-02、旭川、2003 10
- 11 M Ogiue, Y Sato, S Ueno, A new method to eradicate targeted cells using magnetizable beads and pulsed magnetic force, The Bioelectromagnetics Society 25th Annual Meeting, P129-C, Maui, June, 2003
- 12 M Ogiue-Ikeda, S Kawato, S Ueno "The effect of transcranial magnetic stimulation on rat hippocampus" The Bioelectromagnetics Society 25th Annual Meeting, ST-4, Maui, June, 2003
- 13 S yamaguchi, M Ogiue-Ikeda, S Ueno "The effect of electrical stimulation on mice melanoma cell lines" The Bioelectromagnetics Society 25th Annual Meeting, P-116-B, Maui, June, 2003
- 14 S Ueno "Principles and applications of transcranial magnetic stimulation" WSOM' 03, Kitakyushu, September, 2003
- 15 M Ogiue-Ikeda, Y Sato, and S Ueno "Magnetic Cell Orientation Depends on Cell Type and Cell Density," The 9th Joint MMM-Intermag Conference, Anaheim, 2004 1
- 16 M Ogiue-Ikeda, Y Sato, and S Ueno, "Destruction of Targeted Cancer Cells Using Magnetizable Beads and Pulsed Magnetic Force "Destruction of Targeted Cancer Cells Using Magnetizable Beads and Pulsed Magnetic Force," The 9th Joint MMM-Intermag Conference, Anaheim, 2004 1
- 17 S Yamaguchi, M Ogiue-Ikeda, M Sekino, and S Ueno, "The Effect of Repetitive Magnetic Stimulation on the Tumor Generation and Growth," The 9th Joint MMM-Intermag Conference, Anaheim, 2004 1
- 18 K Iramina, T Maeno, and S Ueno "Topography of EEG Responses Evoked by Transcranial Magnetic Stimulation to the Cerebellum," The 9th Joint MMM-Intermag Conference, Anaheim, 2004 1
- 19 Yamamoto A, Miki Y, Konishi J, Kanagaki M, Takahashi T, Fushimi Y, Haque TL, Tomimoto H, Konishi J Is there any leukoaraiosis in the corpus callosum?

analysis with three orthogonal thin FLAIR Images The 4th JSMRM International Symposium Oncologic MR Imaging, Awaji, January 24-25, 2003, Japan

20 Kanagaki M, Miki Y, Takahashi JA, Shibamoto T, Ueba T, Hashimoto N, Konishi J CT and MRI findings of neurohypophyseal germinoma The 4th JSMRM International Symposium Oncologic MR Imaging, Awaji, January 24-25, 2003, Japan

21 Yamamoto A, Miki Y, Tomimoto A, Kanagaki M, Takahashi T, Fushimi Y, Konishi J, Haque TL, Tomimoto H and Konishi J Is there any leukoaraiosis in the corpus callosum? analysis with three orthogonal thin FLAIR Images Annual Meeting of International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), Toronto, Canada, 2003 7 10-16

22 Fushimi Y, Miki Y, Kanagaki M, Takahashi T, Yamamoto A, Haque TL, Konishi J, Konishi J Lilliequist's membrane 3D CISS MR imaging 89th Scientific Assembly and Annual Meeting, Radiological Society of North America (RSNA), Chicago, USA, 2003 11 30-12 5

23 Yamamoto A, Miki Y, Kanagaki M, Takahashi T, Fushimi Y, Konishi J CT and MR imaging findings of postinfectious encephalopathy 89th Scientific Assembly and Annual Meeting, Radiological Society of North America (RSNA), Chicago, USA, 2003 11 30-12 5

24 Nishino M, Hayakawa K, Shimono T, Miki

Y Tuberculosis of brain, head and Neck 89th Scientific Assembly and Annual Meeting, Radiological Society of North America (RSNA), Chicago, USA, 2003 11 30-12 5

25 Miki Y "Pituitary and Parasellar Diseases" (invited educational lecture) Neuroimaging Course, Weekend Educational Programs, 11th Scientific Meeting of International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), July 11, 2003, Toronto, Canada

H 知的財産権の出願・登録状況
特になし

(別添 5)

厚生科学研究費補助金 (身体機能解析・補助・代替機器開発研究事業)

分担研究報告書

高次脳機能障害診断のための経頭蓋磁気刺激による誘発脳波計測システム等の開発
分担課題 開発機器の臨床応用を通じて得られたデータの生理学的検証

分担研究者 中島八十一 国立身体障害者リハビリテーションセンター研究所

研究要旨

本分担研究では、TMS (経頭蓋磁気刺激法) による誘発脳波成分のうち、経脳梁的誘発脳波 N13 成分と中潜時誘発脳波 N100 成分について検討を行った。N13 成分については、側頭筋及び眼輪筋の筋電図の重畳を見ることから、同筋電図を同時記録することにより、独立した脳波成分として記録・解析が可能であることを示した。N100 成分については、大脳皮質が直接磁気刺激により興奮することにより誘発される成分であることが確認され、磁気刺激誘発脳波の指標として用いることが可能であることが示された。

A 研究目的

TMS (経頭蓋磁気刺激法) による誘発脳波は世界的に記録が可能であることが知られたに過ぎない段階にある。しかし、これが普遍的に可能になれば、ヒトの大脳皮質でのネットワークの接続状況を明らかにすることかできる。これまで直接的に明らかにし得なかった前頭葉由来の神経線維結合の病的状態を知ることにより高次脳機能障害の診断を可能にする。

B 研究方法

当該年度においては、国立身体障害者リハビリテーション研究所で検査実施に同意が得られた健常者について検査を実施し、下記の2点の問題点を明らかにすることとした。1) 短潜時誘発脳波 (経脳梁的誘発成分 N13) とそれに重畳する筋電図成分との分離記録。2) 中潜時誘発脳波 N100 成分の入力経路を明らかにし、刺激強度か及ぼす本成分に及ぼす影響と認知活動か及ぼす影

響を明らかにすることにより、誘発脳波としての一般的性質を確定する。

C 研究結果

経脳梁的誘発成分 N13 には、側頭筋誘発筋電図と瞬目反射による眼輪筋筋電図が重畳することか明らかになった。これらの筋電図を誘発させないことは困難であったが、同時記録することにより、N13 を独立した成分として認識し得た。

N100 成分は、平均潜時約 110msec で出現し、C_{3,4} で最大振幅をもつ誘発脳波であった。経頭蓋磁気刺激では、三叉神経と聴神経が同時に刺激されるか、三叉神経の単独刺激及び聴神経単独刺激ではいずれも N100 成分を誘発することはなかった。刺激強度と振幅及び潜時との関係は、刺激増大に伴って振幅は明らかに増大するものの、潜時は不変であった。また、被験者に認知課題を課すことにより、N100 成分は振幅か明らかに増大する一方で潜時は不変であった。

D 考察

経脳梁的誘発成分 N13 を側頭筋及び眼輪筋の筋電図と同時記録することにより誘発脳波として単離する技術は確立されたと考える。これは将来の臨床検査として必須の技術になると考えられる。

三又神経及び聴神経の刺激により N100 成分が誘発されないことから、N100 成分は大脳皮質が直接磁気刺激により興奮することにより誘発されると結論付けられる。N100 成分の振幅は刺激強度に応じて増大すること、また認知活動により増大することから、N100 成分自体には外因性成分と内因性成分との両方の性質があると結論された。N100 成分を臨床検査に応用する際には必須の知見である。

E 結論

経脳梁的誘発成分 N13 の記録時には側頭筋及び眼輪筋の筋電図と同時記録する必要がある。

N100 成分の刺激入力経路の発端は大脳皮質にある。また、この成分は外因性成分と内因性成分との両方の性質をもつ。

F 健康危険情報

上記の研究方法による検査において健康を害するような事象は発生しなかった。

G 研究発表

1 論文発表

中島八十一。高次脳機能障害支援モデル事業の現状と検討課題。認知神経科学 6 (1) 28-35、2004

2 学会発表

中島八十一, 河野 豊

経頭蓋磁気刺激による短潜時誘発脳波の記録時に混入するアーチファクト

第33回日本臨床神経生理学会・学術大会 (旭川, 2003年10月)

河野 豊, 中島八十一

経頭蓋磁気刺激後約100msに記録される誘発電位

第33回日本臨床神経生理学会・学術大会 (旭川, 2003年10月)

Nakajima, Y, and Kohno, Y

Scalp-recorded potentials evoked by TMS

Evoked Potentials International

Conference XIV (Leipzig, March 30, 2004)

H 知的財産権の出願・登録状況

特になし

(別添 5)

厚生労働省科学研究費補助金 (身体機能解析・補助・代替機器開発研究事業)
分担 研究報告書

刺激装置と記録装置の開発と生体への応用

分担研究者 上野照剛 東京大学大学院医学系研究科

研究要旨

本研究では、経頭蓋磁気刺激、特に高頻度磁気刺激の安全性の検討、および生体影響をラットを用いて調べた。経頭蓋磁気刺激は、運動機能検査、脳神経の可塑性、脳機能部位の同定、さらには、神経疾患への治療への応用など多くの分野に用いられるようになってきたが、その生体への影響に関してはまたわからないことが多く、今後の研究が望まれている。本研究では、磁気刺激の安全性の検討、さらには、治療への応用を目指して、脳損傷モデルラットに及ぼす高頻度経頭蓋的磁気刺激の効果について組織化学的な解析を用いて、異質および海馬における影響を検討した。その結果、ラットにおいてMPTPにより海馬 CA3 で神経細胞変性かみられることが組織化学的手法により明らかとなった。また、MPTP 脳損傷ラットでは、磁気刺激により損傷を受けた神経細胞を回復させる効果、損傷の影響を軽減する効果、および神経細胞保護効果を示すことが組織化学的手法により明らかとなった。このように、経頭蓋磁気刺激は、脳神経疾患の治療への応用の可能性あることかわかった。

A 研究目的

本研究は、高次脳機能障害の診断を目的として、経頭蓋磁気刺激(TMS)による誘発脳波を用いた脳機能マッピングを可能にする検査機器を開発し、経頭蓋磁気刺激時の脳波計測により、機能障害の程度を評価しようというものである。

経頭蓋磁気刺激は、頭部に置いたコイルに、瞬間的にパルス状の大電流を流し、コイルに磁場を生じさせ、磁場が変動することによって生体内に誘起される渦電流が、神経を刺激しようというものである。TMS は、扱いか比較的簡単で副作用が非常に少なく、多くの分野で脳機能研究に応用されている。感覚系機

能は誘発電位によって検査が可能であるが、運動系機能は TMS の出現によって初めて検査可能となった。頭蓋外から大脳皮質運動野を刺激し、運動誘発電位を記録することにより、運動機能の検査に用いられている。また障害の回復状態や、障害による皮質運動野の可塑性変化の検索にも用いられる。さらに皮質運動野の位置同定やマッピング、脳内の機能性連関の研究にも応用されている。近年では、高頻度磁気刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)か、脳神経機能検査ばかりでなく、パーキンソン氏病など運動中枢系疾患の治療やうつ病や分裂病など精神疾患の治療への応用も近年試みられている。

このように、経頭蓋磁気刺激は多くの分野に用いられるようになってきたか、その生体への影響に関してはまたわからないことが多く、今後の研究が望まれている。本年度の研究では、経頭蓋磁気刺激、特に高頻度磁気刺激の生体影響をラットを用いて調べた。すなわち、脳損傷モデルラットに及ぼす高頻度経頭蓋的磁気刺激の効果について組織化学的な解析を用いて、黒質および海馬における影響を検討した。

B 研究方法

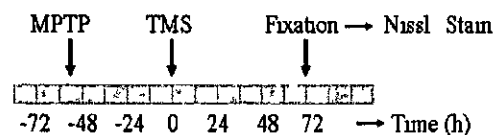
ここでは、2種類の実験を行った。神経毒の薬物を投与して神経損傷を与えた後磁気刺激がラット脳損傷におよぼす効果を検討（実験1）した。また、あらかじめ磁気刺激を施した後に神経毒の薬物を投与して rTMS の前処理の効果を検討（実験2）した。

実験1 高頻度経頭蓋的磁気刺激がラット脳損傷に及ぼす効果の検討

ラット脳の海馬において c fos, GFAP, BDNF などの mRNA やタンパク質を発現すると言われている周波数領域において高頻度経頭蓋的磁気刺激がラット脳損傷に及ぼす効果について検討した。神経毒であり Parkinsonism をひきおこすといわれている MPTP(1-methyl 4 phenyl 1,2,3,6 tetrahydropyridine)を用いて脳損傷モデルラットを作製し、刺激周波数が 25Hz の高頻度経頭蓋的磁気刺激を暴露することで得られる効果について黒質および海馬領域において得られる神経細胞の変化について解析した。高頻度経頭蓋的磁気刺激により GFAP, BDNF などの発現が増強するとすれば、鬱病や Parkinson 病における高頻度経頭蓋的磁気刺激による治療効果にもこれらの生理活性物質が関与したこ

とにより神経細胞に何らかの組織学的な変化をおよぼしていることか期待される。

MPTP をラット腹水に2時間間隔で一日に4回注射し、最後の注射から48時間後にラット頭部から11mmの高さに円形コイルを固定し25Hz, 1.13T, (コイルの中心の刺激強度) 238 μ sec, 8sec x 10trains = total 2000 pulses の高頻度経頭蓋的磁気刺激を施行した。その後72時間後に還流固定により脳を取り出し、ニッスル、クリューハーハレラ、HE などの組織染色および GFAP, BDNF, などの免疫染色を行い黒質トローパミンニューロンや海馬 CA1, CA3, CA3c などの領域について組織学的な検討をした。



TMS Transcranial Magnetic Stimulation
1.13T (max of center of the coil), biphasic pulses, 238 μ sec
25 pulses/sec \times 8 sec \times 10 trains = 2000 pulses
Interval between trains 10~15mm

図1 実験1プロトコル

MPTPを投与後磁気刺激を施行した

実験2 前処理的な高頻度経頭蓋的磁気刺激がラット脳損傷に及ぼす効果の検討

あらかじめ高頻度経頭蓋的磁気刺激を施行しておいたラットに脳虚血を引き起こす操作を施行しても虚血が抑制されるという報告があることから、高頻度経頭蓋的磁気刺激がラット脳損傷に及ぼすと考えられる細胞保護効果について黒質および海馬で検討した。もし、高頻度経頭蓋的磁気刺激により細胞保護作用を示す物質が誘導されるならばMPTPによる脳損傷に対しても神経細胞の保護効果が見られると期待される。

ここでは25Hz, 1.13T (コイルの中心の刺

激強度) 238 μ sec, 8sec x 2trains x 3days = total 1200 pluses 高頻度経頭蓋的磁気刺激を施行しておきその後48時間後に神経毒であるMPTPをラット腹水に2時間間隔で一日に4回注射し、最後の注射から11日後に還流固定し脳を取り出し、ニッスル、クリューバーハレラ、などの組織染色およびGFAP, BDNF, などの免疫染色を行い黒質、トパーミンニューロンや海馬CA1, CA3, CA3cなどの領域について組織学的な検討をした。

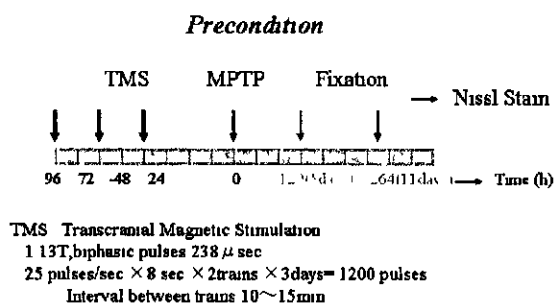


図2 実験2プロトコル
磁気刺激後にMPTPを投与した

本研究で行なった動物実験に関しては、東京大学の動物実験委員会の承認を経て、動物実験における指針を遵守して行った。

C 結果

実験1 高頻度経頭蓋的磁気刺激がラット脳損傷に及ぼす効果の検討

黒質トパーミンニューロンにおいてニッスル染色と anti-NeuN により損傷を受けた細胞について割合を比較検討した結果、磁気刺激群のほうか 17%ほど損傷を受けた細胞の割合か少ないという結果か得られた。磁気刺激群と sham 群において有意な差か認められた。また、anti GFAP の免疫染色では磁気刺激群

のほうか神経細胞の周囲で陽性か強い傾向かみられた。さらに anti BDNF による免疫染色ではさほど違いはみられなかつた。

また、海馬の神経細胞については黒質でみられた以上に明らかな違いかみられた。磁気刺激群では CA3 領域て 53%、CA1 領域て 47% 損傷を受けた細胞の割合か少なかつた。磁気刺激群と sham 群において有意な差か認められた。このことから高頻度経頭蓋的磁気刺激によって脳損傷ラットにおいては神経細胞の損傷か修復もしくは保護される可能性か示唆された。

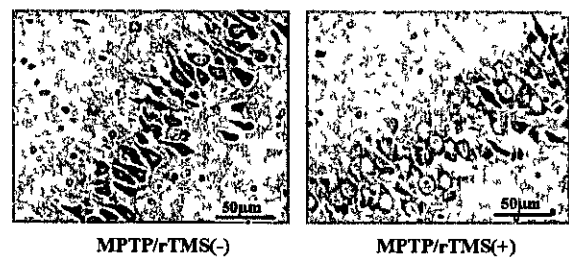


図3 TMS 施行後の海馬スライス (左 control 右 磁気刺激)
磁気刺激群では、錐体細胞核かはっきりしており、細胞の変性かコントロール群に比べて少ないことがわかる

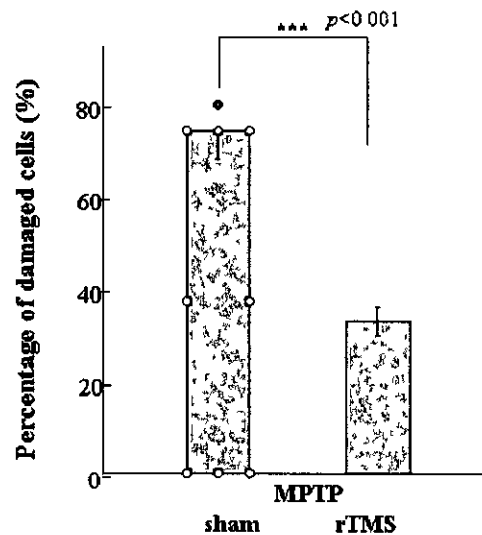
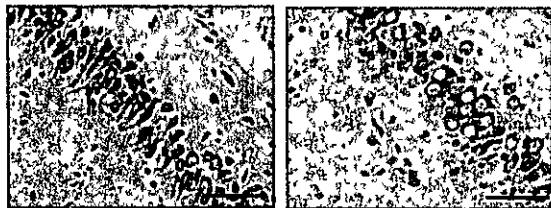


図4 MPTP によって損傷された海馬 CA3 細胞 rTMS による保護または回復 磁気刺激

群のほうが細胞死の割合が小さい

実験2 前処理的な高頻度経頭蓋的磁気刺激がラット脳損傷に及ぼす効果の検討

ニッスル染色による損傷を受けた神経細胞の比較では磁気刺激群のほうが黒質で約30%、海馬で約20%ほど損傷を受けた細胞の割合は少ない傾向にあった。また、anti GFAP の免疫染色, anti BDNF の免疫染色ではいずれも明らかな違いは見られなかったか、損傷を受けている細胞ほど anti-BDNF の免疫染色では陽性が強い傾向がみられた。



a) MPTP/sham treated b) MPTP/rTMS treated

図5 海馬 CA3 ニューロンにおける損傷
左 コントロール 右 磁気刺激施行
磁気刺激群のほうがコントロール群に比べ正常な細胞の割合が多い

E 結論

MPTP による脳損傷後の高頻度経頭蓋的磁気刺激による効果は損傷を受けた神経細胞の修復もしくは再生効果か考えられる。先行文献における MPTP によるドーパミンニューロンの細胞毒性に対してアストログリアを介して FGF 2 (fibroblast growth factor) が細胞を保護するという報告と本研究で得られた anti GFAP の免疫染色の結果は関連深いと考えられる。磁気刺激により FGF 2 とアストロサイトの活性の両方が誘導されたとしたら FGF-2 により制御されたアストロサイトが損傷修復に最適な神経栄養作用をもつ因子を供

与する可能性か考えられる。しかも、anti BDNF の免疫染色による結果からは損傷を受けた細胞ほど陽性反応が強い傾向が見られることから磁気刺激による FGF 2 の誘導ということか考えられる。

しかも、実験2の前処理的な磁気刺激の実験結果からは anti GFAP の免疫染色では磁気刺激群 sham 群で差があまりみられなかった。このことは磁気刺激は損傷を受けた細胞においては修復効果に機能する因子を産生させることが可能かもしれないと考えられる。また、海馬における神経細胞の修復もしくは再生や保護効果については最近の文献より成体 mice の海馬においては FGF 2 が progenitor として神経細胞を再生するというのか報告されている。このことから、磁気刺激により FGF-2 のような因子が海馬の神経細胞に作用し正常に保たれた可能性が考えられる。

本研究では高頻度経頭蓋的磁気刺激による脳損傷に対する効果を検討した。MPTP を用いた損傷モデルラットに磁気刺激を施行した結果、黒質ドーパミンニューロンにおいては組織化学的な知見から変性を受けた細胞を修復もしくは保護している可能性が示唆された。海馬 CA3、および CA1 領域において神経細胞修復もしくは再生効果の可能性が示唆された。また、磁気刺激の前処理的な効果については黒質、および海馬において神経細胞が変性から保護されている可能性が示唆された。

本研究で得られた知見は今後、磁気刺激の治療応用の一つとして様々な脳損傷疾患の非侵襲的な治療に役立つものと考えられる。

F 健康危険情報
特になし

G 研究発表

1 論文発表

- 1 Ogiue-Ikeda M, Kawato S, and Ueno S The effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on long-term potentiation in rat hippocampus depends on stimulus intensity *Brain Research*, 993(1-2),222-226, 2003
- 2 Ogiue-Ikeda M, Sato Y, and Ueno S A new method to destruct targeted cells using magnetizable beads and pulsed magnetic force *IEEE Transactions on Nanobioscience*, Vol 2 No 4, 262-265, 2003
- 3 Eguchi Y, Ogiue-Ikeda M, and Ueno S Control of orientation of rat Schwann cells using an 8T static magnetic field *Neuroscience Letters*, 351(2), 130-132, 2003
- 4 Yamaguchi H, Tsurita G, Ueno S, Watanabe S, Wake K, Takı M, Nagawa H, 1439 MHz pulsed TDMA fields affect performance of rats in a T-maze task only when body temperature is elevated, *Bioelectromagnetics*, 24(4), 223-230, 2003
- 5 Iramina K, Maeno T, Nonaka Y, and Ueno S Measurement of evoked electroencephalography induced by transcranial magnetic stimulation, *Journal of Applied Physics*, 93(10), 6718-6720, 2003
- 6 Huang SF, Iramina K, Yumoto M, and Ueno S Measurement of visually evoked magnetic fields associated with pattern recognition *IEEE*

Transactions on Magnetics, 39(5) 3331-3333, 2003

- 7 Maeno T, Kaneko A, Iramina K, Eto F Ueno S Source modeling of the P300 event-related response using magnetoencephalography and electroencephalography measurements, *IEEE Transactions on Magnetics*, 39 Issue(5), 3396 -3398, 2003
- 8 Ogiue-Ikeda M, Kawato S, and Ueno S The effect of transcranial magnetic stimulation on long-term potentiation in rat hippocampus *IEEE Transactions on Magnetics*, 39(5) 3390 -3392, 2003
- 9 Eguchi Y, Tatsuoka H, and Ueno S Nerve excitation and recovery processes under strong static magnetic fields *Journal of Applied Physics*, 93(10) 6742-6744, 2003
- 10 Ogiue-Ikeda M and Ueno S, "Magnetic Cell Orientation Depends on Cell Type and Cell Density," *IEEE Trans Magn* (in press)
- 11 Ogiue-Ikeda M, Sato Y, and Ueno S, "Destruction of Targeted Cancer Cells Using Magnetizable Beads and Pulsed Magnetic Force," *IEEE Trans Magn* (in press)
- 12 Yamaguchi S, Ogiue-Ikeda M, Sekino M, and Ueno S, "The Effect of Repetitive Magnetic Stimulation on the Tumor Generation and Growth," *IEEE Trans Magn* (in press)
- 13 Iramina K, Maeno T, and Ueno S, "Topography of EEG Responses Evoked by Transcranial Magnetic Stimulation to the Cerebellum," *IEEE Trans Magn* (in press)

2 学会発表

上野照剛「磁気を用いた脳機能計測と制御」
第 42 回日本エム・イー学会大会、OS14-1、札幌、2003 6

伊良皆啓治、前野崇、上野照剛「脳磁気刺激
時における脳波計測」第 42 回日本エム・イー
学会大会、OS14-6、札幌、2003 6

荻上真理、川戸佳、上野照剛「経頭蓋磁気刺
激がラット海馬における長期増強現象に与え
る影響」第 42 回日本エム・イー学会大会、
OR33-5、札幌、2003 6

山口さち子、荻上真理、上野照剛「マウスメ
ラノーマ細胞における電気刺激の影響」第 42
回日本エム・イー学会大会、P19-4、札幌、2003 6

荻上真理、佐藤裕子、上野照剛「磁性ヒーズ
とパルス磁気刺激を用いた標的細胞破碎法」
第 42 回日本エム・イー学会大会、P19-5、札幌、
2003 6

船水博文、荻上真理、川戸佳、上野照剛「ラッ
トにおける高頻度経頭蓋磁気刺激の効果」第
18 回日本生体磁気学会、大阪、2003 6

伊良皆啓治、前野崇、上野照剛「後頭部磁気
刺激による誘発脳波計測」第 33 回日本臨床神
経生理学会 学術大会、D2P1-02、旭川、2003 10

M Ogiue, Y Sato, S Ueno, A new method to
eradicate targeted cells using magnetizable beads
and pulsed magnetic force, The
Bioelectromagnetics Society 25th Annual Meeting,
P129-C, Maui, June, 2003

M Ogiue-ikeda, S Kawato, S Ueno “The effect

of transcranial magnetic stimulation on rat
hippocampus” The Bioelectromagnetics Society
25th Annual Meeting, ST-4, Maui, June, 2003

S yamaguchi, M Ogiue-Ikeda, S Ueno “The
effect of electrical stimulation on mice melanoma
cell lines” The Bioelectromagnetics Society 25th
Annual Meeting, P-116-B, Maui, June, 2003

S Ueno “Principles and applications of
transcranial magnetic stimulation” WSOM’03,
Kitakyushu, September, 2003

M Ogiue-Ikeda, Y Sato, and S Ueno “Magnetic
Cell Orientation Depends on Cell Type and Cell
Density,” The 9th Joint MMM-Intermag
Conference, Anaheim, 2004 1

M Ogiue-Ikeda, Y Sato, and S Ueno,
“Destruction of Targeted Cancer Cells Using
Magnetizable Beads and Pulsed Magnetic Force
“Destruction of Targeted Cancer Cells Using
Magnetizable Beads and Pulsed Magnetic Force,”
The 9th Joint MMM-Intermag Conference,
Anaheim, 2004 1

S Yamaguchi, M Ogiue-Ikeda, M Sekino, and S
Ueno, “The Effect of Repetitive Magnetic
Stimulation on the Tumor Generation and
Growth,” The 9th Joint MMM-Intermag
Conference, Anaheim, 2004 1

K Iramina, T Maeno, and S Ueno “Topography
of EEG Responses Evoked by Transcranial
Magnetic Stimulation to the Cerebellum,” The 9th
Joint MMM-Intermag Conference, Anaheim,
2004 1

H 知的財産権の出願・登録状況
特になし

(別添5)

厚生労働科学研究費補助金 (身体機能解析・補助・代替機器開発 研究事業)

分担研究報告書

「分担研究課題名 拡散テンソル MRI 法を用いた、高次脳機能障害診断に必要な白質の解剖生理学的研究」

分担研究者 三木幸雄

研究要旨 1.5T 及び 3T の静磁場強度を持つ MRI 診断装置にマルチチャンネルコイルを導入し、脳の拡散テンソル画像を撮像した。拡散テンソル画像解析ソフトウェアを用いて大脳の神経線維束描出を行うとともに、拡散テンソル画像の至適撮像条件を検討した。マルチチャンネルの導入および至適撮像条件の決定によって、歪みの少ない良好な画質の拡散テンソル画像の撮像が可能となった。3T 装置は、1.5T 装置に比べ、より細い神経線維束の描出が可能であることが明らかになった。高次脳機能障害を来す種々の疾患における神経線維連絡の病理を明らかにすることか期待される。

A 研究目的

拡散テンソルMRI法を用いた、高次脳機能障害診断に必要な白質の解剖生理学的研究を分担課題目的としている。

B 研究方法

既存設備である1.5Tの臨床診療用MRI装置 (Siemens社製 Magnetom Symphony)、本年度に導入された3Tの臨床研究用MRI装置 (Siemens社製 Magnetom Trio) のそれぞれを使用して健常ボランティアの拡散テンソル画像撮影を行った。画像解析はJohns Hopkins 大のMor1らが開発した拡散テンソル画像解析及び白質神経束描出 (tractography) 用のソフトウェア (Mor1 et al Ann Neurol 2002, 51 377-380) を用いた。結果は画像の歪みか原因で必ずしも良好な拡散テンソル画像、

tractographyを得る事は困難であった為、画質向上を図る目的で1.5T、3TのMRI双方に parallel imaging 法と頭部専用高感度受信コイルを導入した。導入費用には本研究費を用いた。1.5T、3T装置それぞれについて、至適撮像条件を検討した。

C 研究結果

正常ボランティアの撮影において、1.5T、3T装置ともに歪みの少ない良好な拡散テンソル画像の撮影が可能となった。3TのMRIが本来持っている高い高磁場特性による高い信号・雑音比を持った画像がより有効に利用できるようになった。3T装置は、1.5T装置に比べ、より細い神経線維束の描出が可能であることが明らかになった。

D 考察