

Fig. 1 に神経活動の雪崩現象を定義を示す。てんかん発作まで、脳波の時系列を 30 分に区切って雪崩を評価した^{6), 7)}。

まず、各チャンネルに対して、ピークを抽出した。ピークとして、皮質脳波における負の極大点を抽出した。脳波の時系列から平均 μ と標準偏差 SD を計算し、 $\mu - 3SD$ を閾値として定めた。一旦閾値以下になって再び閾値以上に戻るまでの時間で、最も低い値をピークとして抽出した。 Δt の時間ビン(time bin)でピークの時系列を抽出した。雪崩は Fig. 1 で赤く表示されたように、時間的に連続して現れたピークの群として定義された。

神経活動の雪崩現象を評価する指標として分岐パラメータ σ を用いた^{6), 7)}。 σ は雪崩の発展を表す指標であり、式 (2) のように定義される。

$$\sigma = \frac{\#PeakN}{\#PeakS} \quad (2)$$

#PeakS は雪崩が始まる時間ビンにおけるピークの数で、#PeakN はその次の時間ビンにおけるピークの数である。 σ の時間平均が 1 より大きいことは、雪崩が発散することを意味し、 1 より小さいことは収束することを意味する。

σ の変化が発作にむけてどのように変化するかを求めるために、発作までの時間に対して、30 分間のデータから計算された σ の平均との回帰直線を求めた。統計的には t 検定を行い、 σ の変化が有意であるかを確かめた。

解析結果は時間ビンの取り方やピークの抽出の仕方に依存する可能性があるため、いくつかの条件に分けて解析した。 Table 2 に解析条件を示す。第一に、時間ビンの幅を変化させた。第二に、ピークの持続時間により抽出条件を変化させた。すなわち、閾値を下回る持続時間が時間ビンの幅より小さいときに、そのピークを無視した。

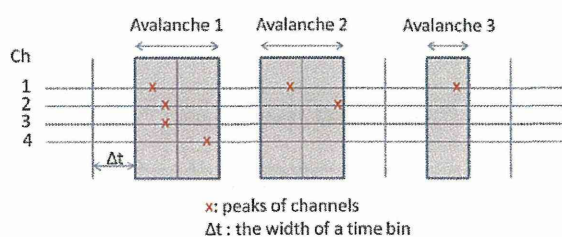


Fig. 1: Estimation of neuronal avalanche.

Table 2: Peak extraction

		Every peak	Neglect short peaks
Time bin width (ms)	5	1_1	1_2
	10	2_1	2_2
	20	3_1	3_2

2.3 脳波のエネルギー

てんかん患者の脳波を評価する既存の指標として、焦点における脳波のエネルギーを計測した¹⁾。一部の側頭葉てんかん患者では、頭蓋骨内脳波の二乗和平均をエネルギーとして計算したとき、発作の数時間前から長期間エネルギー・バーストと呼ばれる持続性の高エネルギー脳波が出現することが報告されている¹⁾。後に、予測手法としてエネルギーの一般性は否定されたが^{3), 10)}、焦点の局所的な活動を表す単純な指標として採用した。

脳波のエネルギーは式(3)のような二乗和平均で計算される。

$$E_k = \sum_{i=1}^N x(i)^2 \quad (3)$$

時間窓の幅は 5 秒、ステップ幅は 1 秒とした。この結果を元に 5 分間のエネルギーの移動平均を求めた。エネルギーの移動平均が安静時の平均+2 標準偏差を 10 分以上続いて超過している時間を長期間エネルギー・バーストとして抽出した。

3. 結果

3.1 分岐パラメータ

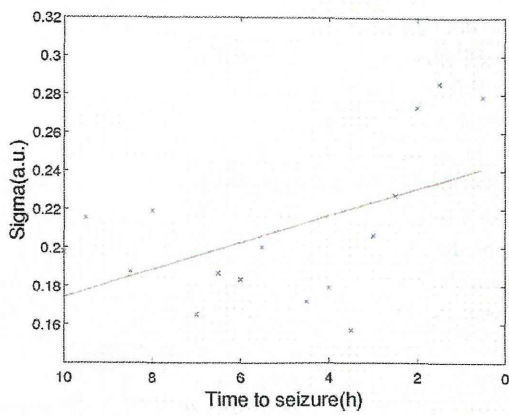
Fig. 2 に条件 2_2 において、発作までの時間と σ の関係を示す。直線は、発作までの時間と σ の間の線形回帰を示す。t 検定の結果、回帰直線の傾きが 0 でない ($p < 0.05$) ときは赤で、それ以外るとき ($p > 0.05$) は緑で示す。

患者 1 に対しては、すべての条件で発作が近くなるにつれて σ が高くなった。t 検定の結果、条件 2_2, 3_1, 3_2 で $p < 0.05$ であった。患者 2 に対しては、すべての条件で発作が近くなるにつれて σ が高くなった。t 検定の結果では、条件 1_1, 1_2, 2_2 で $p < 0.05$ であった。患者 3 では、すべての条件において発作が近くなるにつれて σ が低くなり、t 検定の結果も $p > 0.05$ となった。

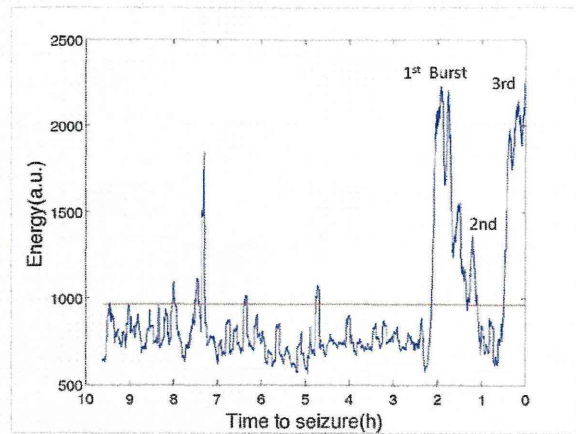
3.2 エネルギーと分岐パラメータの関係

Fig. 3 は各患者の焦点電極で計測されたエネルギーの変化を示している。赤い線は閾値を示している。患者 1 と患者 2 では顕著な長期間エネルギー・バーストが抽出されたが、患者 3 では検出されなかった。

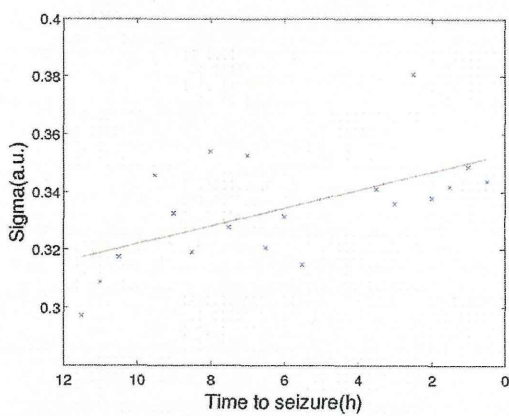
(a) Patient 1



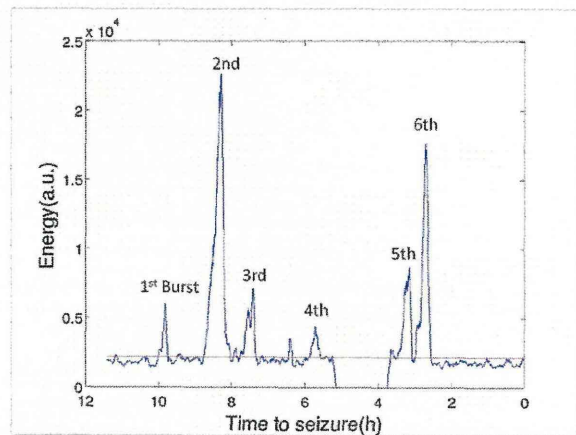
(a) Patient 1



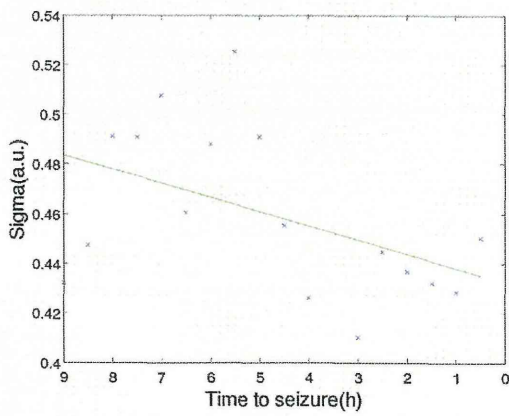
(b) Patient 2



(b) Patient 2



(c) Patient 3



(c) Patient 3

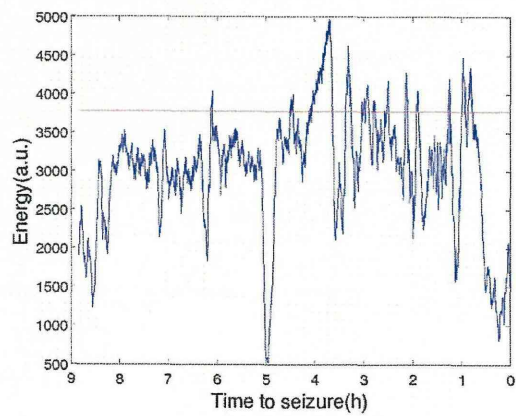


Fig. 2 : Time to seizure and branching parameter

Fig. 3 : Time to seizure and energy

Fig. 3 の(a)と(b)に抽出されたエネルギー・バーストを示した。Table 3 に条件 2_2 で計算された、長期間エネルギー・バーストにおける σ の平均と安静時の 30 分の区間達における σ の平均を示す。

Energy burst	Patient 1	Patient 2
1 st	0.29	0.30
2 nd	0.29	0.35
3 rd	0.24	0.33
4 th		0.33
5 th		0.33
6 th		0.35
rest	0.19±0.021	0.31±0.013

患者 1 と 2 では長期間エネルギー・バーストの時間で、他の時間と比べて、高い σ が観測された。ただし、発作に向けた変化は認められない。

4. 考察

4.1 発作開始と分岐パラメータ

てんかん発作が近づくとき、 σ が大きくなることは、ピークの信号が発散しやすくなることを示唆する。先行研究の *in vitro* 実験では、てんかんのモデルとして切片に Picrotoxin を注入すると、正常の切片と比べて σ が小さくなることが報告されている^{11), 12)}。

σ の値は、神経ネットワークにおけるシナプスの興奮と抑制のバランスに左右される^{6), 7)}。てんかん発作の生成メカニズムには GABA 性の抑制が重要な役割を果たしていると考えられている¹³⁾。しかし、GABA 性の抑制が脳に与える影響は一律ではなく、状況依存的である¹³⁾。本実験の結果は、脳の大域的なスケールでは、てんかん発作に向けて興奮と抑制のバランスが崩れ、脳波の伝播が発散することを示唆する。

4.2 今後の展望

2 人の患者に対しては、てんかん発作が近づくとき、次第に σ が大きくなる傾向が認められたが、患者 3 に対しては、本実験で使われた手法は有効でない。多くの臨床例に対する実験を行い、有効な症例と有効でない症例を分けて、統計的に厳密な議論が必要である。

5. おわりに

本研究では、てんかん患者の皮質脳波を解析し、3 人のうち 2 人において、てんかん発作に向けて分岐パラメータが有意に高くなることを観測した。このような結果は、てんかん発作に向けて、発散しやすくなることを示唆する。今後、てんかん発作に予測において、このような傾向の有用性を検討する。

参考文献

- [1] Litt, B. *et al.*, Epileptic seizures may begin hours in advance of clinical onset: a report of five patients. *Neuron*, Vol 30, 51-64, 2001
- [2] Mormann, F., Andrzejak, R.G., Elger, C.E. & Lehnertz, K., Seizure prediction: the long and winding road., *Brain*, Vol 130, 314-333, 2007
- [3] Maiwald, T. *et al.* Comparison of three nonlinear seizure prediction methods by means of the seizure prediction characteristic. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, Vol 194, 357-368, 2004
- [4] Lehnertz, K. *et al.* Synchronization phenomena in human epileptic brain networks. *Journal of neuroscience methods*, Vol 183, 42-8, 2009
- [5] Mormann, F. *et al.* Epileptic seizures are preceded by a decrease in synchronization., *Epilepsy Research*, Vol 53, 173-185, 2003
- [6] Beggs, J.&Plenz, D., Neuronal avalanches in neocortical circuits. *The Journal of neuroscience*, Vol 23, 11167-11177, 2003
- [7] Plenz, D. & Thiagarajan, T.C. The organizing principles of neuronal avalanches: cell assemblies in the cortex?, *Trends in neurosciences*, Vol 30, 101-10, 2007
- [8] 李夏榮, 川合謙介, 神崎亮平, 高橋宏知: 「神経活動の雪崩現象に基づくてんかん患者の多点皮質脳波の解析」, 生体医工学 50 (特別号) (CD-ROM), 2012 (第 51 回日本生体医工学学会大会, 福岡, 2012 年 5 月 10 日)
- [9] 李夏榮, 川合謙介, 神崎亮平, 高橋宏知: 「てんかん患者の多点皮質脳波における神経活動の雪崩現象の検証」, 電気学会研究会資料 医用・生体工学研究会 MBE-12-034-049, 41-46, 2012
- [10] Harrison, M.A.F., Frei, M.G. & Osorio, I., Accumulated energy revisited. *Clinical neurophysiology*, Vol 116, 527-31, 2005
- [11] Haldeman C, Beggs JM., Critical branching captures activity in living neural networks and maximizes the number of metastable States., *Physical Review Letters*, Vol 94, 058101, 2005
- [12] Plenz, D., Comment on “Critical Branching Captures Activity in Living Neural Networks and Maximizes the Number of Metastable States.”, *Physical Review Letters* Vol 95, 219801, 2005
- [13] Bernard, C., Cossart, R., Hirsch, J. C., Esclapez, M., Ben-Ari, Y., What is GABAergic Inhibition? How Is it Modified in Epilepsy?, *Epilepsia*, Volume 41, Issue Supplement s6, S90-S95, 2000

迷走神経刺激によるラット大脳皮質の神経活動の同期度の変化

狩野 竜示* 宇佐美 憲一 野田 貴大 白松(磯口) 知世
神崎 亮平 川合 謙介 高橋 宏知 (東京大学)

Vagus nerve stimulation induced synchrony modulation of local field potential in the cerebral cortex of rats.

Ryuji Kano*, Kenichi Usami, Takahiro Noda, Tomoyo Shiramatsu(Isoguchi)

Ryohei Kanzaki, Kensuke Kawai, Hirokazu Takahashi (Tokyo University)

Vagus nerve stimulation (VNS) is a treatment for refractory epilepsy. We densely map local field potentials in the auditory cortex of rats, and analyzed whether and how VNS affects synchrony of the cortical activity. We found that VNS synchronized the cortical activities in normal rats, while desynchronized in seizure model rats. This state-dependent modulation of cortical activity by VNS suggests that VNS plays some roles in maintaining the homeostatic properties.

キーワード：迷走神経刺激, 大脳皮質, 局所電場電位, 多点電極, ラット, てんかん発作モデル

(Vagus nerve stimulation, cerebral cortex, local field potential, micro electrode array, epileptic seizure model rat)

1. 序論

迷走神経刺激療法 (VNS: vagus nerve stimulation) と呼ばれる手術療法が近年、てんかん治療の方法として注目を集めている。VNS は第 10 脳神経である迷走神経に、らせん電極を巻きつけ、電気刺激を行う治療方法である。てんかん発作中に VNS を施すと、発作の持続時間が短くなることから[1], VNS は大脳皮質の神経活動に何らかの影響を与えていると考えられる。しかし、現在、VNS が脳活動に即時的に与える影響は知られていない[2]。また、VNS は元来てんかんの治療法として開発されたが、抗うつや認知機能の向上といった効果も報告されている [3]。ただし、VNS が認知機能を向上させるという効果には、臨床的に一貫した知見が得られていない。例えば、Clark は、記憶向上の効果が示したが[4], Helmstaedter は、記憶の変化が無かったことを示している[5]。こうした相反する結果が得られている背景として、ヒトにおける VNS の研究は倫理上、健常者では行えないことが挙げられる。また、健常状態の脳活動と、てんかん発作状態の脳活動で、VNS が与える影響の差異もわかっていない。これらを精査するためには、動物実験モデルによる基礎研究が必要である。

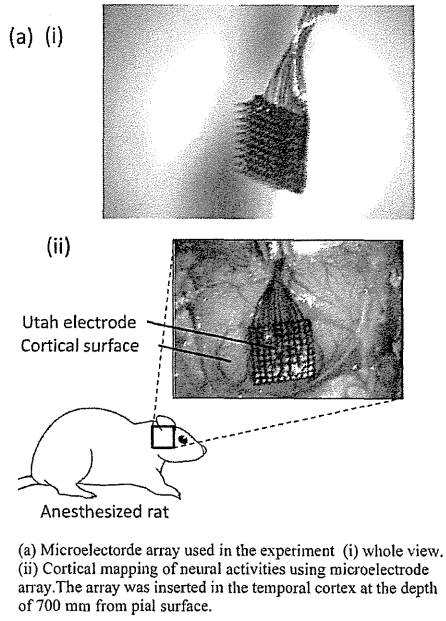
本研究では脳の状態に依存した VNS の効果を検証するため、ラットを健常状態と発作状態の二つに分けて、VNS が皮質活動に与える効果を調べた。発作状態は、カイニン酸を投与することで、人工的に作り出し、投薬以前の状態を健常状態とした。神経活動の計測には 10×10 の計測点を

400 μm の電極間距離で有する微小電極アレイを用いた。同アレイを聴覚皮質第 4 層に刺入し、局所電場電位(local field potential: LFP)を多点同時計測した。著者らは、これまでに、VNS が皮質の局所的な同期を変化させることを示してきた。本研究では、そのような VNS の効果が、脳の状態に依存して、どのように変化するかを考察する。

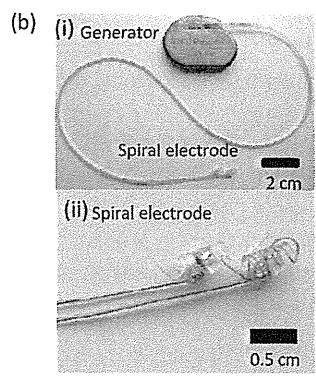
2. 方法

全ての動物実験は、「東京大学動物実験マニュアル」に則って行った。

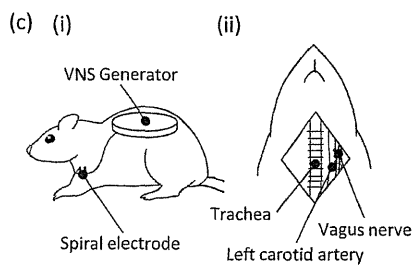
〈2.1〉 大脳皮質の神経活動の計測 6匹の11週齢オスのウィスター・ラット(体重 270~330 g)を使用した。頭部を定位装置に固定し、手術・計測をイソフルラン麻酔下で実施した。麻酔濃度は、導入時には 3.0~3.5%, 維持時には 1.5~2.0%とした。局所麻酔として、切開する頭皮下にリドカイン塩酸塩を注入した。その後、図 1 (a)に示すように、右側頭部の頭皮及び側頭筋、そして右側頭骨を除去し、硬膜を剥がすことで脳表(右側頭葉)を露出した。頭蓋内圧の上昇を防ぐため、後頭部に小切開を置き、頸髄後部の硬膜を切開して脳脊髄液を持続的に排出させた。頭頂部(矢状縫合の左側)に直径 1 mm の穴をドリルで開け、ソケット電極を接続してこれを基準電極とし、頸部皮下に針状電極を刺入してこれを接地用電極とした。露出させた脳に剣山型の微小電極アレイ(Blackrock Microsystems, ICS-96)(図 1(a)(i))を、700 μm 程度の深さに刺入した(図 1(a)(ii))。同電極は、400 μm 間隔で 96 点の計測点をもつ。



(a) Microelectrode array used in the experiment (i) whole view. (ii) Cortical mapping of neural activities using microelectrode array. The array was inserted in the temporal cortex at the depth of 700 μm from pial surface.



(b) Vagus nerve stimulation (VNS) device (Cyberonics). (i) Whole view. The system consists of the generator and spiral electrode. (ii) Magnified view of the spiral electrode.



(c) Implantation of VNS device. (i) Whole view. The generator is implanted subcutaneously on the dorsal side of rats. (ii) Anatomical landmarks of vagus nerve in a rat. Spiral electrodes are wrapped around the left vagus nerve. (iii) Waveform of VNS. Asymmetric biphasic current pulse with charge balance allowed unidirectional activation of the vagus nerve.

図 1 動物実験
Fig. 1. Animal preparation

計測では、LFP と MUA をサンプリング周波数 1 kHz と 30kHz で、それぞれ記録した。

各計測点で、純音刺激に対する周波数選択性を評価し、聴覚皮質と非聴覚皮質を判別した。刺激音としてトーンバースト音を用い、持続時間、立ち上り・立下り時間を、それぞれ、15 msec と 5 msec した。刺激音の周波数は、1.6 – 64 kHz の範囲で 18 種類、音圧は 20 – 80 dB の範囲を 10 dB 間隔で計 7 種類提示した。周波数-音圧平面上に、各刺激音に誘発される MUA の発火数の分布を求め、そのうち最も低い音圧で発火させられる周波数、すなわち特徴周波数 (Characteristic Frequency; CF) を求めた。なお、CF の定義された計測点を聴覚皮質とした。

〈2・2〉 VNS 装置と刺激条件 図 1 (b) に、本実験で用いた迷走神経刺激装置 (Cyberonics, Texas, VNS Therapy system model 103) の写真を示す。同装置は、パルスジェネレータとらせん電極から成る。計測一週間前にらせん電極を、左頸部の左迷走神経に留置し(図 1 (c) (i)), パルスジェネレータを背側の皮下に埋設した (図 1 (c) (ii))。

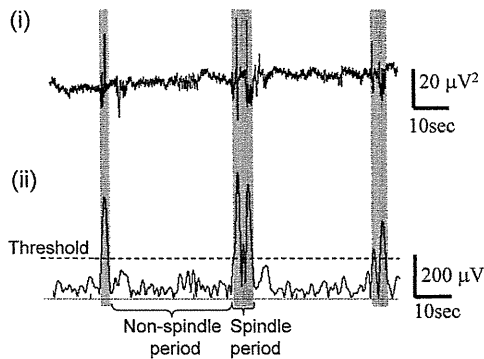
VNS の電気刺激パルスは、電荷が一か所に集積して神経線維を損傷しないよう、2 相性となっている。また、求心性の線維を選択的に活動させるために、一相目の刺激は短時間高振幅、二相目の刺激は長時間低振幅とした。このような電流パルスでは、遠心性の線維が活動する電位の閾値を超えず、求心性の線維のみが刺激される。なお、電流値、パルス幅、刺激周波数、刺激時間、休止時間を刺激装置で調整できる。本実験では、パルス幅を 100 μs に固定し、電流値と刺激周波数を刺激パラメータとして、電流値は 1.0 mA、刺激周波数は 10 Hz とした。この刺激セットは、一度の刺激を 30 秒間、刺激間隔を 5 分として、合計 3 回、繰り返した。

〈2・3〉 てんかん発作状態の誘導

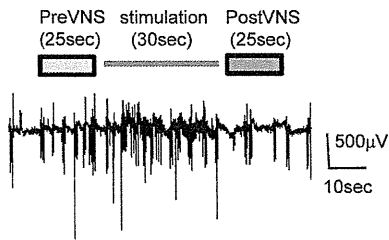
本実験では、同一ラットで健常状態と発作状態の比較を行った。まず、実験開始後、投薬をせずに、VNS を提示した。1 回の刺激を 30 秒として、VNS 刺激を 5 分間隔で計 3 回提示した。その後、30 分のインターバルを置き、カイニン酸 n 水和物 (Kainic acid) を腹腔注射し (12 mg / kg), 人工的にてんかん性異常脳波、すなわち、発作状態を誘発した。カイニン酸は、グルタミン酸受容体のアゴニストであり、海馬の CA3 にある錐体細胞を過剰に興奮させる。その結果、側頭葉てんかんに似た発作を引き起こす。そのため、カイニン酸は側頭葉てんかんのモデルの研究用途として広く扱われている[6]。注射後、約 30 分後に VNS を 30 秒間与え、発作状態での VNS の効果を調べた。この時の刺激パラメータは 1.0 mA / 10 Hz とした。

〈2・4〉 信号解析

麻酔下で計測した LFP には、音刺激に関わらず、スピンドル波が発生する。スピンドル波は、視床に由来する断続的な振動現象であり [7], 神経活動を広範囲で同期させる。そこで、本研究では、図 2 (a) に示すよ



(a) Extraction of non-spindle periods. (i) LFP filtered by a passband of 8 – 13 Hz. (ii) Instantaneous amplitude of filtered LFP. Threshold was settled to identify spindle periods.



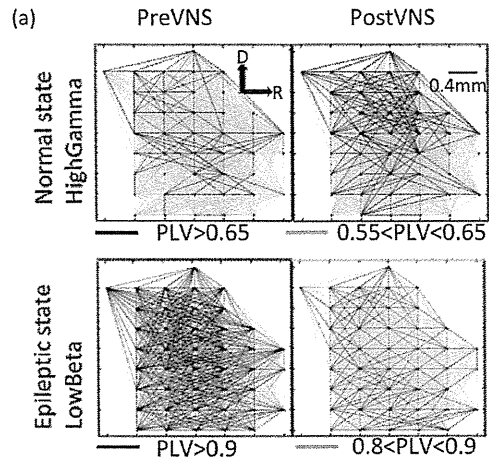
(b) Definition of PreVNS and PostVNS periods, which were used to derive ΔPLV .

図2 実験中の LFP

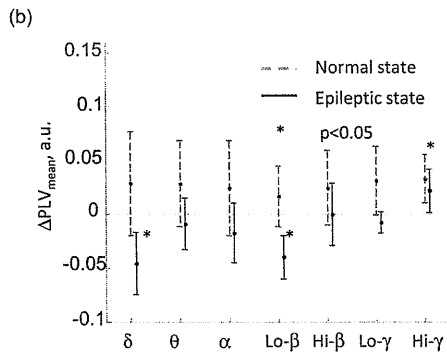
Fig. 2. LFP under test

うに、スピンドル波の有無を判定し、解析対象をスピンドル波形が観測されない時間に限定した。まず、スピンドルの周波数帯域である 11 – 16 Hz のバンドパスフィルタをかけ、ヒルベルト変換を施すことにより、各時刻の瞬時振幅を導出した。その後、スピンドルが出現していないと明らかに認識される区間において、瞬時振幅の平均と分散を求めた。これらの値から導出される Z スコアが 3 以上のとき、波形の点を仮スピンドル時間と定めた。仮スピンドル時間を全計測点で導出し、25 以上の計測点で仮スピンドル時間が重複していた場合は、その時間をスピンドル時間とした。さらにスピンドル波間の時間が 250 msec 以下である場合には、その間の時間帯もスピンドルとして処理した。

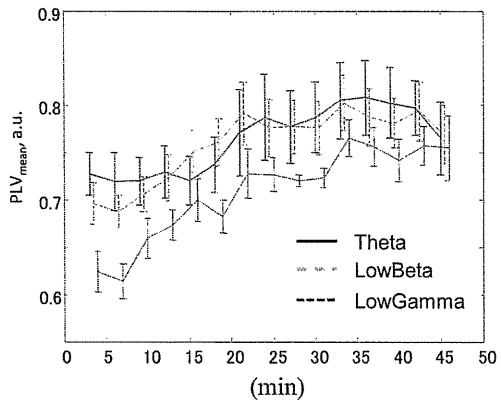
同期度の指標として位相同期度 (Phase Locking Value; PLV) を用いた[8]。まず、計測信号にバンドパスフィルタ、ヒルベルト変換を順次かけ各時刻の瞬時位相を求める。2 チャンネル間 (ch1, ch2) の瞬時位相の位相差を $\Delta\Phi = (\Phi_{ch1} - \Phi_{ch2})$ 、時間長を T とすると、PLV は式 (1) で定義される。



(a) Representative VNS-induced modulation of the cortical synchrony in the auditory cortex. Functional network based on PLV in the normal-state high- γ band (i) and in the epileptic-state low- β band (ii).



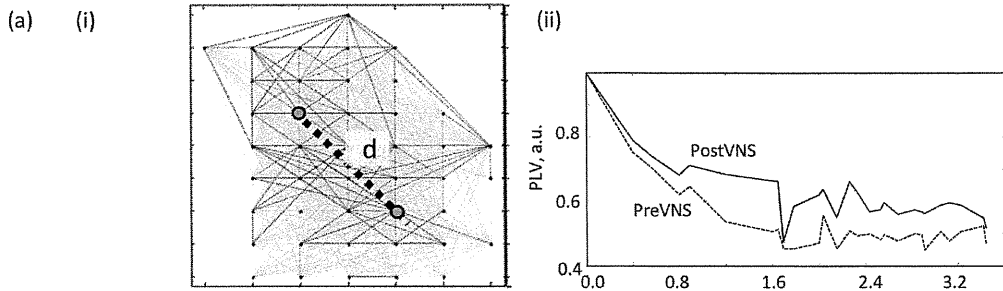
(b) Band specific ΔPLV_{mean} changes by VNS in the normal state (gray dotted line) and epileptic state (black solid line). Asterisks indicated that ΔPLV_{mean} was significantly higher or lower than zero (one-sided t-test).



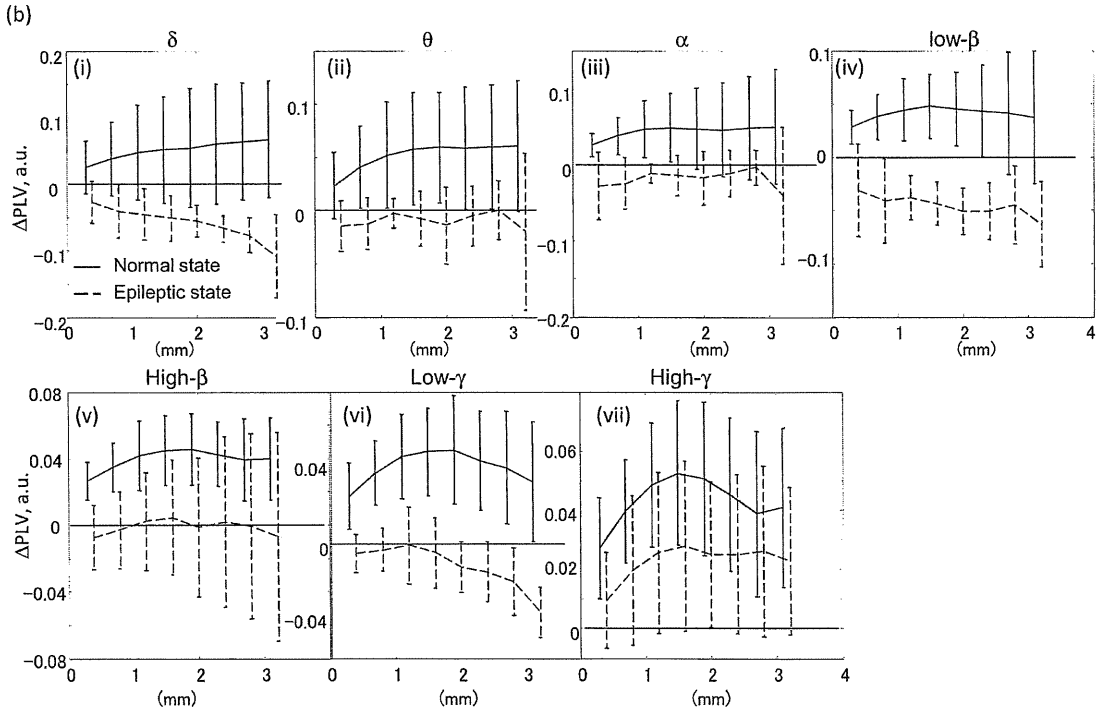
(c) Evolution of epileptic state. Time course of PLV_{mean} were shown after KA injection.

図3 VNSによる神経活動の位相変調

Fig. 3. VNS-induced modulation of neural activities



(a) Representative spatial patterns of PLV before and after VNS. (i) Network patterns of auditory cortex explaining the length between two channels. d represents a length between two channels shown as gray dots. (ii) Representative PLV in a normal state as a function of distances.



(b) Band-specific phase modulation of rats' brain activity in a normal state and in an epileptic state: ΔPLV was quantified as a function of distance in the delta (i), theta (ii), alpha (iii), low beta (iv), high beta (v), low gamma (vi), and high gamma bands (vii). Dashed lines show ΔPLV in an epileptic state, while solid lines show ΔPLV in a normal state. Asterisks indicate that ΔPLV of AC-AC and ΔPLV of nAC-AC are statistically different (two-sided t-test; *, $p < 0.005$).

図4 VNS由来の位相変調と計測点間の距離の相関

Fig.4. VNS-induced phase modulation as a function of the distance of recording sites

$$PLV(ch1, ch2) = \left| \frac{1}{T} \sum_i e^{i(\Phi_{ch1} - \Phi_{ch2})} \right| \quad (1)$$

この PLV を聴覚皮質内の計測点の全組み合わせで求める。なお、計測点の全組み合わせは、聴覚皮質内の計測点数を N とすると、 $N \times (N - 1) / 2$ となる。これらの PLV の平均値、すなわち、

$$PLV_{mean} = \frac{2}{N(N-1)} \sum_{ch1}^N \sum_{ch2}^N PLV(ch1, ch2) \quad (2)$$

を神経活動全体の同期の指標として用いた。図 2 (b) に示すように、VNS 直前 (PreVNS) と VNS 直後 (PostVNS) の各 25 秒間で PLV_{mean} を計算した。ただし、スピンドルと判断された部分は PLV の計算には含めなかった。PLV の計算は 7 種類の帯域において行った: δ 波, 1~4 Hz; θ 波, 4~8 Hz; α 波, 8~13 Hz; Low- β 波, 13~21 Hz; High- β 波, 21~30 Hz;

Low- γ 波, 30~45 Hz; High- γ 波, 55~80 Hz.

3. 結果

〈3-1〉発作状態と健常状態における VNS の影響

図 3(a) に, 1.0 mA, 10 Hz の条件で VNS を与えた例を示す. 図の格子点は, 図 1(a)(i) で示した電極の各計測点を示す. 図 3(a) 中に見られる線は, 2 計測点間の PLV を値域ごとに色分けしたものである. 図より, 健常なラットでは, VNS の直後で PLV が上昇した. 各線で示された PLV を平均化し, PostVNS における PLV_{mean} と PreVNS における PLV_{mean} との差分を取った. これを ΔPLV_{mean} ($= PLV_{mean}$ (PostVNS) - PLV_{mean} (PreVNS)) とした. ΔPLV_{mean} を帯域ごとに図に示したのが図 3(b) である. 健常状態においては, すべての帯域で PLV の上昇が認められ ($n = 6$), High- γ 帯域においては有意に上昇した. 一方, 発作状態では, PLV が減少する傾向にあった (図 3(a)). このような PLV の減少は, 特に, δ , Low- β 帯域で有意に認められた (図 3(b)). また, 健常状態における ΔPLV_{mean} と発作状態における ΔPLV_{mean} では, δ , Low- β , Low- γ 帯域で有意な差が見られた ($p < 0.05$; 2 標本 t 検定). なお, カイニン酸の投与後, ラット聴覚皮質における PLV は, 図 3(c) のように漸増傾向を示した. この傾向は, 高周波の帯域であるほど顕著であった. 以下に θ , Low- β , Low- γ 帯域における, カイニン酸投与 3 分後の PLV 値と, カイニン酸投与 45 分後の PLV_{mean} を示す. θ 帯域 - 投与 3 分後: 0.73 ± 0.023 , 投与 45 分後: 0.77 ± 0.038 . Low- β 帯域 - 投与 3 分後: 0.70 ± 0.022 , 投与 45 分後: 0.77 ± 0.031 . Low- γ 帯域 - 投与 3 分後: 0.62 ± 0.021 , 投与 45 分後: 0.75 ± 0.034 . VNS が, 発作状態の脳に引き起こす PLV の減少作用は, カイニン酸由来の上昇作用を上回った.

〈3-2〉VNS の距離依存的効果

VNS による同期パターンの変化を詳細に解析するために, 同期パターンがどのように距離に依存するかを調べた. 図 4(a)(i) のように, 任意の 2 つの計測点間の距離 (d) と PLV 値を導出し, 距離ごとに PLV の平均値を求め, 図 4(a)(ii) のように距離と PLV との関係を調べた. 〈3-1〉で述べた通り, 同図に示した健常状態では, PLV は VNS によって増加するが, この傾向が, 2 計測点間の距離に依存してどのように変化するかを解析するために, PostVNS と PreVNS における PLV の差分を計算した. その結果, 図 4(b) に示したように, 健常状態における γ 帯域の PLV の増加は, 2 計測点間の距離が 1.6mm 程度の時に最大となった (図 4(b)(vii)). なお, このような ΔPLV の距離依存性は低周波数帯域では明確ではなくなった. 一方, 発作状態では, low- γ 帯域の PLV は, 距離に比例して多く脱同期する傾向を示し, 3.2mm の距離で最も減少した (図 4(b)(vi)). この傾向は, δ 帯域と low- β 帯域でも認められた (図 4(b)(i)(iv)).

4. 考察

本実験では, VNS が即時的に脳活動の同期度を変化させることを示した. また, その変化が, 脳の状態依存的であったことを示した. 健常状態においては, VNS は帯域非依存的に同期度を上昇させ, 特に γ 帯域において, 有意であった. 発作状態において VNS は, δ , low- β 帯域において脱同期を促進した. こうした同期度の変化と VNS の臨床効果との関連性について, 以下に述べる.

同期の機能は, 周波数帯域によって異なる. 低周波の同期は, 領野横断的な情報処理に, 高周波の同期は, 領野内における局所的な情報処理に関わっているとされる[9]. 特に, 健常状態における, high- γ 帯域の同期は局所的な情報処理能力を上げることで, 記憶能力をはじめとした認知機能を向上させている可能性がある.

発作状態において, VNS は帯域全体的に脱同期化する傾向を見せたが, high- γ 帯域においては脱同期化せず, むしろ, 同期化する傾向を示した. この原因として, カイニン酸による脳活動の同期を助長する作用が支配的になったことが考えられる. 図 3(c) で示した通り, カイニン酸を投与すると時間経過と共に PLV は増加するが, その傾向は高周波になるほど顕著である. 発作状態において, VNS の脱同期化作用は high- γ 帯域以外では, カイニン酸による同期化作用を上回ったが, high- γ 帯域においては, カイニン酸の効果が VNS の効果を上回った可能性がある. ただし, high- γ 帯域は, 抑制性ニューロンどうしの相互作用を反映している可能性もある. したがって, VNS は high- γ 帯域の同期を促進することにより, 興奮性ニューロンの過剰興奮を抑制している可能性もある.

発作状態における VNS の δ , low- β 帯域の脱同期化作用は, 3 mm 以上の広い範囲において有効であった (図 4(b)). てんかんが, 脳の広い範囲において同期活動を引き起こすことを考えると, 発作状態における VNS は, 領野間の活動を脱同期化させることによって, 脳の広範囲な同期活動を抑制している可能性がある.

以上より, VNS の臨床効果である, 認知機能向上やてんかん抑制は脳活動の同期変調という観点から, 説明することが可能である.

本研究において, VNS が同期に与える影響は, 状態依存的であった. このことから VNS は, 脳活動の同期度が低い健常状態には同期度を上昇させ, 同期度が高い発作状態では同期度を減少させる事で同期の恒常性を保つ機能を持っていることが示唆される. こうした複雑な効果は, 複数のニューロモジュレーターに由来している可能性がある. 迷走神経の投射経路として, 青斑核, 縫線核, 基底前脳があり, これらはノルアドレナリン, セロトニン, アセチルコリンをそれぞれ放出する [10,11]. これらの物質が複雑な効果の源となっていると考えられる. 今後, 薬理実験により, VNS が皮質活動に影響を及ぼすメカニズムを解明する必要がある.

5. 結論

本研究では、96 点の計測点を持つ多点電極でラット聴覚皮質第 4 層における LFP を計測し、VNS が LFP の同期度に与える即時的影響を解析した。また、その影響が、ラットの状態に依存してどのように変わるかを調べた。その結果、VNS は脳活動の同期度が低い健常状態では同期を促し、同期度が高くてんかん発作状態では脱同期を促すことがわかった。このことから、VNS は脳活動の同期度を一定に保つ、すなわち同期の恒常性を保つ機能を担っていることが示唆される。また、健常状態における同期化作用は、2 つの計測点間の距離が 1.6 mm 程度の時に最大となった。一方、発作状態における脱同期化作用は、2 計測点間の距離に比例して大きくなり、計測点間の距離が 3.2 mm 程度の時に最大となった。このことから、健常状態において、VNS は領野内の局所的な同期を促し、領野内の情報処理能力を高め、認知機能の向上を促進している事が示唆される。また、発作状態においては、領野間の広域的な脱同期を促すことで、てんかん特有の同期的脳活動を抑制していることが示唆される。これらの結果は、VNS の治療的効果と VNS が脳活動に与える影響を結び付ける重要な知見であると考えられる。

本研究は、科研費 (24650252) と厚労科研費障害者対策総合研究事業の助成を受けた。

(2010)

- (10) T. R. Henry, "Therapeutic mechanisms of vagus nerve stimulation," *Neurology*, vol. 59, pp. S3-14 (2002)
- (11) Manta S, Dong J, Debonnel G, Blier P: "Enhancement of the function of rat serotonin and norepinephrine neurons by sustained vagus nerve stimulation", *J Psychiatry Neurosci*, Vol.34, pp.272-280 (2009)

文 献

- (1) Morris, G. L., 3rd and W. Mueller: "Long-term treatment with vagus nerve stimulation in patients with refractory epilepsy", *Neurology*, Vol.53, (1999), pp.1731-1735.
- (2) A. Zagon, AA. Kemeny: "Slow hyperpolarization in cortical neurons: a possible mechanisms behind vagus nerve stimulation therapy for refractory epilepsy? ", *Epilepsia*, Vol.41, (2000), pp.1382-1389.
- (3) K.B. Clark, S.E. Krahl, D.C. Smith, R.A. Jensen: "Post-training unilateral vagal-stimulation enhances retention performance in the rat", *Neurobiology of learning and memory*, Vol.63, pp.213-216, (1995)
- (4) K. Clark, D. Naritoku, D. Smith, R. Browning, & R. Jensen: "Enhanced recognition memory following vagus nerve stimulation in human subjects", *Nature Neuroscience*, Vol.2, pp.94-98, (1999)
- (5) C. Helmstaedter, C. Hoppe, C. Elger: "Memory alterations during acute high-intensity vagus nerve stimulation", *Epilepsy Research*, Vol.47, pp.37-42, (2001)
- (6) Y. Ben-Ari, R. Cossart: "Kainate, a double agent that generates seizures: two decades of progress", *Trends Neuroscience*, Vol.23, pp.580-587, (2000)
- (7) M. Steriade, D.A. McCormick, and T.J. Sejnowski: "Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain", *Science*, Vol.262, pp.679-685 (1993)
- (8) P. Celka: "Statistical analysis of the phase-locking value", *IEEE Signal Processing Letters*, Vol.14, pp.577-580 (2007)
- (9) X. J. Wang, "Neurophysiological and computational principles of cortical rhythms in cognition," *Physiol Rev*, vol. 90, pp. 1195-268,

