

発作感受性消去によるてんかん根治療法の開発

近畿大学 薬学部 医療薬学科 教授 竹内 雄一 *

1. はじめに

てんかんや鬱病などに代表される神経・精神疾患はしばしば薬剤抵抗性である^{[1][2][3]}。例えば、てんかんは薬剤より約7割の症例を制御可能だが、一方残りの3割は制御不良である。特に薬物療法開始から2年が経過しても発作が抑制されなければ難治性である割合が高い。難治てんかんのうち、一部は発作焦点切除などの外科手術が奏功する。しかしながら発作焦点がはっきりしない、複数存在する、あるいは切除不可能な箇所位置する場合は外科手術が適応しづらい。さらに外科手術には、高侵襲性、不可逆的な脳部位・機能の喪失というデメリットがある。

そこで外科手術に代わるてんかんの新規療法および補助療法として、電気、磁気、あるいは超音波など物理的な外力を用いた脳刺激法が注目されている。筆者は2015年に時間特異的脳刺激法の研究開発で著名な Antal Berényi 博士@セゲド大学と共同研究体制を築き、神経・精神疾患に制御を目的とした新機能刺激法の研究開発に取り組んできた。本稿では最近の筆者らの取り組みを中心に概説する。

2. 時間標的脳深部刺激法によるてんかん発作の制御

脳深部刺激や迷走神経刺激など電気による脳活動介入により、難治てんかんを制御する試みが行われている。ただし発作間欠期における刺激介入は、正常の脳活動・機能を妨げ、認知機能障害など副作用を生じる可能性がある。刺激介入を発作時のみに限ることで、そうした副作用を低減可能であると考えられる。Berényi は、2012年に欠神てんかんラットの脳波を常時モニターして、発

作出現時にのみ電気刺激で脳活動介入を行う、閉ループてんかん制御システムを開発し、当該システムにより、発作の持続時間を有意に減少することに成功した^[4]。この発作時間短縮作用に耐性は発達せず、少なくとも数ヶ月以上は効果の持続が認められた。

海馬を焦点とする内側側頭葉てんかんは、欠神てんかんなど、他のてんかん症候群に比べて薬剤抵抗性で難治性である割合が高い。側頭葉てんかんは適切に制御しないと、二次性に全般化して突然死の原因にもなるため、新たな制御法の開発が望まれている。筆者らは、前脳基底部の一部である内側中隔核が、海馬における周期的神経活動（オシレーション）を制御することに着目して検討を行ってきた。その結果、ラット海馬電気キンドリングモデルにおいて、発作時選択的な内側中隔核の電気刺激により、当該モデルの発作症状を軽減可能であることを見いだした^[5]。この発作症状軽減作用には、海馬てんかん波のリズムをリアルタイムに追従して内側中隔核を刺激することが必要条件であり、20 Hz など単純な固定頻度による刺激は無効であった。さらに光遺伝学的検討により、内側中隔核から海馬に投射する GABA 作動性ニューロンがこの発作症状軽減作用に関わることを明らかにした。

てんかん発作のオンデマンド制御に関しては、既に Responsive Neurostimulation (RNS) システムが臨床応用され一定の発作制御効果を示しているが、RNS システムで用いられる刺激パターンは、固定頻度パルスなど比較的単純である。筆者らの結果は、内側中隔核など標的脳部位によっては、てんかん波のリズムを模倣するなど、より

* (助成採択時) 北海道大学 大学院薬学研究院 医療薬学部門 准教授

複雑な刺激リズムパターンがてんかん発作の制御に必要であることを示唆する^[6]。

3. 経頭蓋集束電気刺激法の開発

最近筆者らは、てんかんのみならず、時間特異的な脳深部刺激法により、鬱病、および PTSD の症状を制御する新技術の創出に成功した^{[5][7][8][9]}。しかしながら当該知見の臨床応用に向けては、電極の脳実質への刺入による侵襲性が大きな課題である。そこで、筆者らは頭蓋の外から任意の脳領域に刺激を集束する新規非侵襲的脳刺激法の開発にも取り組んできた。

これまで伝統的に臨床で用いられてきた経頭蓋電気刺激法に関して、どの程度の電流が実際に頭蓋内空間に到達し、それにより神経細胞の活動がどの程度修飾されているかは不明であった^[10]。そのため筆者らは、まずラットおよび死後数日以内のヒト献体を用い、経皮的および経頭蓋的に負荷した電流が頭蓋内にどの程度の電位勾配を生じ、その電位勾配がどの程度神経細胞の膜電位および活動電位に影響するか、*in vivo* 細胞内記録および細胞外記録で検討した^[11]。その結果、負荷した電流のうち 50–80% は頭皮や頭蓋骨により短絡されて頭蓋内空間に到達しないことが明らかになった。特に神経細胞の発火頻度を修飾するためには、1 mV/mm 以上の頭蓋内電位勾配が必要であり、伝統的な経頭蓋電気刺激（～2 mA）では頭蓋内空間に 1 mV/mm の電位勾配は到底生じないことが明らかになった。この問題を克服するため、筆者らは新しい経頭蓋集束電気刺激法（Intersectional Short Pulse: ISP 法）を開発した。ISP 法の原理は、2.5～10 μ s 幅の短い電気刺激ビームを複数の電極対間でタイミングをずらして適応し、刺激を焦点に集束するものである。さらに刺激焦点間の位相をずらすことで、脳内情報フ

ローを自在に制御することも可能である^[6]。まず筆者らはラットを用い、ISP 法の空間的は刺激集束能を検討した。すなわち麻酔下で左右の海馬を刺激し分けることができるか検討したところ、右半球に集束した刺激は左側海馬の神経活動（神経発火）に影響を与えず、右側海馬における神経活動を優位に修飾できた。次に、健常ボランティア被験者において安静時脳波を測定し、ISP 法が脳活動を効果的に変調できるか検討した。脳波測定電極に加え、6 つの刺激電極対を頭皮上に配置し、1 Hz（～9 mA）の正弦波 ISP 刺激を負荷した。その結果、ISP 刺激は頭頂部（P3, P4）において、大脳半球および刺激位相選択的に α 周波数帯脳活動を增強した。この脳活動修飾作用は刺激後速やかに現れ、刺激後速やかに消失した。すなわち脳活動の長期間に渡る可塑的变化は認められなかった。ISP 法では、刺激強度を複数の電極対間で時空間的に分散するため、刺激電極直下の電流密度を下げることであり、そのため従来法の 8 倍にあたる 16 mA まで刺激強度を上げることに成功した。副作用としては、8 mA 以上の強度で若干の平衡感覚異常、味覚異常、および体性感覚（刺激電極下の痛み）が認められた。

4. 経頭蓋集束超音波照射技術によるてんかん発作制御法の研究開発

難治性てんかんや鬱病等、薬物抵抗性の神経・精神疾患の症状制御には、脳刺激法による神経活動の直接制御が効果的である。しかしながら従来用いられてきた脳深部刺激や光遺伝学刺激は電極等の脳実質への刺入に伴う侵襲性が課題であった。そこで本章では、生体透過性に優れた超音波を利用した非侵襲的脳刺激法の新規開発により、当該課題を解決することを目的とした。当該目的の達成のため、1) *In vivo* 超音波遺伝学の開発、

2) 小型超音波照射装置の開発、3) オンデマンド超音波遺伝学刺激法によるてんかん発作制御法の開発を実施した。

- 1) In vivo 超音波遺伝学の開発：まず、バクテリア由来機械受容チャネル eMscL^{G22S} を超音波遺伝学素子としてげっ歯類の脳神経細胞にアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを介して導入し、さらに当該素子を介した経頭蓋的神経活動操作を検討した。具体的には eMscL^{G22S} を介した経頭蓋的神経活動操作に関して最も効果的に神経活動を惹起する超音波照射パターン（周波数、音圧、デューティサイクル、反復刺激頻度等）を検討した。また最近我々は哺乳類の脳において超音波を介した神経活動修飾に TRPC6 分子が関与していることを見出した^[12]。そのため TRPC6 分子をやはり AAV ベクターを介してげっ歯類の脳神経細胞に過剰発現し、その超音波反応性を評価した。
- 2) 小型超音波照射装置の開発：現在上市されている超音波刺激トランスデューサーはサイズが大きすぎるため、自由行動下での適応が困難である。そのため自由行動下動物における経頭蓋集束超音波ニューロモデュレーションを目指し、小型集束超音波照射装置の開発を行った。I) 小型超音波振動子の作製：中心周波数 1、5、10 MHz、直径 10 mm、焦点距離 10 mm のチタン酸ジルコン酸鉛 (PZT) 振動子を特注作製した（富士セラミックス）。当該振動子を収納するケースを光造形 3D プリンター（Form 3+, Formlabs）で作製し、エポキシ系接着剤で振動子をケースに固定した。その後、振動子の中心周波数におけるインピーダン

スを測定し、パルストランスを用いて駆動用高周波増幅器（T145-4726AA,

Thamway）の出力インピーダンスと整合し

た。振動子の駆動波形生成には一般的なファンクションジェネレーター（DG992,

Rigol）を用いた^[13]。II) 小型超音波振動

子の評価：振動子のインピーダンスは、振動子と直列に接続した基準抵抗とのそれぞれに

負荷される交流電圧の振幅比により求めた。振動子の音響出力は音響放射力法により計測した。

吸収体には音響吸収タイル（EUA201A, Eastek）を用い、放射力を分解能 1 mg の電子天秤（FX-300i, A&D

Company）で計測した^[14]。超音波振動子の

音場分布は k-Wave ソフトウェアを用いてシミュレーションするとともに^[15]、

Pulser/Receiver (1050 PRJ/ Accu-Tron) およびマイクロマニピュレータ（David

Kopf）を用いて 3 次元的に計測した。音圧の測定は、ニードル型ハイドロフォン

（NH0500 型, Eastek）を用いて実施した。

（NH0500 型, Eastek）を用いて実施した。

- 3) オンデマンド超音波遺伝学刺激法によるてんかん発作制御法の開発：アデノ随伴ウイルスベクター（AAV5-hSyn-eMscL^{G22S}-mCherry）により、ラットの脳皮質神経細胞に超音波遺伝学素子を導入した。当該ラットを覚醒下で頭部固定し、脳における多チャンネル局所電場電位記録および筋電記録を行い、欠神発作を実時間モニターした。欠神発作が生じるや否や脳皮質を標的に経頭蓋集束超音波照射を行った。その結果、欠神発作エピソードに上記パラメータで即時経頭蓋超音波照射したところ、欠神発作エピソードの即時終息を達成でき

た。現在当該オンデマンド脳活動介入法が発作頻度、発作持続時間、1日あたりの総発作時間を減少・短縮するか解析中である。欠神発作の即時終息メカニズムの詳細は未だ不明であるが、超音波による神経活動介入が欠神発作リズム（5～15 Hz）を生じる脳内神経回路である大脳皮質一次体性感覚野－視床ループを発作エピソードの初期において断ち切った可能性がある。

5. 結論

筆者らが開発したこれらの技術の臨床応用について、特に経頭蓋集束電気刺激法（ISP 法）^[11]およびオンデマンド脳活動介入法^[5]の成果は、Berényi 博士を中心に、てんかん発作の制御を目的としたウェアラブル装置として実装された（<https://neunos.com/>）。既に難治性てんかん患者を対象に当該装置を用いた臨床研究を開始し、10名程度の患者において、その安全性および良好な治療成績を確認した^[16]。この疾患症状特異的な脳活動にオンデマンド介入することで症状を制御する戦略は、筆者らが最近開発したてんかんの発作感受性を定量する技術と組み合わせることで、てんかんの根治療法の研究開発を加速できる可能性がある^[17]。さらにてんかん以外の神経・精神疾患にも応用できる可能性がある^{[6][7][8][9]}。これらの実現が神経・精神疾患患者の Quality of Life 向上に資すれば幸いに思う。

一方、経頭蓋集束超音波照射法による超音波ニューロモデュレーション法は、その神経機序に関しても未だ不明な点が多い^[12]。超音波刺激は、電気刺激や光遺伝学刺激に比べると、その刺激効率も十分ではなく、今後その向上を図る必要がある。機械受容チャネルの異所性強制発現による超音波（音響）遺伝学はその研究開発の方向性の一つであろう^{[18][19]}。

筆者らの研究に興味を持たれた方はお気軽に連絡されたい（<https://ytakelab.notion.site/>）。

6. 参考文献

- [1] Kwan P, Schachter SC, Brodie MJ; Drug-resistant epilepsy, *New Engl J Med*, **365** - 10, (2011), 919–926.
- [2] Chen Z, Brodie MJ, Liew D, Kwan P; Treatment Outcomes in Patients With Newly Diagnosed Epilepsy Treated With Established and New Antiepileptic Drugs: A 30-Year Longitudinal Cohort Study, *JAMA Neurol*, **75** - 3, (2018), 279.
- [3] Dandekar MP, Fenoy AJ, Carvalho AF, Soares JC, Quevedo J; Deep brain stimulation for treatment-resistant depression: an integrative review of preclinical and clinical findings and translational implications, *Mol Psychiatry*, **23** - 5, (2018), 1094–1112.
- [4] Berényi A, Belluscio M, Mao D, Buzsáki G; Closed-Loop Control of Epilepsy by Transcranial Electrical Stimulation, *Science*, **337** - 6095, (2012), 735–737.
- [5] Takeuchi Y, Harangozó M, Pedraza L, Földi T, Kozák G, Li Q, Berényi A; Closed-loop stimulation of the medial septum terminates epileptic seizures, *Brain*, **144** - 3, (2021), 885–908.
- [6] Takeuchi Y & Berényi A; Oscillotherapeutics – Time-targeted interventions in epilepsy and beyond, *Neurosci Res*, **152**, (2020), 87–107.
- [7] Li Q, Takeuchi Y, Wang J, Gellért L, Barcsai L, Pedraza LK, Nagy AJ, Kozák G, Nakai S, Kato S, Kobayashi K, Ohsawa M, Horváth G, Kékesi G, Lőrincz M, Devinsky O, Buzsáki G,

- Berényi A; Reinstating olfactory bulb-derived limbic gamma oscillations alleviates depression-like behavioral deficits in rodents, *Neuron*, **111**, (2023), 2065–2075.
- [8] 竹内雄一; うつ症状を生じる脳内メカニズムとその制御法, *神経科学ニュース*, **2024** - 5, 32–33. (2024)
- [9] Sierra RO, Pedraza LK, Barcsai L, Peijin A, Li Q, Kozák G, Takeuchi Y, Nagy AJ, Lőrincz ML, Devinsky O, Buzsáki G, Berényi A; Closed-loop brain stimulation augments fear extinction in male rats, *Nat Commun*, **14**, (2023), 3972.
- [10] Liu A, Vöröslakos M, Kronberg G, Henin S, Krause MR, Huang Y, Opitz A, Mehta A, Pack CC, Krekelberg B, Berényi A, Parra LC, Melloni L, Devinsky O, Buzsáki G; Immediate neurophysiological effects of transcranial electrical stimulation, *Nat Commun*, **9** - 1, (2018), 5092.
- [11] Vöröslakos M, Takeuchi Y, Brinyiczki K, Zombori T, Oliva A, Fernández-Ruiz A, Kozák G, Kincses Z T, Iványi B, Buzsáki G, Berényi A; Direct effects of transcranial electric stimulation on brain circuits in rats and humans, *Nat Commun*, **9** - 1, (2018), 483.
- [12] Matsushita Y, Yoshida K, Yoshiya M, Shimizu T, Tsukamoto S, Kudo N, Takeuchi Y, Higuchi M, Shimojo M; TRPC6 is a mechanosensitive channel essential for ultrasound neuromodulation in mammalian brain, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **121**, (2024), e2404877121.
- [13] Chan M, Yoshida K, Yang G, Mimura T, Kudo N, Takeuchi Y; Time-targeted intervention of brain oscillations with transcranial ultrasound irradiation. In: Ohki T (eds), *Neuromethods*, *in press*.
- [14] 工藤信樹; Part 3. Ultrasound measurement methods: Principle and practice, *Jpn J Med Ultrasonics*, **43** - 6, (2016), 719–721.
- [15] Treeby BE and Cox BT; k-Wave: MATLAB toolbox for the simulation and reconstruction of photoacoustic wave fields, *J Biomed Opt*, **15** - 2, (2010), 021314.
- [16] Chandaide Z, Fabó D, Barcsai L, Pejin A, Foldi T, Furuglyas K, Somogyvari Z, Gyurkovics T, Nadasdi M, Rafi P, Kamondi A, Buzsaki G, Devinsky O, Eross LG, Berenyi A; Initial evidence, safety and feasibility of Intersectional Short Pulse stimulation, a novel spatio-temporally focused closed-loop neuromodulation for drug resistant focal epilepsy, 2022 Neuroscience Meeting Planner, Society for Neuroscience, (2022), 697.05.
- [17] 竹内雄一; てんかん発作のオンデマンド介入法と発作感受性定量法の開発, *BIO Clinica*, **35** - 9, (2020), 771–774.
- [18] Ibsen S, Tong A, Schutt C, Esener S, Chalasani SH; Sonogenetics is a non-invasive approach to activating neurons in *Caenorhabditis elegans*, *Nat Commun*, **6** - 1, (2015), 8264.
- [19] Wang S, Meng W, Ren Z, Li B, Zhu T, Chen H, Wang Z, He B, Zhao D, Jiang H; Ultrasonic Neuromodulation and Sonogenetics: A New Era for Neural Modulation, *Front Physiol*, **11**, (2020), 787.

7. 本研究にかかわる成果発表等

- Li Q, Takeuchi Y, Wang J, Gellért L, Barcsai L, Pedraza LK, Nagy AJ, Kozák G, Nakai S, Kato S,

- Kobayashi K, Ohsawa M, Horváth G, Kékesi G, Lőrincz ML, Devinsky O, Buzsáki G, Berényi A; Reinstating olfactory bulb derived limbic gamma oscillations alleviates depression-like behavioral deficits in rodents, *Neuron*, 111 (2023), 2065–2075.
- Sierra RO, Pedraza LK, Barcsai L, Peijin A, Li Q, Kozák G, Takeuchi Y, Nagy AJ, Lőrincz ML, Devinsky O, Buzsáki G, Berényi A; Closed-loop brain stimulation augments fear extinction in male rats, *Nat Commun*, 14 (2023), 3972.
 - Matsushita Y, Yoshida K, Yoshiya M, Shimizu T, Tsukamoto S, Kudo N, Takeuchi Y, Higuchi M, Shimojo M; TRPC6 is a mechanosensitive channel essential for ultrasound neuro-modulation in mammalian brain, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 121 (2024), e2404877121.
 - Takeuchi Y; TRPC6 is a mechanosensitive channel essential for ultrasound neuro-modulation in mammalian brain, Gordon Research Conference: In Vivo Ultrasound Imaging 2024, Waterville valley, U.S.A., Aug 25–30, 2024.
 - Takeuchi Y; Research and development of novel brain stimulation technologies for controlling neurological and psychiatric disorders, 2024 Fall International Convention of The Pharmaceutical Society of Korea, Seoul, Korea, Nov 22, 2024.
 - Takeuchi Y; Research and development of novel brain stimulation technologies for controlling neurological and psychiatric disorders, QP45 & QBIC2025 International Joint Workshop, Chiba, Japan, Mar 7, 2025
 - 竹内雄一, 日本生理学会奨励賞, 神経・精神疾患の制御を目的とした新規脳刺激技術の研究開発、日本生理学会, 2024 年 3 月 29 日.

8. 謝辞

本研究は島津科学技術振興財団の助成金により実施した。