

## 中枢神経系におよぼす連続経頭蓋磁気刺激の影響

—高架式十字迷路を用いた行動ならびに神経化学的検討—

## 学位論文内容の要旨

経頭蓋磁気刺激 (transcranial magnetic stimulation; TMS) は、頭蓋上に置いた伝導コイルに高電圧かつ高電流をパルス状に流すことにより磁束を発生させ、この磁束により生じる渦電流により大脑を刺激するものである。TMS を一定の周波数により連続的に処置 (repetitive TMS; rTMS) すると中枢神経系機能が変化することから、rTMS がうつ病やパーキンソン病などの中枢神経疾患に対し有効性を持つ可能性が示唆されている。これまでに前頭前野 (prefrontal cortex; PFC) への急性 rTMS 処置は、情動の変化を伴うことが示されている。また、PFC への急性 rTMS 処置による刺激と同側の尾状核における内因性 dopamine (DA) の増加が、脳機能画像を用いた解析により示されている。さらに、一次運動野への急性 rTMS 処置がパーキンソン病の運動障害、特に寡動や筋固縮を改善する。これらの rTMS の臨床応用、例えばパーキンソン病に対する臨床治験の全てが有効ではなく、無効むしろ悪化の報告もある。そのため、rTMS の中枢神経系におよぼす影響について、より詳細な検討が求められている。

rTMS の臨床報告はこれまでに数多く成されてきたが、rTMS の作用機序に関する動物実験による報告は比較的少ない。その一因として、rTMS の動物実験に多く用いられる齧歯類の脳と刺激コイルの大きさの問題が挙げられる。すなわち、刺激コイルの小型化の限界から、齧歯類では頭蓋全体が刺激される。これに比べて、ヒトに対する rTMS は部位を特定した局所刺激として行われている。このため齧歯類を用いた実験では磁気刺激の有効性、さらには実験結果の妥当性に疑問が呈されている。また、刺激条件の設定も、臨床での使用条件との対比が成されて来なかった。さらに、rTMS 処置はラットにとって、磁気刺激装置音や処置時のハンドリングなど大きな身体的ストレスを伴う。このため、厳密な sham 処置群との比較が必要である。ところで、8 の字型の刺激コイルを頭蓋に対して接線方向に保持すると、渦電流は 8 の字長軸と直交する方向に比較的局所で急峻なピークを持つように生じることが知られている。

本研究では、刺激コイルとして小型の 8 の字型コイルを用いた。この刺激コイルによる磁気刺激装置の強度は、8 の字交点の直下 2 cm において装置出力 100% により 1.0 Tesla (T) を示した。実験動物は 10 から 13 週齢の Wistar 系雄性ラットを使用した。また、臨床での刺激条件との対比のため、TMS によるラット下肢 (腓腹筋) の運動閾値 (motor threshold; MT) を測定した。rTMS 処置は、ラットを片手に保持して、刺激コイルの 8 の字長軸とラット矢状軸が直交し、8 の字交点がラット前頭部の頭表に対して正接するように刺激コイルを反対手に把持して行った。刺激中のラット頭表と 8 の字交点との距離

は 2 cm に保った。rTMS 処置は各々のラットに対して 25 Hz、1 s の処置を 1 train として行った。刺激強度は、種々の刺激強度を用いることによりラット脳内での rTMS の作用を確認した。すなわち、装置の最大刺激強度の 20%、40%、60% および 80% のいずれかを用いた。Sham 処置は rTMS 同様のハンドリング処置を行い、刺激コイルの 8 の字交点がラット頭表部と直交するよう把持して対応する刺激強度で rTMS の刺激音のみを処置した。

急性 rTMS 処置の神経伝達物質、特にラット PFC ならびに四肢に関する感覚運動野 (sensorimotor cortex) と密接な神経連絡を有する背外側線条体の脳内モノアミン、特に細胞外液中 serotonin (5-HT) ならびに DA 濃度におよぼす影響を脳内微小透析法により検討した。さらに elevated plus-maze (plus-maze) test を用いたラットの不安関連行動に着目し、rTMS 処置による行動学的検討を行った。これまでの不安関連行動と特に PFC における 5-HT ならびに DA に関する知見に基づき、plus-maze への暴露時の細胞外液中 5-HT ならびに DA 濃度の変化を脳内微小透析法により測定した。

Wistar 系雄性ラットにおける MT 値は、装置出力  $54.4 \pm 5.9\%$  であった。装置出力 40% (74% MT 値) ならびに装置出力 60% (110% MT 値) を用いた 3 日間連続 rTMS 処置は、plus-maze test においてオープン・アームの滞在時間ならびにオープン・アームへの進入回数の有意な増加を示した。一方、全体の運動量、すなわち総進入回数は rTMS 処置により変化しなかった。装置出力 20% (37% MT 値) ならびに装置出力 80% (147% MT 値) を用いた 3 日間連続 rTMS 処置では、plus-maze 上の行動に影響をおよぼさなかった。1 日のみの rTMS 処置は、至適刺激強度 (装置出力 40%) を用いても plus-maze 上の行動に変化はなかった。装置出力 60% を用いた急性 rTMS 処置は、sham 処置にみられたラット PFC における細胞外液中 5-HT 濃度の増加を有意に抑制した。さらに、装置出力 60% を用いた 3 日間連続 rTMS 処置は plus-maze への暴露によりみられたラット PFC における細胞外液中 5-HT 濃度の増加を有意に抑制した。しかし、装置出力 60% を用いた 3 日間連続 rTMS 処置は、ともにラット PFC の細胞外液中 DA 濃度に影響をおよぼさなかった。装置出力 60% を用いた急性 rTMS 処置は、ラット背外側線条体における細胞外液中 DA 濃度を持続的に増加させた。装置出力 20% ならびに 80% を用いた急性 rTMS 処置では、ラット背外側線条体の細胞外液中 DA 濃度は持続的な増加を示さなかった。

以上の結果から、3 日間連続 rTMS 処置は至適刺激条件の下で、抗不安作用を発現することが明らかとなった。また、rTMS の抗不安作用の発現には処置期間を必要とすること示された。装置出力 60% を用いた急性 rTMS 処置ならびに 3 日間連続 rTMS 処置は、ラット PFC における 5-HT 神経に対し抑制的に作用することが明らかとなった。それゆえ、rTMS による抗不安作用の発現には、PFC における 5-HT 神経が重要な役割を果たしていると考えられた。さらに、rTMS は至適刺激条件の下で、ラット背外側線条体の細胞外液中 DA 濃度を増加させることが明らかとなった。背外側線条体における DA 遊離調節機構はパーキンソン病の病態生理と密接に関連しており、rTMS のパーキンソン病治療への応用の可能性を示唆すると考えられた。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 吉 岡 充 弘

副 査 教 授 眞 野 行 生

副 査 教 授 佐々木 秀 直

学 位 論 文 題 名

## 中枢神経系におよぼす連続経頭蓋磁気刺激の影響

—高架式十字迷路を用いた行動ならびに神経化学的検討—

本学位論文は、中枢神経系におよぼす連続経頭蓋磁気刺激の影響を、高架式十字迷路法ならびに脳内微小透析法により、行動薬理学的、神経化学的に明らかにしたものである。

運動閾値に対して74%ならびに110%の刺激強度を用いた連続3日間の連続経頭蓋磁気刺激は、高架式十字迷路法においてオープン・アームの進入回数ならびに滞在時間の増加を示した。以上から、連続経頭蓋磁気刺激は抗不安作用を有すると考えられた。一方、運動閾値に対して37%ならびに147%の刺激強度を用いた連続3日間の連続経頭蓋磁気刺激は、高架式十字迷路上の行動に影響をおよぼさなかったことから、連続経頭蓋磁気刺激による抗不安作用の発現には至適刺激強度が存在すると推察された。また、1日のみの連続経頭蓋磁気刺激では運動閾値に対して74%の刺激強度を用いても高架式十字迷路上の行動は変化しなかったことから、連続経頭蓋磁気刺激による抗不安作用の発現には一定の処置期間を必要とすることが推察された。運動閾値に対して110%の刺激強度を用いた急性連続経頭蓋磁気刺激は、sham 処置にみられた前頭前野の細胞外液中セロトニン濃度の増加を有意に抑制した。さらに、運動閾値に対して110%の刺激強度を用いた連続3日間の連続経頭蓋磁気刺激は、高架式十字迷路への暴露によりみられた前頭前野の細胞外液中セロトニン濃度の増加を有意に抑制した。以上から、連続経頭蓋磁気刺激による抗不安作用の発現には、前頭前野のセロトニン神経系が関与していることが推察された。

運動閾値に対して110%の刺激強度を用いた急性連続経頭蓋磁気刺激により、背外側線条体の細胞外液中ドパミン濃度は持続的に増加した。しかし、運動閾値に対して37%ならびに147%の刺激強度を用いた急性連続経頭蓋磁気刺激では、背外側線条体の細胞外液中ドパミン濃度は持続的な増加を示さなかった。すなわち、至適刺激強度を用いた連続経頭蓋磁気刺激により背外側線条体の細胞外液中ドパミン濃度は持続的に増加した。背外側線条体は四肢に関する感覚運動野と神経線維連絡を有することから、以上の結果は連続経頭蓋磁気刺激によるパーキンソン病治療への応用の可能性を示すと考えられた。

公开发表に際し、副査の佐々木秀直教授から、高架式十字迷路法を用いて解析された連続経頭蓋磁気刺激による行動変化を抗不安作用と判断した根拠についての質問があった。次いで、連続経頭蓋磁気刺激に対する前頭前野のセロトニンとドパミンの反応に違いがみ

られた原因についての質問があった。また、副査の眞野行生教授から、連続経頭蓋磁気刺激による背外側線条体のドパミン遊離量の増加の程度は調節可能であるかについての質問があった。次いで、連続経頭蓋磁気刺激の中樞神経系におよぼす影響の左右差についての質問があった。最後に、主査の吉岡充弘教授から、連続経頭蓋磁気刺激による行動変化の発現に一定の処置期間を要した原因についての質問があった。次いで、連続経頭蓋磁気刺激による行動変化が、刺激強度に関して Bell shaped pattern を示す原因についての質問があった。いずれの質問に対しても、申請者は自己のデータや文献等の報告を引用し、概ね妥当な回答をなし得た。

この論文は、簡便かつ非侵襲的である磁気刺激が脳内の神経伝達物質の遊離を調節可能であることを明らかにしたことから、リハビリテーション医学の分野で高く評価され、今後は磁気刺激を用いた神経疾患治療の基礎的データとして活用されることが期待された。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。