

—— 研究助成報告 ——

皮質脳波法による迷走神経刺激療法の効果発現メカニズムの解明

松 尾 健

要旨：迷走神経刺激療法（VNS）は難治性てんかんに対する緩和的外科治療であり、約60%の患者で発作が半減する。VNSの発作抑制機序に関しては、孤束核から視床を介した神経伝達物質、脳血流、脳波の変化など複数の系の関与が示唆されているが未解明な点も多い。本研究では高感度の皮質脳波を用い、VNSがもたらす脳活動への影響を検討した。

VNS開始後に、追加の開頭手術を行った難治性てんかん患者4名において、VNS on/off期の皮質脳波を開頭手術中に計測した。皮質活動の定量化には、ガンマコヒーレンス（GC）を用い、VNS on/off期のGCを比較した。

VNS-on期のGCは、off期に比べ有意に高値であることがわかった。GCは抑制性神経活動を反映するとされており、VNSによる発作抑制機序の一つとして、視床を介した抑制性の神経活動が惹起されている可能性が示唆された。今後、より多くの症例でGCの変化と治療効果の関係につき検討する必要がある。

てんかん治療研究振興財団 研究年報 2018；29：75-80

【序論】

迷走神経刺激療法（VNS）は難治性てんかんに対する緩和的外科治療として1988年に初めて人に適用された神経刺激療法である¹⁾。VNSの発作抑制機序に関してはヒトをはじめ、多くの動物モデルで研究がなされてきたが未解明な部分が多い。迷走神経を上行したインパルスは孤束核を經由して視床、視床下部、脳幹、大脳辺縁系など広い範囲に投射されることがわかってきており、神経伝達物質の増減²⁻⁸⁾、脳血流変化^{9, 10)}、脳波変化¹¹⁾などが観察されている。そのなかでも、てんかん発作は大脳皮質の異常活動に起因するものであり、VNSも皮質活動に、直接的もしくは間接的に影響を与えていると考えられ、それは皮質の電気活動に何らかの形で表現されていると推察される。本研究では脳波変化に焦点をあて、さらに高感度、高解像度の皮質脳波を用いることで迷走神経刺激が脳の皮質活動にもたらす変化を観察し、VNSの効果予測への応用可能性につき検討した。

【方法】

対象

すでにVNSを開始している難治性てんかん患者のなかで発作抑制効果が不十分もしくは患者の満足が得られず、追加の開頭手術（焦点切除術、前頭葉離断術、脳梁離断術）を行った患者4名（13-30歳、男3・女1）を研究対象とした（Tab. 1）。計測時のVNSの刺激条件は、それまでの治療で用いていた設定をそのまま使用し、強度1.0mA-2.0mA（平均1.5mA）、刺激周波数30Hz、刺激幅500 μ secであった。NTT東日本関東病院、東京大学医学部附属病院の各施設において、倫理委員会の承認を得た。

皮質脳波計測

対象患者のうち、VNS on/off期の皮質脳波は開頭手術中に計測した。皮質脳波の計測には極間3-10mm、1シートにつき20-60極の電極がグリッド状に配列されたものを使用し、高周波数まで解析できるようサンプリング周波

Tab. 1 患者背景と計測時のVNS設定

Subject	年齢	性別	VNS開始からの期間	発作型	追加手術	Current (mA)	Frequency (Hz)	Pulse width (μ sec)	On time (min)	Off time (min)
1	13	M	16m	GTC	脳梁離断術	1.25	30	500	1	1
2	16	M	21m	GTC	脳梁離断術	1.75	30	500	1	3
3	30	M	0m *	CPS	なし	1	30	500	1	5
4	19	F	48m	GTC	前頭葉離断術	2	30	500	0.5	3

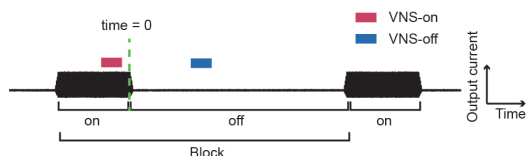


Fig. 1 VNS on/off期の判別

VNSのon/offを判別するために、頸部に植込んだ迷走神経刺激用電極の直上に刺激検出用電極（ビトロード；日本光電）を貼付して、脳波計の1つのチャンネルで記録した。VNSのon期終了の時点をもtime=0（緑破線）とし、on期（赤線）を-35から-5秒の30秒間、off期（青線）を25から55秒の30秒間とし、on/off期を合わせて1ブロックとした。

数は2kHzとした（ユニークメディカル）。計測機器は、臨床使用している脳波計を使用した（EEG-1200；日本光電）。

コヒーレンスの算出

VNSが脳皮質に与える影響の定量化には、コヒーレンスを採用した。本研究ではウェルチの振幅二乗コヒーレンス推定を使用し、主に60-120Hzの高ガンマ帯域を用いたが、他の周波数帯域についても同様の計算を行った。解析はオフラインで行った。コヒーレンスは各電極シートにおいて全ての電極の組み合わせで算出した。VNSのon期終了の時点をもtime=0とし、on期を-35から-5秒の30秒間、off期を25から55秒の30秒間とし、on/off期を合わせて1ブロックとした（Fig. 1）。各30秒間の電極間コヒーレンスから電極シート毎に平均値を算出し、paired t-testを用いてon期/off期のコヒーレン

Tab. 2 各患者における計部位の分布

Subject	右半球	左半球	計測block数
1	前頭葉 (20)	前頭葉 (20)	9
2	前頭葉 (20)	前頭葉 (20)	6
3	前頭葉 (20) 側頭葉 (40)	前頭葉 (60) 側頭葉 (60)	5
4	前頭葉 (60 / 40) 側頭葉 (60)	-	6

スを比較した。

【結果】

両側3名、片側1名の計7半球に合計11枚のグリッド電極を留置し、4患者からそれぞれ9, 6, 5, 6ブロックの皮質脳波を計測した（Tab. 2）。電極シート数×ブロック数で延べ68試行分のデータを得た。

経時的にみても、VNSのon/off期に応じてGCが変動することが確認された（Fig. 2）。2つの電極間コヒーレンスをon/off期で比較すると、全体のプロファイルに大きな変化は認められなかったが、個々のコヒーレンスに着目するとon期で上昇する傾向がみられた（Fig. 3）。

VNS-on期のGCの値（ 0.22 ± 0.21 ；mean $\pm$ SD）は、VNS-off期の値（ 0.20 ± 0.19 ）に比べ有意に高値を示した（paired t-test, $p < 0.05$ ）（Fig. 4A）。半球別に解析すると、右半球で

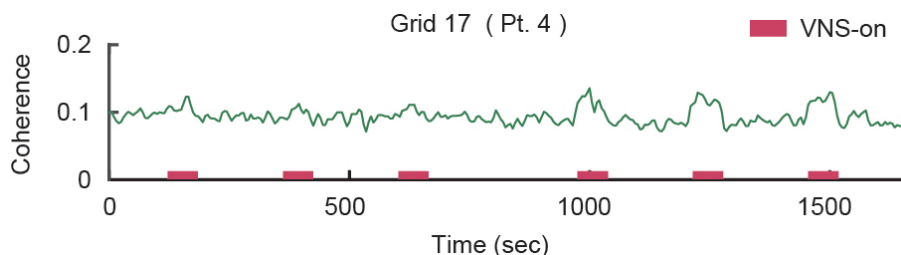


Fig. 2 ガンマコヒーレンスの経時的变化

GCの変化を経時的にみてみると、VNS-on期（赤線）に一致してGCが上昇していることが確認できる。

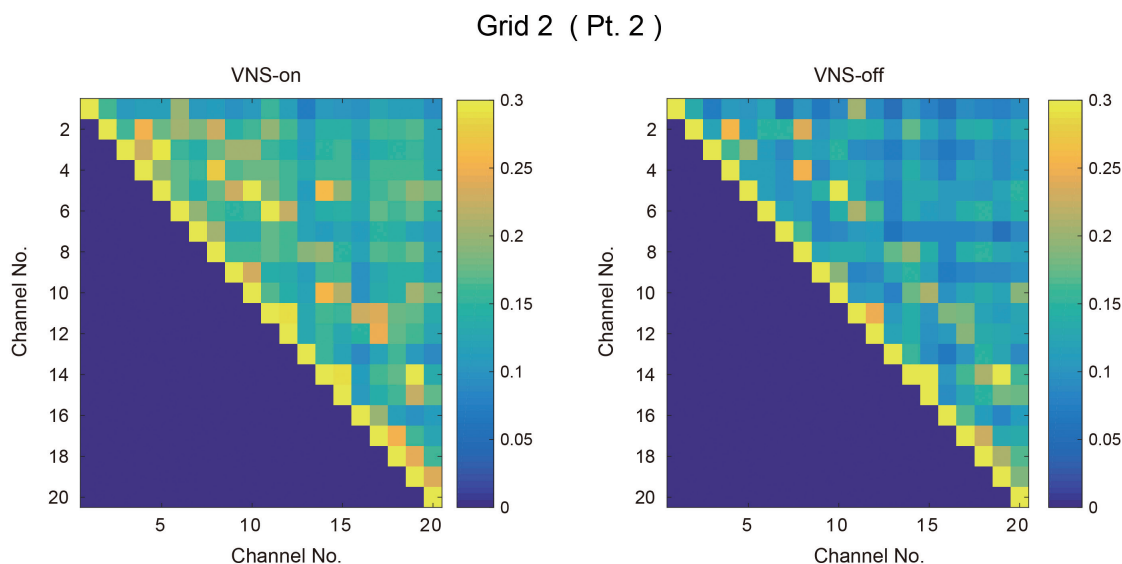


Fig. 3 VNS on/off期におけるGCの混同行列

4x5=20極の電極シートから算出した、すべての組み合わせにおけるGCを示す。On/off期で全体のプロファイルは類似しているが、個々のコヒーレンスは多くの組み合わせでon期に上昇する傾向がみられる。

は有意差が見られたが (on期/off期 = $0.16 \pm 0.10 / 0.15 \pm 0.09$; $p < 10^{-4}$)、左半球では同様の傾向が見られたが有意水準には届かなかった ($0.26 \pm 0.25 / 0.23 \pm 0.23$; $p = 0.13$) (Fig. 4B)。また、前頭葉、側頭葉を区別した解析でも同様にon期によりGCが高い傾向が認められたが、有意差は認められなかった ($0.19 \pm 0.18 / 0.16 \pm 0.15$; $p = 0.21$, $0.25 \pm 0.23 / 0.23 \pm 0.22$; $p = 0.07$) (Fig. 4C)。

次に高ガンマ帯以外の周波数帯域のコヒーレンスの解析を行った。コヒーレンスの絶対値は周波数帯が高くなるほど低下する傾向がみられたが、高ガンマ帯域に関してだけは、より低い周波数の低ガンマ帯域よりも高いコヒーレン

スが観察された ($0.35 \pm 0.25 / 0.33 \pm 0.23$ (デルタ; 2-4Hz), $0.33 \pm 0.25 / 0.32 \pm 0.23$ (シータ; 4-8Hz), $0.31 \pm 0.25 / 0.29 \pm 0.24$ (アルファ; 8-14Hz), $0.24 \pm 0.23 / 0.23 \pm 0.22$ (ベータ; 14-38Hz), $0.17 \pm 0.21 / 0.16 \pm 0.21$ (低ガンマ; 38-60Hz), $0.22 \pm 0.21 / 0.20 \pm 0.19$ (高ガンマ; 60-120Hz)) (Fig. 5)。全周波数帯においてVNS-on/off期の比較で、off期に比較してon期が高い傾向がみられたが、有意差がみられたのは高ガンマ帯域だけであった ($p < 0.05$)。

【考察】

本研究では皮質脳波を用いることで、頭皮脳波では観察しにくい高ガンマ帯域の脳活動を利

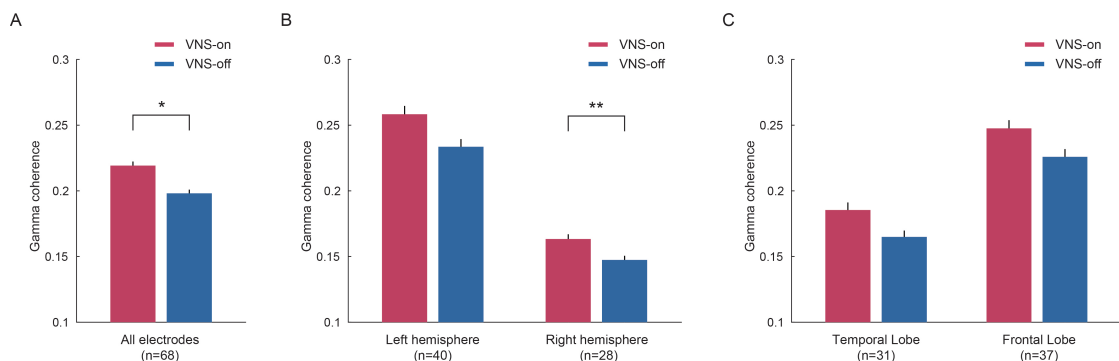


Fig. 4 VNS on/off期におけるGC

- A 全電極を用いたon/off期のGCの比較では、On期に有意に高いGCが確認された。(* $p < 0.05$; paired t -test)
- B 電極を左右半球毎に分けて同様の比較を行ったところ、右半球でのみon期に有意に高いGCが確認されたが、左半球においては同様の傾向がみられたが有意差はなかった。(** $p < 10^{-4}$)
- C 測定部位から前頭葉、側頭葉に分類した解析では、いずれにおいてもon期にGCが高い傾向がみられたが有意差はなかった。

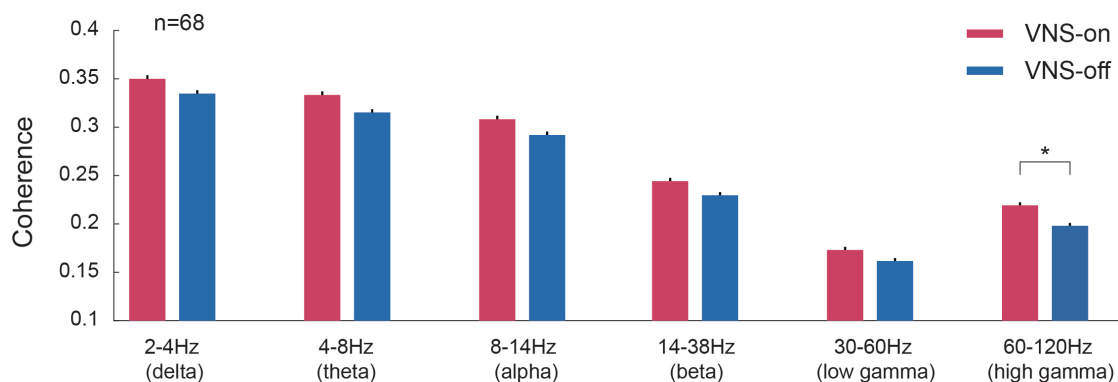


Fig. 5 VNS on/off期における各周波数帯域のコヒーレンスの比較

すべての周波数帯域においてVNS-on期のほうがoff期よりも高いコヒーレンスを示した。高ガンマ帯域においてのみ有意差が認められた。コヒーレンスの絶対値は、周波数帯が上がるにつれ低値を示す傾向がみられた。(* $p < 0.05$; paired t -test)

用することができた。ガンマ帯域のコヒーレンスは抑制性の神経ネットワークを反映すると考えられている¹²⁻¹⁴⁾。一方、てんかん発作抑制には視床から起こる抑制性の神経活動が寄与しているとの報告もある¹⁵⁾。仮にVNSの効果が抑制性神経活動の賦活化によってもたらされるとすれば、今回観察されたGCの変化が抑制性神経活動を反映しており、GCを計測することでVNSが脳に与えている影響を定量化できる可能性が示唆される。

部位別に解析した結果を見ると、有意なGCの上昇がみられたのは左右半球別でみた右

半球のみであり、左半球、前頭葉、側頭葉を各々でみてみると有意差は認められなかった。しかし、それらの部位でもVNS-ON期にGCがより高値を示す傾向であり、左迷走神経への刺激がなんらかの経路で広範囲の皮質活動に影響をもたらしていることが推察される。このことは、焦点性てんかんであっても、全般てんかんであってもVNSによる発作抑制効果が認められることを考えると、VNSは脳の特定部位ではなく、脳全体に影響を与えていることを後押しする結果と考えられる。

周波数帯別のコヒーレンス解析では、全体と

しては周波数帯の上昇にともなってコヒーレンス絶対値が低下する傾向であったが、高ガンマ帯域でのみ、より低い周波数帯のコヒーレンスの絶対値を上回った。VNSの発作抑制効果が経時的に上昇することを考えると、慢性的な迷走神経刺激が高ガンマ帯域、つまり抑制性の神経活動を底上げしている可能性を示唆していると考えた。

VNSによる発作抑制効果が複数の系によるものとしても、脳の電氣的活動に限定すれば、VNSにより抑制性の神経活動が惹起されており、その活動は大脳皮質のGCから推定できる可能性があると考えた。今回の結果は、脳表におけるGCの変動がVNSの効果予測につながる可能性を示唆すると考える。

【本研究の限界と今後の展望】

VNSで発作が50%以上現象する患者(Responder)の割合は約60%であり、残りの患者はNon-Responderに分類される¹⁶⁾。Non-Responderでは機能結合が上昇するが、Responderでは逆に低下するとの報告もあり、見解は統一されていない^{17, 18)}。研究デザインの制約から、本研究の対象患者はVNSの効果不十分例もしくは無効例のNon-responderであり、Responderで同様の評価ができる状況は現時点では考えにくい。仮にResponder, Non-responder間での直接的な比較ができるならば新たな知見が得られると考えられる。また、本研究ではコヒーレンスの変化に着目したが、VNSの効果予測指標を確立するためには、VNSのon/offに伴って変動する指標を網羅的に検索する必要があると考える。

参考文献

- 1) Fisher RS, Handforth A. Reassessment: vagus nerve stimulation for epilepsy: a report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 1999 ; **53** (4) : 666-669.
- 2) Ben-Menachem E, Hamberger A, Hedner T, Hammond EJ, Uthman BM, Slater J, et al. Effects of vagus nerve stimulation on amino acids and other metabolites in the CSF of patients with partial seizures. *Epilepsy research* 1995 ; **20** (3) : 221-227.
- 3) Hammond EJ, Uthman BM, Wilder BJ, Ben-Menachem E, Hamberger A, Hedner T, et al. Neurochemical effects of vagus nerve stimulation in humans. *Brain research* 1992 ; **583** (1-2) : 300-303.
- 4) Hassert DL, Miyashita T, Williams CL. The effects of peripheral vagal nerve stimulation at a memory-modulating intensity on norepinephrine output in the basolateral amygdala. *Behavioral neuroscience* 2004 ; **118** (1) : 79-88.
- 5) Krah SE, Clark KB, Smith DC, Browning RA. Locus coeruleus lesions suppress the seizure-attenuating effects of vagus nerve stimulation. *Epilepsia* 1998 ; **39** (7) : 709-714.
- 6) Marrosu F, Serra A, Maleci A, Puligheddu M, Biggio G, Piga M. Correlation between GABA (A) receptor density and vagus nerve stimulation in individuals with drug-resistant partial epilepsy. *Epilepsy research* 2003 ; **55** (1-2) : 59-70.
- 7) Roosevelt RW, Smith DC, Clough RW, Jensen RA, Browning RA. Increased extracellular concentrations of norepinephrine in cortex and hippocampus following vagus nerve stimulation in the rat. *Brain research* 2006 ; **1119** (1) : 124-132.
- 8) Woodbury DM, Woodbury JW. Effects of vagal stimulation on experimentally induced seizures in rats. *Epilepsia* 1990 ; **31** Suppl 2 : S7-19.
- 9) Henry TR, Bakay RA, Pennell PB, Epstein CM, Votaw JR. Brain blood-flow alterations induced by therapeutic vagus nerve stimulation in partial epilepsy: II. prolonged effects at high and low levels of stimulation. *Epilepsia* 2004 ; **45** (9) : 1064-1070.
- 10) Vonck K, De Herdt V, Bosman T, Dedeurwaerdere S, Van Laere K, Boon P. Thalamic and limbic involvement in the mechanism of action of vagus nerve stimulation, a SPECT study. *Seizure* 2008 ; **17** (8) : 699-706.
- 11) Koo B. EEG changes with vagus nerve stimulation.

- Journal of clinical neurophysiology : official publication of the American Electroencephalographic Society 2001 ; **18** (5) : 434-441.
- 12) Wang XJ, Buzsaki G. Gamma oscillation by synaptic inhibition in a hippocampal interneuronal network model. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience 1996 ; **16** (20) : 6402-6413.
 - 13) Buzsaki G, Wang XJ. Mechanisms of gamma oscillations. Annu Rev Neurosci 2012 ; **35** : 203-225.
 - 14) Bartos M, Vida I, Jonas P. Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks. Nature reviews. Neuroscience 2007 ; **8** (1) : 45-56.
 - 15) Fanselow EE. Central mechanisms of cranial nerve stimulation for epilepsy. Surgical neurology international 2012 ; **3** (Suppl 4) : S247-254.
 - 16) Kawai K, Tanaka T, Baba H, Bunker M, Ikeda A, Inoue Y, et al. Outcome of vagus nerve stimulation for drug-resistant epilepsy: the first three years of a prospective Japanese registry. Epileptic disorders : international epilepsy journal with videotape 2017 ; **19** (3) : 327-338.
 - 17) Bodin C, Aubert S, Daquin G, Carron R, Scavarda D, McGonigal A, et al. Responders to vagus nerve stimulation (VNS) in refractory epilepsy have reduced interictal cortical synchronicity on scalp EEG. Epilepsy research 2015 ; **113** : 98-103.
 - 18) Bartolomei F, Bonini F, Vidal E, Trebuchon A, Lagarde S, Lambert I, et al. How does vagal nerve stimulation (VNS) change EEG brain functional connectivity? Epilepsy research 2016 ; **126** : 141-146.

Summary

Takeshi Matsuo

Vagus nerve stimulation (VNS) is a palliative therapy for intractable epilepsy. Though several systems such as neurotransmitter, cerebral blood flow and cortical synchronization are suggested, the mechanism of seizure reduction with VNS is not fully understood. In this study, we employed electrocorticography and investigated the influence on cerebral cortex by VNS. Four subjects who had already started VNS therapy before open craniotomy surgery participated in this study. Gamma coherence (GC) was used to quantify cortical activity, and was compared between periods of VNS-on and -off. The result indicated significantly higher GC during VNS-on period than that of VNS-off period. Since GC is supposed to reflect the activity of inhibitory neural network, our result suggests that seizure reduction with VNS is partially derived from activation of inhibitory neural network via thalamus. To use the GC as an indicator to predict the effect of VNS, more data is needed.

Ann.Rep.Jpn.Epi.Res.Found. 2018 ; 29 : 75-80