

—— 研究助成報告 ——

睡眠によるてんかん原性の変容メカニズムの解明： 広域周波数帯脳活動解析による検討

小林 勝哉^{1,2)}，十川 純平^{1,3)}，稲田 拓^{4,5)}，松橋 眞生⁶⁾，
井内 盛遠^{7,8)}，菊池 隆幸⁴⁾，吉田 和道⁴⁾，國枝 武治⁹⁾，
松本 理器^{1,10)}，池田 昭夫⁶⁾

Modulation mechanisms of epileptogenicity by sleep: analyses by means of wide-band electrocorticogram

要旨：てんかんと睡眠とは密接な関連性が知られているが、広域周波数帯脳活動と睡眠との関連性は不明な部分が多い。我々は睡眠段階ごとの皮質脳波を用いて、自発性脳活動の異周波数間結合（CFC）による正常脳活動変容およびてんかん性高周波律動（HFO）の挙動の解明を試みた。慢性硬膜下電極を留置した難治部分てんかん患者を対象とした。CFCとして phase-amplitude coupling（PAC）を計算した。てんかん性HFOは自動検出アルゴリズムを用いて同定した。正常脳活動に関して、レム睡眠時および覚醒時には、前方皮質領域と比較して後方皮質領域でPACが有意に高かった。この結果は、意識の生成や保持に後方皮質領域が密に関与するという知見を支持するものであった。病的脳活動（HFO）は深睡眠時・プロポフォール麻酔下・覚醒時の順で多く、また非発作起始部より発作起始部で多かった。覚醒時より麻酔下でのHFOの頻度が高いことから、てんかん外科術中のHFO解析によるてんかん原性評価の有用性が示唆された。

てんかん治療研究振興財団研究年報 2019；30：73-78

Key Words : wide-band electrocorticogram, high frequency oscillation, cross-frequency coupling, phase-amplitude coupling, sleep

（広域周波数帯皮質脳波、高周波律動、異周波数間結合、瞬時位相・瞬時振幅相関、睡眠）

【はじめに】

てんかんと睡眠とは密接な関連性が知られている。例えば、前頭葉てんかんでは睡眠中の発作が多いことや、てんかん性放電・てんかん原

性バイオマーカー候補の高周波律動（high frequency oscillation: HFO）はノンレム睡眠時に頻度が高くなることが報告されている。近年デジタル脳波計の進歩などにより、主にてんかん病態脳での広域周波数帯脳活動の解析が広く

¹⁾ 京都大学大学院医学研究科臨床神経学

〔〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町54〕

²⁾ クリーブランドクリニックてんかんセンター

³⁾ 京都医療センター脳神経内科

⁴⁾ 京都大学大学院医学研究科脳神経外科学

⁵⁾ 康生会武田病院脳神経外科

⁶⁾ 京都大学大学院医学研究科てんかん・運動異常生理学

⁷⁾ 京都大学大学院医学研究科呼吸管理・睡眠制御学

⁸⁾ 京都市立病院脳神経内科

⁹⁾ 愛媛大学大学院医学系研究科脳神経外科学

¹⁰⁾ 神戸大学大学院医学研究科神経内科学分野

行われるようになった。各周波数脳活動は独立しておらず、異なる周波数の活動間に機能的連関があるとされ、異周波数間結合 (cross-frequency coupling: CFC) として注目されている。てんかん病態脳での広域周波数帯脳活動と睡眠との関連性は依然不明な部分が多く、その評価はてんかん原性と睡眠との密接な関連性の解明、さらには夜間てんかんの病態と治療の解明へとつながると考えた。本研究課題では、自発性脳活動の異周波数間結合 (CFC) として phase-amplitude coupling (PAC) を睡眠段階ごとに計測・解析し、脳葉間の挙動の相違の検討から、てんかん病態の背景となる正常脳活動変容の解明を試みた (研究1)。また、覚醒時・深睡眠時・術中プロポフォール麻酔下の3状態でてんかん性HFOを解析し、状態によるHFO出現頻度挙動の解明を試みた (研究2)。

研究1：皮質脳波での異周波数間結合解析による意識関連皮質領域の解明

【背景】

動物や人において、phase-amplitude coupling (PAC) などの異なる周波数間の結合性が、認知・記憶などの様々な脳内の情報処理に関わることが、脳波などの研究で示されている^{1,2)}。また、睡眠中には、人の頭蓋内脳波で、深 (徐波) 睡眠時 (slow wave sleep: SWS) にデルタ波とガンマ波のPACが高まることが知られている^{3,4)}。Tononiらは、人の頭皮上脳波の研究で、睡眠中に夢体験において、大脳皮質の後方領域が重要な役割を果たしていることを明らかにし、「Posterior Hot Zone」と呼んでいる⁵⁾。しかし、これまでヒト睡眠中の頭蓋内脳波のPACの観点から、Posterior Hot Zoneの役割について考察した研究はない。そこで、我々はヒト皮質脳波 (electrocorticogram: ECoG) において、覚醒時 (wakefulness) およびレム睡眠時においては、Posterior Hot ZoneでPACが高まっている仮説を立て、その検証を試みた。

【方法】

対象：外科治療術前精査のため慢性硬膜下電

極を留置した難治部分てんかん患者11名を対象とした (IRB #R0603)。

ECoG記録：ECoGはsampling rate 1000ないし2000 Hzで記録した。一晚、頭皮上電極、眼電図、下顎部筋電図を装着し、Rechtschaffen & Kales (R&K) methodに基づき睡眠段階を分類した。発作時脳波・発作間欠期てんかん性放電により、全ての電極をてんかん性領域・非てんかん性領域に分類し、非てんかん性領域のみを解析対象とした (計535電極)。

PAC計算：徐波帯域 (0.02-2 Hz) を15のbin、ガンマ帯域 (40-190 Hz) を4つのbinにそれぞれ分け、Hilbert変換を用いて即時振幅と即時位相を計算した。各電極、各睡眠段階で15x4 binの全ての組み合わせについて、以下の計算式を用いてPACを計算した。

$$CC = AF(t) * e^{i\phi S(t)} / (\sqrt{\sum |AF(t)|^2} * \sqrt{\sum |e^{i\phi S(t)}|^2})$$

tは時間、AF(t) はガンマ帯域成分の即時振幅、 $\phi S(t)$ は徐波成分の即時位相とする。CCの絶対値をとったものをPACの指標とした。

統計解析：各ECoGの時間ずらしを行った疑似データを10000個生成し、各々の疑似データでPACを算出し、その分布から実データによるPACのZ値を算出した。

ROI解析：Posterior Hot Zoneは厳密に定義された概念ではなく、解剖学的定義も存在しない。我々は後方皮質領域の中でも特にtemporo-parietal junction (TPJ) が重要と考え、ShurzらによるOxford-Harvard atlasを用いてROIを作成した (Posterior ROI)。対照として、中心前回を除く前頭葉をFrontal ROIとした。半径15 mm以内に3患者以上の硬膜下電極が含まれる領域のみを選び、各ROIに含まれる電極で、各睡眠段階のZ値を使用してRepeated measures ANOVAを行った。Z値は徐波帯域は中心周波数0.44および0.59のbinの平均、ガンマ帯域は4つのbinの平均とした。さらに、Posterior ROIの中でも、特にレム睡眠時でPACのZ値の高い領域が覚醒時にも高いPACを示すのではないかと考えた。Frontal ROIおよびPosterior ROIについて、各ROIの電極のそれぞれ深睡眠時およびレム睡眠時のZ値の上位30%の値を算出し、その値以上の領域のみに

ROIを限定して、覚醒時のZ値をt検定を用いて比較した。

【結果】

レム睡眠時では後方皮質領域 (TPJ) で、前方皮質領域と比較して、PACが有意に高かった。

深睡眠時およびレム睡眠時のZ値を使用して作成した、より限局したROIでは、覚醒時に後方領域で前方領域と比較してPACが有意に高かった。

【考察】

ヒト睡眠リズムの中でレム睡眠時は覚醒時に最も近いとされるが⁶⁾、本研究においてレム睡眠時および覚醒時に後方皮質領域でPACが高いことは、意識の生成や保持に後方皮質領域 (Posterior Hot Zone) が密に関与するという知見を支持する結果と考えられた。

研究2：覚醒時・深睡眠時・プロポフォール麻酔下の皮質脳波てんかん性高周波律動の変容

【背景】

てんかん治療の基本は抗てんかん薬であるが、一部のてんかん患者では薬剤抵抗性で難治に経過する。難治部分てんかんでは外科的治療の適応となることがあるが、そのためにはてんかん発作焦点 (てんかん原性領域) の同定が重要である。発作焦点同定のための術前非侵襲的検査として、病歴聴取 (発作症候)、頭皮上脳波 (発作時・発作間欠期)、脳MRI、脳磁図、FDG-PET、発作時脳血流シンチ、が主に行われるが、これらで診断が困難あるいは発作焦点が重要な機能に近く脳機能マッピングが必要な場合には侵襲的ではあるが頭蓋内電極 (硬膜下電極あるいは深部電極) による皮質脳波記録が行われる。皮質脳波記録によるてんかん焦点同定法のgold standardは発作時脳波記録であるが、発作誘発による患者の身体的・精神的苦痛を伴う。昨今、新たなてんかん焦点のbiomarker候補の一つとして、発作間欠期高周波律動 (HFO) が注目されている^{7, 8, 9, 10)}。睡眠

とてんかん性HFOの関連性として、覚醒時・レム睡眠時よりノンレム睡眠時に多いことが示されている。しかし覚醒時・睡眠時以外にてんかん外科手術を行う患者が経る術中麻酔下でのHFOの挙動については不明な部分が多い。そこで我々は慢性留置中のみならず、術中麻酔下でのHFOがてんかん焦点同定に有用であると仮説を立て、覚醒時・睡眠時・麻酔下でのHFOの出現頻度を比較検討した。

【方法】

対象：外科治療術前精査のため慢性硬膜下電極を留置し、その後プロポフォール麻酔下の外科手術を行った難治部分てんかん患者9名を対象とした (IRB #C725)。

ECoG記録：ECoGはsampling rate 1000ないし2000 Hzで記録した。5名では研究1と同様にR&K methodに基づいて、4名ではデルタ帯域 (<4 Hz) のパワー解析により、それぞれ覚醒時と深睡眠時を同定した。術中プロポフォール麻酔下皮質脳波は硬膜下電極慢性留置中と同一部位から記録した。発作時脳波により同定されたてんかん焦点 (seizure onset zone: SOZ) ・非焦点 (non-SOZ) の電極のうち、各患者1-3電極ペア (双極誘導) を解析対象とした。

HFO自動検出アルゴリズム：覚醒時・深睡眠時・術中プロポフォール麻酔下の3状態各5分 (アーチファクトを除いて) のECoGを用いた。自動検出アルゴリズムはvon Ellenviederらの方法を一部パラメータの変更を行い採用した¹¹⁾。具体的には、HFO (Ripple (R) : 80-250 Hz, Fast ripple (FR) : >250 Hz) を、それぞれ5つ (80-100 Hz, 100-125 Hz, 125-160 Hz, 160-200 Hz, 200-250 Hz) と3つ (250-315 Hz, 315-400 Hz, 400-500 Hz) に細分類し、ベースラインの $\pm 2.5S.D.$ を超える4周期以上の律動性活動が2つ以上の異なる細分類された周波数帯域でみられるものを有意なHFO (RないしFR) とした。

統計解析：3状態 (覚醒時・深睡眠時・術中プロポフォール麻酔下) と2領域 (SOZ・non-SOZ) に関して、2-way ANOVAでHFO出現頻度を比較検討した。また各状態でSOZ・non-SOZでのHFO出現頻度を比較した。

【結果】

SOZ22電極ペア, non-SOZ17電極ペアをそれぞれ解析した。R・FRの出現頻度は状態・領域ともに独立して影響していた。R・FRの頻度は深睡眠時・プロポフォール麻酔下・覚醒時の順で多かった。Rは3状態とも, FRは深睡眠時に, non-SOZよりSOZで頻度が高かった。

【考察】

プロポフォール麻酔下（非生理的睡眠）では深睡眠時（生理的睡眠）よりHFOの出現頻度は低かった。プロポフォールの薬理学的特性として抗てんかん作用を有する一方けいれん発作誘発作用もあるが, 今回の結果は抗てんかん作用を反映した可能性がある。またプロポフォール麻酔下では覚醒時よりHFOの出現頻度は高く, てんかん外科術中プロポフォール麻酔下のHFO解析が一定にてんかん原性評価に有用であることが示唆された。

【おわりに】

自発性の広域周波数帯脳活動を睡眠段階ごとに評価することで, てんかん病態の背景となる正常脳機能変容（研究1）, およびてんかん原性変容（研究2）を明らかにした。てんかん病態脳と睡眠との関連性の解明のため, 今後さらなる広域周波数帯脳活動と臨床情報との相関の検討が望まれる。

【COI】

京都大学大学院医学研究科てんかん・運動異常生理学はエーザイ株式会社, 大塚製薬株式会社, 日本光電工業株式会社, ユーシービージャパン株式会社との産学共同講座である。

【参考文献】

- 1) Canolty RT, Edwards E, Dalal SS, Soltani M, Nagarajan SS, Kirsch HE, et al. High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. *Science* 2006 ; **313** : 1626-8.
- 2) Canolty RT, Knight RT. The functional role of cross-frequency coupling. *Trends Cogn Sci* 2010 ; **14** : 506-15.
- 3) Amiri M, Frauscher B, Gotman J. Phase-Amplitude Coupling Is Elevated in Deep Sleep and in the Onset Zone of Focal Epileptic Seizures. *Front Hum Neurosci* 2016 ; **10** : 387.
- 4) Takeuchi S, Mima T, Murai R, Shimazu H, Isomura Y, Tsujimoto T. Gamma Oscillations and Their Cross-frequency Coupling in the Primate Hippocampus during Sleep. *Sleep* 2015 ; **38** : 1085-91.
- 5) Siclari F, Baird B, Perogamvros L, Bernardi G, LaRocque JJ, Riedner B, et al. The neural correlates of dreaming. *Nat Neurosci* 2017 ; **20** : 872-878.
- 6) Aserinsky E, Kleitman N. Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. *Science* 1953 ; **118** : 273-4.
- 7) Jacobs J, Zijlmans M, Zelmann R, Chatillon CE, Hall J, Olivier A, et al. High-frequency electroencephalographic oscillations correlate with outcome of epilepsy surgery. *Ann Neurol* 2010 ; **67** : 209-20.
- 8) Zijlmans M, Jacobs J, Zelmann R, Dubeau F, Gotman J. High-frequency oscillations mirror disease activity in patients with epilepsy. *Neurology* 2009 ; **72** : 979-86.
- 9) Jacobs J, Staba R, Asano E, Otsubo H, Wu JY, Zijlmans M, et al. High-frequency oscillations (HFOs) in clinical epilepsy. *Prog Neurobiol* 2012 ; **98** : 302-15.
- 10) Akiyama T, Chan DW, Go CY, Ochi A, Elliott IM, Donner EJ, et al. Topographic movie of intracranial ictal high-frequency oscillations with seizure semiology : epileptic network in Jacksonian seizures. *Epilepsia* 2011 ; **52** : 75-83.
- 11) von Ellenrieder N, Andrade-Valença LP, Dubeau F, Gotman J. Automatic detection of fast oscillations (40-200 Hz) in scalp EEG recordings. *Clin Neurophysiol* 2012 ; **123** : 670-80.

Summary

Modulation mechanisms of epileptogenicity by sleep: analyses by means of wide-band electrocorticogram

Katsuya Kobayashi, Jumpei Togawa, Taku Inada, Masao Matsuhashi, Morito Inouchi, Takayuki Kikuchi, Kazumichi Yoshida, Takeharu Kunieda, Riki Matsumoto, Akio Ikeda

A close relationship between epilepsy and sleep is well known, however, the correlation between wide-band EEG and sleep has not been elucidated. Herein, by means of electrocorticograms (ECoGs), we aimed to clarify the modulation mechanisms by sleep of normal and epileptic brain activities. We recruited the medically intractable epilepsy patients who underwent chronic subdural electrode implantation for presurgical evaluations. We adopted the phase-amplitude coupling which is one of the methods to express the cross-frequency coupling as an index of normal brain activity and epileptic high frequency oscillations (HFOs) as that of epileptogenicity. To evaluate the occurrence of HFOs, we used the automatic detector. PAC was higher in the posterior head region (temporo-parietal junction) than in the anterior head region during awake and rapid-eye movement (REM) sleep, consistent with the previous reports presenting that the posterior head region has a close relationship with the construction and preservation of consciousness. Epileptic HFOs were more frequent during slow-wave sleep and under propofol anesthesia, and less during wakefulness. These behaviors of HFOs indicated the usefulness of analyzing HFOs under propofol anesthesia during epilepsy surgeries.

Ann.Rep.Jpn.Epi.Res.Found. 2019 ; 30 : 73-78

