

# 感覚野における迷走神経刺激療法の動作原理の検証

松村茜、高橋宏知

vagus nerve stimulation, auditory evoked potential, rat, microelectrode array, neurotransmitters

## 1. 序論

迷走神経刺激療法 (vagus nerve stimulation, VNS) は、難治性てんかんに対して 20 年ほど前に確立された非薬剤治療で、現在はうつ病・耳鳴りといった他疾患へも適応が検討されている<sup>[1]</sup>。VNS は、主にノルアドレナリン (NA) やアセチルコリン (ACh) といった神経伝達物質を介して、神経活動を調整するといわれている<sup>[1]</sup>が、その作用機序は十分解明されていない。NA と ACh は感覚野に対して異なる影響を与えるため<sup>[2][3]</sup>、VNS による感覚野の変化に寄与する神経伝達物質を特定できれば、VNS の動作原理の解明だけでなく、VNS の応用可能性の広がりも期待できる。

本研究の目的は VNS による感覚野の変化に関わる神経伝達物質を明らかにすることである。具体的には、ラット聴覚野を対象として 3 つの実験を行う。まず、露出した聴覚野表面から長時間安定して聴性誘発電位 (Auditory Evoked Potential; AEP) を計測する手法を確立する。第二に、AEP を変化させる VNS の刺激パラメータを特定する。最後に、確立した計測手法とパラメータを用いて、神経伝達物質の阻害により、VNS による AEP の変化を阻害できるかを調べる。

## 2. 方法

### 2.1 VNS 埋植

電気生理実験で VNS を加えるラットには、計測の 1 週間以上前に迷走神経刺激装置 (VNS Therapy system model 103, Cyberonics, Houston, TX, USA) を埋植した。イソフルラン麻酔下でラットの左迷走神経に刺激電極を巻き付け、装置本体を皮下に留置した。

### 2.2 電気生理実験

麻酔下でラット右聴覚野を露出し、微小表面電極アレイ (NeuroNexus, Ann Arbor, MI, USA) で 1 秒ごとのクリック音に対する AEP を 64 点から計測した。

#### 2.2.1 計測手法の検討

長時間計測に伴う脳温度の低下、脳表面の乾燥、脳脊髄液の不足が、VNS の有無にかかわらず AEP を変化させる恐れがある。対応として第一に、ハロゲンランプをラット頭部に照射して温度低下を防いだ。また、保水力が高いガーゼ (ベンシーツ) で電極を上から覆い、脳脊髄液と類似した組成を有する人工髄液 (アートセレブ) を滴下した。これらの効果を調べるため、ラットを 2 群に分けて、従来手法または提案手法で、クリック音に対する AEP を 5 時間計測し、比較した。

#### 2.2.2 VNS の刺激パラメータの検討

7 匹のラットで、VNS の刺激パラメータを検討した。表 1 に示すように、電気刺激の電流値・刺激周波数・刺激時間の組み合わせを 5 種類用意した。パルス幅は 130  $\mu$ s、無刺激時間は 5 分に固定した。VNS を印加せ

ずに、クリック音に対する AEP を 30 分計測した後、VNS を適用しながら AEP を 30 分間計測する手順を 1 セットとして、各パラメータで 1 セットずつ計測した。

#### 2.2.3 神経伝達物質阻害時の VNS 効果

本研究では、NA の阻害剤としてフェントラミン (1mM) を、ACh の阻害剤としてメカミルアミン (100  $\mu$ M) を使用した。ラットを 6 群、具体的には阻害剤について (1) 阻害剤無し、(2) NA 阻害剤投与、(3) ACh 阻害剤投与の 3 群に分けたのち、(a) VNS 印加なし、(b) VNS 印加ありの 2 群に分けた。阻害剤投与群では、露出した聴覚野に、阻害剤を含む人工髄液を浸透させたガーゼを 10 分間静置した後にガーゼを除去してから電極を設置し、クリック音に対する AEP を 10 分間計測した。その後、VNS 印加あり群では、表 1②に示すパラメータの VNS を開始して、クリック音に対する AEP を 5 時間程度計測した。

## 3. 結果・考察

クリック音に対する AEP の加算平均波形を、計測点の配置に従って並べた図を図 1 (a) に示す。音提示後 1–30 ms に現れる陽性のピークを P1、10–50 ms に現れる陰性のピークを N1 として、それぞれの振幅を定量化した。聴覚野の各領域を特定するため、各個体の最初の計測で得られた P1 の正規化振幅の空間分布を、重心で重ねて分布を得た (図 1 (b))。この分布の上位

Table 1. VNS parameters

パラメーター	電流値	周波数	刺激時間
①	0.5 mA	10 Hz	30 s
②	0.5 mA	30 Hz	30 s
③	0.5 mA	10 Hz	60 s
④	1.0 mA	10 Hz	30 s
⑤	0.5 mA	30 Hz	60 s

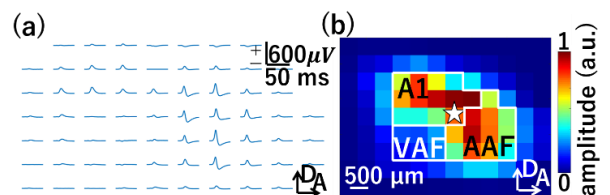


Fig 1. Auditory evoked potential. (a) representative AEP.

(b) Spatial distribution of P1 amplitude.

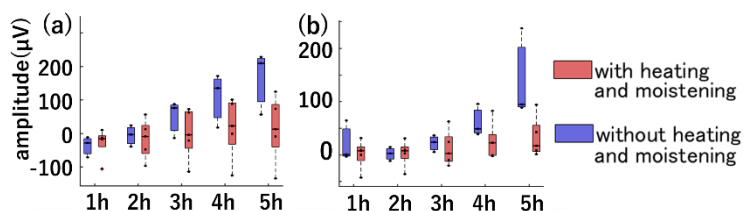


Fig 2. Change with time in the amplitude of (a) P1 and (b) N1.

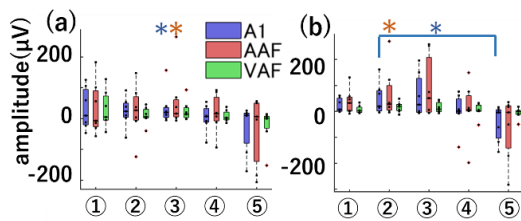


Fig 3. VNS-induced change of the amplitude of (a) P1 and (b) N1. The parameters of VNS are shown in Table 1.

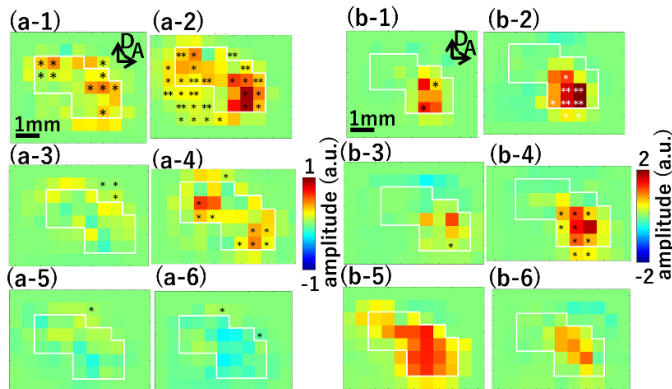


Fig 4. Spatial distribution of increasing rate of (a) P1 and (b) N1 amplitude in each group: 1, without VNS nor blocker; 2, with VNS, without blocker; 3, without VNS, with blocker of NA; 4, with VNS, with blocker of NA; 5, without VNS, with blocker of ACh; 6, with VNS, with blocker of ACh.

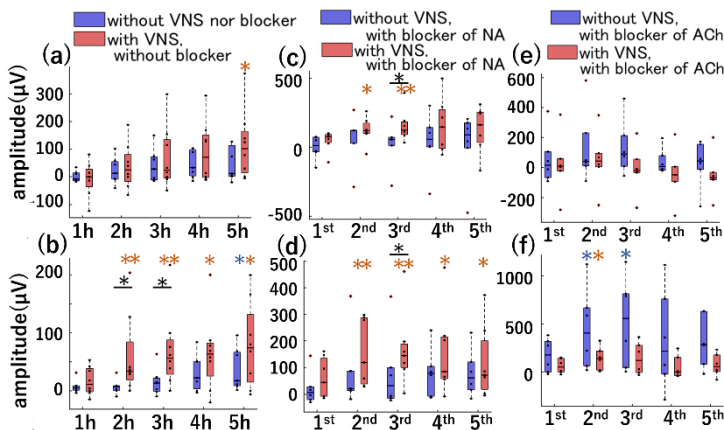


Fig 5. Change with time in the amplitude of (a, c, e) P1 and (b, d, f) N1. (a, b) without blocker, (c, d) with blocker of NA, (e, f) with blocker of ACh.

25 点を聴覚野の一次聴覚野 (A1) または前聴覚野 (AAF), その左下の計測点を腹聴覚野 (VAF) とした.

### 3.1 計測手法の検討

従来手法と提案手法において, 計測開始から 1 時間毎に, 聴覚野全体の P1 と N1 の平均振幅の変化量を比較した結果を, 図 2 に示す. 提案手法は従来手法に比べて, P1 と N1 の増加が抑えられ, 安定した計測を実現できた.

### 3.2 VNS の刺激パラメータの検討

パラメータごとに, VNS 開始前の 10 分間を基準として, VNS 印加後 20–30 分における P1, N1 の振幅の変化量を領野ごとに得た (図 3). その結果, 表 1③のパラメータでは, A1 と AAF で P1 が増加した. 一方, 表 1②のパラメータでは, AAF で N1 が増加し, A1 での N1 変化量は表 1⑤のパラメータより大きかった (刺激前後は Wilcoxon の符号順位検定, パラメータ間は

Wilcoxon の順位和検定で比較,  $*p < 0.05$ ). 先行研究や臨床での使用例が多いことも踏まえて, 表 1②の刺激周波数と刺激時間を実験 3 で使用することとした.

### 3.3 神経伝達物質阻害時の VNS 効果

図 4 に, VNS 開始前の 10 分間を基準として, VNS 開始からおおよそ 5 時間経過時の P1 と N1 の振幅の増加率の空間分布を示す. 有意な増加率を認めた計測点は記号で示す (図 4, Wilcoxon の符号順位検定,  $*p < 0.05$ ,  $**p < 0.01$ ). VNS を印加すると聴覚野全体で P1 が増加したが, NA や ACh の阻害剤を投与すると, 増加の全体あるいは一部が抑えられた. また, VNS により AAF で N1 の振幅が増加したが, ACh の阻害剤を投与すると増加が抑えられた.

このことを詳しく調べるため, 図 5 で, 阻害剤投与の条件が同じで, VNS の有無のみ異なる 2 群間で, P1 と N1 の振幅変化を比較した (検定は図 3 と同様). VNS 群は VNS 無しの群に比べて, P1 の振幅が A1 で 1.3 倍, AAF で 1.5 倍, VAF で 1.1 倍になり, N1 の振幅は A1, AAF でそれぞれ 1.1, 1.6 倍になった. 一方, NA 阻害剤を投与した 2 群を比較したところ, VNS による P1 の増加は VAF で 1.04 倍に抑えられた. VAF は投射元の視床核が A1, AAF と異なることから, NA 受容体は VNS による視床皮質経路の一部の調整に関与すると考えられる. また, ACh 阻害剤を投与した 2 群を比較したところ, VNS による P1 と N1 の増加が全体的に抑えられた. このことから, ACh は VNS による視床皮質経路の調整に重要な役割を担うことが示唆される.

## 4. 結論

本研究は, VNS による感覚野の変化に関わる神経伝達物質を明らかにするため, ラット聴覚野の AEP を長時間安定して計測する手法を確立し, 神経伝達物質を阻害して, VNS による AEP の変化を比較した結果,

- ・阻害剤を投与しない際には VNS により P1 の振幅が聴覚野全体で 1.1–1.5 倍増加, N1 の振幅が A1, AAF で 1.1, 1.6 倍に増加した.
- ・NA 受容体の阻害により, P1 の増加が VAF でのみ 1.04 倍に抑えられた.
- ・ACh 受容体の阻害により, P1 の増加が聴覚野全体で抑制されたほか, N1 増加も抑えられた.

これらの結果は VNS による感覚野の変化には主にアセチルコリン受容体が寄与しており, ノルアドレナリン受容体は部分的に関与していることを示唆する.

## 参考文献

- [1] Duncan A. Groves, Verity J. Brown, “Vagal nerve stimulation: a review of its applications and potential mechanisms that mediate its clinical effects”, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, Vol. 29, (2005), pp.493-500
- [2] Raju Metherate, “Functional connectivity and cholinergic modulation in auditory cortex”, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, Vol.35, (2011), pp.2058-2063.
- [3] Yves Manunta et al., “Noradrenergic Induction of Selective Plasticity in the Frequency Tuning of Auditory Cortex Neurons”, *J. Neurophysiol.*, Vol. 92, (2004), pp.1445–1463