

THE REPORT OF STUDY RESULT BY SUBSIDY

助成研究成果報告書

2011

平成23年度



Magnetic Health Science Foundation

公益財団法人 磁気健康科学研究振興財団

助 成 研 究 成 果 報 告 書

平成23年度

(研究期間：平成24年4月1日～平成25年3月31日)



目 次

巻頭言	1
理事長 小谷 誠	
I. 基礎研究	
I-1. 磁界測定法を用いた石綿代替品の安全性評価	3
北里大学 医学部 衛生学 工藤 雄一郎	
I-2. 低頻度・短期経頭蓋磁気刺激が脳神経活動に与える効果と可塑性に関する研究	6
純真学園大学 保健医療学部 医療工学科 鳥居 徹也	
I-3. 磁性ナノ粒子による磁場誘導組織内加温法と がん免疫治療の融合のための基礎研究	10
名古屋市立大学大学院 医学研究科 腎・泌尿器科学分野 河合 憲康	
I-4. 磁性体ナノ粒子を利用した前立腺癌の集学的治療法の基礎的研究	13
横浜国立大学大学院 工学研究院 渡邊 昌俊	
I-5. 卵巣摘出ラットに対する局所的磁場が骨微細構造に与える影響	16
畿央大学 健康科学部 峯松 亮	
II 応用研究	
II-1. 脳磁計用リアルタイム頭部位置観測システムの高精度化に関する研究	19
金沢工業大学 先端電子技術応用研究所 小山 大介	
II-2. 反復性経頭蓋磁気刺激(rTMS)の連続刺激による耳鳴制御	23
慶應義塾大学 医学部 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室 渡部 高久	

Ⅲ. 指定テーマ研究

Ⅲ-1. 脳磁図、機能的核磁気共鳴画像、磁気刺激、深部電極刺激を用いた 時間的情報処理に関わる脳内情報機構の総合的検討、 および神経疾患における病態解明に関する研究	26
東京大学 医学部附属病院 神経内科 寺尾 安生	
Ⅲ-2. 高感度生体磁場計測装置を用いた肺静脈興奮の非侵襲的評価	28
東京医科歯科大学大学院 保健衛生学研究科 生命機能情報解析学 笹野 哲郎	
Ⅲ-3. 慢性極低周波変動電磁界暴露によるマウス副腎皮質への直接刺激作用の検討	30
徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 生理機能学分野 北岡 和義	
Ⅲ-4. 体表面心磁図を用いたブルガダ症候群における突然死リスクの 非侵襲的評価方法の確立	33
国立循環器病研究センター 心臓血管内科・不整脈科 相庭 武司	
平成24年度研究助成テーマ	36

巻 頭 言

公益財団法人 磁気健康科学研究振興財団

理事長 小 谷 誠

人間の身体はおよそ0.1ボルトの電圧で働いている。たとえば、私たちが右手の中指を動かすときには、左脳の中央部の表面にある運動野の中指を担当する脳細胞に0.1ボルトの電圧が発生し、その電圧に伴って発生する電流が脳から神経細胞を流れて、中指まで伝わり、中指を動かす神経細胞を刺激して中指を動かすのである。

電気理論によると、電流が流れると必ず磁気を発生する。このように電気と磁気は密接な関係がある。

一般に電気を流すためには、往きと帰りの2本の電線が必要であり、電気の流れるスピードも1秒間に30万Km、すなわち、1秒間に地球を7周半進む速さである。それに対して、人体の中では、往きだけの神経細胞で電気を流し、速度も最速の神経細胞でも1秒間に100メータと極端に遅い。このように人体内を流れる電流が、通常の電気の流れる方法とまったく異なるのは、多分、地磁気の影響があると考えられる。

人間がこの世に登場し、立って歩き、言葉を交わすようになったのは、今から数百万年前と云われている。この間に、地磁気の大きさと方向が何度も変わっている。

このように地磁気の大きさや方向が大きく変わる環境の中で人間は進化してきたので、地磁気の影響はあまり受けないように人体はできている。

ところが、人間が電気を使うようになったのは、200年ほど前からである。そのため、人体は電気に対しては防衛能力が進化しておらず、大変敏感に反応する。例えば、心臓の表面に数ボルトの電圧を加えると心臓は働かなくなる。ところが、外部から磁気を加えて心臓を止めることは大変困難である。

このような人体の特徴から電気治療器は即効性があるが、取り扱いを間違えると大変危険である。それに対して、磁気治療器は危険ではないが、時間をかけてじっくり治療する必要性があると思われる。

本財団は生体磁気現象を通して国民の医療と健康に貢献することを目的として、学術研究を助成し、講演会を開催するなど、社会に向けた活動をしている。しかし磁気的作用は、基礎的現象から始まり、体内の複雑な相互作用への関与を通して生じるものであり、短期間の実験試行ではなく、長期間腰を落着けて追求して初めて明らかにされることが多い。

いっぽう昨今の学界においては、短期間に成果を挙げ、学位や業績に結びつけようとする雰囲気強く、原因結果の関係が明白な現象や、客観的に説明できる現象に関心が集中するように見受けられる。これに対して本財団は、性急に成果を求めようとするよりも、長期間にわたる努力を覚悟して特定の問題に取り組む学究の徒を支援したいと考えている。

この報告書は、平成23年度に助成した研究の報告書を、原文のままにまとめたものである。基礎面から実際の応用にいたる広い範囲の研究が含まれているが、いずれもこの領域に新しい道を拓くことを目指している。この報告書が契機になって、志を同じくする研究者の間に連絡が始まり、磁気健康科学の発展に貢献することを期待している。

磁界測定法を用いた石綿代替品の安全性評価

(Cytotoxicity study of continuous glass filament
by cell magnetometric evaluation)

北里大学 医学部 衛生学 工 藤 雄一郎

【目的】

MMMMF (Man-made mineral fiber) の一種であるガラス長繊維は石綿代替物質として、主として強化プラスチックなどの補強材等に用いられている。ガラス長繊維については、IARCでGroup 3に分類されている。本実験では、ガラス長繊維の肺胞マクロファージに及ぼす細胞毒性を評価するため、評価用として特別に製造された細繊維ガラス長繊維試料を用いて細胞磁界測定法、酵素測定法、サイトカインの測定を行った。

【方法】

細胞磁界測定法では、オスのフィッシャー系ラット (F344/Jcl) より肺胞マクロファージを採取し、ガラス製秤量瓶に分注した。試料は2種類のガラス長繊維 (算術平均長径 $8.50\mu\text{m}$ (標準偏差3.0)、算術平均短径 $1.99\mu\text{m}$ (標準偏差0.06) (以下ガラス長繊維A)、算術平均長径 $9.60\mu\text{m}$ (標準偏差3.4)、算術平均短径 $2.51\mu\text{m}$ (標準偏差0.06) (以下ガラス長繊維B) を使用した。緩和の指標として Fe_3O_4 を添加後、実験群にはガラス長繊維の最終濃度が80、160、 $320\mu\text{g/ml}$ 、陰性対照群にはPBSを $50\mu\text{l}$ 添加し18時間培養を行った。培養後、外部より磁化し、磁化後20分

間の残留磁界を測定した。磁界測定後も培養を継続し、24時間培養後に培養液を採取した。LDH測定法では、上記の培養液を用いて細胞外に放出されたLDH活性値を測定した。サイトカイン測定では細胞磁界測定と同様にマクロファージを採取し、IWAKI 24well 細胞培養プレート (ASAHI GLASS CO., LTD., Tokyo, Japan) に分注した。 Fe_3O_4 の添加は行わず、ガラス長繊維のみを添加して24時間培養後の培養液を採取し、細胞外に放出された $\text{TNF-}\alpha$ 放出量を測定した。

【結果】

細胞磁界測定法において、細胞障害性を示す緩和は、ガラス長繊維添加群とPBS添加群において迅速に認められた。磁化後20分値の比較では80、 $160\mu\text{g/ml}$ 添加群では、PBS添加群と同程度の緩和がみられた。しかし、ガラス長繊維Aで $320\mu\text{g/ml}$ 添加群では、PBS添加群に比べやや大きかった。LDH測定法では、ガラス長繊維添加群はPBS添加群と同等のLDH放出量であった。サイトカイン測定では、ガラス長繊維添加群はPBS添加群と同等の $\text{TNF-}\alpha$ 放出量であった。

【考察】

細胞磁界測定とは、もともとCohenら（Cohen D, 1973）が初めて行なった肺磁界測定を応用したものである。その原理は、貪食細胞に酸化鉄粒子（磁性粒子）を取り込ませ、細胞外より磁場をかけ磁化し、磁化中止後も細胞内の酸化鉄粒子から生じる残留磁界を測定しその推移を観察するものである。磁化終了直後から残留磁界が速やかに減衰する現象を緩和（relaxation）と呼ぶが、これは外部の磁化により細胞内の磁性粒子が磁性方向が一つにされるが、時間の経過とともに細胞内の食胞の運動によりランダムに回転するため、磁性粒子の磁性方向の一致性が失われ、その結果、残留磁界を減少させると考えられている。繊維の毒性は繊維の物理的特性（繊維サイズ、繊維数）に影響されると考えられている。今回の実験ではガラス長繊維添加群においてPBS添加群同様緩和は迅速に認められた。また、磁化後2分間の緩和係数もPBS添加群と差はなかった。その理由として、繊維の長径が関係していると考えられる。今回、使用した繊維の算術平均長径はそれぞれ8.5 μm 、9.6 μm と比較的短かった。このためマクロファージに貪食され、細胞骨格に影響を与えなかった。従って細胞障害性はなかったと考えられる。磁化後20分値でガラス長繊維Aの320 $\mu\text{g/ml}$ 添加群とPBS添加群間で統計学的有意差（ $p < 0.05$ ）を認めた。その理由としてガラス長繊維Aの方がガラス長繊維Bに比べ長径、短径とも短かったため両者とも同重量濃度だが繊維数は前者のほうが多く、表面積が大きかった。このため磁化された酸化鉄粒子を取り込んだ食胞のランダムな回転が影響を受け、細胞骨格が障害されたため結果として値が高くなったと思われる。

今回我々は生化学的評価としてLDH測定法を用いたが、肺胞マクロファージの細胞質内から逸脱したLDHを測定することは、従来より細胞傷害性の指標として利用されてきている（Wroblewski F, 1955）。実験結果では、ガラス長繊維添加群とPBS添加群で差はなかった。

Blakeらは（Blake et al., 1998）様々な長径のcode 100グラスファイバー（長径：33, 17, 7, 4, 3 μm 、短径は最も長いカテゴリーで0.75 μm 、最も短いカテゴリーで0.35 μm ）を用いてラットの肺胞マクロファージからのLDH放出量を調べた。その結果、グラスファイバーは長径に関係した毒性を示した。33 μm と17 μm の長径の長い繊維が最も強い毒性を示し、長径が短い繊維の毒性は低かった。その理由として長径の長い繊維はマクロファージが繊維を完全に貪食しきれなかったため、マクロファージが傷害されマクロファージからLDHの放出が増加したと述べている（Blake et al., 1998）。このことから、今回の実験では、ガラス長繊維がマクロファージに貪食されたためLDH放出量が増加しなかったと思われる。

TNF- α は細胞増殖やアポトーシスに影響を与える炎症性サイトカインである。

今回の結果では、ガラス長繊維添加群とPBS添加群で差はなかった。Yeら（Ye et al., 1999）はBlakeら（1998）によって使用された平均長径17 μm と7 μm のcode 100グラスファイバーをマウスマクロファージ由来のRAW264.7細胞に添加し、TNF- α の産生量を調べた。その結果、17 μm のものは7 μm のものに比べてより強くTNF- α を産生した。今回の実験では、ガラス長繊維がマクロファージに貪食されたためTNF- α の産生量が増加しなかったと思われる。電子顕微鏡による形態学的観察においてガラス長繊維添加群は傷害性はみられなかった。

【結論】

細胞磁界測定の結果では、磁化後20分値でガラス長繊維Aで320 $\mu\text{g/ml}$ 添加群がPBS添加群に比べやや大きかったが、緩和係数やLDH、TNF- α の測定結果は正常であった。以上のことから今回の結果では必ずしも細胞障害性があるとはいえないが、ガラス長繊維Aで高濃度になるとやや細胞の動きが悪くなることが示唆された。今後はin vivoでの実験を施行し、肺磁界測定法と病理学的

観察によりガラス長繊維のさらなる安全性の評価
ができるのではないかと考えられる。

【発表】

特になし

【文献】

特になし

低頻度・短期経頭蓋磁気刺激が 脳神経活動に与える効果と その可塑性に関する研究

(Consideration about the effect and plasticity on higher brain function by the repetitive transcranial magnetic stimulation)

純真学園大学 保健医療学部 医療工学科 鳥 居 徹 也

目 的

経頭蓋磁気刺激 (TMS) や反復経頭蓋磁気刺激 (rTMS) は、脳内に直接電流を発生させる非侵襲的刺激方法である。TMSは、1985年に開発され、神経診断用ツールとして使用された (1)。rTMSは、脳疾患と神経障害の治療に適用されている。TMSやrTMSは、非侵襲的で使いやすく、電気療法 (ECT) と比較して疼痛がなく、頭蓋骨や頭皮の高いインピーダンスの影響を受けない (2)。TMSやrTMSを利用した多くの研究は、その効果を評価する為に運動誘発電位 (MEP) が使用されている。従って、これまでの安全ガイドライン (3) は、運動皮質に適用されるrTMSに由来している。運動皮質と非運動皮質の関係性は、未解明であることから、従来のガイドラインでは、非運動皮質への安全性を提供することはできない (4)。さらに、非運動野へのrTMSの効果については、詳細に調査されていない。それゆえ、本研究では、低頻度短期rTMSが P300の発生源 (5) とされる両側縁上回 (SMGs) または前頭前野背外側 (DLPFCs) へ刺激した場合の影響について調査する。rTMSの様々な刺激 (刺激頻度、刺激部位) 効果は、事象関連電位 (ERP) のP300潜在時間で評価する。

方 法

刺激タイミング等のコントロール装置として Neuroscan社製STIM2を使用した。STIM2から発生するトリガ信号は、脳波計測を開始する為に使用し、1 kHzと2 kHzの純音は、事象関連電位成分のP300を誘発させる聴性oddball課題に利用した。磁気刺激装置には、Magstim社製の8の字コイルを使用した。左右の縁上回に1.00, 0.75, 0.50, 0.25 Hzの頻度、左右の前頭前野背外側に1.00, 0.75, 0.50Hzの頻度でrTMSによる刺激を行った。rTMSによる刺激のパルス個数は100個であり、1パルスあたり2 msの磁気刺激である。磁気刺激の強度は、被験者ごとの運動閾値の80%とした。oddball課題は、2つの異なる音を使用した。1 kHzは、80%の呈示確率の非標的刺激である。2 kHzは、20%の呈示確率の標的刺激とした。これらの刺激音をランダムに被験者へ呈示し、刺激音長は50 ms、音圧は60 dB、刺激間隔は2,500 msに設定した。国際10-20法のFz, Cz, Pzの脳波を計測した。電極インピーダンスは、5 k Ω 以下、記録時間を1,000 ms、サンプリング周波数を1,000 Hz、加算回数を20回とした。実験手順を以下に示す。

実験1

コントロールとなるoddball課題によりP300潜時を計測する。その後rTMSを適用し、その直後に再びoddball課題を行い、rTMSの影響を評価する。

実験2

コントロールとなるoddball課題によりP300潜時を計測する。その後rTMSを適用し、その後、0, 5, 10, 15分後に再びoddball課題を実施し、rTMSの影響を評価する。

結 果

実験1

左縁上回へ磁気刺激した場合、1.00HzのrTMSは、コントロールと比較して、磁気刺激後のP300潜時に有意な短縮が観察された。0.50HzのrTMSは、磁気刺激後のP300潜時に有意な遅延が観察された。しかしながら、0.75, 0.25HzのrTMSでは、P300潜時に変化は観察されなかった。左前頭前野背外側へ磁気刺激した場合、1.00HzのrTMSは、コントロールと比較して、磁気刺激後のP300潜時に有意な遅延が観察された。しかしながら、0.75, 0.50HzのrTMSでは、P300潜時に変化は観察されなかった。一方、右縁上回及び右前頭前野背外側へのrTMSは、刺激頻度に関係なくP300潜時に変化が観察されていない。(Fig.1参照)

実験2

左縁上回へ磁気刺激した場合、刺激頻度によりP300潜時に変化が観察された。1.00HzのrTMSは、磁気刺激から0または5分後に実施したoddball課題において、P300潜時に有意な短縮が観察された。このP300潜時の短縮は、磁気刺激後およそ10分間継続した。0.50HzのrTMSは、磁気刺激から0, 5, 10分後に実施したoddball課題において、P300潜時に有意な遅延が観察された。このP300潜時の遅延は、磁気刺激後およそ15分間

継続した。しかしながら、0.75, 0.25HzのrTMSでは、磁気刺激後のP300潜時に変化が観察されていない。左前頭前野背外側へ磁気刺激した場合、刺激頻度によりP300潜時に変化が観察された。1.00HzのrTMSは、磁気刺激から0, 5, 10分後に実施したoddball課題においてP300潜時が有意に遅延した。このP300潜時の遅延は、磁気刺激後およそ15分間継続した。しかしながら、0.75, 0.50HzのrTMSでは、磁気刺激後のP300潜時に変化が観察されていない。一方、右縁上回および右前頭前野背外側のrTMSは、刺激頻度に関係なくP300潜時に変化が観察されていない。(Fig.2参照)

考 察

先行研究により、低頻度磁気刺激は、皮質の興奮性を減少させ、高頻度磁気刺激は、皮質の興奮性を増加させることが報告されている(3)。従って、我々は、低頻度磁気刺激によりP300潜時が遅延すると予測した。実験の結果、P300潜時は、左縁上回へ0.50Hzの刺激後および左前頭前野背外側へ1.00Hzの刺激後に遅延した。しかしながら、左縁上回への1.00Hzの刺激後のP300潜時には短縮が観察された。この結果は、左縁上回への1.00Hzの磁気刺激が皮質を興奮させていることを示唆している。さらに、rTMSによるP300潜時への効果は、刺激頻度に依存することが示唆される。

我々の実験結果は、P300潜時が、刺激部位により異なっていた(例えば、左と右の縁上回、左と右の前頭前野背外側、縁上回と前頭前野背外側)。この結果からは、左縁上回は、磁気刺激の影響を受けやすく、P300発生に関して他の領域より強く関与している可能性がある。磁気刺激の安全ガイドラインが運動皮質にrTMSを適用したことに由来している(4)ことから、脳の異なる領域への磁気刺激は、異なった作用を示す可能性がある。

ニューロンの興奮性とP300潜時に関して、事

象関連電位は、認知過程に関連した神経電気的活動に反映すると考えられ、P300が被験者の興奮状態の変調など生物学的過程による影響を受ける可能性がある(6)。それゆえ、磁気刺激によるニューロンの興奮の増加は、P300潜時の減少を誘発することが示唆される。一方、興奮したニューロンが抑制状態に切り替わった場合は、P300潜時の増加につながる可能性がある。それゆえ、ニューロンの興奮の減少(抑制状態)では、P300潜時が増加したように見える。

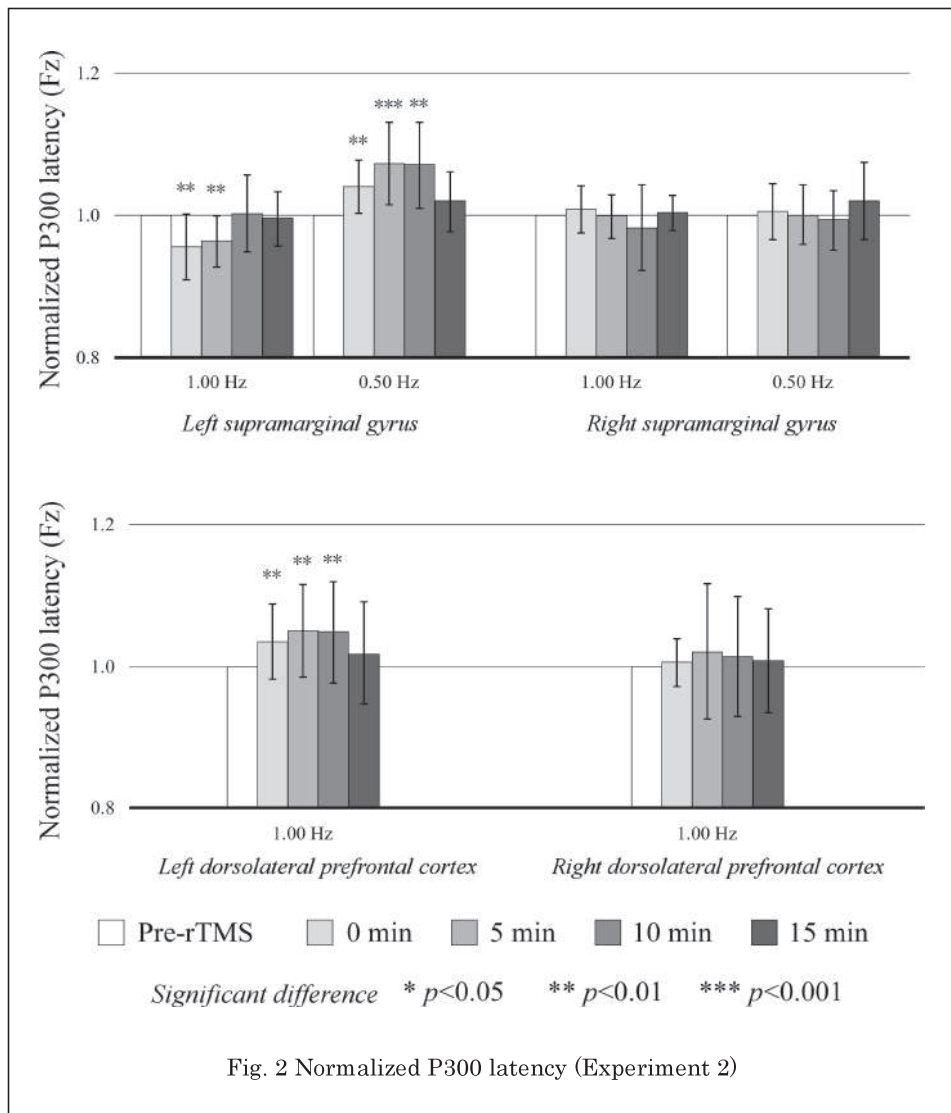
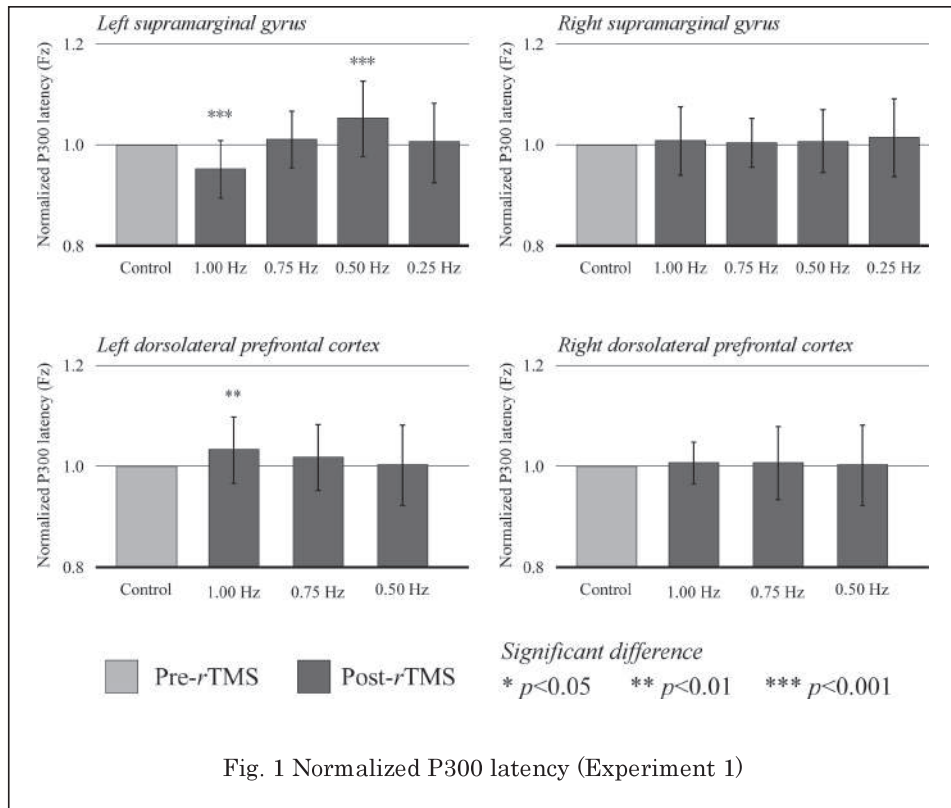
本研究では、rTMSの刺激期間を過ぎても脳の脳・神経活動に影響を引き起こした。これは、多くの先行研究と同様に(4, 7)、長期促進(LTP)と長期抑圧(LTD)のシナプスの可塑性の過程と関係がある可能性を示唆している。

発 表

1. 佐藤綾, 鳥居徹也, 中原由木子, 岩橋正國, 伊良皆啓治, “反復経頭蓋磁気刺激の刺激頻度が事象関連電位P300に与える影響”, 第27回 日本生体磁気学会大会論文集, Vol. 25, No.1, pp. 220-221, Jun, 2012.
2. 鳥居徹也, 佐藤綾, 中原由木子, 岩橋正國, 伊藤裕司, 伊良皆啓治, “側頭葉への経頭蓋磁気刺激による事象関連電位P300に及ぼす効果継続期間”, 第42回 日本臨床神経生理学会学術大会, p.495, Nov, 2012
3. T. Torii, A. Sato, Y. Nakahara, M. Iwahashi, Y. Itoh, K. Iramina, “Frequency Dependent Effects of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation on the Human Brain”, NeuroReport, Vol. 23, No.18, pp. 1065-1070, Dec, 2012.
1. A. Sato, T. Torii, Y. Nakahara, M. Iwahashi, Y. Itoh and K. Iramina, “The Impact of rTMS over the Dorsolateral Prefrontal Cortex on Cognitive Processing”, IEEE EMBC2013 (submitted)

文 献

- (1) Hallett M, Transcranial magnetic stimulation and the human brain, Nature, 406, pp. 147-150, 2000.
- (2) Barker AT et al., Magnetic stimulation of the human brain, Physiological society, 3P, 1985.
- (3) Wassermann EM, Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, Electroencephalography and clinical neurophysiology 108, pp. 1-16, 1998.
- (4) Rossi S et al., Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research, Clinical Neurophysiology, 120, pp. 2008-2039, 2009.
- (5) Halgren E et al., Generators of the late cognitive potentials in auditory and visual odd-ball tasks, Electroencephalography and clinical Neurophysiology, 106, pp. 156-164, 1998.
- (6) Polich J et al., Cognitive and biological determinants of P300: an integrative review, Biological Psychology, 41, pp. 103-146, 1995.
- (7) Ridding MC et al., Is there a future for therapeutic use of transcranial magnetic stimulation? Neuroscience, 8, pp. 559-567, 2007.



磁性ナノ粒子による磁場誘導組織内加温法と がん免疫治療の融合のための基礎研究

(Basic research for certification the usefulness of the combination of
caner immunotherapy and inrterstitial hyperthermia induced by magnetic
nano-particle with magnetic field)

名古屋市立大学大学院 医学研究科 腎・泌尿器科学分野 河 合 憲 康

【目的】

再燃性前立腺がんは骨転移を高率に認め、患者のQOLを著しく低下させている。現在、再燃性前立腺がんに対して、Docetaxel (DTX) を中心とした化学療法が行われているがその効果は不十分であり、新たな治療法の開発は急務となっている。私たちはこれまでに、再燃性前立腺がんに対する治療法の開発を目的に、正電荷リポソーム包埋型磁性ナノ粒子 (Magnetite Cationic Liposome : MCL) を用いた磁場誘導組織内加温法 (MCL Thermotherapy) を開発した。今回はその成果を踏まえて、MCL Thermotherapyの作用機序の1つに免疫機能の亢進が考えられることから、その評価が可能なラット前立腺がん大腿骨転移モデルを作成し、MCL Thermotherapyの治療効果を、これまでの治療法であるDTX療法と比較検討した。

【方法】

I ラット前立腺がん大腿骨転移モデルの作成 ; 6週齢雄F344ラットの大腿骨周囲に、ラット前立腺がん細胞 (PLS-P) の腫瘍塊0.5gを移植し、3週間後にX線撮影および病理組織学的に骨浸潤の程度を評価した。

II MCL Thermotherapyの治療効果 ; モデル動物を、① Control群 ② MCL群 ③ DTX群 ④ MCL+DTX群の4群に分類した (各群5匹)。MCL群とMCL+DTX群は、磁場照射直前にMCL (33mg/ml) 600 μ lを腫瘍中心部に4方向からシリンジポンプを用い、緩徐に注入した。DTX (10mg/kg) は、治療開始時に経尾静脈的に2ml投与した。3週間の治療終了後、腫瘍増殖については、腫瘍サイズと細胞増殖をproliferating cell nuclear antigen (PCNA) 染色にて評価した。腫瘍壊死領域はImage analyzerを用い、apoptosis関連蛋白 (Caspase3・Cleaved-Caspase3) はWestern blotting法を用いて評価した。骨に対しては、動物実験用Computed Tomography (CT) を用いて骨体積を、CD68染色を用いて破骨細胞数を計測した。腫瘍免疫については、Heat Shock Protein (HSP) 70、Interleukin-2 (IL-2) 及びInterferon-gamma (IFN- γ) の発現をWestern blotting法で、細胞障害性T細胞 (CTL) をCD8a染色で評価した。

【結果】

I ラット前立腺がん大腿骨転移モデルの作成 ; 作成したラット前立腺がん大腿骨転移モデルは、骨に浸潤するラット前立腺がん細胞 (Fig.1A)

と破骨細胞 (Fig.1B) および骨芽細胞の出現 (Fig.1C) を認め、免疫機能を評価可能であることが判った。

II MCL Thermotherapyの治療効果 ; MCL+DTX群はControl群およびDTX群に比べ、腫瘍の増殖を抑えた ($P<0.05$, $P<0.01$) (Fig.2)。MCL群およびMCL+DTX群はControl群に比べ、腫瘍の壊死領域が有意に拡大し ($P<0.05$, $P<0.01$)、MCL群、MCL+DTX群およびDTX群ではapoptosisを誘導した。これらの結果から、MCL+DTX群はより強力に腫瘍を抑制することが判った。また、MCL群およびMCL+DTX群はControl群に比べ、破骨細胞による骨破壊を抑えた ($P<0.01$, $P<0.01$)。動物実験用CTでは、骨体積が有意に保たれていた ($P<0.01$, $P<0.01$) (Fig.3)。腫瘍免疫については、MCL群およびMCL+DTX群で、細胞内におけるHSP70の発現と、IL-2, IFN- γ によるCD8陽性Tリンパ球の発現により ($P<0.05$, $P<0.05$)、腫瘍免疫が強化されることが判った (Fig.4A-4C)。

【考察】

今回開発したMCL Thermotherapyは、これまでの温熱治療とは異なり、MCLを注入したがん組織のみを特異的に加温できることが判った。さらに、前立腺がん細胞と破骨細胞を同時に治療し、前立腺がんと骨との間で起こる悪循環を抑制することができた。また、細胞内でHSP70の発現が増強し、CD8陽性Tリンパ球を介した抗腫瘍免疫を強めることが判った。これらの結果より、MCL Thermotherapyさらには、MCL ThermotherapyとDTXの併用治療は、再燃性前立腺がんに対して、これまでのDTX治療に比べ明らかに有効な治療法であり、新たな治療法の候補のひとつになると考えられた。

【文献】

1.Kawai N, Futakuchi M, Yoshida T, Ito A, Sato

S, Naiki T, Honda H, Shirai T, Kohri K. Effect of heat therapy using magnetic nanoparticles conjugated with cationic liposomes on prostate tumor in bone. Prostate 2008 ; 68:784-792.

2.Kawai N, Ito A, Nakahara Y, Futakuchi M, Shirai T, Honda H, Kobayashi T, Kohri K. Anticancer effect of hyperthermia on prostate cancer mediated by magnetite cationic liposomes and immune-response induction in transplanted syngeneic rats. Prostate 2005 ; 64:373-381.

3.Kawai N, Ito A, Nakahara Y, Honda H, Kobayashi T, Futakuchi M, Shirai T, Tozawa K, Kohri K. Complete regression of experimental prostate cancer in nude mice by repeated hyperthermia using magnetite cationic liposomes and a newly developed solenoid containing a ferrite core. Prostate 2006 ; 66:718-727.

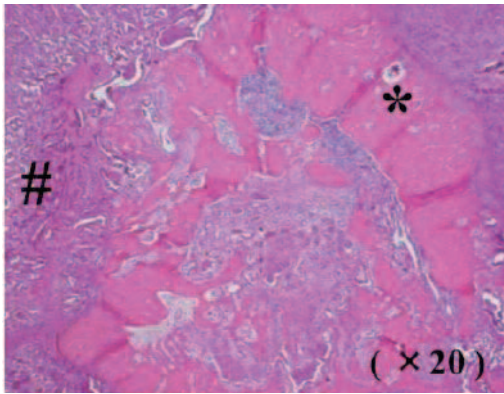


Fig.1A

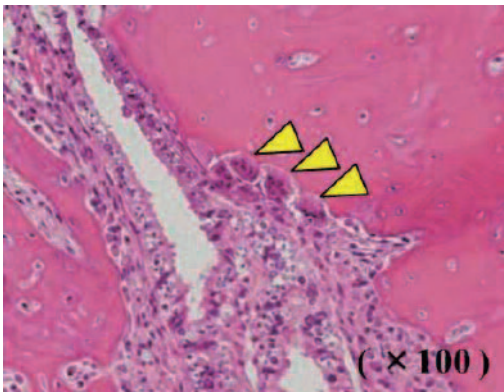


Fig.1B

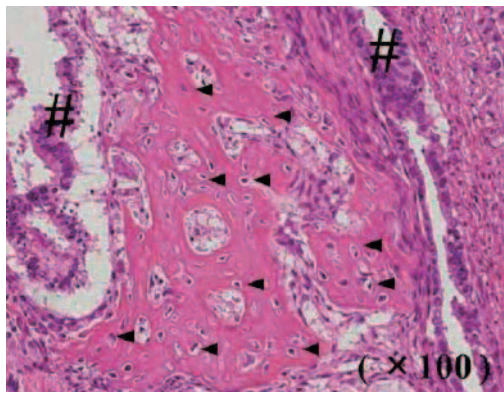


Fig.1C

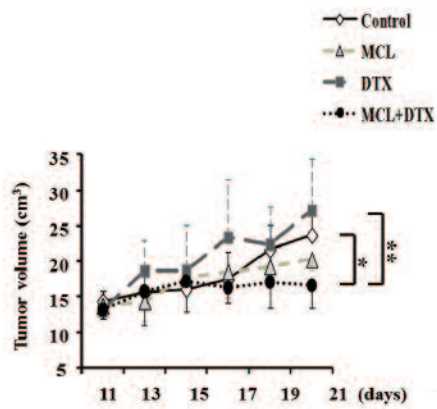


Fig.2

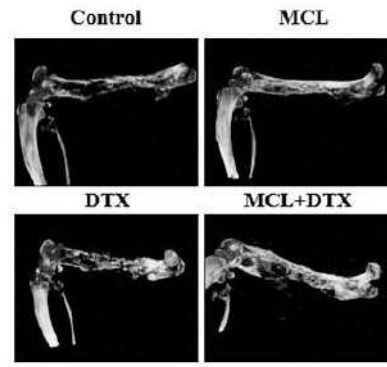


Fig.3

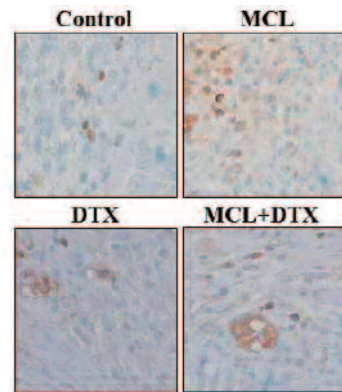


Fig.4A

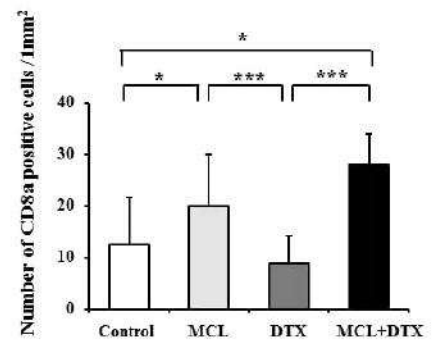


Fig.4B

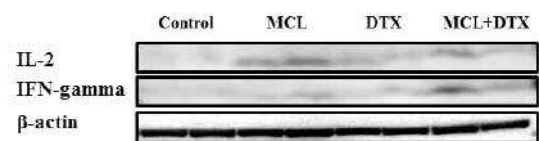


Fig.4C

磁性体ナノ粒子を利用した 前立腺癌の集学的治療法の基礎的研究

(Basic analysis of multidisciplinary treatment for prostate cancer
with magnetic nanoparticles)

横浜国立大学大学院 工学研究院 渡 邊 昌 俊

1. 目的

前立腺癌は、欧米の男性では罹患率の高い癌である。近年、日本においても食生活の欧米化及び高齢社会を迎えて増加している [1]。前立腺癌は早期に発見できれば治りやすい癌と言われ、その治療として内分泌療法が有効とされる。しかし、内分泌療法後5年以内に約半分はホルモン不応性癌となり、非常に治療が困難となる [2]。近年、ホルモン不応性癌に対する抗癌剤ドセタキセルの使用が有効と報告されているが、ホルモン不応性癌、再燃前立腺癌の治療は依然と問題となっている [3,4]。近年、ナノテクノロジーの医療への展開が急速に進展し、磁性体ナノ粒子、特にMgNPs-Fe₃O₄のMRI造影剤等への利用が行われている [5]。ナノ粒子を用いた前立腺癌の集学的治療法（磁性体ナノ粒子を用いた温熱療法および化学療法）を視野に入れ、抗癌剤との組み合わせによる治療法の開発のための基礎的解析をするのが本研究の目的である。

2. 方法

前立腺癌細胞株DU145における抗癌剤カルボプラチンと磁性体ナノ粒子（MgNPs-Fe₃O₄）を併用することによる抗腫瘍効果を解析した。磁性

体ナノ粒子は戸田工業から購入し、その1次粒子径は10 nmである。統計学的解析は、ボンフェローニ検定を行った。

- (1) 磁性体ナノ粒子準備条件の確立との分散の解析 ソニケーターやボルテックス等の前処理後の培養液中の2次粒子径を含めた分散状態をDynamic Light Scattering (DLS) により測定した。
- (2) 抗癌剤カルボプラチンの使用濃度条件の決定 各濃度のカルボプラチンをDU145細胞に曝露し、その細胞生存率を測定し、使用濃度を決定した。Alamar Blue assay (Alamar Biosciences Inc., Sacramento, Ca, USA) を用いて、プレートリーダー (Viento XS, DS Pharma Biomedical Co. Ltd., Suita, Osaka, Japan) で吸光度を測定した。
- (3) 抗癌剤カルボプラチンと磁性体ナノ粒子の併用による細胞生存率への効果の測定 (2) で決定されたカルボプラチン濃度に磁性体ナノ粒子1.0、10.0、100.0 $\mu\text{g/ml}$ の濃度の組み合わせで、24時間曝露後に細胞生存率を測定した。

3. 結果

使用した磁性体ナノ粒子は培養液中では2次粒子径は大きくなり、その粒径分布は図1に示す。また、分散のためにソニケーションとボルテックス法を用いたが、ソニケーション1分間が最小の2次粒子径を示し、以後この条件で磁性体ナノ粒子を処理することにした。各濃度のカルボプラチンを細胞に曝露し、細胞生存率を測定した（図2）。IC50は40.0-50.0 μM にあると考えられた。低濃度で、有意差のない細胞生存率の低下を示したカルボプラチンの使用濃度を決定した（10.0 μM ）。また、磁性体ナノ粒子が細胞生存率に影響を与えないことを確認した（図3）。カルボプラチンと磁性体ナノ粒子の併用による細胞生存率への影響を測定した（図4）。磁性体ナノ粒子の濃度依存的に細胞生存率が低下したが、カルボプラチン10.0 μM と磁性体ナノ粒子100.0 $\mu\text{g/ml}$ の組み合わせで、統計学的に有意に低下することを認めた。これはカルボプラチン50.0 μM の効果とほぼ同様であった。

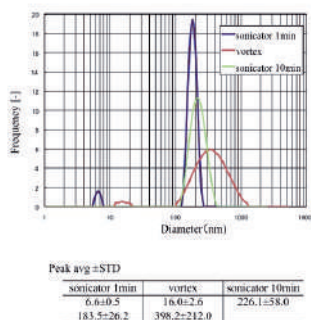


Fig.1 Measurement of MgNPs size by DLS.

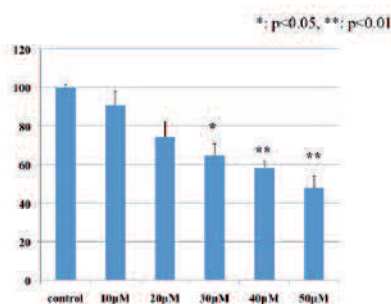


Fig.2 Effect of Carboplatin on DU145 cell viability.

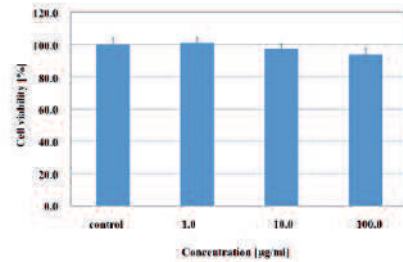


Fig.3 Effect of MgNPs on DU145 cell viability.

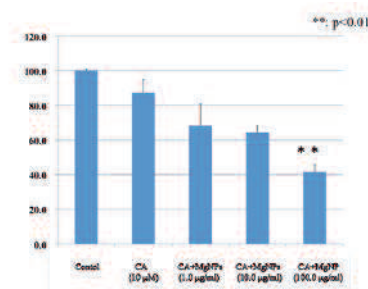


Fig.4 Effect of combination on DU145 cell viability.

4. 考察

我々は既に去勢抵抗性前立腺癌に対して first line で使用される抗癌剤ドセタキセルに磁性体ナノ粒子 (MgNPs- Fe_3O_4) を併用させることによる抗腫瘍効果の増強を報告している [6]。その機序は、細胞内に過剰に活性酸素種を発生させ、NF κ B を介するシグナルを抑制させ、その抗腫瘍効果を増強させると推測した。カルボプラチンはプラチナ製剤で、今後 second line の使用が有望視されている。同製剤もシスプラチンに比べ、腎毒性を軽減させたが依然その副作用がある。使用量を減らすことが副作用の軽減および他剤との併用に必要である。本実験での成果は使用量を減少させ、カルボプラチンの効果を上げる可能性を示唆した。今後、その機序と他剤との併用について検討する必要がある。

5.発表

- 1) 佐藤明子, 諸橋彩香, 岩崎有由美, 石黒斉, 植村博司, 窪田吉信, 渡辺昌俊. 磁性体ナノ粒子は前立腺癌に対するドセタキセルの効果を増強する. J-1125第71回日本癌学会学術総会H24 (2012) 9. 19-21 (ロイトン札幌他).
- 2) 岡本大樹, 深井瑛美, 岩崎有由美, 佐藤明子, 白石泰三, 河井伊一明, 葛西宏, 石黒斉, 渡辺昌俊. J-1124前立腺癌におけるカルボキシル基就職磁性体ナノ粒子とドセタキセルの併用効果. J-1124第71回日本癌学会学術総会H24 (2012) 9. 19-21 (ロイトン札幌他).
- 3) 諸橋彩香, 佐藤明子, 岩崎有由美, 河井一明, 葛西宏, 石黒斉, 古林直人, 渡辺昌俊. P-1309磁性体ナノ粒子が曝露したがん細胞における抗酸化酵素遺伝子および活性酸素種酸性の変化について. J-1309第71回日本癌学会学術総会H24 (2012) 9. 19-21 (ロイトン札幌他).
- 4) A. Sato, D. Kurioka, H. Ishiguro, H. Uemura, Y. Kubota, M. Watanabe. Synergistic effect of magnetic nanoparticles and docetaxel on prostate cancer cells *in vitro*. No.784 AACR March 31-April 4, 2012 Chicago, IL.
- 5) A. Sato, N. Itcho, H. Ishiguro, D. Okamoto, N. Kobayashi, K. Kawai, H. Kasai, D. Kurioka, H. Uemura, Y. Kubota and M. Watanabe. Magnetic nanoparticles of Fe₃O₄ enhance docetaxel-induced prostate cancer cell death by generating reactive oxygen species. *Int J Nanomed.* (in press) .

6.文献

- [1] M. Watanabe, T. Nakayama, T. Shiraishi, et al. *Urol. Oncol.*, 5, 274-283, 2000.
- [2] M. Diaz, and S.G. Patterson. *Cancer Control*, 11, 364-373, 2004.

- [3] I.F. Tannock, R. de Wit, W.R. Berry, et al. *N. Engl. J. Med.* 351, 1502-1512, 2004.
- [4] D. P. Petrylak, C. M. Tangen, M. H. Hussain, et al. *N. Engl. J. Med.* 351, 1513-1520, 2004.
- [5] S. Parveen, R. Misra, S.K. Sahoo. *Nanomedicine*. 8, 147-166, 2012.
- [6] A. Sato, N. Itcho, H. Ishiguro, et al. *Int. J. Nanomed.* in press.

卵巣摘出ラットに対する局所的磁場が 骨微細構造に与える影響

(The effect of local magnetic fields on bone microarchitecture in ovariectomized rats)

畿央大学 健康科学部 峯 松 亮

目的

静的磁場 (SMF) は骨量減少モデル動物の骨密度 (BMD) 減少を予防する¹⁾, 骨切り術後の骨治癒を促進させる²⁾ との報告がある。しかし, SMFの骨微細構造に対する影響をみたものはほとんどない。そこで本研究では, 骨粗鬆症モデルである卵巣摘出 (OVX) ラットを用い, 永久磁石による局所的SMFが骨微細構造に与える影響を調査することを目的とした。

対象と方法

リタイア雌性Wistar系ラット24匹を対象とし, 無作為に4群 (n=6) に分け, 麻酔下にて3群にはOVXを, 残りの1群には偽手術 (SHAM) を施行した。同時に, OVXの各群にはサイズφ10mm×3mmのネオジウム磁石 (282mT: SMG1群), 異方フェライト磁石 (92mT: SMG2群), アクリル材 (OVX群) を, SHAM群には同形・同サイズのアクリル材をそれぞれ両膝関節外側部皮下に埋め込んだ。その後, 室温23±2°C, 湿度50±5%, 12時間昼夜サイクルの飼育環境下で6ヶ月間飼育した。飼料及び飲水は自由摂取とした。

実験終了後, 対象から採血し, 血清カルシウム

(Ca), リン, 総蛋白 (TP), アルカリフォスファターゼ (ALP), クレアチニン (CRE), プロゲステロン(PG), インターロイキン (IL) 6, トランスフォーミング増殖因子 (TGF-β) の生化学的分析を行った。また, 脛骨を取り出し, マイクロCTにてスキャンし, 脛骨近位端の海綿骨微細構造パラメータを三次元骨解析ソフトにて解析した。

統計解析は, 各測定パラメータの群間の差を見えるために一元配置分散分析およびBonferroniの多重比較検定を行い, 帰無仮説はp<0.05で棄却した。

なお, 本研究は畿央大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施した。

結果

最終体重はSMG2群, OVX群はSHAM群よりも有意に高値を示し, SMG1群はOVX群よりも有意に低値を示した。

OVX施行により骨量の低下, 骨微細構造の劣化が認められた (Fig.1)。体積BMDでは, SMG1群はSHAM群, SMG2群, OVX群よりも有意に高値を示したが, 組織BMD (骨塩量/組織体積) では, SMG1群, SMG2群, OVX群はSHAM群よりも有意に低値を示した。また, 組織体積に群間

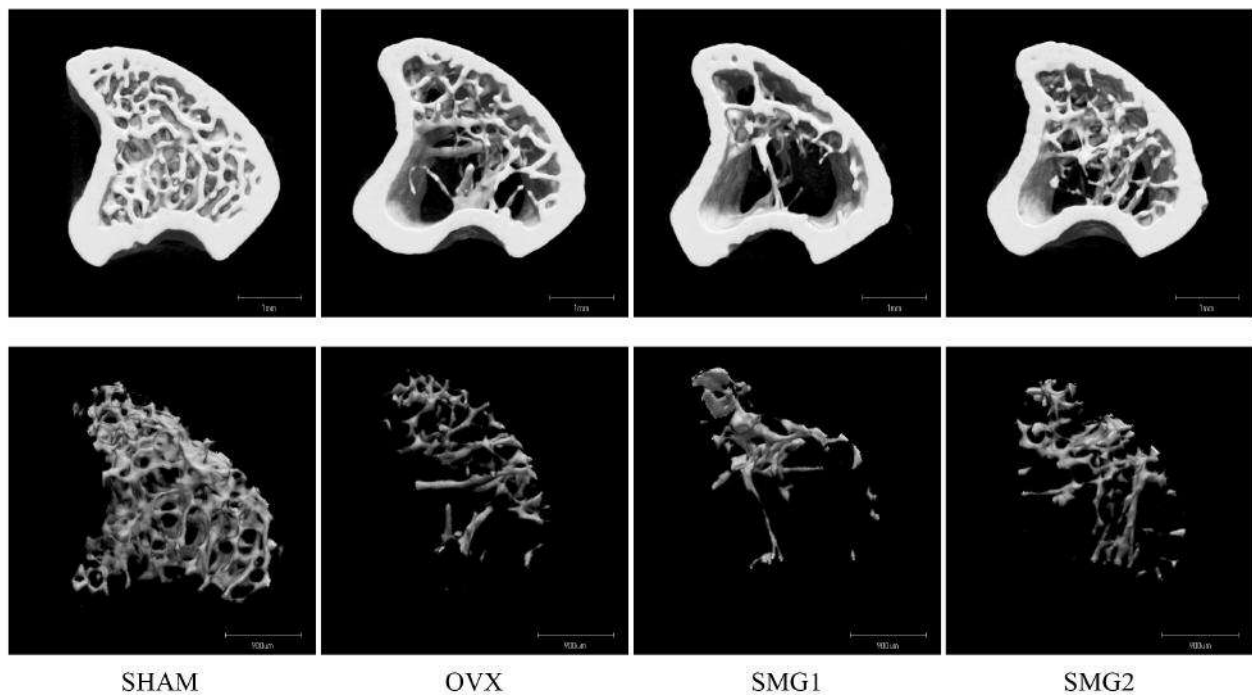


Fig.1. Proximal cross section (upper) and trabecular bone microarchitecture (bottom) of the range of interest in the tibia.

の差は認められなかったが、SMG1群、SMG2群、OVX群の骨体積および骨体積密度（骨体積／組織体積）はSHAM群よりも有意に低値を示し、SMG1群のそれはSMG2群、OVX群よりも有意に低値であった。骨微細構造では、SHAM群に比して、OVXを施行した3群は骨梁幅、骨梁数、連結度で有意に低値を、骨梁間隙で有意に高値を示した。OVXを施行した3群間では、SMG1群はSMG2群、OVX群よりも骨梁数、連結度で有意に低値、骨梁間隙で有意に高値であった。骨粗鬆度の指標である $V^*m.space$ はOVXを施行した3群でSHAM群よりも有意に高値を、 V^*tr は有意に低値を示した。

SHAM群に比して、OVXを施行した3群は血清Ca、TP濃度は有意に低値、ALP濃度は有意に高値であった。また、CRE濃度はSMG1群でSHAM群、SMG2群、OVX群よりも有意に高値であった。さらに、PG濃度はSMG2群で他の3群よりも有意に低値を示し、TGF- β 濃度はSMG2群、OVX群でSHAM群よりも有意に低値を示した。IL-6は全群で検出感度以下であった。

考察

本実験では、OVX施行により骨量の低下、骨微細構造の劣化が認められたが、局所的SMFによる骨量低下および骨微細構造劣化の抑制効果は認められなかった。（Fig.1）

OVXによる骨微細構造の劣化は、骨梁幅、骨梁数の減少により連結度の低下や骨梁間隙の増大が引き起こされた結果であり、それに伴い骨量が低下したと考えられる。このことは骨梁領域の減少と髓腔領域の増大といった骨粗鬆度の結果からも明らかであった。本実験において、局所的SMFが骨微細構造の劣化を抑制できなかったのは、磁場自体の強さや磁石と骨との間の軟部組織により磁場が弱まったことが考えられる（SMG2）。また、磁石の固定が安定せずに固定処置を繰り返すことになったことも一因と考えられる（SMG1）。

しかし、静的磁場が骨量減少を予防する可能性は残っており、今後は関心領域に十分に磁場が曝露されるように工夫し、磁場が骨に与える直接的、間接的因子への影響を調査する必要がある。

文献

- 1) Xu S, Okano H, Tomita N, Ikada Y: Recovery effects of a 180mT static magnetic field on bone mineral density of osteoporotic lumbar vertebrae in ovariectomized rats. Evid Based Complement Alternat Med. Vol.2011, Article ID 620984.
- 2) Aydin N, Bezer M: The effect of an intramedullary implant with a static magnetic field on the healing of the osteotomised rabbit femur. Int Orthop 35 (1): 135-41, 2011.

脳磁計用リアルタイム頭部位置観測システムの 高精度化に関する研究

(Localization accuracy improvement of
real-time head position monitoring system for MEG)

金沢工業大学 先端電子技術応用研究所 小 山 大 介

目的

脳磁図や心磁図などの生体磁気計測において、信号源の位置を正確に知るためには、被験者と磁気センサの位置関係を正確に知ることが重要である。一般には直径10mm程度の磁気マーカーコイルを被験者の頭部や胸部に貼り付けて磁気計測を行い、逆問題を解くことによってコイルの位置を求め、これを参照にセンサと被験者の位置関係を導出する手法が用いられる。

特に近年、脳磁図を使った小児の発達に関する研究 [1] や、アルツハイマーに関する研究 [2] が注目を浴びている。小児や高齢者にとって同じ姿勢を長時間保持し続けることは大きな負担であり、計測中に頭を動かしてしまい、それが信号源の位置誤差の原因となっていた。したがって、脳磁図または心磁図の計測と同時に位置観測をすることが重要である。しかしながら、マーカー信号によるクロストークやダイナミックレンジ超過の問題があり、頭部位置観測と同時に正しい脳磁図計測ができなくなる場合があった。

著者らはこれまでに、脳磁図や心磁図などの生体磁気信号と同時にマーカー信号を検出し、リアルタイムで被験者の位置を観測する手法を提案してきた [3]。本研究では、より高精度なシステムの開発し、ヒトを対象とした聴覚誘発磁場計測

によりその有効性を示した。

方法：システム構成

本手法による頭部位置観測システムが従来の脳磁計と同時に使用可能であることを実証するため、金沢工業大学・先端電子技術応用研究所にて稼働している全頭型160チャンネル脳磁計に合わせてシステムを構成した。開発したシステムを図1に示す。

本手法では、脳磁図とマーカー信号を分離して計測するため、脳磁図よりも高い周波数帯域をマーカー信号の周波数帯域とする。分離を容易にするため、多重積分器型FLL回路を利用した。この回路は二つのフィードバック系が直列に接続されており、それぞれがバンド・パスフィルタのように振る舞う。低い周波数帯域の系により脳磁図信号を検出し、高い周波数帯域の系をマーカー信号計測に利用する。今回、160チャンネルのセンサのうち、64チャンネルのセンサを選択してマーカー信号計測に利用できるようにした。また、マーカー信号計測用のアンプ・フィルタユニットを製作し、より高いS/Nでの計測が可能となった。さらに、脳磁図データとの時間軸を合わせるための同期信号発生回路も製作した。

マーカー信号には脳磁図に比べて十分に高い周

波数の信号を用いる。今回、5つのマーカーコイルに12 kHz, 14 kHz, 16 kHz, 18 kHz, 20 kHzの正弦波電流をそれぞれ独立に印加するドライバ回路を開発した。また、高い周波数の電流を通電しても脳磁計のノイズレベルを悪化させない、低ノイズの回路構成を実現した。

図2に開発したソフトウェアを示す。ハードウェアの制御とともに、計測したデータを解析し、

マーカーコイルの位置をリアルタイムで表示する。左はシステム調整用の画面、右はリアルタイム計測の主画面である。調整画面ではコイルを貼る位置の確認とマーカー信号スペクトルの計測・表示を行う。主画面ではワンクリックで計測を開始し、計測した5個のコイルの位置をリアルタイムでAxial, Coronal, Sagittalの三方向から表示する。

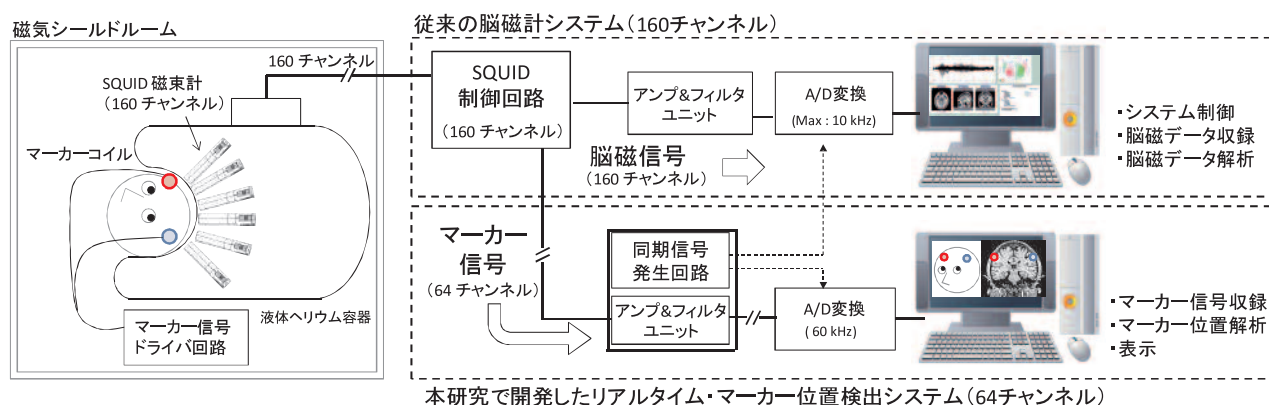


図1. 開発したリアルタイム頭部位置観測システムのブロック図

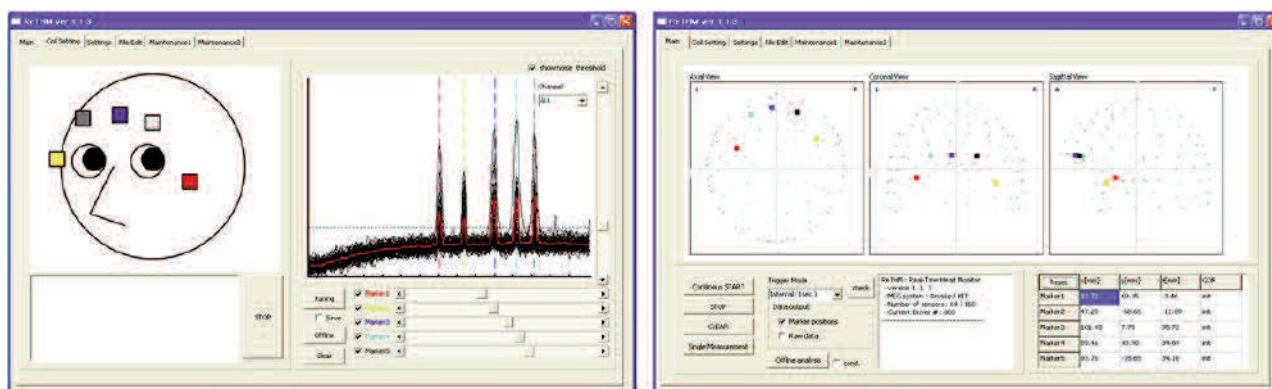


図2. リアルタイム頭部位置観測システムのソフトウェア

結果：脳磁図との同時計測

開発したシステムの有効性を確認するため、ヒトの聴覚誘発反応磁場計測（Auditory evoked field ; AEF）と頭部位置の同時計測実験を行った。被験者は50代の男性の健常者であり、聴覚正常であることを確認している。聴覚刺激はイヤホン型スピーカにより断続的に1kHzのバースト音を左耳に提示した。静止状態で計測をはじめ、

脳磁図計測中に脳磁計ヘルメット内で頭部を動かすように被験者に依頼した。

計測した結果を図3に示す。(a) は計測したコイルの位置の時間変化をプロットしたものであり、140 s の付近で頭部を右方向に動かしたことがわかる。(b) , (c) は動かす前後の時間での等磁場線図であり、これを見ても、左から右方向へ動かしたことがわかる。計測した脳磁図データを用いて等価電流双極子（Equivalent current

dipole : ECD) 位置を推定し、予め撮像しておいた頭部MRIに重畳させて描いた図が (d) である。○は頭部を動かす前、△及び□は動かした後のデータから推定したECDの位置を示している。ただし、△は動かす前のマーカー位置情報を用いてMRIに投影しており、○とは12.6 mm (左

脳), 19.5 mm (右脳) 離れた位置に投影された。□は動かした後のマーカー位置情報を用いて補正を行い、これをMRIに投影した結果であり、○とのずれを5.2 mm (左脳)、12.7 mm (右脳) にまで低減することができた。

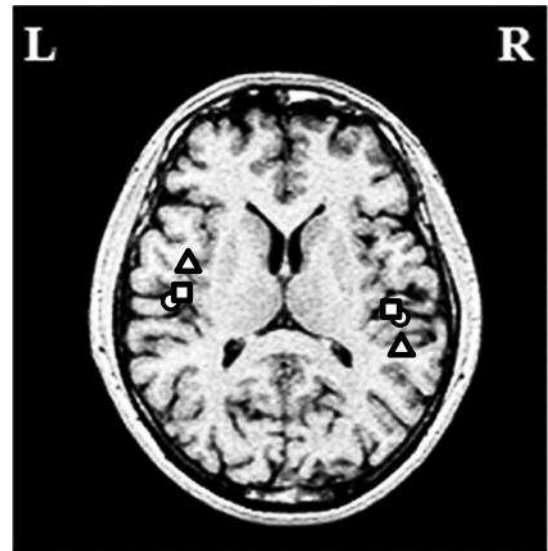
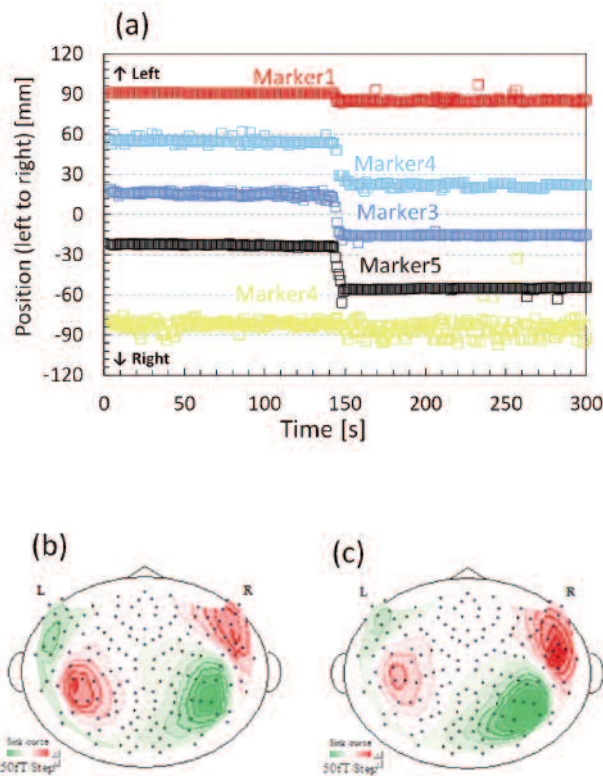


図3 聴覚誘発反応磁場計測とリアルタイム頭部位置観測の結果。(a) 計測したマーカーコイルの位置。(b-c) 頭部を動かす前及び後で計測した等磁場線図。(d) 推定した等価電流双極子位置。

考察

文献 [3] で述べられている、20チャンネルのセンサを利用した頭部位置観測システムの場合と比べて、本研究で開発したシステムによりずれを約30% 小さくすることができた。

一方、本研究開始時における予定ではマルチプレクサと周波数変換回路を併用する計測ユニットを採用する予定であった。試作機による実験の結果、周波数変換回路部で十分なS/Nが得られなかった点や、マルチプレクサを制御するパルスが脳磁計本体に干渉した点などの問題があり、有効性を検証するデータが得られなかった。今後は電

子回路のアーワークや電子部品のより詳細な選定も含めて検討し、より高精度なシステムの実現を目指したい。

学会発表

小山大介、宮本正和、足立義昭、樋口正法、河合淳、上原弦、「脳磁計用リアルタイム頭部位置モニタシステムの開発」、第28回日本生体磁気学会、2013年6月 (予定)

文献

- [1] M. Kikuchi, K. Shitamichi, Y. Yoshimura, S. Ueno, G. B. Remijn, T. Hirose, T. Munesue, T. Tsubokawa, Y. Haruta, M. Oi, H. Higashida, and Y. Minabe: *The Journal of Neuro Science*, 31 (42) , 14984-14988 (2011) .
- [2] N. Hatsusaka, M. Higuchi, N. Tsuruya, T. Machiya, S. Yamada, and H. Kado: *Technical Report of IEICE*, 107, 369, 141-145 (2007) .
- [3] D. Oyama, Y. Adachi, M. Higuchi, J. Kawai, M. Miyamoto, K. Kobayashi, and G. Uehara : *J. Magn. Soc. Jpn*, 36, 345-351 (2012) .

反復性経頭蓋磁気刺激（rTMS）の 連続刺激による耳鳴制御

(Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS)
for treatment of chronic tinnitus)

慶応義塾大学 医学部 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室 渡部 高久

はじめに：

耳鳴は外界からの物理的音源がない状態で感じる音覚と定義され、日常臨床で頻繁に遭遇する主要な耳症状であるが、根本的治療法は確立されていない。耳鳴は聴覚中枢の活性の増加により生じる症状であると考えられており、神経活動の抑制を誘導できる反復性経頭蓋磁気刺激（rTMS）が耳鳴の治療法として応用できる可能性が期待されるようになった。当科においても聴覚中枢の活性の増加により生じた耳鳴を低頻度rTMSにて抑制できるという仮説をたて、慢性耳鳴患者に対しrTMS単回刺激を施行した結果、治療後1週間までではあるが一時的な耳鳴の改善を確認した[1]。今回、rTMSの10回連続刺激により、rTMSの持続的効果が得られる可能性について検討した。

方法：

対象は6ヶ月以上の罹病期間を持つ、片側性もしくは両側性の非拍動性耳鳴でTHI値が30以上を示す成人患者とした。

倫理委員会の認可を得た上で対象者より同意書に署名を得て行った。rTMS刺激はWassermannの国際ワークショップにおけるrTMSに関するガ

イドラインに基づき施行された[2]。磁気刺激は、Magstim Rapid®（Magstim社）と直径70mmの8の字型刺激コイルを用いた。

右短母指外転筋の運動閾値の110%を、刺激頻度は1Hz低頻度、刺激回数は1200回、刺激部位は左側頭葉Heschl回とした。この刺激条件にて月曜日から5日間連続で施行された後、土日をはさんで、更に5日間連続で施行され、計10回施行された。

治療効果判定には、耳鳴による苦痛度の評価としてNewmanのTinnitus Handicap Inventory (THI) の日本語訳と、耳鳴の大きさ、耳鳴の苦痛度のvisual analogue scale (VAS) を、状態不安と特性不安の指標としてstate-trait anxiety inventory (STAI) を、うつの指標としてself-rating depression scale (SDS) を用いた。それぞれ治療前と治療後1日、1週間、1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月において評価した。

統計的解析は一標本の差の検定で有意水準5%としてなされた。

結果：

本研究に組み込まれた症例は慢性耳鳴患者9例（男性6名、女性3名）で、平均年齢58.9歳（38-80歳）、平均罹患期間 5.2 ± 3.8 年、耳鳴優位側は

右3例、左4例、中央1例であった。

治療前のTHIは 58.7 ± 20.8 点、VAS（大きさ） 81.2 ± 7.5 mm、VAS（苦痛度） 83.7 ± 14.4 mm、SDS 41.6 ± 6.6 点、STAI（状態） 57.7 ± 9.4 点、STAI（特性） 45.7 ± 10.2 点であった。単回刺激において耳鳴の苦痛度への効果が確認された刺激後1週間において、THIの変化率は -21.94% と連続刺激においても効果が確認された。更に、刺激後6ヵ月においても -20.91% とその効果の持続が確認された。THIの改善に加え、状態不安の指標であるSTAI（状態）も改善を示した。THIの改善に遅れて、刺激後1ヵ月において -12.8% と改善を認め、6ヵ月においても -13.6% と効果の持続がSTAI（状態）においても確認された。

考察：

本研究において、低頻度rTMSの単回刺激で得られた一過性の効果が連続刺激により、用量依存的に効果持続を得られる事が確認された。これまでに、KleinjungやLondero等による低頻度連続刺激の報告がなされており、その効果の持続は5日から6ヶ月と幅広い結果が示されている [3,4]。本研究では効果持続が6ヶ月を認めており、これまでの報告と比較して良好な結果と考えられる。また、STAI（状態）の改善を認めたという事はrTMSが情動領域にもその効果を示した可能性を示唆する。実際に、耳鳴におけるfMRIの検討において聴覚野と情動に関連する領域との機能的神経結合が強まっている所見を示す報告がなされている [5]。また、前頭頂野といった情動領域へのrTMS直接刺激が耳鳴苦痛度の軽減に効果的であるとの報告もなされている [6]。これらの報告は、本研究での結果を支持するものと考えられる。

この様に、耳鳴に対するrTMSの効果を示す結果が示されたが、耳鳴抑制効果には個人差があり、更に時間経過とともにその効果が減弱する。維持療法としてのfMRIについての検討が必要になると思われた。また、刺激部位についても様々な報

告がなされており、今後、fMRI等の脳機能画像による最適な刺激部位の評価も必要と思われた。

学会発表：

1, 慢性耳鳴に対する反復性経頭蓋磁気刺激の治療効果評価

渡部高久, 神崎晶, 新田清一, 岡本康秀, 小川郁他.
日本聴覚医学会総会・学術講演会. 2012.10. 京都

参考文献：

- 1, Minami SB, Shinden S, Okamoto Y, Watada Y, Watabe T, Oishi N, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) for treatment of chronic tinnitus. *Auris Nasus Larynx*. 2011 Jun ; 38 (3) :301-6.
- 2, Wassermann EM. Risk and safety of repetitive transcranial magnetic stimulation: report and suggested guidelines from the International Workshop on the Safety of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, June 5-7, 1996. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1998 Jan ; 108 (1) :1-16.
- 3, Kleinjung T, Eichhammer P, Langguth B, Jacob P, Marienhagen J, Hajak G, et al. Long-term effects of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in patients with chronic tinnitus. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005 Apr ; 132 (4) :566-9.
- 4, Londero A, Lefaucheur JP, Malinvaud D, Brugieres P, Peignard P, Nguyen JP, et al. [Magnetic stimulation of the auditory cortex for disabling tinnitus: preliminary results] . *Presse Med*. 2006 Feb ; 35 (2 Pt 1) :200-6.
- 5, Kim JY, Kim YH, Lee S, Seo JH, Song HJ et al. Alteration of functional connectivity in tinnitus brain revealed by resting-state fMRI? A pilot study. *Int J Audiol*. 2012 May ; 51

(5) :413-7.

6, Kleinjung T, Eichhammer P, Landgrebe M, Sand P, Hajak G, Teffens T et al. Combined temporal and prefrontal transcranial magnetic stimulation for tinnitus treatment: a pilot study. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008 Apr ; 138 (4) :497-501.

脳磁図、機能的核磁気共鳴画像、磁気刺激、深部電極刺激を用いた時間的情報処理に関わる脳内情報機構の総合的検討、および神経疾患における病態解明に関する研究

(Comprehensive investigation into the neural network required for temporal processing in humans using magnetoencephalography, functional magnetic resonance imaging, transcranial magnetic stimulation, and deep brain stimulation)

東京大学 医学部附属病院 神経内科 寺 尾 安 生

目的

脳による時間の情報処理には、時間の長短を判断したり（時間の認知）、提示されたのと同じ長さの時間を再現する（時間の再生）、またある時点と別の時点が同時、あるいはどちらが先か、という判断をする（時間的統合）能力などがある。時間的統合では我々の脳は時計のように連続的に時間を計測しているわけではないので、どのくらいの時間の長さを“一塊り”の時間（時点）として認識できるかが重要となる。この時間の長さ以下の時間は一つの“塊”として捉えられるが、その長さを超えると一塊りの時間としては認識しにくい時間の限界があり、正常人では2-3秒とされる。

本研究では、大脳基底核や小脳などが障害される神経疾患で、時間的統合の異常を明らかにすることを目的とした。まず脊髄小脳変性症（SCD）やパーキンソン病（PD）の患者でタッピング課題を施行し、年齢をマッチした正常者と比較した（研究1）。また未治療のPD患者にL-dopa 200mgを投与した前後で時間的統合能力がどう変化するか検討した（研究2）。最後に時間的統合への大脳皮質の関与について検討するため、時間的統合課題を行っている間の脳活動を脳磁図計を用いて計測した（研究3）。

方法

1) 対象

研究1：純粋小脳型のSCD患者15名（SCA6 9名、SCA31 6名）、PD患者 20名、年齢をマッチした健常者 15名。研究2：未治療のPD患者 14名。研究3：PD患者 5名、年齢をマッチした健常者 9名。

2) 課題

被験者に一定の間隔で鳴る音（持続50ms）を100回程聞かせ、その音と丁度一致するタイミングでキーボードをボタン押しさせるタッピング課題を用いた（Mates et al., 1994）。音が鳴る間隔（inter-stimulus interval, ISI）は200ms（5Hz）から5秒に一回（0.2Hz）までのテンポとした。

脳磁図の検討では被験者には数秒間離して2つの音のペア（S1-S2とS3-S4）を聞かせ、各々の音に対応する両半球の聴覚野の早期成分（N1）を計測した（安東ら、2010）。第一、第二のペア音の間隔（ISI）は同じとしたが、試行ごとに変化させた。第一のセッションでは特別な教示は与えず、ペア音を受動的に聞かせた。第二のセッションでは、4つの音のうち最後の四番目（S4に相当）の音だけは提示せず、被験者に丁度S1-S2、S3-S4の間隔が同じになるようなタイミングでボタンを押すように指示した。検査中、被験者には

正面のモニター中央の+印を注視させ、目が動いていないか眼球運動をモニターした。S2/S1、S4/S3という2つの比率を計算、この比率の変化をPD患者と健常者と比較した。若年健常者では、第二のセッションでは第一のセッションと比較して、通常みられるS2/S1に対するS4/S3の比率の減衰の程度がISI1-2秒で小さくなるとされ、被験者の時間的予測を反映するとされている(安東ら、2012)。

結果

研究1.小脳患者における時間的統合の能力

ISIが長くなるにつれ、ボタン押しは音のなるタイミングと一致するか、やや先行する状態から、音よりわずかに遅れる状態になった。この移行が起きるISI(「移行帯」)はSCD群では $3273.5 \pm 1349.7\text{ms}$ (mean $\pm$ standard error) 程度であり、健常者では $3679.2 \pm 1396.2\text{ms}$ だった。移行帯は有意にSCD群で短かった ($p < 0.05$)。PD患者でもばらつきはあるものの、移行帯は正常者と比較しやや短かった ($3216.7 \pm 1392.1\text{ms}$)。

研究2.時間的統合の限界に対するl-dopaの治療効果

L-dopa投与後の移行帯は、投与前と比較して有意に変化しなかった。

研究3.脳磁図を用いた時間的統合能力の加齢性変化・神経疾患における変化

PD患者において、二つ目のペア音のN1の振幅の減衰率(S4/S3)は、一つ目の音のペアの減衰率(S2/S1)に比較して有意に変化しなかった。年齢をマッチした健常高齢者でも同様の結果だった。

考察

本研究では、神経疾患患者において時間的統合の能力への大脳基底核・小脳の関与について検討した。

研究1では移行帯に反映される時間的統合能力の限界は、小脳疾患患者・PD患者では短くなることを示した。研究2で未治療のPD患者でl-dopaの投与は時間的統合の能力に影響を与えないことを示した。以上よりこの課題で検討した時間的統合能力は、大脳基底核・小脳の機能を反映する可能性があると考えた。

脳磁図による検討では、時間的統合における加齢性変化や神経疾患における変化についてははっきりした結論を導きだすことはできなかった。高齢者においては、そもそも脳磁図記録下での課題施行自体がむずかしく、N1の振幅に影響する形では、はっきりした効果が出なかったものと思われる、今後課題作成を工夫する必要がある。

発表

松田俊一、古林俊晃、福田秀樹、花島律子、辻省次、宇川義一、寺尾安生. 脊髄小脳変性症における同期タッピング課題の検討. 神経学会学術大会2013年5月(発表予定)

文献

Rao SM et al. Distributed neural systems underlying the timing of movements. J Neurosci 1997 ; 17:5528– 5535.

Mates J et al. Temporal integration in sensorimotor synchronization. J Cogn Neurosci 6: 332-340, 1994.

安東 恵他.時間予測と聴覚N1m応答.第13回 日本薬物脳波学会.2010年6月.

高感度生体磁場計測装置を用いた 肺静脈興奮の非侵襲的評価

(Noninvasive evaluation of pulmonary vein activity
using high-sensitive biomagnetometer system)

東京医科歯科大学大学院 保健衛生学研究科 生命機能情報解析学 笹野哲郎

目的

心房細動は世界で最も頻度の高い頻脈性不整脈であり、脳梗塞・心不全を高率に合併して Quality of life を低下させる。近年の研究により、心房細動は左心房に接合している肺静脈内の異常興奮を契機として発症することが判明した。この知見により、左心房-肺静脈の接合部にカテーテルを挿入し、カテーテル先端より高周波通電を行って左心房と肺静脈の間を電氣的に隔離する、肺静脈隔離術（PVI）が行われている。PVI は心房細動治療に一定の成果を上げているが、肺静脈隔離術後も一定の割合で心房細動の再発は見られる。心房細動再発の際、それが電氣的隔離をした左心房-肺静脈間の伝導が再開したためか、他の原因によるものかは、治療戦略の上で大きな問題となるが、その判定は困難である。

また、心房細動の発症には遺伝的傾向があり、肺静脈興奮が強い場合は心房細動になりやすいと考えられているが、肺静脈興奮を簡便に評価する方法がないため、詳細な検討はなされていない。

以上より、心房細動治療を考える上では、肺静脈興奮をより正確に評価することが望まれる。しかし、現在の技術では左心房や肺静脈の興奮を検出するには心房中隔穿刺をしてカテーテルを留置

する必要がある、高度の侵襲を必要とするのが現状である。本研究は、この点を克服し、完全に非侵襲で肺静脈興奮を評価することを目的とした。

方法

PVI のために東京医科歯科大学に入院した発作性心房細動患者20人と、健常者10人を対象とした。被験者には測定方法および結果の用途を説明し、同意を得た。発作性心房細動患者10名においては、術後にも同様に測定を行った。

測定には高感度ベクトル心磁計（VMCG）を使用した。高域通過フィルタ：10Hz、低域通過フィルタ：1kHz、サンプリング周波数5kHzとした。

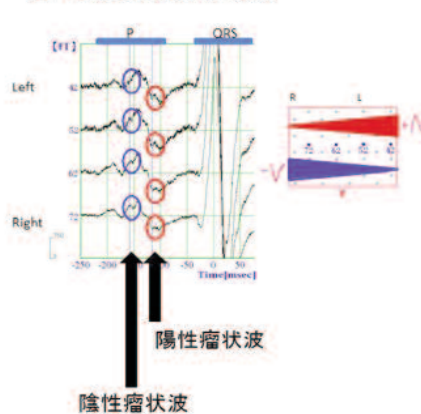
体の位置は、被験者の第4肋間正中部がセンサー中心部と一致するように調整した。体とセンサーとの位置関係の確認はX線写真で確認し、さらに位置推定マーカーを用いて、センサー中心部が第4肋間正中部にあることを毎回確認した。

心磁計測は、洞調律時に仰臥位で2分間ずつ行い、測定した生波形はR波のピークをトリガーとして加算平均し評価した。また、II誘導心電図の同時記録を行い、P波の立ち上がりを基準に心磁波形における興奮の時相を評価した。

結果

PVIは全例で成功し、肺静脈興奮が消失したことを確認した。術前のVMCGでは、左肺静脈直下に位置するy方向センサーより心房興奮終末部に陽性瘤状波が認められ、右肺静脈直下に位置するセンサーからは心房興奮の中間部に陰性瘤状波が認められた（図1）。Y方向センサーにおける陽性波は右→左の興奮を示し、陰性波は左→右の興奮を反映することから、これらの瘤状波は心房から左右肺静脈にそれぞれ伝導している興奮と考えられた。心電図のP波の立ち上がりから陽性・陰性瘤状波が出現するまでの時間を計測し、PVI術中に心内に位置したカテーテルより直接記録した肺静脈興奮の時相と比較したところ、陽性瘤状波は左肺静脈興奮と、陰性瘤状波は右肺静脈興奮と有意な相関が得られた（図2）。PVI術後の記録ではこれらの瘤状波は消失していた。10名の健常者の記録では、5名より明らかな陽性または陰性の瘤状波が検出されたが、残りの5名では瘤状波は認められなかった。

図1 陽性及び陰性瘤状波



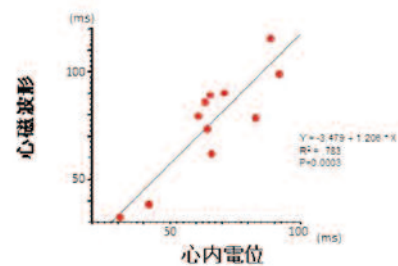
考察

本研究は、我々の知りうる限り、非侵襲的に肺静脈興奮を検出した、初めての報告である。VMCGにより検出された陽性あるいは陰性瘤状波は、以下の所見より肺静脈興奮を反映していると考えられた。1) 瘤状波は発作性心房細動患者全てでみられた。2) 陽性瘤状波は左肺静脈直下のセンサーで最も大きい振幅を示し、陰性瘤状波

は右肺静脈直下のセンサーで最も大きく認められた。3) PVIの手術後にはこれらの瘤状波は消失した。4) 心電図のP波を基準として陽性・陰性瘤状波の時相を計測すると、カテーテルを用いて記録した肺静脈興奮の時相と高い相関が見られた。

健常人の半数ではこれらの瘤状波が見られなかった。瘤状波の見られない症例は、肺静脈興奮がないか、あるいは弱いことが予想され、心房細動のリスクが低いと考えられる。この点については今後の経過観察が必要と思われた。

図2 陽性・陰性瘤状波と心内電位の時相の相関



発表

- 1 Sasano T, et al. Noninvasive Detection of Pulmonary Vein Activity by Novel High-Sensitive Vector Magnetocardiography. 第76回日本循環器学会 福岡
- 2 Sasano T, et al. Noninvasive Detection of Pulmonary Venous Excitation by Novel High-Sensitive Vector Magnetocardiography. Heart Rhythm Society meeting, Boston, USA.
- 3 笹野 哲郎、他. 高感度ベクトル心磁計を用いた肺静脈興奮の非侵襲的評価. 第27回日本不整脈学会 横浜
- 4 Sasano T, et al. Noninvasive Assessment of Local Excitation in Pulmonary Vein and Left Atrium by Novel High-Sensitive Magnetocardiography. Asia-Pacific Heart Rhythm Society meeting, Taipei.

慢性極低周波変動電磁界曝露による マウス副腎皮質への直接刺激作用の検討

(Does chronic ELF-MF exposure directly stimulates adrenal cortex in mice?)

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 生理機能学分野 北 岡 和 義

目的

極低周波変動電磁界 (ELF-MF) は主に送電線や家庭用電気機器より発せられている50ないし60 Hzの周波数を持つ電磁界である。ELF-MFが生物学的な影響を生体に与えるかについては培養細胞、動物モデル、ヒトにおける実験的研究や疫学研究によって多くの検討がなされているが、いまだ結論を出すには至っていない。一方、我々は本助成金申請の段階で、ELF-MFの慢性曝露がマウスにおいて視床下部-下垂体-副腎 (HPA) 軸を亢進させることなくコルチコステロン分泌およびうつ様行動を誘導することを見出している(1)。そこで本研究は、ELF-MF曝露が合成経路においてコルチコステロンの下流に位置するアルドステロンの分泌やそれにより調節される血圧にも影響するか、さらにその副腎ステロイド分泌の増加は ELF-MF曝露による副腎皮質への直接作用であるかについてマウス個体、およびマウス副腎皮質由来Y-1細胞を用いて明らかにすることが目的である。

方法

In vivo 実験

実験にはICRオスマウス (ELF-MF曝露開始時

点で4週齢) を用いた。ELF-MF曝露は自作のELF-MF曝露装置を用い、3mT強度で1日あたり8時間を25日間続け、計200時間の曝露となるまで行った。疑似曝露群においてはコイル以外は同様の構造を持った疑似曝露装置を用いて同様の期間曝露を行った。200時間のELF-MFおよび疑似曝露後、マウス用非観血式血圧測定装置 (BP-98、ソフトロン社) を用いて収縮期、拡張期、平均血圧および心拍数の測定を行い、その後断頭を行い血漿、視床下部、下垂体、副腎を採取して各種定量を行った。

In vitro 実験

実験にはマウス副腎皮質由来Y-1細胞株 (RBRC-RCB533) を用いた。Y-1細胞はRPMI1640培地+10%ウシ胎児血清を用いて 2×10^5 cell/dishで撒き込み、 37.0 ± 0.5 °C、5 % CO₂濃度で4日間培養を行った。そしてコンフルエントに達したY-1細胞に対して3mT強度のELF-MFおよび疑似曝露を6, 12, 24, 48時間行った。曝露後、それぞれのdishの細胞数を血球計算盤を用いて計測し、その後培地とY-1細胞中のtotalRNAを採取して各種定量を行った。

結果・考察

本研究において200時間のELF-MF曝露を受けたマウスは疑似曝露群と比較して拡張期および平均血圧（図1）と血漿中コルチコステロン、アルドステロン（図2）の有意な上昇を示した。一方、HPA軸（血漿ACTH [図2]、視床下部Crhおよび下垂体PomcmRNA）および副腎髄質ホルモンであるノルアドレナリンや*Avp*mRNAといった血圧調節に関わる他のホルモンには影響は見られなかった〔データ不掲載〕。

Y-1細胞を用いた*in vitro*実験においても、24時間および48時間のELF-MF曝露を行ったY-1細胞は疑似曝露群と比較して有意なコルチコステロン、アルドステロン分泌の増大を示した（図3）。さらに、24時間のELF-MF曝露Y-1細胞では、副腎ステロイド合成酵素のうち、*Cyp11a1*および*Cyp11b2*のmRNA発現量が有意に上昇していた（図4）。アルドステロンの産生は今回発現が増強された2つの酵素が重要な合成過程であることが知られている（2）。

今回の申請研究から得られた結果は高強度、かつ慢性のELF-MF曝露が副腎皮質のホルモン合成を直接刺激することで、先行研究で認められた様なうつ様行動や本研究で示された血圧上昇作用を誘導していることを強く示唆している。

このELF-MFにより誘導されるステロイドホルモン合成作用が発生する機序については明らかではないが、先行研究においてELF-MF曝露が活性酸素種（ROS）を誘導し、それにより調節される細胞内カルシウムイオンや上皮成長因子受容体（EGFR）シグナル系を介して細胞増殖や分化が誘導されることが報告されている（3, 4）。このことから、本研究においてもそのようなROSにより調節されるシグナル伝達系が副腎ステロイド合成酵素の発現機序とクロストークを起こしている可能性が推察される。

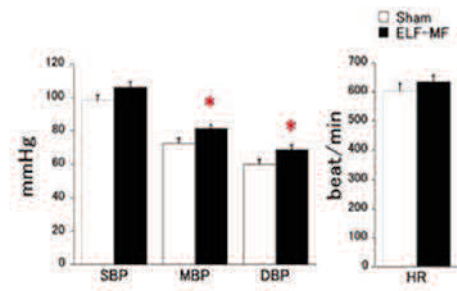


図1. マウスにおける200時間ELF-MF曝露の血圧、心拍数への影響

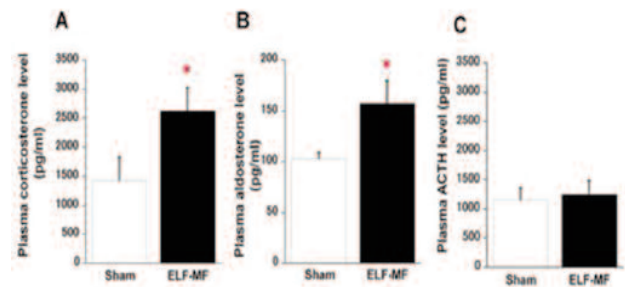


図2. マウスにおける200時間ELF-MF曝露の血漿中コルチコステロン、アルドステロン、ACTH濃度への影響

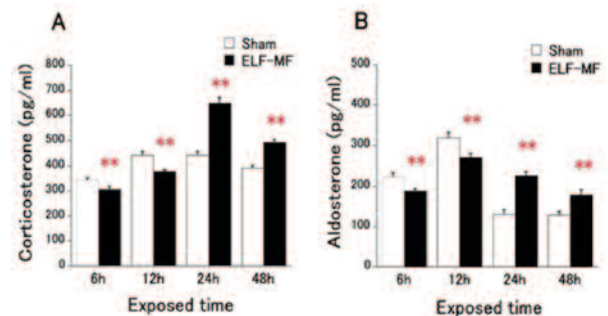


図3 Y-1細胞のコルチコステロン、アルドステロン分泌に対するELF-MF曝露の影響

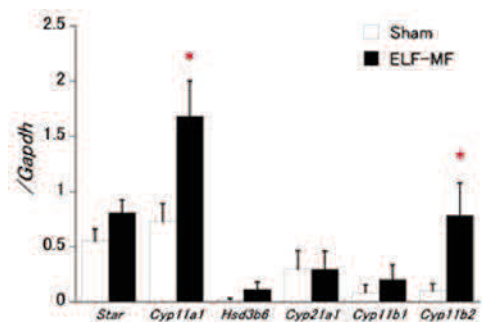


図4 Y-1細胞における副腎ステロイド合成酵素群mRNA発現量の24時間ELF-MF曝露による影響

発表

1. 青井 駿、北岡 和義、北村 光夫、清水 紀之、吉崎和男 極低周波変動磁界の慢性暴露はマウスにおいて副腎皮質ホルモン分泌を増強させる 第27回日本生体磁気学会大会
2. Kitaoka K, Kitamura M, Aoi S, Shimizu N, Yoshizaki K. Chronic exposure to an extremely low-frequency magnetic field induces depression-like behavior and corticosterone secretion without enhancement of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in mice. *Bioelectromagnetics*. 2013 Jan ; 34 (1) :43-51.

文献等

- [1] Kitaoka K, Kitamura M, Aoi S, Shimizu N, Yoshizaki K. Chronic exposure to an extremely low-frequency magnetic field induces depression-like behavior and corticosterone secretion without enhancement of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in mice. *Bioelectromagnetics*. 2013 Jan ; 34 (1) :43-51.
- [2] Williams GH. Aldosterone biosynthesis, regulation, and classical mechanism of action. *Heart Fail Rev*. 2005 Jan ; 10 (1) :7-13.
- [3] Morabito C, Guarnieri S, Fanò G, Marigliò MA., Effects of acute and chronic low frequency electromagnetic field exposure on PC12 cells during neuronal differentiation. *Cell Physiol Biochem*. 2010 ; 26 (6) :947-58
- [4] Park JE, Seo YK, Yoon HH, Kim CW, Park JK, Jeon S., Electromagnetic fields induce neural differentiation of human bone marrow derived mesenchymal stem cells via ROS mediated EGFR activation. *Neurochem Int*. *In press*.

体表面心磁図を用いたブルガダ症候群における 突然死リスクの非侵襲的評価方法の確立

(Noninvasive Evaluation of Arrhythmic Substrate in the Brugada syndrome
using High Resolution Magnetocardiography)

国立循環器病研究センター 心臓血管内科・不整脈科 相庭 武司

【目的】

Brugada症候群は心電図上の右側胸部誘導のST上昇と心室細動（VF）を主徴とする疾患であり、日本人の中高年男性の突然死の原因として重要である。その心電図上特徴的なST上昇とVF発生の機序については、右室流出路心外膜側の活動電位変化と伝導障害が重要とされている。一方で心電図からその重症度や予後を予測することは困難である。さらには、これまで全くVFなどの既往のないBrugada型心電図は日本人の約0.5%に認められ、このような無症候性Brugada患者に対する突然死のリスクを如何に評価するかは重要な問題である。

Brugada症候群ではNaチャンネル遮断薬によってST上昇が顕在化することが知られている。我々は体表面電位図を用いた解析により、Brugada症候群におけるNaチャンネル遮断薬のST上昇の空間的分布を報告した¹⁾。しかしながら体表面電位図は心表面から体表面までの異なる体積抵抗率の組織（肺、骨、血液など）と空気の多い肺が存在するため、心臓内の電位分布と体表面電位が直接対応することは難しい。

一方、磁場に関する透磁率は生体内でほぼ一定のため心磁図では心臓内の電流と電位との関係をより正確に計測することが可能である。我々は心

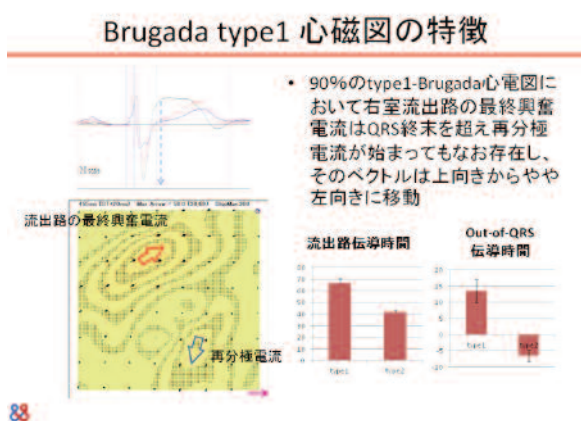
磁図を用いた新しい非侵襲的な診断方法が、様々な不整脈や心不全などの循環器疾患の患者の病態や予後予測に有用であることを報告してきた。^{2,3)}そこで本研究では、Brugada症候群におけるNaチャンネル遮断薬による心臓内の興奮伝導の変化を心磁図を用いて非侵襲的かつ定量的に測定することで同症候群のVF発生リスクの評価方法を確立することを目的とする。本研究ではBrugada症候群患者に対するNaチャンネル遮断薬負荷の効果について心磁図を使用し高空間分解能で非侵襲的に心内の伝導障害の局在、あるいは再分極異常の程度について定量的に明らかにする予定である。

【方法】

対象はBrugada症候群患者（N=90,症候性20例、無症候性70例）および対照群（健常者）。Brugada症候群患者（症候性、無症候性）および対照群（健常者）で、負荷前（baseline）の心磁図と心電図を記録した後、Naチャンネル遮断薬のpilsicainideを25mg～最大50mg静注し再度心磁図・心電図記録を行う。その後、 β 受容体刺激薬 isoproterenol（1 μ g/min）を点滴し定常状態に達した後心磁図・心電図を記録する。得られた波形は加算平均と基線補正を行い、電流アロー図にて表示する。

【結果】

- 1) Type 1 (Coved型ST上昇) のBrugada症候群患者ではType2 (saddle back型) に比べてQRS幅が広く (108 ± 20 vs. 101 ± 10 ms; $p < 0.05$)、QRS終末の最大電流値が大きく (52 ± 20 vs. 41 ± 22 pT/m; $p = 0.06$)、右室流出路における伝導時間が延長していた (OT伝導時間 66 ± 30 vs. 41 ± 12 ms; $p < 0.001$)。
- 2) Naチャンネル遮断薬のpilsicainide (50mg) を静注するとType-1 ECGが顕在化すると同時に、右室流出路の伝導時間は著明に延長した (OT伝導時間: 54 ± 18 ms $\rightarrow$ 127 ± 62 ms; $p = 0.01$)。一方でこれに β 受容体刺激薬isoproterenol ($1 \mu\text{g/kg/min}$) を追加するとこのようなQRS超の流出路電流は消失し (OT伝導時間 = 61 ± 12 ms) 心電図ST上昇は正常化した。
- 3) ほとんどのtype1-Brugada心電図において右室流出路の最終興奮電流はQRS終末を超え再分極電流が始まってもなお存在し、そのベクトルは上向きからやや左向きに移動していた (下図)。



- 4) 右室流出路伝導時間が遷延 (> 50 ms) していた患者ではそうでない患者よりも、電気生理学的検査 (プログラム刺激) によって高率にVFが誘発された (80% vs. 10% $p < 0.05$)。
- 5) 遺伝子検査の結果、SCN5Aの変異陽性例では同陰性例に比べてQRS幅の延長を認めた ($p < 0.05$) が、OT伝導時間、QRS終末の最

大電流値には両者で有意な差は認められなかった。

【考察】

我々はBrugada症候群に伴う心室細動発生の細胞学的機序を解明するため、イヌ動脈灌流右室心筋切片におけるBrugada 症候群モデルを開発し、高分解能の光マッピング法を用いてST上昇過程並びにVF発生の機序を解析した⁴⁾。その結果、右室心外膜側における活動電位変化がある閾値を超えるとphase-2 reentryと呼ばれる期外収縮が発生し、さらに伝導障害が加わるとVFに移行することが判明した。この結果はBrugada症候群患者の実際の右室心外膜側の単相性活動電位記録でも証明され⁵⁾、さらに右室流出路心外膜側の広範囲なカテーテル焼灼によりBrugada型症候群が治癒したとの報告⁶⁾ にも矛盾しない。

さらに我々はBrugada症候群患者におけるリスク評価方法として、1) 電気生理学的なVF誘発法の利点や問題点について⁷⁾、2) Naチャンネル遮断薬の負荷検査の効果⁸⁾、3) 運動負荷検査法の利点⁹⁾、4) Naチャンネル遺伝子SCN5Aの異常との関係¹⁰⁾ などについて報告した。しかしながら、現在でも突然死の予測因子としては、過去のVFの既往や突然死の家族歴の他は決め手がないのが現状である。

本研究結果からBrugada症候群におけるCoved型ST上昇には右室流出路の機能的な伝導異常が関係している可能性が示唆され、また同異常と心室細動の誘発性には密接な関係にあり同異常が心室細動の基質として重要であると考えられた。心磁図検査によって非侵襲的にこのような異常電流を検出することは、同症候群における突然死の危険性を非侵襲的に評価し得る可能性がある。今後さらに症例数を増やし、また不整脈イベントについてフォローアップのデータを集積することにより、無症候性Brugada患者の重症度、予後予測因子の一つとして患者のスクリーニングに有用ではないかと思われる。

参考文献

- 1) J Cardiovasc Electrophysiol.11:396-404:2000
- 2) Ann Noninvasive Electrocardiol. 2008,13 (4) :391-400.
- 3) Ann Noninvasive Electrocardiol. 2010 15 (4) 360-8
- 4) J Am Coll Cardiol. 2006 May 16 ; 47 (10) :2074-85.
- 5) J Am Coll Cardiol. 2002 Jul 17 ; 40 (2) :330-4.
- 6) Circulation 2011 ; 123:1270-1279
- 7) Heart Rhythm. 2012 Feb ; 9 (2) :242-8.
- 8) J Cardiovasc Electrophysiol. 2000 Dec ; 11 (12) :1320-9.
- 9) J Am Coll Cardiol. 2010 Nov 2 ; 56 (19) :1576-84.
- 10) Am J Cardiol. 2007 Aug 15 ; 100 (4) :649-55.

平成24年度 研究助成テーマ

平成24年度は、以下のように、基礎4名・応用1名・テーマ指定5名の研究に対し助成が決定いたしました。

I. 基礎研究

I -1. 高機能性ナノ粒子プローブを用いたin vivo酵素活性のMRIによる可視化

大阪大学大学院 工学研究科 生命先端工学専攻／水上 進

I -2. 分極ハイドロキシアパタイトによる骨形成促進効果の分子細胞レベルでの解明

慶応義塾大学 医学部 腎臓内分泌代謝内科／大庭 聖子

I -3. 必要な時だけ体外から磁気駆動する超小型軽量右心補助人工心臓

東北大学 加齢医学研究所／山家 智之

I -4. がん細胞選択性磁気ナノ微粒子の創生と磁気ハイパーサーミア効果の検証

横浜国立大学大学院 工学研究院／一柳 優子

II 応用研究

II -1. 核磁気共鳴吸収法（MR）を用いた新規抗癌剤の開発

滋賀医科大学 MR医学総合研究センター／中谷 仁

III. 指定テーマ研究

III -1. 低周波電磁波が細胞内のカルシウムイオン濃度調節系を乱す分子メカニズムの解明

埼玉医科大学 医学部／駒崎 伸二

III -2. 小脳反復磁気刺激が大脳皮質に与える影響の研究

宮崎大学 医学部 内科学講座 神経呼吸内分泌代謝学分野／望月 仁志

III -3. 感覚運動野への低頻度反復磁気刺激による触覚域値の変化

名古屋大学大学院 医学系研究科 リハビリテーション療法学専攻／野瀧 一平

III -4. 交番磁気治療器の臨床評価と高機能磁気治療器の開発研究

北里大学 医学部 公衆衛生学／堤 明純

III -5. 運動誘発性筋損傷に対する磁気刺激の効果

日本体育大学 健康学科／中里 浩一

なお、所属は研究助成決定当時のものです。

助 成 研 究 成 果 報 告 書

平成23年度

発 行 日 平成25年8月8日

発 行 所 公益財団法人 磁気健康科学研究振興財団
福岡県福岡市中央区天神1-13-17
TEL 092-724-3605
FAX 092-724-3605

印 刷 三栄印刷株式会社

より明瞭なカラーデータの図表をご希望の方はサイト(<http://www.maghealth.or.jp/>)に掲載しておりますのでご覧下さい。