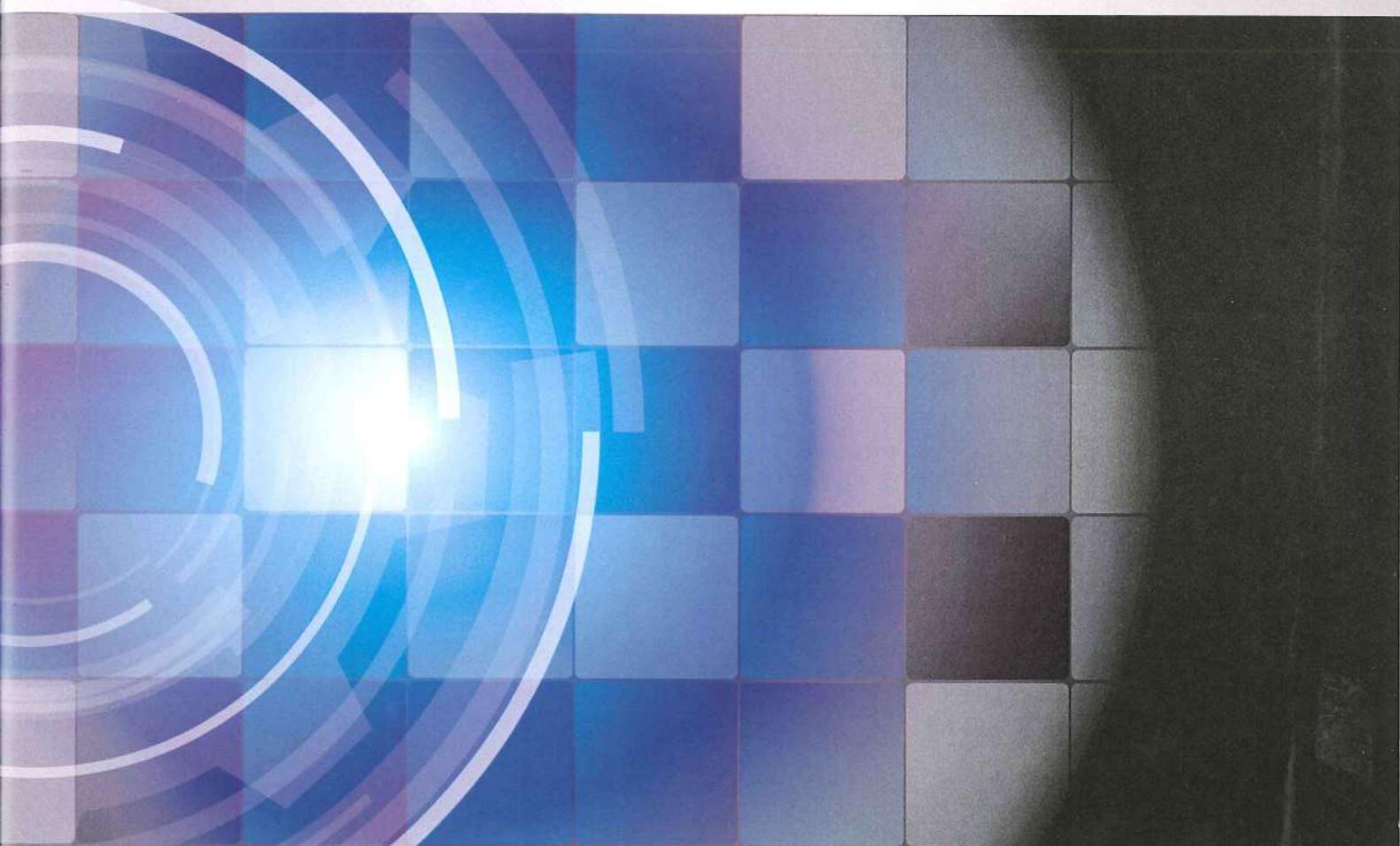


会報24号

2012年4月発行

磁気と健康



Information
on The
Magnetic
Health Science
Foundation

公益財団法人 磁気健康科学研究振興財団

1.強定常磁場を用いた筋管の配向 1

(京都大学 生存圏研究所 櫻井 智徳)

1. 背景

2. 実験装置

3. 細胞培養と筋管への分化誘導

4. 結果

5. 今後の展開

2.がんの早期診断を目指した

腫瘍ターゲティング型MRI造影剤の開発 6

(大阪大学大学院薬学研究科 薬剤学分野 向 洋平)

1. 研究背景:がんに対する新規MRI造影剤の開発

2. 腫瘍ターゲティング型MRI造影剤(PEG-Au/SPIO)のデザイン

3. PEG-Au/SPIOによる腫瘍MRI

4. 結論

5. おわりに

3.柔らかい脳 ー磁気刺激による神経調節の未来ー 11

(九州大学大学院 医学研究院脳研臨床神経生理 緒方 勝也)

1. 脳に優しい経頭蓋磁気刺激

2. 単発TMSと2連発TMS

3. 脳の興奮性を変える反復経頭蓋磁気刺激 (rTMS)

4. rTMSの非運動域への効果

5. 柔らかい脳をより有効に刺激するには

6. 磁気刺激法の問題点

7. 磁気刺激法の未来

理事・監事・評議員 18

研究助成金授与者 19

強定常磁場を用いた筋管の配向

櫻井 智徳 京都大学 生存圏研究所

宮越 順二 京都大学 生存圏研究所

1.背景

「定常磁場」とは、磁場の向きが変化しない磁場のことである。

地球が磁石に例えられているように、地上には定常磁場が存在し、私達も日夜定常磁場にさらされている。地上の定常磁場の大きさは場所によって異なるが、およそ50マイクロテスラ（磁界の大きさは、磁束密度で表現され、単位は「テスラ」。以前使われていた「ガウス」と「テスラ」の関係は1テスラ=10,000ガウス）である。定常磁場の中でも、地上の磁束密度の20,000倍である1テスラを超える磁界は、「強定常磁場」と呼ばれ、我々の身近では、診断装置のMRI、リニアモーターカーなどに応用されている。

我々の体を構成している筋肉は筋繊維から構成されており、筋繊維は配向した筋管細胞から形成されている。事故などによって筋肉組織が大きく損なわれたり、ストレッチ運動等によって筋肉組織が傷害されたりすると、筋肉組織の再生が生じる。筋肉組織の再生は、筋肉幹細胞が増加し、筋細胞、筋管細胞等へと分化する工程を経る[1]。筋肉組織の損傷が大きい場合には、自然治癒力では筋肉組織の損傷を回復できない場合があり、このような状況を克服する有望な方法として、2000年頃からティッシュ・エンジニアリングと呼ばれる手法が検討されている[2]。ティッシュ・エンジニアリングは、iPS細胞の発明で最近再び脚光を浴びている再生医療の手法のひとつであり、体外で形成しておいた筋肉組織、もしくは筋肉に類似した組織を移植することで、筋肉組織の再生を、人工的、効果的に達成する手法である。この技術の現在の問題点の一つに、体外で分化誘導して作成される筋管細胞は、体内的筋管細胞と異なって、それぞれがランダムな方向に向いており、治療効果が十分でないことが挙げられている[3]。我々は、強定常磁場を用いることで、筋管組織の人工的な配向を検討している。強定常磁場によって細胞を配向させる方法は、筋肉細胞以外の細胞を用いて、先駆的な研究が報告されているが[4-7]、細胞の融合を伴う筋管の分化過程においても、分化に悪影響を及ぼさずに、かつ融合した多核細胞に対しても強定常磁場による配向の可能性を検討した結果について紹介する。

重盲検、ランダム化、シャムコントロール試験を実施した。

2.実験装置

今回の検討に用いた装置を図1に示す。この装置は、最大10テスラまでの定常磁場を発生することができ、かつ細胞培養に適した37°C 5%二酸化炭素+95%飽和湿度空気環境を、磁場が発生している空間に作り出すことができる装置である。ジャパンスーパークンダクタテクノロジー（株）が製造している定常磁場発生装置（JMTD-10T150M）をベースにして、磁場発生空間中へ、5%二酸化炭素+95%飽和湿度に調整した空気をエアーポンプで送り込み、さらに空間内を37°Cに制御するために、ウォータージャケットを導入して作製されている[8]。10テスラのような高い磁束密度は、一様な強度の磁界を広範囲の空間で実現することが技術的に非常に困難である。本装置も、中央付近で最大の10テスラを発生しているが、中央から離れるにしたがって磁束密度が低下していき、磁束密度が勾配を持っている。今回検討した磁場条件を表1にまとめた。我々の研究室では、磁束密度だけでなく、磁場の空間的な変化である磁場勾配（単位：テスラ/メートル）も、細胞に及ぼす影響を評価する指標として重要であることを見出しており、今回の検討でもこの2つの磁場因子を主眼として検討した。して二重盲検ランダム化比較試験により検討する。

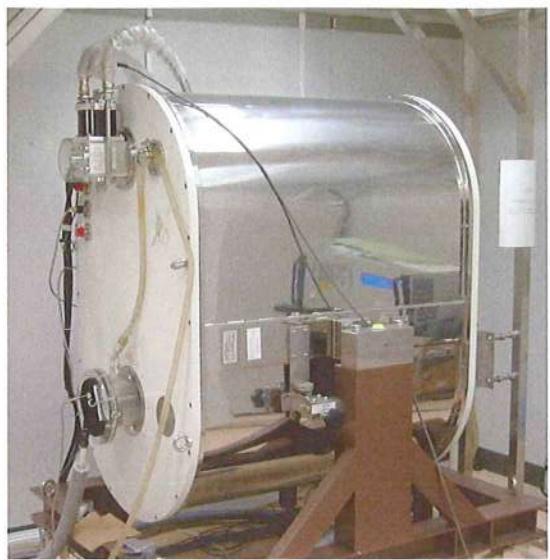


図1 強定常磁場ばく露装置写真

表1 磁束密度と磁場勾配

| ばく露位置 | 磁束密度 (テスラ) | 磁場勾配(テスラ/メートル) |
|-------|------------|----------------|
| 擬似ばく露 | 0 | 0 |
| 3T | 3 | 26.9 |
| 6T | 6 | 41.7 |
| 10T | 10 | 0 |

3.細胞培養と筋管への分化誘導

マウス由来筋芽細胞株C2C12を培養面積cm²当たり4×10⁴細胞の濃度でヌンク社製4ウェルプレートに播種した。10%牛胎児血清(FBS)を含むDMEM培地中、37.0°C、5%二酸化炭素+95%飽和湿度空気下で24時間培養後、FBS含有量を2%に減少させ、筋芽細胞から筋管へと分化誘導した。分化誘導は、2日毎に培地を交換しながら、4または5日間行なった。磁場ばく露は分化誘導中に、表1に示す各ばく露位置で行なった。

評価は、免疫染色の技法を用いて行なった。ばく露直後、細胞を4%パラホルムアルデヒドで固定し、10%ヤギ正常血清を用いてブロッキング後、抗ミオシンモノクローナル抗体を1時間室温で反応させた。その後、二次抗体であるローダミン修飾抗マウスIgG抗体を30分間室温で反応させ、DAPIで細胞核を染色後マウントした。その後、細胞の配向状況を蛍光顕微鏡で観察した。筋管細胞の磁力線方向に対する配向の定量はImage Jソフトウェアの角度測定機能を用いて行ない、抗ミオシン抗体陽性エリアの面積はSlide Bookソフトウェアのマスク機能を用いて行なった。

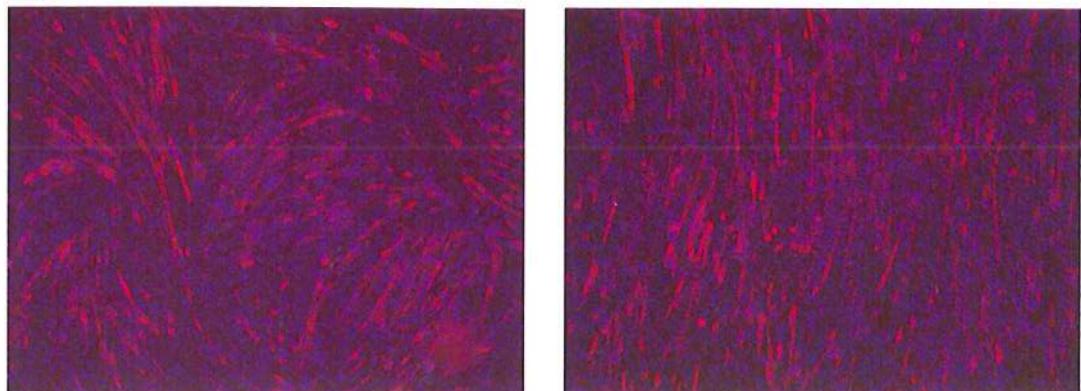
4.結果

蛍光免疫染色の画像を図2に示す。赤色に染まっている筋状のものが筋管に分化した細胞（細胞同士が融合した多核の細胞）で、青色に染まっている丸状のものが細胞核である。磁場ばく露していない場合と比較して、10テスラばく露下で分化誘導した場合には、筋管細胞が一定方向に並んでいることが観察された。筋管細胞の伸展している方向を、磁力線方向を0°とし、磁力線と筋管細胞がなす角度を測定して定量した結果を図3、4に示す。磁束密度依存性を指標とした結果を図3に、磁場勾配依存性を指標とした結果を図4に示す。図の左側、磁力線方向からずれている角度の絶対値の平均値は、値の小さい方が磁力線方向に筋管細胞が揃っていることを示し、より配向度が高い。図の右側、磁力線方向からのずれの偏差は、値が小さいほど筋管の向きにはらつきがなく、配向度が高いことを示す。

図3から、分化誘導期間4日、5日ともに、磁束密度が高いほど、形成される筋管細胞の配向が高いことが示される。一方、図4から、磁場勾配は、筋管細胞の配向に明確な影響を与えていないことが示される。

磁場中での分化誘導、配向による影響が筋管細胞への分化度に影響を及ぼしていないか評価するためには、抗ミオシン抗体陽性エリアの面積を定量した。結果を図5に示す。強定常磁場ばく露により、筋管形成量に差は生じなかった。

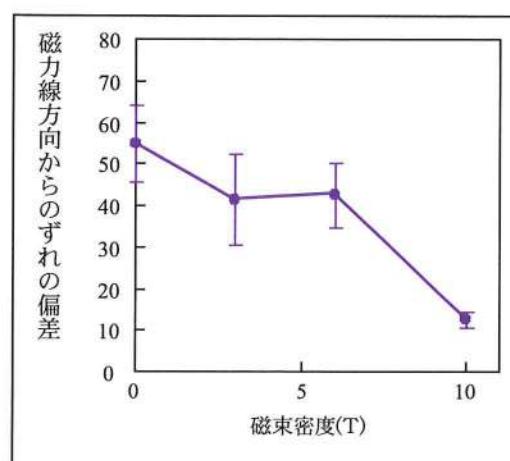
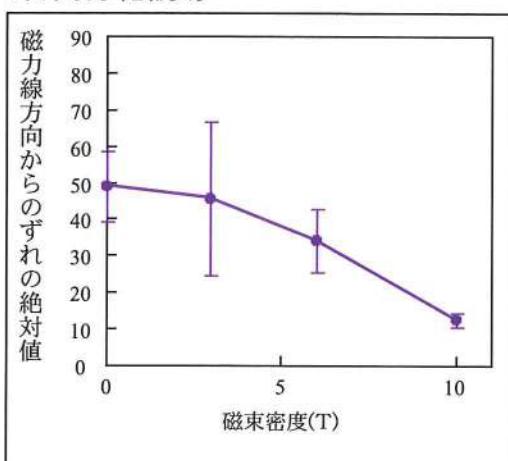
図 2



免疫染色画像。擬似ばく露位置（左）

10テスラ位置（右）対物レンズ10倍

4日間分化誘導



5日間分化誘導

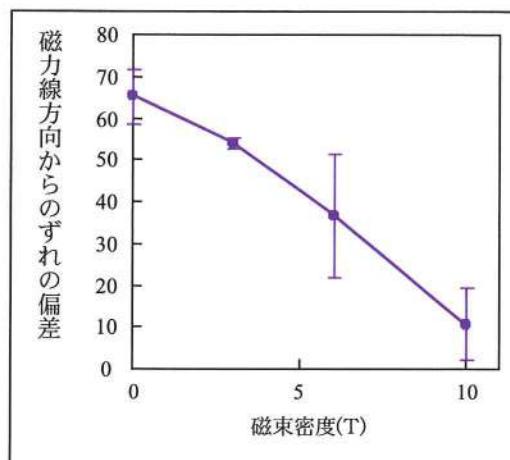
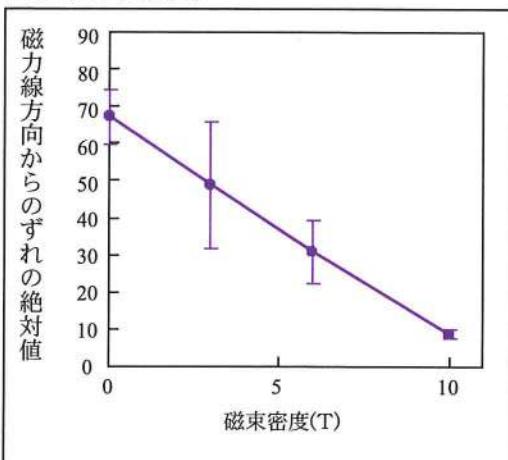
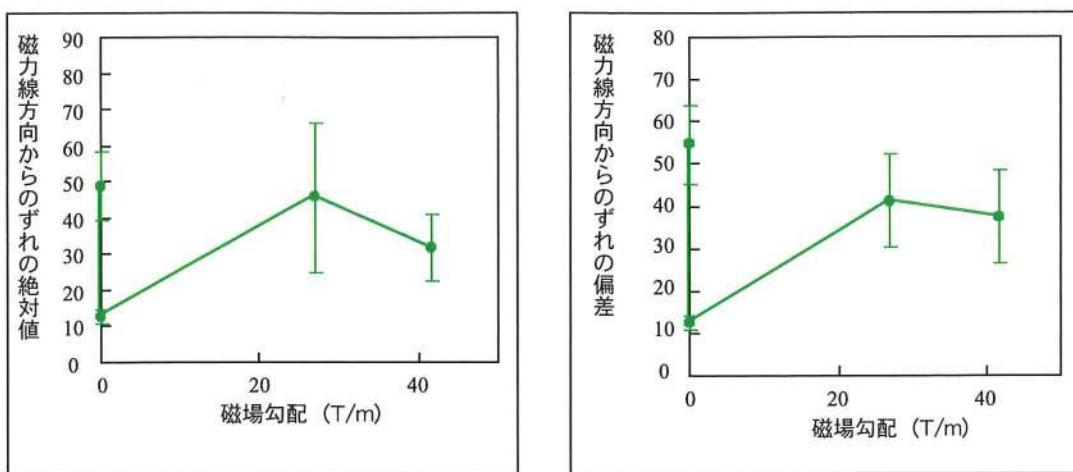


図 3

磁力線方向からのずれの絶対値（左）と標準偏差（右）の磁束密度依存性

4日間分化誘導



5日間分化誘導

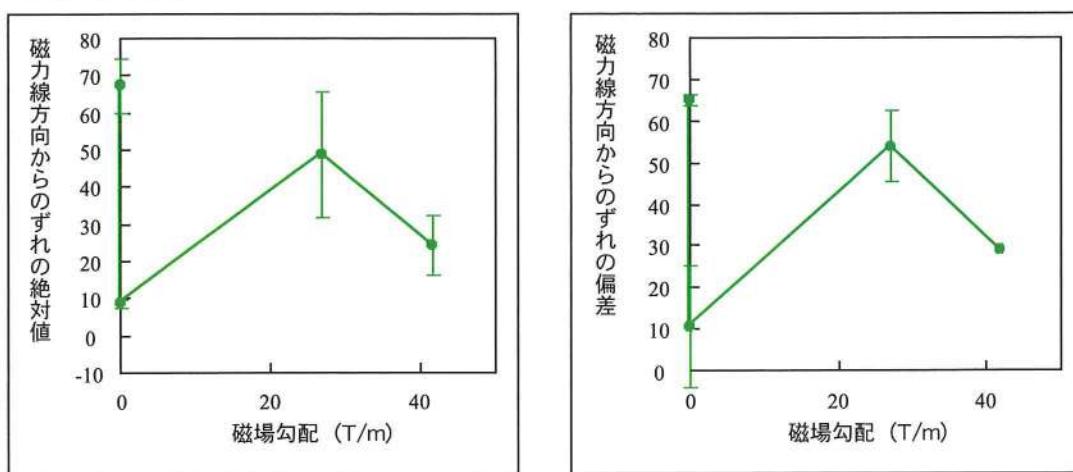


図4

磁力線方向からのずれの絶対値（左）と標準偏差（右）の磁場勾配依存性

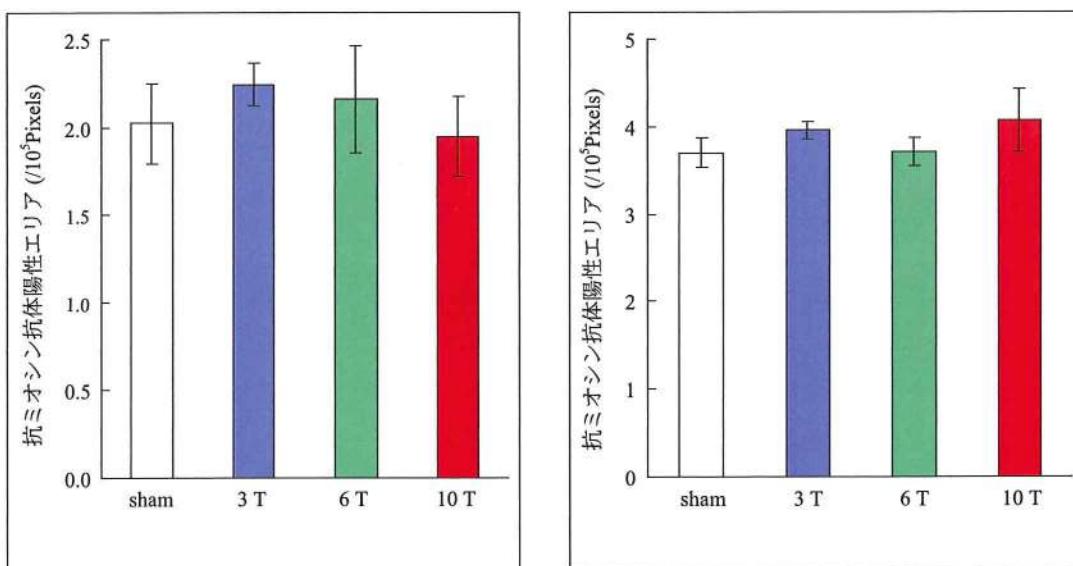


図5 抗ミオシン陽性エリア面積

5.今後の展開

今回我々は、体外での筋管細胞形成に際し、強定常磁場のばく露によって、配向した筋管細胞が得られること、配向させることによっても分化誘導効率に影響を与えないことを見い出した。強定常磁場によって人工的に配向した筋管細胞を移植に用いることで、筋肉組織に多大な損傷を受けた場合にでも、筋肉組織を効率良く再生できるようになることが期待できる。また、この技術は、これまで配向した筋管細胞を体外で作成困難なために研究が遅れている、筋芽細胞融合のメカニズム研究にも応用できると期待できる。

今後は、配向に必要な条件を詰め、実際に移植等で成果が上げられるか検証していきたい。

参考文献

- [1] Carlson BM, Faulkner JA. 1983. The regeneration of skeletal muscle fibers following injury: a review. *Med Sci Sports Exerc* 15: 187-198.
- [2] Bach AD, Beier JP, Stern-Staeter J, Horch RE. 2004. Skeletal muscle tissue engineering. *J Cell Mol Med* 8: 413-422.
- [3] Sakurai T, Ueda T, Kawai M, Tobita H, Miyakoshi J. 2009. Protective effects of insulin-like growth factor-I on the decrease in myogenic differentiation by ionizing radiation. *Int J Radiat Biol.* 85:153-158.
- [4] Higashi T, Yamagishi A, Takeuchi T, Kawaguchi N, Sagawa S, Onishi S, Date M. 1993. Orientation of erythrocyte in a strong static magnetic field. *Blood* 82: 1328-1334.
- [5] Umeno A, Kotani H, Iwasaka M, Ueno S. 2001. Quantification of adherent cell orientation and morphology under strong magnetic fields. *IEEE Trans Magn* 37: 2909-2911.
- [6] Iwasaka M, Ueno S. 2003. Polarized light transmission of smooth muscle cells during magnetic field exposure. *J Appl Phys* 93: 6701-6703.
- [7] Eguchi Y, Ogiue-Ikeda M, Ueno S. 2003. Control of orientation of rat Schwann cells using an 8-T static magnetic field. *Neurosci Lett*, 351: 130-132.
- [8] Nakahara T, Yaguchi H, Yoshida M, Miyakoshi J. 2002. Effects of exposure of CHO-K1 cells to a 10-T static magnetic field. *Radiology* 224: 817-822.

がんの早期診断を目指した 腫瘍ターゲティング型MRI造影剤の開発

向 洋平 大阪大学大学院薬学研究科 薬剤学分野

清野 智史 大阪大学大学院工学研究科 ビジネスエンジニアリング専攻
株式会社 アクト・ノンパレル

中川 晋作 大阪大学大学院薬学研究科 薬剤学分野

1.研究背景：がんに対する新規MRI造影剤の開発

本邦における死因の第一位は「悪性新生物（がん）」であり、厚生労働省の統計によると、平成21年における死亡率は死因全体の実に30.2%と、二位の心疾患（15.8%）を大きく引き離し、その死者数は増加の一途を辿っている。このようながんに対し、現在臨床では、三大標準療法と称される「外科療法」、「化学療法」、「放射線療法」を組み合わせた「集学的療法」が実施されているが、その治療効果の多くはがんの病態ステージ（悪性度）に依存し、転移・浸潤といった悪性化に転じてしまったがんを治療するのは極めて困難である。近年、がんの早期発見が、5年生存率の飛躍的な向上をもたらすとの統計結果が明らかとされ、早い段階で効率的にがんを診断することができれば、現存のがん治療法の有効性を飛躍的に向上できるものと期待されている。そのような背景の下、現在、人体の内部を鮮明に画像化するMRI（磁気共鳴画像法）、CT（コンピュータ断層撮影）、PET（陽電子放射断層撮影）といった画像診断技術を高度に発展させ、それらによるがんの早期診断を達成しようとする試みが世界的なレベルで推進されている。

これらの画像診断は、現在臨床において、血液検査等の簡易検査で異常を示した患者に対し実施され、腫瘍病巣の部位、病態ステージ等の判定、さらには、がんの機能診断にも有効利用されている。がんにおけるMRIは、PET等の高感度診断に比べて未だに発展途上であるものの、その高い空間分解能（画像の鮮明さ）や、放射性核種を必要としない低侵襲性画像診断技術であること等から、近年その需要は高まりを見せている。MRIは強力な磁場を人体周辺に発生させ、体内から放出される信号を画像化する技術であり、身体を傷つけることなく体内の病変を診断できる。MRIを用いたがん診断では、その高い空間分解能から、mm単位の微細な腫瘍の判別が期待される。

がん診断におけるMRIでは、がん病巣を発見するための造影剤の利用が一般的である。現在、常磁性のガドリニウム含有造影剤、超常磁性酸化鉄粒子（SPIO）等が医薬品化され、がん診断に利用されている。しかし、現存のガドリニウム含有造影剤は、主に血流を造影するものであり、SPIOは正常肝臓への集積によって肝がんを判別するというものであるため、血流の増加が顕著な脳腫瘍や、肝がんといった、特定のがん種にしか適用できない。従って、がんの早期診断にMRIを活用するためには、MRIを様々ながん種に適用可能とする技術革新が必要となる。そのためには、新規の造影剤の開発によって、「造影剤を目的とする患部（腫瘍）にどれだけ多く集めることができるか」が鍵となる。この様な背景から著者らは、腫瘍に積極的に集積する（腫瘍をターゲティングする）造影剤の開発を目指し、肝がん診断用SPIOをベースとした腫瘍ターゲティング型MRI造影剤の開発を試みている。

重盲検、ランダム化、シャムコントロール試験を実施した。

2.腫瘍ターゲティング型MRI造影剤(PEG-Au/SPIO)のデザイン

腫瘍ターゲティング型MRI造影剤のベースとなるSPIOは、直径1,000 nm (1,000ナノメートル; 1/1,000 mm)に満たないナノサイズの微粒子(ナノ粒子)である。

このSPIOは、それ自身が磁性を有するためにMRI T2強調画像上で強い信号低下(黒く描写)を引き起こし、ナノ粒子特有の体内動態によって肝臓に集積すると、正常肝臓を黒く描写することができる(図1)。

この性質を利用し、本邦ではSPIOを肝がん診断用MRI造影剤として臨床

応用している。SPIOは生体内に投与されると細網内皮系により速やかに血中から除去され、そのほとんどが肝正常組織に豊富に存在する貪食細胞; Kupffer細胞に取り込まれる。一方で、肝臓に発生したがん細胞へは、SPIOはほとんど取り込まれず、その結果形成される肝正常組織と肝がん組織間のMRI信号コントラストにより肝がん病巣のみを検出することができる。そのため高い肝臓集積性を有するSPIOは、肝がん以外には適用することができず、このSPIOをその他のがん種に適用するには、SPIOの改変が必要となる。即ち、SPIOの改変によって、SPIOの肝臓集積性を軽減し、その上で腫瘍へ選択的に集積させることができれば、がん種を問わず利用可能な新規の腫瘍MRI造影剤となるのである。

これまで、ナノ粒子の腫瘍ターゲティングには、ナノ粒子の血中滞留性を向上させることによる「EPR効果」(詳細は後述)を利用する方法が有効であることが報告されている(参考論文1)。また、ナノ粒子の血中滞留性の向上に最適な手法として、ナノ粒子表面を水溶性高分子ポリエチレングリコール(PEG)で修飾する方法が存在する(参考論文2、3)。しかしながら、酸化鉄結晶であるSPIO表面には特定の官能基が存在せず、通常の化学反応ではPEG修飾が非常に困難であった。この点、著者らは独自に開発した、任意のナノ粒子の表面に金ナノ粒子を付加する、「金複合ナノ粒子合成技術」を応用することで、この問題を克服した。金(Au)は、硫黄(S)原子との間に強固なAu-S結合を形成することが可能であるため、SPIOの表面に金ナノ粒子を担持させることにより、金を足場とした分子修飾が可能となる(参考論文4、5)。従って、ここへ、SH基を有するPEG(PEG-SH)を混合すれば、SPIOの効率的なPEG修飾が可能である(図2)。実際の実験では、SPIOを金イオンを含む溶液に分散させ、 γ 線照射により金ナノ粒子をSPIO表面上に析出させた。電子顕微鏡観察の結果、SPIOの表面に複数の金ナノ粒子が保持された、複合ナノ粒子(Au/SPIO)が作製できていることが確認された。次に、分子量5,000のPEG-SHをAu/SPIOと混合させ、数分間室温で静置することで、SPIO表面でのAu-S結合により、PEG修飾Au/SPIO(PEG-Au/SPIO)が形成された。この反応液から余剰のPEG-SHを透析法により除去し、これを最終産物とした。得られたPEG-Au/SPIOの粒子径を動的光散乱法により解析したところ、その粒子系は150 nm程度の単分散なものであることが判明した。

PEG修飾されたナノ粒子は一般に、PEG鎖の立体障害によって肝臓Kupffer細胞からの貪食を回避し、血中滞留性が向上する。一方、腫瘍血管では正常血管内皮間隙(9-50 nm)と比較して血管壁透過性が顕著に亢進しており(>100 nm)、高い血中滞留性を示すPEG化ナノ粒子が腫瘍血管壁を透過し、血中から腫瘍組織へと選択的に漏出・蓄積するEPR効果が生じる。従って、SPIO表面をPEGで被覆されたPEG-Au/SPIOは、この腫瘍血管の構造特性を利用したEPR効果による腫瘍ターゲティングが達成できるものと期待された(図3)。

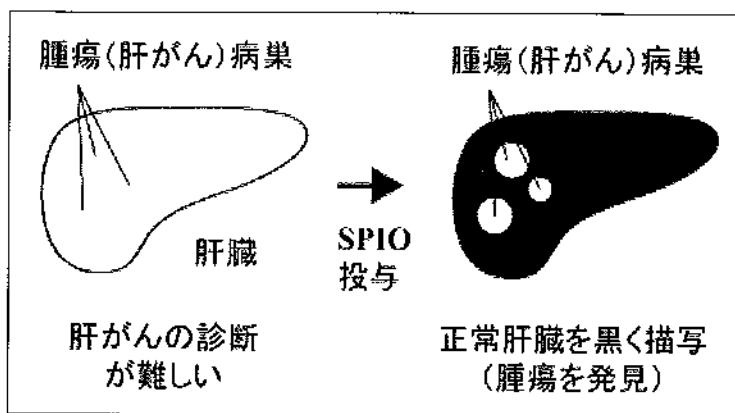


図1 MRIによるSPIOの肝がん造影メカニズム

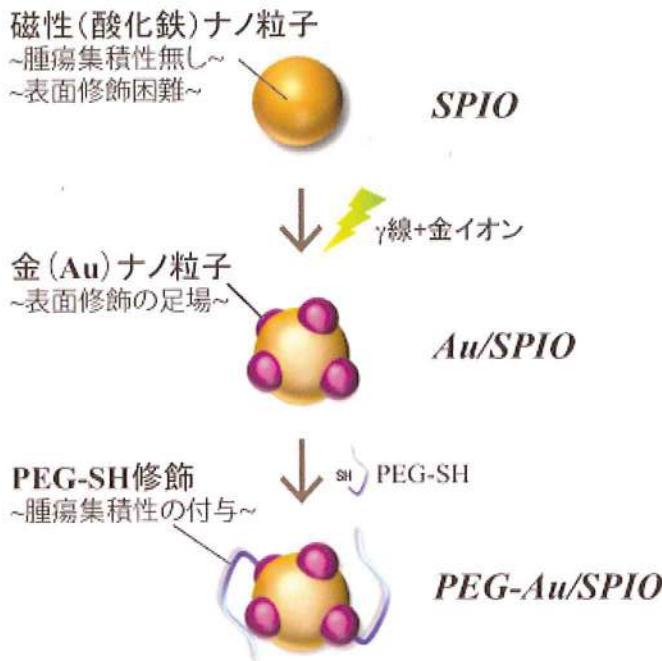


図2 SPIO表面のPEG修飾
SPIOの表面はそのままでは分子修飾が困難だが、金の足場を形成することで、SH基を有するPEGで修飾することが可能となる。

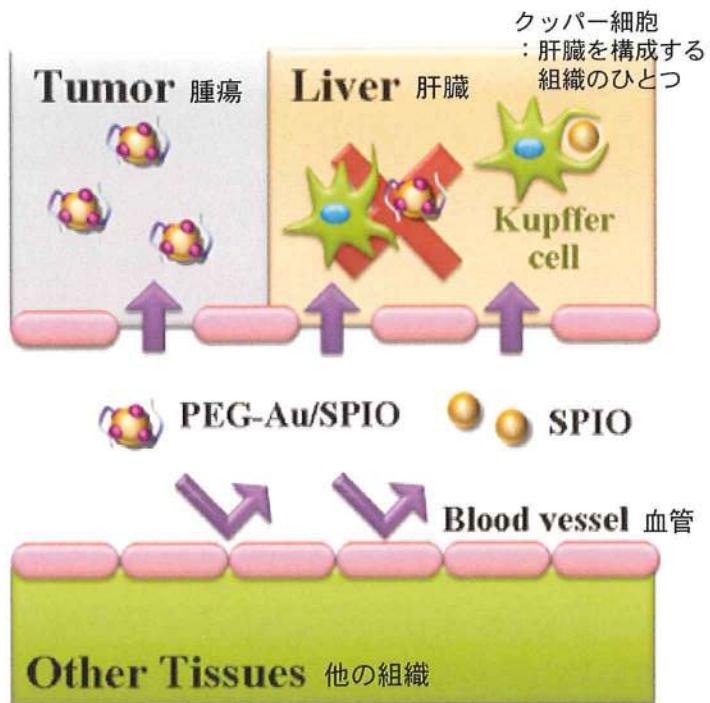


図3 PEG修飾による腫瘍ターゲティング (EPR効果)
血中に投与されたナノ粒子は、血管壁がルーズな肝臓や腫瘍へ移行するが、多くは肝臓のKupffer細胞に貪食されて肝臓に集積する。しかしPEGで修飾されたナノ粒子は、PEGの形成する立体障害によって、Kupffer細胞による貪食を回避し、腫瘍へと蓄積する。

3.PEG-Au/SPIOによる腫瘍MRI

肝がん以外の腫瘍に対するPEG-Au/SPIOの有用性を、腹部皮内に移植したMeth-A腫瘍モデルマウス（腫瘍径10 mm）を用いて評価した。まず、PEG-Au/SPIOの腫瘍ターゲティング能を評価する目的で、Meth-A腫瘍モデルマウスに対し、Au/SPIO、PEG-Au/SPIOを1 mg Fe/匹で尾静脈内へ投与し、24時間後に、肝臓並びに腫瘍に集積した金元素を、中性子放射化分析により定量した。その結果、肝臓へと集積したPEG-Au/SPIOは、Au/SPIOに比べて優位に低下していたのに対し、腫瘍へ集積したPEG-Au/SPIOは、Au/SPIOの実に10倍にまで増加していることが示された（原著論文参照）。また、同様のマウスから腫瘍組織を回収し、その切片をブルシアンブルーで染色したところ、PEG-Au/SPIO投与群でのみ、多くの鉄が腫瘍内部にまで到達していることが明らかとなった（原著論文参照）。以上の結果は、SPIOのPEG化によって、EPR効果が得られ、その結果、SPIOの肝集積の軽減、さらには腫瘍ターゲティングが達成できたことを強く示唆している。

次に、同様のMeth-A腫瘍モデルマウスを用い、腫瘍MRIにおける造影剤の有効性を評価した。先の検討と同様に、SPIO、Au/SPIO、PEG-Au/SPIOを1 mg Fe/匹で尾静脈内へ投与し、その4時間後にMRI T2強調画像を撮像した（図4）。その結果、投与前の画像では腫瘍における信号強度は周りの組織と比較して高く、画像上白く映し出されていた（図4 a-c）。また、投与後4時間後においても、SPIO並びにAu/SPIO投与群では腫瘍における信号強度の低下は僅かであり、その造影効果は非常に乏しいものであった（図4 d, e）。その一方、PEG-Au/SPIO投与群では、腫瘍での信号強度の顕著な低下が観察され、造影剤によって明確に腫瘍部位を判別できることが明らかとなった。この結果は、腫瘍集積性を持たないSPIOにPEGを付与することで、腫瘍へ積極的に移行可能な腫瘍ターゲティング型MRI造影剤となり得たことを示している。今回は、10 mmの固形腫瘍での成果をお示ししたが、現在著者らは、別の動物モデルを用いることで、より微細（数mm）で判定が難しい腫瘍に対する本造影剤の有用性を検証しているところである。

4.結論

- ・独自の金複合ナノ粒子合成技術を応用することで、肝がん診断用MRI造影剤：SPIO表面にPEG修飾を施した腫瘍ターゲティング造影剤：PEG-Au/SPIOを設計・合成した。
- ・PEG-Au/SPIOの腫瘍検出性能を小動物用MRI装置で検証した結果、PEG-Au/SPIOは、EPR効果により腫瘍へ集積し、腫瘍造影能に優れた腫瘍ターゲティング型MRI腫瘍造影剤であることが明らかとなつた。

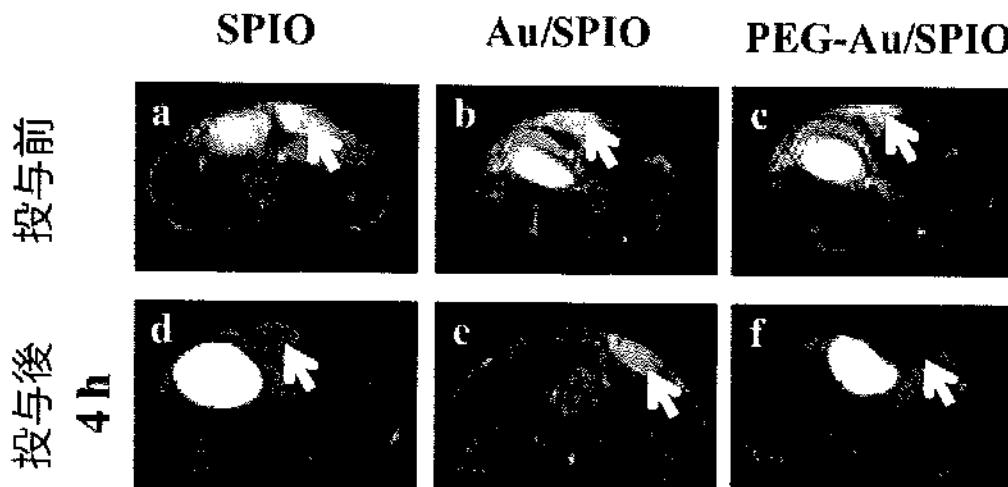


図4 PEG-Au/SPIOによる腫瘍MRI (T2強調画像)

SPIOはMRIにおけるT2短縮効果を有し、T2強調画像下では黒く造影される。a-cは投与前のマウスを、d-fは造影剤投与後4時間後のマウスを撮像したものである。造影剤は、d) 未修飾SPIO、e) Au/SPIO、f) PEG-Au/SPIO をそれぞれ、尾静脈から静脈内投与した。矢印で示す部分には、Meth-A皮下腫瘍が植えられており、投与前の群では白～灰色に描写されている。PEG-Au/SPIO投与後4時間後 (f) では、造影剤の集積による信号強度の低下 (黒く造影) が観察されるが、SPIO及びAu/SPIO投与群 (d及びe) では、明確な信号強度の低下は認められない。

5.おわりに

本総説では、磁気の健康への応用の一例として、磁場を利用した診断技術であるMRIにおける造影剤の開発について述べた。腫瘍ターゲティング型MRI造影剤に関しては、世界中で熾烈な技術開発競争が行われているが、未だ製品化に至った例は存在しない。この点、著者らの「金複合ナノ粒子合成技術」は、任意のナノ粒子の表面に簡便に分子修飾の足場を付与するものであり、その合成過程のシンプルさゆえ大量合成に適している等、工業化の観点からも特に競争力に優れる技術となっている。また、硫黄原子を含む物質であればいかなる物質も粒子表面に固定化できることから、今回お示ししたPEG-SHのみならず、腫瘍移行性を有するモノクローナル抗体やペプチド医薬等も、SPIOの表面修飾の候補に挙げる事が出来る。将来的に、本技術の応用によって作られた腫瘍ターゲティング型MRI造影剤が実用化され、がんの早期診断、さらには、国民の健康と福祉の増進に大きく貢献することを期待している。

原著論文

Kojima H, Mukai Y, Yoshikawa M, Kamei K, Yoshikawa T, Morita M, Inubushi T, Yamamoto TA, Yoshioka Y, Okada N, Seino S, Nakagawa S., "Simple PEG conjugation of SPIO via an Au-S bond improves its tumor targeting potency as a novel MR tumor imaging agent.", *Bioconjug Chem.* 2010;21(6):1026-31.

参考論文

- 1.Maeda H, Wu J, Sawa T, Matsumura Y, Hori K., "Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review.", *J Control Release.* 2000;65(1-2):271-84.
- 2.Allen TM, Hansen C, Martin F, Redemann C, Yau-Young A., "Liposomes containing synthetic lipid derivatives of poly(ethylene glycol) show prolonged circulation half-lives in vivo.", *Biochim Biophys Acta.* 1991;1066(1):29-36.
- 3.Lasic DD, Vallner JJ, Working PK. "Sterically stabilized liposomes in cancer therapy and gene delivery.", *Curr Opin Mol Ther.* 1999;1(2):177-85.
- 4.Seino S, Kinoshita T, Otome Y, Okitsu K, Nakagawa T, Yamamoto TA., "Magnetic Composite Nanoparticle of Au/ γ -Fe₂O₃ Synthesized by Gamma-Ray Irradiation.", *Chem Lett.*, 2003;32(8), 690-91.
- 5.Kamei K, Mukai Y, Kojima H, Yoshikawa T, Yoshikawa M, Kiyohara G, Yamamoto TA, Yoshioka Y, Okada N, Seino S, Nakagawa S., "Direct cell entry of gold/iron-oxide magnetic nanoparticles in adenovirus mediated gene delivery.", *Biomaterials.* 2009;30(9):1809-14.

参考URL

株式会社 アクト・ノンパレル (<http://www.act-nonpareil.com>)

柔らかい脳 －磁気刺激による神経調節の未来－

緒方勝也 九州大学大学院 医学研究院脳研臨床神経生理
飛松省三 九州大学大学院 医学研究院脳研臨床神経生理

1. 脳に優しい経頭蓋磁気刺激

経頭蓋磁気刺激(transcranial magnetic stimulation, TMS)は頭皮上に円形あるいは8の字型コイルを置き、1ms程度の非常に短い時間でパルス電流を流すと大きな変動磁場が生じる。

その結果、脳に逆向きの渦電流が生じ非侵襲的に脳を刺激する技術である。Barkerらが1985年に初めてヒトに応用し、以後主に運動系の機能探求に用いられてきた。8の字コイルの開発により局所的な刺激が可能となった。TMS以前には電気で脳を刺激する経頭蓋電気刺激 (transcranial electric stimulation, TES)が報告されていたが、頭皮上に電極をつけて電流を流すもので、痛みが強いためあまり広まることはなかった。TESとTMSは皮膚感覚の違いだけでなく、電流が大脳皮質に流れる向きが異なり、TESでは大脳皮質に垂直方向に流れるのに対し、TMSで生じる渦電流は大脳皮質に並行する方向に流れる。この差によりTESでは大脳皮質の錐体細胞軸索を直接刺激するのに対し、TMSでは介在ニューロンを通して刺激することがわかつており、次に述べる2連発TMSで見られる現象の発生と関連が深いと考えられている。これらの神経調節機序が明らかなることもTMSが脳機能研究に広く用いられることになった要因である。

2. 単発TMSと2連発TMS

手指の一次運動野(M1)の上で単発TMSを加えると約20msの潜時で手指筋が収縮し、運動誘発電位(MEP)が記録される。この反応はM1から脊髄前角細胞を経由すると考えられ、随意運動を司る錐体路の機能を反映する。M1刺激のMEP潜時と頸部刺激のMEP潜時の差分をとることで錐体路の伝導時間を評価することができる。脳卒中などで錐体路障害が起こり運動機能障害が生じるとMEP潜時は延長したり、消失する。M1を刺激するには安静時運動閾値 (restingmotor threshold, RMT)を決め、それより10~120%程度上の刺激を行う。後述の2連発TMSを行うときは弱収縮時閾値(active motor threshold, AMT)を基準にすることもある。当然ながらAMTの強度はRMTより低くなる。

TMSを数msから数100msの短い間隔で2連発刺激すると単発刺激の単純な加算効果ではなく、複雑な動態を示すことが知られている。特に一発目のTMSにMEPが生じない程度の弱い刺激(条件刺激、0.8 RMT)を用いた場合に二発目のTMS(試験刺激、1.2 RMT)で生じるMEP振幅が刺激間隔により大きくなったり小さくなったりする現象が起こる。これは弱い一発目のTMSが大脳皮質内の処理に影響を及ぼすことを示唆する。このことから2連発刺激による抑制または促進は皮質内抑制、皮質内促進と呼ばれ大脳皮質の機能を評価する上で重要なツールとなっている。

3. 脳の興奮性を変える反復経頭蓋磁気刺激(rTMS)

TMSを反復すると、刺激による興奮性の変化が刺激終了後も持続することが発見され、反復経頭蓋磁気刺激法(repetitive TMS, rTMS)として注目されている¹⁾。rTMSは刺激強度や刺激部位など様々な因子で効果が変わることが知られているが、特に重要なのは刺激頻度である。5~10Hzといった高頻度では興奮性に作用し、1Hz以下の低頻度で刺激すると抑制性の変化が生じるとされている。この現象はM1でまず示されたが(図1)²⁾、他の領域でも同様の報告がなされ、高頻度では促通性、低頻度では抑制性に働くことはまず間違いないと考えられている。これを踏まえて促通性、抑制性のrTMSを用いて脳梗塞やパーキンソン病を中心に臨床応用研究が多数報告されている。脳梗塞による運動麻痺では患側を刺激する際は高頻度刺激を行い、健側を刺激する際には低頻度刺激が用いられる。患側は機能低下を改善するために高頻度刺激を行うが、脳梗塞患者で健側から患側への半球間抑制が増加しているという知見³⁾に基づき、健側を刺激する場合は低頻度刺激を行う。健側から患側への抑制を低下させることで症状が改善すると考えられている。1回の刺激では改善も短期間でわずかだが、連日、あるいは週数回など刺激を繰り返すことで、より大きな長期効果が得られるようである。

図 1

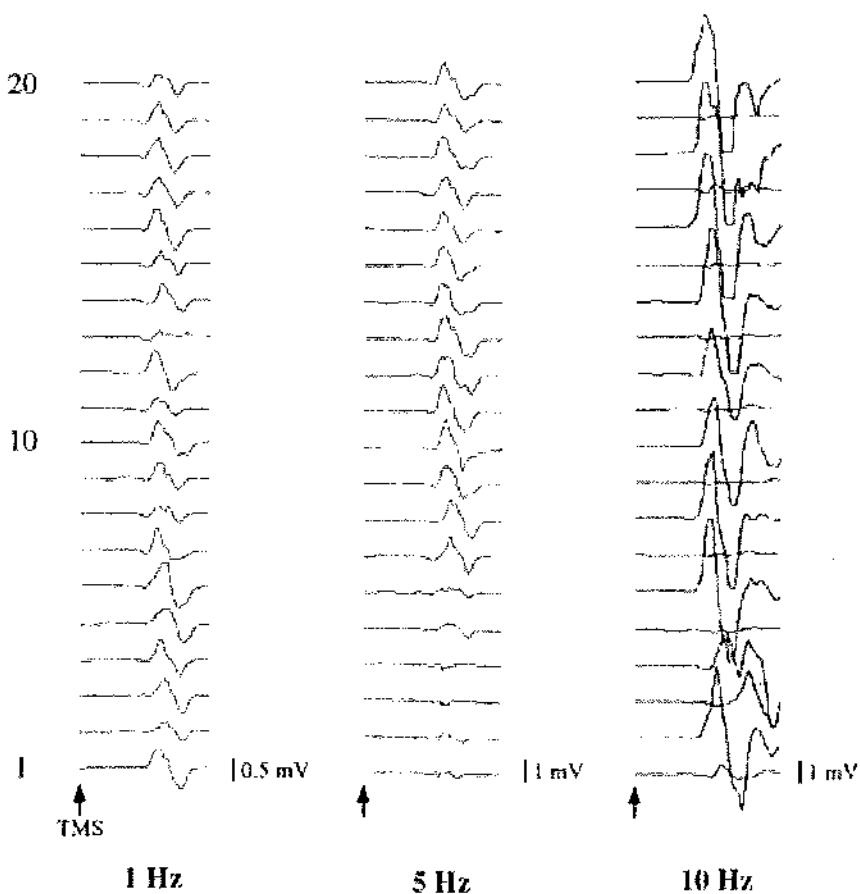


図1. 高頻度反復経頭蓋磁気刺激(rTMS)による運動誘発電位の振幅増大((2)より改変)

1Hz刺激では振幅の変化がないが、5Hz刺激では徐々に振幅増大が生じ、10Hzでは更に増大の程度が増し、高振幅と低振幅が交互に観察される。一番下の列は1回目のTMSによる反応で、一番上の列は20回目の反応を示す。

パーキンソン病や局所ジストニアといった基底核疾患でもrTMSの効果が示されている。病態の中心となる大脳基底核の直接刺激は不可能だが、それらの部位に関連の深い大脳皮質を刺激することで効果が得られるとされている。ジストニアはゆっくりした不随意運動で正常な運動が障害されるものだが、特に書字など複雑な運動を繰り返し行っているとジストニアが出る場合がある。それぞれの動作に関連した体の部位に症状が出るため局所ジストニアと呼ばれる。薬の効果は乏しく治療困難なことが多いが、rTMSの有効性が報告されている⁴⁾。書字の際にジストニアが生じる書痙の患者にM1の前方に位置する運動前野に低頻度刺激を行い書字の改善が示された(図2)。書痙では運動前野の過活動とM1の活動低下が言われており、運動前野を抑制することでM1の活動性が増し、スムーズな運動が回復したと推察されている。パーキンソン病においても多数の報告があり⁵⁾、初期には中心部に円形コイルを置いて低頻度での効果が示されたが、補足運動野、一次運動野、運動前野といった運動関連領域における活動性低下を基に、M1への高頻度rTMSにより運動機能の改善が見られたと多く報告されている。日本でも補足運動野の高頻度rTMSを用いて有意な運動機能の改善が報告された⁶⁾。rTMSを用いた研究では刺激による音と皮膚感覚が生じるためプラセボ効果が認められる。実刺激の対照として偽刺激が使われるが、音だけ発生しrTMSの皮膚感覚を生じることができない。Hamadaら⁶⁾の研究では偽刺激と同時に電気刺激で皮膚感覚を生じさせる手法を用いており、それとの比較でrTMSの効果が認められたのでrTMSによる効果の信頼性は高いと言える。

図 2

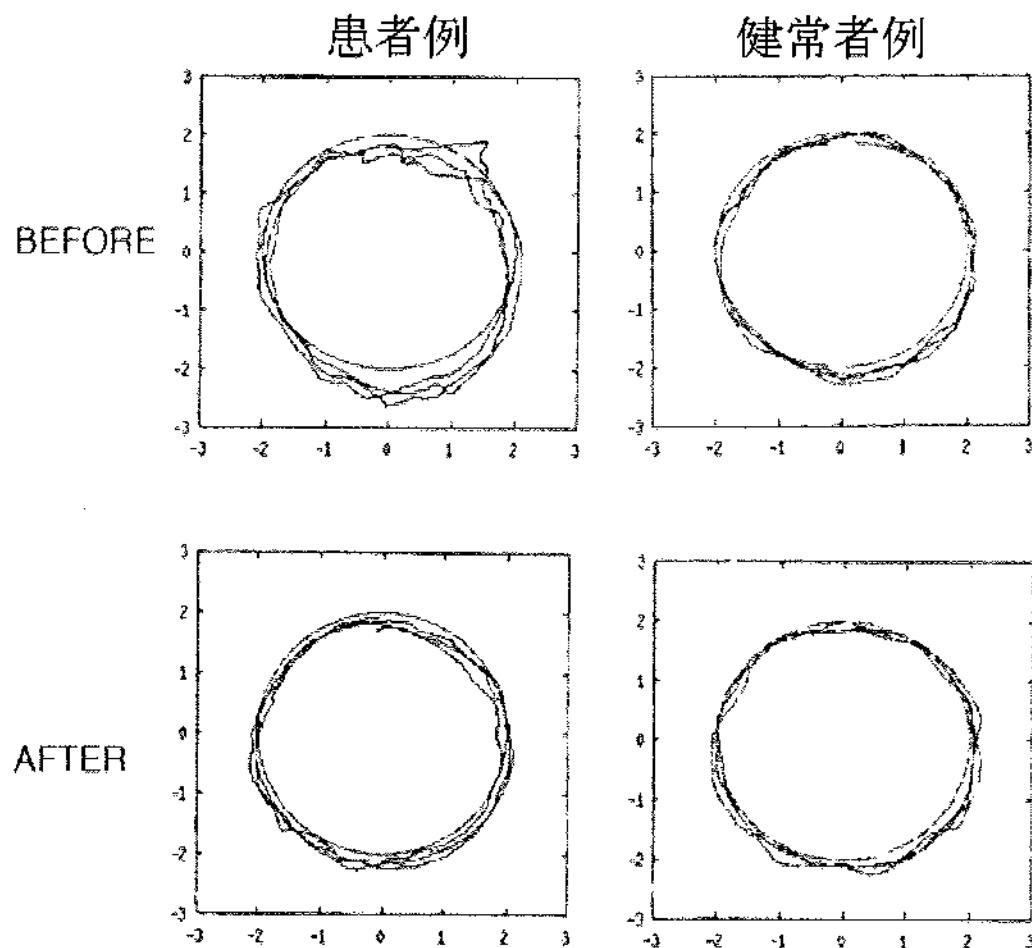


図2. 書痙に対するrTMSの効果((4)より改変)

書痙患者で円描画運動と書字の乱れが見られるが(上段左)、rTMS後に円描画運動、書字とも改善がみられる(下段左)。健常対象者では明らかな変化はなく、rTMSが書痙の病態に作用したことがわかる。

4. rTMSの非運動域への効果

rTMSは運動系域以外にも適用されている。1つはアメリカの食品医薬品局で承認されたうつ病を対象とした前頭葉へのrTMSが挙げられる¹⁾。初期には円形コイルを用いて頭頂部を中心を置いた低頻度rTMSが用いられていたが、うつ病で左背外側前頭前野(DLPFC)の代謝が低下していることがポジトロンCTで示されたことから、この部位を標的にした興奮性のrTMSが施行され、有効性が示された。うつに対するrTMSは標準では運動閾値の120%の強度(1.2 RMT)で左DLPFCを標的に10Hz、4秒間の刺激を75回繰り返す。これを週5回、4~6週継続することで有効性が示されている。

体性感覚や視覚系へのrTMSも行われている。Enomotoら⁷⁾は1Hz rTMSをM1、運動前野、一次体性感覚野(S1)に行い、感覚誘発電位(SEP)を計測したところM1刺激でのみ振幅が低下し、運動前野刺激、S1刺激では変化が見られなかった。視覚系では視覚誘発電位(VEP)の記録を繰り返すことで生じる振幅の低下(順応)を指標として低頻度、高頻度rTMSを行ったところ、健常被験者では抑制性rTMSによりVEPの振幅抑制と順応の消失が生じ、興奮性rTMSでは影響を受けなかった⁸⁾。これは刺激に対する反応がある程度以上大きくなると、それ以上は大きくならないために興奮性rTMSによる促進の効果が見えにくかったと推察されている。別の報告では抑制性rTMSによりVEPはやや後期成分の振幅が上昇したが、視覚刺激によるアルファ波の抑制(VID)は減少していた⁹⁾。VIDの減少は視覚皮質の興奮性低下による抑制性rTMSの効果として理解されるが、VEPの振幅上昇は単純には興奮性亢進を意味し、rTMSの効果としては予想とは異なるものと言える。これらの報告にあるように視覚系をVEPなどの客観的指標を用いてrTMSの効果を評価した報告はまだ少なく、抑制性rTMSが必ずしも抑制のみに働くわけではない。観察する指標により変化がなかったり逆に興奮性と解釈される結果も散見され、総合的な理解のためには更なる研究が必要である。

またプロトコルも単純なrTMSが中心となっており、脳梗塞後の視覚障害に対するリハビリテーションなどを想定した場合、興奮性の上昇をもたらす効果的な手技の開発が必要と言える。

5. 柔らかい脳をより有効に刺激するには

rTMSをより効果的にするために刺激パターンも様々なものが報告されている¹⁰⁾。単純に同じ周波数で刺激を繰り返すrTMSだけでなく、2連発刺激を0.2 Hz(5秒毎)に繰り返すrepetitive paired pulse stimulation(rPPS)という方法もある。Thickbroomらは¹¹⁾刺激間隔1.5msで同じ強度(0.5~1mVのMEP振幅が得られる強度)の2連発TMSを30分繰り返すrPPSによりMEPの振幅増大を示した(図3)。繰り返しの頻度は低頻度のため安全性が高いと考えられ(高頻度rTMSでけいれんが報告されている)、かつ従来の低頻度rTMSが抑制性に働くのに対し、rPPSは興奮性に働く点で特徴がある。また2連発の間隔1.5msはTMSによる介在ニューロン間の刺激伝達の時間に相当し、介在ニューロンの機能の変化がrPPSの効果に関連していることが推察されている。当教室でもrPPSを用いて視覚野の興奮性がVEPで増大することを観察した。よって非運動野領域での応用可能性が期待される。近年、rPPSの2連発を4連発にしたquadri-pulse stimulation(QPS)といった手法も開発されており、rPPSに比し更に有効性が高いと報告されているが、刺激間隔の長さに影響を受け、また刺激装置が4台必要といった実際上の問題があり、普及するにはしばらく時間がかかると思われる。その他50 Hz周期の3連発TMSを5Hz(200 ms毎)で繰り返すシータバースト刺激(theta burst stimulation, TBS)という複雑なパターンを用いて脳の興奮性を変化させる手法も開発されている(図4)。TBSは40秒連続して刺激を続けると抑制的に、2秒刺激、8秒休みの間欠刺激を加えると3分ほどで促通性に働くとされる。比較的短い持続で、刺激強度を低めにしていても効果が示されるのが特徴である。持続刺激と間欠刺激で抑制、促通が切り替わる理由はまだ不明であるが、推測としてはTBSが促通性回路、抑制性回路の両方を賦活化するが、抑制性回路が優位になるのに時間がかかるため、2秒刺激、8秒休みを繰り返すと促通性回路の賦活だけが生じ、促通効果が観察されると説明されている。

その他末梢神経電気刺激に統じてTMSを行う連合性ペア刺激(paired associative stimulation, PAS)、左右半球を時間差で刺激する両半球間ペア刺激(paired bihemispheric stimulation, PBS)といった刺激法も報告されているが、詳細は割愛する。今後もより有効性の高い刺激法が開発されると思われるがrTMSが有効な理由には不明な点が多く、メカニズムの解明が必要である。

図3

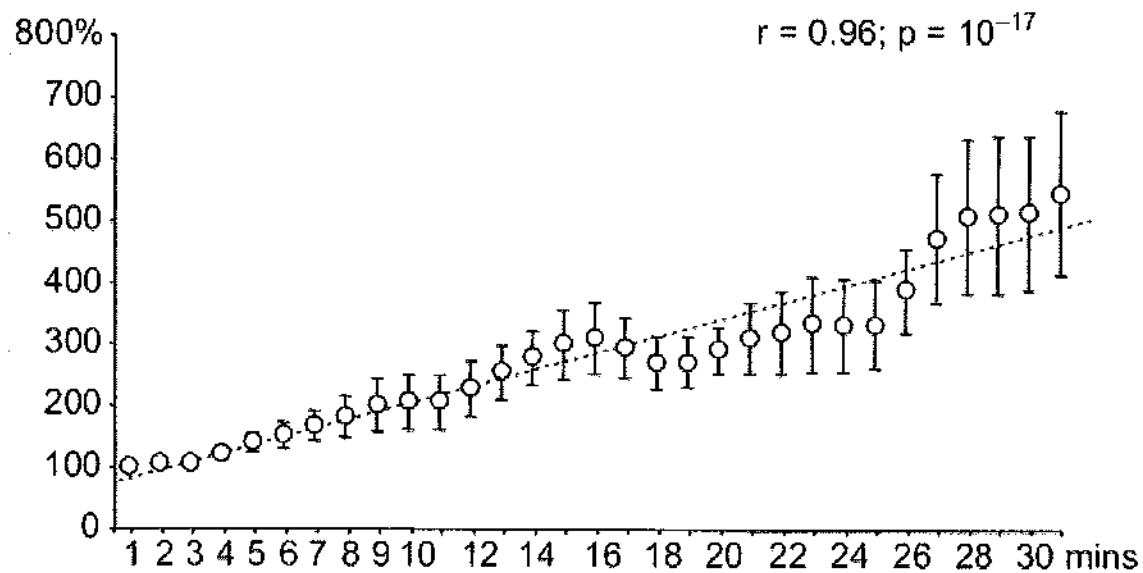


図3. rPPSによるMEP振幅の上昇

rPPS前のMEP振幅を100としたときのrPPS中の振幅比を示す。刺激中に振幅が著明に増加することがわかる。この効果は刺激終了後10分持続する。

図4.

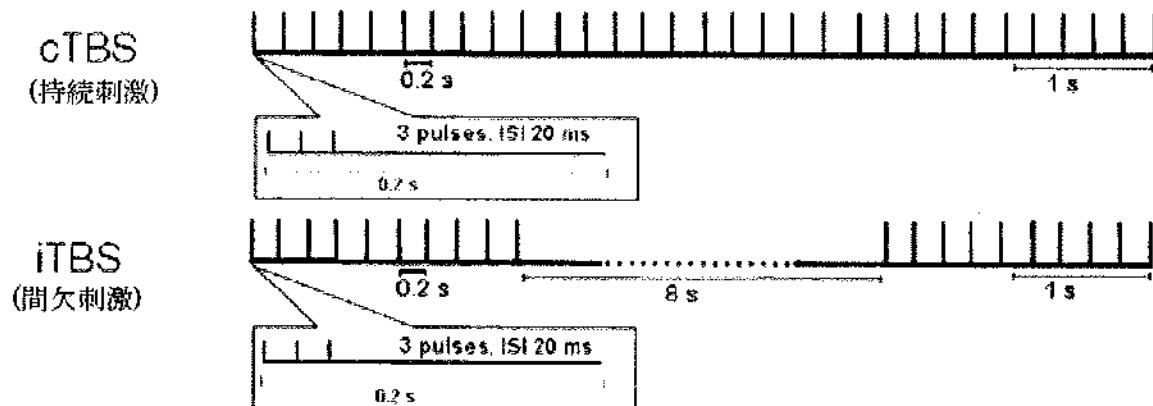


図4. Theta burst stimulation (TBS)の2つの刺激法 ((10)より改変)

上段は持続性の刺激、下段は間欠性の刺激を示す。それぞれの刺激は50Hzの3連発からなる(拡大図)。

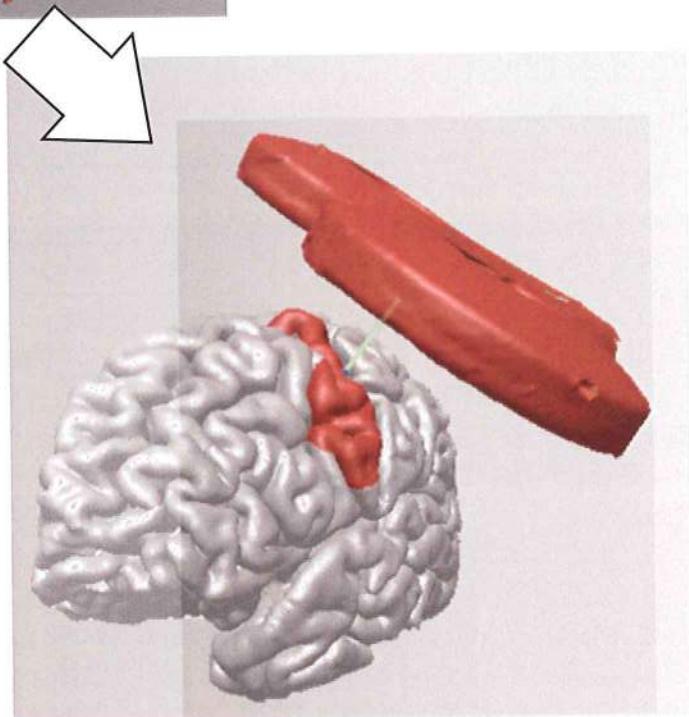
6. 磁気刺激法の問題点

rTMSによる治療的介入を行う上で問題点の一つにマンパワーの問題がある。コイルの位置を2~5mm程度の精度で同じ位置に保持する必要があるが、rTMSのように15~20分同じ位置で刺激しようとすると頭位のずれが生じやすく、アームによる固定などでも保持には誤差が生じやすい。多くの施設で人によるコイル保持で刺激を行っているが、熟練を要する作業であり、普及を促進する上で障害となりうる。某医大で脳梗塞後のリハビリに対するrTMSがマスコミで紹介された後、多くの患者が集中することとなり入院待ちが3年になったとの話もあり、省力化が必要である。

現在商用で3Dカメラを用いたナビゲーションシステムを用いると頭皮上のコイルが脳表で刺激している部位を示すことができる。しかし、マーカーの取り扱いや位置精度など改善の余地が残されている。当教室ではマーカーを用いない3Dレンジスキャナーによるコイル位置評価システムを開発しており、これにより上記問題を改善できると考えている(図5)12)。今後はこのシステムの問題点である評価時間の短縮を図ると共に、アームなどと組み合わせたシステムの開発を進めることで少人数で安定した刺激が行える環境の構築が期待される。



図5. 3DカメラによるTMSコイルの位置評価
3Dカメラによる頭皮とTMSコイルの撮影(上左)、頭皮全周のデータ(上右)、およびMRIから得られる頭皮と大脳皮質のデータを重ね合わせることでTMSコイル直下の大脳皮質の位置を評価できる(下)。



7. 磁気刺激法の未来

rTMSは薬を使わない治療として近年注目を集めている。アメリカではうつに対する治療法として普及し始めており、日本でもうつや脳卒中後のリハビリとして導入が進むと思われる。刺激部位、強度、刺激パターンなどパラメータの組み合わせが非常に多いrTMSの普及には最適化が重要であり、その達成のためには今後も健常人の脳機能の理解、ならびに各疾患の理解を深めることが必要である。それらが解明されれば柔らかい脳を磁気でコントロールする時代がいずれ来るであろう。

参考文献

- 1) Wassermann EM, Zimmermann T: Transcranial magnetic brain stimulation: Therapeutic promises and scientific gaps. *Pharmacol Ther* 133:98-107,2012
- 2) Pascual Leone A, Valls Sole J, Wassermann EM et al: Responses to rapid-rate transcranial magnetic stimulation of the human motor cortex. *Brain* 117 :847-858,1994
- 3) Murase N, Duque J, Mazzocchio R et al: Influence of interhemispheric interactions on motor function in chronic stroke. *Ann Neurol* 55:400-409,2004
- 4) Murase N, Rothwell JC, Kaji R et al: Subthreshold low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation over the premotor cortex modulates writer's cramp. *Brain* 128:104-115,2005
- 5) Fregni F, Simon DK, Wu A et al: Non-invasive brain stimulation for Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis of the literature. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76:1614-1623,2005
- 6) Hamada M, Ugawa Y, Tsuji S: High-frequency rTMS over the supplementary motor area for treatment of Parkinson's disease. *Mov Disord* 23:1524-1531,2008
- 7) Enomoto H, Ugawa Y, Hanajima R et al: Decreased sensory cortical excitability after 1 Hz rTMS over the ipsilateral primary motor cortex. *Clin Neurophysiol* 112:2154-2158,2001
- 8) Bohotin V, Fumal A, Vandenneede M et al: Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on visual evoked potentials in migraine. *Brain* 125:912-922,2002
- 9) Thut G, Theoret H, Pfennig A et al: Differential effects of low-frequency rTMS at the occipital pole on visual-induced alpha desynchronization and visual-evoked potentials. *Neuroimage* 18:334-347,2003
- 10) Hoogendam JM, Ramakers GM, Di Lazzaro V: Physiology of repetitive transcranial magnetic stimulation of the human brain. *Brain Stimul* 3:95-118,2010
- 11) Thickbroom GW, Byrnes ML, Edwards DJ et al: Repetitive paired-pulse TMS at I-wave periodicity markedly increases corticospinal excitability: A new technique for modulating synaptic plasticity. *Clin Neurophysiol* 117:61-66,2006
- 12) 木村 岳裕, 廣永 成人, 緒方 勝也, 徳久 宗一郎, 金子 邦彦, 飛松 省三. 3Dカメラを用いた経頭蓋磁気刺激コイルと脳MRIの位置情報の高精度視覚化. *日本生体磁気学会誌* 23:30-31, 2010

理事・監事・評議員

理 事

小谷 誠 東京電機大学 理事・名誉教授
(理事長) 北里大学 客員教授

相澤 好治 北里大学 副学長
(副理事長) 北里研究所 常任理事

岩永 章二 (株)NIKKEN 取締役
(専務理事)

井出 英人 青山学院大学 理工学部 電気電子工学科 教授

大久保 千代次 (財)電気安全環境研究所 電磁界情報センター 所長

岡井 治 医療法人栄相会 深田クリニック 院長

北村 唯一 社会福祉法人 あそか会 あそか病院 院長
東京大学 名誉教授

渡邊 利三 Nikken International Inc. Chairman

監 事

青木 明人 神奈川県国民健康保険団体連合会 非常勤医師

土肥 健純 東京電機大学 工学部 機械工学科 教授

評議員

飯田 恭子 日本医療科学大学 保健医療学部 教授
首都大学東京 名誉教授

内川 義則 東京電機大学 理工学部 電子・機械工学系 教授

小野 哲章 滋慶医療科学大学院大学 医療管理学研究科 教授

多氣 昌生 首都大学東京 都市教養学部 理工学系 教授

武田 常廣 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 教授

龍岡 穂積 医療社団法人 知己会 龍岡クリニック 理事長
千葉大学 客員教授

根本 幾 東京電機大学 情報環境学部 情報環境デザイン学科 教授

神保 泰彦 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 教授

岩坂 正和 千葉大学大学院 工学研究科 人工システム科学専攻
メディカルシステムコース 准教授

平成23年度 研究助成授与 一覧表

《基礎研究》

- 工藤 雄一朗 北里大学 医学部 衛生学 講師
「磁界測定法を用いた石綿代替品の安全性評価」
- 鳥居 徹也 純真学園大学 保健医療学部 医療工学科 講師
「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」
- 河合 憲康 名古屋市立大学大学院 医学研究科 腎・泌尿器科学分野 講師
「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による前立腺癌に対する新しい治療法の開発」
- 渡邊 昌俊 横浜国立大学大学院 工学研究院 教授
「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」
- 峯 松 亮 畿央大学 健康科学部 教授
「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」

《応用研究》

- 小山 大介 金沢工業大学 先端電子技術応用研究所 助教
「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」
- 渡部 高久 慶應義塾大学 医学部 耳鼻咽喉科学教室 医師
「耳鳴に対する経頭蓋磁気刺激による治療効果の評価」

《指定テーマ研究》

- 寺尾 安生 東京大学 医学部附属病院 神経内科 助教
「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機構の総合的研究」
- 笹野 哲郎 東京医科歯科大学 医学部附属病院 循環器内科 助教
「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」
- 北岡 和義 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 助教
「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」
- 相庭 武司 独立行政法人 国立循環器病研究センター 心臓血管内科・不整脈科 医長
「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」

<財団の事業内容>

本財団は、磁気を用いて健康の維持及び増進を図る科学（以下「磁気健康科学」という）に関する基礎及び応用研究に対する助成、技術動向等の調査及び研究に対する助成、情報の収集及び提供等を行うことにより、磁気健康科学の発展を推進し、もって豊かな国民生活の実現と我が国経済社会の発展に寄与することを目的としています。

その目的を達成するため、次の事業を行っています。

- (1) 磁気健康科学に関する基礎及び応用研究に対する助成
- (2) 磁気健康科学に関する技術動向等の調査及び研究に対する助成
- (3) 磁気健康科学に関する情報の収集及び提供
- (4) 磁気健康科学に関する普及及び啓発
- (5) 前各号に掲げるもののほか、本財団の目的を達成するために必要な事業

（設立：平成6年5月20日）

磁気と健康 ~会報 第24号~ 2012年6月発行

発行所・編集・発行責任者：

公益財団法人 磁気健康科学研究振興財団
〒810-0001 福岡県福岡市中央区天神1-13-17
Tel/092-724-3605
Fax/092-724-3605
E-mail/zai@maghealth.or.jp
<http://www.maghealth.or.jp/>

