THE REPORT OF STUDY RESULT BY SUBSIDY 助成研究成果報告書

2018 平成30年度



The Watanabe Foundation 公益財団法人 渡邊財団

THE REPORT OF STUDY RESULT BY SUBSIDY 助成研究成果報告書

2018 平成30年度



The Watanabe Foundation 公益財団法人 渡邉財団

助成研究成果 報告書

平成30年度

(研究期間:平成31年4月1日~令和2年3月31日)



公益財団法人 渡邊財団

					目	次				
卷	頭言 …							⑪重宦	小谷	·····1 , 誠
I	. 基礎句	肝 究						生于民	,1. П	μμα
	I -1. 破	慈場が体内	時計に影響	響を与える	分子機構の	解明 小松大学	之 保健医療	学部	臨床工 平山	····3 学科 順
	I -2. N	IRIを用v	いた電気特	性分布のi	n vivo高解	像度イメー 東京大学	ジング 牟 大学院情	報理工	学系研 奈良	····6 究科 高明
	I -3. 莜	续 遺伝学	:的手法を	用いた耳明	鳥治療のシ	ーズ開発 会	会沢医科大学	医学	部 生 小野	····9 理学 宗範
	I -4. 痛	所風診断 に	.向けたin	vitro測定	のための人	工関節モデ	ルの作成と言	評価 ····· 室	蘭工業 武内	… 11 大学 裕香
П	. 応用句	肝究								
	Ⅱ-1. 崀	感度磁気共	鳴画像診断	装置を用いた	た筋ジストロ	フィーにおける	る心筋障害の非 北海道大学	侵襲的定 病院 [;]	量評価 循環器 相川	… 13 內科 忠夫
	Ⅱ-2. 経	頭蓋磁気刺	敫を用いた治	療抵抗性統合	合失調症患者に ニ	こおけるGABAネ 千葉大学 祣	神経系障害の客籠 と会精神保健	胞評価法 教育研	まの確立 究セン 金原	…16 ター 信久
	Ⅱ-3. 小	「脳への反	復経頭蓋	磁気刺激い	こよる難治'	性めまいに対 慶應義暑	対する新規治 垫大学 医学	療法の 部 耳	開発 :- 鼻咽喉 五島	… 21 科学 史行
	Ⅱ-4. 拔	は散テンソ	ル磁気共明	鳥画像によ	る脳下垂体	線維の描出と	とホルモン分 金沢	泌の機能 大学	尨評価 脳神経 笹川	···25 外科 泰生
	Ⅱ-5.	ョパルス磁	湯による	深部センラ	チネルリン	パ節の検出 横沢	(国立大学大	学院	工学研 山本	···27 究院
Ш	. 指定ラ	ーマ研究	2 _							
	Ⅲ-1. 間	欠性シータ/	バースト刺激	と経頭蓋交流	記電流刺激の周 九州フ	波数依存的相互 大学大学院	作用:運動誘発電 医学研究院	電位を用い 臨床	いた検討 神経生 中薗	[…] 29 理学 寿人
	Ⅲ-2. 海	毎馬構造の	微小三次	元構造シュ	ュミレーシ 国立精神	ョンによる私 い神経医療研	滋気棘の発生 肝究センター	機構の 病院 〕	解明 ·· 脳神経 飯島	···32 外科 圭哉

卷頭言

公益財団法人 渡邉財団

理事長 小 谷 誠

今から45年程前に私は米国のマサチューセッツ工科大学(MIT)に留学して、人間の身体から発生する微弱な磁気を計測して、病気の診断に役立てようとする研究を2年間行い、帰国後も生体磁気計測の研究を続けてきた。

人間の心臓や脳からは微弱な磁気が発生していることは以前から推定されていたが、この微弱な磁気を計測できる磁束計がなかった。ところが、1970年代に超伝導技術を応用した超高感度のSQUID磁束計が米国立研究所とMITの共同研究で開発された。

MITではこのSQUID磁束計を用いて、心臓から発生する磁気の計測に成功し、更に心臓磁気の千分の1程度の脳から発生する磁気計測に挑戦している頃、私はMITに留学した。

私がMITに留学した頃、MITの研究所では大変なことが起っていた。それは、米国の著名 な医師が、「MITのグループは心臓や脳の神経活動に伴って発生する磁気を計測していると 言っているが、それは間違いである。彼らの計測している磁気は血液の中の鉄分が地磁気を乱 している磁気を計測しているのにすぎない」と新聞で批判された。その結果、MITの生体磁気 計測の研究への米国の公的研究費は大幅に削減されていた。

私は、この医師の意見は理にかなっていると思って、十数名の健常者の血液を採取して SQUID磁束計で計測したが、血液は全く磁性がないことがわかった。

その理由は、鉄自体は常に磁性を持っているが、鉄が酸素と結合する仕方によって強い磁性 を持ったり、全く磁性を持たなくなる。血液中の鉄は全く磁性を持たないように酸素と結合し ているのである。

人間の祖先がこの世に登場し、立って歩き、言葉を交わすようになったのは、今から200万 年程前と云われている。この間に、地磁気の大きさと方向が10回ほど変わっている。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、僅か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正常に働かなくなる。ところが、外部から心臓に磁気を加 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、磁気治療器は危険性は少ないが、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、磁気の作用は、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、長期間腰を落ち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 囲気が強く、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30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。

磁場が体内時計に影響を与える分子機構の解明

Identification of the molecular mechanism underlying the magnetic field effects on circadian clock's regulation

平山 順

Jun Hirayama

公立小松大学保健医療学部 臨床工学科, 〒923-0961 石川県小松市向本折町へ14-1

Department of Clinical Engineering, Faculty of Health Sciences, Komatsu University1-1 1-14 Mukaihon-ori-machi, Komatsu-city, Ishikawa, 923-0961, Japan.

Abstract

The circadian clock generates behavioral rhythms to maximize an organism's physiological efficiency. The circadian clock is established by cell-autonomous oscillators called cellular clocks, which are present in every cell of a living organism. The synchronization of cellular clocks in tissues and organs by light is required to orchestrate the circadian clock at the organismal level. The current study aims to revealing the effect of magnetic field on synchronization of cellular clocks by the use of zebrafish as experimental model animal.

Keywords: Circadian clock, Zebrafish, Cellular clock, Light

1. 目的

体内時計は、地球上の多様な生物に存在し 睡眠や代謝といった生理機能を外環境の昼夜の 変化に適応させる生体の恒常性維持機構である

(文献 1)。ヒトにおいては、体内時計の異常が、 睡眠障害やメタボリック症候群といった疾患と 関連することが報告されている(文献 2)。この機 構は、生物の全身の組織の細胞に内在する日周期 性を持つ転写機構(細胞時計)により形成される。 正常な体内時計の制御には、細胞時計が、光など の外界の刺激を利用し組織内で互いに同じ時刻 に同調することが必要である(文献 3)。近年、磁 場が体内時計に影響を与えることが報告されて いる(文献 4-6)。しかしながら、磁場が体内時 計に影響を与える分子機構は不明な点が存在す る。本研究の目的は、ヒトと共通の体内時計制御 機構を有するゼブラフィッシュを用いて、磁場が 細胞時計の組織内同調に影響を与えるかを検証することとした。

2. 方法

本研究は、「生物の発生期では細胞時計が外環 境に同調していない(文献3)」ことに注目し、細 胞時計の光同調を解析した。ゼブラフィッシュの 器官形成は受精後2日目までに完了し、稚魚は受 精後5日目より行動を開始する(図1A)。ゼブ ラフィッシュの細胞時計は、受精後1日目までの 初期胚には存在せず器官形成が完了する受精後2 日目から4日目の間に各組織の細胞に形成される。 各細胞に形成された細胞時計が、光により組織内 同調すると、行動の日周変動(行動リズム)が形 成される(図1B)。本研究では、この発生期の光 依存的な行動リズムの形成を指標に体内時計と それに対する磁場の影響を評価した。

稚魚の行動は Danio Vision で解析した。この装置の下部は温度と照明条件を一定に保つインキュ

ベーターである。ここに、稚魚を multi-well plate に 入れて飼育する。機器の上部に設置された赤外線 カメラで稚魚を追跡し、経時的にそれらの 10 分間 あたりの移動距離を測定した。この測定値より行 動解析ソフト ActgramJ を用いてアクトグラムを 作成し、同ソフトを用いて、行動リズムの有無を 評価した。また、本解析で用いた磁場発生装置は 左右の磁心と上下の磁極とからなる略矩形形状の磁 心枠と当該磁心枠の左右の磁心の周囲にそれぞれ 配設した励磁コイルを有する。この装置を用いて、ゼ ブラフィッシュ稚魚を 10 mT の磁場で処理した。

3. 結果

これまでの研究は、生化学的な解析から細胞時 計の光同調を担う時計分子として、光誘導性の zPER2 と zCRY1a を報告している(文献 7)。先ず ゼブラフィッシュ稚魚においてこれらが、mRNA レベルで、光誘導されることを確認した(図 2)。 次に、受精後常に暗い恒暗環境下で飼育した稚魚 に、受精後 5 日目に 3 時間の光処理を行い行動リ ズムを解析した。その結果、光処理依存的な行動 リズムの形成を観察した(図 3)。同様の実験を 10mT の磁場を与えた稚魚で行った。この場合も 同様に光依存的に行動リズムが形成された。

本助成研究により、ゼブラフィッシュを実験モ デル生物とした細胞時計の評価系を新たに構築 でき その一部を英文総説に発表した(文献8と 9)。

4. 考察

今回の解析では、10mT の磁場で処理したゼブ ラフィッシュ稚魚において、処理のない個体と同 様に光依存的に行動リズムが形成された。これま でに、ショウジョウバエを用いた解析において 300mT の磁場の処理により、行動リズムの周期が 変化することが報告されている(文献 5)。この背 景より今後、より強い磁場のゼブラフィッシュ稚 魚の光依存的な行動リズム形成への影響を検討 していきたいと考えている。

近年、磁場や紫外線などのストレス因子が、体 内時計の乱れを引き起こすことが明らかになっ ている(文献1および2)。体内時計の破綻は睡眠 障害や代謝異常の原因となる。磁場が体内時計に 与える影響とその分子機構の理解は、ストレス因 子が誘発する体内時計障害に対する予防対策を 構築する上で有用な知見を提唱することが期待 される。

謝辞

本研究は、公益財団法人渡邉財団による研究助 成金により行われたものです。助成していただき ました渡邉財団に深謝いたします。

参考文献

- 1 Takahashi, J. S. Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nat Rev Genet* **18**, 164-179, (2017).
- 2 Sahar, S. & Sassone-Corsi, P. Metabolism and cancer: the circadian clock connection. *Nat Rev Cancer* 9, 886-896, (2009).
- 3 Hirayama, J. *et al.* The clock components Period2, Cryptochrome1a, and Cryptochrome2a function in establishing light-dependent behavioral rhythms and/or total activity levels in zebrafish. *Scientific reports* **9**, 196, (2019).
- 4 Uchida, Y., Shimomura, T., Hirayama, J. & Nishina, H. Light, Reactive Oxygen Species, and Magnetic Fields Activating ERK/MAPK Signaling Pathway in Cultured Zebrafish Cells. *Appl Magn Reson* **42**, 69-77 (2012).
- 5 Yoshii, T., Ahmad, M. & Helfrich-Forster, C. Cryptochrome mediates light-dependent magnetosensitivity of Drosophila's circadian clock. *PLoS Biol* **7**, e1000086 (2009).
- 6 Moller, A., Sagasser, S., Wiltschko, W. & Schierwater, B. Retinal cryptochrome in a migratory passerine bird: a possible transducer for the avian magnetic compass. *Die Naturwissenschaften* **91**, 585-588, (2004).
- 7 Hirayama, J., Cho, S. & Sassone-Corsi, P. Circadian control by the reduction/oxidation pathway: catalase represses light-dependent clock gene expression in the zebrafish. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 15747-15752 (2007).

8 Okamoto-Uchida Y, Izawa J, <u>Hirayama J</u>*. Roles of MAPKs in circadian clock regulation in vertebrates. Mitogen-Activated Protein Kinases: Activation, Functions and Regulation (Edited by Hester KC.) Nova Science Publishers. 29-54. 2019.

9 Izawa J, Okamoto-Uchida Y, Nishimura A, and <u>Hirayama J</u>*. Light-dependent regulation of circadian clocks in vertebrates. Chronobiology (Edited by Svorc P.) InTechOpen. 1-15. 2019.



図1: ゼブラフィッシュの発生と時計形成



図 2: zPer2 と zCry1a 遺伝子の光依存的な発現



 図3:光処理を行ったゼブラフィッシュで観察 された行動リズムの例
 図中の黒いバーは行動量を示す。行動量は 日中にあたる時間帯 (Sublective day) に増 加し、夜間にあたる時間帯 (Sublective night) に減少する。

MRI を用いた電気特性分布の in vivo 高解像度イメージング

In vivo and high-resolution imaging of the electrical properties by using MRI

奈良高明*, 伏見幹史*

Takaaki Nara* and Motofumi Fushimi*

*東京大学大学院情報理工学系研究科, 〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1

* Graduate School of Information Science and Technology, The University of Tokyo

7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656 Japan

Abstract

This paper presents a novel explicit reconstruction method for magnetic resonance-based electrical properties tomography (EPT). We propose a method that can reconstruct three-dimensional EPs without its local homogeneity assumption required for the conventional methods. We derive a novel equation for the electric field that incorporates the variation of the magnetic field along the longitudinal axis, with which the three-dimensional EPs can be computed. A method to remove a spot-like artifact due to the low amplitude of the electric field is also proposed.

Keywords: magnetic resonance, electrical properties tomography, inverse problem

1. 目的

磁気共鳴画像(Magnetic resonance image: MRI)を 用いて人体内部の高周波磁場分布を計測し、導電 率や誘電率といった電気特性を in vivo で画像化 する技術が注目されている.1) 乳癌は健常組織に 比べ導電率が7倍程度高まるという報告もあり、 電気特性は癌診断の新たなモダリティとしても 期待される.2) この問題に対し,様々な逆問題手 法が提案されているが,多くの従来法では、人体 内部で電気特性が局所的に一様であると仮定す るため,健常組織と異常組織の境界で大きな誤差 が生じる.1,3) これに対し我々は、複素解析を用い、 局所的一様性の仮定の不要な手法を提案してき た(文献4,5).しかしながら二次元近似をするた め, 電気特性が体軸方向に変化するときはなお大 きな誤差が生じていた.4 本研究の目的は、磁場 の体軸方向変化を考慮に入れ、二次元手法を三次 元手法に拡張し、任意の電気特性分布を推定可能 にすることである. また MRI スキャナの特性に より人体中心付近に生じる点状アーチファクト に対処する方法についても提案する.

2. 方法

人体内部の導電率,誘電率を σ , ϵ とする. また ラーモア周波数を ω として, $\kappa = \epsilon - i\sigma/\omega$ とおく. この κ が推定したい量である. MRI スキャナを 用いて観測可能な量は,人体内部における磁場 $H^+ = (H_x + iH_y)/2$ である. ただし,体軸方向を z 軸とした.磁場にあわせスライス断面内の電場 を $E^+ = (E_x + iE_y)/2$ と書くと,高周波の電磁場 は時間調和なマックスウェル方程式

$$-\bar{\partial}E_{\tau} = -\omega\mu H^{+} + \partial_{\tau}E^{+}, \qquad (1)$$

$$4\partial H^{+} = -\omega \kappa E_{r}, \qquad (2)$$

$$\partial_z U^+ = \omega \kappa E^+, \qquad (3)$$

を満たす.ただし、 μ は透磁率であり、体内で一様と仮定する.文献4の我々の従来手法では、式 (3)における $\partial_{z}H^{\dagger}$ 、したがって、式(1)の $\partial_{z}E^{\dagger}$ を無 視することで、陽な再構成を可能にしたが、z 軸 方向に電磁場が変化する場合は大きな誤差が生 じていた.これに対し本研究では、z 軸方向の電 磁場の変化を考慮し、複素解析を用いて解くこと

のできる新たな方程式

$$\tilde{\partial} \left(E_{z} \exp \left(T \left| \frac{\partial_{z}^{2} H^{+}}{4 \partial H^{+}} \right| \right) \right)$$

$$= \left(\omega \mu H^{+} - \frac{\partial_{z}^{2} H^{+}}{\omega} \partial_{z} \frac{1}{k} \right) \exp \left(T \left| \frac{\partial_{z}^{2} H^{+}}{4 \partial H^{+}} \right| \right), \quad (4)$$

を導いた. ただしT は $\partial T[f] = f$ を満たす積分作 用素である. 式(4)の導出は文献 7 に記載した. こ の方程式は $\partial_{-}H^{+}$ を含み, 2D 近似が成り立たな い場合でも正しく成り立つものである.

本研究では、式(4)を解くために、以下の反復計 算法を提案した:まず、 $\partial_{z^{\kappa}} = 0$ を仮定すると、 Cauchy-Pompeiu の公式と呼ばれる複素関数論の 公式を用いて E_z を求めることができる.⁶その様 な表現は文献7に記載した.これを式 (2)に代入す ると、電気特性 κ が求まる. この κ を式(4)に代 入し、再度 E_z について解く. これを収束するまで 反復する.

提案手法の有効性を,有限要素法ソフトウェア COMSOL を用いた数値シミュレーションにより 検証した.図1が使用した2つのモデルであり, 人体を模した楕円柱内部に電気特性の異なる複 数領域を含んでいる.z 軸方向に変化がないのが モデル1,変化があるのがモデル2である.計算 した磁場に1%ガウシアンノイズを加え,提案法 と我々の従来法の再構成結果を比較した.

3.結果

まず図2はモデル1の再構成結果である.従来 法では電気特性値が真値より低いのに対し,提案 法は真値に近いことが最右列でよく確認できる. 図3はモデル2に対する提案法の結果である.中 央列が初期解,右列が反復修正後の結果を示す.

4. 考察

図2は二次元的な電気特性をもつモデル1に 対する結果だが、MRIのコイルは有限長であり、 電磁場はz軸方向に変化をもつため、これを考慮 している提案法が従来法より高精度となってい る.図3において、初期解では $\partial_{zK} = 0$ を仮定し 電気特性のz変化を無視するため、電気特性値は 真値より低いが、右列に示すように1回の反復で よく改善されている.



図1. 数値実験で用いた2つのモデル. 電気特性 が z軸方向に変化しないのがモデル1,変化する のがモデル2である.



図2. モデル1の推定結果. 真値(True)に比べ,従 来法(Previous)では値が低くなるのに対し,提案法 (Proposed)では精度高く電気特性値が再構成でき ている(上段:比誘電率,下段:電気特性).



図 3. モデル2の推定結果. 初期解(中央列)で は電気特性値が真値(左列)より低いが,1回の 反復で真値に近づく(右列).

提案法に残された課題として,モデル1,2 どちらの結果においても,人体内部の中心付近に点状のアーチファクトが発生していることが挙げられる. MRI スキャナで用いるバードケージコイルの性質上,人体中心付近でE₂の振幅が小さくなるが,電気特性を式(2)で計算する際,E₂の除算が必

要であり, 誤差が増幅されることがその理由である.³⁾本研究では, このアーチファクトを除く方法として, 高誘電率のパッドを用いる手法を提案した. これを体側部につけて撮像すると, *E*_zの零点が中心部からシフトする. そこで, パッド有, 無で2度計測し結果を組み合わせることで, アーチファクトを除去できる. 図4は3つの異常導電率を含むモデルに対する数値シミュレーション結果である. 中心部に現れる点状アーチファクト (左上)が, パッドを付加することで右側の*x*=20mm付近にずれ(右上), 両者を組み合わせることで, 広



図 4. 通常の再構成では中心部付近に点状のアー チファクトが現れる(左上). 体側部に高誘電率 パッドを付加して撮像するとこの点がシフトす る(右上). 両者の結果を統合することで, アー チファクトのない画像が得られる(下).

本研究では、MRI を用いた電気特性再構成に対 し、二次元問題に対する手法であった我々の従来 法を拡張し、三次元的に変化する電気特性を高精 度に推定する手法を導出した.また MRI スキャ ナの特性によって生じる人体中心付近の点状ア ーチファクトを高誘電率パッドを用いて解消す る手法についても提案した.

謝辞

本研究は, 渡邉財団 第25回磁気健康科学研究助 成の支援を受けた. この論文の内容は, 2019年5 月 19 日にモントリオールで行われた 27th ISMRM Annual Meeting & Exhibition, および 2019年6月21日に函館で行われた第34回生体磁 気学会で報告したものである.

参考文献

- Katscher U and van den Berg CAT: Electric properties tomography: Biochemical, physical and technical background, evaluation and clinical applications, NMR Biomed., 30, 1–15, 2017.
- Joines WT, *et al.*: The measured electrical properties of normal and malignant human tissues from 50 to 900 MHz, Med. Phys, 21, 547–550, 1994.
- Seo, JK., *et al.*: Error analysis of nonconstant admittivity for MR-based electric property imaging, IEEE Trans. Medical Imaging, 31, 2, 430-437, 2012.
- Nara T, Furuichi T, and Fushimi M: An explicit reconstruction method for magnetic resonance electrical property tomography base on the generalized Cauchy formula, Inverse Problems, 33, 105005, 2017.
- Fushimi M and Nara T: A boundary-value-free reconstruction method for magnetic resonance electrical properties tomography based on the Neumann-type integral formula over a circular region, SICE JCMSI, 10, 571–578, 2016.
- Vekua I: Generalized analytic functions., Pergamon Press, 1962.
- Fushimi M and Nara T: An explicit EPT reconstruction method based on the Dbar equation incorporating longitudinal field variations, 27th ISMRM Annual Meeting & Exhibition, 5055, 2019.

磁気遺伝学的手法を用いた耳鳴治療のシーズ開発

A pilot study of the alleviation of tinnitus by magnetogenetics.

小野宗範* 馬 蘭蘭* Munenori Ono* and Lanlan Ma*

*金沢医科大学医学部生理学 1, 〒920-0293 石川県河北郡内灘町大学 1-1 *Physiology 1, Kanazawa Medical University 1-1 Daigaku, Uchinada, Kahoku, Ishikawa 920-0293, Japan

要約

耳鳴は人口の 1-2%の人々の QOL を著しく損ねていると報告されている。耳 鳴は難聴に伴ってあらわれることから、聴神経入力の減弱を補償する神経活動に より引き起こされると考えられているが、そのメカニズムに不明な点が多く未だ 治療法が確立していない。本研究では、耳鳴モデル動物の神経活動異常を検証す るとともに、磁気刺激による賦活化のための聴神経への磁気感受性タンパクの導 入を試みた。

キーワード: 耳鳴、神経活動変化、中枢聴覚神経回路

1. 目的

超高齢化社会を迎えた現在、老年性難聴の患者 は増加し、同時に耳鳴にも悩まされている。しか し現在耳鳴には有効な治療がなく、耳鳴は多くの 人々を悩ませ続けている。耳鳴は難聴にしばしば 随伴する。神経回路には入力の減弱に対して、回 路内での伝達効率を動的に変化させることによ る補償機能があることが良く知られている。そこ で本研究では、磁気遺伝学を利用した方法により 聴神経の活動を人為的に亢進させることで耳鳴 の緩和が可能であるのかどうかを、モデル動物を 用いて試みた。磁気遺伝学とは、磁気感受性を持 つ膜タンパク Magneto2.0 を目的神経細胞に遺伝 子導入することで、磁気による神経活動操作を行 う新しい技術である 1。本研究ではウイルスベク ターを用いて Magneto2.0 を耳鳴モデル動物の聴 神経に導入し、外部からの磁気刺激によって聴神 経活動を慢性的に亢進させ、その効果を行動実験 と神経測定によって評価する。本研究ではその端 緒として難聴による神経活動変化の評価とウイ ルスベクターによる目的タンパクの聴神経への 導入を試みた。

2. 方法

1 カ月齢のマウスに対して音響暴露(115 dB のオ クターブ帯域雑音、中心周波数 16 kHz, 1 時間)を 行い難聴を導入した。その後8週間、聴力を脳幹 聴性反応を記録して評価した。音響暴露の8週間 後に中脳の聴覚中枢である下丘から単一ニュー ロンの電気活動を記録し、難聴による神経活動へ の影響を検証した。この際には興奮性ニューロン と抑制性ニューロンの識別をするために遺伝子 改変動物である VGAT-ChR2 マウスを使用した。 このマウスの脳内では抑制性ニューロンに特異 的に光感受性タンパク ChR2 が発現しており、記 録時に光照射すると、抑制性ニューロンは活動亢 進を興奮性ニューロンは活動抑制を示す。この特 性を利用して下丘内で興奮性/抑制性ニューロン の識別を行ったうえでそれぞれの活動レベルを 計測し、難聴による影響を検証した。また、蝸牛 側壁から内耳へウイルスベクターを注入するこ とで聴神経へのタンパク導入を行った。本研究で は試験的に Magneto2.0 を含むベクターに代えて、 AAV1-CaMK2-GCaMP6f-WPRE-SV40 を使用した。 3. 結果

音響暴露の結果、8週間の間持続する聴力低下が 観察された(図1, n = 11)。また音響暴露後2か 月後の下丘での神経活動記録からは、正常動物で は抑制性ニューロン(n =29)の自発活動は興奮性 ニューロン(n=20)と比較して高いのに対して、難 聴を持つ動物では、大幅に興奮性ニューロン(n = 40; 抑制性ニューロン, n = 95)の自発活動が亢進 していることが判明した(図2)。加えて興奮性/ 抑制性ニューロンの活動電位の形状に変化が見 られた(図2)ことから聴力低下による下丘ニュ ーロンの活動変化の背景には、これらのニューロ ンの電気的性質の可塑的変化が存在することが 示唆された。一方、蝸牛側壁からのウイルスベク ターによる聴神経へのタンパク導入は現段階で は効率が低く、活動操作が可能となるだけの発現 を得ることができなかった。

4. 考察

神経活動計測の結果、難聴が聴覚中枢において興 奮性ニューロンと抑制性ニューロンの活動バラ ンスを動的に変化させることが明らかとなった。 下丘における興奮性ニューロンの自発活動の亢 進は、聴覚神経回路内の活動レベルの異常亢進を もたらし、耳鳴の原因となることが示唆された。 この活動変化は、耳鳴の抑制を図る際にその効果 を検証するための良い指標となることから、今後 の耳鳴治療の研究にとって非常に有用な結果を 得ることができた。一方、聴神経へのタンパク導 入は現段階では満足のいく結果を得ることはで きなかった。今後、手術技術の向上、ウイルスお よびプロモーターの種類を最適化することでこ の問題を解決したい。また、臨床応用を考えた際 にはより非侵襲的な手法が望ましい。聴神経への タンパク導入による活動操作に加えて、TMS によ る外部からの磁気刺激や遠赤外レーザーによる パルス刺激など非侵襲的な方法についても検討 を進めている。

謝辞

この研究は公益財団法人 渡邉財団からの補 助を受けて実施したものである。 本論文の内容の一部は2019年7月25日に新潟で行 われた神経科学学会の一般演題として発表した。 また、Hearing Research誌に原著論文としても発表 した(Ma LL, Ono M, Qin L, Kato N, Acoustic Trauma Induced the Alteration of the Activity Balance of Excitatory and Inhibitory Neurons in the Inferior Colliculus of Mice. Hearing Research, 2020, in press)。

参考文献

1) Wheeler et al., Nature Neuroscience, 19(5):795-791, 2016.



(A-D)下丘内の異なるニューロンタイプからの電気活動記録、練えの活動電位(スパイク) が構成される。漫都の動物では異常性ニューロン(B)は東期性ニューロン(A)に比べて 自発能火頻度が低いのに対して、音響暴離動形では抑制性ニューロン(C)に比べて預答 性ニューロン(D)の先火健康が高くなる。(E)自発発火機度をそれそれのニューロン構 を比較して指ビグ団(編, 2550/5/パーセンタイル、ヒグ 10-90 パーセンタイル)とし でブロットした。点描は各データ点を表す。*P < 0.001, *** P < 0.001, Steel-Dwast test (D)スパイクの形状。負の方向にビークをなした後に対の方向にアン デビークをなすものを解析の対象とした。(G)スパイク単位幅の範ピケ巡。音響暴躍に より知時性細胞で半個優が振びすることが見られた。(H)スパイクのビークとアンチビー の回機提比、音響暴電により映事性細胞のビーク/アンチビーク活気にが減少すること が見られた。(C)、(H)の結果より音響暴躍により下丘ニューロンの電気的性質が変化す ることが完成された。)

図2 音響暴露による下丘興奮性及び抑制性ニューロンの活動変化。

痛風診断に向けた in vitro 測定のための人工関節モデルの作成と評価

In vitro measurement of MSU crystals by an artificial joint model assuming a gout diagnosis

武内裕香*, 浜崎亜富** Yuka Takeuchi* and Atom Hamasaki**

*室蘭工業大学,〒050-8585 北海道室蘭市水元町 27-1
**信州大学理学部,〒390-8621 長野県松本市旭 3-1-1
*Muroran Institute of Technology,
27-1, Mizumoto-cho, Muroran, Hokkaido 050-8585 Japan
** Faculty of Science, Shinshu University
3-1-1 Asahi, Matsumoto, Nagano 390-8621 Japan

Abstract

Monosodium urate (MSU) crystals cause gout in articulation, and can develop even when the serum urate level is controlled. No satisfactory method has been established. Therefore, a better, non-invasive method to confirm the presence of MSU crystals is desired. We aim to detect MSU crystals from outside the body using a magnetic field and near-infrared light. The purpose of this research is to construct an articulation model and clarify its optical response to the applied magnetic field.

Keywords: magnetic orientation, magnetic field, gout, monosodium urate crystal

1. 目的

痛風の原因物質である尿酸ナトリウム(MSU) 結晶は体温の低い手足の関節等に好発し、関節の 炎症や激痛を引き起こす. 痛風発作の発症後, 尿 酸降下薬を服用で炎症が治まり、尿酸値も正常化 した場合でも,実際には関節内には結晶が長期に わたり残存し、1,2年後に再び痛風関節炎を発症す ることが報告されている¹⁾. つまり尿酸値の測定 だけでは痛風関節炎のリスクを評価できず、再発 のリスクを評価するには結晶の存在を確認する 必要がある。現在、結晶の存在を確認する手法と して, 偏光顕微鏡観察, CT検査, dual energy CT (DECT), 超音波検査などが挙げられる.通常, 関 節を穿刺し滑液を集めて偏光顕微鏡でMSU結晶 の存在を観察ことは明確な診断のために推奨さ れるが2)、これは強い侵襲を伴い、また、不採取 に終わることも報告されている³⁾.その他,非侵 襲的に結晶を確認する手法としCTや超音波検査 による報告もあるがそれぞれに長所と短所があ り、未だ確立された方法はない.我々はこれまで に、MSU結晶が磁気配向すること、またこの現象 は永久磁石程度の磁場強度でも十分起こすこと ができ、これを光計測によって検出できることを 確認している⁴.しかし、体内環境における結晶 の挙動や、光計測の課題点など、実用化に向けて 評価すべき基礎的知見はまだ多い。本課題では MSU結晶を配した関節モデルを構築し、その磁場 印加に伴う光応答性について実験を行った.

2. 方法

図1に示すように、市販の手骨モデルを用いて 関節の空間を約3.5 mm 程度離し、皮膚の役割と して熱収縮チューブを密着させ固定した. 関節の 空間に任意の濃度で MSU 結晶を外部から注入し て擬似的に疾患を再現した. MSU 結晶は尿酸粉 末より人工的に結晶を析出させ、結晶サイズは血 清を添加することにより,実際の痛風患者に見ら れるものと同程度(約 12 μm)に調整した.実験シ ステムは同図に示すように極間 50 mm の電磁石 (最大 0.5 T 発生)中に関節モデルを配置し,マルチ チャネル型の分光光度計を使用して反射光強度 の時間変化を測定した.光源は高い光強度と生体 透過性を実現するために,波長 785 nm の近赤外 レーザーを使用した.



図1 実験システムと関節モデル

3.実験結果

図2に作製した関節モデルに光源を照射した際 の反射光強度の経時変化を示す.反射光強度の値 は正規化を行った.0.5 Tの磁場を約45秒で印加 にすると反射光強度は急激に増加し,飽和に達す るまでの時間は5秒程度であった.その後,約 90秒で磁場をオフにすると光強度は減少し,磁場 印加前の強度までほぼ回復した.再び磁場を190 秒で印加すると同様の振る舞いを確認できた.光 強度の変化率は約2%であった.また,予め結晶 を含まない関節モデルに磁場印加したときの反 射光強度が磁場に応答しないことを確認してお り,観察された光強度の変化は,MSU 結晶の反 磁性磁化率の異方性に伴う磁場配向によって,結 晶面が回転し,反射光強度が変化したことを示し ている.



図2 反射光強度の時間変化

4. 考察

これまでの研究では光学セル(10×10×45 mm³) 中に MSU 結晶を分散させて光強度変化の測定を 行ってきたが、本研究では、人工関節モデルを作 成し、微小な関節の空間に実際の痛風患者から得 られる結晶と同程度のサイズの結晶を分散させ て実験を行った.その結果、磁場印加に追従して 光強度が変化し結晶の存在を確認できたことか ら、実際の指関節においても、磁場と近赤外を用 いて体外からの検出が可能であることが示唆さ れる.現在、光学セル中に分散させた結晶に対し、 磁場配向と偏光による相乗効果で検出感度を向 上させられることを確認しており、そのシステム を組み込むことで実際の関節においても検出感 度の向上が見込まれる.

謝辞

この研究は磁気健康科学財団の補助を受けて 実施したものである.

参考文献

- Li. Yu J et al., J. Rheumatol., Vol. 28, pp. 577-580, (2001).
- H. R. Schumacher and A.J. Reginato, Philadelphia, Lea & Febiger, Vol. 35, pp. 607, (1992).
- A. Swan et al., Ann. Rheum. Dis. Vol. 61, pp. 493, (2002).
- 4) Yuka Takeuchi et al., IEEE. Tran. Mag., Vol. 52, 5000704, (2016).

高感度磁気共鳴画像診断装置を用いた筋ジストロフィーにおける

心筋障害の非侵襲的定量評価

Assessment of Myocardial Fibrosis in Muscular Dystrophy by Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging

相川忠夫*, 武田充人**, 白石秀明**, 小梁川和宏*, 小林雄太*, 真鍋徳子*** Tadao Aikawa*, Atsuhito Takeda**, Hideaki Shiraishi**, Kazuhiro Koyanagawa*, Yuta Kobayashi*, and Noriko Oyama-Manabe***

*北海道大学病院循環器内科,〒060-8648 北海道札幌市北区北 14 条西 5 丁目
**北海道大学病院小児科,〒060-8648 北海道札幌市北区北 14 条西 5 丁目
***北海道大学病院放射線診断科,〒060-8648 北海道札幌市北区北 14 条西 5 丁目
* Department of Cardiovascular Medicine, Hokkaido University Hospital Kita-14, Nishi-5, Kita-ku, Sapporo 060-8648 Japan
** Department of Pediatrics, Hokkaido University Hospital Kita-14, Nishi-5, Kita-ku, Sapporo 060-8648 Japan
*** Department of Diagnostic Imaging, Hokkaido University Hospital Kita-14, Nishi-5, Kita-ku, Sapporo 060-8648 Japan

Abstract

This study aimed to assess myocardial fibrosis in patients with muscular dystrophy and female carriers Duchenne or Becker muscular dystrophy. Six patients with muscular dystrophy and 5 female putative carriers of Duchenne or Becker muscular dystrophy were prospectively enrolled. Cardiovascular magnetic resonance imaging was performed, including cine, pre-and postcontrast T1 mapping for assessment of extracellular volume fraction (ECV), and late gadolinium enhancement. Four patients and 1 putative carrier had a left ventricular ejection fraction of <55%. Five patients and all putative carriers had an elevated ECV (>30.4%). ECV did not differ significantly between the patient and putative carrier groups (median [range], 34.8% [27.6%–43.8%] vs. 37.4% [36.1%–39.8%]; p=0.54), suggesting that ECV of myocardial T1 mapping has a potential to detect diffuse fibrotic changes in patients and putative carriers of muscular dystrophy.

Keywords: muscular dystrophy, cardiovascular magnetic resonance imaging, late gadolinium enhancement, T1 mapping, extracellular volume fraction

1. 目的

筋ジストロフィーは進行性の骨格筋障害による筋力低下を特徴とする難治性疾患である. さらに筋ジストロフィーによる心筋障害は,生命予後を規定する因子として重要である.¹⁾筋ジストロ

フィーにおける心筋障害の多くは拡張型心筋症 様の病像を呈し、年齢とともに左室駆出率の低下 や心筋線維化が進行する.²⁾この心筋線維化の進 行は、磁気共鳴画像診断装置(MRI)における遅 延造影像で非侵襲的に描出することができる.ま た, Duchenne 型筋ジストロフィーや Becker 型筋 ジストロフィーの保因者にも心筋障害を認める ことがある.^{3,4)} 遅延造影 MRI は心筋線維化を定量 するゴールドスタンダードとして確立している が,筋ジストロフィーで時に認められるびまん性 の心筋線維化を検出できない場合がある.このた め,新しく開発された MRI による心筋線維化の 定量法である T1 mapping および細胞外容積分画

(ECV)が筋ジストロフィーによる心筋線維化の 検出により有用である可能性がある.⁵⁾そこで,本 研究では筋ジストロフィーの患者および推定保 因者を対象に,T1 mapping を含む心臓 MRI で心 筋線維化の検出を試みた.

2. 方法

2019 年 8 月から 2020 年 3 月までの間に北海道 大学病院で心臓 MRI を受けた, 筋ジストロフィ ー患者 6 名と Duchenne 型もしくは Becker 型筋ジ ストロフィーの推定保因者 5 名を前向きに登録し た.研究プロトコールは北海道大学病院の倫理審 査委員会の承認を受け(登録番号 018-0287),全 ての研究参加者より文書によるインフォームド コンセントを取得した.筋ジストロフィーの診断 は臨床所見や遺伝子診断,筋生検,家族歴などに 基づいて行った.筋ジストロフィーの推定保因者 は,全て Duchenne 型もしくは Becker 型筋ジスト ロフィーの男性患者の母親であった.

心臓 MRI は、北海道大学病院でフィリップス社 製3テスラ MRI (Achieva TX) によるシネ,造影 剤投与前後のT1 mapping,遅延造影を行った.左 室短軸のシネ撮像は心電図同期による balanced steady-state free precession pulse sequence で撮像 U^{0} , T1 mapping l^{\pm} modified look-locker inversion recovery sequence で左室短軸三断面を撮像した. 遅延造影と造影剤投与後の T1 mapping は 0.1 mmol/kg のガドリニウム造影剤投与 10~15 分後 に撮像した.⁶心臓 MRI 画像は専用解析ソフトウ ェアのザイオソフト社製 Ziostation2(ザイオソフ ト社) で解析した. 左室全体の ECV が 30.4%を超 える場合を ECV 上昇とした."二群間の連続変数 の比較は Mann-Whitney test で行い, p 値が 0.05 未満を統計学的有意とした.全ての統計解析には GraphPad Prism 6 (GraphPad Software 社)を用いた.

3. 結果

筋ジストロフィー患者6名は全て男性で、年齢 の中央値は 16.0 歳(範囲, 8.6~34.4 歳) であっ た. 推定保因者5名の年齢の中央値は46.0歳(範 囲, 43.0~51.7 歳) であった. 患者群の内訳は, Duchenne 型筋ジストロフィーが2名, Becker 型筋 ジストロフィーが3名,筋強直性ジストロフィー が1名であった.4名の患者はアンジオテンシン 変換酵素阻害薬を内服中で、その4名の内2名は β遮断薬も内服中であった. 左室駆出率は,4名 の患者と1名の推定保因者で55%未満に低下し、 患者群(中央値 53.9%, 範囲 31.8%~57.6%)と推 定保因者群(中央值 60.3%, 範囲 49.6%~65.3%) には有意差を認めなかった (p=0.13). 遅延造影 MRIでは、4名の患者と2名の推定保因者に異常 増強像を認めた.異常増強像の左室心筋に占める 範囲は,患者群で中央値6.2%(範囲5.3%~14.6%), 推定保因者群で2.6%および19.8%であった. 左室 心基部における Native T1 値は、患者群(中央値 1304 ms, 範囲 1195~1326 ms) と推定保因者群(中 央値 1269 ms, 範囲 1259~1306 ms) には有意差を 認めなかった (p=0.33). 左室全体の ECV は, 5 名の患者と全ての推定保因者で上昇し、その中央 値は患者群で 34.8% (範囲 27.6%~43.8%), 推定 保因者群で 37.4% (範囲 36.1%~39.8%) であり, 両群間に有意差を認めなかった(p=0.54,図1).



図 1. 患者群と推定保因者群における細胞外容積 分画(ECV)の比較.水平方向の点線は30.4%を 示し、エラーバーは平均と標準偏差を示す.

心臓 MRI で左室駆出率の低下(49.6%) と ECV 上昇(36.1%)が明らかになった推定保因者 1 名 に、アンジオテンシン変換酵素阻害薬とβ遮断薬 を開始した.

4. 考察

本研究より,びまん性心筋線維化を反映した ECV の上昇は筋ジストロフィーの患者および推 定保因者の両方にみられることが明らかになっ た.さらに,遅延造影 MRI で異常増強像がなく とも ECV が上昇している症例もあり, ECV は遅 延造影 MRI よりもより正確に心筋線維化を反映 した指標である可能性がある.今後は症例を集積 するとともに経過観察を継続し,ECV 上昇と左室 駆出率の変化や予後との関連について明らかに していく予定である.

謝辞

この研究はJSPS 科研費(課題番号 19K17189), 公益財団法人渡邉財団,公益財団法人日本心臓財 団の研究奨励,および公益財団法人難病医学研究 財団の補助を受けて実施したものである.

参考文献

 Feingold B, et al: Management of cardiac involvement associated with neuromuscular diseases: a scientific statement From the American Heart Association. Circulation. 136:e200-e231 (2017).

- Aikawa T, et al: Progressive left ventricular dysfunction and myocardial fibrosis in Duchenne and Becker muscular dystrophy: a longitudinal cardiovascular magnetic resonance study. Pediatr Cardiol. 40:384-392 (2019).
- Florian A, et al: Cardiac involvement in female Duchenne and Becker muscular dystrophy carriers in comparison to their first-degree male relatives: a comparative cardiovascular magnetic resonance study. Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 17:326-33 (2016).
- Wexberg P, et al: Myocardial late gadolinium enhancement is associated with clinical presentation in Duchenne muscular dystrophy carriers. J Cardiovasc Magn Reson. 18:61 (2016).
- Soslow JH, et al: Increased myocardial native T1 and extracellular volume in patients with Duchenne muscular dystrophy. J Cardiovasc Magn Reson. 18:5 (2016).
- Aikawa T, et al: Improved regional myocardial blood flow and flow reserve after coronary revascularization as assessed by serial 15O-water positron emission tomography/computed tomography. Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 21:36-46 (2020).
- Kellman P, et al: Extracellular volume fraction mapping in the myocardium, part 2: initial clinical experience. J Cardiovasc Magn Reson. 14:64 (2012).

経頭蓋磁気刺激を用いた治療抵抗性統合失調症患者における

GABA 神経系障害の客観的評価法の確立

Assessment of the GABA system in patients with treatment-resistant schizophrenia with transcranial magnetic stimulation

宮澤惇宏 *, 金原信久**, 仲田祐介 *, 伊豫雅臣 *

Atsuhiro Miyazawa*, Nobuhisa Kanahara**, Yusuke Nakata*, Masaomi Iyo*

*千葉大学大学院医学研究院精神医学,〒260-8670 千葉県千葉市中央区亥鼻 1-8-1 **千葉大学社会精神保健教育研究センター,〒260-8670 千葉県千葉市中央区亥鼻 1-8-1

Abstract

The present study evaluated central nervous system GABA function in schizophrenia patients (SCH group) and normal healthy subjects (HC group). Our main findings showed that the cortical silent period (CSP), measured with transcranial magnetic stimulation was significantly longer in patients with treatment-resistant schizophrenia (TRS) compared to the HC group. This CSP prolongation was attributed to the values of CSP of TRS patients under treatment with clozapine. The SCH and TRS groups both showed significantly poorer cognitive functions than the HC group, but there was no significant correlation between any cognitive domain and CSP in either the SCH group or the HC group. Although only one part of our study showed a significant result, our findings overall support the GABA hypothesis in schizophrenia.

Keywords: clozapine, cortical silent period, gamma-aminobutyric acid, schizophrenia, transcranial magnetic stimulation

1. 目的

統合失調症は思春期後半から前青年期に発病す る代表的な精神病性疾患である.その症状は幻 覚・妄想などの陽性症状,感情平板化や社会的引き 籠りなどの陰性症状,さらには認知機能障害など 多彩な精神症状を呈する.抗精神病薬は一般的に 陽性症状に奏功するが,患者の約3割の者は抗精 神病薬が奏功しない治療抵抗性と示し,これらは 治療抵抗性統合失調症(Treatment-resistant schizophrenia: TRS)を呼ばれる.現在のところ clozapine (CLZ)が唯一TRS患者に有効性が確立さ れた抗精神病薬であるが、この CLZ でさえ効果が 乏しい超難治な患者が存在する.また陽性症状以 外の陰性症状と認知機能障害は抗精神病薬による 改善が乏しく、慢性化する傾向が強い.

統合失調症の病因は現在まで完全には解明され ておらず,これまでにドパミン仮説,グルタミン酸 仮説,γ-アミノ酪酸 (GABA) 仮説などが提唱され てきている.¹⁾ GABA は中枢神経系における主要 な抑制性神経伝達物質であり,その神経系は,大脳 皮質・海馬・扁桃体・視床・小脳・脊髄後角など に抑制性介在神経として,また黒質と線条体を結 ぶ投射神経として存在している.近年死後脳研究 において GABA 合成酵素である GAD1 (glutamic acid decarboxylase1 あるいは GAD67)が患者にお いて有意な低下が報告された.^{2,3)} GABA システム はドパミン系・グルタミン酸系とも相互に調整機 能を有しており,統合失調症の病態において極め て重要な役割を担う神経系と考えられている.患 者の中枢 GABA 神経機能を簡便に評価・測定する 手法は現在まで見出されておらず,同システムの 異常と臨床症状との関連は十分に明らかとなって いない.

皮質抑制時間(Cortical silent period: CSP)は経頭 蓋磁気刺激法(Transcranial magnetic stimulation: TMS)を用いた運動野への単発磁気刺激によって 得られる指標の一つである.この CSP はこれまで の研究の集積によって中枢 GABA 神経系の機能 を反映すると考えられている.^{4,5)}近年では特に GABA_B 受容体を介したシグナルを反映している とされる.⁴⁾

本研究では、統合失調症の病態への GABA 神経 系の関与を明らかとするため、特に TRS 患者に着 目し、TRS 患者・非 TRS 患者・健常者の3 群に対 して、TMS による CSP 測定、認知機能検査、また GAD1 遺伝子多型を調べた.

2. 方法

本研究は千葉大学大学院医学研究院の倫理審査委員会と生命倫理審査委員会に承認を受け,被験者 に十分な説明を行った上,文書にて参加の同意取 得を行った.

2.1. 被検者

統合失調症患者(SCH)は千葉大学医学部附属病院 で治療中の者を対象とした.Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 第5版 (DSM-5)により診断のなされた統合失調症及び

統合失調感情障害を主診断とする者である. TRS の診断は CPMS (Clozaril Patient Monitoring Service) の基準とし, 少なくとも 2 種類の抗精神病薬を chlorpromazine 換算で 600mg/日以上による薬物療 法に対して, 陽性症状が十分な改善を示さず, 直近 1 年の Global Assessment of Functioning (GAF) が 41 点を越えない者を TRS (反応性不良) と定義し た. ただし CLZ による薬物療法中の被検者に関し て, 現在の GAF は 41 点以上でも, CLZ 導入前に TRS の基準を満たす場合は, 本研究では TRS 群に 組み込んだ.

健常者(HC)は精神疾患の既往のない者である.

その他の組込み基準として,両群共に年齢は20 -65歳(同意取得時)であることとしている.主 な除外基準は,妊娠中やその疑いのある者,脳血管 障害・てんかんなどの中枢神経疾患のある者,物質 関連障害合併している者としている.

2.2. 測定項目

CSP は,TMS [Magstim Rapid 2: the Magstim company Ltd]により被験者左運動野に単発の磁気 刺激を与えて測定した.右第一背側骨間筋を標的 筋とした.被検者を脱力状態とし,運動誘発電位 (Mortor evoked potential: MEP)を測定し,刺激部位

(焦点運動野)を決定する.その後同部位で刺激強 度を調節し,安静時閾値(Resting motor threshold: RMT)を決定した.本研究では,標的筋の安静状態 で,50%の確率で50µV以上のMEP振幅が出現する 刺激強度を RMT と定義した.続いて最大筋収縮の 20%を保った状態で焦点運動野に RMT の1.2 倍の 強度の単発磁気刺激を与えることで CSP を測定し た.(図1) 5 回測定し,その平均を測

図 1:TMS による CSP 測定



定値とした.

認知機能評価を MATRICS Consensus Cognitive Battery (MCCB)を用いて行なった.

SCH 群には,臨床症状尺度として PANSS (Positive and Negative Syndrome Scale) と GAF に よる評価を行った.その他抗精神病薬の種類に関 する情報も抽出した.

2.3. *GAD1* 上一塩基多型 (Single nucleotide polymorphism: SNP)の遺伝子型判定

GAD1上の2つのSNP rs3749034とrs769404を遺 伝子型判定した.これらのSNPは, GAD1上の遺伝 子多型の中で最も精力的に研究されているもので ある.遺伝子型判定は StepOneplus [ThermoFisher SCIENTIFIC, US]を用いた TaqMan 法にて実施し た.

3. 結果

SCH 群 31 名と HC 群 27 名において年齢と性別 は統計学的にマッチした群となった. 両群間で CSP には有意差を認めなかった. (表1)

SCH 群をTRS 群とそれ以外 (NonTRS 群) に分け て, HC も含めて 3 群比較を分散分析 (Analysis of variance: ANOVA) にて実施した. 3 群間で年齢・ 性別に統計学的差異は認められなかった. 症状評 価における SCH 群の下位 2 群間比較で, TRS 群は NonTRS 群よりも PANSS (合計・陽性症状・総合 病理) にて有意に高値であり, GAF にて有意に低 値であった.

表1:	HC群と	: SCH	〔群:	背景情報と	CSP 値
-----	------	-------	-----	-------	-------

表 2: HC 群と NonTRS 群と TRS 群 : 背景情報 と CSP 値

	HC (N=27)	NonTRS (N=16)	TRS (N=15)	統計	值 Post hoc		
年齢 [歳]	37.4 [13.0]	49.8 [8.7]	42.6 [10.7]	F=5.936, p=0.05	-		
性別 [男/女]	11/16	10/6	8/7	χ=1.993, p=0.369	-		
CSP [msec]	106.9 [36.4]	92.6 [30.6]	145.5 [46.3]	F=8.192, p<0.01 TRS>Nor	aTRS,TRS>HC		
PANSS 給得点	-	54.7 [14.1]	80.8 [30.8]	<i>t</i> =3.064, p<0.01	-		
PANSS 陽性尺度	-	10.5 [3.7]	16.5 [7.8]	<i>t</i> =3.044, p<0.01	-		
PANSS 陰性尺度	-	15.4 [5.5]	20.8 [10.7]	t=1.787, p=0.084	-		
PANSS 総合病理	-	28.7 [7.2]	43.4 [14.7]	<i>t</i> =3.561, p<0.01	-		
GAF	-	56.5 [13.0]	41.5 [11.5]	<i>t</i> =-3.379, p<0.01	-		

CSP に関して, ANOVA で有意であり, Post hoc 検定にて TRS 群 は NonTRS 群・HC 群よりも有意 な延長を認めた. NonTRS 群と HC 群では差を認め なかった. (**表 2**)

認知機能(MCCB)に関しては、社会認知を除く 全ての項目で有意差を認めた. Post hoc 検定にて、 ワーキングメモリー、推論・問題解決で TRS 群が HC 群に比して有意に低値であった.処理速度,注 意・覚醒,言語学習,視覚学習,で TRS 群は HC 群・ NonTRS 群に比して有意に低値であった.総合評 価では、TRS 群は HC 群・NonTRS 群に比して有意 に低値であり、NonTRS 群も HC 群に比し有意に低 値であった.(**表**3)

CSP と臨床症状・認知機能障害との相関を見た ところ, SCH 群と HC 群それぞれにおいて PANSS・ GAF・MCCB の各認知機能ドメインとの間に CSP との有意な相関は見られなかった.この結果 は, SCH 群を TRS 群と NonTRS 群に分け,そ **表 3: HC 群・NonTRS 群・TRS 群の MCCB 結果**

				• •	•••			• •	
	HC (N=27)	SCH (N=31)	統計值		HC (N=27)	NonTRS (N=14)	TRS (N=12)		統計值 Post hoc
年齡[歲]	37.4 [13.0]	46.3 [10.2]	<i>t</i> =2.914, p=0.05	ワーキングメモリー	46.4 [6.3]	41.5 [10.8]	33.8 [15.8]	F=6.268, p<0.01	TRS <hc< td=""></hc<>
別[男/女]	11/16	18/13	χ ² =1.732, p=0.188	処理連度	55.2 [8.0]	39.7 [10.5]	31.8 [15.8]	F=23.018, p<0.01	TRS <hc nontrs<="" th=""></hc>
SP [msec]	106.9 [36.4]	118.2 [46.8]	<i>t</i> =0.998, p=0.323	注意・覚醒	52.1 [7.8]	47.6 [13.5]	31.2 [11.6]	<i>F</i> =16.745, p<0.01	TRS <hc nontrs<="" td=""></hc>
NSS 総得点	-	67.3 [26.8]	_	言語学習	46.1 [7.3]	34.5 [5.5]	31.2 [9.9]	F=20.209, p<0.01	TRS <hc nontrs<="" th=""></hc>
SS 陽性尺度	-	13.4 [6.1]	_	視覚学習	59.8 [6.9]	45.7 [11.3]	42.0 [17.8]	<i>F</i> =13.124, p<0.01	TRS <hc nontrs<="" th=""></hc>
SS 陰性尺度	-	18.0 [8.7]	_	推論・問題解決	58.4 [8.4]	52.0 [10.2]	43.0 [10.5]	<i>F</i> =11.221, p<0.01	TRS <hc< th=""></hc<>
SS 総合病理	-	35.8 [13.5]	_	社会關知	38.7 [13.0]	32.1 [11.7]	31.0 [13.1]	F=2.107, p=0.132	-
GAF	_	49.2 [14.3]	_	総合	51.5 [6.0]	36.5 [11.2]	25.5 [16.5]	<i>F</i> =27.116, p<0.01	TRS <nontrs<hc< th=""></nontrs<hc<>

性 C PAT PAN PAN PAN れぞれで検討しても同様であった. 唯一 TRS 群で 表 4: GAD1 上 SNP の分布 GAFとCSPは正の相関が認められた.(図2A)一方 NonTRS 群では GAF との相関は認められなかっ た. (図 2B)

さらに TRS 群 の中で、CLZ にて治療中の者 (TRS-CLZ)とそれ以外の抗精神病薬にて治療中 -の者(TRS-NonCLZ)とで分類し、4 群間で比較をす ると, ANOVA で有意であった. Post hoc 検定で TRS-CLZ 群が HC 群・NonTRS 群・TRS-NonCLZ 群に比して有意な CSP の延長を認めた.(図3)

GAD1上のSNP rs3749034 ·rs769404 に関しては, 遺伝子型・アレル分布とも、SCH 群と HC 群の間 に差を認めなかった.(表4)

図 2: TRS 群・NonTRS 群における CSP と GAF 相関









	group		遺伝	子型			アレル	
rs3749034	SCH (N=21) HC (N=20)	GG 12 (57.1%) 5 (25.0%)	GA 6 (28.5%) 13 (65.0%)	AA 3 (14.2%) 2 (10.0%)	χ2=5.64, p=0.06	G 30 (56.5%) 23 (43.3%)	A 12 (41.3%) 17 (58.6%)	χ2=1.73, p=0.19
rs769404	SCH (N=24) HC (N=20)	CC 4 (16.6%) 5 (25.0%)	CT 10 (41.6%) 10 (50.0%)	TT 10 (41.6%) 5 (25.0%)	χ2=1.42, p=0.49	C 18 (37.5%) 20 (50.0%)	T 30 (62.5%) 20 (50.0%)	χ2=1.38, p=0.24

4. 考察

今回我々は、TRS 患者では GABA 神経系障害がよ り強い可能性を検証するため、TMS を用いた単発磁 気刺激による CSP の測定,認知機能障害の測 定, GABA シグナルに重要な役割を担う GABA 合成 酵素 (GAD1) の SNP の解析を実施した. その結 果, TRS 群では NonTRS 群・健常群に比して CSP の 延長を認めた、また TRS 群は MCCB による全ての認 知ドメインにて NonTRS 群に比して強い認知機能障 害が認められた.CSP は精神症状や認知機能との間 で相関を認めなかったが、TRS 群では唯一 GAF との 間で正の相関を認めた.

TRS 群の CSP 延長は特に CLZ にて治療中の患者 で著明であった.これは先行研究とも矛盾しない結 果であった.^{6,7)} TRS 群では CSP と一部の臨床症状で 全般的な機能を評価する尺度である GAF と正の相 関を認めた. CLZ で治療中の患者 (TRS-CLZ) は GAF が高値であることから、TRS 群における CSP と GAF の正相関は、CLZ 治療の者の結果が大きく関与して いることが推定された.この結果は.CSP が CLZ など 一部の抗精神病薬の反応性を示している可能性を示 唆すると同時に、CLZ が GABAB 受容体を介した作用 機序を有している可能性を示唆しているかもしれな い.

認知機能に関しては、多くの項目で TRS 群での機 能低下を認めた.統合失調症の認知機能障害に GABA 神経系の障害が関与していることが推定され ているが、CSP との相関は見出せなかった.この結果 は、CSP が関与する GABA 神経系と、認知機能に関わ る GABA 神経系が解剖学的に異なるネットワークで あることと関係しているかもしれない.

*GAD1*上の2つの SNP (rs3749034 と rs769404) に 関しては,小サンプルサイズのため, SCH 群全体で HC 群との比較に止めた.結果は有意差を見出すに至 らなかったが, rs3749034 は SCH 群でG アレルが多い 傾向が示された.さらなる大規模なサンプルで解析 が必要である.

今回, CLZ による治療によって CSP 延長を来す可 能性が強く示唆される結果となり, CLZ による臨床 症状の改善と GABA 神経系の機能変化と間で何等か 関係を有している可能性が考えられた.臨床所見も 含めて CSP の変化との関連も言及したかったが,ま だサンプルサイズは少なく引き続きの検討が必要で ある.

参考文献

 Yang AC and Tsai SJ: International Journal of Molecular Sciences 18(8)1689 (2017).

- Benes FM: Schizophrenia Research 167(1-3) 1-3 (2015).
- Taylor SF and Tso IF: Schizophrenia Research 167(1-3) 84-90 (2015).
- Wolters A et al.: The Oxford Handbook of transcranial stimulation, Chapter10 (Oxford University Press, 2008).
- 5) Alisauskiene et al.: Medicina (Kaunas) 41(10) 813-824 (2005).
- Daskalakis ZJ et al.: J. Psychopharmacology 22(2) 203-209 (2008).
- 7) Liu SK et al.: Biol. Psychiatry 65(6) 503-509 (2009).

小脳への反復経頭蓋磁気刺激による難治性めまいに対する新規治

療法の開発

The application of cerebellar rTMS to the treatment of intractable balance disorder 五島史行*

Fumiyuki Goto*
*慶應義塾大学医学部 耳鼻咽喉科,
〒160-8582東京都新宿区信濃町35

*Department of otolaryngology, Keio university 35 Shinanomachi shinjuku, Tokyo 160-8520 Japan

Abstract

There is so far no treatment for the failure of vestibular compensation. We see 1000 intractable dizzy patients each year in our institue. 1% of these patients are not responded to any of the treatments. These patients suffer the symptoms and new treatment is mandatory to improve the quality of life. The hyper activity in the cerebellum on intact side is pathophysiology of the failure of vestibular compensation. We now propose to develop new treatment to suppress cerebellum by rTMS(repetitive Transcranial Magnetic Stimulation) to alleviate the symptoms.

Keywords: vestibular, rTMS

1. はじめに

我々は、他院より紹介される年間約 1000 人の 難治性めまい初診患者を診察し、様々な治療を行 ってきた。そのうち、適切な治療法がない前庭機 能代償不全によるめまいは約 1%存在した。本疾 患には新規治療法の開発が望まれている。共同研 究者の鬼頭は精神科領域での経頭蓋磁気刺激の エキスパートであり、経頭蓋磁気刺激により新規 治療法を共同で開発することを発案した。

2. 背景

経頭蓋的磁気刺激法(Transcranial magnetic stimulation:rTMS)は、頭蓋上に設置した電磁コイルにパルス電流を流して磁場を発生させ、生体内に誘導電流を発生させる手法である。脳内に生じた誘導電流のパルスによって、コイル直下の神経細胞が発火する。1980年代に開発された当初は、

人での臨床神経生理学的な研究や、中枢神経刺激 による錐体路機能評価の検査の目的で主として 用いられてきた。その後の機器の改良によって、 1秒1から50回(1-50Hz)の頻度での遅発刺激を する手法(repetitive TMS:rTMS)が開発されてから は、動物実験モデルでのシナプス長期増強や抑制 (Long term potentiation / depression; LTP / LTD)と同 様に、TMS 終了後にも持続する中枢神経系への影 響を生み出すことが可能となり、リハビリテーシ ョン領域での応用がすすめられている。

前庭機能代償不全に対する治療法は確立して いない。本疾患は、片側前庭機能の低下があり、 本来中枢にて代償されるべき前庭機能の左右不 均衡が代償されておらずめまい症状を慢性的に 訴える症例である。その病態の主体は健側前庭小 脳の過興奮である。一般的な治療法としては、従 来からの薬物療法(抗めまい薬のベタヒスチン)や リハビリ(前庭眼反射、前庭脊髄反射の反復刺激に よる小脳の中枢代償を促進する方法)がある。しか し、我々のこれまでの経験では、年間約 1000 人 のめまい初診患者のうち、薬物治療、前庭リハビ リを行ったにもかかわらず前庭機能代償不全に よるめまい症状を訴える症例は約 1%存在する。

これらの患者は安静時にはめまいを感じないも のの体動時や疲労時に顕著にめまいを感じ、日常 生活に大きな影響を与える。しかしこれまで本疾 患に対しては適切な治療法がなかったため新規 治療法の開発が熱望されていた。歴史上、世界的 に病態の根本である小脳機能を直接操作できる 手段がめまい治療に導入されていなかったから である。

しかし、当施設が有している特殊形状コイルを 用いた経頭蓋深部磁気刺激(deep transcranial magnetic stimulation, deep TMS)(図 1)は非侵襲的に 脳を刺激することが可能であり、刺激条件に応じ て小脳の表層から深部までの機能を変化させる。 すなわち、10Hz の高頻度刺激は、刺激部位の脳 機能を増強し、1Hzの低頻度刺激は刺激部位の脳 機能を抑制することが知られている。TMS が脳機 能に及ぼす影響に関しては過去に多数の報告が ある。分担研究者である鬼頭らは、TMS が抗うつ 効果を有していることを報告している。また、 Kakuda ら1)はTMS が脳卒中後の運動機能の改善 に有効であったと報告している。本研究では、精 神科領域での経頭蓋磁気刺激のエキスパートで ある共同研究者の鬼頭 2)と、deep TMS を用いて 小脳を刺激することにより、今まで治療手段のな かった患者のめまい症状を改善できるか検討し、 新規治療法開発を目指す。

3.目的

経頭蓋磁気刺激の副作用として、頭痛、刺激部 位の疼痛が報告されている。これらは、ほとんど の場合、刺激の終了とともに改善する。2007年以 降に実施された RCT による副作用報告では、頭 痛、刺激部位の不快感、疼痛などを含め、10%~ 20%の頻度とされている。実際、これらのために 研究の参加が中止となることはまれである。さら に今回使用するサークルコイルでは、従来の深部 刺激用のコイルと比較し、より焦点をあわせた刺 激が可能であり、頸部の筋収縮を軽減できるため、 刺激部位の不快感や痛みの頻度は低くなると考 えられる。また、2007年以降に実施されたRCT や米国FDAのMDR(medical device reporting)に よると、けいれん発作が起こる頻度は、経頭蓋磁 気刺激1回(1日)あたり、0.003%未満、患者1 人あたり(1人平均30回、週に5日、6週間)0.1% 未満である。前庭代償不全患者に行われる低頻度 刺激に関しては、さらに、けいれん発作が生じる 頻度は低く見積もられると考えられる。

これまでの脊髄小脳変性症を対象とした臨床 研究などから、純粋な小脳症状に対する rTMS の 有効性は証明されている。しかし、小脳刺激は大 脳皮質を刺激する場合と異なって、有効な刺激が 到達しているのか簡単に判明できないなど問題 点があり、小脳刺激法についての技術進歩の必要 がある。

4. 方法

研究の説明および同意取得後、必要に応じて、 血液検査、胸部レントゲン、心電図、などの入院 前検査を行う。内耳機能とめまい症状の評価のた め、①純音聴力検査(治療前)、②標準平衡機能検 査、③重心動揺計、④カロリックテスト(CaT)、⑤ 追跡眼球運動検査(ETT)、⑥視運動性眼振検査 (OKP)、⑦Dizziness Handicap Inventory (DHI, めま いの重症度を測る質問紙)(②~⑦は治療前~6 ヶ 月後)を行う。

頭部脳機能画像による変化を測定するため治療前、治療後6ヵ月の時点でfunctional MRI(fMRI,High-density 脳波(HDEEG)を行う。前者によって機能的結合を評価する。fMRIの撮影、HDEEGの記録は通常の勤務時間外に研究の目的で行うため検査技師に対して謝礼を払っておこなう。また平衡機能検査の一部も研究目的で技師に謝礼を支払って行う。

精神状態の評価のため、うつ・不安・認知の尺 度の質問紙、うつ性自己評価尺度(SDS)、状態-特 性不安検査(STAI)、簡易抑うつ症状尺度(QIDS-J)、 臨床全般印象度(CGI)を使用する(治療前、5 日間 の治療直後、2 週後、1ヶ月後、3ヶ月後、6ヶ月 後)。

5. 治療の実際

本研究で使用する経頭蓋磁気刺激装置(MagPro R30 Therapy System, Magventure, Inc, Denmark) (図 1) は、国内では検査機器としてすでに認可され ているものであり、機器としての安全性は担保さ れている。経頭蓋磁気刺激は頭皮にコイルを接触 させて行う。治療は6日間の入院にて行った。至 適な刺激設定を得るために、刺激のパラメーター は適宜変更を行う。刺激頻度(Hz)、刺激強度 (intensity)、刺激時間(train duration)、刺激回数 (frequency)のパラメーターが可変可能である。コ イルは、Cool-125(同社)を使用。刺激は、健側 小脳、1Hz、1日15分(900 pulses)、120%MT、 週5日。

6. 症例の経過

3 例の結果を図に示した。重心動揺計外周面積 の変化を図2にしめした。また自覚症状を質問紙 のDHIと不安をSTAIで評価した結果を図3に示 した。

7. 考察

当施設では日本でも有数の難治性めまい(一般 的治療を行うも3ヵ月以上にわたりめまい症状の 改善を認めない症例)の患者数を誇り、年間約 1000人が受診する。我々はそれらの患者に対する 新しい評価方法として Dizziness handicap inventory を邦訳し日常診療に役立ててきた3)。また治療法 として、従来の一般薬物治療に加え、入院の上集 団で行うリハビリテーションを行ってきた4)。こ のような濃厚な治療にもかかわらず難治性めま い患者のうち数パーセントが改善を認めなかっ た。これらの患者には新規治療法の開発が必須と 考えていた。一方、共同研究者である鬼頭らは、 経頭蓋磁気刺激(TMS)をいち早く精神神経科領 域で臨床応用し、本治療の安全性を示すと供に、 抗うつ効果を有していることを報告している。五 島の所属する慶應義塾大学では5) TMS を耳鳴り の治療に本邦で初めて応用し、TMS による治療経 験がある。またその治療効果を fMRI を用いた脳 機能画像で評価を行ってきた。これらのノウハウ の蓄積より TMS を難治性めまいの治療に応用す ることを発案した。さらに fMRI,脳波によってそ の効果を客観的に証明することも可能であると 考えた。

内外においても前庭代償不全患者に対してこ れまで前庭リハビリテーション、薬物治療が中心 となって行われてきたが、その効果には限界があ った。まためまい患者に対する経頭蓋磁気刺激 (TMS)を用いた報告は見られない。平衡障害に 関連するこれまでの報告では脊髄小脳変性症の 小脳機能改善に TMS が有効であったという報告 があるのみである。健側小脳の機能障害が病態と 考えられている、前庭代償不全に対して TMS が 有効である可能性がある。今回の結果治療後4週 間の時点での重心動揺がもっとも安定しており その後いずれのパラメーターも延長が見られた ことから rTMS の治療効果の持続という点の問題 がある可能性があり今後引き続き検討が必要で ある。

8. まとめ

本研究の着眼点は新規性があり、難治性めまい に対する新規治療法として TMS が有効であるこ とを示す可能性がある。

また fMRI (functional MRI),HDDEEG(脳波)といった機能的画像検査を用いて、機能的結合の治療前後の変化を記録し評価する。その結果、客観的にその有効性を証明することができる可能性がある。

謝辞

この研究は公益財団法人磁気健康科学研究振興 財団第25回研究助成によって行われた。

参考文献

- 1) Kakuda W, Abo M, Kobayashi K, Int J Rehabil Res 2010;33:339-45.
- 2) Kito S, Hasegawa T, Koga Y: Psychiatry Clin Neurosci 2011;65:175-82.
- Goto F, Tsutsumi T, Ogawa K: Acta Otolaryngol 2011;131:817-25.

 新井 基洋, 五島 史行, 保坂 隆: 心身医学 2012;52:221-228.

5).Minami SB, Shinden S, Okamoto Y, Auris Nasus Larynx 2011;38:301-6.

図1前庭代償と磁気刺激(TMS)

A前庭代償

B代償不全

図2 重心動揺計外周面積の変化



図 3 DHIと STAI の変化



拡散テンソル磁気共鳴画像による

脳下垂体線維の描出とホルモン分泌の機能評価

Visualization of pituitary axis and hormonal function using diffusion tensor image in patients with pituitary disease 笹川泰生,木下雅史

Yasuo Sasagawa and Masashi Kinoshita

金沢大学 脳神経外科, 〒920-8641 石川県金沢市宝町 13-1 Department of Neurosurgery, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University 13-1 Takara-machi, Kanazawa, 920-8641, Japan

Abstract

Magnetic resonance image (MRI) is a mandatory medical tool in patients with brain disease. Diffusion tensor image, can visualize neuronal tract, are useful for neurosurgical plan. Our study is to visualize pituitary axis using diffusion tersor image in patients with pituitary disease. And we conduct that the correlation between the visualized pituitary axis and hormonal function in the patients. We enrolled 10 pituitary tumor patients. Diffusion tersor image could visualize pituitary stalk fiber in some cases. However, the images were invisible in case of patients which had a large tumor. Diffusion tersor image may have a potential to visualize pituitary axis and could value hormonal function.

Keywords: pituitary axis, hormonal function, diffusion tensor image

1. はじめに

MRI 検査は脳神経外科において脳疾患の検出 や手術計画の為の必須の検査である。近年は様々 な MRI 検査の手法が発達している。なかでも拡 散テンソル磁気共鳴画像 diffusion tensor image は 連続した神経線維を描出できる(図1)。脳手術前 に大脳に走行する運動神経線維を描出すること で、手術中に運動神経線維を損傷するリスクを軽 減できることが最大の利点である。 脳下垂体における手術は従来の開頭手術から、近 年では鼻から脳下垂体に到達する経鼻手術で行 うようになり、患者の負担が軽減された。しかし ながら、脳下垂体に腫瘍が発生した際に、大脳か ら脳下垂体につながる神経線維が通常の MRI 検 査では描出できない。脳下垂体自体も腫瘍に圧排 され、描出が困難となる。これが原因で手術中に よる脳下垂体の損傷のリスクが高くなる。ホルモ ン分泌の源である脳下垂体が損傷されれば、手術 後にホルモンの分泌低下が生じ、身体に様々な影 響を及ぼす。成人では肥満や動脈硬化が促進し、 心筋梗塞や脳卒中のリスクが増す。これを解決す るために手術前に大脳から脳下垂体につながる 神経線維の走行が同定できれば損傷のリスクを 回避できる。

2. 目的

本研究では脳下垂体手術において 1. 拡散テンソル磁気共鳴画像で脳下垂体に連続 する神経線維の検出を試みる。 2. 手術中に神経線維の走行が、手術前の画像と一致したか検討する。3. 手術後の拡散テンソル磁気 共鳴画像で、損傷が回避されたか確認する。 4. 拡散テルソン磁気共鳴画像を定量化し、ホルモン分泌機能との相関を評価する。 5. 上記により脳下垂体の手術後の神経線維の損 傷を最小限にするとともに、ホルモン分泌機能を 維持することを目的とする。

3. 方法

研究期間は2019年4月から12月までの1年間 とし 10 例について施行した。対象疾患は脳下垂 体および近傍に発生した腫瘍で、これに加え経鼻 的内視鏡手術の適応 (視力視野などの視機能障 害、ホルモン分泌不全症状)と判断した。 術前 に脳下垂体 MRI 検査を施行した。MRI のシーク エンスは通常臨床で施行している T1 強調像、T2 強調像、T2*、FLAIR、DWI、造影ダイナミック (早期像、後期像)と、これに加えて拡散テンソ ル磁気共鳴画像 DTI (Diffusion tensor imaging) を 施行した。取得した拡散テンソル磁気共鳴画像の データを専用のワークステーション (General Electric Medical Systems) に移行し、専用ソフト (Functool 4, General Electric Medical Systems) で神 経線維を描出させた。これにより視床下部から脳 下垂体に向かう神経線維の描出を試みた。

4. 結果

10 例のうち、6 例において下垂体神経線維の描 出が可能であった。しかしながら、残り4 例は神 経線維が描出できなかった。下垂体神経線維の描 出が可能であった6 例の平均腫瘍サイズは13mm であり、描出できなかった18mmに比して有意に 小さかった。描出の程度とホルモン機能(尿崩症 の出現や下垂体前葉機能低下症)について明らか な有意差は認めなかった。

5. 考察

この研究により,拡散テンソル磁気共鳴画像 diffusion tensor image が下垂体神経線維を描出で きることを見出した。

これまで下垂体神経線維の評価は MRI 画像に

よる報告があったが¹、その質的評価は困難であった。拡散テンソル磁気共鳴画像 diffusion tensor image による神経線維の評価は、木下らによるグ リオーマ手術に応用されている²⁾。今回の研究で は腫瘍サイズが大きいと神経線維の評価が困難 であった。今後は MRI の撮像法の変更などによ り、上手く描出できる可能性があり、今後の発展 が期待される。

謝辞

この研究は公益財団法人渡邉財団令和元年(第 25回)研究助成の補助を受けて実施した。

発表

本研究の一部内容は、2020年2月東京で開催され た『第 30 回日本間脳下垂体腫瘍学会』などで報 告した。本報告内容の一部は現在英論文として 投稿している。

参考文献

1) Hayashi Y, Sasagawa Y, Nakada M et al. Prediction of postoperative diabetes insipidus using morphological hyperintensity patterns in the pituitary stalk on magnetic resonance imaging after transsphenoidal surgery for sellar tumors. Pituitary. 2016;19:552-559

 Kinoshita M, Miyashita K, Nakada M. Clinical neural networks in awake surgery for gliomas. Neurol Med Chir (Tokyo). 2016;56:674-686.

(図1) 下垂体腫瘍における術前MRI画像(冠状断)





矢頃:脳下垂体 矢印:大脳から連続する脳下垂体への 神経線維

脳下垂体に腫瘍があると 神経線維が確認できない

強パルス磁場による深部センチネルリンパ節の検出

Detection of sentinel lymph node using pulsed magnetic field 山本 勲、廣田幹英

Isao Yamamoto and Mikihide Hirota

横浜国立大学大学院工学研究院, 〒240-8501 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-5 Department of Physics, Graduate School of Engineering Science, Yokohama National University 79-5 Tokiwadai, Hodogaya-ku, Yokohama 240-8501 Japan

Abstract

The detection of magnetic nanoparticles has established a new method from sentinel lymph node biopsy to breast cancer metastasis. A pulsed magnetic field was applied to detect small signals from magnetic particles. We designed three types of detection circuits and evaluated the performance. Maxwell bridge circuit with RC low pass filter reduced white noise to less than 1/10. The 300 turn coil showed the best performance with a detection depth of 16 mm in the case of 300 V discharge.

Keywords: sentinel lymph nodes, pulsed magnetic field, Resovist, search coils

1. 目的

)乳がん転移の有無の検査には、センチネルリン パ節(乳がん細胞のリンパ液が最初に流入するリ ンパ節)の生検が有効である. センチネルリンパ 節の位置特定には放射線同位体と青色染料を用 いた方法が主流であったが, 医療従事者の被曝等 が問題となっている. 代替方法として磁気微粒子 と磁気プローブを用いた方法が注目されている. 磁気微粒子をがん患部付近に注入し、リンパの流 れを利用してセンチネルリンパ節に流し込み、体 外から磁気微粒子の位置を特定することでセン チネルリンパ節の位置を特定するという方法で ある. 先行研究ではネオジム永久磁石とホールセ ンサーを用い,磁気プローブから10mmの位置ま での磁気微粒子を検出したとの報告1-3)があるが、 BMI が高い患者には精度が低い.パルス磁場は比 較的大きな磁場を発生させることができるため、 より遠方での検出や、BMI が高い患者に対しても 高精度の生検が期待できる.本研究ではパルス磁 場を用いて磁気微粒子の検出に適した回路の改 良,条件の探索等を行い,磁気微粒子の遠方検出 の可能性を追求した.

2. 方法

RLC 直列回路による小型のパルス強磁場発生装置(最大充電電圧1kV,充電エネルギー5kJ)を自製し⁴⁾,磁気微粒子としてリゾビスト®(富士フイルム)94.1mgをポリカーボネート製試料容器(内径3.5 mm)に封入して使用した.図1の励磁コイル表面に2種類の磁気プローブを設置して磁気微粒子の遠方検出を試みた。まず、トランスバース型ホール素子(Lake Shore 社製 HGT-2010)を2つ組み合わせて、ホール電圧をキャンセルさせて検出回路とした.次に、サーチコイルペア以下のように使用した.コイル長4.5 mm,50巻き、内径8 mmの2つの同じ仕様のサーチコイルを図2のよ



図1 励磁コイルとサーチコイルの配置



うに直列逆向きに接続したキャンセル回路 A, Maxwell ブリッジを参考に作製した回路 B, 回路 Bに3段 RC ローパスフィルタを追加した回路 C を作製し検出性能を評価した. さらに,検出回路 Cを用い、磁気微粒子をサーチコイルから遠ざけ た際に信号を検出できる距離の限界を抵抗や巻 き数を変化させて測定し評価した.

3. 結果

片方のサーチコイル付近に磁気微粒子がある とき、磁気微粒子由来の波形が得られた.得られ た誘導起電力を式(1)のように積分したものを B^* 、 キャンセル波形と磁気微粒子ありの波形の B^* の 差を検出指標 ΔB^* と定義して、磁気微粒子からの 信号の相対的な大きさを評価した.

$$B^* = \int V \, dt \,. \tag{1}$$

ホワイトノイズやスパイク性ノイズを測定波 形から除去するため、離散ウェーブレット解析と マン=ホイットニーのU検定を用いて評価した.

検出回路 A, B, および C におけるノイズと検 出指標 ΔB^* を表1 (400 V 充放電時), サーチコイ ルの巻き数ごとの最大検出深度を表 2 (300 V 充 放電時)にまとめた.ホールセンサーを用いた磁気 微粒子の検出では 2 mm まで検出されたに過ぎなか ったが、サーチコイルを用いた検出では 16 mm 離 れた磁気微粒子を検出した.

	XⅠ (灰山回山の)11H						
回路	ノイズ/mV	検出指標, ΔB*					
А	± 5	11.6					
В	± 0.3	19.3					
С	± 0.1	19.2					
表 2	サーチコイルの巻	き数ごとの検出限界					
巻き	、数,n/turn	検出限界距離, h / mm					
	200	11					
	300	16					
	400	14					
	500	9					
	1000	1					

検出回欧の性能

表 1

4. 考察

本研究で用いたホール素子は高磁場用であっ たために高磁場下で微弱な磁束変化をとらえる 用途には磁気感度が低く不向きであった.

表1の通り,検出回路Bを採用することにより, ノイズを回路Aの1/10に低減し,検出指標 ΔB^* は66%向上した.回路Cでは ΔB^* を下げず,フィ ルタ回路によりノイズを更に低減して,放電時に 発生するスパイク性ノイズも大きく低減した.

回路Cのサーチコイルの中では300巻が最も検 出限界距離が大きかった.コイルの巻き数を増や すとインダクタンスが大きくなるため誘導起電 力が増加し検出性能が上がるが,コイルの外径と 巻線抵抗も大きくなるため磁化信号を捉えにく くなる.よって内径8mm,コイル長4.5mmのサ ーチコイルでは300巻が最適であった。300 V 充 放電は定格(1kV)の3割であったことから、最 大 50mm 程度の深部センチネルリンパ節の検出 が期待できることが本研究で明らかになった。

謝辞

)本研究は磁気健康科学研究振興財団 (30213)の 助成を受けた.また横浜国立大学機器分析評価センターの機器を使用した.本論文は2019年11月 11日長岡市で開催された『第14回日本磁気科学 会年会』で報告したものである.

参考文献

- 1) M. Kaneko *et al.* : AIPAdvances 7 (2017) 056713.
- 2) A. Kuwahata *et al.*: AIP Advances 7 (2017) 056720.
- 3) M. Sekino *et al.* : Scientific Reports 8 (2018) 1195.
- 4) 野尻浩之:固体物理 37 (2002) 537.

間欠性シータバースト刺激と経頭蓋交流電流刺激の周波数依存的

相互作用:運動誘発電位を用いた検討

Differential effects of 20 and 10 Hz-tACS on MEPs with intermittent Theta Burst Stimulation

中薗寿人*, 緒方勝也, 飛松昭三

Hisato Nakazono*, Katsuya Ogata** and Shozo Tobimatsu*

*九州大学大学院医学研究院 臨床神経生理学, 〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1 **国際医療福祉大学 福岡薬学部, 〒891-8501 福岡県大川市榎津 137-1

*Department of Clinical Neurophysiology, School of Medical Sciences, Kyushu University

3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582 Japan

** School of Pharmaceutical Sciences at Fukuoka, International University of Health and Welfare 137-1 Enokizu, Okawa, Fukuoka 891-8501 Japan

Abstract

Intermittent Theta Burst Stimulation (iTBS) is a patterned stimulation using transcranial magnetic stimulation (TMS). iTBS is utilized to modulate cortical excitability and has a feature of short duration about a few minutes to induce plasticity although its effects are largely variable. We introduced transcranial alternating current stimulation (tACS) synchronized with iTBS to modulate iTBS effects. 20 Hz tACS with iTBS suppressed iTBS effects irrespective of tACS phase while 10 Hz tACS inhibited iTBS effects at 90° but not 270°. Therefore, iTBS effects were modulated by tACS in a frequency and phase dependent manner.

Keywords: intermittent Theta Burst Stimulation (iTBS), transcranial alternating current stimulation (tACS), transcranial magnetic stimulation (TMS)

1. 目的

経頭蓋磁気刺激法(Transcranial Magnetic Stimulation, TMS)は非侵襲的に大脳皮質を刺激し様々な応答を得ることができる.刺激法も様々提案されているが,その中で間欠的シータバースト刺激(intermittent Theta Burst Stimulation, iTBS)は約3分間の刺激で一次運動野(M1)の促通が得られることが示され注目されている[1].一方 iTBS を含め非侵襲的脳刺激法はその応答の変動が大きいことが報告され[2],より効果的な刺激法が期待されている.

経頭蓋交流電流刺激(transcranial Alternating Current Stimulation, tACS)は頭皮上より1mA 程度

の弱い交流電流を流すことで大脳の興奮性を修飾することが報告されている[3].周波数や位相により皮質への興奮性が変動することが報告され [4],同様に直流電流を通電する経頭蓋直流電流刺激と異なる作用機序が示唆されている.tACS研究は大脳皮質の周期活動との相互作用の解明や, 大脳周期活動の修飾などの面で進歩が期待されている.

我々はこれまで tACS が周波数,位相依存性に M1 興奮性を修飾することを単発 TMS による運動 誘発電位(MEP)で報告した[4]. すなわち 20 Hz tACS の刺激中に 90°の位相で MEP を記録すると M1 興奮性が促通し, 10 Hz tACS では逆に抑制す る傾向が示された. これは tACS により M1 周期 活動を調整できる可能性を示唆する. したがって 特定の周波数, 位相により M1 興奮性を制御し iTBS の効果をさらに安定, あるいは促通できると 仮説を立てた. 本研究ではこれまでの研究を踏ま え, 10 Hz, 20 Hz tACS を用い, 90°, 270°の位相 にiTBS の刺激時刻を同期させ iTBS の促通効果が 変化するか評価することを目的とした.

2. 方法

2.1 MEP 記録

被験者は安静座位を保持し、右手第一背側骨間 筋より筋電図を記録した.TMS 刺激部位は左 M1 上 hotspot とした.刺激装置は Magstim200 (Magstim社,UK)を用い、刺激強度は0.5-1.5 mV の平均振幅が得られる強度とした.刺激間隔は 5-7 秒とし、1 セッションで24 回記録した.

2.2. iTBS

シータバースト刺激は 50 Hz で 3 連発のバース ト刺激を 5 Hz (200ms) 間隔で繰り返すものであ る. iTBS ではシータバースト刺激を 2 秒継続, 8 秒休止で繰り返し 200 秒, 600 パルスの刺激を行 った. 刺激部位は左 M1 hotspot とし, 刺激強度は 記録筋の弱収縮状態で 200 µV の MEP が半数(10 回中 5 回) 以上得られる最低強度(運動閾値)の 80% とした. 刺激装置は Magstim SuperRapid (Magstim Co., UK)を用いた.

2.3. tACS

tACS は DC-Stimulator (Neuroconn 社, ドイツ) を用いて刺激した.刺激電極は 5×7 cm のサイズ で刺激電極を左 M1 hotspot を中心に,基準電極を 脳波 10-20 法による Pz を中心に置いた.刺激強度 は 1 mA とし, iTBS 前 60 秒より開始, iTBS の間 持続させた (60 + 200=260 秒).また刺激開始,終 了時は皮膚感覚や眼内閃光を抑制するため 5 秒間 で刺激電流を漸増,漸減した. Sham 刺激の際には 刺激開始後 20 秒間だけ tACS 刺激を行った.

2.4. tACS と iTBS の同期刺激

tACS の位相に iTBS のバースト刺激の開始時刻 を同期させた. 同期の条件は 90°, 270°とし,比 較対象のため sham 刺激条件でも計測した.した がって1名の被験者は日を変え3回計測を行った. tACS + iTBS の同期刺激前に MEP を2セッション 計測しベースラインとした.tACS + iTBS 同期刺 激後は直後より5分毎に30分後まで MEP を計測 した.計測の日は2日以上開けて,刺激後効果が 残らないよう配慮した.

tACS 周波数は 20 Hz, 10 Hz でそれぞれ 3 条件 (90°, 270°, sham)の計測を行った.

2.5. 解析

MEP 振幅は対数変換後平均した. tACS + iTBS 同期刺激前2セッションの平均振幅をベースラインとし, tACS + iTBS 同期刺激後の振幅を正規化した.

統計は MEP 振幅を目的変数とし, tACS 条件 (90°, 270°, sham), 時間(同期刺激後 0-30 分) を固定効果, 被験者を変量効果とする混合効果モ デルを用いた. tACS 条件が有意だった際には各 2 条件間で対比較を行い, Holm 法で補正した.

3. 結果

3.1. 20 Hz tACS + iTBS 条件

被験者は 13 名の健常成人(男:女=8:5,年齢 20-35歳)が参加した.同期刺激前に比較し,sham 条件(iTBSのみ)ではMEP振幅が上昇した(図 1).振幅上昇は30分後まで持続した.一方tACS + iTBS同期刺激後には90°,270°条件とも促通効 果が観察されなかった.混合効果モデルにより tACS条件で有意差を認め,sham条件と90°,270° の間に有意差が示された.


3.2. 10 Hz tACS + iTBS 条件

被験者は 11 名の健常成人(男:女=7:4,年齢 20-24歳)が参加した.sham条件(iTBSのみ)で は,同期刺激後 MEP 振幅の上昇傾向が時間によ り観察されたが,一貫した促通の結果は得られな かった.一方 270°条件では促通効果が観察され, 90°条件では 270°条件より振幅が低下した(図 2). sham 条件は 90°と有意差を認め,90°条件で振幅が 低下していることが示唆された.



4. 考察

本研究でiTBSとtACSの同期刺激による相互作 用が明らかとなった. すなわち20 Hz tACSをiTBS と同期刺激すると 90°と 270°の位相非依存的に iTBS 単独で得られる促通効果を抑制することが 示された. 一方10 Hz 刺激では 90°と 270°条件間 で差を認め, 90°では 270°条件より振幅が低い結 果が得られた. したがって 20 Hz tACS では位相非 依存性に iTBS 抑制する効果をもたらし, 10 Hz tACS では位相依存性に iTBS の促通効果を修飾す ることが示された. よって iTBS は tACS によって 周波数, 位相依存性に促通効果が修飾されること が明らかとなった.

iTBS は約3分間の短時間で大脳皮質の促通効 果が得られる特徴があり注目されているが、被験 者間の変動があることが近年指摘されている. 我々は20 Hz tACS において90°の位相で大脳皮質 興奮性を促通することを見出した[4]. したがって tACS により iTBS の促通効果が安定,あるいは更 に増強されると仮説を立てたが、結果は仮説と異 なり、むしろ20 Hz tACS の同期刺激により iTBS の促通効果が減弱する結果となった. この原因は 明らかではないが、20 Hz tACS が位相依存的に GABA やグルタミン酸受容体に関する機能を変 化させる報告があり[5], こういった機能に関係す るかも知れない. iTBS は GABA やグルタミン酸 を介した可塑性を誘導するとされており [6], tACS による機能修飾が可塑性誘導に干渉した可 能性が考えられる.

iTBS は 10 Hz tACS との同期刺激で 90°条件は 270°条件よりも振幅が低い結果が得られた.sham 刺激とも差を認め 10 Hz tACS が 90°で iTBS の効 果を減弱したという解釈に合致する.これらの結 果は, 10 Hz tACS の 90°条件で MEP 振幅が低下傾 向を示した先行研究の結果と合致する.本研究で は、運動感覚野に内在する $\alpha や \beta$ 帯域の周期活動 を tACS が引き込み現象で増強し, iTBS と干渉し た可能性がある.これらの可能性を検証するには 今後 TMS と脳波の同時記録が有用であろう.あ るいは γ 帯域や θ 帯域での相互作用なども今後の 検討課題である.

謝辞

この研究は渡邊財団 (助成番号 30301)の補助を 受けて実施したものである.

本論文の内容の一部は9月23日にドルトムント(ドイ ツ)で開催された『13th International Conference on Complex Medical Engineering』の口頭演題で報告し た.

また 11 月 29 日福島で開催された『第 49 回日本臨床 神経生理学会学術大会』の口頭演題で報告した.

参考文献

- [1] Huang Y-Z et al. Neuron 45:201–6 (2005).
- [2] Schilberg L et al. J Cogn Neurosci 29:1022–32 (2017).
- [3] Antal A et al. Brain Stimulat 1:97–105 (2008).
- [4] Nakazono H et al. PloS One 11:e0162521 (2016).
- [5] Guerra A et al. Cereb Cortex 26:3977–90 (2016).
- [6] Li C-T et al. Hum Brain Mapp 40:2001–9 (2019).

海馬構造の微小三次元構造シュミレーションによる

磁気棘の発生機構の解明

Elucidation of the generation mechanism of magnetic spikes with micro three-dimensional structural simulation of hippocampus

飯島圭哉

Keiya Iijima

国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経外科,〒187-8551 東京都小平市小川東町 4-1-1 National Center Hospital, National Center of neurology and Psychiatry 4-1-1 Ogawa-higashi-cho, Kodaira-shi, Tokyo 187-8551, Japan

Abstract

Epilepsy is a brain condition characterized by the recurrence of unprovoked seizures. Little is known about the mechanism of the epileptogenity. Hippocampal sclerosis is the commonest cause of drug-resistant epilepsy in adults, and is associated with alterations to structures and networks beyond the hippocampus. We attempt to clarify the mechanism of epileptogenity in hippocampal sclerosis using micro three-demensional structural simulation of hippocampus.

Keywords: epilepsy, hippocampus

1. 目的

「てんかん」とは、大脳の中で神経細胞が異常な 興奮状態となり周囲の脳組織を巻き込み、患者が 痙攣や意識障害を起こす病的な現象である。この 疾患の有病率は100人に1人と言われ重要な疾患 である。

てんかんの治療は抗てんかん薬の内服にて発 作が抑制されることもあるが、薬剤抵抗性の場合 は手術によっててんかんの焦点となっている部 位を切除しなければならない。特に手術が必要と なるてんかんの一つとして海馬硬化症が有名で ある。海馬硬化症も含めて、多くのてんかんは未 だにその発生機構に不明な点が多い。

てんかん現象の本質は、大脳皮質の電気的な活動であるため、その診断には脳波検査が標準的に 行われる。さらに診断が難しい場合や、手術のために詳細な焦点部位を特定したい場合には、てんかん性活動の電気活動に伴って生じる磁場の変 化をデータ化する「脳磁図検査」が行われる。基本的には脳の電気活動に伴い「右ねじの法則」に 基づいて発生する磁力を可視化する検査である。 単純な層構造を持つ大脳新皮質の脳回と異なり、 古皮質である海馬は複雑な渦巻構造を持つ特殊 な形態を持つ組織であり、実際には単純な数理モ デルで近似すると、思わぬ誤差が生じることがあ る(文献1)。

本研究では、脳の深部の微小構造物や海馬の微 小解剖の3次元シュミレーションモデルを作成し、 実際の患者において得られた頭皮上の脳波検査 によって得られた脳波データ、侵襲的に直接患者 の海馬内に挿入した脳内電極を用いた脳波デー タ、脳磁図データを投影することで、磁場の発生 と海馬の層構造の関係を記述する新しい数理モ デルを作成することで、てんかん現象の発生機構 の解明し、脳磁図検査の結果の正しい解釈の方法 を提案する。

2. 方法

国立精神・神経医療研究センター病院において 海馬硬化症の患者の脳波データおよび脳磁図デ ータを取得した。これは既に治療目的に得られて いるデータを研究用に流用したものであり、患者 に負担はかからず倫理的にも問題がない。患者か らは予め倫理委員会の承認を得た文書による同 意・自筆署名を得た。通常の脳波は頭皮上に電極 を置き、電気生理学的データを取得した。この解 析は LORETA と呼ばれるフリーソフトで解析し た。頭蓋内脳波は手術を行い、実際の患者の海馬 に直接電極を刺すものと、海馬の表面に置くもの を併用し、電気生理学的データを取得した。脳磁 図検査は臨床用に用いられているデータを使用 した。手術用に実施された MRI のデータを微小 解剖構造のシュミレーションに使用した。

3. 結果

まず、海馬硬化症の症例の脳波を解析し、発作 間欠期のてんかん性放電の電位分布を解析した。 海馬硬化症の症例であり、海馬にてんかん性活動 の首座があるはずだが、頭皮上の電極を用いた電 位分布図や信号源推定では、必ずしも海馬に一致 せず、側頭葉の先端部や前頭葉の下部に電位が拡 がっていた(図1・2・3)。



図 1. 頭皮上脳波の元データ



図2. 頭皮上脳波の信号源推定(2次元)



図 3. 頭皮上脳波の信号源推定 (3 次元)

次いで、脳磁図を解析した。こちらも海馬より は側頭葉外側に信号源が推定される結果になっ たが、脳波で推定された分布とは異なる分布を示 していた(図2)。



図4. 脳磁図の元データ



図 5. 脳磁図の信号源推定(3次元)

頭蓋内脳波では、扁桃体の電極で最も強い陰性 電位を認めた(図 6)。





図 7-2. 海馬の MRI (2 次元)

図 6. 頭蓋内脳波

MRI では、海馬硬化を認めた(図 7・8)。MRI を3次元的に解析し、海馬の立体構造を再構成し た(図 8)。この3次元データを用いて上記の頭 皮上脳波・脳磁図・頭蓋内脳波の電気・磁気的な 信号分布を説明できるようなプログラムを作成 中である。MRI 画像では解像度が不足することか ら、脳深部構造を CoMBI 法で再構成し、海馬の 構造にも応用可能であることを確認した(図 9)。



図 7-1. 海馬の MRI (2 次元) 白矢印:海馬 黒枠:図9に対応する領域



図 8. 海馬の MRI (3 次元)



図 9. 脳深部核の CoMBI 法による解析

4. 考察

海馬硬化症におけるてんかん性放電の分布は、 頭皮上脳波・脳磁図・頭蓋内脳波において、それ ぞれ若干異なる分布を示しており、この3者の相 違を解決できるような真の信号源があることが と分かった。これを解決するためには、海馬の複 雑な層構造上で電気活動と磁場の発生機構を正 確に再現できるようなプログラムが必要であり、 現在そのようなプログラムを作成中である。この 際に、CoMBI法(文献2)を用いた微小構造の3 次元的な解析を応用することができれば、より精 密なプログラムを開発することができると考え られる。今後、プログラムを完成させ、学会・論 文にて報告して行きたい。

参考文献

- Iwasaki, M., E. Pestana, R. C. Burgess, H. O. Luders, H. Shamoto and N. Nakasato (2005).
 "Detection of epileptiform activity by human interpreters: blinded comparison between electroencephalography and magnetoencephalography." Epilepsia 46(1): 59-68.
- 2) Iijima, K., Y. Tajika, Y. Tanaka, H. Yorifuji and Y. Yoshimoto (2018). "Microanatomy Around the Facial Nerve Pathway for Microvascular Decompression Surgery Investigated with Correlative Light Microscopy and Block-Face Imaging." World Neurosurgery 118: e526-e533.

令和2年度 研究助成テーマ

令和2年度は、以下のように、基礎8名・応用3名の研究に対し助成が決定いたしました。(本年度は、 テーマ指定研究助成・30周年記念特別助成の該当なし)

I. 基礎研究

- I-1. 中枢神経障害に対する磁気刺激の治療的効果の検証 大阪大学大学院 医学系研究科 分子神経科学/藤田 幸
- I-2. 前立腺特異的膜抗原抗体を用いた新規マグネタイトナノ粒子による転移性前立腺癌の診断的治療法の確立 名古屋市立大学大学院 医学研究科 腎・泌尿器科学分野/永井 隆
- I-3. ABCA1を介した細胞コレステロール搬出機構への磁場効果 名古屋市立大学大学院 医学研究科/辻田 麻紀
- I-4. 合成生物学的アプローチによるDNA光修復反応に対する磁場の影響評価 大分大学 全学研究推進機構/岡 芳美
- I-5. 細胞膜の分子認識に対する磁場効果の解明~分離材料から細胞治療まで~ 大阪大学大学院 基礎工学研究科 物質創成専攻 化学工学領域/岡本 行広
- I-6. 魚のウロコ(骨モデル)を用いた磁場による骨形成機構の解析:渦電流による新規機構の解明 金沢大学 環日本海域環境研究センター/鈴木 信雄
- I-7. 神経磁場3次元定量計測による線虫の温度感受性メカニズム解明 大阪市立大学大学院 理学研究科/藤原 正澄
- I-8. 医療応用のための高周波パルスマグネットの開発 信州大学 理学部 理学科化学コース/浜崎 亜富

Ⅱ. 応用研究

- Ⅱ-1. 脳磁図を用いたLewy小体型認知症の視覚情報処理障害の検出と早期診断マーカーとしての有用性 金沢大学 医薬保健学総合研究科 認知症先制医学/篠原 もえ子
- II-2. 低周波磁場測定を応用した脊髄手術に適した手術ナビの研究開発
 金沢工業大学大学院 工学研究科 高信頼ものづくり専攻/足立 善昭
- Ⅱ-3. 新規生体透視ナノイメージングを可能とする磁性ナノ材料開発研究
 名古屋大学高等研究院 医学研究科 病態内科学講座 呼吸器内科/佐藤 和秀

なお、所属は研究助成決定当時のものです。

THE REPORT OF STUDY RESULT BY SUBSIDY

2018

(STUDY DURATION : April 1, 2019 - March 31, 2020)



The Watanabe Foundation

CONTENTS

Dro	faco			
110	lace	Director Makoto Kotani		
Ι.	Basic Research			
	I -1.	Identification of the molecular mechanism underlying the magnetic field effects on circadian clock's regulation		
	I -2.	In vivo and high-resolution imaging of the electrical properties by using MRI…6 Graduate School of Information Science and Technology, The University of Tokyo Takaaki NARA		
	I -3.	A pilot study of the alleviation of tinnitus by magnetogenetics		
	I -4.	In vitro measurement of MSU crystals by an artificial joint model assuming		
		Muroran Institute of Technology Yuka TAKEUCHI		
Ⅱ.	Application Resarch			
	∏-1.	Assessment of Myocardial Fibrosis in Muscular Dystrophy by Cardiovascu- lar Magnetic Resonance Imaging 13 Department of Cardiovascular Medicine, Hokkaido University Hospital Tadao AIKAWA		
	∏ -2.	Assessment of the GABA system in patients with treatment-resistant schizo- phrenia with transcranial magnetic stimulation 16 Chiba University Center for Forensic Mental Health Nobuhisa KANEHARA		
	∏-3.	The application of cerebellar rTMS to the treatment of intractable balance		
		Department of otolaryngology, Keio University Fumiyuki GOTO		
	II -4.	Visualization of pituitary axis and hormonal function using diffusion tensor image in patients with pituitary disease 22 Department of Neurosurgery, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University Yasuo SASAGAWA		
	II -5.	Detection of deep sentinel lymph nodes by strong magnetic field24 Department of Physics, Graduate School of Engineering Science, Yokohama National University Isao YAMAMOTO		

- **Ⅲ**. Specific Research
 - III-1. Differential effects of 20 and 10 Hz-tACS on MEPs with intermittent Theta Burst Stimulation 26 Department of Clinical Neurophysiology, Graduate School of Kyushu University Hisato NAKAZONO

Preface

About 45 years ago, I have been researching feeble magnetic measurements from the human body in order to help diagnose the disease at the Massachusetts Institute of Technology (MIT) in the United States for two years. I have been studying biomagnetism measurement after returning home.

It has been estimated that weak magnetism is generated from human heart and brain, but there was no magnetometer capable of measuring this weak magnetism. However, in the 1970s, an ultra-sensitive SQUID magnetometer using superconducting technology was developed in collaboration between US National Research and MIT.

When the magnetic measurement from heart using this SQUID magnetometer was successful and challenging magnetic measurements from the brain of about 1 / 1,000 of cardiac magnetism, I had been studying at MIT.

MIT laboratory was in big trouble during my study abroad. A prominent doctor in the United States criticized of MIT's research as follows. "They say that they measure the magnetism caused by nerve activity of heart and brain, but that is incorrect. They are only measuring the magnetism that the iron in the blood is disturbing the geomagnetism." As a result, the public research expenditure in the US for MIT biomagnetism research was greatly reduced.

I regarded his theory as correct. Therefore, I measured more than ten blood with SQUID magnetometer, but it turned out that blood had no magnetism at all.

The reason is that iron itself always has magnetism, but it has strong magnetism or no magnetism at all depending on the bonding method of iron and oxygen. Iron in the blood binds to oxygen so that it has no magnetism at all.

The evolution of mankind has progressed from birth to bipedalism to communication through spoken language over 2millions of years. The strength and directions of the geomagnetism have changed about ten times during the years. Since humans have evolved in such magnetic environment, human body have made to have little effect of geomagnetism. On the other hand, it has been only 200 years or so since humans started using electricity. The humans have not developed full defensive capabilities against it. Therefore, a human body is vulnerable and sensitive to electricity: a heart stops beating once a couple of voltages are applied to the chest, however, it is quite difficult to stop a heart when magnetism is applied externally.

In view of this, it is fair to say that electric medical devices bring an immediate effect. However, they could be dangerous once misused. In contrast, magnetic medical devices are not dangerous, but they must be used for a long time for treatment.

Our foundation intends to contribute to the health and medical care of the nation, by subsidizing scientific research and appealing to the society through seminars. It should be noted, that the effect of the magnetic field is generated from some basic phenomena interacting with the complex mechanism of the body. The effect can only be clarified by a long-term persistent effort, not by short-sighted research.

It is a regrettable tendency in the present scientific sector that researchers are mostly interested in achieving successful results for acquiring a degree or achievement in a short period, focusing on obvious cause-effect relationship or phenomenon which invites quantitative descriptions. In view of such a tendency, our foundation prefers to support researchers who persistently attack a particular problem expecting long-term results rather than those who rush into short-term results.

This report is the summary of research which our foundation supported in the fiscal year 2018. It includes a wide range of topics from basic aspects to practical applications, intending to pave new ways in this area. It is our hope that the report will motivate researchers with similar interests to start communication and contribute to the development of magnetic health science.

Director Makoto Kotani The Watanabe Foundation

Identification of the molecular mechanism underlying the magnetic field effects on circadian clock's regulation

Jun Hirayama

Department of Clinical Engineering, Faculty of Health Sciences, Komatsu University1-1 1-14 Mukaihon-ori-machi, Komatsu-city, Ishikawa, 923-0961, Japan.

Abstract

The circadian clock generates behavioral rhythms to maximize an organism's physiological efficiency. The circadian clock is established by cell-autonomous oscillators called cellular clocks, which are present in every cell of a living organism. The synchronization of cellular clocks in tissues and organs by light is required to orchestrate the circadian clock at the organismal level. The current study aims to revealing the effect of magnetic field on synchronization of cellular clocks by the use of zebrafish as experimental model animal.

Keywords: Circadian clock, Zebrafish, Cellular clock, Light

1. PUPOSE

From bacteria to humans, almost all organisms can adapt the timing of their physiology to cyclic changes in their environment because of the naturally selected intrinsic time-keeping system called the circadian clock (Ref 1). The exact timing of this clock has been established using oscillators called cellular clocks, which are endogenous and cell-autonomous systems (Ref 2). The synchronization of cellular clocks in tissues and organs by light is required to orchestrate the circadian clock at the organismal level (Ref 3). Previous studies have provided several lines of evidence that magnetic field would have effect on synchronization of cellular clocks (Ref 4-6). Aim of the current study is to reveal the effect of magnetic field on synchronization of cellular clocks at animal level.

2. METHOD

zebrafish development, In organogenesis is completed within 2 d after fertilization when the temperature is raised to 28 °C (Fig. 1). The larva then hatches within 5 d after fertilization and starts swimming behavior at 6 d after fertilization. It has been reported in zebrafish that cellular clocks are autonomously set in motion during development within 2-5 d after fertilization. Phase of cellular clocks are synchronized to establish functional circadian clocks at animal levels when treated with environmental stimuli, such as light. Thus, circadian rhythms in locomotor activity in zebrafish larva emerge only if embryos are exposed to environmental signals, with light being the most important signal. To evaluate this light-dependent synchronization of cellular clocks, we tested behavior rhythm of zebrafish larvae as described below. Fertilized eggs were kept in a temperature-controlled incubator at 28°C and maintained under constant darkness before light treatment. 5 dpf zebrafish were then placed in 48-well plates, exposed to light only or light and 10mT magnetic field, and transferred to constant dim light conditions. Locomotor activities of zebrafish were tracked by the DanioVision Tracking System (Noldus Information Technology) and analyzed by the Ethovision 8.0 software (Noldus Information Technology). Evaluation of circadian rhythmicity in the zebrafish's behavior was conducted by ActogramJ software.

3. RESULTS

My previous study using biochemical analyses reported the light-inducible cellular clock regulators, zPER2 and zCRY1a, as the synchronizer of cellular clocks (Ref 7). Light-dependent expression of them in 5 day old zebrafish larvae was confirmed (Fig. 2). The 5 day old zebrafish were treated with light, and were then tested for behavior rhythm. As the result, the light-dependent behavior rhythm formation of zebrafish larvae was then observe (Fig. 3). The behavior rhythm was also established in the zebrafish treated with both light and magnetic field.

During this research, systems analyzing cellular clocks have been set up. A part of system was mentioned in the review papers (Refs 8 & 9).

4. DISCUSSION

In the current stud, 10mT magnetic field did not have effect on the light-dependent establishment of behavior rhythm of zebrafish larvae. Previous study in drosophila melanogaster reported that 300mT magnetic field changed period of behavior rhythm (Ref 5). Based on this finding, the effect of stronger magnetic field on the light-dependent establishment of behavior rhythm of zebrafish larvae would be required to be tested in the future study.

It has been reported that stress factors including magnetic field induce dysregulation of circadian clocks. The disruption of circadian clocks can have a profound effect on animal health, and is linked to a variety of diseases, including sleep disorders, metabolic syndrome, and cancer (Refs 1 & 2). To understand how magnetic field induces dysregulation of circadian clocks would contribute to developing lifestyle intervention strategies to improve human health.

Acknowledgement

This work was also supported by grants from the Watanabe Foundation

References

- 1 Takahashi, J. S. Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nat Rev Genet* 18, 164-179, (2017).
- 2 Sahar, S. & Sassone-Corsi, P. Metabolism and cancer: the circadian clock connection. *Nat Rev Cancer* 9, 886-896, (2009).
- 3 Hirayama, J. *et al.* The clock components Period2, Cryptochrome1a, and Cryptochrome2a function in establishing light-dependent behavioral rhythms and/or total activity levels in zebrafish. *Scientific reports* **9**, 196, (2019).
- 4 Uchida, Y., Shimomura, T., Hirayama, J. & Nishina, H. Light, Reactive Oxygen Species, and Magnetic Fields Activating ERK/MAPK Signaling Pathway in Cultured Zebrafish Cells. *Appl Magn Reson* **42**, 69-77 (2012).
- 5 Yoshii, T., Ahmad, M. & Helfrich-Forster, C. Cryptochrome mediates light-dependent magnetosensitivity of Drosophila's circadian clock. *PLoS Biol* **7**, e1000086 (2009).
- 6 Moller, A., Sagasser, S., Wiltschko, W. & Schierwater, B. Retinal cryptochrome in a migratory passerine bird: a possible transducer for the avian magnetic compass. *Die Naturwissenschaften* **91**, 585-588, (2004).
- 7 Hirayama, J., Cho, S. & Sassone-Corsi, P. Circadian control by the reduction/oxidation pathway: catalase represses light-dependent clock gene expression in the zebrafish. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 15747-15752 (2007).

8 Okamoto-Uchida Y, Izawa J, <u>Hirayama J</u>*. Roles of MAPKs in circadian clock regulation in vertebrates. Mitogen-Activated Protein Kinases: Activation, Functions and Regulation (Edited by Hester KC.) Nova Science Publishers. 29-54. 2019.

9 Izawa J, Okamoto-Uchida Y, Nishimura A, and <u>Hirayama J</u>*. Light-dependent regulation of circadian clocks in vertebrates. Chronobiology (Edited by Svorc P.)



InTechOpen. 1-15. 2019.

Fig. 1. Zebrafish development and cellular clock formation



Fig. 2. Light-dependent expression profiles of *zPer2* and *zCry1a* genes



Fig. 3. Representative double-plotted activity records (actograms) of zebrafish treated with light.

In vivo and high-resolution imaging of the electrical properties by using MRI

Takaaki Nara* and Motofumi Fushimi*

*Graduate School of Information Science and Technology, The University of Tokyo 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656 Japan

Abstract

This paper presents a novel explicit reconstruction method for magnetic resonance-based electrical properties tomography (EPT). We propose a method that can reconstruct three-dimensional EPs without its local homogeneity assumption required for the conventional methods. We derive a novel equation for the electric field that incorporates the variation of the magnetic field along the longitudinal axis, with which the three-dimensional EPs can be computed. A method to remove a spot-like artifact due to the low amplitude of the electric field is also proposed.

Keywords: magnetic resonance, electrical properties tomography, inverse problem

1. PURPOSE

Electrical properties tomography (EPT) noninvasively retrieves conductivity and permittivity distributions of biological tissues from radio-frequency (RF) magnetic field data obtained with an magnetic resonance (MR) image scanner.¹⁾ Recent studies suggest that the knowledge of these electrical properties (EPs) is useful in oncology.²⁾ Most of conventional EPT methods assume local homogeneity of EPs inside the human body, which causes significant errors at the boundary between normal and abnormal tissues where EPs changes discontinuously. $^{1,3)}$. In contrast, we proposed a method without local homogeneity assumption based on complex-analysis. 4,5) However, it can be applied basically to two-dimensional (2D) case, and hence it still generates a large error when EPs changes in the body-longitudinal direction. The aim of this paper is to extend our previous two-dimensional method to the three-dimensional one that can precisely account for the effect of magnetic field variations in the body-longitudinal direction. We also propose a method to eliminate a spot-like artifact due to a characteristic of the electric field generated with an MRI scanner.

2. METHOD

Let σ and ϵ be the electrical conductivity and permittivity inside the human body and $\kappa = \epsilon - i\sigma/\omega$ where ω is the Larmor frequency. κ is the quantity which should be reconstructed in our inverse problem. The measurable quantity with an MRI scanner is the magnetic field inside the body given by $H^+ = (H_x + iH_y)/2$, where the z-axis is set along the longitudinal axis of the body. Denote the electrical field by $E^+ = (E_x + iE_y)/2$, the time harmonic Maxwell equation is given by

$$\bar{\partial}E_z = \omega\mu H^+ + \partial_z E^+, \qquad (1)$$

$$4\partial H^+ = -\omega \kappa E_z, \qquad (2)$$

$$\partial_z H^+ = \omega \kappa E^+, \qquad (3)$$

where μ is the permeability assumed to be constant in the body. In our previous method in ref. 4, we neglected $\partial_z H^+$ in equation (3) and hence $\partial_z E^+$ in equation (1), which led to the source of errors in reconstruction especially when the electromagnetic fields vary in the *z*-axis direction. In contrast, in this research, we took them into consideration and newly derived a Dbar equation given by

$$\bar{\partial} \left(E_{z} \exp \left(T \left[\frac{\partial_{z}^{2} H^{+}}{4 \partial H^{+}} \right] \right) \right)$$
$$= \left(\omega \mu H^{+} - \frac{\partial_{z}^{2} H^{+}}{\omega} \partial_{z} \frac{1}{\kappa} \right) \exp \left(T \left[\frac{\partial_{z}^{2} H^{+}}{4 \partial H^{+}} \right] \right), \qquad (4)$$

where *T* is an integral operator that satisfies $\bar{\partial}T[f] = f$. See ref. 7 for derivation of equation 4. This new equation includes $\partial_z H^+$ and thus is valid even when 2D approximation does not hold.

To solve equation (4), we proposed the following iterative algorithm. First, we assume that $\partial_z \kappa = 0$, then equation (4) is solved for E_z by the Cauchy-Pompeiu formula. ⁶⁾ The explicit form of E_z is given in ref. 7. Substituting it into equation (2), the EP value, κ , can be computed. Then, we insert the obtained κ into equation (4) and resolve it for E_z . This iterative procedure is conducted until convergence.

We evaluated the proposed method by numerical simulations using an FEM simulator, COMSOL Multiphysics (COMSOL Inc.). Figure 1 shows the two simulation models (model 1 and 2) that shared the same shape but had different lengths. The proposed method was compared with our previous method.

3. RESULTS

Figure 2 shows the reconstruction results of model 1 when 1% of Gaussian noise was added. The previous method with 2D approximation yields lower estimations whereas the proposed method reconstructed more precisely, as shown clearly in the right column. Figure 3 shows the reconstructed maps of model 2 by the propose method without and with a single iteration when the same noise was added.

4. DISCUSSION

In Figure 2, the proposed method provided us with better results compared to the previous one because the variation of the magnetic field along the *z*-direction was correctly accounted for. In Figure 3, although the proposed method without iteration still yields lower estimations for model 2 due to the assumption that $\partial_z \kappa = 0$, only a single iteration sufficiently corrected the results as shown in the right column.

A remained problem of the proposed method is the

spot-like artifacts that appear in the center of both model 1 and 2. This is generated due to division



Figure 1. Two models used in numerical simulations. Both models have the same EP distributions in the transversal directions but model 2 is shorter than model 1 in the longitudinal direction.



Figure 2. Results for model 1. The previous method resulted in lower estimation due to the 2D approximation, whereas the proposed method correctly retrieved permittivity (top) and conductivity (bottom).



Figure 3. Reconstruction results for model 2. The proposed method without iteration resulted in lower estimation due to the assumption that EPs are two dimensionally distributed (center row), whereas a single iteration in the proposed method properly corrected this error (right row).

by E_z in equation (2) when computing κ , because E_z is known to have low amplitudes when it is generated using an MRI scanner with a so-called birdcage coil.³⁾ In this research, to eliminate them, we proposed to use a pad with high permittivity. When it is attached to the body, the spatial position of the zero point of E_z is shifted. Hence, by measuring twice the magnetic field with and without the high permittivity pad and combining those results, we can resolve the spot-like artifacts problem in low electric-field regions. Figure 4 shows the simulation results for a three-cylindrical model. A spot-like artifact appeared at the center (top-left) was shifted to the right (at around x=20mm) by putting a high-permittivity pad (top-right). By combining the results with and without the pad, the artifacts were removed (bottom).



Figure 4. Elimination of the spot-like artifacts: (top-left) the spot-like artifact appeared at around the center. (top-right) the artifact was shifted to x=20mm by putting a high-permittivity pad. (bottom) the spot-like artifacts were eliminated by combining the two results.

In this research, we extended our previous method to a general one that enables accurate reconstruction of the three-dimensional electrical properties inside the body when the electromagnetic fields vary in the body axis direction. A method to remove spot-like artifacts generated due to a characteristic of an MRI scanner was also proposed.

ACKNOWLEDGEMENT

This research was supported by Grant-in-Aid of Watanabe Foundation, Japan. The parts of this paper were reported at 27th ISMRM Annual Meeting & Exhibition held at Montreal on May 16th, 2019 and the 34th Annual Meeting of Japan Biomagnetism and Bioelectromagnetics Society held at Hakodate on June 21st, 2019.

REFERENCES

- Katscher U and van den Berg CAT: Electric properties tomography: Biochemical, physical and technical background, evaluation and clinical applications, NMR Biomed., 30, 1–15, 2017.
- Joines WT, *et al.*: The measured electrical properties of normal and malignant human tissues from 50 to 900 MHz, Med. Phys, 21, 547–550, 1994.
- Seo, JK., *et al.*: Error analysis of nonconstant admittivity for MR-based electric property imaging, IEEE Trans. Medical Imaging, 31, 2, 430-437, 2012.
- Nara T, Furuichi T, and Fushimi M: An explicit reconstruction method for magnetic resonance electrical property tomography base on the generalized Cauchy formula, Inverse Problems, 33, 105005, 2017.
- Fushimi M and Nara T: A boundary-value-free reconstruction method for magnetic resonance electrical properties tomography based on the Neumann-type integral formula over a circular region, SICE JCMSI, 10, 571–578, 2016.
- Vekua I: Generalized analytic functions., Pergamon Press, 1962.
- Fushimi M and Nara T: An explicit EPT reconstruction method based on the Dbar equation incorporating longitudinal field variations, 27th ISMRM Annual Meeting & Exhibition, 5055, 2019.

A pilot study of the alleviation of tinnitus by magnetogenetics.

Munenori Ono* and Lanlan Ma*

*Physiology 1, Kanazawa Medical University 1-1 Daigaku, Uchinada, Kahoku, Ishikawa 920-0293, Japan

Abstract

Tinnitus is a common disorder that has no effective clinical treatment yet. Although its mechanism is not well understood, the cochlea impairment often brings about tinnitus. So, tinnitus is likely to be caused by the reduction of the activity in the auditory nerves, and may be restrained by activating the auditory nerves artificially. In this study, we examined the changes in neural activities induced by hearing loss. Further, to apply a magnetogenetics method, we tried to express the target protein in the auditory nerves using virus vectors.

Keywords: tinnitus, plasticity, central auditory pathway

1. PURPOSE

Tinnitus is a common disorder that has no effective clinical treatment yet. Although its mechanism is not well understood, the cochlea impairment often brings about tinnitus. So, tinnitus is likely to be caused by plastic neuronal compensation in the auditory pathway in the response to the reduction of the activity in the auditory nerves. Thus, tinnitus may be restrained by activating the auditory nerves artificially. For the activation of the auditory nerves, the magnetogenesis¹, which utilize a magnetic sensitive protein, Magneto2.0, is a potentially useful tool. It is possible to activate auditory nerves with magnetic stimuli by expressing Magneto2.0 in the auditory nerves. Here, for a pilot study, we examined the neural activity changes induced by hearing loss. Also, we tried to introduce a target protein into the auditory nerves by virus vectors.

2. METHOD

Electrical activities were measured from neurons in the inferior colliculus (IC), a nexus in the auditory pathway. To identify the neuronal types in the IC, we used transgenic mice (VGAT-ChR2 mice), in which the inhibitory neurons expressed channelrhodopsin-2 (ChR2). The neurons expressing ChR2, a light-sensitive protein, are

activated by light stimuli. So, the inhibitory neurons in the VGAT-ChR2 mice are activated by light, while the excitatory neurons are suppressed. Using this animal, we identified excitatory and inhibitory neurons in the IC by examining the responses to light during the recordings². Hearing loss was induced by exposing the animals to an octave band noise centered at 16 kHz (115 dB) for 1hr at the age of 1 month. To assess the hearing loss after the noise exposure (NE), we measured auditory brainstem response thresholds for each animal. Further, we tried to introduce a target protein to auditory nerves by injecting the adeno-associated virus vector into cochlea. For this pilot test. we used AAV1-CaMK2-GCaMP6f-WPRE-SV40.

3. RESULTS

To assess the effect of NE on hearing, ABR thresholds were recorded from 11 mice before and after NE (Fig.1). In the ear exposed to noise, ABR thresholds showed an increase in all the tested frequencies after NE (Fig.1, left panel). The threshold shift was observed one day after NE, and was maintained for 8 weeks. In contrast, in the opposite ear, ABR thresholds did not shift after NE (Fig.1 right panel). These results suggested that NE induced the unilateral chronic hearing loss in the animals we used. To examine the effect of NE on the neuronal activities in the IC, we recorded the spontaneous firings from 29 inhibitory (NE-inhibitory) and 20 excitatory neurons (NE-excitatory) in the noise-exposed animals (n = 11), and from 95 inhibitory and 40 excitatory neurons in the control animals (n = 37). In the IC of the control animals, the inhibitory neurons had higher spontaneous firing rates (SRs) than the excitatory neurons (Fig. 2A, B, E). Noise exposure dramatically altered this balance of activities: the SRs of NE-excitatory neurons were much higher than those of NE-inhibitory neurons (Fig. 2C, D, E). Furthermore, we examined the effect of NE on spike shapes (Fig. 2G, H). The spike half-width was reduced in NE-inhibitory neurons (Fig. 2G). In contrast, the ratio of the antipeak amplitude to the peak amplitude reduced in NE-excitatory neurons (Fig. 2H). These changes in the spike shape suggested that NE might induce the plastic changes in the postsynaptic membrane properties. Unfortunately, the virus injection to the cochlea was not successful to obtain sufficient expression of the target protein in the auditory nerves.

4. DISCUSSION

Our results showed that the hearing loss dynamically induced the change in the balance of the neural activities between excitatory and inhibitory neuron in the central auditory pathway. The increase of the spontaneous activities of the excitatory neurons is likely to induce the aberrant enhancement of the activity in the higher auditory centers, which could lead to tinnitus. These changes in the neuronal activities in the IC is very likely to be a sensitive indicator for the degree of the activity disorder by hearing loss, which will be useful for assessment of the effect of the medical treatment to tinnitus in the animal studies. Unfortunately, the virus injection to the cochlea was not successful. We will solve the problem by optimizing the species and promoter of the virus vector as well as improving the surgery technique. Further, it will be necessary to develop some non-invasive methods for clinical application. We will

10

test if TMS or extra-red laser stimulation is available.

Acknowledgement

This study was supported by Watanabe foundation. Some results in this study have been already published (Ma LL, Ono M, Qin L, Kato N, Acoustic Trauma Induced the Alteration of the Activity Balance of Excitatory and Inhibitory Neurons in the Inferior Colliculus of Mice. Hearing Research, 2020, in press).

References

- 1) Wheeler et al., Nature Neuroscience, 19(5):795-791, 2016.
- 2) Ono et al., Scientific Reports, 6:20757, 2016.



Figure 2. Effects of noise exposure (NE) on activities of the excitatory and inhibitory neurons in the inferior colliculus (A.-D) Representative spontaneous firing tracks. (A) An inhibitory neuron. (B) An excitatory glutamatergic income. (Ch A.H) – inhibitory neuron. (D: A.H) – excitatory glutamatergic income. (Ch A.H) – inhibitory neuron. (D: A.H) – excitatory glutamatergic income. (Ch A.H) – inhibitory neuron. (D: A.H) – excitatory neuron. (D: Besplots of the spontaneous firing rates (SR4). The best representes the 25th, 50th, and 75th percentiles. The square in the bits represents the mean values. Does indicate a inhibitory neuron. (D: A.H) – (A.H) –

In vitro measurement of MSU crystals by an artificial joint model assuming a gout diagnosis

Yuka Takeuchi* and Atom Hamasaki**

*Muroran Institute of Technology,
27-1, Mizumoto-cho, Muroran, Hokkaido 050-8585 Japan
** Faculty of Science, Shinshu University
3-1-1 Asahi, Matsumoto, Nagano 390-8621 Japan

Abstract

Monosodium urate (MSU) crystals cause gout in articulation, and can develop even when the serum urate level is controlled. No satisfactory method has been established. Therefore, a better, non-invasive method to confirm the presence of MSU crystals is desired. We aim to detect MSU crystals from outside the body using a magnetic field and near-infrared light. The purpose of this research is to construct an articulation model and clarify its optical response to the applied magnetic field.

Keywords: style manual, manuscript, reduction rate

1. PURPOSE

Monosodium urate (MSU) crystals cause gout in joints — particularly the cooler distal joints — leading to joint inflammation and severe pain. Drugs such as uricosuric accelerators restore serum urate to normal levels and reduce inflammation. However, MSU crystals often remain in the joint for long periods, and the inflammation often recurs after 1-2 years¹⁾. For definite diagnosis, the confirmation of the presence of crystals is essential²⁾, however, collection of synovial fluid can be painful for the patient and is often unsuccessful³⁾. Currently, there is no established method to detect crystals noninvasively, and therefore easy and highly accurate non-invasive techniques require development. We have clarified that MSU crystals align in the static magnetic field of permanent magnets and orient in a certain direction. Moreover, we have reported that the intensity of light that passes through the suspension of crystals changes depending on the on/off status of the magnetic field. This phenomenon suggests that MSU could be easily detected by irradiating the joint from outside of the body with bio-permeable near-infrared light⁴).

However, there are still many basic findings to be evaluated for practical use, such as the behavior of crystals in the body environment and the issues of optical measurement. In this study, we constructed a joint model including MSU crystals and performed experiments on the optical response with the application of a magnetic field.

2. METHOD

As shown in Fig. 1, the space of the joint was separated by about 3.5 mm using a commercially available hand bone model with a heat-shrinkable tube closely attached to act as skin. MSU crystals were externally injected at an arbitrary concentration into the joint space to simulate the disease. MSU crystals were artificially precipitated from uric acid powder, and the crystal size was adjusted to about the same as that seen in actual gout patients by adding serum. In the experimental system, as shown in the figure, the joint model was placed in an electromagnet with a gap of 50 mm, and the time course of the reflected light intensity was measured using a multi-channel type spectrophotometer. The light source used was a near-infrared laser with a wavelength of 780 nm to achieve high light intensity and biopermeability light source used was a near-infrared laser with a wavelength of 780 nm to achieve high light intensity and biopermeability.



Fig. 1 Experimental system and joint model

3. RESULTS

Fig. 2 shows a time course of reflected light intensity when a light source is irradiated on the prepared joint model. The value of the reflected light intensity was normalized. The intensity of the reflected light increased sharply when a 0.5 T magnetic field was applied at about 45 seconds, and the time to reach saturation was about 5 seconds. Following this, the light intensity decreased when the magnetic field was turned off at about 90 seconds, and almost recovered to the intensity before applying the magnetic field. The same behavior was confirmed when the magnetic field was applied again at about 190 seconds. The change ratio in light intensity was about 2%. We have also confirmed that the reflected light intensity does not respond to the magnetic field when a magnetic field is applied to a joint model that does not contain a crystal in advance. This indicates that the crystal face was rotated by the magnetic orientation accompanying the anisotropy of the diamagnetic susceptibility of the MSU crystal, and the reflected light intensity changed.



Fig.2 The time course of reflected light intensity

4. DISCUSSION

In our previous studies, we measured the change in light intensity by dispersing MSU crystals in an optical cell $(10 \times 10 \times 45 \text{ mm}^3)$. In this study, we created an artificial joint model and performed experiments to simulate disease. As a result, the light intensity changed following the application of the magnetic field, and the presence of crystals was confirmed, suggesting that it is possible to detect crystals from outside the body using a magnetic field and near-infrared light in an actual finger joint. At present, it has been confirmed that the detection sensitivity of crystals dispersed in an optical cell can be improved by the synergistic effect of magnetic field orientation and polarization. By retrofitting this system, the detection sensitivity may be improved in actual joints.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by the Magnetic Health Science Foundation.

REFERENCES

- Li. Yu J et al., J. Rheumatol., Vol. 28, pp. 577-580, (2001).
- H. R. Schumacher and A.J. Reginato, Philadelphia, Lea & Febiger, Vol. 35, pp. 607, (1992).
- A. Swan et al., Ann. Rheum. Dis. Vol. 61, pp. 493, (2002).
- Yuka Takeuchi et al., IEEE. Tran. Mag., Vol. 52, 5000704, (2016).

Assessment of Myocardial Fibrosis in Muscular Dystrophy by Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging

Tadao Aikawa*, Atsuhito Takeda**, Hideaki Shiraishi**, Kazuhiro Koyanagawa*, Yuta Kobayashi*, and Noriko Oyama-Manabe***

> * Department of Cardiovascular Medicine, Hokkaido University Hospital Kita-14, Nishi-5, Kita-ku, Sapporo 060-8648 Japan
> ** Department of Pediatrics, Hokkaido University Hospital Kita-14, Nishi-5, Kita-ku, Sapporo 060-8648 Japan

*** Department of Diagnostic Imaging, Hokkaido University Hospital Kita-14, Nishi-5, Kita-ku, Sapporo 060-8648 Japan

Abstract

This study aimed to assess myocardial fibrosis in patients with muscular dystrophy and female carriers Duchenne or Becker muscular dystrophy. Six patients with muscular dystrophy and 5 female putative carriers of Duchenne or Becker muscular dystrophy were prospectively enrolled. Cardiovascular magnetic resonance imaging was performed, including cine, pre-and postcontrast T1 mapping for assessment of extracellular volume fraction (ECV), and late gadolinium enhancement. Four patients and 1 putative carrier had a left ventricular ejection fraction of <55%. Five patients and all putative carriers had an elevated ECV (>30.4%). ECV did not differ significantly between the patient and putative carrier groups (median [range], 34.8% [27.6%–43.8%] vs. 37.4% [36.1%–39.8%]; p=0.54), suggesting that ECV of myocardial T1 mapping has a potential to detect diffuse fibrotic changes in patients and putative carriers of muscular dystrophy.

Keywords: muscular dystrophy, cardiovascular magnetic resonance imaging, late gadolinium enhancement, T1 mapping, extracellular volume fraction

1. PURPOSE

Muscular dystrophy is characterized by progressive wasting and weakness of skeletal muscles. Cardiac complications remain an important determinant of prognosis in muscular dystrophy.¹⁾ The most common form of cardiac involvement in muscular dystrophy is dilated cardiomyopathy, presenting as an age-related progressive reduction in left ventricular ejection fraction (LVEF) accompanied by myocardial fibrosis, which is detected by late gadolinium enhancement (LGE) cardiovascular magnetic resonance (CMR) imaging.²⁾ Cardiomyopathy associated with muscular dystrophy has been also reported in female Duchenne or Becker muscular dystrophy carriers.^{3,4)} Although LGE is well established for detecting myocardial fibrosis, LGE cannot detect diffuse fibrotic changes in the myocardium. Previous studies suggested that native T1 values and extracellular volume fraction (ECV) mapping using CMR may be more suitable for detecting diffuse myocardial fibrosis.⁵⁾ This study aimed to detect diffuse myocardial fibrosis in patients and putative carriers of muscular dystrophy by myocardial T1 mapping CMR.

2. METHOD

Six patients with muscular dystrophy and 5 female

putative carriers of Duchenne or Becker muscular dystrophy referred for clinically indicated CMR to our hospital between August 2019 and March 2020 were prospectively enrolled in this study. The study was approved by the Institutional Review Board (IRB No. 018-0287). All participants gave their written informed consent. The type of muscular dystrophy was ascertained by a clinical examination, dystrophin gene analysis, muscle biopsy, or family history of muscular dystrophy. All participants in the putative carrier group were mothers of confirmed male patients with Duchenne or Becker muscular dystrophy.

CMR was performed using a 3 Tesla whole-body scanner (Achieva TX; Philips Medical Systems, Best, the Netherlands), including cine, pre-and postcontrast T1 mapping for assessment of extracellular volume fraction, and LGE. Left ventricular short-axis cine images were obtained using a retrospectively electrocardiogram-gated, balanced steady-state free precession pulse sequence as previously described.⁶ For T1 mapping, basal, midventricular, and apical short-axis images were obtained using a modified look-locker inversion recovery sequence. LGE and postcontrast T1 mapping were obtained 10-15 min after 0.1 mmol/kg of gadolinium contrast material administration.⁶ CMR images were analyzed using Ziostation2 (Ziosoft Inc., Tokyo, Japan).²⁾ Elevated ECV in the whole left ventricle was defined as >30.4%.7) Difference between groups was evaluated using the Mann-Whitney test. A 2-tailed p value of <0.05 was considered statistically significant. All statistical analyses were performed using GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, San Diego, CA).

3. RESULTS

All 6 patients were male with a median age of 16.0 (range, 8.6–34.4) years, while the median age of 5 putative carriers was 46.0 (range, 43.0–51.7) years. The patient group included patients with Duchenne muscular dystrophy (n=2), Becker muscular dystrophy (n=3), and myotonic dystrophy (n=1). Four patients were being treated with angiotensin-converting

enzyme inhibitor, and 2 of these 4 patients were also treated with β -blocker. Four of the patients and 1 of the putative carriers had a reduced LVEF (<55%). LVEF did not differ significantly between the patient and putative carrier groups (median [range], 53.9 [31.8–57.6] vs. 60.3 [49.6–65.3] ms; p=0.13). Four patients and 2 putative carriers showed visually detected LGE. The median LGE extent was 6.2% (range, 5.3%-14.6%) of left ventricular mass in the patient group. The extents of LGE in 2 putative carriers with LGE were 2.6% and 19.8% of left ventricular mass. Native T1 values in the basal left ventricle did not differ significantly between the patient and putative carrier groups (median [range], 1304 [1195–1326] vs. 1269 [1259–1306] ms; p=0.33). Five patients and all putative carriers had an elevated ECV. ECV did not differ significantly between the patient and putative carrier groups (median [range], 34.8% [27.6%-43.8%] vs. 37.4% [36.1%-39.8%]; p=0.54; Figure 1). One putative carrier with a LVEF of 49.6% and an elevated ECV (36.1%) was started on angiotensin-converting enzyme inhibitor and β-blocker after CMR study.



Figure 1. Comparison of extracellular volume fraction (ECV) between patients and putative carriers of myocardial dystrophy. The horizontal dotted line indicates an ECV of 30.4. Vertical bars indicate means with standard deviations.

4. DISCUSSION

This study showed that diffuse myocardial fibrosis detected by elevated ECV was observed both in patients with muscular dystrophy and female putative carriers. Elevated ECV was present even in participants without LGE, suggesting that ECV has a potential to detect diffuse fibrotic changes in the myocardium more precisely than LGE. Further follow-up is needed to evaluate the long-term effects of ECV on changes in LV ejection fraction and outcomes in patients and putative carriers of muscular dystrophy.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by JSPS KAKENHI (grant number 19K17189), the Watanabe Foundation, Japan Heart Foundation Research Grant, and Japan Intractable Diseases (Nanbyo) Research Foundation.

REFERENCES

- Feingold B, et al: Management of cardiac involvement associated with neuromuscular diseases: a scientific statement From the American Heart Association. Circulation. 136:e200-e231 (2017).
- 2) Aikawa T, et al: Progressive left ventricular dysfunction and myocardial fibrosis in Duchenne

and Becker muscular dystrophy: a longitudinal cardiovascular magnetic resonance study. Pediatr Cardiol. 40:384-392 (2019).

- Florian A, et al: Cardiac involvement in female Duchenne and Becker muscular dystrophy carriers in comparison to their first-degree male relatives: a comparative cardiovascular magnetic resonance study. Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 17:326-33 (2016).
- Wexberg P, et al: Myocardial late gadolinium enhancement is associated with clinical presentation in Duchenne muscular dystrophy carriers. J Cardiovasc Magn Reson. 18:61 (2016).
- Soslow JH, et al: Increased myocardial native T1 and extracellular volume in patients with Duchenne muscular dystrophy. J Cardiovasc Magn Reson. 18:5 (2016).
- 6) Aikawa T, et al: Improved regional myocardial blood flow and flow reserve after coronary revascularization as assessed by serial ¹⁵O-water positron emission tomography/computed tomography. Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 21:36-46 (2020).
- Kellman P, et al: Extracellular volume fraction mapping in the myocardium, part 2: initial clinical experience. J Cardiovasc Magn Reson. 14:64 (2012).

Assessment of the GABA system in patients with treatment-resistant schizophrenia with transcranial magnetic stimulation

Atsuhiro Miyazawa*, Nobuhisa Kanahara**, Yusuke Nakata*, Masaomi Iyo*

*Department of Psychiatry, Graduate School of Medicine, Chiba University 1-8-1 Inohara, Chuou-ku, Chiba city, Chiba, 260-8670, Japan

**Chiba University Center for Forensic Mental Health 1-8-1 Inohara, Chuou-ku, Chiba city, Chiba, 260-8670, Japan

Abstract

The present study evaluated central nervous system GABA function in schizophrenia patients (SCH group) and normal healthy subjects (HC group). Our main findings showed that the cortical silent period (CSP), measured with transcranial magnetic stimulation was significantly longer in patients with treatment-resistant schizophrenia (TRS) compared to the HC group. This CSP prolongation was attributed to the values of CSP of TRS patients under treatment with clozapine. The SCH and TRS groups both showed significantly poorer cognitive functions than the HC group, but there was no significant correlation between any cognitive domain and CSP in either the SCH group or the HC group. Although only one part of our study showed a significant result, our findings overall support the GABA hypothesis in schizophrenia.

Keywords: clozapine, cortical silent period, gamma-aminobutyric acid, schizophrenia, transcranial magnetic stimulation

1. PURPOSE

Schizophrenia is a psychotic disorder that typically develops between preadolescence and late adolescence. Its etiology is not yet completely understood. Thirty percent of patients do not respond to treatment and are said to have treatment-resistant schizophrenia (TRS). Clozapine (CLZ) is known to be effective for TRS. In recent years, post-mortem brain studies of schizophrenia patients have found a decrease in gamma-aminobutyric acid (GABA) synthase and glutamic acid decarboxylase 1 (GAD1). GABA is a major inhibitory neurotransmitter in the central nervous system.^{1,2)} It has a mutual regulatory

function together with various other neurotransmitters such as dopamine and glutamic acid, and is considered to play an important role in the pathological condition of schizophrenia.³⁾

The cortical silent period (CSP), measured by transcranial magnetic stimulation (TMS), is used to evaluate the GABA function in central nervous system.^{4,5)} Therefore, this technique may be useful to evaluate any abnormality of GABA system in schizophrenia.

This study examined the involvement of the GABA nervous system in the pathology of schizophrenia using CSP measurement, a cognitive

function test (MATRICS Consensus Cognitive Battery; MCCB), and clinical symptom evaluation. At the same time, GAD1 gene polymorphism was examined. Focusing on TRS patients, we compared

TRS patients (TRS), non-TRS patients (Non-TRS), and healthy subjects (HC).

2. METHOD

The present study was approved by the ethical review board in Chiba University Graduate School of Medicine. Each participant was given sufficient explanations of this study and then provided his/her written informed consent.

The study recruited schizophrenia patients (SCH group: N=31) and HC (N=27).The SCH group was divided to the two subgroups, i.e., TRS patients (N=15) and Non-TRS patients (N=16). The diagnosis of TRS was followed by the Clozapine Patients Monitoring Service (CPMS) criteria.

CSP was measured by administration of single pulse to the left-side motor cortex corresponding to the right-side first dorsal interosseous muscle using with TMS device. Firstly, resting motor threshold (RMT) was established by the most common method. Then single pulse with 1.2 times intensity of RMT was delivered and the silent period appearing on the EEG monitor was defined as the value of CSP. Neurocognitive function was evaluated with MCCB. Further, we genotyped two SNPs (rs3749034, rs769404) on GAD1 for the SCH and HC groups. The genotyping procedure was performed by TaqMan method.

3. RESULTS

The TRS group showed a significant prolongation of CSP (145.5 msec) compared with the Non-TRS (92.6 msec) and HC groups (106.9 msec). In addition, the TRS group showed stronger cognitive

dysfunction than the Non-TRS group in MCCB processing speed, attention/awakening, language learning, visual learning, and comprehensive evaluation. Regarding Global Assessment of Functioning (GAF), TRS subjects scored lower (41.5 pts) than Non-TRS subjects (56.5 pts) as well as profound higher scores of the TRS groups in all PANSS measurements. The CSP showed the only positive correlation with GAF in the correlation analysis focusing on TRS (r=0.67, p<0.01). But there was no correlation of CSP with any other parameters in either SCH group, TRS group, or Non-TRS group. When the patients under treatment with CLZ (TRS/CLZ) was compared with the patients under treatment with other agents (TRS/Non-CLZ) and the Non-TRS, and HC groups, the CSP of TRS/CLZ subjects showed significant prolongation (167.0 msec) as compared with all other groups (102.5 msec in the TRS/Non-CLZ).

For GAD1-related genes, two single nucleotide polymorphisms (SNPs) on *GAD1*, rs3749034 and rs769404, were genotyped. Due to the present small sample size, comparisons with healthy subjects were made across schizophrenia patients revealed that there were no significant SNP distribution in genotype and allele level for both the SNPs. The result on rs3749034 showed a tendency to have more G alleles in schizophrenia patients.

4. DISCUSSION

The present study suggested that CLZ treatment could be related to the prolongation of CSP in TRS patients. Other measurements (cognitive function and SNPs on GAD1) did not show the direct evidence of the involvement of GABA system in the etiology of TRS. The CSP has been suggested to be prolonged by CLZ, which is consistent with our results^{6,7)} These findings may indicate the possible mechanism of CLZ on GABA receptors. In the present study, however, the number of samples was small, and further study with a larger number of subjects is necessary.

REFERENCES

- 1) Benes FM: Schizophrenia Research 167(1-3) 1-3 (2015).
- 2) Taylor SF and Tso IF: Schizophrenia Research 167(1-3) 84-90 (2015).
- Yang AC and Tsai SJ: International Journal of Molecular Sciences 18(8)1689 (2017).

- Wolters A et al.: The Oxford Handbook of transcranial stimulation, Chapter10 (Oxford University Press, 2008).
- 5) Alisauskiene et al.: Medicina (Kaunas) 41(10) 813-824 (2005).
- Daskalakis ZJ et al.: J. Psychopharmacology 22(2) 203-209 (2008).
- 7) Liu SK et al.: Biol. Psychiatry 65(6) 503-509 (2009).

The application of cerebellar rTMS to the treatment of intractable balance disorder

Fumiyuki Goto*

*Department of otolaryngology, Keio university 35 Shinanomachi shinjuku, Tokyo 160-8520 Japan

Abstract

There is so far no treatment for the failure of vestibular compensation. We see 1000 intractable dizzy patients each year in our institue. 1% of these patients are not responded to any of the treatments. These patients suffer the symptoms and new treatment is mandatory to improve the quality of life. The hyper activity in the cerebellum on intact side is pathophysiology of the failure of vestibular compensation. We now propose to develop new treatment to suppress cerebellum by rTMS(repetitive Transcranial Magnetic Stimulation) to alleviate the symptoms.

Keywords: vestibular, rTMS

1. Introduction

Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) is a noninvasive and potentially potent tool for neuromodulation in the central nervous system. In the present case study, we examined the therapeutic efficacy of low-frequency rTMS (LFrTMS) for the treatment of chronic dizziness from vestibular decompensation (VDC), as there is no promising treatment for intractable dynamic VDC to date. Unilateral vestibular hypofunction is recovered through two stages, namely static vestibular compensation (VC) and dynamic VC.1

2. Case Report

LFrTMS was administered using the MagPro R30 Therapy System and Cool-125 (Magventure, Inc., Denmark). Cool-125 is a specially designed coil that can stimulate a deeper region than a conventional 8-figure coil (3.5 cm vs. 2 cm at the center of the coil), and its maximum stimulation takes place under coil center (Fig. 1a), which differs from an ordinary circular coil in that maximum stimulation takes place under the rim of the coil. For stimulating the ventricular cerebellum, the center of the coil was moved rightwards/leftwards off the midpoint by 3 cm along a line between the inion and the right/left mastoid process.11 Treatment was standardized at 80–120% stimulation intensity relative to the patient's resting motor threshold. The resting motor threshold is defined as the minimum TMS intensity at the motor cortex to produce a motor-evoked potential in the abductor pollicis brevis, which is the common way of calibrating and normalizing TMS intensity for individuals. LFrTMS was applied at 1 Hz for 15 minutes every day for 5 days. At the beginning of the first day, the stimulation intensity was set at 80% of motor threshold, and it was increased 10% every 15 seconds to ensure tolerability. From the next day, the intensity was set at that of the maximum intensity of the previous day minus 10%, and it was increased 10% every 15 seconds while ensuring tolerability, but the maximum intensity was not allowed to exceed 120%. The stimulation intensity for Case 1 was weaker than the others because he presented for with muscle-twitching discomfort on the back of his neck during treatment. The maximum stimulation intensities for each patient from days 1 to 5 were as follows. Case

1: 80, 90, 100, 110, 120% of motor threshold; Case 2: 100, 120, 120, 120, 120, 120%; and Case 3: 110, 120, 120, 120, 120%. Patients were hospitalized for the five consecutive days of treatment, and they were also trained to perform vestibular rehabilitation during the trial.

No side effects were observed as a consequence of stimulation over the vestibular cerebellum with LFrTMS except for muscle-twitching discomfort for Case 1 on the first day of the treatment. Subjects did not experience nausea, dizziness, or vertigo that could be induced by direct stimulation of the vestibular nerve and VNs in the brainstem during application of LFrTMS. For all cases, the sway area with eyes closed decreased from day 5 to 1 month after LFrTMS treatment; that is, instability decreased objectively during this period (Fig. 2). Moreover, the sway area with eyes closed, as measured 1 month after LFrTMS treatment, was better than that at 1 month and 3 months after the 5-day vestibular rehabilitation education program. Especially, Cases 2 and 3, who were given more intense stimulation than Case 1, exhibited greater improvement at 5 days or 1 month after LFrTMS treatment compared with Case 1. Such an improvement had never been observed in these individuals during the period when rehabilitation alone was applied (Fig. 2). The sway area with eyes closed for Case 1 returned to the pre-treatment level. For Case 2, the area worsened at 3 months after first treatment, but the patient did not complain about any associated aggravation (Fig. 3a; Cases 1-3 in Fig. 3 are the same as those in Fig. 2). For Case 3, the area was still decreasing after 3 months. The anxiety level of Case 1 remained very high during the course of the study, and Case 2 exhibited low anxiety at pre-treatment but had a normal level of anxiety at 1 and 3 months after treatment (Fig. 3b). The DHI score for the two patients with anxiety did not improve during the course of treatment (Fig. 3a). Case 3 had a very low anxiety level, and the DHI score improved during the course of treatment. When asked about their condition at the outpatient clinic, none of the subjects reported improvement in VDC symptoms from the beginning

of LFrTMS to 3 months after treatment, but they all reported some improvement >6 months after treatment based on a simple question asked by the physician at an ordinary outpatient clinic, namely "How is your dizziness these days?". STAI did not change in parallel with the change in the sway area with eyes closed.

3. Discussion

Mechanisms inducing the positive objective effect

Our hypothesis that LFrTMS would promote dynamic VC, which led to the present protocol, was based on the mechanism of VC suggested by animal studies (Fig. 1),1 and the mechanisms of VC and VDC in humans are not fully understood. The ability to stimulate deeper brain structures is achieved at the expense of inducing a wider electrical field spread. The magnetic field generated by the coil we used is greatest at the surface of the coil and decreases as it goes deeper, as shown in Figure 1a. Therefore, Purkinje cells in the cerebellar hemisphere are likely the most inhibited by the coil used in this study because they are the nearest structure to the coil, and this might also decrease the sway area with eyes closed. For example, Shimizu et al. found that LFrTMS over the cerebellum improved the steadiness of patients with spinocerebellar ataxia, although they used much wider and shallower stimulation (i.e., stimulation was applied over the right, left, and middle superficial cerebellar cortex) and an ordinary circular coil with 10 pulses at <0.2 Hz for 21 days.6 They were also unable to determine the mechanism by which rTMS produces this effect.

The subjects in this study did not complain of vestibule-related symptoms during the present LFrTMS application, although such symptoms typically appear as a consequence of direct stimulation of VNs and the vestibular nerve. Thus, our results suggest that there was little effect of LFrTMS on VNs and the vestibular nerve.

Considering that the vestibular cerebellum has direct functional connectivity with VNs, and the cerebellar hemisphere was the most widely inhibited region by LFrTMS (Fig. 1), the positive objective effects seen in this study may be attributable to neuromodulation via application of LFrTMS to both of these cerebellar regions.

4. Conflict of interest

There are no conflicts of interest for any of the authors.

5. References

1. Beraneck M, Idoux E. Reconsidering the role of neuronal intrinsic properties and neuromodulation in vestibular homeostasis. Front Neurol. 2012;325.

2. Kito S, Hasegawa T, Koga Y. Cerebral blood flow in the ventromedial prefrontal cortex correlates with treatment response to low-frequency right prefrontal repetitive transcranial magnetic stimulation in the treatment of depression. Psychiatry Clin Neurosci. 2012;66(2):138-145.

3. Abo M, Kakuda W, Momosaki R, Harashima H, Kojima M, Watanabe S, Sato T, Yokoi A, Umemori T, Sasanuma J. Randomized, multicenter, comparative study of NEURO versus CIMT in poststroke patients with upper limb hemiparesis: the NEURO-VERIFY Study. Int J Stroke. 2014;9(5):607-612.

4. Minami SB, Shinden S, Okamoto Y, Watada Y, Watabe T, Oishi N, Kanzaki S, Saito H, Inoue Y, Ogawa K. Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) for treatment of chronic tinnitus. Auris Nasus Larynx. 2011;38(3):301-306.

Legends

Figure 1.

Schematic presentation of vestibular compensation and decompensation in the chronic stage.



Figure 2.

Changes in objective postural stability.



Figure 3.

Changes in subjective symptoms measured prior to (pre) or at various times after a 5-day vestibular rehabilitation education program and application of LFrTMS.



Visualization of pituitary axis and hormonal function using diffusion tensor image in patients with pituitary disease

Yasuo Sasagawa and Masashi Kinoshita

Department of Neurosurgery, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University 13-1 Takara-machi, Kanazawa, 920-8641, Japan

Abstract

Magnetic resonance image (MRI) is a mandatory medical tool in patients with brain disease. Diffusion tensor image, can visualize neuronal tract, are useful for neurosurgical plan. Our study is to visualize pituitary axis using diffusion tersor image in patients with pituitary disease. And we conduct that the correlation between the visualized pituitary axis and hormonal function in the patients. We enrolled 10 pituitary tumor patients. Diffusion tersor image could visualize pituitary stalk fiber in some cases. However, the images were invisible in case of patients which had a large tumor. Diffusion tersor image may have a potential to visualize pituitary axis and could value hormonal function.

Keywords: pituitary axis, hormonal function, diffusion tensor image

1. Introduction

MRI is an essential tool in neurosurgery for detecting brain disease and planning surgery. In recent years, various MRI techniques have been developed. In particular, diffusion tensor magnetic resonance imaging can draw continuous nerve fibers (Fig. 1). The greatest advantage is that delineating motor nerve fibers that travel to the cerebrum before brain surgery can reduce the risk of damaging motor nerve fibers. Surgery on the pituitary gland has been replaced with conventional nasal surgery, which has been performed from the conventional craniotomy to the pituitary gland from the nose, and the burden on the patient has been reduced. However, when a tumor develops in the pituitary gland, nerve fibers from the cerebrum to the pituitary gland cannot be visualized by ordinary MRI. he pituitary gland itself is also excluded by the tumor, making imaging difficult. This increases the risk of pituitary damage during surgery. Damage to the pituitary gland, the source of hormone secretion, results in reduced secretion of hormones after surgery, which has various effects on the body. Adults have increased obesity and atherosclerosis, increasing the risk of myocardial infarction and stroke.

To resolve this, the risk of injury can be avoided if the running of nerve fibers from the cerebrum to the pituitary gland can be identified before surgery.

2. Object

In this study, we attempt to detect nerve fibers connected to the pituitary gland by diffusion tensor magnetic resonance imaging in pituitary surgery. Investigate whether the running of nerve fibers during the operation matched the preoperative image. Confirm post-operative diffusion tensor magnetic resonance imaging that damage has been avoided. Diffusion Telson magnetic resonance imaging will be quantified and evaluated for correlation with hormone secretory function. The object of the present invention is to minimize damage to nerve fibers after surgery for the pituitary gland and to maintain hormone secretion function.

3. Methods

The study period was one year from April to December 2019, and was performed on 10 patients. The target disease was a tumor that developed in and around the pituitary gland. In addition, it was judged that nasal endoscopic surgery was indicated (visual dysfunction such as visual field. hormonal insufficiency symptoms). Preoperative pituitary MRI was performed. MRI sequences are usually performed in clinical practice such as T1-weighted images, T2-weighted images, T2 *, FLAIR, DWI, contrast dynamics (early and late images), and diffusion tensor magnetic resonance imaging DTI (Diffusion tensor). imaging) was performed. The acquired data of the diffusion tensor magnetic resonance image was transferred to a dedicated workstation (General Electric Medical Systems), and nerve fibers were visualized using dedicated software (Functool 4, General Electric Medical Systems). We attempted to visualize nerve fibers from the hypothalamus to the pituitary gland.

4. Results

Pituitary nerve fibers could be visualized in 6 of 10 cases. However, nerve fibers could not be visualized in the remaining four cases. The average tumor size of the 6 cases in which pituitary nerve fibers could be visualized was 13 mm, which was significantly smaller than 18 mm in which pituitary nerve fibers could not be visualized. There was no apparent significant difference between the degree of visualization and hormonal function (the appearance of diabetes insipidus or hypopituitarism).

5. Discussion

In this study, we found that diffusion tensor magnetic resonance imaging can visualize pituitary nerve fibers.

Up to now, pituitary nerve fibers have been evaluated using MRI images¹⁾, but their qualitative evaluation has been difficult. Evaluation of nerve fibers by diffusion tensor magnetic resonance imaging has been applied to glioma surgery by Kinoshita et al ²⁾. In this study, large tumor sizes made it difficult to evaluate nerve fibers. In the future, changes in the MRI imaging method may lead to better imaging, and future development is expected.

Acknowledgment

This research was carried out with the support of the Watabe Foundation Reiwa 1st Year (25th) Research Grant.

Conference presentation

Part of this study was reported at the "30th Annual Meeting of the Japanese Pituitary Tumor" held in Tokyo in February 2020. Part of this report is currently being submitted as an English paper.

References

1) Hayashi Y, Sasagawa Y, Nakada M et al. Prediction of postoperative diabetes insipidus using morphological hyperintensity patterns in the pituitary stalk on magnetic resonance imaging after transsphenoidal surgery for sellar tumors. Pituitary. 2016;19:552-559

 Kinoshita M, Miyashita K, Nakada M. Clinical neural networks in awake surgery for gliomas. Neurol Med Chir (Tokyo). 2016;56:674-686.



Arrowhead: pituitary gland Nerve fibers cannot detect Arrow: from cerebrum to continuous if there is a tumor in the pituitary gland pituitary nerve fiber

Detection of deep sentinel lymph nodes by strong magnetic field

Isao Yamamoto and Mikihide Hirota

Department of Physics, Graduate School of Engineering Science, Yokohama National University 79-5 Tokiwadai, Hodogaya-ku, Yokohama 240-8501 Japan

Abstract

The detection of magnetic nanoparticles has established a new method from sentinel lymph node biopsy to breast cancer metastasis. A pulsed magnetic field was applied to detect small signals from magnetic particles. We designed three types of detection circuits and evaluated the performance. Maxwell bridge circuit with RC low pass filter reduced white noise to less than 1/10. The 300 turn coil showed the best performance with a detection depth of 16 mm in the case of 300 V discharge.

Keywords: sentinel lymph nodes, pulsed magnetic field, Resovist, search coil

1. PURPOSE

Biopsy of the sentinel lymph node is an effective in diagnosing breast cancer metastases. The method using radioisotope and blue dye has been the main method to determine the position of sentinel lymph node, however the exposure of medical staff is a problem. As an alternative method, a method using magnetic nano-particles and a magnetic probe is suggested and studied. Where, magnetic particles injected near the cancer flow into the sentinel lymph node using lymph flow. Then the position of the magnetic particles can be estimate from outside the body instead of the position of the sentinel lymph node. Previous studies reported that a permanent magnet and a Hall sensor were used to detect the magnetic particles up to 10 mm depth from the magnetic probe^{1,2)}, however the accuracy was low for patients with high BMI. Since the pulsed magnetic field can generate a relatively large magnetic field, it can be expected to perform detection at a distant place and highly accurate biopsy even in patients with high BMI. In this research, we improved the circuit suitable for the detection of magnetic particles by using a pulsed magnetic field, searched for conditions, and pursued the possibility of detecting magnetic particles at a deep position from body surface.

2. METHOD

A pulsed magnetic field generator with maximum charging voltage of 1 kV and charging energy of 5 kJ was manufactured by RLC circuit ³. Resovist 94.1 mg (Fuji Film Co. Ltd.) as magnetic nanoparticles was enclosed into a polycarbonate sample container with ID 3.5 mm. Two types of magnetic probes were attached on the surface of the exciting coil to detect magnetic particles. First, we made a detection circuit with two transverse Hall elements (Lake Shore, HGT-2010) to cancel the Hall voltage. Next, the search coil pair was used as shown in Fig. 1. Cancellation as shown in Fig. 2, where two search coils of the same specifications with a coil length of 4.5 mm, 50 turns, and



Fig. 1 Configuration of search coils on exciting coil.



Fig. 2 Detection circuits

ID 8 mm was used. Circuit B was made with reference to Maxwell bridge, and circuit C added three stages of RC low-pass filter. Then the detection performance was evaluated and compared. Finally, the signal from the magnetic particles was measured to determine the limit of depth as a function of the resistance and the number of turns of circuit C.

3. RESULTS

When magnetic particles were present near one of the search coils, a waveform derived from magnetic particles was detected. The integral of the obtained induced electromotive force (EMF) is defined as B^* as shown in Eq. (1).

$$B^* = \int V \, dt \,. \tag{1}$$

The difference between the cancellation waveform and the waveform with magnetic particles was defined as the detection index ΔB^* . In order to reduce white noise and spike noise from the measured waveform, we evaluated using discrete wavelet analysis and Mann-Whitney U test.

Table 1 listed the detection performances in the circuits A, B, and C when discharging at 400 V. Table 2 listed the maximum as a function of number of turns of the search coil when discharging at 300 V. The circuit with a pair of Hall sensor detected magnetic particles only 2 mm depth and the circuit C detected 16 mm depth.

Tab	le 1 Performan	ance of detection circuit.		
Circuit	Noise / mV	Detection index, ΔB^*		
А	± 5	11.6		
В	±0.3	19.3		
С	±0.1	19.2		
	Table 2 Limit of detection depth			
Turn nu	mber of coil, <i>n</i>	Limit of depth, d/mm		
	200	11		
	300	16		
	400	14		
	500	9		
	1000	1		

4. DISCUSSION

The Hall element used in this study is for high magnetic fields so it was not suitable for use to detect weak magnetic flux changes under high magnetic field.

The noise for the circuit B was reduced to 1/10 of that of the circuit A and the detection index ΔB^* was improved by 66% as shown in Table 1. In circuit C, noise was further reduced by the filter circuit without lowering ΔB^* , and spike noise generated during discharge was also greatly reduced.

The circuit C with 300 turns had the largest detection depth. The inductance increases and the induced EMF increases, which improves detection performance, with increasing coil turns. The coil OD and winding resistance also increase, making it difficult to detect the magnetizing signal. Therefore, 300 turns was optimal for a search coil with an ID 8 mm and a coil length of 4.5 mm. Since 300 V discharging was 30% of the rated value of 1 kV, it was revealed in this study that detection of a deep sentinel lymph node up to about 50 mm could be expected.

ACKNOWKEDGEMENTS

This research was supported by the Magnetic Health Science Research Foundation and Inst. Anal. Cent, YNU. This paper was reported at the 14th Annual Meeting of the Magnetic Society of Japan held in Nagaoka on 11th Nov. 2019.

REFERENCES

- 1) M. Kaneko et al.: AIP Advances 7 (2017) 056713.
- 2) M. Sekino et al. : Scientific Reports 8 (2018) 1195.
- 3) H. Nojiri: Kotai Butsuri 37 (2002) 537, in Japanese.

Differential effects of 20 and 10 Hz-tACS on MEPs with intermittent Theta Burst Stimulation

Hisato Nakazono*, Katsuya Ogata** and Shozo Tobimatsu*

*Department of Clinical Neurophysiology, School of Medical Sciences, Kyushu University 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582 Japan

** School of Health Sciences at Fukuoka, International University of Health and Welfare 137-1 Enokizu, Okawa, Fukuoka 891-8501 Japan

Abstract

Intermittent Theta Burst Stimulation (iTBS) is a patterned stimulation using transcranial magnetic stimulation (TMS). iTBS is utilized to modulate cortical excitability and has a feature of short duration about a few minutes to induce plasticity although its effects are largely variable. We introduced transcranial alternating current stimulation (tACS) synchronized with iTBS to modulate iTBS effects. 20 Hz tACS with iTBS suppressed iTBS effects irrespective of tACS phase while 10 Hz tACS inhibited iTBS effects at 90° but not 270°. Therefore, iTBS effects were modulated by tACS in a frequency and phase dependent manner.

Keywords: intermittent Theta Burst Stimulation (iTBS), transcranial alternating current stimulation (tACS), transcranial magnetic stimulation (TMS)

1. Purpose

Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) can stimulate human brain non-invasively. It is utilized to estimate pyramidal tract functions as well as cortical excitability using motor evoked potentials (MEPs). It is also applied to modulate cortical excitability, and intermittent theta burst stimulation (iTBS) is one of the TMS protocols. iTBS is characterized by the short duration (about 3 minutes) to induce plasticity [1], which is promising for the clinical application. On the other hand, the inter-individual variability is shown [2], and the more stable effects are required.

Transcranial alternating current stimulation (tACS) is reported to modulate cortical excitability more recently [3]. tACS effects are shown to be frequencyand phase dependent. That is, 20 Hz tACS increased MEP amplitudes at 90° while 10 Hz tACS tended to decrease them [4]. Therefore, the excitability of primary motor cortex (M1) can be modulated by tACS in a frequency and phase dependent manner, which implies that tACS could entrain M1 oscillations and M1 excitability was modulated according to the entrained frequency and phase. Following these studies, we hypothesized that tACS could enhance iTBS effects with synchronized stimulation with tACS because facilitated excitability by tACS through entrainment could enhance the effects of iTBS. Thus, we aimed to evaluate whether iTBS effects could be modulated by tACS with a certain frequency and phase.

2. Method

2.1 MEPs

Each subject sat in a comfortable chair. A pair of surface electrodes was attached to the first dorsal interosseus muscle of their right hand. TMS of single pulse was delivered to the left M1 hot spot by a magnetic stimulator (Magstim 200, Magstim Co. UK),
whose intensity was set to the one to obtain MEPs of 0.5-1.5 mV amplitudes. The interstimulus interval (ISI) was between 5 and 7 s. Twenty-four MEPs were obtained in one session. Each subject was instructed to keep resting the muscle with eyes open.

2.2 iTBS

iTBS pulses were delivered using another magnetic stimulator for repetitive stimulation (Magstim SuperRapid, Magstim Co., UK). iTBS consists of a burst of 3 pulses of 50 Hz (ISI 20 ms), and the burst is repeated by 5 Hz (ISI 200 ms). The repetitive burst is continued 2 s intermitted by 8 s pause for iTBS. Thus, it takes 200 s or 600 pulses in one session. The stimulus intensity was determined based on active motor threshold, i.e. the intensity to obtain MEPs of 200 μ V or more in 5 out of 10 stimuli with a weak contraction of the target muscle. The stimulus intensity was set to 80 % of active motor threshold.

2.3 tACS

tACS electrodes were 5×7 cm in size, of which the stimulus electrode was attached to the left M1 hotspot while another electrode was attached to Pz based on international 10-20 system. The current intensity was set to 1 mA (peak-to-peak) using a DC-Stimulator (NeuroConn, Germany). The current stimulation was continued for 260 s as tACS preceded iTBS by 60 s, which was ramp-up and -down by 5 s to suppress skin sensations and phosphenes. For sham condition, the tACS was continued for 20 s.

2.4 Synchronized stimulation of tACS and iTBS

tACS was applied with iTBS, and a tACS phase of 90° or 270° was synchronized with the first pulse of 3 pulses of iTBS. Each subject participated 3 conditions of 90°, 270° as well as sham condition. Each recording was separated by more than two days. MEPs were recorded for two sessions before synchronized stimulation of tACS and iTBS, then followed by MEP sessions every 5 min until 30 min after intervention.

2.5 Data analysis

MEP amplitudes were log-transformed then averaged. Mean amplitudes of two sessions before intervention was used as a baseline and following amplitudes were normalized by the baseline. Statistical analysis was conducted by a mixed-effect model with a fixed effect of time (0-30 min after intervention) and intervention (90°, 270° and sham) and with a random effect of subjects. When the fixed effect was statistically significant, paired comparison was conducted with a Holm's correction.

3. Results

3.1 20 Hz tACS + iTBS condition

Thirteen healthy adults participated in this study (M:F=8:5, Age 20-35 y.o). MEPs increased after sham condition (i.e. iTBS only) (Fig. 1). The enhancement of MEPs continued for 30 min. On the other hand, synchronized stimulation of 20 Hz tACS and iTBS suppressed facilitatory effects of iTBS irrespective of tACS phase. Statistical analysis revealed a significant effect of condition and the differences between sham and either of the tACS phases (90° or 270°) were significant.



Figure 1. MEP amplitudes following 20 Hz tACS + iTBS

3.2 10 Hz tACS + iTBS condition

Eleven healthy adults were enrolled in this study (M:F=7:4, Age 20-24 y.o). In contrast to 20 Hz tACS with iTBS experiment, MEPs of sham condition (iTBS only) did not increased consistently after intervention

(Fig. 2). On the other hand, MEPs of 270° condition increased after intervention and those of 90° condition were suppressed compared with 270° condition as well as sham condition.



Figure 2. MEP amplitudes following 10 Hz tACS + iTBS

4. Discussion

In this study, we revealed the interaction between tACS and iTBS, which was frequency and phase dependent. 20 Hz tACS suppressed facilitatory iTBS effects irrespective of tACS phase while 10 Hz tACS showed the difference between 90° and 270° conditions, in which 90° condition inhibited MEPs compared with 270° condition. Therefore, 20 Hz tACS induced suppression of iTBS independent of phase while 10 Hz tACS revealed phase dependent effects.

We do not have a good explanation for the inhibitory effects of 20 Hz tACS over iTBS. In a previous study, 20 Hz tACS indicated the phase dependent modulation of GABAergic or glutamatergic functions by TMS study [5]. Because iTBS is shown to be dependent on glutamatergic of GABAergic functions to induce plasticity [6], the modulation of the synaptic functions by 20 Hz tACS might interfere with the induction of iTBS effects.

90° condition of 10 Hz tACS showed lower MEPs compared with 270° condition. The underlying mechanisms are still unknown, inhibitory effect of 90° for 10 Hz tACS was consistent with our previous study [4], in which MEPs tended to be suppressed at 90° by 10 Hz tACS during stimulation. Thus it is feasible that 10 Hz tACS suppressed iTBS effects at 90° phase.

In conclusion, synchronized stimulation of tACS and iTBS revealed frequency and phase dependent effects. We suggest the patterned TMS can be modulated by tACS, and future studies would lead to more efficient combination of tACS and TMS protocols.

Acknowledgements

This work was supported by The Watanabe Foundation (grant number 30301).

The results of this study were reported at an oral session of 13th International Conference on Complex Medical Engineering at Dortmund, Germany on Sep 23rd.

The results of this study were also reported at an oral session of 49th annual conference of the Japanese Society of Clinical Neurophysiology at Fukushima on Nov 29th.

References

- [1] Huang Y-Z et al. Neuron 45:201–6 (2005).
- [2] Schilberg L et al. J Cogn Neurosci 29:1022–32 (2017).
- [3] Antal A et al. Brain Stimulat 1:97–105 (2008).
- [4] Nakazono H et al. PloS One 11:e0162521 (2016).
- [5] Guerra A et al. Cereb Cortex 26:3977–90 (2016).
- [6] Li C-T et al. Hum Brain Mapp 40:2001-9 (2019).

Elucidation of the mechanism of magnetic spikes with micro three-dimensional structural simulation of hippocampus

Keiya Iijima

National Center Hospital, National Center of neurology and Psychiatry 4-1-1 Ogawa-higashi-cho, Kodaira-shi, Tokyo 187-8551, Japan

Abstract

Epilepsy is a brain condition characterized by the recurrence of unprovoked seizures. Little is known about the mechanism of the epileptogenity. Hippocampal sclerosis is the commonest cause of drug-resistant epilepsy in adults, and is associated with alterations to structures and networks beyond the hippocampus. We attempt to clarify the mechanism of epileptogenity in hippocampal sclerosis using micro three-demensional structural simulation of hippocampus.

Keywords: epilepsy, hippocampus

1. PURPOSE

Epilepsy is a brain condition characterized by the recurrence of unprovoked seizures. The prevalence of epilepsy is 1 in 100. Epilepsy is an important disease in the world.

Epilepsy can be cured with medicine, but may not be cured. If epilepsy can not cured with medicine, surgical resection of focus of epilepsy will be performed. Hippocampal sclerosis is the commonest cause of drug-resistant epilepsy in adults, and is associated with alterations to structures and networks beyond the hippocampus. Surgery for hippocampal sclerosis is most common surgical procedure for epilepsy. Little is known about the mechanism of the epileptogenity.

The mechanism of epilepsy is abnormal excitability of cerebral cortex. Electroencephalography (EEG) is standard evaluation for epileptic electrical activity. Magnetoencephalography (MEG) is performed for cases that are difficult to diagnose or are undergoing surgery. MEG is a functional neuroimaging technique for mapping brain activity by recording magnetic fields produced by electrical currents occurring naturally in the brain, using very sensitive magnetometers. Applications of MEG include basic research into perceptual and cognitive brain processes, localizing regions affected by pathology before surgical removal, determining the function of various parts of the brain, and neurofeedback. This can be applied in a clinical setting to find locations of abnormalities as well as in an experimental setting to simply measure brain activity. The MEG (and EEG) signals derive from the net effect of ionic currents flowing in the dendrites of neurons during synaptic transmission. In accordance with Maxwell's equations, any electrical current will produce a magnetic field, and it is this field that is measured. The net currents can be thought of as current dipoles, i.e. currents with a position, orientation, and magnitude, but no spatial extent. According to the right-hand rule, a current dipole gives rise to a magnetic field that points around the axis of its vector component. Unlike the gyrus of the cerebral neocortex, which has a simple layered structure, the hippocampus, which is the paleocortex, is a tissue with a special morphology that has a complicated spiral structure. We often calculate electrical activity with approximating brain structure as sphere. Unexpected error may occur if we approximate complicated brain structure as simple sphere (Ref. 1). In this study, we demonstrate attempt to development program for signal source estimation using EEG, MEG and MRI .

2. METHOD

We acquired EEG, MEG and MRI data in National Center of Neurology and Psychiartry. These data were diverted from clinical data to this research. This study by the Ethics was approved Committee. Electroencephalogram data was acquired with setting electrode on scalp. EEG data was analyzed with free software called LORETA (low resolution brain electromagnetic tomography adepth electrode set with nalysis). Intracranial EEG was acquired with surgery. Two types of electrode were used. One is depth electrode set with penetrating the brain. The other is grid type electrode set on surface of brain. MRI data was analyzed with SYNAPSE VINCENT software sold by Fujifilm.

3. RESULT

First, we analyzed EEG data of patient with hippocampal sclerosis. The focus of epileptic electrical activity should be in hippocampus, but the EEG potential distribution showed focus on frontal lobe (Figure 1, 2 and 3).



Figure 1. Raw data of EEG



Figure 2. Source estimation of EEG (2-demensional)



Figure 3. Source estimation of EEG (3-demensional)

Second, we analyzed MEG data of same patient. The source of epileptic electrical activity was estimated on lateral temporal lobe. There was disc result is discrepancy between EEG and MEG.



Figure 4. Raw data of MEG



Figure 5. Source estimation of MEG (3-dimensional)

Third, we analyzed intra cranial EEG data of same patient. The source of epileptic electrical activity was estimated on medial temporal lobe, especially on amygdala (Figure 6).

10.00	Construction of the	
0.000	and the second second second second	
1000-	and a comparison of	
38.94		
and a		A second second with the second
		and an an and the first of the second second and an
10.46		
10.00	and all many second second second	and the second se
A	and the second s	en en el del concelle a la concella concella de la
10.00		
10.00	the second se	
在例	an all as	the state of the state of the state of the
10.00		A REAL PROPERTY AND A REAL
2004	and the second s	(A.12 a
1125		and the second se
15.48		
1272	and the second sec	HARLE HE ME HE HE HE HE HE
18-61		and the second statement of th
11.48		
57.55		
10.00		
0.48		
10.00	12. 17	
Constant.	and the second s	- shows he want to be a set of the set
10.04		
11.00		
(Address)	and the second s	and the second s
1010	and an	and the second s
14.44		
	a state of a state of the	المستحجين المحاصل والمحافظ معاد والمحاف المعادي الأعس المراحة محمد المحافظ معالم والمستجود المحافظ مع
110.72	and the factor of the second s	a
See.	Constant and the second second	and the second West of strength and strength and
1000	- Without - Concerner	and the second s
Sec. 1	a sector a sector as	and the second of the second sec
11.15		
Sec. 1	Constraint Constraints and a second	and the state of the second state of the secon
Sec. an	- april	
15-85	the state of the s	The state with a second s
1000	Service and the service of the servi	and the second sec
Read	and an address of the second second	
***		C - CHI 200- P22- Carter III
and the second	and the second se	and the second se

Figure 6. Raw data of intracranial EEG

MRI demonstrated left hippocampal sclerosis (Figure 7). We reconstruct MRI 3-dimensionaly and analyzed hippocampus (Figure 8). We now developing program that can explain these data (EEG, MEG and MRI). We analyzed basal ganglia of deep brain by CoMBI method (Figure 9) (Ref. 2) and confirmed CoMBI method can apply hippocampus.





Figure 7. MRI of hippocampus (2-dimensional) . White arrow: hippocampus. Black box: Figure 9



Figure 8. MRI of hippocampus (3-dimensional)



Figure 9. Basal ganglia analyzed by CoMBI method

4. DISCUSSION

There was discrepancy in electric potential distribution of hippocampal sclerosis between EEG and MED. New method to estimate true focus is needed. We now developing new method using EEG, MEG and MRI.

REFERENCES

- Iwasaki, M., E. Pestana, R. C. Burgess, H. O. Luders, H. Shamoto and N. Nakasato (2005).
 "Detection of epileptiform activity by human interpreters: blinded comparison between electroencephalography and magnetoencephalography." Epilepsia 46(1): 59-68.
- Iijima, K., Y. Tajika, Y. Tanaka, H. Yorifuji and Y. Yoshimoto (2018). "Microanatomy Around the Facial Nerve Pathway for Microvascular Decompression Surgery Investigated with Correlative Light Microscopy and Block-Face Imaging." World Neurosurgery 118: e526-e533.

The Subjects for the 2019 Research Grants

Here are the subjects (8 Basic Researches, 3 Application Researches) that the 2019 Research Grants are subsidized.

- I. Basic Research
- I-1. The effect of transcranial magnetic stimulation on neurodegeneration Depatment of Molecular Neuroscience, Graduate school of Medicine, Osaka University/Yuki FUJITA
- I-2. Establishment of a theranostics for metastatic prostate cancer by using a novel nanoparticle with prostate specific membrane antigen Depatment of Nephro-Urology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences/Takashi NAGAI
- I-3. Effects of the magnetic field on ABCA1-mediated cellular lipid release Biochemistry, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences/Maki TSUJITA
- I-4 Synthetic Biology Approach for Evaluating Magnetic Field Effects on DNA hotorepair Reactions

Reseach Promotion Institute, Oita University/Yoshimi OKA

- I-5. Study about the magnetic field effect on the molecular recognition of the cell membrane - from separation materials to cell cure -Graduate School of Engineering Science, Osaka University/Yukihiro OKAMOTO
- I-6. Analysis of bone formation by magnetic field using fish scales (bone model) : Elucidation of new mechanism by eddy-currents Institute of Nature and Environmental Techonology, Kanazawa University/Nobuo SUZUKI
- I -7. Three-dimensional neuronal magnetic field measurement for the study of thermosensation of C. elegans worms

Osaka City University, Graduate School of Science/Masazumi FYJIWARA

- I-8 Development of the high frequency pulse magnetic fields generator for medical applications Faculty of Science, Shinshu University / Atom HAMASAKI
- II. Application Research
- II-1. Detection of disturbances of visual perception processing using magnetoencephalography as an early diagnostic marker in patients with Lewy body disease Department of Preemptive Medicine for Dementia, Kanazawa University Graduate School of Medical Sciences/Moeko SHINOHARA
- II-2. Development of navigation system for surgical operation of a spinal cord applying low-frquency-band magnetic field detection

Kanazawa Institute of Technology/Yoshiaki ADACHI

II-3. Development of magnetic nanomaterials that enable novel bioperspective nanoimaging Nagoya University Institute for Advanced Reseach/Kazuhide SATOH

Note: Affiliations above are at the time of the grants were subsidized.

THE REPORT OF STUDY RESULT BY SUBSIDY 助成研究成果報告書 平成30年度(2018) 発行日 令和2年8月20日 発行所 公益財団法人渡邉財団 福岡県福岡市中央区天神1-13-17 TEL 092-724-3605 FAX 092-724-3690 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。

この印刷物は、環境に配慮した ペジタブルインクを使用しています。

12

