

## 脳への微弱な電気刺激がリハビリテーションを促進する分子細胞機序の解明

代表研究者 お茶の水女子大学 基幹研究院自然科学系 助教 毛内 拓

### 【研究の概要】

我々は、脳への微弱な電気刺激 (tDCS) がリハビリテーションを促進する機序として、脳脊髄液と細胞間質液の交換による脳の老廃物の排泄の促進が重要な役割を果たすと仮説を立て、マウスを用いた生理学的研究によりこれを検証した。マウス大槽より、脳脊髄液に直接トレーサーを注入し、続いて、10 分間 0.1mA の tDCS を視覚野直上の頭蓋骨に対して行った結果、有意に脳脊髄液の細胞間質への流入が上昇した。その効果は、30 分後、60 分後も持続した。また、tDCS を行ってから 30-60 分後の脳波を周波数解析したところ、1-4 Hz のデルタ帯のパワーが有意に増加していることを明らかにした。さらに脳脊髄液に注入した色素が、頸動脈のリンパ管に排出され蓄積していく様子をリアルタイムに生体計測し、tDCS が有意に脳リンパ排泄を促進することを明らかにした。

### 【研究経過および成果】

#### <背景>

近年、頭蓋直流刺激 (tDCS) は非侵襲的脳刺激として注目されるようになってきている。臨床研究では、1-2 mA の弱い直流を頭蓋または頭皮を通して 10-30 分間刺激する tDCS が、アルツハイマーの進行抑制や脳卒中後のリハビリの促進等、神経学的な疾患の治療を促進するための補助としてさまざまな方面で検討されている<sup>1</sup>。例として、アルツハイマー病の治療に関する臨床試験では、tDCS 後に患者のアミロイド  $\beta$  ( $A\beta$ ) 1-42 の血清レベルが増加し、その結果脳内の  $A\beta$  の沈着が減少した<sup>2</sup>。また、アルツハイマー病を有するマウスに対する tDCS 後に、海馬の  $A\beta$  レベルと前頭葉の  $A\beta$  レベルが減少することが予備的な研究で示された<sup>3</sup>。これらの研究結果から、tDCS は脳の老廃物排出の促進に影響する可能性が示唆されている。

近年注目されている「グリンファティックシステム」は、脳脊髄液・組織間液 (CSF-ISF) の交換によって代謝老廃物の効率的な排出を促すことができる、いわば脳のリンパ排出機構が存在するという説である<sup>4,5</sup>。Monai らは、急性虚血性脳卒中の後、アドレナリン受容体のブロックによってマウスの運動機能不全の回復を促すことを見出した<sup>6</sup>。この結果は、アドレナリン受容体のブロックが CSF-ISF 交換によって脳の細胞外イオン環境

の正常化を促したことを示している。

一方、tDCS の細胞メカニズムは Monai らによって提案されており、アドレナリン受容体の活性化が重要な役割を果たしていると考えられる<sup>7</sup>。しかし、tDCS が脳の CSF-ISF 交換にどのように影響するかは未解明である。

#### <目的>

本研究では、脳への微弱な電気刺激 (tDCS) がリハビリテーションを促進する機序として、脳脊髄液と細胞間質液の交換による脳の老廃物の排泄の促進が重要な役割を果たすと仮説を立て、マウスを用いた生理学的研究によりこれを検証した。

#### <方法>

本研究では、ケタミン・キシラジン (KX) 麻酔下の C57BL/6 マウスに、大脳皮質上部の頭蓋骨に設置した陽極と頸部に挿入した陰極により tDCS (0.1mA、10 分) を適用した。脳流入液の動態を直接可視化するために、tDCS 後に cisterna magna (CM) を介して CSF トレーサーとして biotinylated dextran amine (BDA) を注入し、免疫組織化学を用いて Alexa 594-conjugated streptavidin (SA) によって BDA を可視化した。tDCS のメカニズムを探るため、脳波記録と AQP4/CD31 免疫染色を実施した。また、リンパ節イメージングにより脳代謝性廃棄物の流出を観察した。

## <結果>

マウス大槽より、脳脊髄液に直接トレーサーを注入し、続いて、10分間0.1mAのtDCSを視覚野直上の頭蓋骨に対して行った結果、有意に脳脊髄液の細胞間質への流入が上昇した。特に、大脳皮質や海馬における流入増加が顕著であった。その効果は、30分後、60分後も持続した。

また、tDCSを行ってから30-60分後の脳波を周波数解析したところ、1-4 Hzのデルタ帯のパワーが有意に増加していることを明らかにした。これは、デルタ帯のパワーと脳リンパ流に正の相関があるという過去の研究と矛盾しない。

一方、脳リンパ流の重要な駆動力と考えられている、脳の水チャネルAQP4の発現には影響を及ぼさなかった。

さらに、脳リンパ流による老廃物の排出(脳リンパ排泄)を評価するために、脳脊髄液に注入した色素が、頸動脈のリンパ管に排出され蓄積していく様子をリアルタイムに生体計測し、tDCSが有意に脳リンパ排泄を促進することを明らかにした(図)。

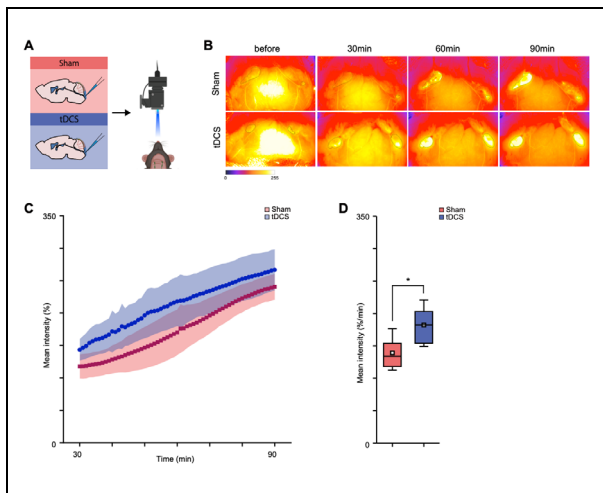


図 tDCSによるリンパ節への流出への影響  
(A) リンパ節イメージングの模式図  
(B) リンパ節イメージングの代表画像  
(C) 偽マウスと tDCS マウスのリンパ節における平均強度 (%)  
(D) 最初の30分間の記録におけるリンパ節充満率  
\* $p < 0.05$ , t-test

## [学会発表]

1. Yan Wang, **Hiromu Monai**<sup>†</sup>, 12th Ewha-JWU-Ochanomizu Joint Symposium 2021, Dec, 2021 (口頭発表)
2. 王岩, **毛内 拓**<sup>†</sup>, 経頭蓋直流電気刺激が脳脊髄液と間質液の交換に与える影響の解析, NEURO2022, 2022年7月 (ポスター)
3. Yan Wang, **Hiromu Monai**<sup>†</sup>, Transcranial direct current stimulation alters cerebrospinal fluid-interstitial fluid exchange in mouse brain., 日本バイオイメーjing学会, 2022年9月 (ポスター)

## [参考文献]

1. Lefaucheur, J. P. (2016). A comprehensive database of published tDCS clinical trials (2005–2016). *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology*, 46(6), 319-398.
2. Khedr, E. M., Salama, R. H., Abdel Hameed, M., Abo Elfetoh, N., & Seif, P. (2019). Therapeutic role of transcranial direct current stimulation in Alzheimer disease patients: double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Neurorehabilitation and neural repair*, 33(5), 384-394.
3. Luo, Y., Yang, H., Yan, X., Wu, Y., Wei, G., Wu, X., ... & Wen, H. (2022). Transcranial Direct Current Stimulation Alleviates Neurovascular Unit Dysfunction in Mice With Preclinical Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14.
4. Iliff, J. J., Wang, M., Liao, Y., Plogg, B. A., Peng, W., Gundersen, G. A., ... & Nedergaard, M. (2012). A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid  $\beta$ . *Science translational medicine*, 4(147), 147ra111-147ra111.
5. Jessen, N. A., Munk, A. S. F., Lundgaard, I., & Nedergaard, M. (2015). The glymphatic system: a beginner's guide. *Neurochemical research*, 40(12), 2583-2599.
6. Monai, H., Wang, X., Yahagi, K., Lou, N., Mestre, H., Xu, Q., ... & Hirase, H. (2019). Adrenergic receptor antagonism induces neuroprotection and facilitates recovery from acute ischemic stroke. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(22), 11010-11019.
7. Monai, H., Ohkura, M., Tanaka, M., Oe, Y., Konno, A., Hirai, H., ... & Hirase, H. (2016). Calcium imaging reveals glial involvement in transcranial direct current stimulation-induced plasticity in mouse brain. *Nature communications*, 7(1), 1-10.