

【助成 41-31】

脳－計算機－超音波閉ループによる脳疾患の実時間制御

研究者 近畿大学薬学部 教授 竹内雄一

〔研究の概要〕

うつ病や依存症などの精神疾患およびアルツハイマー病やてんかんなどの神経疾患はしばしば薬物抵抗性を示す。これらの脳疾患は脳の機能障害であるため、その症状を制御するには物理的な手法により疾患症状を司る脳活動に直接介入して、脳の機能を調整する戦略が効果的である。超音波はその高い生体透過性および時空間分解能により、非侵襲的かつ時間標的脳刺激を可能にするモダリティとして着目されている。しかしながら、超音波による脳刺激、特に脳深部における効率的な刺激法は未だ確立されていない。そこで本研究は、まず哺乳類の大脳神経細胞の超音波感受性に関わる分子を同定し、さらに超音波反応性分子の神経細胞への過剰発現によって神経細胞の超音波感受性を増大することで超音波遺伝学的な脳刺激法を確立することを目的とした。

〔研究経過および成果〕

うつ病や依存症などの精神疾患、およびアルツハイマー病やてんかんなどの神経疾患は、しばしば薬物抵抗性を示す。これらの脳疾患は脳の機能障害であるため、その症状を制御するには、医療機器などを介した脳刺激によって疾患症状を司る脳活動に直接介入し、脳内神経細胞の活動を操作することで脳の機能を調整する戦略が効果的である。脳刺激による脳活動への介入では、正常な生理機能を司る脳活動の阻害による副作用を回避するため、必要な際にのみ刺激がトリガーされる閉ループ制御による時間的に標的を絞った刺激が重要である。超音波は、その高い生体透過性および時空間分解能により、非侵襲的かつ時間的に標的を絞った脳刺激を可能にするモダリティとして注目されている。しかしながら、超音波による効率的な脳深部刺激は、いまだ確立されていない。そこで本研究では、まず哺乳類の大脳神経細胞の超音波感受性に関与する分子を同定し、さらに、超音波反応性の分子を神経細胞に過剰発現させること

で超音波感受性を高め、超音波遺伝学的な脳深部刺激法を確立することを目的とした。

まず、*in vitro* および *in vivo* の両方の系において、神経細胞の超音波応答性を生理学的に評価する系を立ち上げた¹⁾。具体的には、*in vitro* では、共同研究においてマウス大脳皮質の初代培養神経にカルシウムインジケータである GCaMP6s を強制発現し、超音波照射に対する神経活動を蛍光シグナル強度の変化として評価した。*In vivo* では、イソフルラン麻酔下のマウスに経頭蓋超音波照射し、大脳皮質神経細胞の応答を電気生理学的に評価した。まず *in vitro* において、薬理学的検討から、TRPC6 チャネルが大脳皮質神経細胞の超音波感受性に必要であると示唆された。TRPC6 チャネル欠損マウス由来の初代培養細胞では、超音波反応性が消失し、ウイルスベクターを介して TRPC6 チャネルを再発現させることで超音波反応性がレスキューされたことから、この仮説が支持された。さらに *in vivo* 実験では、経頭蓋超音波照射によって誘発される大脳皮質神経細胞の活動電位が、脳

室内への TRPC6 チャンネル阻害剤投与によって消失することが確認され、TRPC6 チャンネルが脳皮質神経細胞の超音波感受性に必要であることが明らかになった¹⁾。

次に、超音波反応性チャンネルを強制的に過剰発現させることで神経細胞の超音波反応性を高められるか、すなわち超音波遺伝学的な脳刺激が可能かを検討した。超音波遺伝学素子として、バクテリア由来の機械受容チャンネル eMscL^{G22S} を用いた (Soloperto et al, J Cell Sci 2018)。神経細胞特異的に eMscL^{G22S} を発現するアデノ随伴ウイルスベクター AAV5-hSyn-eMscL^{G22S}-tdTomato を精製し、C57BL/6J マウスおよび Wistar ラットの大脳皮質および内側中隔核に麻酔下で脳定位的に接種した。接種後、4 週間通常飼育し、その後、麻酔下で経頭蓋超音波を照射し、標的脳部位の神経活動の変調を c-Fos を抗原とした免疫組織化学的手法およびシリコンプローブを用いた電気生理学的手法により解析した。対照群として、AAV5-hSyn-tdTomato を接種した動物を用いた。その結果、eMscL^{G22S} を大脳皮質神経細胞に発現させた C57BL/6J マウスでは、対照群に比べて、免疫組織化学的および電気生理学的解析の結果ともに、大脳皮質神経細胞の経頭蓋超音波照射に対する反応性が高かった。一方、eMscL^{G22S} を内側中隔核神経細胞に発現させた Wistar ラットでは、対照群との間で免疫組織化学的および電気生理学的解析の結果に有意な差は見られなかった。内側中隔核への超音波の照射効率を改善するため、球面型超音波振動子を利用した小型集束超音波照射装置を作製し²⁾、内側中隔核を標的に経頭蓋集束超音波照射を行った。その結果、eMscL^{G22S} 発現群の内側中隔核神経細胞は、対照群に比して、高効率にその活動が増強された。

本研究によりげっ歯類の中樞神経系において超音波反応性に必要な分子を同定し、さらに外来性に過剰発現させた機械受容チャンネルを介して、大脳皮質および脳深部の神経細胞の活動を変調することに成功した。当該技術により、大脳辺縁系や報酬系脳領域をタイミングよく効率的に刺激し、うつ病やアルツハイマー病などの症状を非侵襲的に緩解する新たな治療法を創出できる可能性がある。

〔発表論文〕

1. Matsushita Y, Yoshida K, Yoshiya M, Shimizu T, Tsukamoto S, Kudo N, Takeuchi Y, Higuchi M, Shimojo M, TRPC6 is a mechanosensitive channel essential for ultrasound neuromodulation in mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 121: e2404877121. 03 Dec 2024.
2. Chan M, Yoshida K, Yang G, Mimura T, Li Q, Kudo N, Takeuchi Y, Time-targeted intervention of brain oscillations with transcranial ultrasound irradiation, *Neuromethods*, Springer Nature, London, *in press*.
3. 竹内雄一、ブレインサイエンスレビュー2025: 時間標的脳深部刺激法による神経・精神疾患の制御法開発、*Brain Science Reviews*, *in press*. アドスリー
4. 吉田楓、原巧樹、竹内雄一、てんかん研究最前線: 閉ループ制御と非侵襲的脳刺激技術による新規てんかん制御法の研究開発、*BIO Clinica*, *in press*. 北隆館