

超音波ニューロモデュレーション

竹内雄一 関 和彦

はじめに

ニューロモデュレーションは、デバイスなどを介して人工的な刺激を生体に与えることで神経活動を可逆的に調節する手法である。当該技術の発達により、例えばてんかんやパーキンソン病などの神経疾患、うつ病や統合失調症などの精神疾患の薬剤抵抗性例を制御することが可能になってきた。ニューロモデュレーションのモダリティーとしてこれまで最も多く用いられてきたものは電気刺激であり、脳深部刺激 (deep brain stimulation : DBS) や経頭蓋電気刺激 (transcranial electrical stimulation : TES) として臨床で利用されている。磁気刺激も経頭蓋刺激として頻用される (transcranial magnetic stimulation : TMS)。しかしながらこれらのモダリティーには、電極刺入に伴う侵襲性、空間解像度や空間選択性の低さなどの欠点がある。そこで電気や磁気によるニューロモデュレーションの欠点を補完する新しいモダリティーとして、超音波による神経活動修飾 (超音波ニューロモデュレーション) が注目されている。その理由として、超音波が生体透過性に優れるため生体外から照射可能であること (非侵襲性)、複数の刺激素子から刺激照射を集束することで刺激焦点の高い空間解像度を実現可能であり、さらに刺激を刺激プローブから遠く離れた場所に集束することができること (空間選択性)、また様々な刺激パターンをサブミリ秒オーダーで追従可能であり、時間解像度も良好であることがあげられる。これら超音波の物理的特性を活かすことで、脳深部の神経核の非侵襲的かつ高精度刺激が可能になりつつある。一方、超音波ニューロモデュレーションは比較的新しい技術であり、まだ研究開発が十分に進んでいるとは言いがたい。今後、基礎研究としては超音波ニューロモデュレーションの詳細な作用機序解明や刺激効率を向上する工夫の開発、応用研究としてはより効果的な刺激プロトコルや高

精度な刺激集束技術の開発などが必要であろう。神経・精神疾患の症状を持続的かつ長期間制御するため、オンデマンド脳活動介入を可能にするウェアラブルデバイスの実装も望まれる。本稿では、超音波ニューロモデュレーションに関する現状の理解と当該技術の臨床応用に向けた将来展望を概説する。

中枢神経系における超音波ニューロモデュレーション

低出力の超音波刺激による神経活動の可逆的修飾は半世紀以上前に報告された。その後、超音波の集束照射技術が発達し、低出力集束超音波 (low intensity focused ultrasound : LIFU) による神経活動修飾の研究開発が進んでいる (図1)。可逆的である点が、高熱による標的組織の凝固破壊に用いられる高出力集束超音波刺激 (high intensity focused ultrasound : HIFU) とは異なる¹⁾。

1. 大脳皮質の刺激

LIFUの動物実験で最も実施されているのは、大脳皮質一次運動野の経頭蓋的刺激により、四肢や尾部に誘発される筋電図や運動の観察記録であり、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジなどで報告されている²⁾。例えば、Tufailらは麻酔下マウスの一次運動野を経頭蓋超音波刺激 (0.35 MHz, $I_{SPTA}=36.2 \text{ mW/cm}^2$) し、一次運動野に生じる活動電位 (マルチユニット記録) および上腕三頭筋などの誘発筋電図を記録した³⁾。これらの誘発反応は、大脳皮質に電位依存性ナトリウムチャネルの阻害薬であるテトロドトキシンを適応して活動電位の発生を抑制することで消失した。当該超音波刺激は、標的組織に温度上昇をほとんど生じなかった ($<0.01^\circ\text{C}$)。

ヒトにおいてもLIFUによる大脳皮質刺激実験が行われている。Legonらは、ヒトの大脳皮質一次感覚野を経頭蓋

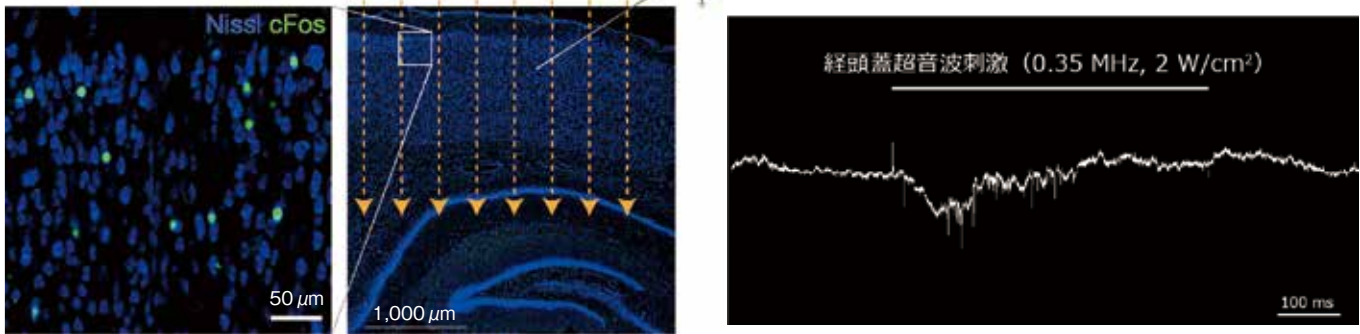


図1 経頭蓋超音波刺激によるニューロモデュレーションの例

Long-Evans ラット (4 ヶ月齢, 450~500 g) の大脳皮質 (頭頂葉) に超音波を経頭蓋照射した (中央). 超音波照射により, 刺激タイミングに同期した誘発神経活動 (右) および神経活動上昇の指標である最初期遺伝子 cFos の発現上昇が認められた (左).

的に LIFU 刺激し, 正中神経刺激による感覚誘発電位 (脳波) および二点識別覚検査成績の修飾を検討した⁴⁾. その結果, LIFU 刺激により, 頭頂部 (C3) に生じる感覚誘発電位の振幅が有意に減少した. また誘発電位のうち α , β , γ 帯オシレーション成分が有意に減少した. これら LIFU 刺激による脳活動修飾は, 刺激焦点を一次感覚野から 1 cm 吻側または尾側に移動することで消失したことから, 局所的かつ直接的な効果と考えられる. さらに当該一次体性感覚野の LIFU 刺激により, 二点識別覚検査の成績が向上した.

これらの結果は, 大脳皮質を標的とした超音波刺激により, 神経活動修飾および行動変容を惹起できることを示している.

2. 脳深部の刺激

超音波により脳深部の神経核を刺激することも可能になりつつある. 例えば Folloni らは, アカゲザルの深部脳領域を超音波で選択的に刺激できることを安静時機能的磁気共鳴画像法 (rs-fMRI) で示した⁵⁾. すなわち, Folloni らは 50 mm 以上の焦点距離を持つトランスデューサー (超音波刺激装置) を用いて, 扁桃体または前帯状皮質を経頭蓋刺激したところ, 刺激された標的脳部位は当該脳部位が参加する機能的ネットワークから一時的に独立した挙動を示した (他の脳部位との機能的結合が低下した). 超音波刺激の影響は集束照射した刺激部位に限られていたことから, 後述の聴覚・前庭系を經由した間接的作用ではなく, 直接的なニューロモデュレーション作用であろうと考えられる.

また Dallapiazza らは, 脳深部超音波ニューロモデュレーションを検討するため, 大型動物であるブタの体性感覚視床を標的にした⁶⁾. 下肢領域の体性感覚視床および三

又神経領域の視床をミリメートルの精度でそれぞれ経頭蓋超音波刺激することで, 脛骨神経および三叉神経刺激による誘発電位 (脳波) をそれぞれ特異的かつ可逆的に抑制できることを示している.

3. 安全性

上述の超音波ニューロモデュレーション (LIFU) の刺激強度・刺激パターンは, 組織温度をほとんど上昇させないことが示されている^{3,6)}. また刺激部位に活動電位を誘発する程度の刺激強度・刺激パターンでは, 血液脳関門へのダメージ, 細胞死, シナプスなどの微細構造変化を生じないことも示されている³⁾.

4. 効果的な刺激パラメーター

King らは, 麻酔下マウスを用いて経頭蓋超音波刺激で誘発される前肢の筋電反応を指標に, 効果的な超音波刺激パラメーターを探索した⁷⁾. 予想されるように, 刺激強度が大きいくほど (0~16.8 W/cm²), また刺激時間が長いほど (0~320 ms), 筋電反応を生じる確率が高いことがわかった. また周波数に関しては, 0.2~0.6 MHz の範囲において, より小さい周波数で反応率が高かった. Ye らは同様の実験系において, より高い周波数 (1 MHz 以上, 0.3~2.9 MHz) の超音波刺激を検討した⁸⁾. その結果, 1.0 MHz 以上の周波数の刺激で当該筋電反応を得るためには, より強いエネルギーが必要であることが明らかになった.

異なる超音波刺激のパターンを用いることで, 興奮性および抑制性の神経細胞を選択的に刺激することも可能である. Yu らは, 興奮性神経細胞と抑制性神経細胞は経頭蓋超音波刺激への周波数特性が異なると報告した⁹⁾. すなわち, 0.5 MHz の超音波刺激を短い間隔 (interstimulus interval) (3,000 Hz) で与えると興奮性神経細胞が興奮

し、より長い間隔 (30 Hz) で与えると抑制性神経細胞が興奮した。筆者らは興奮性神経細胞と抑制性神経細胞のこの超音波刺激への周波数特性の違いは、音響放射力への反応性の違いではないか、と推察している。その違いは細胞種による細胞膜に発現するイオンチャネルの種類や細胞膜における分布の違い、さらに樹状突起や軸索の形態や向きの違いによる可能性がある、と考察している。多様な神経細胞種における超音波刺激への応答性の相違とその背景機構が明らかになれば、超音波刺激法は神経科学および脳神経疾患治療研究における強力なツールになる。

5. 聴覚・前庭経路を介した神経活動修飾

超音波刺激により一次体性感覚野や一次視覚野など非聴覚系大脳皮質で観察される神経活動修飾が、内耳-聴覚経路を介した間接的な反応であるという報告が、げっ歯類を用いた実験で2018年に報告された^{10,11)}。げっ歯類はヒトより可聴域が広く、20 kHz以上の超音波も知覚できるため、特にげっ歯類で比較的低い周波数 (0.5 MHz以下) の超音波刺激を用いた *in vivo* 実験を行う場合は、観察される現象が聴覚・前庭経路を介した間接的な反応である可能性を常に念頭に置く必要がある。さらにげっ歯類以外においても、聴覚刺激による間接的な影響を完全に否定することは困難である。したがって、例えばヒトなどを対象とした研究の場合、聴覚応答と超音波応答を注意深く比較するなどの検証実験が必要かもしれない。一方、動物実験の場合は、例えば物理的、化学的、または遺伝的に聴覚・前庭経路を障害しても、対象とする現象 (超音波ニューロモデュレーション) が観察されるか確認することが必要である⁹⁾。

末梢神経系における超音波ニューロモデュレーション

超音波ニューロモデュレーションは中枢神経系に限ったものではなく、末梢神経系の活動修飾にも用いることができる¹²⁾。末梢神経系と中枢神経系との違いの一つは、末梢には内因性の機械受容器が存在することである。例えば、Legonらはヒトの指先への超音波刺激が末梢機械受容器を介して体性感覚経路を特異的に活性化することを、脳波記録およびfMRI記録で示した¹³⁾。その他、実験動物を用いた検討により、超音波刺激で迷走神経の刺激 (vagus nerve stimulation: VNS)、脛骨神経刺激を介した排尿機能の調節、自家移植神経刺激を介した神経再生の促進、および網膜神経細胞の直接活性化が可能であることが報告されている¹²⁾。

超音波ニューロモデュレーションの作用機序

ここまで *in vivo* における超音波ニューロモデュレーションの例を示した。 *In vitro* や *ex vivo* の系においても、超音波による神経活動修飾が報告されている¹⁴⁾。それでは超音波はどのように神経細胞に膜電位変化さらに活動電位を生じるのであろうか。現在、考えられている作用機序はおおよそ下記の3カテゴリーに分類できる¹²⁾。おそらくこれらの複合的機構で神経興奮が生じるのであろう。

1. 機械刺激感受性イオンチャネルを介した一次作用 (mechanical bioeffect)

細胞膜にかかるせん断応力によって開口するチャネルなどにより、膜コンダクタンス変化 (ΔG_m) が生じる機構である。すなわち、チャネル分子そのものが機械刺激をコンダクタンス変化に変換する機構を有している。超音波感受性を有するチャネルとして、機械受容チャネル (mechanosensitive channels)、Piezoチャネル、TRPチャネル、2回膜貫通型カリウムチャネルの一部などが報告されている¹⁵⁾。

2. 脂質二重膜への一次作用を介した二次作用 (mechano-electric effects)

まず超音波により細胞膜が穿孔され (sonoporation)、細胞内外の電気化学勾配に従って当該孔を介した膜電流が生じ、膜電位変化 (ΔV_m) を惹起する。また超音波によって細胞膜を形成する脂質二重膜間に隙間 (bilayer sonophore) が生じ、このため膜容量変化 (ΔC_m) が生じて、容量電流を発生する。その結果、膜電位変化 (ΔV_m) が生じる。この膜電位変化により電位依存性ナトリウムチャネルや電位依存性カルシウムチャネルが開口して、膜コンダクタンスが上昇し (ΔG_m)、脱分極および活動電位が発生する。

3. その他の作用

超音波のエネルギーが組織温度を上昇すると、神経細胞の興奮性が変化する。しかしながら、低出力超音波 (LIFU) は組織温度をほとんど変化させないため、この作用の寄与は小さいであろう^{3,6)}。また超音波刺激は神経細胞のみならず、グリア細胞も活性化する¹⁴⁾。最近、超音波刺激による神経細胞の活動修飾がグリア細胞を介する可能性が報告された¹⁶⁾。Ohらによると、超音波刺激によりまずアストロサイト膜上のTRPA1チャネルが開口し、アストロサイトが活性化する。その後、活性化したアストロサイトからグルタミン酸がグリオトランスミッターとして放出され、NMDA型グルタミン酸受容体を介して神経細胞が活性化する¹⁶⁾。

臨床応用の展望

頭蓋超音波刺激法の臨床応用においては、Sunnybrook 研究所（カナダ・トロント）の Kullervo Hynynen 博士のグループを筆頭とする HIFU が日本でも普及しているが、LIFU を用いたニューロモデュレーションの臨床応用はまだ実現していない。TMS などがすでに精神疾患の治療に用いられている点から考えても、より深部まで空間解像度高く刺激ができる LIFU の臨床応用への期待は大きい。それでは超音波ニューロモデュレーションの臨床応用に向けて、今後進めるべき研究開発は何であろうか。ここでは、筆者らが重要と考える技術を紹介・概説する。

1. 超音波刺激の集束精度の向上

超音波で脳深部に位置する神経核を非侵襲的かつ正確に標的するためには、頭蓋外照射した超音波エネルギーを任意の頭蓋内空間に高精度に集束する技術が必要である。この目的のため、筆者らは複数の刺激素子を集積したアレイから、それぞれの素子における刺激の位相を制御することで刺激焦点を制御する試みを行っている¹⁷⁾。頭蓋骨の形や厚み、密度には個人差があるため、CT (computed tomography) などのデータを元に位相制御による刺激集束を個人に合わせたチューニングするシステムを開発する必要がある。

2. 刺激装置のウェアラブル化

てんかん発作や精神疾患の症状制御を目的にする場合、介入治療が長期間におよぶため、生体シグナルを持続的にモニターして閉ループ制御により必要な瞬間にのみ介入治療を行うオンデマンド脳活動介入を行うことで、正常脳機能を司る脳活動への介入に伴う副作用を最小限にすることが望ましい¹⁸⁾。オンデマンド脳活動介入のためには超音波刺激素子を小型化することで、ウェアラブルデバイスまたは埋め込みデバイスとして実装する必要がある。CMUTs (capacitive micromachined ultrasonic transducers) や PMUTs (piezoelectric micromachined ultrasonic transducers) などの超小型超音波素子を利用することで、デバイスの小型化が推進できる¹²⁾。

3. マイクロバブルを利用した刺激効率の向上

超音波ニューロモデュレーションの刺激効率は、現状電気刺激や磁気刺激に比べると小さい。実際、上述の研究の多くは、他の要因で誘発された神経活動の修飾例であり、超音波自体が神経細胞を安静状態から活動状態に推移させた報告は少ない。この点を補うため、超音波造影剤などとして用いられるマイクロバブル（微小気泡）を介して超音

波の機械刺激エネルギーを増幅することで、超音波ニューロモデュレーションの短所である刺激効率を向上することが可能になりつつある¹⁹⁾。筆者らの研究においても、この方法によって、LIFU による運動誘発の閾値の低下を認めている（未発表資料）。将来的には、様々な特性のマイクロバブルの開発により、音波強度とマイクロバブル特性の両方によって、標的や目的に合わせたより細かな刺激効率制御の実現が期待される。

4. マイクロバブルを介した血液脳関門の一次開放とドラッグデリバリー

前述のマイクロバブルを静脈投与し、脳血管に達した際に超音波を中程度の強度で照射してマイクロバブルを拡張-収縮させると、マイクロバブルが血管内皮細胞間のタイトジャンクションを押し広げるため、血液脳関門を一時的に開放することができる^{1,20)}。当該技術により、ペプチドや抗体など通常血液脳関門を通過しない物質を任意の脳部位にデリバリーできるため、脳腫瘍治療などの臨床応用が始まっており、例えば神経変性疾患治療などへの期待も高まっている。一方、ニューロモデュレーションという観点からもこの方法は有用である。例えばマイクロバブルやリポソームナノ粒子に薬物や核酸を封入することが可能であり、超音波照射により任意のタイミングで封入した物質をアンケーシングして放出することができる¹⁹⁾。パントバルビタールやプロポフォールなど神経活動を抑制する薬物を封入したナノ粒子を用いることで、神経活動の抑制を行うことも可能である。

一方、血液脳関門の一時的な開放には HIFU が使われることが多く、適切な照射パラメーターを選択しないと血液脳関門が熱などにより破壊される危険性もある。そのため現状では MRI 装置で照射部位の温度変化を精密に測定しながら、超音波照射を行う方法が臨床場面ではもっぱら用いられている。しかしこれらの装置は高価であり、より安価で安全な血液脳関門の開放技術の確立が求められている。

5. 超音波遺伝学 (sonogenetics)

超音波感受性の機能性分子（イオンチャネルなど）を任意の神経細胞に導入することで、標的神経細胞の活動を超音波で操作する試みが行われている¹⁵⁾。線虫では超音波遺伝学刺激により個体レベルの行動変容が報告されているが、哺乳類ではまだ細胞レベルの検討に留まる。遺伝子導入の必要があるため臨床応用の可能性は未知数であるが、注目に値する技術であろう。

おわりに

超音波ニューロモデュレーションの現状と将来展望について概説した。特に脳深部の神経核を非侵襲的に刺激できる点は、電気刺激や磁気刺激の欠点を補完するため重要である。ウェアラブルな超音波ニューロモデュレーション装置の実装と生体シグナルの実時間処理を組み合わせた、オンデマンド脳活動介入法の実現にも期待したい。筆者らは、超音波ニューロモデュレーションによる脳疾患の制御やモデル動物の作製を目的に、げっ歯類や霊長類を対象に研究を行っている。特に、病態時特異的な脳活動にオンデマンドに刺激介入することで、神経疾患・精神疾患の症状をリアルタイム制御する技術を研究開発している¹⁸⁾。興味を持たれた方は是非連絡されたい。

謝辞

本研究は、科研費(18KK0236, 19H03550, 19H05224, 20K20642), AMED ムーンショット型研究開発事業(JP21zf0127004), AMED 脳科学研究戦略推進プログラム(17dm0107113h0002), 日本神経回路学会, 武田科学振興財団, 鈴木謙三記念医科学応用研究財団, 上原記念生命科学財団および「大阪市ふるさと寄付金」を財源とした「グローバル人材育成事業」の助成を受けた。

文献

1. Meng Y, Hynynen K, Lipsman N. Applications of focused ultrasound in the brain : From thermoablation to drug delivery. *Nat Rev Neurol*. 2021 ; 17 : 7-22.
2. Gulick DW, Li T, Kleim JA, et al. Comparison of electrical and ultrasound neurostimulation in rat motor cortex. *Ultrasound Med Biol*. 2017 ; 43 : 2824-33.
3. Tufail Y, Matyushov A, Baldwin N, et al. Transcranial pulsed ultrasound stimulates intact brain circuits. *Neuron*. 2010 ; 66 : 681-94.
4. Legon W, Sato TF, Opitz A, et al. Transcranial focused ultrasound modulates the activity of primary somatosensory cortex in humans. *Nat Neurosci*. 2014 ; 17 : 322-9.
5. Folloni D, Verhagen L, Mars RB, et al. Manipulation of subcortical and deep cortical activity in the primate brain using

- transcranial focused ultrasound stimulation. *Neuron*. 2019 ; 101 : 1109-16. e5.
6. Dallapiazza RF, Timbie KF, Holmberg S, et al. Noninvasive neuromodulation and thalamic mapping with low-intensity focused ultrasound. *J Neurosurg*. 2017 ; 128 : 875-84.
7. King RL, Brown JR, Newsome WT, et al. Effective parameters for ultrasound-induced in vivo neurostimulation. *Ultrasound Med Biol*. 2013 ; 39 : 312-31.
8. Ye PP, Brown JR, Pauly KB. Frequency dependence of ultrasound neurostimulation in the mouse brain. *Ultrasound Med Biol*. 2016 ; 42 : 1512-30.
9. Yu K, Niu X, Krook-Magnuson E, et al. Intrinsic functional neuron-type selectivity of transcranial focused ultrasound neuromodulation. *Nat Commun*. 2021 ; 12 : 2519.
10. Guo H, Hamilton M, Offutt SJ, et al. Ultrasound produces extensive brain activation via a cochlear pathway. *Neuron*. 2018 ; 98 : 1020-30. e4.
11. Sato T, Shapiro MG, Tsao DY. Ultrasonic neuromodulation causes widespread cortical activation via an indirect auditory mechanism. *Neuron*. 2018 ; 98 : 1031-41. e5.
12. Tyler WJ, Lani SW, Hwang GM. Ultrasonic modulation of neural circuit activity. *Curr Opin Neurobiol*. 2018 ; 50 : 222-31.
13. Legon W, Rowlands A, Opitz A, et al. Pulsed ultrasound differentially stimulates somatosensory circuits in humans as indicated by EEG and fMRI. *PLoS One*. 2012 ; 7 : e51177.
14. Tyler WJ, Tufail Y, Finsterwald M, et al. Remote excitation of neuronal circuits using low-intensity, low-frequency ultrasound. *PLoS One*. 2008 ; 3 : e3511.
15. Wang S, Meng W, Ren Z, et al. Ultrasonic neuromodulation and sonogenetics : a new era for neural modulation. *Front Physiol*. 2020 ; 11 : 787.
16. Oh SJ, Lee JM, Kim HB, et al. Ultrasonic neuromodulation via astrocytic TRPA1. *Curr Biol*. 2019 ; 29 : 3386-401. e8.
17. Kobayashi Y, Azuma T, Shimizu K, et al. Development of focus controlling method with transcranial focused ultrasound aided by numerical simulation for noninvasive brain therapy. *Jpn J Appl Phys*. 2018 ; 57 : 07LF22.
18. Takeuchi Y, Berényi A. Oscillotherapeutics Time-targeted interventions in epilepsy and beyond. *Neurosci Res*. 2020 ; 152 : 87-107.
19. Lea-Banks H, Meng Y, Wu S-K, et al. Ultrasound-sensitive nanodroplets achieve targeted neuromodulation. *J Control Release*. 2021 ; 332 : 30-9.
20. Omata D, Hagiwara F, Munakata L, et al. Characterization of brain-targeted drug delivery enhanced by a combination of lipid-based microbubbles and non-focused ultrasound. *J Pharm Sci*. 2020 ; 109 : 2827-35.