

氏名	うえの あやこ 上野 彩子
研究科、専攻	東北大学大学院情報科学研究科（博士課程）応用情報科学専攻
学位論文題目	波形制御された細胞外電気刺激による選択的神経線維動員法の基礎的研究

論文内容の要旨

第1章 序論

細胞外電気刺激法は、細胞の外に配置した電極から電気刺激を与えることで細胞を電氣的に興奮させる方法である。刺激のオンとオフを瞬時に切り替えられることや、薬剤投与と異なり洗い流す必要がないことなどといった簡便さから、電気生理学のみならず神経の伝導速度の検査や脳外科手術といった臨床医療においても幅広く利用されている。通常、電気刺激法では単一または双極の矩形波が用いられるが、これらの波形によっては電極と神経線維との距離や、神経線維の直径に対して選択的に刺激を行うことができないという問題があった。

これまでに、末梢神経系では刺激波形の時間波形を制御することで有髄神経線維の太さや電極からの距離に対して選択的な刺激が可能であることが示唆されてきた。しかし先行研究では、詳細な神経線維の応答パターンが調べられておらず、メカニズムの説明が充分でないという問題がある。また、選択性は電極と神経線維との距離および神経線維の直径の双方に依存するにもかかわらず、片方の選択性のみの議論にとどまっている。すなわち、特定の神経線維を選択的に刺激するためにパラメータの決定方法が示されていないこと、刺激の精度や能力の限界が不明であることなど、実用化には非常に多くの問題が残されている。

本研究では、従来の研究で調べられてきた神経線維が興奮するかしないかだけでなく、神経線維応答のパターンを分類し、各パターンをそれぞれ一つの相とみなして、電極と神経線維との距離や神経線維の直径といったパラメータ空間上に各相をマッピングした二次元相図（状態図）を作成する。この相図に基づいて刺激パラメータの決定法を示すとともに、選択的刺激法の精度と能力の限界を明らかにする。また、これまで研究が行われてこなかった中枢神経系に対してもシミュレーションで選択的刺激法の適用を試みるとともに、一部のシミュレーション結果については生体組織標本を用いた実験的検証を行う。

以上より、詳細な神経線維応答に基づいて設計された選択的刺激法が機能的電気刺激法の性能向上や脳外科手術支援に有用であることを示す。

第2章 研究の背景と目的

まず、神経電気刺激法の臨床応用の例として、末梢神経系では機能的電気刺激、中枢神経系では脳外科手術の際の皮質下マッピングを取り上げ、その問題点を説明する。

機能的電気刺激は、脊髄損傷などで運動機能が損なわれた患者に対し、残存している運動神経を電氣的に刺激することで運動機能を再建する医療技術である。しかし、疲労、痛みおよび痺れなどの不快感が引き起こされるという問題がある。

脳腫瘍治療のための外科手術では、患者の QOL (Quality of life) を損なわないために運動や言語などの高次機能を司る領域間の神経連絡を温存する必要がある。そのため、術中に組織表面から電気刺激を与え、その応答をモニタリングすることで、皮質下の線維の位置推定が行われる（皮質下マッピング）。しかし、既存の電気刺激法は神経線維の位置推定に最適化されておらず、電極と線維との距離を刺激応答から推定することは困難であるという問題がある。

これらの技術では、通常単一または双極矩形波が用いられる。矩形波によっては主に電極近傍の神経線維や直径の太い神経線維が刺激される傾向があると考えられているため、対象を選択的に刺激するには、電極を刺激対象のごく近傍に配置し、小さな振幅で刺激を行う必要がある。刺激対象を変更する場合は電極を対象近傍に移動する必要がある。

刺激電極を動かさずとも刺激パラメータの調整によって、電極から離れた位置にある神経線維を選択的に刺激したり、その対象をダイナミックに変更したりできれば、電気刺激の機能・効果を

は著しく高まると考えられる。

これまでに末梢神経系においては、刺激波形の制御により刺激電極との距離や神経線維直径に対して選択的な動員ができるという報告がある。ところが神経線維の応答パターンが調べられていないため、選択的刺激のメカニズムの全体像は明らかにされていない。また、選択性が電極—神経線維間の距離と神経線維直径の双方に依存するにもかかわらず、片方のパラメータ依存性しか調べられていないため、選択性の性能と限界は明らかではない。

そこで、第3章においては末梢神経系の選択的刺激の背景にあるメカニズムを理解するために、神経線維の応答パターンを一覧できるような形式で表示するとともに、動力学的観点から説明を与える。

第4章では、末梢神経における選択的刺激の応用例として、機能的電気刺激を志向した末梢神経束刺激を取り上げる。神経線維の応答特性に基づき刺激の時空間パターンを制御することにより、神経線維の位置に依存せず直径選択的な動員を可能にする刺激法を提案する。

第5章では、中枢神経系でも選択的神経線維動員が可能かどうか明らかにするとともに、選択的動員法を脳外科手術支援のために利用することを提案する。従来の脳腫瘍摘出手術と先端的なレーザーアブレーション手術において、皮質下マッピングに有用な波形を提案する。一部のシミュレーション結果について実験的検証を行うために、脳スライス標本に電気刺激を与えたときの応答を神経活動イメージングによって観察する。

第3章 微小電極による末梢有髄神経刺激のシミュレーション（発表文献[4-6]）

微小電極から与えた電気刺激に対する神経線維の応答パターンを明らかにし、選択的動員法のメカニズムを理解するために、従来の電気刺激法である矩形波単一パルス刺激、および Grill らによる2発の矩形波を上り階段状に組み合わせた刺激（上り階段刺激）について、ウサギの末梢有髄神経線維の数理モデルの応答を網羅的にシミュレーションした。これにより、パラメータ空間における応答特性の二次元的な相図を作成した。

その結果、矩形波単一パルス刺激では、電極近傍の神経線維が陽極解放興奮となるために距離選択的な動員はできなかった。上り階段刺激では、電極近傍の神経線維が陽極解放興奮を呈することに加え、1発目のパルスによっても神経線維が動員されるため、距離選択的な動員は実現できなかった。

上り階段刺激の1発目のパルスを取り除いて選択性を高めるとともに、電極近傍の神経線維の陽極解放興奮を回避するため、刺激の後に小さな振幅のパルスを付け加えた下り階段刺激を考案した。下り階段刺激によっては、電極近傍の神経線維の陽極解放興奮が抑制され、距離選択性が高まることが分かった。

下り階段刺激により陽極解放興奮が抑制されるメカニズムについて動力学的観点から説明するために、電極最近傍ノードおよびその隣接ノードの膜電位を軸とした位相面での軌道を解析した。その結果、位相面上に鞍点様の構造があるために、下り階段刺激の2発目のパルスの振幅の調整により陽極解放興奮を回避できることを明らかにした。

第4章 多極カフ電極による末梢神経束刺激のシミュレーション（発表文献[3]）

末梢神経束の機能的電気刺激では、疲労感や不快感などの副作用が問題となる。矩形波の電気刺激は専ら電極近傍の線維や直径の太い線維を動員してしまい、神経線維の機能に対し選択的な動員ができないことが原因であると考えられている。

神経線維の直径はその機能と関連しているため、神経束内部での位置に関わらず特定の太さの神経線維を選択的に動員できれば、機能選択的な動員が可能となり、副作用の低減が期待できる。

先行研究では刺激波形の制御により直径選択的な動員が試みられてきた。ところが、直径選択性と距離選択性が互いに関連しているため、波形を制御すると双方の選択性が同時に変化するという問題があった。

そこで神経線維の位置に依存しない直径選択的な動員の可能性を検討するために、円柱状の神経束内部にウサギの末梢神経の数理モデルを配置し、神経束を単極および三極のリング状電極で刺激したときの神経線維応答をシミュレーションした。

直径選択的な動員可能な刺激パラメータの決定方法を見つけるために陰極興奮および陽極ブロックが生じる閾値を調べたところ、これらは電極間隔に依存していた。この閾値を用いて、ター

ゲットが陰極興奮，細い神経線維が閾値以下応答，太い神経線維が陽極ブロックとなるよう電極間隔および刺激強度を決定した．決定されたパラメータで刺激を与えたときの神経線維の応答をシミュレーションすることで，このパラメータ決定法の有用性を明らかにした．

動員特性の位置依存性と直径選択性を調べるために，神経束内部での神経線維の位置および神経線維直径を軸として，神経線維の応答パターンを二次元相図の形式で表示した．その結果，神経束の中心付近では応答特性は神経束内部での位置に依存しないことがわかった．

神経線維の位置に依存せず直径選択的に動員可能なメカニズムを明らかにするために，電気刺激がつくる細胞外電位の二階差分を描画した．これにより，二階差分は神経束内部での位置依存性が低いことから，動員性能が位置にあまり依存しないことがわかった．また，二階差分に陰極興奮と陽極ブロックの閾値があること，および直径依存性があることが直径選択的動員を可能にすることを明らかにした．

第5章 ディスク型電極による中枢神経刺激のシミュレーション（発表文献[1,2]）

脳腫瘍治療のための外科手術においては，皮質間を連絡する重要な線維を障害しないために，手術法に合わせて様々な措置が講じられる．例えば，開頭を伴う従来の外科手術では，組織表面から電気刺激を与えて応答をモニタリングすることで電極と神経線維との距離を推定する皮質下マッピングが実施される．低侵襲な手法であるレーザーアブレーション法は，リアルタイム MR 画像を参照しながら腫瘍にレーザープローブを挿入し，その照射熱で腫瘍を凝固する方法であるが，MR 画像をもとに神経線維の走行を推定することがある．

神経線維の走行の推定には，線維そのものの応答を観察可能な皮質下マッピングが望ましいと考えられる．そのためレーザーアブレーションでも皮質下マッピングを実施する必要があると考えられる．

しかし，現行の皮質下マッピングでは，応答から電極と神経線維の距離を推定することは困難である．もし中枢神経系でも神経線維の位置に選択的な動員ができれば，皮質下マッピングに有用であると考えられるが，中枢神経系の選択的動員法は報告がなかった．

そこで，5.2 節では脳腫瘍摘出手術で実施される皮質下マッピングに適した波形を提案するために，ヒトの頭部の一部を模擬した容積導体モデルの白質中にヒト有髄神経線維モデルを配置し，ディスク型の電極から電気刺激を与えたときの応答をシミュレーションした．

従来の双極性矩形波刺激を神経線維に与えたところ，陽極性パルスによって距離に非選択的な動員が生じるため，選択性が悪くなることがわかった．そこで陽極性パルスの振幅を小さく設定するために，二つの指数関数により表現される二重指数関数波形を考案した．

二重指数関数波形を与えた場合では電極と神経線維との距離に選択的な動員が可能であることがわかった．また，刺激強度を変えると動員される神経線維の深さが変化するので，応答から距離を推定できることが明らかになった．提案波形が皮質下マッピング支援に有用であることが示唆された．

5.3 節では，レーザーアブレーション法の安全性を高めるため，プローブ先端にディスク型電極を取り付け，皮質下マッピングを実施することで位置調整を支援することを提案した．プローブの刺入により細い神経線維が刺激されると考えたため，細い神経線維に対して高い選択性を有する波形として，三角波とバースト波（閾値下前刺激，Conditioning Stimuli, CS）を矩形波に先行して配置する波形を考案した．

従来の双極矩形波刺激と陰極性刺激に先行して CS を入力する刺激とで動員特性を比較するために，ディスク型電極からヒト有髄神経線維モデルを刺激したときの応答をシミュレーションした．その結果，CS が双極性矩形波刺激よりも距離および直径選択性を同時に著しく高めることを示した．

CS が選択性を高めるメカニズムは，CS により電極近傍ノードのカリウムチャネルが開き，漏れ電流が増えるために陽極ブロックが生じやすくなるためであることを明らかにした．

5.4 節では，シミュレーションによって予見された CS による動員抑圧を実験的に検証するために，視床皮質スライス標本に電気刺激を与えたときの応答を，自家蛍光を利用した神経活動イメージングによって観察した．電気刺激は視床および皮質を連絡する神経線維が通過している線条体に与え，神経線維の投射先である大脳皮質での応答を観察した．その結果，CS を与えた場合は大脳皮質での応答が有意に減弱した．

これは陽極ブロックが中枢神経線維でも生じる可能性を初めて示唆した結果であると考えられる。陽極ブロックが生じているかどうかは細胞内記録などにより確かめる必要があるため、さらなる実験的検証が課題である。

第6章 結論

本研究では、末梢神経系および中枢神経系において細胞外電気刺激によって神経線維を選択的に動員するための方法を開発するために、様々な波形で電気刺激を与えたときの有髄神経線維の応答をシミュレーション解析した。また一部の結果については生体組織を用いた実験的検証を試みた。これにより、神経線維の応答パターンに基づいて設計された選択的動員法が機能的電気刺激法の性能向上や脳外科手術支援に有用であることを示した。

発表文献

- 1 Ayako Ueno, Norihiro Katayama, Akihiro Karashima, Mitsuyuki Nakao, Targeted subcortical nerve recruitment by controlling the waveform of electrical stimulation for MRI-guided surgical ablation, *Advanced Biomedical Engineering*, Vol.3, pp.139-146, 2014.
- 2 Ayako Ueno, Norihiro Katayama, Akihiro Karashima, Mitsuyuki Nakao, Development of distance-selective nerve recruitment for subcortical brain mapping by controlling stimulation waveforms, 35th Annual IEEE EMBS, Proc of IEEE, pp. 1879-1882, 2013.
- 3 Ayako Ueno, Norihiro Katayama, Akihiro Karashima, Mitsuyuki Nakao, Improvement of diameter selectivity in nerve recruitment using multi-cuff electrodes, *Advanced Biomedical Engineering*, Vol. 1, pp. 36-42, 2012.
- 4 Ayako Ueno, Norihiro Katayama, Akihiro Karashima, Mitsuyuki Nakao, Suppression of anodal break excitation by electrical stimulation with down-staircase waveform for distance-selective nerve recruitment, 34th Annual IEEE EMBS, Proc of IEEE, pp. 211-214, 2012.
- 5 上野彩子, 片山統裕, 辛島彰洋, 中尾光之, “階段状波形を有する細胞外電気刺激に対する有髄神経線維モデルの時空間ダイナミクス”, *生体医工学*第 49 卷 6 号, pp. 896-903, 2011.
- 6 Ayako Ueno, Norihiro Katayama, Akihiro Karashima, Mitsuyuki Nakao, Parameter exploration of staircase-shape extracellular stimulation for targeted stimulation of myelinated axon, 33rd Annual IEEE EMBS, Proc of IEEE, pp. 912-915, 2011.