

〔論文〕

磁気刺激を用いたヒト脳・神経機能解明に関する研究

松田 鶴夫*

Research of the Human Brain and nerve Function
by using a method of magnetic Stimulation

Tsuruo MATSUDA

Abstract:

The technique of magnetic stimulation has been applied to studies on the human brain and neurological research. By using this method, we could obtain the EEG, EMG and Blood flow responses, corresponding the stimulation of the human brain, forearms and the legs. In this paper survey the 10 years history and a view of my research on Kurume Institute of Technology.

Keywords: magnetic stimulation, figure-of-eight coil, EEG response, Blood Flow, Ischemic precondition, Action potentials

キーワード: 磁気刺激, 8字コイル, 脳波応答, 血流, 虚血耐性, 神経活動電流

1. はじめに

ヒト脳神経を解明する手法として、電気的刺激を印加し応答を観察する、いわゆる電気刺激法が従来多く用いられている。これに対して、比較的低侵襲かつ簡便なヒト脳神経刺激法として、磁気刺激法がヒト脳神経機能解明の新しい手法として注目されている。本手法は、研究の為の一手法としてのみならず、医療の現場においても、苦痛を与えることが殆ど無い状態で被験者の脳神経機能等の検査を可能とするものである。また、各種運動性あるいは感覚性疾患に対して機能回復の補助的手段となる可能性も合わせ持つ。

久留米工業大学では平成9年度より平成13年度まで文部省（当時）ハイテクリサーチセンタプロジェクトに認定され、『磁気刺激による脳機能解明とその応用』のタイトルで研究を行った。その結果、幾つかの知見と研究結果を得ることができた。本稿ではこれらについて概観するとともに、今後の私の研究展望について記す。

2. 磁気刺激による脳波応答導出

2.1 背景

近年、脳神経の機能解明における低侵襲な刺激法として、磁気刺激法が用いられている。磁気刺激法とは、図1に示すような刺激用コイルにパルス電流を印加し強磁場を発生させ、この磁場により生体内に誘導される渦電流（誘導電流）を用いて、脳神経等を刺激する手法であり⁽¹⁾、電気刺激のような皮膚痛覚を伴わない刺激を行える利点がある。しかしながら、磁気刺激を行う際には、特に Ueno 等が提案した8字コイルを用いる場合、コイルの持つ基本的な特性（ベクトル特性）や、コイルに印加する電流波形形状による刺激効果の違いを考慮する必要がある。本研究室では、8字コイルを用いたヒト神経系への磁気刺激により、幾つかの興味深い結果を得ている。例えば、8字コイルを用いることでヒト大脳皮質運動野をおよそ5 mmの分解能で刺激可能であることや⁽²⁾、末梢筋に対して連続パルスを用いた磁気刺激を行いながら、頸部に対して単発パルス刺激を行い、末梢筋の応答

* 情報ネットワーク工学科
平成18年4月13日受理

について検討した結果、短潜時と長潜時の複合する筋電図応答を確認することができた⁽³⁾。このように磁気刺激法は、主に中枢神経系から末梢筋、あるいは血管系⁽⁴⁾の応答観察を行う、いわゆる“順方向刺激”に適した手法である。

これとは逆に、末梢神経に対して磁気刺激を行い、脳波応答等を検討する、いわゆる“逆方向刺激”については、磁気刺激時に生じる強電界に起因する、脳波応答へのアーティファクト混入や基線変動を誘因する事になる。故に磁気刺激を用いた脳波応答の検討は著しく困難であった。本研究室では、前述した困難を克服する手法について検討を行い、“逆方向刺激”も検討可能な実験システムを構築し、磁気刺激による脳波導出の可能性を見出した⁽⁵⁾⁽⁶⁾。これらを使用して磁気刺激による脳波導出を試みた結果、興味深い結果を求めることができた。

2.2 磁気刺激による脳波測定システムについて

本研究室で使用する脳波測定システムを図2に示す。被験者および連続磁気刺激装置 (Repetitive Magnetic Stimulator, AAA-15110, 日本光電, 以下, R.M.S.) 等は、全て電気シールドルーム内に配置し、脳波情報は EEG 入力箱 (JE-425A, 日本光電) を介して、シールドルーム外の脳波測定装置 (AAA-15114, 日本光電, 以下 NeuroFax) へ導出される。被験者にはエレクトロキャップ (ECI-2, Electro-Cap International Inc.) を装着し、国際10-20法に基づき脳波導出を行った。脳波情報の計測ならびに解析処理には EEG FOCUS (QP-211A, 日本光電) を用いた。また、各種刺激装置の刺激タイミング等の制御は PowerMacintosh (8100/100, Apple Computer), ならびに本研究室で開発した制御プログラム (LabVIEW 使用による開発, National Instruments 社製) を用いた。さらに、磁気刺激による脳波導出を安定に行う為に、磁気刺激トリガパルスを用意的に遅延させて汎用脳波計の EEG 入力箱を制御する手法 (以下、遅延導出法) を提案し、同上の目的のために、外部付加回路として Pulse Control Box (以下, P.C.Box) を試作した。本 P.C.Box の試作により, NeuroFax の大幅な改造・変更等を行うことなく、ソフトウェアの若干の変更のみで対応可能とした。これにより、従来まではアーティファクトの混入により困難であった磁気刺激による脳波応答の計測を可能にした⁽⁷⁾。

2.3 実験方法ならびに末梢神経磁気刺激による脳波導出例について

前述した脳波測定システムを用いて、健康な成人男性

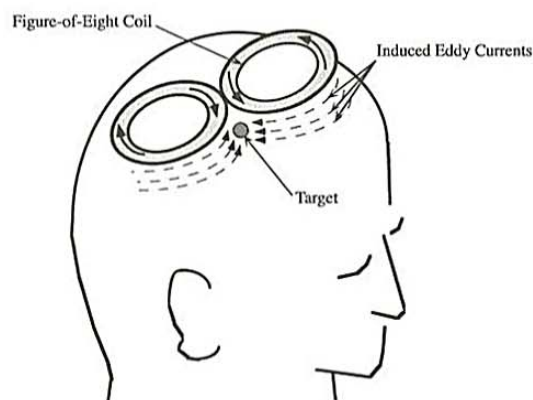


図1 8字コイルを用いたヒト大脳への磁気刺激

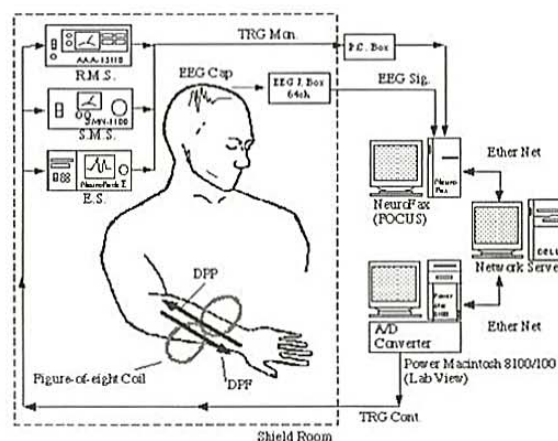


図2 磁気刺激による脳波・筋電図測定システム

表1 磁気刺激による脳波計測タスク

	Magnetic Flux Density (T)	Stim. Direction (DPP or DPF)	Stim. Location (Left or Right forearm)
Task A	0.68	DPP	L
Task B	0.68	DPP	R
Task C	0.45	DPF	L
Task D	0.45	DPF	R
Task E	0.45	DPP	L

磁気刺激条件 (Mono Phase, 強度: 0.45T, 0.68T, 刺激方向: 求心性刺激 (DPP), 遠心性刺激 (DPF), 刺激部位: 左前腕 (L), 右前腕 (R))

1名 (被験者B, 26歳) を用いて、十分なインフォームドコンセントのもとに実験を行った。被験者の左前腕部ならびに右前腕部の正中神経直上に8字コイルを配置し、末梢神経磁気刺激による脳波応答を導出した。磁気刺激の間隔は10秒とし、刺激強度は出力40% (0.45T) ならびに出力60% (0.68T) とした。磁気刺激パルス形状は MonoPhase を用いた。また、体内に流れる刺激電流の方

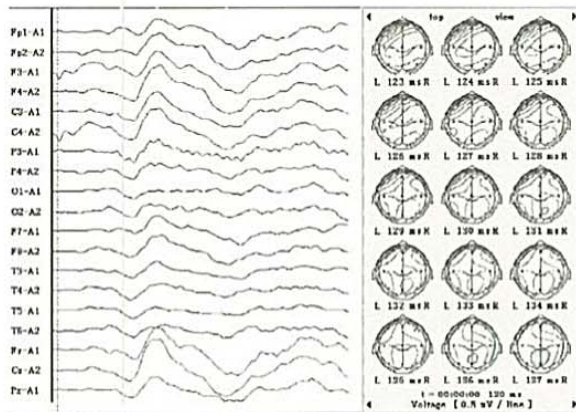
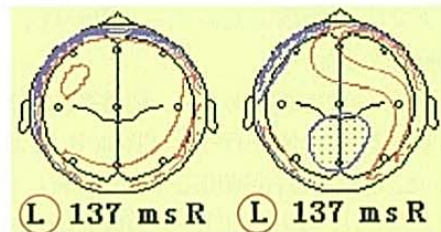


図3 Task A 実験結果 (0.68T, 求心性刺激, 左前腕刺激)

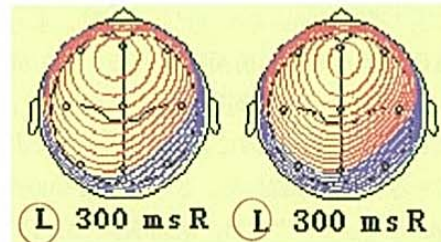
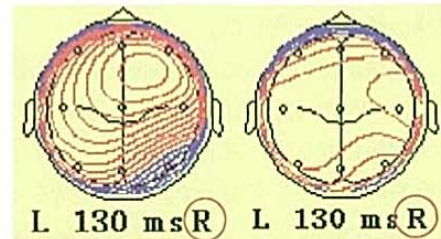
向を, 末梢から中枢へ向かう場合を求心性刺激(DPP), 中枢から末梢へ向かう場合を遠心性刺激(DPF)と定義した。磁気刺激により導出された脳波応答は, 磁気刺激トリガパルスから500msを記録し, 50回の加算処理を行い解析対象とした。また, フィルターの設定は, 低周波域1.6Hz以下, 高周波域70Hz以上をカットし, 頭皮上電極とのインピーダンスマッチングは, 10k Ω 以下とした。本実験では刺激パラメータ(刺激強度: 0.45T, 0.68T, 刺激方向: DPP, DPF, 刺激部位: 左前腕, 右前腕)が多岐にわたるため, 実験タスクを表1にまとめた。

各実験タスク(Task A~E)における実験結果の一例を, 図3に示す。全ての実験結果より本被験者Bでは, いずれの実験タスクにおいても, 磁気刺激トリガより約130ms前後ならびに約300ms前後の潜時において, 明瞭なピークを確認することができた。そこで, 本潜時の応答を評価対象として, 等電位分布図(潜時130msならびに潜時300ms付近の脳波マッピング)を作成し, 刺激パラメータの変化による脳波応答の差異について検討した。

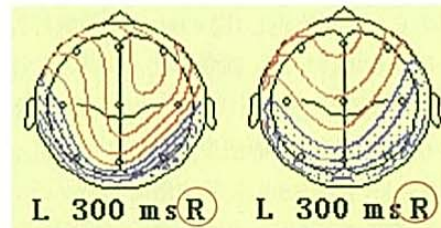
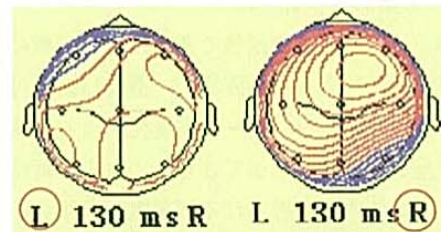
初めに, 刺激強度の違いによる脳波応答の比較を行った(Task A, Task E比較)。図4に, 被験者の左前腕部正中神経に対して, 0.45Tならびに0.68Tの刺激強度で求心性の磁気刺激を行い導出した脳波応答のマッピングを示す。ここで, 図に示すL-Rを囲む○印は, 刺激部位を示す。また, 電位の極性は赤(負極性)と青(正極性)として示し, 脳波計は慣習でY軸正方向が負極となる(電気系とはY軸の極性が逆である)。これを見ると, 図4(a)(b)に示す潜時137msのマッピングでは, 刺激部位と同側の左前頭部に負のピークが大きく出現する傾向にある。また, 強度をあげる事で後頭部に正のピークが出現した(図4(b))。さらに, 図4(c)(d)に示す潜時300msの



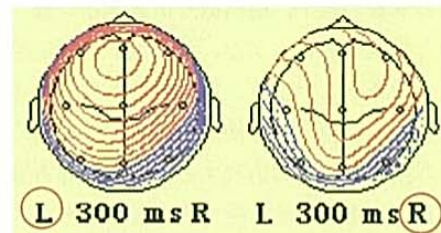
(a) 刺激強度 0.45T (b) 刺激強度 0.68T

(c) 刺激強度 0.45T (d) 刺激強度 0.68T
図4 刺激強度の違いによる脳波応答の比較

(a) 求心性刺激 (DPP) (b) 遠心性刺激 (DPF)

(c) 求心性刺激 (DPP) (d) 遠心性刺激 (DPF)
図5 刺激電流の方向の違いによる脳波応答の比較

(a) 左前腕刺激 (b) 右前腕刺激



(c) 左前腕刺激 (d) 右前腕刺激

図6 刺激部位の違いによる脳波応答の比較

マッピングでは、前頭部に負のピークが出現し、両者は同様の傾向を示した。

次に、被験者の右前腕において、刺激電流の方向の違いによる脳波応答の比較を行った (Task B, Task D 比較)。図 5 に、被験者の右前腕部正中神経に対して、求心性 (DPP) ならびに遠心性 (DPF) の磁気刺激を行い導出した脳波応答のマッピングを示す。これを見ると、図 5 (a)(b) に示す潜時 130ms のマッピングでは、求心性刺激では刺激部位と同側の右前頭部に負のピークが出現し (図 5 (a)), 遠心性刺激では明瞭なピークが消失した。 (図 5 (b))。このように刺激方向により、負のピークの出現領域が変化することを確認した。さらに、図 5 (c)(d) に示す潜時 300ms のマッピングでは、前頭部より負のピークが出現し、両者は同様の傾向を示した。また、左前腕における刺激方向の比較 (Task A, Task C 比較) においても、同様の傾向を確認した。

続いて、刺激部位の違いによる脳波応答の比較を行った (Task A, Task E 比較)。図 6 に、被験者の左前腕ならびに右前腕に対して、求心性の磁気刺激を行い導出した脳波応答のマッピングを示す。これを見ると、図 6 (a)(b) に示す潜時 130ms のマッピングでは、左前腕部に対して磁気刺激を行った場合では、刺激部位と同側の左前頭部に負のピークが出現し (図 6 (a)), 右前腕に対して磁気刺激を行った場合では、刺激部位と同側の右後頭部に負のピークが出現した (図 6 (b))。このように刺激部位の変化により、負のピークの出現が左右に移動する事を確認した。さらに、図 6 (c)(d) に示す潜時 300ms のマッピングでは、後頭部に負のピークが出現し、両者は同じ傾向を示した。

2.4 考察およびまとめ

本実験では、これまで困難であった磁気刺激による脳波導出が安定に行える事を確認し、潜時 130ms 付近の応答においては、刺激パラメータの変化による興味深い脳波応答の差異を得ることができた。これらの変化は、磁気刺激により体内に誘導される刺激電流の正負の分布が変化することにより、刺激されやすい神経とそうではない神経との興奮の差や、脳内信号伝達経路の違いに由来するものと推測できる。また、時系列として信号を観測することができることより、電気刺激とは異なる、皮膚痛覚を伴わない脳波応答の検討への可能性を開くことができた。本結果を詳細に追及することで更なる脳機能解明のツールとなることを示唆することができた。

3. 磁気刺激による血液量変化誘導

3.1 背景

ここでは磁気刺激による生体機能制御の可能性の一例として、ヒト末梢神経の磁気刺激による血液量変化について概観する⁽⁴⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾。

3.2 実験方法

本研究において構成した実験環境を図 7 に示す。ここでは、ヒト末梢血管の血流速度 (Velocity), 血液量 (Mass), 血流量 (Flow) を非侵襲に計測するために、レーザー血流計 (ALF21N, ㈱アドバンス, 記録電極 C 型) を用いた (各種パラメータの比較は ALF21N より出力される電圧レベルを用いた)。本装置の測定原理は、レーザーダイオードスタビライザーシステムにより安定化された半導体レーザー光を石英光ファイバーを通して生体内に照射するものである。移動している血液に照射された光は血液の速度に応じてドップラーシフトを受けて波長が変化する。ドップラーシフトを受けた光の変調強度は血液の速度 (Velocity) に相当し、光の強度は移動している血液の量 (Mass) に相当する。この 2 つのパラメータの積から組織血流量 (Flow) が表される。

本装置より出力される各種データは、A/D コンバータ (MacADIOS, GW Inst.) を通してデジタル化され、計算機 (Apple Power Macintosh 8100/100) へと送られる。記録はサンプリング周波数 1 KHz で行った。ここで獲得されたデータは、Lab View (National Instrument 社製) により開発したソフト、ならびに KaleidaGraph (Hulinks 社製) を用いて各種処理を行った。

被験者は、健康な成人 (SH, 22歳, 女性) に対して十分なインフォームドコンセントのもとに実験を行った。

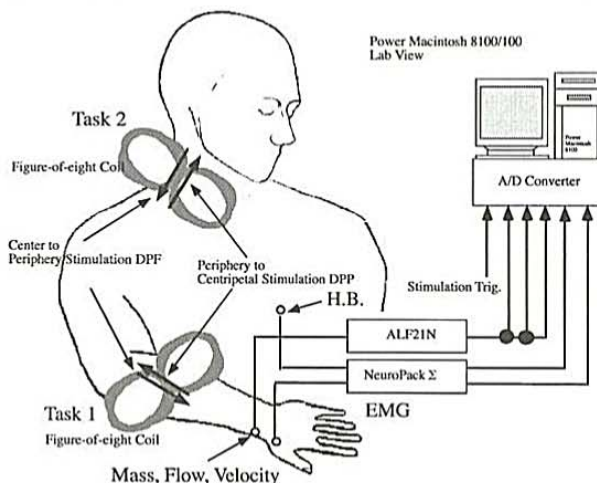


図 7 磁気刺激による血液量変化誘導実験環境

レーザー血流計の記録電極を被験者の右手根部橈骨動脈直上、母指末梢筋上あるいは肘近傍に配置し、各種データを導出すると共に、被験者の右母指球筋の筋電図(EMG), ならびに胸部より心電図(H.B.)を導出(NeuroPackΣ, 日本光電社)するものとした。

磁気刺激は、被験者の右前腕部正中神経上に8字コイル(内径75mm, 外形95mm)を配置し、刺激強度300V~700V(約0.3~0.7T), パルス磁場(パルス幅約0.1ms, MONO-Phase)を印加した。この時の刺激タイミングを同定するために、磁気刺激装置より刺激と同期して出力される外部トリガ信号を用いた。(注: 外部トリガ信号のパルス幅は刺激パルスの幅とは一致しない。)

磁気刺激時における刺激パラメータを図8に示す。刺激パラメータとしては、磁気刺激により体内に誘導される刺激電流方向を選択した。正中神経に対して平行な刺激として、磁気刺激により誘導される刺激電流方向が、中枢から末梢に流れる場合をCP, 末梢から中枢に流れる場合をPCと定義した。また、正中神経に対して垂直な刺激として、刺激電流方向が母指から小指に流れる場合をTS, 小指から母指に流れる場合をSTと定義した。

今回実験により獲得・検討されるデータは、磁気刺激により誘発される右手根部橈骨動脈直上あるいは肘近傍における血液量と右母指球筋の筋電図を対象とした。

3.3 磁気刺激部位前後の位置における血液量変化の計測

まず、磁気刺激により誘発される末梢血管血液量変化について示す。被験者の右前腕部に8字コイルを配置して磁気刺激を行った結果、図9に示すように、磁気刺激が行われた直後(磁気刺激トリガの立ち上がり)に同期して、明瞭な血液量の増加が確認された。このときの血液量増加割合は磁気刺激を印加しない場合と比較して約3倍の増加を示した。さらに、血液量増加は多少のゆらぎはあるものの約2.6秒間持続した。

3.4 血液量変化と磁気刺激の方向性に関する実験的検討

磁気刺激における神経興奮と末梢筋収縮の関係については、神経の走行方向に対して平行に刺激した場合が垂直に刺激した場合に比べて、より低い刺激閾値で末梢筋収縮を誘導できることが知られている。そこで、被験者の右前腕部正中神経に対して、刺激電流方向を平行および垂直にして磁気刺激を行い、末梢筋収縮の有無と血液量変化について検討を行った。

まず、刺激電流方向を正中神経に対して平行(刺激電

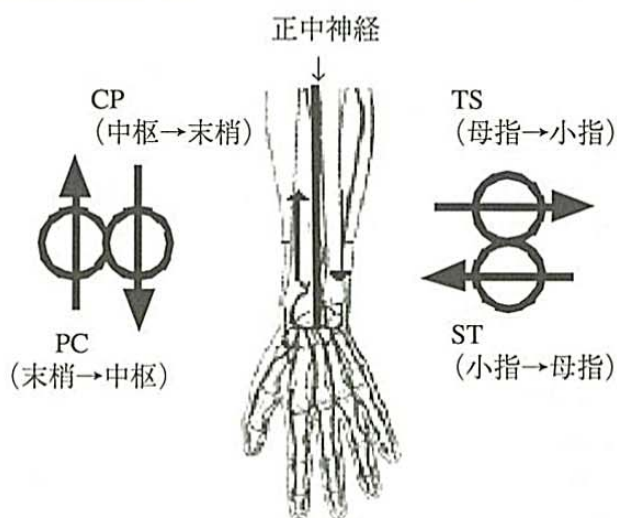


図8 磁気刺激における刺激パラメータと8字コイル
正中神経に対して磁気刺激により体内に誘導される刺激電流方向が、中枢→末梢: CP, 末梢→中枢: PC, 母指→小指: TS, 小指→母指: STと定義

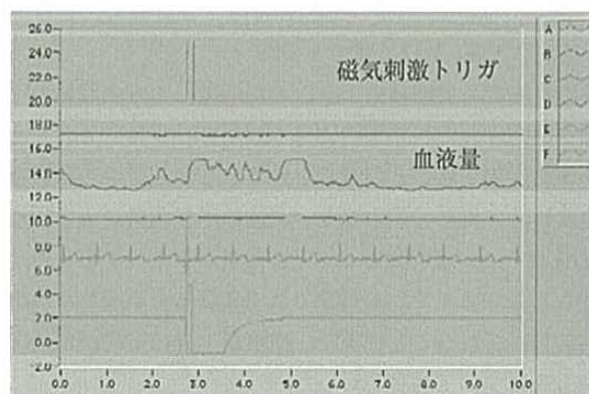


図9 右前腕部に磁気刺激を行った結果(刺激電流方向: 中枢→末梢, 刺激強度0.6T)

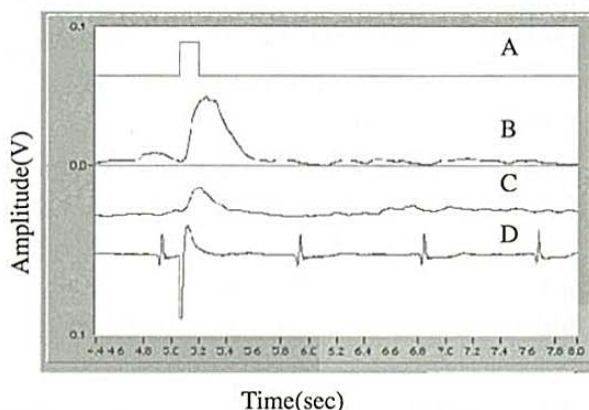


図10 右前腕部正中神経上に磁気刺激を行った結果
(刺激電流方向: 中枢→末梢(CP), 刺激強度: 600 V)

流方向：中枢→末梢(CP))に磁気刺激を行った結果を図10に示す。トリガパルスの立ち上がりの段階で磁気刺激は行われ、磁気刺激に同期して明瞭なMassの増加を確認すると共にEMGの応答、すなわち、母指球筋の筋収縮が確認された。これに対して、刺激方向を末梢→中枢(PC)に変えた場合には明瞭な筋電図波形は導出されなかったが、血液量の上昇は確認できた。

次に、刺激電流方向を正中神経に対して垂直(刺激電流方向：小指→母指(ST))に磁気刺激を行った結果、磁気刺激直後、明瞭なEMGの応答即ち母指球筋の筋収縮は確認されなかった。しかしながら、母指球筋の筋収縮が確認されていないにもかかわらず、Massの増加は確認された。これは、刺激電流方向を母指→小指(TS)に変えた場合においても同様の結果が得られた。

以上の結果から、前腕部磁気刺激による橈骨神経直上の血液量増加現象は、磁気刺激直下の筋収縮に起因する可能性を強く示唆するものである。

3.5 血液量上昇の持続を獲得するための、断続的な磁気刺激に関する実験

これまでの実験結果より、磁気刺激による血液量の上昇が確認された。将来的には本結果をリハビリテーション等へ適用することが考えられる。しかしながらそのためには、これまでのような一過性の磁気刺激による血液量増加では、適用例によっては効果が不十分である可能性もある。そこで、本実験では磁気刺激を断続的に複数回にわけて行うことにより、血液量上昇の持続が可能であるかについて検討を行った。

まず、右前腕部正中神経に対して平行(刺激電流方向：中枢→末梢(CP))に磁気刺激を行った結果を図11に示す。磁気刺激は約1.0秒間隔で断続的に複数回行った。その結果、磁気刺激トリガが入ると、その直後から各約0.5秒の間、血液量の上昇が持続するという現象が確認された。これは、刺激電流方向を末梢→中枢(PC)に変えた場合においても同様の結果が得られた。

次に、正中神経に対して垂直(刺激電流方向：小指→母指(ST))に磁気刺激を行った結果、平行に磁気刺激を行った場合と同様、磁気刺激直後、各約0.5秒の間血液量の上昇が持続するという現象が確認された。これは、刺激電流方向を母指→小指(TS)に変えた場合においても同様の結果が得られた。

また、刺激電流方向が正中神経に対して平行、垂直どちらの場合においても、刺激強度400V(約0.4T)程度の低い刺激強度でも血液量上昇観測が可能であることも確

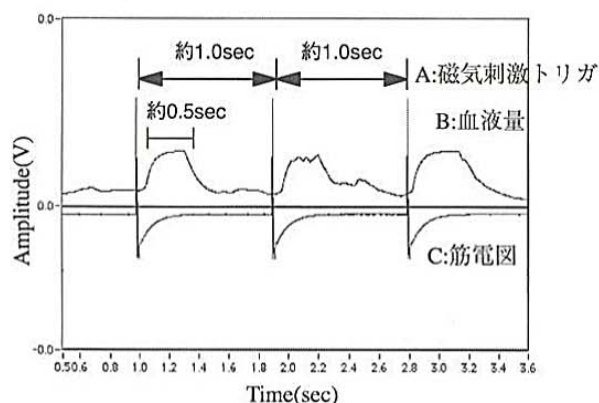


図11 磁気刺激を断続的に複数回行った結果(刺激間隔：約1.0sec, 刺激電流方向：中枢→末梢, 刺激強度：400V)

認された。

3.6 まとめ

以上の結果から、末梢神経あるいは頸部磁気刺激により末梢血管の血液量等に変化が見られるという興味深い結果を得ることができた。現段階における磁気刺激による血液量変化発生機構については、更なる検討が必要であると考えられる。また、断続的な磁気刺激を複数回与えることによって血液量上昇が持続する可能性も確認した。これらを応用することで筋肉異常による四肢麻痺患者等のリハビリテーションへの応用と支援が可能になるものとする。

4. 磁場暴露によるラット脳虚血

4.1 背景

これまでに述べたように脳神経機能解明に磁気刺激法は有効な一手法として用いられている。一方、このような磁気刺激(磁場暴露)に対する生体影響について、タンパク・遺伝子レベルでの研究が行われるようになった。例えば、Goodman等はヒト前骨髄芽球に対して0.8μT, 60Hzの磁場暴露を行うと、熱ショック遺伝子の発現に必要とされるHeat Shock Factorが活性化されると報告している⁽¹⁰⁾。

以上のような生体に対して磁場を印加し、その応答や影響を検討する場合、磁場の物理的特性(磁場強度、波形形状、周波数等)を考慮することは特に重要であるとの観点に基づき、我々は図12に示すような任意に磁場特性を操作可能な変動磁場発生環境の構築を行った。これらを使用して磁場暴露を脳虚血耐性獲得の手法として活用する事を提案した。本報告ではラット脳虚血モデルを用いて、in vivo, in vitroにおいて磁場暴露による脳虚

血耐性獲得について検討を行った⁽¹¹⁾。

4.2 虚血耐性獲得について

一般に脳虚血とは、脳へ運ばれる血液が不足する状態を指す。脳虚血は細胞死や遅発性細胞死(アポトーシス)を引き起こし、脳機能の一部を消失する要因となる。このような虚血侵襲に対して、あらかじめ神経細胞に非致死的なストレス(熱、刺傷、酸化ストレス、軽度な虚血等)を加えることで、後に加わる致死的な虚血侵襲に対して顕著な保護効果(虚血耐性)が得られる事が、これまでの各種研究により明らかになっている。しかしながら、前述のストレス因子で虚血耐性を獲得させる手法では、神経細胞への物理的侵襲の度合いが高いため、実際の臨床の場に適用する事は困難である。本研究では、物理的に低侵襲である磁場曝露による虚血耐性を獲得が目的である。

4.3 変動磁場発生環境について

図12に、本研究で使用した変動磁場発生環境を示す。本環境は、大きく単発パルス磁場発生部と任意波形磁場発生部に分けられる。それぞれの磁場発生部は、計算機(Power Macintosh 8100/100, Apple 社)による自動制御が可能な構成とした。単発パルス磁場発生部には、最大0.9Tの強磁場が発生可能な単発パルス磁気刺激装置(SMS-1100, 日本光電社製)とシングルコイル(YM-103B, 日本光電社製, 外径:140mm, 内径:85mm)を用いた。また、任意波形磁場発生部には、任意波形発生装置(AG1200, 横河電機社製)を用いる事で、様々な磁場波形信号源を合成可能とし、ここで合成された磁場波形信号源はハイパワーアンプ(7700型, TECHRON 社製)により電流増幅され、磁場発生用コイルに印加され変動磁場を出力する。このようにして出力された磁場空間の観察には、3ch ガウスメータ(9953型, F.W.BELL 社製)を用いた。本装置も計算機より制御可能な構成とし、プローブ更正、レンジ設定、測定データの取り込み等を可能としている。なお、本環境の制御・計測プログラムは、LabView (National Instruments 社製)を用いて本研究室にて開発した。

4.4 磁場曝露ラットの作成について

前述した変動磁場発生環境を用いて、磁場曝露ラットの作成を行った。本実験では、被検体として雄性SDラット(270-350g)を用いた。ここで、ラットを磁場曝露を行う正弦波磁場曝露群、パルス磁場曝露群、ならびに、磁場曝露を行わないコントロール群に分けた。

正弦波磁場曝露群ラットに対しては、ソレノイドコイ

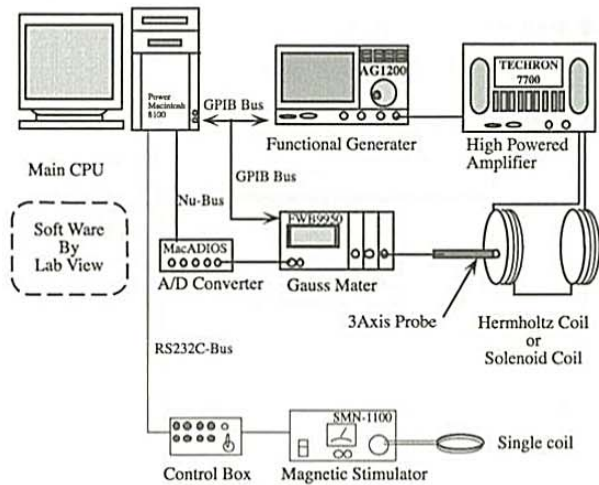


図12 変動磁場発生装置の構成図

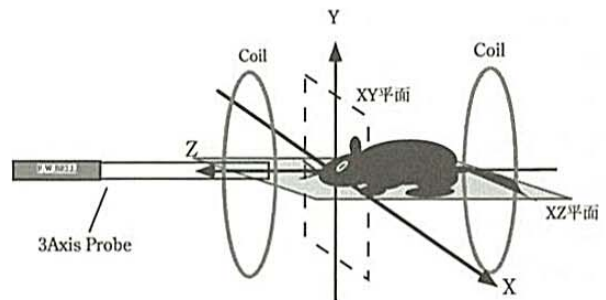
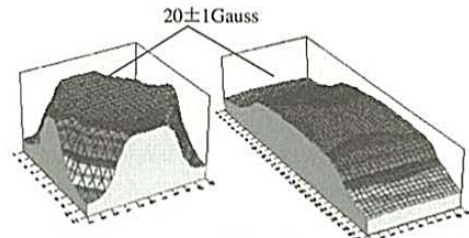


図13 ソレノイドコイルにおける磁場測定平面の定義とラットの配置



(a) XY 平面の磁場分布 (b) XZ 平面の磁場分布

図14 ソレノイドコイル内の磁場分布の実測結果

ル(直径:120mm, 長さ:300mm, 巻数400回)を用いて、磁場強度約20Gauss (r.m.s 値)の正弦波磁場を20分間曝露した。図13に、ソレノイドコイルにおける磁場測定平面の定義とラットの配置について示す。ここで、コイルの長軸方向(Z軸)に対して垂直な面をXY平面、水平な面をXZ平面とした。図14に、正弦波交流電流印加時(周波数 $f=50\text{Hz}$, 印加電流 $I_{pp}=3\text{A}$)のソレノイドコイル内(XY, XZ平面)に出力される磁場分布を示す。これにより、コイル中心付近では、ほぼ均一な磁場空間($20 \pm 1\text{ Gauss}$)である事を確認した。本結果を元

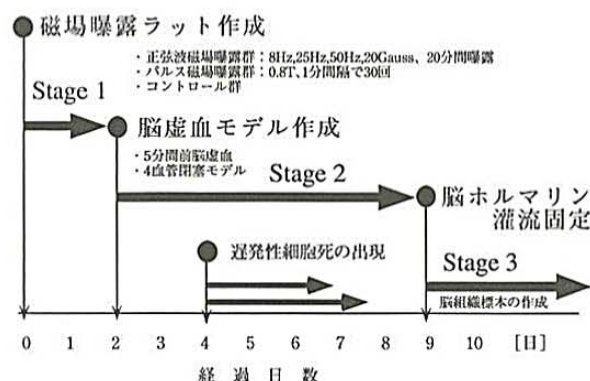


図15 磁場曝露によるラット脳虚血耐性獲得実験の手順

に、ラット頭部がコイル中心付近の均一磁場空間に配置できるようにラット固定器を製作した。

また、パルス磁場曝露群に対しては、単発パルス磁場(約0.8T, 出力電圧800V)を1分間隔で30回印加した。また、コントロール群ラットに対しては、拘束によるストレス条件が磁場曝露群ラットと同一となるように固定器での拘束負荷を与えた。このとき磁場曝露は行わないが、正弦波磁場曝露群ラットに従いソレノイドコイル内に20分間静置した。尚、全てのラットは無麻酔下において固定器に拘束した。

4.5 脳虚血モデルの作成について

磁場曝露ラット作成より48時間経過後に、ラット脳虚血モデルの作成を行った。このとき、実験者にラットがいずれの群に属するか分からないように、完全な盲目試験下で行った(久留米大学医学部麻酔学教室との共同)。

図15に、磁場曝露によるラット脳虚血耐性獲得実験の手順を示す。ここで、Stage 1を磁場曝露ラット作成から脳虚血モデル作成までの2日間、Stage 2を虚血モデル作成から脳ホルマリン灌流固定までの7日間、Stage 3を脳ホルマリン灌流固定後として定義した。Stage 1は、磁場曝露によりラット脳に虚血耐性が獲得されると予想される期間である。これまでに、虚血耐性獲得にはストレス応答から24時間程度の時間経過が必要と報告されている。Stage 1の48時間は、磁場曝露による虚血耐性獲得に必要な十分な時間であると考えられる。Stage 2は、虚血による遅発性細胞死が進行する期間である。虚血に対して極めて脆弱な海馬CA1錐体細胞等は、虚血負荷の2日目以降から徐々に細胞死が進行する遅発性細胞死が出現する。このような遅発性細胞死の進行は個体差があるため、全てのラットに遅発性細胞死が出現する為の十分な期間として、Stage 2を7日間とした。Stage 3では、ラット心腔内から脳を抽出し、染色などの作業を行う工程で

ある。

4.6 磁場曝露によるラット脳虚血耐性獲得の病理組織学的検討と評価

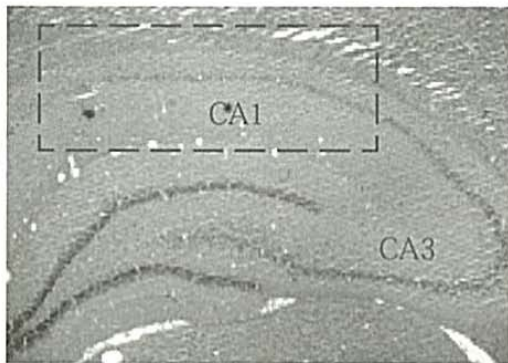
図16に、虚血後7日目におけるコントロール群ラットの脳組織標本の顕微鏡写真を示す。図16(a)より、磁場曝露を行っていないコントロール群ラットでは、虚血負荷によりほとんどの海馬CA1錐体細胞が死亡した為、CA1領域が染色されずに白く抜けた状態を確認した。また、CA1領域を拡大した図16(b)より、海馬CA1錐体細胞の委縮欠落が確認できる。以上の結果より、虚血手技の成功と遅発性細胞死の出現を確認した。

これに対して、図17(a)に示す25Hz正弦波磁場曝露群ラットでは、5分間の前脳虚血を行ったにもかかわらず、海馬CA1錐体細胞が生存した事が染色の度合いから確認できる。また、CA1領域を拡大した図17(b)より、正常な形態を保持した海馬CA1錐体細胞が確認できる。以上の結果より、磁場曝露を行う事で虚血耐性が獲得され、虚血による遅発性細胞死に対する保護効果を示したと考えられる。

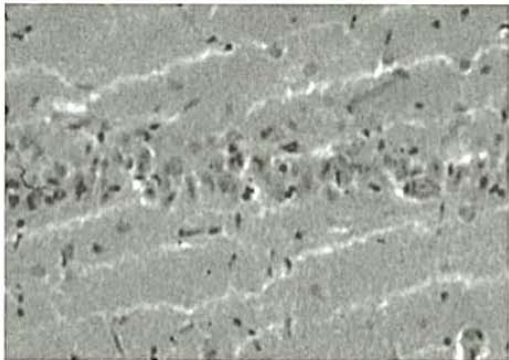
図18に、本実験に用いた全てのラット(n=36)の磁場曝露周波数に対する海馬CA1錐体細胞の傷害率(生存細胞数に対する致死細胞の割合)を示す。図中において○はラット1匹を示し、●は手技の問題(組織の損傷、気道トラブル等)により急性死したラットを示す。これを見ると、コントロール群ラットは磁場曝露を行わない虚血負荷のみの群である為、ほとんどのラットが50%以上の高い傷害率(Grade D)を示した。これに対して正弦波磁場曝露後に虚血負荷を与えた群では、特に周波数25Hzの群において、ほとんどのラットが極めて低い傷害率(Grade B, C)を示し、顕著な虚血耐性獲得を確認できた。また、パルス磁場曝露後に虚血負荷を与えた群では、ラット総数(n=3)が少ないながら、25Hz正弦波磁場曝露群と同様に虚血耐性獲得の傾向がある事を確認した。

4.9 まとめ

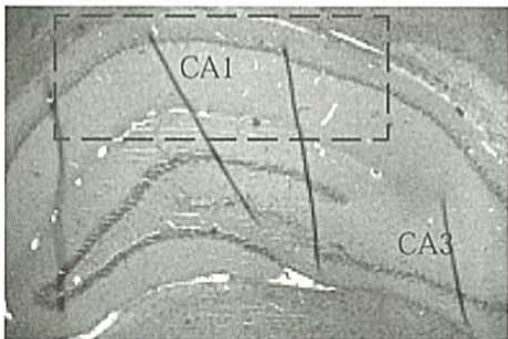
磁場曝露によりラット脳に虚血耐性が誘導される可能性を、遅発性細胞死モデル(in vivo)、急性細胞死モデル(in vitro)の両実験において確認した。本結果は、医療分野における磁場の新たな応用の可能性を示唆するものである。今後、虚血耐性を効果的に誘導するための最適な磁場強度、周波数、波形形状、曝露時間、ならびに虚血耐性誘導のメカニズムについて検討が必要である。



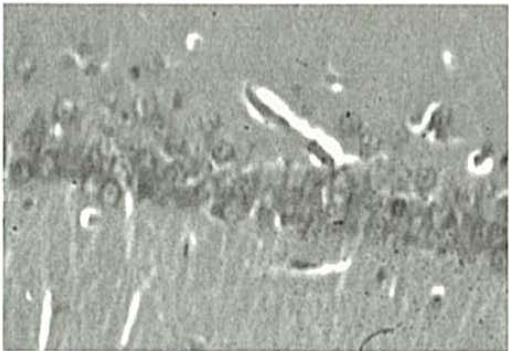
(a) ラット脳海馬領域



(b) 海馬 CA1 領域の拡大

図16 虚血後7日目におけるコントロール群
ラットの脳海馬 CA1 領域の顕微鏡写真

(a) ラット脳海馬領域



(b) 海馬 CA1 領域の拡大

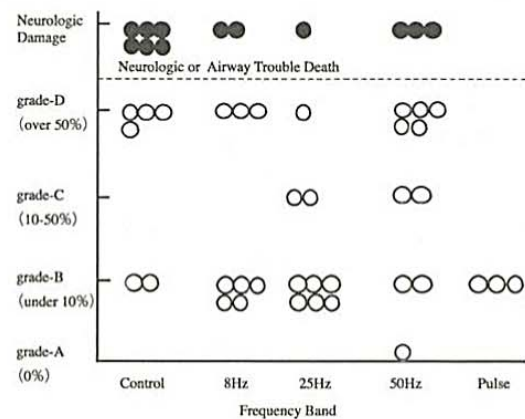
図17 虚血後7日目における25Hz 正弦波磁場
曝露群
ラットの脳海馬 CA1 領域の顕微鏡写
(CA1 錐体細胞の生存を認める)

図18 磁場曝露周波数に対する海馬 CA1 錐体細胞の傷害率 (生存細胞数に対する致死細胞の割合: 0% = grade A, 10%未満 = grade B, 10~50%未満 = grade C, 50%以上 = grade D)

5. 現在の研究活動

以上のように、本学において著者は、他大学の研究者や本学院生、学部生等と共に、磁気刺激による脳神経刺激、血液量変化誘導、細胞保護効果(虚血耐性)獲得など、非常に興味深い研究をこれまで行ってきた。

上述した研究は更なる発展のために全て継続する必要があると考えるが、現在は休眠状態に有る。現在は以下のような研究・教育活動を行っている。

6. 神経活動の常温磁気計測に関する環境構築と信号導出

6.1 背景

現在の神経軸索等の活動電位計測は、軸索表面に測定電極を配置するか、あるいは軸索自身に電極を刺入し計測する電気的手法と、SQUID (Super conducting quantum interference device) 等を用いた、活動電位の結果生じる磁場を計測する磁気的手法が主流である。前述の電気的手法では、神経そのものへの侵襲度が比較的高く、経時的使用を目的としたものではないため、神経活動の長期観察には不向きである。また、後者の磁気的手法も神経軸索単位での計測はそもそも対象としておらず、さらに、計測に必要な研究環境・維持ともに高価で人的リソースも多数必要である。

これに対して、神経軸索そのものの電氣的活動の反映である磁場変化を常温状態で接触・刺入型電極を用いることなく測定する試みは古くより行われている。なかでも、1983年、J.P. Wikswo 等が提案した⁽¹²⁾、市販の半導

体アンプを用いた計測法は、神経軸索と磁場信号導出コイルの磁気的な結合により神経活動を導出するもので興味深い。本報告では、神経軸索活動を常温で低侵襲に計測する環境構築を開始したので報告する⁽¹³⁾。

6.2 今回構築した計測環境について

今回の計測では、図19に示すような環境を構築した。まず、全ての信号計測・処理環境を PowerMacintosh G4 (Apple 社製、図中 Macintosh) を中核として構成した。A/D 変換ボード (図中 DAQ) には、PCI-MIO-16XE-50 (National Instruments 社製) の16bit ADCを使用した。本ボードはサンプリング速度20kS/sが保証されている。また、計測データの表示解析関連に必要なプログラムは、LabVIEW (National Instruments 社製) を使用して開発した。本プログラムより計測データの表示・FFT 処理などの基本的な検討が可能である。また信号発生源 (FG) としては、AG1200 (YOKOGAWA 社製) ファンクションジェネレータを使用し、GPIB ボード (National Instruments 社製、図中 GPIB) を経由して Mac より制御可能な構成とした。本出力に抵抗 (100k Ω) を通して電流を通過させ、この上に導出コイルを配置して計測を行うこととした。導出用ピックアップコイルより取り込まれた信号は、電流電圧変換器 (図中 I/V) を通して DAQ を経由して Macintosh 上で表示される。

6.3 神経活動導出用ピックアップコイルについて

図20に神経軸索信号導出のためのコイルの形状について示す。図20(a)は、歴史的に古くから用いられてきたトロイダルコアタイプであり、神経軸索とコイルを鎖交させることで神経活動電位を導出するものである。この方法はトランス結合方式と同等なため信号導出に関する効率は高いと考えられるが、神経軸索をコアに貫通させる必要があるため不都合がある。これに対して本研究では、図20(b)に示すようなブロックコア型コイル (以下、ブロック型) を採用することとした。本形状は神経活動導出という観点においては図19(a)と比べて効率が悪いことは当初より予想できるものの、神経軸索とコイルを鎖交させる必要がないため取り扱いが簡便となり、かつ、神経軸索に対して低侵襲になると考えられる。

6.4 導出用アンプの構成検討

上述したブロック型のような、神経とコイルを直接鎖交させない状態で神経信号を導出するためには、導出用アンプ (以下、アンプ) の設計が重要である。導出用低ノイズ・高感度・高精度アンプ構成では、Wikswow 等が用いた I/V 変換を基本とするものや、ロックインアンプ、

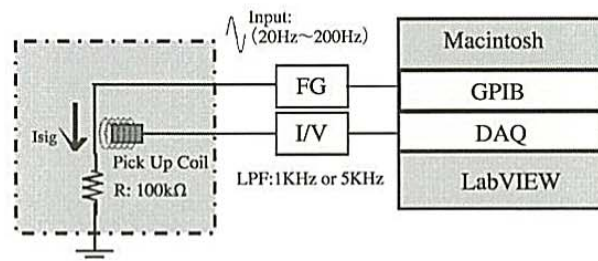


図19 神経活動の常温磁気計測環境

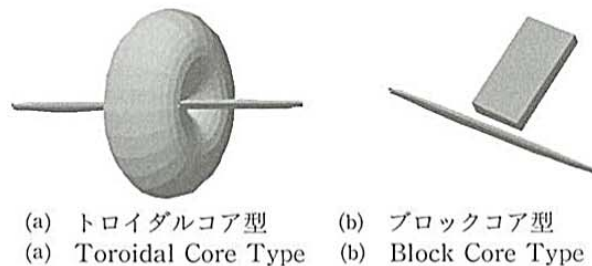


図20 導出コイル形状比較

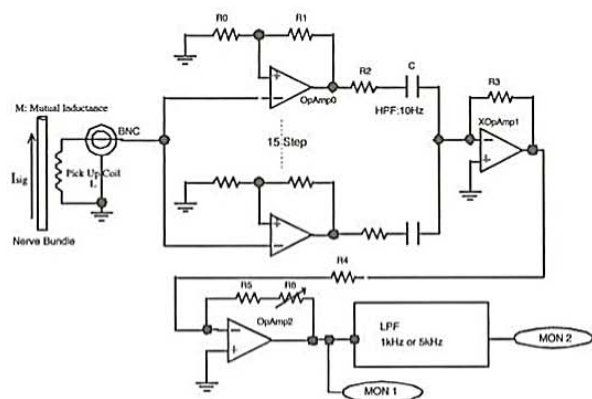


図21 I/V 変換回路 (アンプ)

インストルメンテーションアンプ等の各種手法が考えられる。本研究では、図21に示すような I/V 変換を基本とするアンプを試作し、ブロック型からの信号導出を可能とする事を目的とした。本回路では、AD820 (Analog Devices, 13nV/SQR(Hz) @10KHz) を15段並列に配置することで低ノイズ化を試みている。各アンプには初段に10HzのHPFを設置し、また出力段には、アンプからの直接出力 (MON1) とフィルタ (LPF: 1kHz or 5kHz) 出力 (MON2) を設定し、アプリケーションによりハードウェア的に選択可能な構成とした。本アンプの最終的なトータルゲインは、約1万倍から約10万倍で、最終段の可変抵抗により1~10倍の範囲で可変可能な構成とした。また、アンプ駆動用電源周りから不要なノイズ混入を避けるために Ni-Cd バッテリ駆動とした。

6.5 各種導出用コイルの構成検討

上述したアンプの特性評価ならびに導出コイルの構成を検討する上での比較・検討材料として数種類のコイルを試作した。コア材料として、空心コア（ビニル製）あるいはフェライトコア（TDK 社製）をそれぞれ使用し、8 字型（OFE, FE01, FE02, 8 字型コイルは磁気刺激等に用いられる事は周知である）、トリプル型（TC01, TC02）、ブロック型（FC0, FCA~E）の3種類をそれぞれ試作した。FE01（TC01）、FE02（TC02）は0.1mmの銅線をそれぞれ50回、あるいは100回巻いたものを使用している。また、ブロック型については0.04mmのウレタンコート銅線を用いた。また、ブロック型は銅線保護のためにカシューコートを施してある。

6.6 導出コイル実測結果

試作したアンプならびに導出用コイルより信号が導出可能であるか否かについて検討を行った。ブロック型として試作した中で、抵抗に方形波（20Hz~200Hz, 100 mVpp, 100k Ω ）を印加し、FC Dより導出した場合の一例を図22に示す。図22に印加する方形波（赤）と導出コイルからアンプを経由して得られる実測波形（緑）を同時に表示している。ゲインは $150 \times 75 \times 1$ とした。結論として若干のノイズ混入が認められるものの、目標とする1 μ A_{pp} 信号の導出が可能であることを確認した。また、上述する以外のFE, FC 型コイルについてもほぼ同様の結果を確認した。

6.7 まとめ

今回の結果から、試作したI/V アンプの基本特性を確認し、FE（8 字型, Figure-of-Eight）型コイルならびにFC（ブロック）型コイルにおいて比較的良好な応答を確認した。しかしながらOFE（空心8 字コイル型）やTC（トリプル型）では明瞭な応答は確認されなかった。これらの結果については、L 値等に起因するものであることが予想されるので、今後の検討課題である。また、FC 型でもフェライトコア自身の断面積、長さ等により当然のことながら導出効率の違いを確認することができた。尚本研究は、H15財団法人磁気健康科学研究振興財団、九電工若手学術研究者支援、H16財団法人吉田学術教育振興会の各助成金により行った。

7. 今後の研究課題

以上のような各種研究活動や、本学学生の学習実習向けの各種開発を現在も継続して行っている。これまでにオープンキャンパスや卒論学生啓蒙のために作成したロ

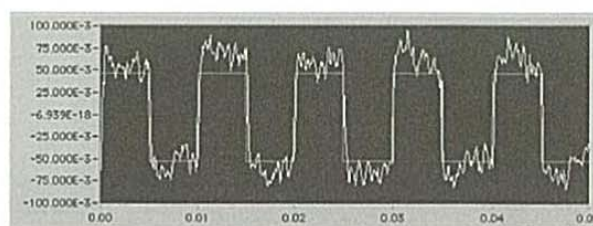


図22 FC Dより導出される信号
(100Hz, 100mV, 100k Ω 時)

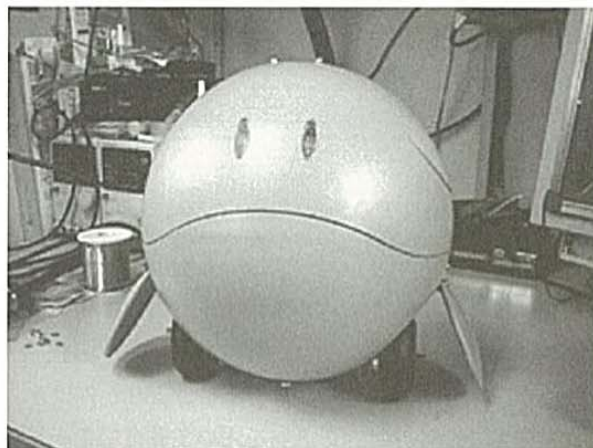


図23 オープンキャンパスで活躍したロボット「ハロ」



図24 身近な材料と少しの努力で作れるロボット「タチコマ」

ット「ハロ」(図23)や、簡単な知識だけで作成可能なロボット「タチコマ」(図24)等を輩出している。

中でも、海外の有名大学や企業、あるいは国内有数の大学にも導入実績のある、従来のC言語等とは異なるプログラム作成環境であるLabView (National Instruments, 図25)を用いた、1年生など初学者向け学習教材やテキストも開発している。これらの一部は先行して、2005年後期より試験導入を開始し、2006年度には本格的に実験実習用講義材料として導入している。これらは長

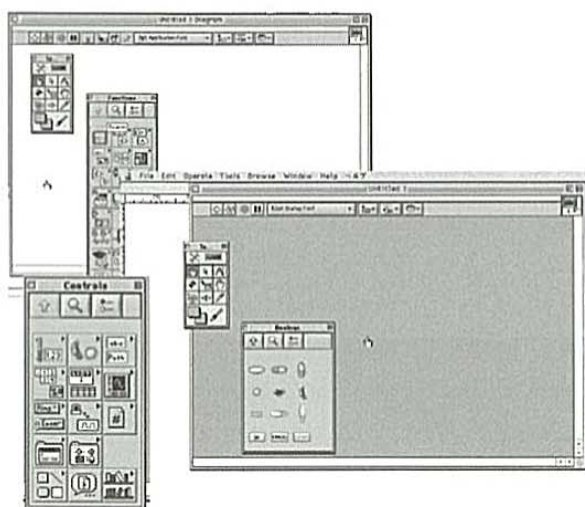


図25 LabView による新しいプログラミング環境
—初学者の理解負担の軽減を目指す—

年の研究の中で培った技術を本学学生専用に展開する物の一例である。これらにより、難解なハードウェア、ソフトウェアの学習を本学学生のために、よりかみ砕き、分かりやすく、本学独自の教材を用いて教育できると考える。

今後とも既成概念に捕らわれることなく、学生のための教育と、それを裏から支える根拠となる研究を継続できればと願う次第である。

参考文献

- (1) S. Ueno et al., A paired-coil configuration for localized hyperthermia of deep tissues, Digests of the Intermag Conf. BD-3, St. Paul MN Apr. 1985
- (2) 上野照剛, 松田鶴夫, 脳神経の局所刺激による脳機能推定, 電気学会論文誌A, Trans. IEE of Japan Vol. 111-A, No.9, Sept., 1991, pp.789-794
- (3) T. Matsuda and S. Ueno, Motor Evoked Potentials to Magnetic Stimulation of the Human Central Nervous System, Trans. IEE of Japan, Vol. 116-C, No.2, Feb., 1996, pp.151-156

- (4) T. Matsuda, Changes in human peripheral blood flow obtained by magnetic stimulation, Vol. 99CH37028C, IEEE Trans. on SMC, Oct. 1999, pp. VI364-369
- (5) 青山良介, 松田鶴夫, 磁気刺激により誘発される脳波計測について, 日本生体磁気学会誌 特別号 Vol. 11 No.1 1998 第13回日本生体磁気学会大会論文集, pp.130-131
- (6) 松田鶴夫, 青山良介, 鈴木奈保子, 吉永剛, ヒト末梢神経への電気・磁気刺激により誘発される脳波応答に関する検討, 日本エム・イー学会専門別研究会 生体情報の可視化技術研究会論文集 1999年度~2000年度版, pp.95-98
- (7) 青山良介, 松田鶴夫 磁気刺激によるヒト脳波遅延導出法の提案と導出例について 電気学会論文誌C Vol.122-C, No.8, Aug., 2002
- (8) 松田鶴夫 磁気刺激によるヒト末梢血管血流変化誘導について 電気学会 マグネティクス, リニアドライブ合同研究会 MAG-99-110 6/1999
- (9) 佐藤綾, 松田鶴夫 ヒト末梢磁気刺激による血液量変化誘導について 医用・生体工学研究会資料 MBE-01-5 2/2001
- (10) Li Han, Hana Lin, Mark Head, Ming Jin, Martin Blank, Reba Goodman: Application of Magnetic Field-Induced Heat Shock Protein70 for Presurgical
- (11) 青山, 松田 et al. 磁場暴露によるラット脳虚血耐性の獲得について 医用・生体工学研究会資料 MBE-01-8 2/2001
- (12) J.P. WIKSWO JR, et al. Capabilities of a Toroid-Amplifier System for magnetic measurement of Current in Biological Tissue, IEEE Trans. on B.M.E., Vol. BME-33, No.10, Oct. 1986
- (13) 松田鶴夫 神経軸索活動電位の磁氣的計測—計測環境構築の検討— 電気学会 電磁界の生体効果と応用 (技術報告1047号) pp.36-40 3/2006