脊髄損傷度の低侵襲評価を目的とした体外からの

脊髄誘発電位計測と解析の基礎検討

生体計測工学研究室 2281268 西田 聖菜

(主査:京相 雅樹 教授 副査:小林 千尋 講師, 坂口 勝久 准教授)

1. はじめに

脊髄とは中枢神経系の一つである.脊髄の役目は大脳からの指令を末梢神経まで伝 達させることに加え,末梢神経からの興奮を大脳まで伝えることである.脊髄を損傷す ると,この伝達に支障をきたす.脊髄は脳と同じ中枢神経なため,一度傷つくと二度と 再生することができないと考えられていた.

しかし現在,iPS 細胞由来の細胞を脊髄損傷の患者に移植するといった研究も進めら れており,神経の再生に大きな期待が寄せられている^[1].損傷具合や回復の度合いを定 量的に評価することは,脊髄再生治療を進めるにあたり重要である.現段階での損傷具 合の診断方法は,画像診断や神経学的診断法によって行われる.しかし,これらの方法 は,検査者の主観による部分が多く,損傷具合を定量的に評価することができない.そ こで,脊髄神経の伝導路を通る誘発電位である脊髄誘発電位(SCEP: Spinal Cord Evoked Potential)を計測することで,これを計測することで損傷度合いの評価を行う.

まず,正確に計測される SCEP の波形を確認するため,侵襲的に計測を行い,侵襲的 SCEP の波形計測の検討を行った.また,臨床に応用する際には体外から低侵襲で計測す る必要があるが,SCEP を体外から計測する手法は確立されていない.そこで,SCEP の 経皮的計測における電極位置・計測される波形計測を行い SCEP の経皮的計測方法の 検討を行った.先行研究では経皮的に SCEP を計測するにあたって肩甲骨付近での計 測が行えていなかった^[2].そのため計測中の体位を変えることによって,波形の計測が 行えるか検討した.これまでは,侵襲と非侵襲の計測は別々に行っていたため,非侵襲時 に計測した波形が SCEP 波形なのか正確な評価が行えていなかった.そのため,侵襲と 非侵襲の同時計測を行い計測波形の.評価を行った。

2. 理論

2.1 脊髄^[3]

脊髄は,40cm~45cm の長さで,直径が 1cm ほどの楕円形をしている.頭部から臀部に 向かって順に,頚髄,胸髄,腰髄,仙髄に分けられる.頚髄から 8 対,胸髄から 12 対,腰髄から 5 対,仙髄から 5 対の脊髄神経が出ている.その中で脊髄は頚椎から第 12 胸椎~第 2 腰 椎まであり,その先は馬尾神経となる.脊髄は,脊椎の中の脊柱管と呼ばれる空間を通っ ており,内側から軟膜,クモ膜,硬膜という三層の髄膜に包まれている.また,脳と同じよ うに灰白質と白質から成っている.横断面は楕円形で,中心に脳脊髄液で満たされてい る中心管があり,その周りに灰白質が H 状に存在し,さらにその周りを白質が囲んでい る.脊髄には,手足で受けた刺激を脊髄から反射的に直接筋肉にはねかえす脊髄反射の 役割がある.

2.2脊髄関連誘発電位[4]

誘発電位とは,感覚受容器や神経系に対して刺激を行う事によって誘発され,その刺激と時間的関連または事象的関連のある部位の電気変動の事である.誘発電位は物理刺激の種類により,視覚誘発電位,体性感覚誘発電位,脊髄誘発電位(SCEP: Spinal Cord Evoked Potential)などと分類できる.SCEP は末梢神経刺激によりその神経の所属髄節から記録される所属髄節脊髄誘発電位(Segmental SCEP)と脊髄硬膜内腔或は硬膜外腔から直接脊髄を刺激し刺激部位から遠方で記録される伝導性脊髄誘発電位 CSCEP

(Conductive SCEP)の二つに大別することができる.前者は所属髄節を超えてより頭側の髄節から頭部で記録する ASCEP(Ascending SCEP:上行性脊髄誘発電位)と刺激部より尾側から記録する DSCEP(Descending SCEP:下行性脊髄誘発電位)に分類することができる.SCEPは,末梢神経系から大脳の感覚野までの伝導路に障害がある場合には断たれるか通常よりも振幅が小さく遅れて反応する.そのため,脊髄神経の伝導性を評価する点において有効とされている.

3. 実験方法

一連の実験は東京都市大学動物実験生命倫理委員会が定める東京都市大学動物実験 規定に基づいて承認を受け(承認番号 956 号),生命倫理に配慮して実施された.

3.1 ラットの処置

ラットにドミトール,ドルミカム,ベトルファールの三種類の薬剤を混合した麻酔を 投与した. 調合は Table.1 に示す.また,投与量はラット 100g あたり 0.1ml を投与した. 本実験では,極小電位である SCEP を計測するため,できる限りアーチファクト元を取 り除くことが必要である.電極の装着を確実に行うため,麻酔下にあるラットの背部を 剃毛し,体表面を露出させた.

Medicine name	Quantity[ml]
Domitor	1.87
Dormicum	2.0
Vetorphale	2.5
Saline	3.62

Table.1 Three types of mixed anesthetic

3.2 装置

使用した機器を Table2 に示す.計測した波形をアナログからディジタルに変換する ために A/D コンバーターを用いた.また,計測される誘発電位は微弱なため増幅器を用 いて増幅し計測を行った.使用した機器の計測条件を Table3 に示す.

Table2 Equipment's		
	Device	Manufacturer
Stimulator	SEN-3401	NIHON
		KOHDEN
Isolator	SS-203J	NIHON
		KOHDEN
Amplifier	MEG-2100	NIHON
-		KOHDEN

A/D	Sampling Frequency[kHz]	5
converter	Input range[V]	± 5
	Resolution[bit]	16
	Low Cut Filter [Hz]	1.5
Amplifier	High Cut Filter [Hz]	300
	Gain[dB]	80

Table3 Measurement conditions

3.3 刺激条件

刺激条件を Table4 に示す.刺激は1回の計測につき 90 回行った.

Current[mA]	1.0
Pulse width[ms]	1.0
Interval[s]	2.0

3.4 評価方法

計測されたデータは,刺激から 40ms の区間を切り出し,同期加算法を行いその波形の 潜時と振幅により評価を行った.

3.5 実験 I: SCEP の侵襲的計測における基礎的検討

直接脊髄上からの波形計測を行い,SCEP 波形の侵襲的評価を行った.先行研究ですで に侵襲時の SCEP 波形計測は行われていたが,本実験には先行研究で使用されていた電 極とは異なる電極を使い計測を行った.また,計測方法の再現性の確認を行った.

電極位置として,ラットの背部を切開し,脊髄神経を露出させ,神経上にタングステン 製針状電極を配置した.また,胸椎の骨上にも直径 1.0mm の銀製の小型円筒状電極を配 置し,波形の計測を行った.神経上に配置した電極を ch1,胸椎の骨に配置した電極を ch2 とした.刺激電極はステンレス製の針電極を使用しラットの腓腹筋周辺に挿入し電気刺 激を行い,脊髄を通る上行性の誘発電位 ASCEP を計測した.電極配置を Fig1 に示す.ま た,ch2 に使用した円筒状電極を Fig2 に示す. GND 電極は頚部,基準電極(Ref)は記録用 電極横に配置し,単極誘導により計測を行った.



Fig1 Electrode placement for experiment I



Fig2 cylindrical electrode

3.6 実験 II: SCEP の侵襲的計測における基礎的検討

刺激位置からの距離と振幅の関係性評価を行った.SCEP 波形が刺激位置からの距離 によって振幅・潜時に変化がでるのか計測を行った.また,脊髄に沿って左右に分けた際 に脊髄電位ではないものが混入している可能性があるため左右の違いによる計測も行 った.また,計測方法の再現性の確認を行った.

電極位置として,脊椎に沿って体表面上に小型の銀製記録用電極(縦 2mm,横 4mm)を 配置した.刺激位置からの距離による振幅の変化を計測するために電極配置位置はラッ トの背骨の最も突出している位置(胸神経にある T13)を中心(CL)と置き,CL から頭部方 向に 10mm 間隔で配置した電極を T₁~T₃とし,尾方向に配置した電極を B₁~B₃とした. また,左右差による振幅と潜時の変化を計測するために,CL から 10mm 右にずらした電 極 CR を配置し計測を行った.刺激電極は針電極を使用しラットの腓腹筋周辺に挿入し 電気刺激を行い,脊髄を通る上行性の誘発電位 ASCEP を計測した. 電極配置は Fig3 に 示す. また,使用した電極を Fig5 に示す. GND 電極は刺激電極と同様の電極を用い頚部 に,Ref 電極は Fig4 の記録用電極と同様の電極を用い CL 記録用電極横に配置し,単極 誘導により計測を行った.



Fig4 Small electrode I

3.7 実験Ⅲ: SCEP の体位変換における波形評価

先行研究では経皮的に SCEP を計測するにあたって肩甲骨付近での計測が行えてい なかった.そのため計測中の体位を変えることによって,波形の計測が行えるのか検討 した.

肩甲骨付近での評価を行うため電極位置は Fig3 で示した T₃の位置に配置した.計測 体位は伏臥位の他に首の骨を後弯させた体位,両肩を固定し背骨を浮き上がらした体位 で計測を行った.首を丸めた計測体位を Fig5,両肩を固定し背骨を浮き上がらした計測 体位を Fig6 に示す.GND,Ref 電極は実験IIと同様のものを使用し配置した.



Fig5 Curved bones



Fig6 Shoulder stepped

3.8 実験Ⅳ: 同時計測による波形評価

これまでは,侵襲と非侵襲の計測は別々に行っていたため,非侵襲時に計測した波形が SCEP 波形なのか正確な評価が行えていなかった.そのため,侵襲と非侵襲の同時計 測を行った..

ラットの左側は経皮的計測,右側を侵襲計測とした.両計測ともに Fig7 のように計測 を行った.経皮的計測側の電極は Fig3 と同位置に配置した.侵襲計測はラットの背骨を 骨鉗子で破損させ脊髄を露出させ,経皮的計測の隣に小型の銀製記録用電極 Fig9(縦 1mm,横 2mm)を配置した.GND は実験 II と同様には位置した.Ref 電極は経皮的側はお 腹側に Fig4 の電極,侵襲側は体内の筋肉にステンレス製針電極を刺して計測を行った.



Fig7 Electrode placement for experiment IV

4. 結果·考察

4.1 実験 I の結果・考察

侵襲的に計測した結果を Fig9, Table5 に示す。



Fig9 Invasive measurement



Fig8 Small electrode II

Table5 Invasive measurement

	Amplitude[μV]	Latency[ms]
ch1	150	7.8
ch2	15	8.8

Table6 Reproducibility

	Amplitude[μV]	Latency[ms]
ch1	118	7.8
ch2	17.0	8.8

ラットの SCEP は 5~10ms 付近に現れる^[5].Fig9,Table5 より侵襲時の 5~10ms 付近 に計測されており,脊髄に直接電極を置いていることから,神経上(ch1)で計測された波 形は SCEP であると考えられる.胸椎の骨上(ch2)では,骨上に配置したため,神経上に配 置した時に比べ計測された電位は小さくなったが,計測される電位の大きさとしては妥 当な範囲である.そのため,わずかに誤差はあるが,反応が現れた時間が同じであるため この波形も SCEP であると考えられる.

また,再現性の確認のために電極を再装着し再度計測を行った結果,Table6 より同一 位置で反応がみられ,振幅も得られた.また,電極は異なるが,先行研究と類似した波形を 獲得することができたこともふまえ,これが SCEP であると考えられる.

4.2 実験Ⅱの結果・考察

経皮的計測による結果を Table7 に示す.刺激位置からの距離が近い順に並べている.

	Amplitude[µV]	Latency[ms]
Вз	-28	4.0
B ₂	-17.9	4.4
B1	-14.8	5.4
CL	-7.23	5.8
T1	-5.8	6.0
T ₂	-2.56	8.4
Тз	-1.74	7.7

Table7 Distance from stimulus position

Table7より,B₃~T₁の潜時は理論通り,刺激位置から近いほど反応が速く,離れるほど 遅くなったが,T₂とT₃の際には潜時が理論とは異なり刺激位置から遠い方が先に計測 された.刺激位置から近い電極ほど計測される振幅は大きくなった.この結果の要因と して,T₂とT₃は計測部分が肩甲骨に近い部分であり,他の位置より脂肪や筋肉の影響を うけやすく,計測された電位が小さくなり潜時を左右する頂点位置がアーチファクトの 影響を受けてしまったと考えられる.また,B₃は最も大きく-28µV でた.振幅が大きくみ られた要因として,B₃は刺激位置から最も近いため,刺激による体動ノイズの混入,他の 神経細胞の電位も拾ったこと,刺激の漏れが計測されてしまったことが考えられる.

Table8 Reproducibility I			
	Amplitude[µV]	Latency[ms]	
B3	-30.5	4.0	
B2	-21.8	4.4	
B 1	-12.6	5.4	
C _L	-7.05	5.7	
T_1	-4.7	5.9	
T ₂	-3.49	8.3	
Тз	-1.89	8.6	

Table9 Reproducibility II

	—	
	Amplitude[µV]	Latency[ms]
Вз	-27.4	4.1
B2	-18.2	4.3
Bı	-12.0	5.6
C_{L}	-7.23	5.6
T_1	-5.8	6.2
T_2	-2.56	8.4
T ₃	-1.74	8.6

Table8,9 より全ての位置で振幅・潜時に変化が見られた.振幅に関しては1回目の計 測と同様に刺激位置から近いほど大きく出た.しかし,潜時に関して2回目と3回目で は少し異なる結果となった.2回目は理論通り刺激位置からの距離によって潜時に変化 が見られたが,3回目はB₁と CLの潜時が同じ値になってしまった.微小な値の計測であ るため反応以外の振幅を計測してしまったと考えられる.

Table10 Left-lateral difference

	Amplitude[µV]	Latency[ms]
CL	-7.23	5.8
C _R	-7.20	5.8

Table11 Reproducibility

	•	•
	Amplitude[µV]	Latency[ms]
1^{st}	-7.23	5.8
2^{nd}	-6.97	5.8

Table10より,SCEPを計測するにあたって左右によって殆ど差はないことが分かった.このことから,左右同部位であれば同データとして扱えると考える.

また,再現性の確認のために電極を再装着し再度計測を行った結果を Table11 に示す. 同様に左右差がほぼない結果となったため,再現性のある波形の計測が行えたと考え る.そのため,今後,侵襲,非侵襲の同時計測を行う際に計測データの比較に使うことがで きると考える.

4.3 実験 II の結果・考察

体位を変えて T3 を計測した結果を Fig11, Table 12 に示す.



	-	
	Amplitude	Latency
	[µV]	[ms]
Prone	1 74	7 7
position	-1./4	1.1
Curved	-26.7	8.6
bones		
Shoulder		
stepped		

Table12 Measurement position change

Fig11 Measurement position change

Fig11,Table12.より,本実験で用いた 3 つの体位の中で Fig5 の首の骨を後弯させる体 位の際に振幅が-26.7μV という最も大きく計測された.他の二つの計測体位に比べても 大きな差があるため,首の骨を後弯させる体位が最も肩甲骨部分の振幅を計測するのに 適していると考えられる.Fig6 の両肩を固定し背骨を浮き上がらした体位は,下半身が 振られやすい体位であるためノイズが入りやすく SCEP の評価を行えるほどの正確な 振幅を得ることができなかった.また,計測位置が同じだが,各体位で潜時に変化がでて しまった.Fig5 の体勢は伏臥位より体動ノイズが入りやすいため,脊髄誘発電位以外の 反応が先に入ってしまい異なる潜時が出てしまったと考える.そのため,計測された振 幅の電位の幅が長く出てしまったと考える.

4.4 実験Ⅳの結果・考察

侵襲・非侵襲の同時計測をした結果を Table13,14 に示す。Table13 は侵襲側,Table14 は非侵襲側の結果である.

	Amplitude[µV]	Latency[ms]	
${ m B}_{2}$	-45.7	4.8	
B ₁	-98.1	6.8	
C_{L}	-31.25	7.0	
Π 1	24.8	8.2	
T_2	11.3	9.2	

Table13 Invasive measurement

Table14 Through the skin

	Amplitude[µV]	Latency[ms]
${\rm B}_{2}$	-17.1	4.8
B_1	-13.6	6.8
C_{L}	-2.04	7.0
T_1	-37.5	8.2
${ m T}_2$	-11.4	9.2

Table13,14 より侵襲時に反応が現れた際に非侵襲時の波形にも反応が見られた.この ことから今回計測した非侵襲時の波形は SCEP 波形であることが分かった.実験 II で計 測した Table7,8 と Table13 の潜時を比較したところ個体差含め誤差はあるが数値とし ては近しい値が計測できたと考えられる.このことから実験 II で計測した非侵襲時の計 測結果にも信憑性があるのではないかと考える.侵襲時の振幅の大きさが B2と B1で異 なってしまった.これは B2の位置は血液の影響を受けてしまい計測がうまくいかなか ったと考える.T1と T2は肺の近くであり侵襲時の際にも呼吸の影響を受けてしまい,非 侵襲時よりもノイズのような波形になってしまったと考える.脊髄を露出させる際に脊 髄を傷つけてしまい B3の計測を行うことができなかった.また,T3の侵襲時の脊髄は深 層部にあるため露出させることができず計測を行うことができなかった.

5 まとめ

今回の実験では,SCEP の侵襲的計測,経皮的計測を行った.侵襲的計測は先行研究と 同様の波形の計測を確認できた.経皮的計測では,刺激位置からの距離による SCEP の 電位と潜時の変化,左右差による比較,異なる体位による計測を行い,波形の解析を行っ た.刺激位置からの距離による計測結果では,刺激位置からの距離による振幅と潜時の 変化を確認で来た.しかし,刺激位置から近いほど体動ノイズが波形に混入してしま い,SCEP の計測結果としてはみられない大きさの電位が計測されてしまった.電極を左 右に配置した際は,潜時も振幅の大きさも殆ど違いがなかった.侵襲,非侵襲の同時計測 では経皮的計測の潜時が侵襲時の潜時と同時に現れたことにより,本実験で経皮的に計 測した波形も SCEP であることが分かった.これによりこれまでに計測してきた経皮的 計測の結果にも信憑性がみられることが分かった.

今後,脊髄損傷を行ったラットを用いて,誘発電位計測と波形解析を行い,脊髄誘発電 位の定量的評価を行えるか検討する.今回は,単極誘導で計測を行ったが,今後多チャン ネル計測を行うために,双極誘導を用いて計測を行う.また,今回の実験で体動ノイズに より結果に影響がでてしまったので,体動ノイズが入りにくい計測体位の検討を行う. そして,脊髄損傷の状況を定量的に体外から把握する手法の開発を目指す.

参考文献

- [1] 岡野栄之, 中村雅也, 松本守雄, 「Microenvironmental modulation in tandem with human stem cell transplantation enhances functional recovery after chronic complete spinal cord injury」, Biomaterials,295 巻,2023
- [2] 中野響介,「体外からの脊髄関連電位計測を目的とした ラットからの多チャンネル誘発電位計測 と信号解析の基礎的検討」,東京都市大学修士論文,2022
- [3] 祖父江元編,「看護のための最新医学講座[第2版]1 脳・神経系疾患」,日野原重明・井村裕夫監修, pp2-9,中山書店,2005年.
- [4] 竹光義治,「脊髄誘発電位の実験研究及び臨床応用」,旭川医大 整形外科 https://www.niph.go.jp/wadai/mhlw/1980/s5510013.pdf
- [5] Yong Hu, Chun-Yi Wen,: Somatosensory-evoked potentials as an indicator for the extent of ultrastructural damage of the spinal cord after chronic compressive injuries in a rat model, Clinical Neurophysiology, 122, p1443, 2011.