

令和元年6月5日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H03187

研究課題名(和文) 磁気刺激による神経跳躍伝導を電磁界変化で検出する食道がん術中反回神経探索システム

研究課題名(英文) The recurrent laryngeal nerve search system to detect nerve saltatory conduction by magnetic stimulation in esophageal cancer surgery

研究代表者

清水 一夫 (SHIMIZU, Kazuo)

東北大学・医学系研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：00564296

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：食道がん手術を想定した反回神経探索においては、確実な神経探索方法が要求される。そこで、小動物の坐骨神経などを使って、跳躍伝導の発生間隔が約45mmであることと、ランビエ絞輪におけるNa<sup>+</sup>チャネルの発火特性を利用した連続パルス刺激を行うことで、神経と他の組織伝導の識別が可能であることを見出した。磁気センサーを使って、ランビエ絞輪におけるNa<sup>+</sup>チャネルの発火を検出することは、ロックインAMPなどを用いても、実現できなかった。また、磁気刺激についても、連続パルス刺激での跳躍伝導の誘発実験には至らなかった。しかし、跳躍伝導は複数のランビエ絞輪を飛び越えて、発生しているという新しい見解が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

有髄神経の跳躍伝導は隣り合うランビエ絞輪において、発生するのではなく、複数のランビエ絞輪を超えて、Na<sup>+</sup>チャネルの発火が生じなければ、伝導速度を実現できない。本研究では、このことを小動物の坐骨神経等を使って、検証し、刺激位置から45mmほど離れたところで、Na<sup>+</sup>チャネルの発火が発生し、2回目の発火が90mmほど離れたところで発生していることを見出した。さらに、神経探索のために、ランビエ絞輪のNa<sup>+</sup>チャネルの発火に伴う不応期期間を使うことで、有髄神経がどうかを選別できることを見出した。組織における電気伝導と神経の伝導を見分ける手法を見出したことは、今後の神経探索において、大きな前進である。

研究成果の概要(英文)： A reliable method is required for the search of recurrent laryngeal nerve during esophagectomy. We found the following new findings using the sciatic nerve of the small animals such as rat and rabbit. First, the occurrence interval of saltatory conduction is about 45 mm. Second, it is possible to distinguish conduction between nerve or other tissue by performing continuous pulse stimulation using the firing characteristics of Na<sup>+</sup> channel in the Ranvier's constriction. Unfortunately, even using the lock-in amplifier, it could not detect the firing of the Na<sup>+</sup> channel in the Ranvier's constriction by magnetic sensor. In addition, it could not realize the saltatory conduction by continuous pulse stimulation using magnetism. However, a new finding was obtained that the saltatory conduction was occurred jumping over several Ranvier's constriction.

研究分野：神経科学

キーワード：神経科学 磁気センシング 神経探索

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

食道がんは2011年23,119人(国立がん研究センターがん統計2015年)が罹患しており、その死亡率は約51%と非常に高い。最近では、胸腔鏡下食道癌手術が普及して患者負担は少なくなってきたが、手術中における反回神経周囲リンパ節の郭清には反回神経麻痺という重大な合併症のリスクが依然残っており、声帯機能障害のみならず誤嚥、肺炎の原因となるため手術治療の大きな課題となっている。甲状腺手術では反回神経を確認するために、反回神経に電氣的刺激を与え、声帯の振動を検出する神経モニター装置が用いられている。この手法においては反回神経を電気刺激するために神経を露出する必要があり、この露出操作により、神経及びその周囲組織を損傷せざるを得ないので、真の意味での神経温存、反回神経麻痺のリスク低減は実現していない。

神経活動については、過去、心臓の不整脈に関する研究を行い、検討を行ってきた経緯があり、不整脈は神経活動と密接に関係している。

分担研究者である中野らは、H27年度挑戦的萌芽研究により、神経の検出を圧センサーにより行うことを研究している。本研究では、神経の特有な跳躍伝導に伴って発生する電磁界を直接、検出しようとするものである。発生する電磁界強度は $0.12 \times 10^{-9}$ T(テスラ)程度であることが報告(Magnetic Field of a Nerve Impulse: First Measurements, John P. Wikswo et al., Science, Vol208(4439), pp53-55, 1980)されているので、これを用い、磁気による神経活動励起とその結果発生する神経活動による電磁界を超高感度磁気センサーによって探索するシステムを開発する。

### 2. 研究の目的

反回神経麻痺は胸腔鏡下食道癌手術の極めて重大な合併症であり、声帯機能障害のみならず、誤嚥、肺炎等の重篤な病態をもたらすので、確実な無侵襲の術中神経探索が必要である。本研究では、探索する神経に非接触電磁界パルスを与えて励起する跳躍伝導により生じる超微弱電磁界を超高感度磁気センサーと新しいパターン検出技術を駆使して検出する装置を実用化する。この装置では、末梢神経に特有の跳躍伝導の特性の解析結果に基づき、他の組織との特性の相違を識別することで、低侵襲で確実な神経探索を実現する。このため、末梢神経が支配する筋肉と神経の跳躍伝導の特性の違いを利用した神経検出方法を確立する。次に、磁気による神経刺激の機序を解明し、神経探索に必要な小型磁気刺激コイルの開発につなげていく。これにより、手術器具の先端に装着し、対象とする神経の損傷、誤切断を防ぎながら、神経探索して、食道癌等の手術に幅広く応用する。

### 3. 研究の方法

本研究計画では、神経の持つ特性や筋肉等の他の組織との特性の違いを明らかにしつつ、神経を励起するための電源装置や励起コイル、神経の跳躍伝導を検出するための磁気センサーと検出装置を試作しながら、研究を確実に段階的に展開する。

研究計画の進め方として、

- (1) 神経を電気刺激することにより、神経の伝導特性を測定する。
- (2) 神経を特定するため、電気緊張性伝導と跳躍伝導の違いを解明し、神経検出のための方法を提案する。
- (3) 磁気センサーを2次元配置したモジュールを試作し、神経の探索可否を検証する。
- (4) 神経励起条件に合わせ、神経励起用コイルを試作し、刺激条件を検証する。

### 4. 研究成果

#### (1) 神経の電氣的特性の測定

神経を電気刺激した際、神経を含めた周囲組織を伝搬する電気緊張性伝導と有髄神経特有な跳躍伝導について、その伝搬特性がどのようになっているかを検証した。

神経を電気刺激した際の組織周囲への電気緊張性伝導の伝搬特性の測定

電気緊張性伝導は神経上のランビエ絞輪にある $\text{Na}^+$ チャンネルが反応する前に発生する組織上の伝達特性である。神経を刺激するポイントから神経に沿った方向と神経から離れる方向で測定を行った。

その結果を図1に示す。

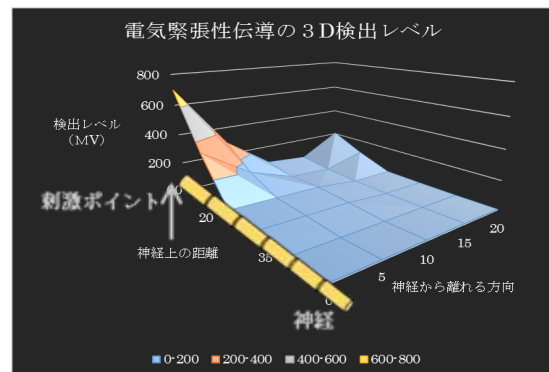


図1. 電気緊張性伝導の伝搬特性

刺激ポイントを中心として、神経上の方向で 20mm、神経から離れる方向で 10mm の距離で大きく減衰している。

神経の跳躍伝導の解析のための特性測定  
 神経を刺激した際、神経上の跳躍伝導がどのように神経周囲で伝搬するかを測定した。神経を刺激したポイントから神経上 45mm 離れたところで跳躍伝導が発生し、電位伝搬が発生している。(図 2)

軸索に加えられた電圧  $V(x)$  は指数関数的に減少し、式 1 で示される。<sup>1)</sup>

$$V(x) = V_a \cdot \exp(-x/\lambda) \dots (1)$$

$V_a$ : 加えた電圧

$$\lambda = \left( \frac{1}{2r \cdot gm} \right)^{1/2} = 0.016$$

$r$ : 軸索の単位長さあたりの抵抗

$$= 6.37 \text{ G} / \text{m}$$

$gm$ : 単位長さあたりのコンダクタンス

$$= 3 \times 10^{-7} \text{ mho/m}$$

跳躍伝導の実測値とこの計算値を図 3 に示す。跳躍伝導の発生電圧を 100mVpp として換算した。Na<sup>+</sup>チャンネルの脱分極が -70mV から、15mV ほど上昇すれば、発火に至ると考えると、刺激位置の電圧が 15mV で、跳躍伝導が 45mm の位置で発生し、それ以下では発生しない本実験結果に沿っている。刺激パルスの電位の影響等が複数のランビエ絞輪を飛び越えて、45mm 先で跳躍伝導を発生させているのではないかと考えている。跳躍伝導は Na<sup>+</sup>チャンネルの応答により跳躍伝導が生じるが刺激パルスから約 2mSec の時間を置いて、跳躍伝導の応答波形が発生する。筋肉の応答は加速度センサーを使って筋肉の動きを測定した。刺激パルスから 10mSec のディレイが生じたが、刺激ポイントからの伝送距離により、応答までの時間が変わるが、筋肉は Ca<sup>2+</sup>チャンネルの応答であるから、早い周期の刺激パルスに対しては 1 度しか応答できない。参考のため、図 4 に実際の刺激パルスに対する跳躍伝導波形並びに加速度センサーによる筋肉応答の様子を示す。

神経の跳躍伝導における絶対不応期、相対不応期の測定。

跳躍伝導における絶対不応期は最初の刺激パルスに対して、応答した後、2 回目の刺激パルスに対して、まったく神経が応答できない刺激周期時間であるから、刺激パルスの周期を変えることにより、測定することができる。また、相対不応期は刺激パルスのレベルを上げることで神経上の跳躍伝導が再び発生するレベルであるから、強い刺激パルスを加えて、再び跳躍伝導が発生する周期を測定することで測ることができる。

複数の刺激パルスの周期を可変して、第一回目の刺激に反応しても、第二回目の刺激に反応しなくなった周期は 1.2mSec であった。従って、絶対不応期は 1.2mSec 以下とした。

強い刺激パルスに対しても、応答可能な周期は 1.2mSec から 3mSec の間となった。この周期であれば、刺激の強さに対する応答が可能であり、相対不応期と考えられる。

従って、刺激パルスの周期を 2.5mSec で刺激閾値近くのレベルで 6 回神経を刺激すると、2 回目、4 回目、6 回目の刺激パルス(相対不応期期間)には反応できない。また、同様に 1.5mSec の周期で刺激を行うと 2 回目、3 回目の刺激パルスに反応できず(相対不応期内) 4 回目の刺激に対して反応する。6 回の連続的な刺激パルスを 0.5mSec 間隔にすると、最初の 1 回しか反応できないという実験結果を得た。1.5mSec 周期で 6 回の刺激に対して、2 回跳躍伝導が発生した際の測定例を図 4 に示す。

< 引用文献 >

1) Russell K.Hobbie. Nerve Conduction in the Pre-Medical Physics Course, American Journal of Physics,41 (October 1973),1176-1183

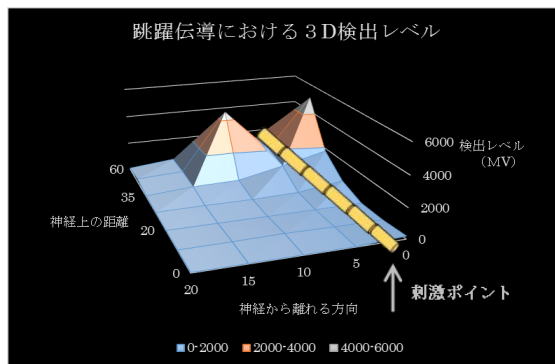


図 2 . 刺激位置に対する跳躍伝導特性

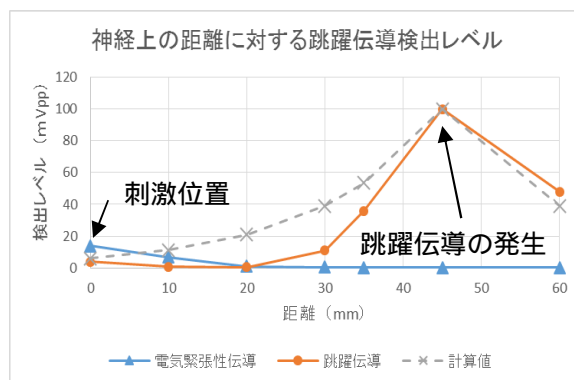


図 3 . 検出レベルの比較

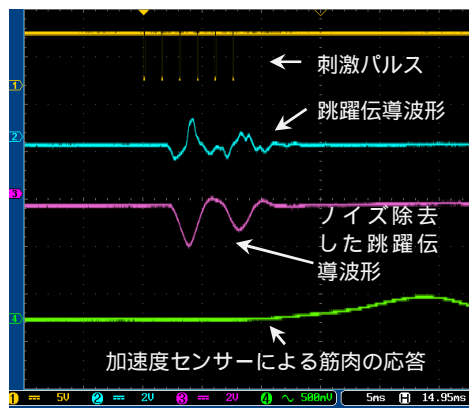


図 4 . 刺激応答を測定した例



### 跳躍伝導を検出可能な距離

ラットの尻尾の神経を使って、150mm程度の神経において、跳躍伝導がどのように伝達するかを観察した。図5の波形がその結果である。

ラットの尻尾の根本部分に刺激電極を置き、その電極からCH1: 5mm、CH2: 50mm、CH3: 100mm、CH4: 150mmの各距離に検出電極を配置し、計測用増幅器を通して跳躍伝導の様子を観測した。(a) CH1は刺激位置から跳躍5mmで跳躍伝導が発生し、2mSec後、50mm離れたところで、2度目の跳躍伝導が発生している。

(b) CH3はCH2の位置で発生した跳躍伝導がさらに、2.2mSec後、3度目の跳躍伝導が発生している。

(c) CH4はCH3とほぼ同じ波形になっているが、0.2mSecほど、跳躍伝導の位置が変わっている。このことから、電気的な伝導ではなく、CH4の位置でCH3と同じ跳躍伝導が生じており、3度目の跳躍伝導発生位置はCH3とCH4の間ではないかと考えている。ラットの尻尾の跳躍伝導速度は坐骨神経より、伝導速度が速いのかもかもしれない。

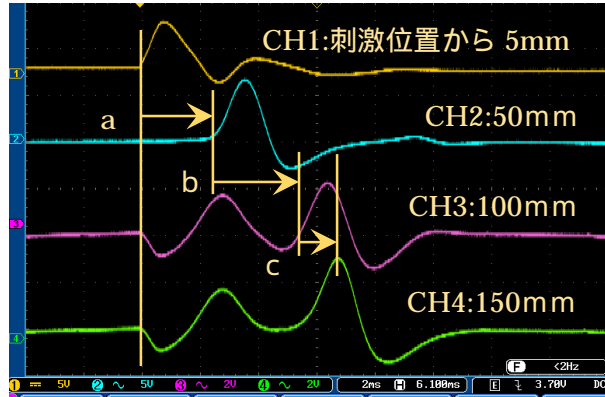


図5. 跳躍伝導の測定波形

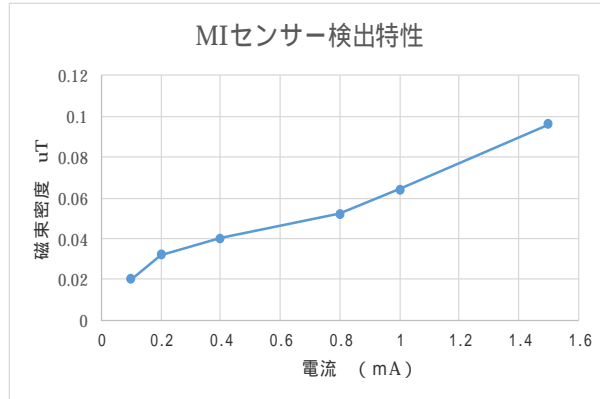


図6. 磁気センサー感度測定

### (2) 磁気センサーを用いた伝導特性の測定

磁気センサーを用いて、刺激パルスに対する神経上の磁気センサーの出力を測定した。結果を図6に示す。

刺激パルス電流 0.1mA 以下に対して、磁気センサーの出力がノイズで測定できなくなり、オシロスコープによる神経上の跳躍伝導による磁気変化を検出することはできなかった。跳躍伝導による磁束密度変化は120pTレベルということ的前提とすれば、明らかにセンサー感度が不足していると考えられる。

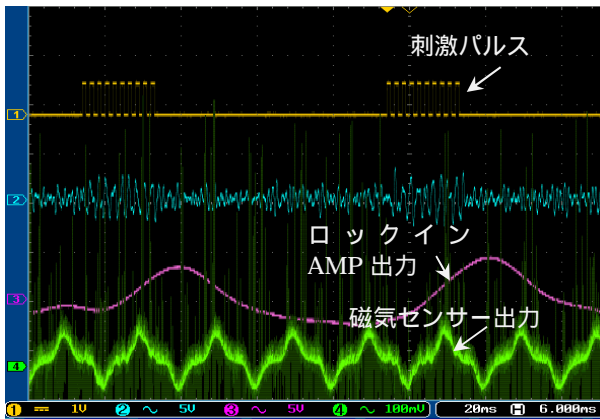
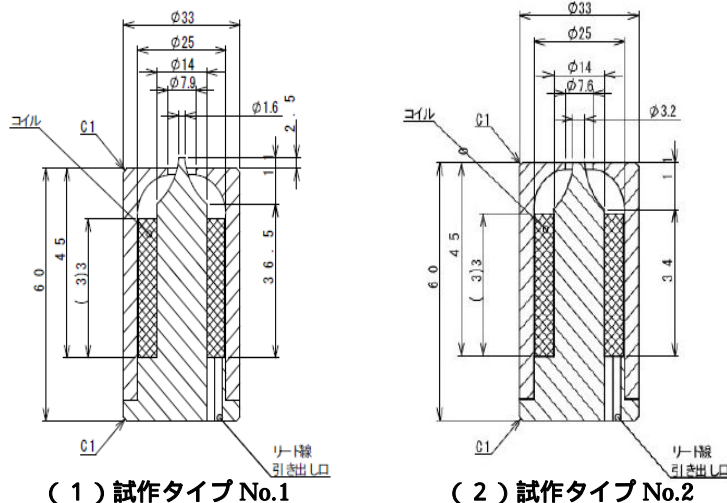


図7. 最大感度測定時の波形

### (3) 磁気センサーを2次元配置したセンサーモジュールによる神経の探索

地磁気や周辺ノイズを削減するため、検出用の磁気センサーとノイズ検出用センサーを配置して、検出用磁気センサーからノイズ検出用センサー出力を差し引くことで、検出感度を上げ、さらに、ロックインAMPを利用することで、感度アップできると考えて、検出感度を検証した。その結果、0.8nTの磁束密度まで検出することができたが、それ以下はノイズとの見分けがつけられなかった。(図7)

ロックインAMPを、刺激パルス周期に合わせることで、感度アップできたが、跳躍伝導を検出するまでには至らなかった。



(1) 試作タイプ No.1

(2) 試作タイプ No.2

図8. 試作した刺激コイル

#### (4) 磁気刺激条件の検証

神経を磁気刺激するため、磁気刺激コイルを試作した。図8はその試作コイルの例である。1Aの電流を流した場合、0.4T程度で磁気飽和し、さらに電流を流しても、強い磁束密度を得ることはできなかった。先端を外装より前に出した方が先端に向けて、強い磁束密度が出ると考えていたが、外装と同じ位置にした方がわずかではあるが強い磁束密度を発生させることができた。コイルの過渡応答電流の波形は式(2)により、求めることができ、図9のようになる。抵抗=20.8、インダクタンス=60.4mH、時定数  $=L/R=2.9\text{mSec}$ 、過渡応答時間 $=5 \tau=14.5\text{mSec}$   
コイル電流  $=E/R(1 - \exp(-R*t/L)) \dots (2)$

神経探索では、神経の跳躍伝導における不応期期間 2.5mSec 以内に、2回の刺激を加え、1回の跳躍伝導を検出しようと考え、時定数を合わせたが、図9に示すような過渡応答特性となり、試作したコイルによる磁気刺激では、このような早い周期の刺激は難しいことが判った。

過渡応答時間は 14.5mSec であり、パルス周期を 40mSec 以上にしないと強い磁束は出ない。

電流パルス幅、刺激周期を広げて、神経を刺激してみたが、それでも、神経の跳躍伝導を誘発することはできなかった。しかし、刺激コイルの外装の円筒が神経近

くの組織に触れると跳躍伝導が誘発されることが判った。これはコイルから発生する磁束による渦電流が外装に流れたためと考えられる。従って、神経周辺にコイルから発生する磁界による渦電流が発生するようにすれば、跳躍伝導を誘発可能なことが判った。

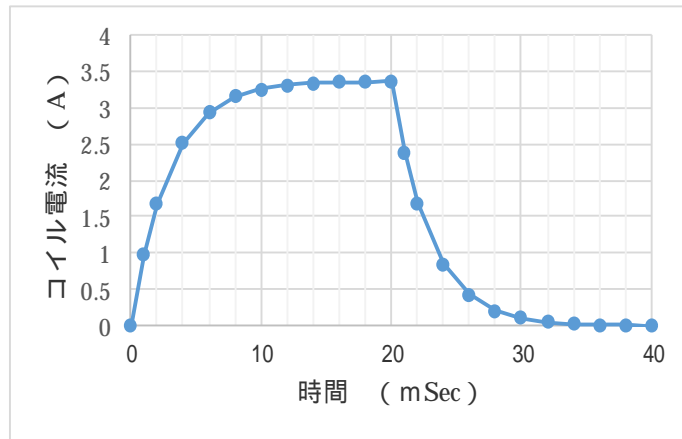


図9. コイルの過渡応答電流

#### (5) まとめ

神経上で刺激パルス印可した際、電気緊張性伝導と跳躍伝導の伝達特性を測定し、電気緊張性伝導の伝達特性は周囲に 10 から 20mm の距離で減衰しながら伝達しており、跳躍伝導は神経上、45mm ほど離れたところで、発生していることが判った。しかし、跳躍伝導が 45mm ほど離れたところで発生するというのは今まで、有髄神経においては、隣り合うランビエ絞輪で順次、跳躍伝導が誘発されるというように考えられていたことに対して、異なる見解であるが、有髄神経における伝導速度から考えると、Na<sup>+</sup>チャンネルの発火に 1mSec 必要なので、約 50m/s の伝送速度を出すには、45mm 程度の距離を置く必要があると考えている。そして、このような現象を引き起こすのは、シュワン細胞が渦巻き状に軸索を取り囲むという有髄神経特有の構造に起因すると考えている。このシュワン細胞の性質については、電気的特性や働きについて研究が進んでいない。シュワン細胞の渦巻き構造により、神経束内で隣り合う神経同士が干渉せずに跳躍伝導が行われ、神経上のシュワン細胞間は 1μm 程度の間隔しかないことから、静電結合させているのではないかと考えている。つまり、シュワン細胞間で静電結合が出来ないレベルになり、電位差が生じたとき、ランビエ絞輪で Na<sup>+</sup>チャンネルの発火が生じると考えている。

また、跳躍伝導の絶対不応期は 1.2mSec 以下、相対不応期は 3mSec 以下という値を得た。これにより、神経探索において、神経を判定するには、連続したバースト刺激パルスに神経に加え、周期 0.5mSec であれば、6 回の刺激パルスに対して、1 回の跳躍伝導が生じ (6 回の刺激が不応期内) 周期 1.5mSec であれば、6 回の刺激パルスに対して、2 回の跳躍伝導が生じる (3 回の連続刺激が不応期内) ことが判った。従って、バースト刺激を行うことで、神経による伝導であるか、その他の組織による伝導であるかを判別することは可能であることが判った。

さらに、神経上の跳躍伝導を長い神経を使って、観察したところ、3 回目の跳躍伝導になると神経束の一か所を電氣的に刺激しても、神経束内にある各軸索上での跳躍伝導距離にはバラツキがあり、神経束上で検出するのが難しくなってくることを判った。従って、神経探索において、刺激位置と検出位置の間隔距離は 100mm 程度でないとならば神経束周囲の組織上から跳躍伝導を検出することが難しいということが判った。

跳躍伝導の磁気センシングに対しては、本研究において、入手可能な磁気インピーダンス方式の磁気センサーではセンサー感度が不足しており、末梢神経における跳躍伝導を検出するには至らなかった。さらに、高感度のセンサーの出現に期待したい。

神経の探索を行うためには、例えば 1.5mSec 周期で連続刺激により、軸索上の Na<sup>+</sup>チャンネルの応答特性を利用して、神経であるかどうかを判別するため、高速な磁気刺激により、神経の跳躍伝導を誘発する必要があるが、本研究期間内では、神経を高速な周期で誘発可能な磁気刺激コイルや装置を開発するには至らなかった。神経近傍において、渦電流を効率よく発生させ、跳躍伝導を誘発させるシステム開発について、今後もさらなる検討を続けていきたい。

## 5 . 主な発表論文等

[学会発表](計 1件)

- 1) Naoto Ujiie, Toru Nakano, Kazuo Shimizu, Measurement of the action Potential of the nerve for the isolation of the nerve in the operative field: An experimental study in rabbit, 第56回日本生体医工学会大会、2017年5月3日、宮城県仙台市

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：永富 良一

ローマ字氏名：Nagatomi Ryouichi

所属研究機関名：東北大学

部局名：医工学研究科

職名：教授

研究者番号(8桁)：20208028

研究分担者氏名：中野 徹

ローマ字氏名：Nakano Toru

所属研究機関名：東北大学

部局名：医学系研究科

職名：非常勤講師

研究者番号(8桁)：50451571

研究分担者氏名：今井 陽介

ローマ字氏名：Imai Yousuke

所属研究機関名：神戸大学

部局名：工学研究科

職名：教授

研究者番号(8桁)：60431524

研究分担者氏名：出江 紳一

ローマ字氏名：Izumi Shinichi

所属研究機関名：東北大学

部局名：医工学研究科

職名：教授

研究者番号(8桁)：80176239

研究分担者氏名：氏家 直人

ローマ字氏名：Ujiie Naoto

所属研究機関名：東北大学

部局名：東北メディカル・メガバンク機構

職名：助教

研究者番号(8桁)：00825119