

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500375

研究課題名（和文） 脳皮質神経カラム電気刺激による人工感覚の生成とその制御

研究課題名（英文） Induction of tactile sensation by electrical stimulation of somatosensory cortex

研究代表者

高島 一郎（TAKASHIMA ICHIRO）

独立行政法人産業技術総合研究所・ヒューマンテクノロジー研究部門・研究グループ長

研究者番号：90357351

研究成果の概要（和文）：脳硬膜上に多点刺激電極シートを留置し、体性感覚野皮質をパターン電気刺激することにより、皮質に惹起される神経応答の時空間パターンを制御することを試みた。透明シート基板上に刺激電極点をアレイ上に配置し、電極の下に惹起された神経応答を膜電位イメージング法により可視化した。この結果、各電極に与える刺激パルスの組み合わせパラメータの調整により、皮質応答の広がりや伝播方向が操作制御できることを示した。

研究成果の概要（英文）：We investigated whether we can control the spatiotemporal profile of neuronal activity evoked by electrical stimulation with multi-electrode arrays epidurally placed on rat somatosensory cortex. A transparent and flexible sheet electrode was newly developed on which an array of electrode contacts and wire leads were printed. The sheet electrode was used for stimulating cortical surface, and then voltage-sensitive dye imaging was applied to monitor neuronal activity underneath the sheet electrode. We successfully demonstrated that the spatiotemporal patterns of evoked neural activity could be manipulated by adjusting the stimulation parameters for each electrode.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 1,500,000 | 450,000 | 1,950,000 |
| 2011年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 2012年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学／融合脳計測科学

キーワード：膜電位イメージング、体性感覚野、バレル皮質、触知覚、電気刺激

1. 研究開始当初の背景

(1) ラットは複数の頬ヒゲを用い、ヒトの皮膚では判別不能な物体表面の微妙なテクス

チャの違いを弁別する。ラット頬ヒゲによるテクスチャ弁別に関する研究では、ヒゲの動きのキネマティクス解析から脳に送られて

いるテクスチャ信号の抽出を試みたもの (Hipp et al., J. Neurophysiol., 2006) や、体性感覚野バレル皮質の単一ニューロン発火様式によりテクスチャ・コーディングの説明を試みた報告 (Arabzadeh et al., PLoS Biol., 2005) などが知られていたが、バレル皮質全体の神経応答パターンから感覚情報の皮質表現を解析した試みはなかった。そこで我々は、膜電位イメージング法を利用して神経応答を可視化する実験を行い、バレル皮質全体の応答パターンと入力された感覚情報の関係を解析したところ、触対象のテクスチャの違いがバレル皮質応答の時空間パターンの違いに顕著に表現されているという実験結果を得ていた。

(2) 一次体性感覚野への電気刺激では、ロボラットと称される研究がある (Talwar et al., Nature, 2002)。彼らは、左右半球のバレル皮質への電気刺激と報酬刺激を組み合わせ、右 or 左の頬ヒゲへの触知覚を惹起し、これをラットが取るべき行動へのナビゲーション指示信号に利用した。この研究は電気刺激により、大雑把な触知覚の再生を実証・応用したものである。脳への電気刺激そのものに関しては、皮質内微小刺激 (ICMS) 法が広く研究に利用されている。研究者は経験的に、どのような電流値や刺激パルスが個々の実験に最適であるかを知っているが、意外にも、電気刺激によって実際にどの範囲の神経細胞集団が賦活化されたかを厳密に評価・裏付けした研究は極めて少ない。脳外科手術現場では、術中マッピングに脳電気刺激を行うので、電気刺激条件と脳賦活領域の関係を科学的に示すデータを熱望しているが、彼らが参照できるデータは Ojemann らの研究報告のみだと言われている (J. Neurosurg, 1993)。Ojemann が光学イメージング手法を用いて評価した型のバイポーラ電極は、脳外科現場では Ojemann 電極と呼ばれ、信頼できる術中マッピング用電極として多用されている。しかしながら過去、多点で脳を電気刺激した際の皮質応答を定量的に評価した研究はなく、脳にパターン刺激を与える際、刺激条件を制御することで、皮質応答の時空間パターンを人工的にどの程度制御できるかはよく分かっていなかった。

2. 研究の目的

ラット一次体性感覚野バレル皮質を、多点刺激電極を用いてパターン電気刺激を行い、実際にラットに頬ヒゲ刺激を与えた場合の皮質応答の再現を試みる。バレル皮質応答の時空間パターンは、膜電位イメージング法を用いて評価し、ラット頬ヒゲ刺激の条件 (刺激方向や刺激速度など) で変化する皮質応答パターンの違いが、脳電気刺激によって忠実に再現できるかどうかを検証する。脳への電気刺激のパラメータを適切に制御し、脳に正確に感覚情報を入力するための基盤技術の確立を本研究の目的とする。

3. 研究の方法

(1) 感覚情報のバレル皮質表現

麻酔下のラットの頬ヒゲに様々な条件で感覚刺激入力を与え、その時にバレル皮質に惹起される神経活動を膜電位イメージング法により画像化する。感覚入力の違いが皮質応答の時空間パターンのどこに表現されているのかを調べる。頬ヒゲの曲げ刺激条件としては、何本に曲げ刺激を与えるか、曲げ刺激の振幅、曲げ刺激の速度、曲げ刺激の方向、を検討する。

(2) 多点刺激電極

シリコンプローブ電極を脳皮質に刺入し、電気刺激を行う。電極を刺入前に、膜電位イメージングを行い、個々の電極が個々のバレルに 1 対 1 に対応するよう座標を決定する。

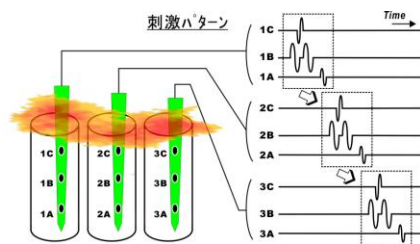


図1 刺入型刺激電極。バレル皮質の複数コラムに多点刺激電極を刺入し、パターン電気刺激を行う。

また、硬膜外刺激電極シート基板を作製し、脳表からバレル皮質のパターン刺激を行う。電極シート基板越しにバレル皮質の応答を

観測する必要があるため、透明でフレキシブルな材質で電極基板を設計する。

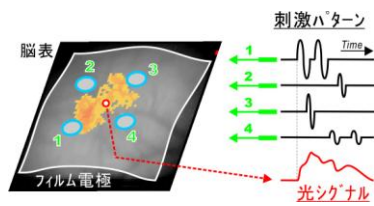


図2 脳表型刺激電極。脳硬膜上に透明フィルムシート電極基板を留置し、パターン電気刺激を行う。

刺入電極と脳表電極を用い、各電極をドライブする刺激パターンのパラメータを制御し、バレル皮質に惹起される神経活動の時空間応答パターンを解析する。

4. 研究成果

ラット頬ヒゲへの機械的な曲げ方向・振幅・速度等に依存してバレル皮質応答の時空間パターンは特徴的に変化する。膜電位イメージング法により、応答パターンの違いを解析した。最も応答の変化が顕著であった一例を図3に示す。複数の頬ヒゲに連続して、曲げ刺激入力が行われると、バレル皮質全体の応答の時空間パターンは刺激方向を反映して、吻側から尾側方向（あるいは、尾側から吻側方向）に伝播することが示された。

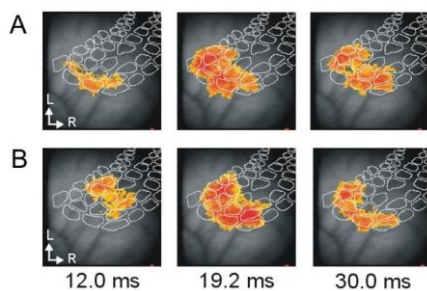


図3 頬ヒゲ曲げ刺激に対するバレル皮質応答。複数の頬ヒゲを後から前へ(A)、前から後ろへ(B)、ブラッシング刺激を行った。

感覚野皮質の時空間応答パターンは麻酔深度の影響を受けて大きく変化した。実際に感覚入力を与えた際のバレル応答と電気刺激を行った際の応答を可能な限り同一条件下で比較するため、イソフルレングス麻酔装置を導入して実験を行った。

刺入型刺激電極を用い、皮質IV層を中心に刺激電極の場所を $50\ \mu\text{m}$ ずつ変化させて膜電位イメージングを行った。各刺激電極コンタクトサイズは $30\ \mu\text{m}\phi$ であった。本実験の結果、観測された皮質応答の大きさや、応答の近傍領域への広がり方を制御するには、刺激点の場所深さよりも刺激強度の制御の方がより有効であることが明らかとなった。また、電極を脳に刺入しなくても、脳表の電気刺激によってほぼ目的が達成できることが分かった。そこで、以下、脳表型刺激電極を用いて研究を進めた。

従来は、脳硬膜を切除し、脳表を露出してから脳組織を膜電位感受性色素で染色する手順が要求されたが、本研究の中で、脳硬膜を残したまま脳組織をムラなく染色する手法を確立した。図4の写真、図5の膜電位イメージングの結果は、脳硬膜の上から組織の染色を行ったものである。

脳表を硬膜上から電気刺激するための多点刺激電極シート基板を作製した。ここで解決すべき課題は、①脳表形状カーブにフィットするフレキシブルなシート基板であること、②電極基板直下の皮質応答を膜電位イメージング法で捉えるため、電極パッドと配線領域部以外は透明であること、の2点である。ポリエチレンテレフタレート (PET) を材質とするシート状の電子回路基板を特注設計することでこの課題を解決した。試作した多点刺激電極シート基板の例を図4に示す。図中、シート電極基板は脳硬膜上に置かれているが、シート基板越しに膜電位感受性色素で染色した脳表面の観測が可能となっている。刺激電極点をシート基板上にアレイ状に配置し、様々な実験状況に対応できるよう 3×3 , 3×2 等の多種類の基板・サイズを準備した。

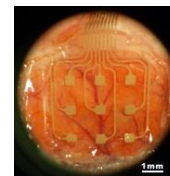


図4 透明電極シート基板

透明シート刺激電極を用い、刺激電極点がバレル皮質の吻側外側部—中央部—尾側内側部の位置に直線上に並ぶよう配置し、様々

な電気刺激パラメータで3電極サイトに電気刺激を与え、惹起されたバレル皮質全体の応答をイメージング解析した。

実験結果の一例を図5に示す。視野中段列に並ぶ3電極を4msの時間差で、視野左から右(A)、視野右から左(B)に、パターン刺激を与えた際に惹起されたバレル皮質応答のイメージング結果を示す。各電極をドライブする電流の大きさとパルス幅はイメージング結果を見ながらフィードバックをかけて適切な値に調整した。バレル皮質上を尾側から吻側方向に(A)、あるいは、吻側から尾側方向に(B)伝播する神経興奮の時空間パターンが再生された。

刺激電極点密度が粗いため(ここでは電極間隔1.6mm)、実際にラット頬ヒゲを前後方向にブラッシング刺激して記録される皮質応答パターン(図3)の詳細な特徴を再現することは困難であったが、最もシンプルな3電極パターン刺激によっても、バレル皮質が触覚方向を表現する応答の特徴が再現できた。

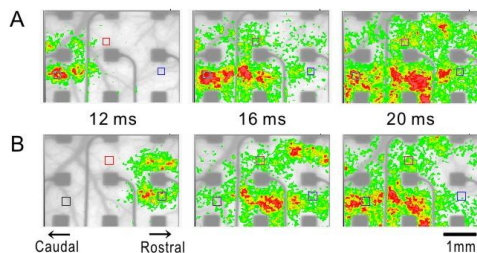


図5 透明シート電極による脳表電気刺激により惹起されたバレル皮質応答。中段列電極を左から右へ(A)、右から左へ(B)、4msの時間間隔でシーケンシャルに電気刺激を行った。

本研究課題では、脳硬膜上に留置した刺激シート電極を利用し、ラット一次体性感覚野皮質に所望の応答パターンを惹起することを試みた。本研究により、脳表に設定する刺激電極点と電気刺激のパラメータを適切に調整すれば、皮質応答の広がりや伝播方向をある程度人工的に操作制御できることが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表] (計5件)

① N. Kunori, R. Kajiwara, I. Takashima, Optical imaging of neuronal activity in bilateral primary motor cortex of rats after unilateral ventral tegmental area stimulation, 第36回日本神経科学大会, 2013年6月20-23日, 京都

② N. Kunori, R. Kajiwara, F. Shuto, S. Hisano, I. Takashima, Activation of the primary motor cortex by electrical stimulation to the ventral tegmental area: An optical imaging study in rats, The 41st Annual Meeting of the Society for Neuroscience, 2011年11月16日, Washington DC, USA

③ N. Kunori, R. Kajiwara, F. Shuto, S. Hisano, I. Takashima, Optical imaging of neuronal activity in rat primary motor cortex evoked by stimulation of the ventral tegmental area, 第34回日本神経科学大会, 2011年9月16日, 神奈川

④ I. Takashima, N. Kunori, R. Kajiwara, Voltage-sensitive dye imaging of piriform cortex activity in immature and mature guinea-pigs, The 40th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, San Diego, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高島 一郎 (TAKASHIMA ICHIRO)

独立行政法人産業技術総合研究所・ヒューマンライフテクノロジー研究部門・研究グループ長

研究者番号: 90357351