

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 9 月 9 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19362

研究課題名（和文）磁場を利用した神経束からの活動電位計測技術の開発

研究課題名（英文）Recording of the spike firing activity using magnetic field

研究代表者

橋本 浩一（Hashimoto, Kouichi）

広島大学・医系科学研究科（医）・教授

研究者番号：00303272

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,500,000円

研究成果の概要（和文）：ラットの口辺触覚信号を伝達する眼窩下神経を麻酔下で手術により露出し、高透磁率の金属Xをコアとしたトロイダルコイルを装着した。口辺の数か所に触覚刺激を行った際の神経活動の計測を行った。実験の結果、刺激場所に対応した異なるパターンの神経活動を反映すると思われる波形を計測することができた。これらの波形は、軸索への電位依存性ナトリウムチャンネル阻害剤の投与により減弱した。神経活動の計測データからサポートベクターマシンを用いてデコーディングを行ったところ、約70%の実験において80%程度の確率で刺激部位を推定することができることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、軸索を伝導する活動電位を磁場を介して計測する手段が確立されれば、軸索そのものに電極を刺すなどの侵襲性を最小限に電気活動を計測することができる。感覚神経束を伝達する活動電位は末梢で計測された感覚情報をダイレクトに伝達しているため、本研究の成果により、脳波などに比して感覚情報をダイレクトにリアルタイムで計測することが可能になることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The toroidal coil was placed around the infraorbital nerve in rats. Action potentials were generated by mechanical perioral stimulations and recorded from the toroidal coil. Perioral stimulations evoked electrical signals likely reflecting action potentials propagating the infraorbital nerve. These electrical signals were blocked by a voltage-dependent Na⁺ channel blocker. Firing patterns of action potentials were different depending on perioral stimulation sites. Perioral stimulation sites were able to be decoded with 80% accuracy using a support vector machine.

研究分野：神経生理学

キーワード：神経 軸索 活動電位

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

当研究室では日常的にガラス電極を用いて神経細胞の活動を計測しているが、ガラス電極の脳への刺入は不可避免的に組織の障害を伴う。組織の障害を伴わない電気の記録法として、磁場の活用について検討を進めていたが、通常脳組織では複数の神経細胞や軸索が入り混じって存在しているため適用はきわめて困難である。

一方、活動電位が発生すると、細胞膜の電位依存性ナトリウムチャンネルが開閉し、イオンチャンネルを細胞外から細胞内に電流が流れる。この活動電位は生体内において軸索を伝搬するが、この電流は活動電位の伝搬に伴い刻々変動し、軸索の周辺に特定の方向に時間変化する磁場を発生させる。軸索が束になっている神経束では、磁場の発生する方向に一定の傾向が見られるため、軸索を取り囲む形でトロイダルコイルを設置すると磁場の変化を指標に解析対象となる軸索の侵襲性少なく神経活動を計測できるのではないかと思いついた。

この方法が確立できれば、神経束のダイレクトな侵害を最小限に軸索を伝導する神経活動の情報を獲得できると考えられる。例えば脊髄から筋肉を支配する運動神経が通る神経束では、各々の軸索は異なる筋を支配しているため、各軸索を伝導する活動電位は、異なる筋肉を収縮させるが、本研究により、神経束内のどの軸索が活性化しているかがリアルタイムで把握できるようになれば、中枢神経から末梢神経への各々の筋を駆動するモーターコマンドや、皮膚感覚や聴覚など末梢から中枢に向かう感覚情報を読み取ることが可能になると予想される。

2. 研究の目的

神経軸索を伝導する活動電位が発生する磁場介して電気活動を計測するため、軸索をぐるりと取り囲む金属に巻かれたトロイダルコイルを設置する。これに電磁誘導により電圧を発生させ、活動電位の発生・伝播を計測する。ただ、この方法では軸索の全周囲を取り囲むようにコイルが設置されているため、神経束の計測部位を活動電位が通り過ぎたことが分かるのみである。通常神経束は多数の軸索の集まりであるが、神経束の中のどの軸索が活性化したか、についての情報は得られない。

このため、コイルを複数に分割して設置し、多コイル間で磁場を比較することにより、活性化軸索の軸索内での空間的な配置を推測することを試みる。活性化した軸索と4つの多コイル電極の相対的な位置は、神経束内の位置によりそれぞれ異なる。よって、神経束の中のどの軸索が活性化したかにより、各々の多コイル電極で計測されるシグナルの振幅が電極からの距離に従って異なることが予想される。向かい合う電極から計測されたシグナルの比率を計算することにより、神経束の中での、各軸索の相対的な位置をマッピング出来ると予想した。

3. 研究の方法

- ・トロイダルコイル作成： 高透磁率の金属 X をコアとし、エナメル線を巻き付けた自作のトロイダルコイルを作成した。金属 X の候補について、複数種類検討を行った。また、コイルの巻き数などの影響を調べるため、エナメル線の巻き数を変えた数種類のモデルを作成した。
- ・動物： 小型のトロイダルコイルを自作することに限界があるため、本研究ではマウスより大きい眼窩下神経を有するラットを研究対象として用いた。
- ・手術： ラットにケタミン (100 mg/kg) とキシラジン (10 mg/kg) の混合麻酔を行い、口辺触覚信号を伝達する眼窩下神経 (infraorbital nerve) を手術により露出した。露出された眼窩下神経に、トロイダルコイルを軸索を取り巻くように装着した。
- ・計測： 除振台上にファラデーケージを設置し、その中に置かれたヒートパッド上に手術を施したラットを乗せた。上記の麻酔下において、口辺の数か所にエアパフ刺激による触覚刺激を 45ms 間実施し、装着したトロイダルコイルに誘発された電気信号をオンラインで計測した。

4. 研究成果

実験の結果、口辺のエアパフ刺激により、トロイダルコイルにまかれたエナメル線から神経活動を反映すると思われる電気信号が計測された。エアパフ刺激なしでは電気信号は観察されなかった。これらの波形は、軸索への電位依存性ナトリウムチャンネル阻害剤の投与により減弱したことから、軸索を伝達する電位依存性ナトリウムチャンネルによる活動電位を反映するものであることが分かった。

また、エアパフ刺激を行う口辺の刺激場所を変えると、振幅や発生パターンが異なる電気信号が観察されることが分かった。本研究では、実験計画のようにトロイダルコイルを分割して設置することにより、刺激部位を推定する実験までは至らなかった。しかし、前述のように刺激場所により波形が変化することが判明したため、神経活動の計測データから機械学習により刺激位置を推定するデコーディングが可能ではないかと考え、検証を行った。分類器としてサポートベクターマシンを用いた。サポートベクターマシンのハイパーパラメータは、グリッドサーチと層化 K 分割交差検証を掛け合わせたプログラムを組んで探索した。学習の結果、約 70%の実験において 80%程度の確率で刺激部位を推定することができることが分かった。このことは、単一のトロイダルコイルでも、電気信号のパターンからいくつかの神経活動の状態を推測できることを示唆している。

解決すべき問題点としては、デコーディングを行った残りの 30%の実験では、無刺激区間で学習しても正解率が高くなっていた。このことは触覚刺激で発生するアーチファクトなどを誤って学習した可能性があるため、今後 S/N 比の向上が課題として挙げられる。また、応答の潜時が比較的遅く、持続的で大きな活動しか検知できない可能性もあるため、トロイダルコイルの感度を上げる工夫なども必要であると思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hirayama Teruyoshi, Kadooka Yuuki, Tarusawa Etsuko, Saitoh Sei, Nakayama Hisako, Hoshino Natsumi, Nakama Soichiro, Fukuishi Takahiro, Kawanishi Yudai, Umeshima Hiroki, Tomita Koichi, Yoshimura Yumiko, Galjart Niels, Hashimoto Kouichi, Ohno Nobuhiko, Yagi Takeshi	4. 巻 10
2. 論文標題 CTCF loss induces giant lamellar bodies in Purkinje cell dendrites	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-022-01478-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hisaoka-Nakashima Kazue, Ohata Kazuto, Yoshimoto Natsuki, Tokuda Shintarou, Yoshii Nanako, Nakamura Yoki, Wang Dengli, Liu Keyue, Wake Hidenori, Yoshida Takayuki, Ago Yukio, Hashimoto Kouichi, Nishibori Masahiro, Morioka Norimitsu	4. 巻 355
2. 論文標題 High-mobility group box 1-mediated hippocampal microglial activation induces cognitive impairment in mice with neuropathic pain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 114146 ~ 114146
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.expneurol.2022.114146	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kubo Reika, Yoshida Takayuki, Yamaoka Kenji, Hashimoto Kouichi	4. 巻 26
2. 論文標題 The indirect corticopontine pathway relays perioral sensory signals to the cerebellum via the mesodiencephalic junction	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 107301 ~ 107301
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2023.107301	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okuno Yuto, Sakoori Kazuto, Matsuyama Kyoko, Yamasaki Miwako, Watanabe Masahiko, Hashimoto Kouichi, Watanabe Takaki, Kano Masanobu	4. 巻 16
2. 論文標題 PTP is a presynaptic organizer for the formation and maintenance of climbing fiber to Purkinje cell synapses in the developing cerebellum	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1206245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnmol.2023.1206245	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山岡賢治、橋本浩一
2. 発表標題 Social defeat stress changes electrophysiological properties of lateral habenular neurons
3. 学会等名 第74回日本生理学会中国四国地方会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久保怜香、橋本浩一
2. 発表標題 小脳プルキンエ細胞への口辺体性感覚信号経路の解析
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 金子 涼輔、Schonewille Martijn、吉田 隆行、橋本 浩一、玉巻 伸章、柳川 右千夫、八木 健
2. 発表標題 クラスター型プロトカドヘリンによるニューロンの生存と配置の制御
3. 学会等名 第46回 日本神経科学学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久保 怜香、吉田 隆行、橋本 浩一
2. 発表標題 大脳皮質及び橋を介する口辺体性感覚信号経路の解析
3. 学会等名 第46回 日本神経科学学会大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

広島大学 大学院医系科学研究科 神経生理学
<https://physiol2.hiroshima-u.ac.jp/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------