

平成 30 年 3 月 23 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26560364

研究課題名(和文) ソフト電極を用いた長期筋内筋電図記録による筋損傷回復過程の評価

研究課題名(英文) Assessment of muscle damage recovery by electromyographic recording using implanted soft flexible electrodes

研究代表者

永富 良一 (Nagatomi, Ryoichi)

東北大学・医工学研究科・教授

研究者番号：20208028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ラット腓腹筋に導電性シルク電極を挿入し、埋め込み型テレメータを利用し無麻酔・無拘束の筋電図記録を行った。3週間以上安定した記録を行えることを確認にした。蛇毒カルディオトキシンを片脚の腓腹筋に注入し筋損傷を誘起後、1週間にわたって筋電図の変化を記録した。組織学的な損傷の経過に矛盾しない筋電図変化を得ることに成功した。周波数解析において特定の周波数帯の増減は見られなかった。

研究成果の概要(英文)：Flexible silk electrode fabricated based on PEDOT was surgically inserted to record the electromyographic (EMG) activity of rat gastrocnemius muscle. By means of implanted telemetric system, stable EMG activity of a free moving unrestrained and unanesthetized rat was recorded over the period of 3 weeks. EMG activity after the muscle damage induction by intramusclular injection of venom toxin, cardiotoxin, was recorded over the period of 1 week. The observed EMG changes was in accordance with the time course of previously known histological damage and recovery.

研究分野：体力科学

キーワード：ソフト電極 筋電図 自由行動 筋損傷 筋再生

1. 研究開始当初の背景

骨格筋にはさまざまなレベルの損傷が起きる。伸長性収縮や筋力トレーニングなどにより限界出力を反復すると、筋原線維のサルコメア骨格の機械的損傷が生じ、遅発性筋肉痛が起こるが、衛星細胞の活性化によりおよそ2週間程度で組織学的に修復が完了する。申請者は損傷骨格筋の回復過程における衛星細胞の役割について研究を進めてきた(Ono Y, et al. *J Cell Biochem* 98:642,2006, Ono Y, et al. *J Cell Physiol* 210:358,2007, Ono Y, et al. *J Cell Sci* 122: 4427,2009)。分子生物学的、細胞学的、組織学的な回復過程については多くの研究成果が報告されている。しかし骨格筋の最大の特徴である電気的な機能の回復過程についてはほとんど明らかにされていない。

電気的活動に関わる神経筋接合部の損傷再生は組織学的には確認されているが、機能的にどのような経過で回復するのかは明らかになっていない。表面電極や針電極を用いた短時間の筋電図記録は行われているが、2週間程度かかる筋損傷の回復過程を連続的に評価した例はない。表面筋電図は長時間の記録を取ることも可能であるが、体表に近い活動しか記録することはできない。針電極は、骨格筋の収縮に伴い位置が変わったり、電極自体が組織を損傷させるので、長期間のしかも骨格筋が機能している状態では記録が困難である。

近年、連携研究者の鳥光慶一は、絹糸を用いた導電性シルク電極を in vivo の記録に用いることに成功している(PLoS One 2012)。シルクは組織内に留置してもフレキシブルであるため損傷を与えにくく、生体適合性が高いため長期間の計測が可能である。このシルク電極をマウスの筋内に留置して、骨格筋損傷からの電気的な活動の回復過程を世界で初めて記録することを試みる。

2. 研究の目的

本研究の最大の目的は、損傷骨格筋の回復過程の評価である。これまでの損傷骨格筋の回復は、筋出力、超音波画像やMRIあるいは摘出筋組織の形態による評価であったが、骨格筋の最大の特徴である支配神経による機能的制御状態の回復過程は不明であった。そこで本提案では損傷からの機能的な回復を評価する上で重要な神経による電気的制御状態を評価するために、

1) 新しく開発された導電性シルクをソフト電極として骨格筋に留置し長期(少なくとも1ヶ月以上)に筋内筋電図を記録できるようにすること。

2) 長期筋内筋電記録を用いて運動やトレーニングによって生じた筋損傷の電気的な活動の回復過程をリアルタイムにモニターし、電気的にみた回復過程を記録することにある。

3. 研究の方法

損傷からの機能的な回復を評価する上で重要な神経による電気的制御状態を評価するために、

1) 新しく開発された導電性シルクをソフト電極として骨格筋に留置し長期(少なくとも1ヶ月以上)に筋内筋電図を記録できるようにすること。他チャンネルテレメトリーシステムを利用することにより、両下肢の腓腹筋あるいは前脛骨筋にそれぞれ2本ずつの導電性シルクを留置し、筋電図の記録および解析を行う。

2) 長期筋内筋電記録を用いて運動やトレーニングによって生じた筋損傷の電気的な活動の回復過程をリアルタイムにモニターし、電気的にみた回復過程を記録することにある。片側の腓腹筋あるいは前脛骨筋に蛇毒あるいは伸長性収縮トレーニングで筋損傷を起こさせ、その後の回復過程の電気活動を健側と比較しながら行う。

平成 26 年度

マウスを対象とした導電性シルク電極による長期筋内筋電図記録の試み

マウス下肢筋内への導電性シルク電極の留置

麻酔下のマウス腓腹筋に注射針をガイドとして導電性シルク電極(20.4k Ω /cm,径280ミクロン繊維束)を留置し、座骨神経の電気刺激、および体表からの脊髄あるいは腓腹筋近位の磁気刺激によって筋収縮の誘発および筋電図記録を試みた。電極の位置、reference電極の最適条件を検討した。麻酔下においても、覚醒下においても、筋収縮は観察され、電位変化は観察されるものの、安定した記録は困難であった。また誘発筋電図信号について、さまざまな信号処理や周波数解析を行ったものの、定量的評価が可能な波形信号を得ることは困難であった。組織学的な検討からは電極挿入による筋内出血等の影響がある可能性があり、計画の見直しが必要になった。

平成 27 年度

ラットを対象とした導電性シルク電極による長期筋電図記録の試み

前年度の問題点を検討した結果、操作の容易性からマウスではなくラットに変更してシルク電極による筋電図記録を試みることにした。結果、無拘束下での留置電極による筋電図記録は可能となった。電磁波シールドによるノイズ対策の改善の結果、覚醒状態・無拘束状態でも安定した筋電図記録が得られることを確認した。

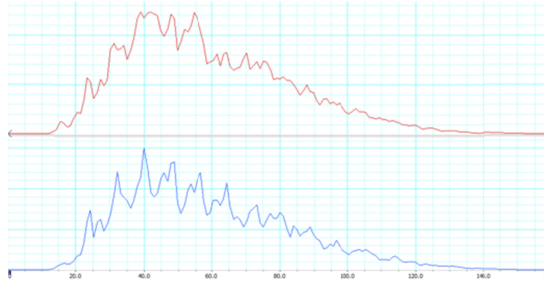
損傷骨格筋回復過程の筋電図記録と解析

1) 麻酔下のラット両下肢腓腹筋表面にそれぞれ左右1対の平織状の導電性シルク電極を設置し、腹部皮下に留置した送信機のリード線に接続し接続部を絶縁テープで覆い絶縁処置を行った。手術創を閉鎖する前に、アース接地を行ったが

ックス型の電磁波シールド内でピンチ刺激による筋収縮に伴う筋電図信号を確認後、電極およびテレメータの埋め込み処理を行った。麻酔覚醒後、自由行動時の筋電図信号を確認した。歩行時の左右で歩行周期に伴う腓腹筋収縮（足関節底屈活動）の交代性の活動が確認された。1週間の養生後、電極が留置された片側の下腿筋（腓腹筋）に蛇毒カルディオトキシン（CTX）を標準的な筋損傷誘発プロトコールにしたがいシルク電極を損傷しないように投与した。

2) 損傷骨格筋と非損傷骨格筋の筋電図比較解析

CTX 投与後、2週間にわたってほぼ毎日、自由歩行時の筋電図記録を5分以上行った。また CTX 投与により明らかな行動障害を生じることなく、体重の変化もみられなかった。損傷骨格筋と非損傷骨格筋の筋電図記録の周波数分析を行い、結果の比較検討を行った。



図は損傷前の周波数分析結果である。上段が左、下段が右腓腹筋の FFT 解析の結果を示している。

CTX 投与をしない腓腹筋の電気的活動には振幅、周波数帯域横断的なパワースペクトルの変化はみられず、少なくとも2週間以上は安定した記録ができることを確認した。

4. 研究成果

世界で初めて損傷時の筋電図変化を2週間以上の長期にわたって安定して記録することができた。

CTX による筋損傷により筋電図活動は損傷直後から変化がみられた。周波数分析の結果からは、特定の周波数帯域の運動単位への影響は認められず、筋線維タイプ非選択的に損傷の影響があったことが予測される。

損傷1日目、2日目には全ての周波数帯域においてパワーの増加がみられた。これは動作を実現するために損傷した筋線維を補う形で、損傷のないインタクトな運動単位が代償的に活動量を増したものと推測している。しかし組織学的に損傷のピーク、すなわち脱落筋線維数あるいは損傷横断面積が最大となる3日目には電気的活動は極小になった。現在の活動量半定量システムでは活動量の

低下は明確ではないが、もし歩容の解析ができれば変化はあったかもしれない。電気的活動の低下は1.2日目から比べると20%以上の低下が全ての周波数帯域で認められた。その後は1日毎に電気的活動の漸増がみられ、組織学的な回復に対応するような電気的活動の回復がみられた。

測定条件の検討やノイズ対策に時間がかかり、予定した個体数の記録を研究期間内に終了することができなかった。しかし期間終了後も引き続き記録を継続し、統計的評価後に成果を公表する予定である。今回の筋電図記録は自由歩行時であるため、全く同じ動作の記録である保証はない。麻酔下の誘発筋電図あるいは一定速度のトレッドミル歩行あるいは走行時の筋電図活動を記録することにより、より安定した比較ができるはずであり、現在検討を進めている。

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）

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

永富 良一 (NAGATOMI, Ryoichi)
東北大学・大学院医工学研究科・教授
研究者番号： 20208028

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

鳥光 慶一 (TORIMITSU, Keiichi)

東北大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号： 00393728