カーボン線維電極による交感神経活動計測

Measurement of sympathetic nerve activity using a carbon fiber electrode.

堀内邦雄（正会員）、青木和夫（非会員）、野尻知里（非会員）＊
Kunio Horiuchi, Kazuo Aoki, Chisato Nojiri＊

Abstract

A carbon fiber electrode was developed to detect sympathetic nerve activity for purpose of physiological artificial heart control. Contact impedance of a carbon fiber electrode was between that of collagen fiber electrode and Ag electrode. Renal sympathetic nerve activity was recorded by means of the carbon fiber electrode in intact nerve of rabbits. Relationship of heart rate and integrated renal sympathetic nerve activity (IRSNA) was shown quantitatively by recording vital reaction at administration of ganglionic-blocking agent. In chronic experiment, renal sympathetic nerve activity was able to be recorded during two weeks in awake rabbits. These results indicate that there is an ability to detect sympathetic nervous system activity and application to artificial heart control in this carbon fiber electrode.

Key words

carbon fiber electrode, artificial heart, contact impedance, renal sympathetic nerve activity

1. はじめに

現在、不可逆的な臓器機能の損傷に対する機能代行や、損傷した臓器機能の快復までの一時的な補助機器として様々な人工臓器の使用が試みられている。中でも人工心臓やペースメーカーのように、能動的な機能を主とする人工臓器では、生理的な機能代行を実現させる目的で、これまで駆動方式について多くの研究が成されている。人工心臓の場合では静脈灌流量に比例して血液を拍出する方式が考えられ、血液室容積の変位を検出して、血液を完全充満—完全駆出する制御方法

が用いられている¹⁾。また生体の末梢血管抵抗から心拍出量を決定してゆく方法が研究されている²⁾。ペースメーカーの制御では生体の酸素消費量に合わせ刺激レートを变化させる方法として、加速度計を用いたもの³⁾、血液の酸素飽和度を検出するもの⁴⁾などが研究されている。

Fig.1 Schematic diagram of physiologic organ control system.

1997年12月13日受付

1998年 6月 5日受理

日本大学理工学部医療・福祉工学専攻

〒101-8308 千代田区駿河台 1-8-14

＊テルモ（株）研究開発センター

〒259-0151 足柄上郡中井町井ノ口 1500

Department of Medical and Welfare Engineering, College of Science and Technology, Nihon University

1-8-14 Surugadai, Chiyoda, Tokyo, 101-8308

＊Terumo co., R&D Center

1500 Inokuchi, Nakai-machi, Asigarakami-gun,

Kanagawa, 259-0151

しかし実際の生体制御機構においてはFig. 1に示すように、中枢からの制御信号はホルモン分泌を主とする液性因子の働きや、自律神経系の作用が相互に関連し合い各臓器に伝達される。生体はこれらの各要素が統合的に機能し合った状態でその恒常性を維持している。このような臓器が人工臓器に置換えられると、上述したような人工的な制御方式を用いることになる。この場合、各臓器の自動性という部分以外、生体制御機構に従う生理的制御方式とは異なる場合がある。

さらに生体の血行動態や血液性状の変化を検出後、駆動条件を変更する制御方式では、駆動状態の変化にある程度の時間遅れを生ずることが考えられる。一方交感神経活動は感情や精神的刺激活動に対し、予期応答をすることが示されている⁵⁾。従って時間遅れの生じない駆動制御を実現させるためには自律神経系の信号を利用することが必要である。

また人工心臓の臨床使用において、多臓器不全の併発が問題とされている。この原因の一つとして、自律神経系の活動変化や、液性因子のバランス変化が関与していることが推測される⁶⁾。この問題の解決には、自律神経系の信号や、ホルモン分泌の変化を人工心臓の制御に取り入れてゆくことが考えられる。しかし人工心臓の制御に交感神経信号を応用しようとする試みは未だわずかである^{7), 8)}。

そこで我々は自律神経系の信号を人工臓器の制御機構に用いることで、生体の制御機構を取り入れた制御方式を実現させ、より生理的な動作をする人工心臓を実現させることを目的とし、交感神経活動計測用カーボン線維電極の開発を行った。計測部位は交感神経遠心性活動の代表として、腎交感神経を選択した。神経節後の腎交感神経はアドレナリン作動性神経からなる無髄線維が大部分を占めており、神経を切断せずに遠心性交感神経活動電位の挙動を観測するのに有用である。このために、これまで多くの研究で腎交感神経活動の計測が行われている^{7) - 10)}。神経活動電位計測用の電極としてはこれまで金属電極が主として用いられている^{11), 12)}。金属電極は出力信号強度が高い、機械的強度が高い、製作が比較的容易であるという利点がある反面、体動等によるアーチファクトが多いという問題もある。これらの改善を目的として、コラーゲン線維電極の研究が行われている¹³⁾。さらに切断した神経をシリコンのマイクロ電極内で再生させ、神経線維単体から直接電位を導出する研究も行われている¹⁴⁾。

我々が開発した電極は神経との接触部位にカーボン線維を用いたものである。カーボンはこれまで生体に不活性な材料として、人工弁や人工骨などに応用されている¹⁵⁾。神経活動電位計測においても、カーボンの針状電極が用いられている¹⁶⁾。しかし針電極は神経線維に損傷を与える可能性があり、かつ機械的強度を高めることが困難なため、長期使用では問題があると思われる。そこで長期間の植込みを考慮して、本電極は神経線維そのものには侵襲を与えず、神経線維束の外周にカーボン線維が密着する構造とした。この方式は慢性植込みを行う場合、神経切断による逆行変性の危険性が低いと考えられる。

Fig.2 Implantable carbon fiber electrode.

今回カーボン線維電極の家兎への植込み実験において、自律神経遮断薬の投与による生体の反応を観測することが可能であった。さらに覚醒状態での神経活動波形の記録が可能であったので報告する。

2. カーボン線維電極の開発

2.1. カーボン線維電極の試作

試作した電極の構造をFig. 2に示す。電極はX線透過性の心電計電極から、カーボン線維を抜取って使用した。カーボン線維電極は2個1組として、差動出力が得られる構造とした。電極の間隔は3mmである。片側の電極は単線線維が約7 μmのものを数千本束ねた構造であり、大きさはφ 0.5 × 1.5mmである。カーボン線維は火炎処理により、表面の樹脂類を除去した。電極の片端にはφ 76 μmのテフロン被覆白金線を巻きつけリード線とした。カーボン線維とリード線の接触抵抗を低減させるため、両者の接触部分は導電性接着剤にて固定した。カーボン線維電極の上下には不感電極として、φ 127 μmのテフロン被覆白金線を1本ずつ用いた。不感電極は電極本体の外周部に白金線部が一部露出するように配置した。4本のリード線はφ 1mmのシリコンチューブ内を通してコネクタに接続した。電極先端部の大きさは2 × 6 × 4.5mmであり、シリコン樹脂の注型にて成形した。電極先端からコネクタ部までの長さは150mmとした。電極内を神経線維が通る部分はφ 0.3mmの円形の溝になっている。神経線維を通す溝部分には電極側面から続くスリットが切っており、剥離した神経線維を切断することなく電極内に導入することが可能である。

2.2. カーボン線維電極の特性評価

試作したカーボン線維電極の電気的特性を評価するために、接触インピーダンスの測定を行った。比較のためにAg電極と、コラーゲン線維電極を試作し同様に測定した。Ag電極の構造はφ 0.5mmの銀線を3mm間隔で2本配置し、先端を鉤状に曲

Fig.3 Contact impedance of collagen fiber, carbon fiber and Ag electrode was plotted against frequency.

げた形状であり、不感電極はスズめっき銅線の縫い線を用いた。コラーゲン線維電極は Ninomiya ら^{1,3)}の方法を応用して羊の皮膚より製作した。

カーボン線維電極とコラーゲン線維電極は電極表面安定化のため、電極先端部を室温に放置した生理食塩水中に1週間浸漬したのち測定に使用した。各電極はそれぞれ室温の生理食塩水中(25.1℃)に先端を浸し、インピーダンスアナライザ(4194A Impedance / Gain-Phase analyzer, HP)にて、電極間のインピーダンスを計測した。測定範囲は100Hz~5kHzとした。

測定結果を Fig. 3 に示す。各電極の接触インピーダンスは単調な右下がりの曲線を示した。1kHz における接触インピーダンスはコラーゲン線維電極が 21.3k Ω、カーボン線維電極が 6.95k Ω、Ag 電極が 261 Ωであった。カーボン線維電極は測定範囲内の周波数帯域全体において Ag 電極と、コラーゲン線維電極の中間の値を示した。

3. 腎交感神経計測

3.1. 実験方法

急性実験は体重 2.3~3.8kg の家兎 38 羽を用いて行った。麻酔は nembutal (Pentobarbital sodium, Dainabot) を 25mg/kg 用いた。麻酔前に前投与薬等は用いなかった。なお実験中に体動などの覚醒反応が表れた場合は2倍希釈の nembutal を適宜輸液ラインより投与した。麻酔後 ECG 電極を装着し、頸部動脈よりそれぞれ動脈圧モニタライン、輸液ラインを確保した。次に左側上位で側臥位に保定し、左側腹部より経後腹膜に左腎に達し、腎動脈に伴走する腎交感神経を、できるだけ非侵襲的に約 10mm 剥離した。Ag 電極を用いて活動電位が得られることを確認したのちカーボン線維電極を装着した。

腎交感神経であることの同定は以下の手法によって行った。解剖学的に腎動脈に伴走して走行する神経線維であること。

動脈圧波形に同期したバースト波を呈すること。また実験結果に影響を与えない場合は交感神経遮断薬である imidalin (Torazoline hydrochloride, 山之内) の静注によりバースト波が抑制されること。乳酸リンゲル液や、副交感神経抑制薬である atropine (Atropine sulfate, 田辺) の静注では変化がみられないこと。末梢側の鑷子による損傷では変化がなく、中枢側の損傷で信号が消失することで確認を行った。

測定項目は ECG、動脈圧、交感神経活動とした。自律神経遮断薬である arfonad (Trimetaphan camsilate, Roche) の静注により交感神経活動を変化させ、心拍数と交感神経活動の関連性について検討した。

慢性実験は体重 2.8~3.2kg の家兎 6 羽を用いた。測定は ECG および交感神経活動のみとした。カーボン線維電極周囲は高粘度シアノアクリレート系瞬間接着剤にて部分的に固定した。術後の腎交感神経活動の計測は家兎を保定用のケージに移し、覚醒状態にて行った。

動物実験に使用した計測システムのブロック図を Fig. 4 に示す。測定には日本光電ミニポリグラフシステム(RMP-6004M)を用いた。ECG 信号計測は生体電気計測用アンプ(AB-601G)を用いた。さらに瞬時心拍計ユニット(AT-601G)により心拍数(HR)信号を記録した。血圧センサからの信号はひずみ圧力用アンプ(AP-601G)を用い動脈圧(AoP)として計測した。カーボン線維電極からの信号は入力箱(JB-101J)を通し、高感度増幅器(MEG-1200)にて 50Hz~3kHz の帯域で増幅し、腎交感神経活動(RSNA: Renal sympathetic nerve activity)として記録した。RSNA はさらに多用途積分ユニット(EI-601G)を用い全波整流後 1s の時定数にて積分し、積分腎交感神経活動(IRSNA: Integrated renal sympathetic nerve activity)として記録した。データの記録には感熱記録器(Omnirecorder 8M24, NEC)およびパーソナルコンピュータ(Venturis 5100, DEC)を用いた。コンピュータへの信号入力には A/D コンバータ(NI-DAQ AT-MIO-16E-10, NI) および計測用ソフトウェア(LabVIEW3.1.1, NI)を用いた。心拍数と IRSNA 信号のサンプリング周波数は 4Hz とした。

3.2. 計測結果

試作したカーボン電極を用いて家兎の腎交感神経活動を記

Fig. 4 Schematic diagram of recording system.

Fig.5 Recording of renal sympathetic nerve activity in anesthetized rabbit.

録した一例を Fig.5 に示す。図において上から ECG、HR、AoP、RSNA および IRSNA を示す。RSNA バースト波は動脈圧波形に同期して発生し、ほぼ $20 \mu\text{V}$ p-p の振幅であった。呼吸や体動などによるアーチファクトはわずかであったが、動脈圧波形に対応した部分にバースト波が表れない場合もあった。ノイズレベルは $6 \mu\text{V}$ p-p 程度であったが、電極の装着状態により変動があった。ECG 波形には呼吸による基線変動が表れているが、特に体動が激しい場合を除いては良好に心拍数の記録が可能であった。

arfonad の静注による心拍数と IRSNA の反応の一例を Fig. 6 に示す。Fig. 6(a) はサンプリング周波数 4Hz のデータを 10

ポイント毎の平均値にてプロットしている。arfonad 25mg を静注後心拍数および IRSNA は直ちに低下し、20 分後より徐々に増加傾向にあった。途中覚醒による体動が増加したので、nembutal を追加投与した。Fig. 6(b) に心拍数と IRSNA の関係を示す。データの観測数は $N = 1200$ ポイントであり、相関係数は $R = 0.64$ と正の相関を示す傾向にあった。HR (bpm) と IRSNA ($\mu\text{V}\cdot\text{s}$) との関係は

$$HR = 25.2 \text{ IRSNA} + 98.9 \quad \dots (1)$$

と表された。

慢性実験において、記録した交感神経活動波形の一例を Fig. 7 に示す。この例では神経活動波形は術後から約 2 週間記録可能であった。しかし 3 日目以降より波形の振幅は徐々に低下していった。2 週間目以後神経活動波形はほぼノイズレベル以下に低下し、認識不可能となった。さらに 1 ヶ月後ではノイズレベルの増加が見られた。カーボン線維電極を植込んだ家兎のうち 3 羽について覚醒状態での交感神経活動波形が記録可能であった。

4. 考察

カーボン線維電極の特性評価のため、接触インピーダンスの計測を行った。結果として試作電極はコラーゲン線維電極と Ag 電極の中間値を示し、1kHz では $6.95\text{k}\Omega$ であった。Ninomiya らは、コラーゲン線維電極の接触インピーダンスは 1kHz において $12.9\text{k}\Omega$ であったと示している¹³⁾。しかし比較のために試作したコラーゲン線維電極では $21.3\text{k}\Omega$ と高い値を示した。試作した電極のコラーゲン線維は羊皮を加工して用いており、Ninomiya らの用いた牛皮とは異なるが、製作工程はできるだけ同様にした。しかし結果的に値が異なったのは物性や成分にわずかの差があったためと考えられる。また米沢らは Ag 電極におけるインピーダンスは数 $\text{k}\Omega$ と示しているが¹⁷⁾、試作した Ag 電極では 261Ω とかなり低い値であった。各電極とも周波数の増加に従いインピーダンスは減少する傾向にあった。また神経活動信号の周波数帯域は $400\text{Hz} \sim 1\text{kHz}$ 程度であり、かつ計測用アンプの入力インピーダンスが $100\text{M}\Omega$ 程度と十分高いことなどから、今回開発したカーボン線維電極は電気的特性において RSNA 計測に十分使用可能

(a) Time series data.

(b) Correlation between HR and IRSNA.

Fig.6 Physiological reaction by arufonad infusion.

Fig.7 Recording signals of renal sympathetic nerve activity in awake rabbit.

な電極であり、低ノイズで神経活動信号が得られると考えられる。

動物実験において、神経周囲組織の剥離と電極の装着には若干の慣れを要するが、神経線維そのものに侵襲を与えることなく、装着後直ちに活動電位の記録が可能であった。電極の固定に用いた、高粘度シアノアクリレート系瞬間接着剤は浸透性が低く電極特性への影響は見られなかった。周囲組織への固定も良好で、縫合糸等を用いた場合よりも有効であると思われた。

カーボン線維電極により記録された RSNA インパルスは振幅が $20 \mu\text{V}$ p-p であり、わずかな体動などではアーチファクトの影響がほとんどみられず、安定した記録が可能であった。波形のノイズレベルは約 $6 \sim 12 \mu\text{V}$ p-p であった。これは電極の取り付け角度を微妙に変えると低下することなどから、不感電極が生体組織と良好に接触していないためと考えられる。従って不感電極の接触面積を大きくするなど今後の改良が必要である。

Fig. 5 の交感神経活動記録では、RSNA 波形と共に ECG 波形、動脈圧波形を示した。RSNA インパルスは動脈圧波形と同期して表れているが、場所によりインパルスの出現していない部分もあった。これは主に nembutal による麻酔の影響および血圧上昇の影響と推定される。Schad らは halothane による麻酔により RSNA が抑制されることを示しており¹⁰⁾、nembutal

においても同様の結果が表れたものと考えられる。記録中体動があり、ECG 波形には一部基線に筋電の影響が表れている。同時に RSNA 波形にも影響が表れているが、神経活動信号と比較すると低い値であるので、信号処理により除去できるレベルであると思われた。また ECG 波形では呼吸による基線の動揺がみられるが RSNA 波形には表れなかった。従って、今回開発したカーボン線維電極はこれまでの神経活動計測用電極と比較して同等の計測安定性がある電極であるといえる。

心拍数と IRSNA の関連については麻酔下にて自律神経遮断薬を投与することにより検討した。Fig. 6(a) に示した時系列の生体反応では、投与直後に IRSNA はノイズレベルに低下し、心拍数も一旦大きく低下し、その後も徐々に低下を続けた。10 分後から心拍数が増加したのは覚醒によるものと考えられる。nembutal 投与後 IRSNA はさらに低下したが、心拍数は一旦上昇した。このように nembutal の投与前後などでは IRSNA と心拍数が逆の関係を示した部分もあるが、Fig. 6(b) に示した IRSNA と心拍数の相関では $R = 0.64$ とある程度高い相関が示された。従って、RSNA をこれまでよりも長い 1s の時定数で積分して得られた IRSNA は交感神経活動を定量的に表す手段として有効であると思われる。

心拍数と IRSNA の関係を 1 次式に近似した結果を式(1)に示した。両者の比例定数は $25.2 \text{ bpm} / \mu\text{V} \cdot \text{s}$ となったが、実験毎にばらつきがあった。これは実験動物自体の個体差や、神経線維周囲組織の剥離の程度などの手術手技による差、および測定時のノイズレベルの差によるものと考えられる。Schad らの研究では 3 匹の猫でトレッドミル負荷による IRSNA の変化を示している¹⁰⁾。彼らの実験で IRSNA はトレッドミル負荷の前後での比率として示されている。従って個体差などの影響を除くためには適切なコントロール値を設定してその比較として示すなどの処理が必要であると考えられる。また生体の反応自体複雑な要素が関連し合っていること、実験条件が麻酔下という特殊な状態にあることなど、今後の検討課題である。

さらに式(1)において、定数項の値は 98.9 bpm であった。これは交感神経活動が停止しても心臓は一定の拍動数を維持していることを示しており、心臓の自動性によるものと考えられる。

以上示したように、IRSNA と心拍数の関連について、全身麻酔下という特殊な状態での反応において計測することが可能であり、ある程度定量的に表せることが明らかとなった。

慢性実験では覚醒家兎における腎交感神経活動電位の記録が可能となった。計測した RSNA 波形は経時的に振幅が減少したが、ほぼ術後 2 週間目まで認識することが可能であった。振幅の減少は剥離した神経周囲組織の再生により、電極と神経線維の接触抵抗が増加したことが原因と考えられる。

またカーボン線維の生体親和性から装着方法の改良により、さらに長期間神経活動記録が可能となることが推測される。現在 Yambe らにより補助人工心臓制御に交感神経活動信号を用いる試みがなされているが⁷⁾、長期間の応用研究はいまだ

少ない。また Toda らは人工心臓駆動下で心室細動を発生させ、神経活動に与える影響について検討している¹⁸⁾。これらの研究のように人工心臓を使用し、かつ病的状態での生体の反応についての研究は非常にわずかであり、今後人工臓器の実用化が広まることに伴いさらに検討が必要な課題である。このような問題の解明において我々の開発したカーボン線維電極は有効な手段であると思われる。

さらに迷走神経活動も人工臓器の制御に応用してゆくことが考えられ、カーボン線維電極の使用が可能と思われる。交感神経活動と迷走神経活動は概ね相反する挙動を示す。心臓制御においては両者が相乗効果を示し心拍数の速やかな変化をもたらしている。しかし現在では覚醒状態での迷走神経活動の計測が困難であることから、人工臓器制御への応用は進んでいない。各臓器に主として抑制的に働く迷走神経活動の応用は外乱に対し安定した制御方式の確立に有効であると推定され、今後重要な課題である。

5. まとめ

人工心臓の駆動制御に、自律神経系の反応を応用することを目的とし、交感神経活動計測用カーボン線維電極の開発を行った。カーボン線維電極の接触インピーダンスはコラーゲン線維電極と、Ag 電極の中間の値を示した。自律神経遮断薬の投与による、IRSNA と心拍数変化の関係を定量的に示すことが可能であった。慢性実験においては、家兎の RSNA を覚醒状態にて2週間連続的に記録することが可能であった。以上の結果から、これまで間接的に推定していた交感神経活動を直接的に長期間連続測定する手段として、カーボン線維電極の実用可能性が示された。

6. 参考文献

- 1) Sakaki T, Takatani S, Siono M, Sakuma I, Noon GP, Nose Y, DeBaKey E. A biolaised, compact, low noise, high performance implantable electromechanical ventricular assist system. ASAIO trans. 1991;37:M249-M251.
- 2) Abe Y, Chinzei T, Imachi K, et al. Can total artificial heart animals control their TAH by themselves? One year survival of a TAH goat using a new automatic control method (1/R control). ASAIO J. 1994;40:M506-M509.
- 3) 豊島健, 辻隆之, 戸川達男, 三宅路裕, 土屋喜一, 須磨幸蔵. 身体活動度によるレート制御方式のペースメーカ. 人工臓器 1985;14(3):1453-1456.
- 4) Wirtzfeld A, Heinze R, Liess HD, Stangl K, Alt E. An active optical sensor for monitoring mixed venous oxygen-saturation for an implantable rate-regulating pacing system. PACE 1983;6:494-497.
- 5) 二宮石雄, 西浦直亀, 岡田芳和. 循環の神経制御. 最新医学 1980;35(6):1111-1118.
- 6) 矢倉明彦, 妙中義之, 高野久輝, 他. 人工循環時の血漿心房性ナトリウム利尿ペプチドおよび血漿レニン活性の動態. 人工臓器 1988;17(3):858-861.
- 7) Yambe T, Nitta S, Katahira Y, et al. The prospective control of a total artificial heart using sympathetic tone and hemodynamic parameters In: Akutu T, Koyanagi H. Artificial Heart 3. Tokyo: Springer-Verlag, 1991:188-195.
- 8) Toda K, Tatumi E, Taenaka Y. How does the sympathetic nervous system behave during non pulsatile circulation?. ASAIO J. 1995;41:M465-M468.
- 9) Kirchner F. Correlations between changes of activity of the renal sympathetic nerve and behavioural events in unrestrained cats. Basic Research in Cardiol 1973;69(3):243-256.
- 10) Schad H, Sellar H. A method for recording autonomic nerve activity in unanesthetized, freely moving cats. Brain Research 1975;100:425-430.
- 11) 田頭功, 松尾正之. 生体用金属電極の交流特性—生理食塩水中の金、白金、電極の電気二重層容量の検討—. 医用電子と生体工学 1972;10(3):222-230.
- 12) Hagbarth KE, Vallo ÅB. Mechanoreceptor activity recorded percutaneously with semi-microelectrodes in human peripheral nerves. Acta. Physiol. Scand. 1967;69:121-122.
- 13) Ninomiya I, Yonezawa Y, Wilson MF. Implantable electrode for recording nerve signals in awake animals. J. Appl. Physiol. 1976;41(1):111-114.
- 14) Kovacs GTA, Stormont CW, Rosen JM. Regeneration microelectrode array for peripheral nerve recording and stimulation. IEEE Trans. Biomed. Eng. 1992;39(9):893-902.
- 15) Hastings GW. Biomedical applications In: Fitzer E. Carbon fibres and their composites. New York: Springer-Verlag, 1985:261-271.
- 16) Malagodi MS, Horch KW, Schoenberg AA. An intrafascicular electrode for recording of action potentials in peripheral nerves. Annal. Biomed. Eng. 1989;17:397-410.
- 17) 米沢良治, 二宮石雄. 末梢神経活動記録用コラーゲン線維電極. 医用電子と生体工学 1976;14(5):387-392.
- 18) Toda K, Tatumi E, Taenaka Y, et al. Influence of ventricular fibrillation on sympathetic nerve activity under biventricular bypass circulation. Artificial Organs 1996;20(2):143-146.