

小動物における神経疾患の電気生理学的診断法の確立

THE ESTABLISHMENT OF THE ELECTROPHYSIOLOGICAL
DIAGNOSTIC METHOD OF
THE DISEASES OF THE NERVOUS SYSTEM
IN SMALL ANIMALS



YAMAGUCHI
UNIVERSITY

山口大学大学院連合獣医学研究科 基礎獣医学専攻

The United Graduate School of Veterinary Science,

Yamaguchi University

学籍番号 04-8501-017-1

和田 安弘

Yasuhiro WADA

2010

目次

第1章	要旨	1
第2章	緒論	5
第3章	研究1	12
	第1節 緒言	14
	第2節 材料及び方法	15
	第3節 結果	18
	第4節 考察	20
	第5節 小括	22
第4章	研究2	23
	第1節 緒言	25
	第2節 材料及び方法	27
	第3節 結果	30
	第4節 考察	33
	第5節 小括	35
第5章	研究3	36
	第1節 緒言	38
	第2節 材料及び方法	40
	第1項 正常なイヌの脳波・SEP・VEP	40
	第2項 てんかんと診断されたイヌの脳波	44

第3節 結果	47
第1項 正常なイヌの脳波	47
第2項 SEP	47
第3項 VEP	48
第4項 てんかんのイヌの脳波	48
第4節 考察	50
第1項 正常なイヌの脳波	50
第2項 SEP	50
第3項 VEP	52
第4項 てんかんのイヌの脳波	52
第5節 小括	54
第6章 総括	55
謝辞	58
参考文献	59
図説	68
図表	74

第 1 章

要旨

本研究の目的は電気生理学的手法を用いて、動物の運動機能に関する末梢神経と中枢神経の関係についての理解を深め、さらに、中枢神経系の機能評価をより確実にするための診断技術を確立し、神経疾患の治療の基礎とすることである。

今回、脊髓ネコを用いて、後肢の運動ニューロンと体幹皮膚求心性神経との関係と、体幹の運動ニューロンの形態学的特徴とその機能について検討した。この研究及び文献を検討することで、特に脊髓内の神経経路、運動ニューロンの機能、形態面の知識を深めた。また、身体的・神経学的に異常の認められないビーグル犬を用いて、多電極による脳電位記録と脳波のトポグラフィ解析の有用性について検討した。さらにトポグラフィ解析を用いて、てんかん症例の脳波の解析に対する評価も行った。

後肢の運動ニューロンと体幹皮膚求心性神経の関係を検討するために、細胞内記録法を用いて、脊髓ネコにおける後肢運動ニューロンに対する体幹皮膚求心性神経の応答について検討した。第2-5 腰髄節に入力する体幹皮膚求心性神経への刺激が、多シナプスの神経経路を介し、後肢運動ニューロンで多様なタイプの多シナプス電位を発生させた。体幹皮膚求心性神経は、主に屈筋運動ニューロンでは興奮性シナプス後電位を、伸筋運動ニューロンでは抑制性シナプス後電位を誘発した。多シナプス電位のサイズと潜時は、刺激された神経の髓

節と運動ニューロンの髄節の近接性と関連していた。これらの結果から、体幹皮膚求心性神経から後肢運動ニューロンに至る神経経路は、体幹と後肢を協調させる重要な役割を果たしている事が示唆された。

体幹の運動ニューロンの形態学的特徴とその機能との関係については、脊椎ネコの第4 腰髄分節（L4）の腰最長筋を神経支配する運動ニューロン（LM）の樹状突起の3次元分布を、細胞内染色法を用いて調べた。LMを電気生理学的に同定し、バイオサイチン注入により染色し、連続した組織切片から再構築した。LMの細胞体は、主に腹角の外側腹側部に位置していた。樹状突起の分布は、調べたすべての運動ニューロンにおいて一定のパターンを示した。LMの樹状突起は多方向への分布を示し、その分布パターンは、運動ニューロンにより異なっていた。試験した全運動ニューロンで、樹状突起は脊髄内で白質へ分布していた。LMの最も重要な形態学的特徴は、その樹状突起の分布には差があることであった。後肢からの末梢求心性入力の影響と、運動ニューロンの形態学的特徴との間に関連性はみられなかった。

イヌにおける脳波と体性感覚誘発電位のトポグラフィ表示の研究においては、中枢神経系の機能評価法の充実のために、身体的・神経学的に正常なビーグル犬10頭で、頭蓋上に25個の記録電極を配置し、睡眠脳波、左側正中神経への電気刺激による体性感覚誘発電位（SEP）や両眼の閃光刺激による視覚誘発電位（VEP）のトポグラフィ表示を用いて解析を行った。25本の記録電極をそれぞれの犬の頭蓋に格子状に配置した。睡眠脳波では δ 波と θ 波の高スペク

トル帯 (Focus) が大脳皮質のそれぞれ前方両側と外側後方で増加していた。SEP の潜時 10-50msec におけるピークのトポグラフィ表示は、比較的低閾値の筋または皮膚求心性線維が、反対側の体性感覚野上に電位を誘発することを示した。潜時 100msec 付近の VEP のピークのトポグラフィ表示は後頭葉の投射野を示した。25 本の電極を用いたトポグラフィ表示はビーグル犬において大脳皮質の機能的相違を明瞭に示した。

また、多電極記録による脳波のトポグラフィ解析を、臨床に応用するために 3 例のてんかん症例に対して 16 個の記録電極を配置し脳波を記録し解析を行った。てんかん症例の脳波では、 δ 波・ θ 波共に正常犬と異なる Focus の分布を示した。

よって、本実験から多電極記録による脳波のトポグラフィ解析は臨床における中枢神経系の診断に有用であることが示唆された。しかし、トポグラフィ解析を臨床応用するためには臨床例を増やすなど、さらなる研究が必要とされる。

第 2 章

緒論

バイオフィリアという概念がある。「人類は自然の動植物に囲まれた環境で進化し、自然環境との関わりを中心に物事を考える脳を獲得した。基本的な欲求として、他の生物が存在する環境が必要であり、かつその生物が最良の状態であるとき、ヒトはそこから精神的安定を得る事が出来る」という考え方である[51, 53]。近年、人間社会では環境破壊、高齢化、核家族化、児童虐待、更には無縁社会と様々な社会問題が持ち上がってきた。このような現代社会を獣医学的観点から考えるとき、イヌ・ネコなどのいわゆるコンパニオンアニマル；伴侶動物は、自然との接点でもあり、人と人を結びつけ、我々の生活に様々な恩恵を与え、私達人間の生活に必要不可欠な存在であると言える。

イヌ・ネコを中心とする小動物臨床領域においては、ヒューマンアニマルボンド（HAB）すなわち「人と動物の絆」を中心にした医療；ボンドセンタードプラクティス、伴侶動物医療という概念が広まりつつある。

HABの意識の向上に伴い、家族の一員として家庭内で生活するようになった伴侶動物を扱う伴侶動物医療において、我々獣医師は多様な疾患に対応しなければならない。様々な検査機械の開発、技術の向上などにより、より先進的で高度な動物医療が提供されるようになった。従前の技術では治療対象とはならなかったり、見逃されたりしていた疾患も早期に正確な診断と適切な治療が行われ、多くの動物の命が救われるようになった。このような獣医学の発展

に伴い伴侶動物たちも寿命が延び、人間と同じように加齢に伴う疾患に罹患することも多くなってきた。そのなかで、伴侶動物の神経疾患に関しては、その治療対象は増加してきており、椎間板疾患などの運動器疾患のみならず、脳腫瘍、認知症やてんかんといった中枢性疾患も増えている。これらの疾患は伴侶動物の家族にとっては自らが積極的に関わり、リハビリテーション・介護・治療をすべき疾患であり、伴侶動物のQOL向上に家族の介入が重要な役割を果たしている。このような家族の治療に対する負担を軽減するためには、神経疾患のより正確な診断に基づく適切な治療が不可欠であると言える。

中枢神経系の疾患の診断法には形態学的診断法としてX線検査や、CT、MRI検査がある。一方、機能的診断法としては、電気生理学的診断法、磁気診断法、さらには機能と形態を同時に評価する診断法として核医学診断法やfMRIがある。いずれの診断法も医学領域では基本的な方法となっており、不断の改善努力によってその精度向上、利用範囲の拡大が行われている。小動物臨床領域においても、中枢神経系の診断法にはCTやMRIの導入が進みつつあり、診断技術は急速に向上している。しかし、中枢神経系の機能的診断法としては目視による神経学的検査が主であり、電気生理学的診断法などについては確立しているとは言い難い。

機能的診断法の小動物臨床領域への導入を考えると、ハードウェア（機器の価格や操作性）やソフトウェア（方法論や結果の解釈）の問題を考慮すると、もっとも現実性の高い検査法は電気生理学的検査法であろう。

電気生理学的検査法には誘発電位と脳波、筋電図などがあり、未だ一般的とはいえないが、獣医学領域でも実施されることが増えつつあり、学術論文や臨床家向けの専門誌でも紹介されている。従って、誘発電位記録装置や脳波計を導入すれば記録そのものはそれほど困難ではない。しかし検査結果の解析や分析法が十分に確率されているとは言い難い。たとえば、脊髄機能障害による運動機能の低下を電気生理学的検査で評価する場合は、H波やF波などの脊髄反射弓が関与する誘発筋電図の測定が必要である。また、てんかん発作と思われる発作が確認された場合、ヒトでは脳波や誘発電位を二次元的に表示するトポグラフィ解析により、脳腫瘍による徐波やてんかん棘波の局在から病巣部位を推定しに診断に寄与している。しかし、いずれの方法も獣医学領域では十分に応用されているとは言い難く、臨床への応用は試みられていない。特に前者の運動機能障害では、ヒトの二足歩行とは異なり、動物固有の四足歩行の生理的な運動機能調節機構については、未解明な部分も少なくない。

そこで、運動機能の評価における新たな視点を確立するために、姿勢の維持や運動に重要な体幹や四肢の筋活動制御に関する基礎的な神経生理学的知見を明らかにすることで、新たな電気生理学的診断法の開発への糸口となることを目的として実験を行った。一方、動物の神経疾患で、遭遇することが増えつつある脳疾患の電気生理学的検査法としては、動物でもヒトと同様に脳波および誘発電位の記録や解析法の改善が診断学に大きく寄与することが期待される。

動物の運動機能の病態生理学を理解するには、基本的な神経経路の反射経路とその現象発現の最終段階である運動ニューロンを理解することが重要である。なかでも、姿勢の維持や運動に重要な、体幹や四肢の筋制御に関する生理学的知見は、運動障害やその回復過程の理解に重要だと考えられる。体幹は動物の身体を中心に位置している身体の主要部位であり、ほとんどの種類の動作中や姿勢維持において、動物の重心（COG）は体幹に位置しているからである。COGの位置は動作により影響を受け、すべての身体部位の動きは体幹筋により制御される。歩行運動中の体幹筋の神経制御についてはいくつかの報告がある[44, 47]。脊柱起立筋は脊柱の剛性を高めたり、歩行運動中に外側から内向き動作を誘発したりすることにより、身体のバランスを制御している。Macphersonら[30, 31]は、立位での体幹筋の神経制御活動を報告した。細胞内記録法を用いた実験では、体幹筋の運動ニューロンには、筋肉や様々な身体部位の機械的受容体からの皮膚求心性神経入力強い役割を果たしていることが示されている[45, 46, 48, 49]。

神経疾患における運動機能の回復には、体幹筋による身体平衡の制御が重要である事は容易に想像できる。また、前述した生理学的知見は、その末梢からの体性感覚刺激が大変重要な役割を果たしていることが推測される。つまり、運動ニューロンと中枢神経との関係を理解することは神経疾患、中でも運動障害の治療および機能回復(リハビリテーション)に非常に有用となることが期待される。そこで、電気生理学的手法を用いて、後肢運動ニューロンに対する

体幹皮膚求心性神経の刺激の効果について調べた。

さらに、運動ニューロンの形態学的特徴は、その機能的特性を反映すると考えられることから、主要な脊柱起立筋のひとつである腰最長筋を神経支配する運動ニューロンの細胞体や樹状突起の分布と後肢筋および皮膚神経の刺激による影響との関連性についても検討した。

脳電位のトポグラフィ表示は、人医学領域では基本的な脳機能診断の方法であり、トポグラフィの有用性は高く評価され頻繁に用いられている。しかし、獣医学領域では多電極による脳電位記録はほとんど行われておらず、多電極脳電位記録とトポグラフィ処理の臨床への応用は試みられていない。それは獣医臨床領域では、神経・精神疾患の診断・治療は、我々獣医師とは言語によるコミュニケーションがとれない動物が対象であるので、その精神的な状態を客観的に把握する術はなく、その評価が極めて困難な事、麻酔下でなければ脳波の検査が実施できない事、動物種により頭蓋の形状が様々である事など多くの理由が考えられる。てんかん様発作を起こした動物の診断についても、脳波を検査して、“てんかん発作”を確認して確定診断することは一般的ではなく、血液検査による代謝性疾患の除外と、形態学的検査による脳腫瘍などの器質的異常の除外により、症状からてんかんと仮診断し、薬物で発作をコントロールする以外になす術がないのが現状である。

そこで、人医領域で用いられている多電極脳電位記録とトポグラフィ処理により、脳波のスペクトル分析による精神状態の把握、体性感覚誘発電位 (SEP)、

視覚誘発電位（VEP）による末梢入力刺激の影響，てんかん脳波の解析によるてんかんの診断，将来的にはてんかん外科への応用といった臨床上の有用性を検討することも目的として，正常な犬の脳波の解析を行った．さらに臨床への応用を試みるために，てんかんと診断された犬の脳波の解析も行った．

なお，すべての実験は「国立大学法人山口大学における動物使用に関する規則」に基づいて実施した．

第 3 章

研究 1

脊髓ネコにおける後肢筋運動ニューロンに対する低閾値の

体幹皮膚求心性神経からの多シナプス経路について

— 脊髓内ニューロンネットワーク —

The Polysynaptic Pathways from the Low Threshold Cutaneous Afferents of Trunk
to Motoneurons Innervating Hindlimb Muscles in the Spinal Cat

第1節 緒言

体幹は身体の大部分を占め、運動系に不可欠な部分を構成している。体幹運動と姿勢の神経制御の研究は、身体平衡を理解するうえで非常に重要である。体幹運動は体幹筋活動によって制御されている[30, 31, 44, 47]。脊柱起立筋運動ニューロンが、体幹、肢および尾の、筋肉と皮膚の求心性神経の刺激によって強く影響されることは、すでに報告されている[45, 46, 48, 49]。これらの事実は、体幹筋運動ニューロンには様々な部位からの求心性末梢神経入力収束していることを示している。しかしながら、体幹からの求心性神経入力が肢筋活動に及ぼす影響については、身体平衡を理解する上で非常に重要であるにもかかわらず、十分に検討されていない。そこで、後肢運動ニューロンに対する体幹皮膚求心性神経の刺激の効果について検討し身体平衡の維持に重要な感覚情報を明らかにすることを目的として実験を行った。

第2節 材料及び方法

1. 実験動物

実験には、運動機能に障害がないと思われる 27 頭の雌雄の成ネコ(体重：2.0-4.2kg)を使用した。すべてのネコはハロタン-笑気吸入麻酔下で、前丘の約 1 mm 頭側の線から脳ベラを頭腹側に通し、横断面の頭側の組織を切除することにより除脳を施した。その後麻酔を中断し、さらに第 10 胸髄節において脊髄を切断した。第 2-5 腰髄節に入力する体幹の背側(DC)および腹側(VC)に分布する皮膚神経(腰神経の背側枝および腹側枝に由来)を両側共に周囲の組織から分離し、カフ双極電極を装着した。さらに、大腿二頭筋前部および半膜様筋(ABSm)、大腿二頭筋後部および半腱様筋(PBSt)、内・外側の腓腹筋(GS)に分布する神経をそれぞれ分離し、双極刺激電極を装着した。第 1 腰椎から第 5 腰椎の間で椎弓切除術を行なった。除振台に設置された脳脊髄定位固定装置にネコを固定し、臭化パンクロニウム(0.4mg/kg/h)で不動化した後、終末呼気炭酸ガス濃度が 4.0%前後になるように呼吸数をモニター(1H31:日本電気三栄製)し、調節呼吸とした。直腸温をモニターし、加温ランプでおよそ 37°Cに維持した。頸動脈にカテーテルを装着し、血圧計(2F22, 2F52A:日本電気三栄製)に接続し動脈血圧を測定し、実験中は 80mmHg 以上を維持した。

2. 記録方法

1) 脊髄背面電位の記録

刺激した末梢神経の電気活動を記録するために、左側の第2および第6 腰髄背根が脊髄に入り込む部分に銀ボール電極を設置し、周囲筋組織に銀線を刺入し不関電極としてとして Volley(斉射)を記録した。Volley 電極を(-)，不関電極を(+)とした。

この脊髄背面電位は、生体用増幅器 (AVB-10：日本光電工業株式会社，東京都新宿区) で増幅し，オシロスコープ (VC-11：日本光電工業株式会社) およびスレーブモニター (VC-10：日本光電工業株式会社) の管面上に電気刺激をトリガーとして掃引記録した。

2) 細胞内電位の記録

2M クエン酸カリウム溶液で満たしたガラス管微小電極を電動式マニピレーター (PF5-48：株式会社 成茂科学器械研究所，東京都世田谷区) に取り付け，脊髄に刺入し第 6-7 腰髄分節の運動ニューロンから細胞内記録を得た(脊髄内入力抵抗：15-20M Ω)。細胞内の電位は，プローブを介して，微小電極用増幅器 (MEZ-8201：日本光電工業株式会社) と高感度前置増幅器 (AVH-10：日本光電工業株式会社) により増幅し，脊髄背面電位と同様に掃引した。

3) 運動ニューロンの同定

ABSm, PBSt および GS の各運動ニューロンは，筋神経刺激後の逆行性活動電位によって同定した。

4) 電気刺激

第 2-5 腰髄分節 (L2-5) レベルにおける脊髄背面電位 (斉射) の単極記録を

基に，末梢神経それぞれの閾値(T)の 1.2-20 倍で，体幹皮膚神経を電気刺激した(持続時間：0.1ms)．閾値は末梢神経それぞれを刺激して Volley の記録される最小の刺激強度に定めた．

すべての脊髄背面電位，細胞内電位および刺激信号はデータレコーダ(RD-130T:TEAC 製)に記録した．

第3節 結果

35 個の ABSm, 32 個の PBSt および 36 個の GS 運動ニューロンから安定した記録が得られた. 静止電位は, -55mV から -63mV に及び, スパイクの振幅は 57mV から 68mV の範囲であった.

Fig. 1 に, L4 における DC の同側 (iDC) での 2T, 5T および 10T での単一パルス刺激後の, ABSm 運動ニューロンからのシナプス後電位 (PSPs) の一例を示した. それぞれのパネル内の上下のトレースは, PSPs と脊髄背面電位 (斉射) を各々示した. 2-10T での iDC の刺激が抑制性シナプス後電位 (IPSP) を伴う興奮性シナプス後電位 (EPSP) を誘発した. 刺激強度を増加させると, PSPs の種類を変えることなく PSPs のサイズが増大した. さらに 10T 以上では, 刺激強度の増加はシナプス後電位に顕著な変化を生じさせなかった. Fig. 1 の最下部パネルの上向きと下向きの矢印は, 各々脊髄背面電位 (斉射) と PSPs の開始を示している. 2つの矢印の時間差は, 中枢潜時を示している. ほぼすべての運動ニューロンにおいて, 2T 未満の刺激では PSPs は観察されなかった. Fig. 2 および Fig. 3 には, L2-5 において, 両側 (iVC, cVC) の皮膚神経腹側皮枝 (VC) を 5T で刺激した結果, PBSt 運動ニューロンおよび GS 運動ニューロンから記録された平均加算 PSPs を例示した. iVC と cVC の刺激は, PBSt 運動ニューロンにおいて抑制性 PSP を伴う興奮性 PSP (EPSP/IPSP) と IPSP をそれぞれ誘発した. GS 運動ニューロンでは, iVC の刺激は IPSP を誘発したが, cVC の刺激

は何の効果も生じなかった。ほぼすべての運動ニューロンにおいて、DC または VC の刺激部位が L2 から L5 へと移動させた時、PSPs の振幅は増加し、潜伏時は短縮した。全実験を通して、中枢潜伏時は 4msec より長く、単シナプスの経路は認められなかった。

Fig. 4 に VC および DC を 5T で刺激した時の ABSm, PBSt および GS の各運動ニューロンにおける PSPs の発現タイプの違いを割合 (%) で示した。体幹の皮膚神経の刺激は ABSm, PBSt および GS の各運動ニューロンにおいて異なるタイプの PSPs を誘発した。ABSm と PBSt の各運動ニューロンにおいては、脊椎分節の入射レベルにかかわらず、両側共に EPSP (EPSP または EPSP/IPSP) を誘発した。GS 運動ニューロンでは、IPSP の発現割合が ABSm 及び PBSt よりも顕著に多く、同側刺激では IPSP を誘発することが明らかであった。3 種の運動ニューロンにおいて、IPSP の発現は DC の刺激後よりも VC の刺激後の方が大きかった。

第4節 考察

2-10T での刺激は良く似たタイプの PSPs を示し、刺激強度の増加につれて PSPs のサイズは増大した。しかし、刺激強度を 10T 以上に増加させても変化は認められなかった。このことは、体幹皮膚の神経からの神経経路の効果が、主に低閾値の機械受容器からの求心性神経によって誘発されていることを示唆している。刺激強度を 2T から 10T に増加させると、異なる閾値や異なるタイプのレセプターを持つ皮膚求心性神経の新たな動員がなされているはずで、パチニ小体、Hair T および Hair G 受容体 ($A\alpha$, $A\beta$, $A\gamma$) といった機械受容器からの異なる種類の皮膚求心性神経が後肢運動ニューロン上に同じ種類の PSPs を誘発しているということを示唆している [19, 50]。体幹からの皮膚求心性神経入力の効果 (PSPs のサイズと中枢潜時) は、刺激された神経の脊髄分節と後肢運動ニューロンプールとの近接性に関連しているであろう。

体幹皮膚求心性神経の刺激は異なった種類の PSPs を誘発し、運動ニューロンの種類によって多様な刺激効果が見られた。この事実は、体幹皮膚神経から後肢運動ニューロンにかけての神経経路の多様性を示唆している。しかし、同側と対側における体幹の皮膚神経の刺激は、ABSm および PBSt 各運動ニューロンで興奮性の効果を、また GS 運動ニューロンで抑制性の効果を主に示した。ABSm, PBSt および GS は二関節筋であり、多くの報告において、ABSm と PBSt は屈筋で、GS は主として伸筋であることが示されている [38]。これらの事実

は、体幹からの皮膚の求心性入力によって活性化された神経経路が、後肢の屈曲を引き起こすことを示している。また、体幹の皮膚神経からの神経経路の効果は、背側部(DC)からよりも、腹側部(VC)からの方が明らかに強かったことは、後肢の屈曲は脊柱の伸展によって強く生じることを示唆している。無傷のネコの場合、多様な下行性経路が脊髄神経経路に影響を及ぼしているということは既に報告されている[38]。今回の実験で、後肢筋運動ニューロンに対する低閾値の体幹皮膚求心性神経からの多シナプス経路はCOG(重心)や身体の安定制御に関わっていることが示唆された。

第5節 小括

ネコの大腿二頭筋, 半膜様筋, 半腱様筋, 腓腹筋の運動ニューロンに対する体幹皮膚求心性神経の刺激の効果について検討した. 体幹皮膚からの求心性入力のうち, 主に低閾値の機械受容器からの求心性神経によって活性化された神経回路が, 後肢の屈曲を引き起こすこと, および刺激に対する反応は背側よりも腹側からの刺激の方がより強かったことが明らかとなった. これらの知見は, 後肢の屈曲は脊柱の伸展によって強く生じる事を示唆している. これらの低閾値の体幹皮膚求心性神経からの後肢筋運動ニューロンに対する多シナプス経路は, COG(重心)や身体の安定制御に関わっている重要な感覚経路と考えられる.

第 4 章

研究 2

Biocytin を用いた成ネコの腰最長筋運動ニューロンの形態学的研究

Distribution of Dendrites from Longissimus Lumborum Motoneurons

Stained Intracellularly with Biocytin in Adult Cats

第1節 緒言

体幹は、動物において身体の主要部位であり、身体を中心に位置している。ほとんどの種類の動作中や姿勢において、重心 (COG) は体幹に位置している。COG の位置は、動作により影響を受け、すべての身体部位の動きは、体幹筋により制御される。歩行運動中の体幹筋の神経制御についてはいくつかの報告がある[44, 47]。脊柱起立筋は脊柱の剛性を高めたり、歩行運動中に外側から内向けの動作を誘発したりすることにより、身体のバランスを制御している。Macpherson ら[30, 31]は、立位での体幹筋の神経制御活動を報告した。異なる身体部位からの体性感覚情報は、体幹筋の活動を制御する上できわめて重要である。細胞内記録法を用いた実験では、体幹筋の運動ニューロンには、筋肉や様々な身体部位の機械的受容体からの皮膚求心性神経入力、強い役割を果たしていることが示されている[45, 46, 48, 49]。

運動ニューロンは、樹状突起、細胞体および軸索から構成されている。運動ニューロンの形態学的特徴は、その機能的特性を反映すると思われる。運動ニューロンの形態学的研究は、その機能的側面を理解するためにきわめて重要である。これまで、後肢、尾および頸部の筋肉の脊髄運動ニューロンの形態学的特徴が示されており[11, 28, 37]、樹状突起の分布と運動ニューロンの細胞体との位置関係には密接な関連性があるものと思われる[3, 11, 12]。Holstege ら[20]は、運動ニューロンの細胞体の位置が体幹筋の神経支配と関係することを

報告した。しかし、体幹筋の運動ニューロンの形態学的特徴については述べられていない。第3章では、後肢の屈曲が脊柱の伸展によって強く生じる事を示唆した。また、L3 および L4 の運動ニューロンは、後肢からの求心性入力により強く影響を受けることが報告されており [45, 48]、腰髄分節、後肢の筋肉および皮膚に分布している。そこで、主要な脊柱起立筋の1つである腰最長筋を神経支配する運動ニューロンの形態的特徴をバイオサイチンによる細胞内染色法を用いて明らかにし、運動ニューロンの形態学的特徴と後肢筋および皮膚神経の刺激による影響との関連性について検討した。

第2節 材料及び方法

1. 実験動物

実験には、運動機能に障害がないと思われる、体重 3.2~4.5 kg の両性の成ネコ 10 頭を用いた。すべてのネコに、ハロタン (3~5%) 吸入麻酔下で、前丘の約 1 mm 頭側の線から脳ペラを頭腹側に通し、横断面の頭側の組織を切除することにより除脳を施した後、第 1 腰椎から第 5 腰椎まで、椎弓切除術を行った。

電気刺激を行うために、第 4 腰髄に入力する筋肉 (Q 大腿四頭筋, PBSt 大腿二頭筋後部および半腱様筋, GS 腓腹筋の内側および外側頭) および皮神経 (Sur 腓腹神経, SPc 浅腓骨神経, Tib 脛骨神経) を周囲の組織から分離し、双極刺激電極を装着した。

除脳ネコを、定位固定装置に固定し、臭化パンクロニウム (0.4 mg/kg/h) で不動化し、人工呼吸器につなげた。呼吸数や一回換気量を調節して呼気終末二酸化炭素濃度を約 4.0% に維持した。直腸温をモニターし、加温灯を用いて約 37° C に維持した。総頸動脈に挿入したカニューレを通じて動脈圧をモニターし、実験中は平均動脈血圧が 80 mmHg を下回らないよう維持した。

2. 細胞内電位の記録

0.05 M トリス緩衝液および 0.3 M KCL 中に 3% バイオサイチン (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA) を含有する溶液で満たしたガラス管微小電極 (2.5-3.0

MQ) を用いて、細胞内記録を行った[24].

L4 腹根で刺激を行い、逆行性活動電位の存在により、腰最長筋運動ニューロン (LM) を同定した. 同定後、異なる刺激強度で Q, PBSt, GS, Sur, SPc, および Tib の各後肢神経刺激後の電位を記録した. 各電位の記録方法は前章の方法に従った.

3. バイオサイチンによる細胞内染色

脱分極電流パルス (5-15 nA) を用いて、バイオサイチンを 15-30 分間注入した. ネコ一頭あたり、1 個から 3 個のニューロンに対して、バイオサイチンの細胞内注入を実施した.

バイオサイチンの最後の細胞内注入から 2 ないし 5 時間後、生理食塩水 1 l に続き、ホルムアルデヒドとグルタルアルデヒドをそれぞれ 1%の割合で添加した 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 2 l を心臓から灌流した. 脊髄を摘出し、室温で 2 時間、上記の緩衝液に浸漬した. 脊髄分節 L3-S1 から水平連続切片を切り出し (厚さ 50 μm または 100 μm), アビジン HRP (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA) 中で一晩インキュベートした. インキュベーションは、すべて室温で実施した.

バイオサイチンで満たしたニューロンはニッケル DAB 増感法を用い、黒色の反応産物にて標識した.

4. 運動ニューロンの解析

標識した連続切片のニューロンを撮影し (Imager M1; Carl Zeiss, Oberkochen, Germany), 一枚の紙の上に重ね転写した。これらの画像の最終倍率は 500 倍であった。各切片の樹状突起の輪郭を描き, その切片からそれらの出口点を標識し, 隣接する切片を重ねあわせて得られた樹状突起樹の部分, 100 倍油浸対物レンズを用いて, 写真に撮り込んだ。Imager M1 顕微鏡 (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) を用いて, 細胞体の直径を測定した。樹状突起の長さは Rose[37] が記述した方法に従って算出した。

<検定>分散分析により検定を行った。 ($P < 0.05$)

第3節 結果

27 個の LM から、安定した細胞内記録が得られた。これらのうち 14 個の細胞は、染色が不十分で樹状突起の遠位端までトレースできなかった。残りの 13 個の LM が樹状突起末端まで観察できたが、不十分な染色による誤差を最小限にするために、それらの運動ニューロンのうち、遠位の樹状突起および微細な樹状突起の分枝が、近位の樹状突起樹とほぼ同等の強度で染色された 10 個のニューロンのみを詳細な解析に供した。一部の LM は腹角の内側部に散在していたが、ほとんどの LM が腹角の外側部に位置していた。

Fig. 5 は、水平断における 2 個の LM を示したものである。各運動ニューロンの下のパネルは、後肢筋および皮神経を閾値 (T) の 5 倍で電気刺激した後のシナプス後電位 (PSP) のパターンを示している。LM (No. 4) では、樹状突起が体軸方向および内側外側方向に分布しており、同側の後肢筋および皮膚求心性神経の刺激後に抑制性シナプス後電位 (IPSP) を示した。No. 4 の LM では、樹状突起が灰白質から外側方向に分布していた。別の LM (No. 5) では、樹状突起が主に体軸方向および内側方向に分布していた。この運動ニューロンは、両側の Q および皮神経の刺激後に興奮性シナプス後電位 (EPSP) を示した。樹状突起の配列、分岐、方向および範囲は、LM 間で異なっていた。さらに、後肢筋および皮神経の刺激の影響も様々であった。Table 1 は、13 個の LM の形態学的特徴を示したものであり、細胞体の領域、細胞体の平均直径、

一次樹状突起の数, 異なる方向への樹状突起の伸長 (頭側・尾側・内側・外側・背側・腹側), 樹状突起の全長および白質中の樹状突起の長さが含まれる. 細胞体の平均直径は, 38.0-61.3 μm であった. 6-12 個の一次樹状突起が各細胞体から生じていた. 樹状突起は, 全方向に伸展していた. 頭側への平均伸長は 991 μm , 尾側への平均伸長は 942 μm であった. 体軸方向への伸長の総計は, 1,254-3,133 μm であった. 内側への平均伸長は 690 μm , 外側への平均伸長は 572 μm であった. 内側外側への伸長の総計は, 804-1,792 μm であった. 背側への平均伸長は 835 μm , 腹側への平均伸長は 665 μm であった. 背腹側への伸長の総計は, 800-2,600 μm であった. 樹状突起は, 灰白質だけでなく, 白質にも分布していた. 13 個のうち 8 個の運動ニューロンにおいて, 白質中の樹状突起はとげ状の突起を有していた. 樹状突起の全長は, 11,918-58,199 μm の範囲であった. 白質中に存在する樹状突起の割合は, 2.2-43.1%であった. LMの形態学的特徴は様々であった.

後肢神経刺激の作用と運動ニューロンの形態学的特徴との関連性を調べた. Table 2 は, 各運動ニューロンにおける筋肉および皮神経の低閾値 (1.2-5 T) での電気刺激後に生じる PSP の種類を示したものである. 記録した全ての運動ニューロンは後肢からの末梢入力に対して反応を示した. 運動ニューロンを二つの群に分け, 形態学的特徴と後肢からの求心性入力に対する反応性との関連性を検討した. 第 1 群の運動ニューロンは, 主に EPSP または IPSP を示した. 第 2 群の運動ニューロンは, 両側または片側のいずれかの筋肉からの刺激後に

PSP を示した. 統計学的に有意な関連性は認められなかった ($P < 0.05$).

第4節 考察

本研究で記述した運動ニューロンは、LMのごく一部の、大きな細胞しか記録しなかった可能性があるため、その成績に偏りがある可能性は否定できない。別の後肢筋や頸部の筋には、異なる種類の筋線維が含まれており、後肢および頸部の筋肉の運動ニューロンの大きさは様々である [1, 5-7, 25, 36]。Carlson [8, 9] は、LMには、異なる種類の運動単位が含まれるが、主に速い運動単位から構成される (タイプ II の筋線維では、90% を超える) と述べている。Carlson [8] は各種類の LM の神経支配比は報告していないが、主に Long motor neuron pool は、より大きな運動ニューロンから構成されるであろうことを示している。この所見ならびに本実験により、調べた LM の細胞体の直径は約 50 μm であったことから、速筋線維を神経支配する運動ニューロンに相当することが示唆された。Kernell ら [25] は、横断面における遅い運動ニューロンおよび速い運動ニューロンの神経細胞体の平均直径が、それぞれ $39.5 \pm 5.1 \mu\text{m}$ および $54.7 \pm 6.9 \mu\text{m}$ であったことを報告している。しかし、Rose [37] は、頸二腹筋 (BC) 及び錯綜筋 (CM) を神経支配する運動ニューロンには紡錘状の細胞体があり、水平断および矢状断における細胞体の大きさが 53~90 μm (平均 75 μm) であったことを報告した。本試験の LM の細胞体の平均直径は、BC および CM の運動ニューロンの平均直径よりも小さかった。

LM の樹状突起は、多方向に分布し、運動ニューロン間で異なっていた

(Fig. 5, Table 1). 腹角中心部に位置する後肢および頸部の運動ニューロンには、広範にわたる樹状突起樹があり、腹角の大部分に広がっている [3, 11, 12]. Holstege ら [20] は、腹側核における LM の分布を報告した. Rose [37] は、頭尾側方向の樹状突起を多く持つ頸部筋の運動ニューロン (BC, CM) の樹状突起の分布の特徴を示した. 長い頭尾側方向への樹状突起の伸長が、腹角の背外側部に位置する腰仙部の運動ニューロンによくみられる特徴である [18, 28]. 頸部および腰仙部の運動ニューロンで報告された樹状突起の分布と運動ニューロンの神経細胞体の位置との関連性は、LM には見られなかった. Rose [37] ならびに Vanner ら [43] は、脊柱起立筋などの複数の分節の神経支配を受ける頸部筋は、樹状突起を主に体軸方向に伸長することを示した. LM は、尾、後肢、前肢、体幹などの異なる身体部分からの筋肉および皮膚求心性入力を異なるレベルで受けている [45, 46, 48, 49]. このことは、樹状突起の伸長範囲が体軸方向で最大になる傾向を反映している可能性がある. 実験に用いたすべての LM において脊髄白質内に樹状突起の分布が認められた. これにより、LM が下行路からの入力を受けていることが示唆される. 最長筋の最も重要な役割は COG を調節することであり、COG に対しては、筋肉や身体の様々な部分からの皮膚求心性神経および下行路からの入力が不可欠である. 本実験で示された LM の形態学的特徴は、その機能的特徴に対応すると考えることができる.

第5節 小括

バイオサイチンによる細胞内染色法を用いて、腰最長筋を神経支配している第4腰髄分節の運動ニューロンの形態学的特徴を調べたところ、後肢の末梢性求心性入力の影響との間には有意な関連性はみられなかった。しかし、主にEPSPを示した運動ニューロンでは、樹状突起が頭側方向へ大きく分布する傾向があり、両側からの後肢の求心性神経からシナプス入力を受ける運動ニューロンは、細胞体の領域が大きくなる傾向があった。

第 5 章

研究 3

イヌにおける脳波と体性感覚および視覚誘発電位のトポグラフィ解析

Topographic Mapping of EEG and the Evoked Potentials

in Dogs and Epilepsy Dogs

第1節 緒言

脳の機能的障害には形態的異常が確認できる場合と確認できない場合がある。形態学的検査は検査機器の精度，読影技術によって大いに結果が異なる上に，形態的異常が必ずしも機能異常を伴うとは限らない。従って，脳疾患においては機能的異常を確認し，その異常を高精度に評価することは重要である。

脳の機能的検査のなかで，脳波の検査は従来から用いられてきた。ヒトでは，20-30個の電極を用いて得られたデータを2次元的に表示するトポグラフィ表示が基本的な脳機能診断の方法で，その有用性は高く評価され頻繁に用いられている。頭蓋に設置した複数の電極から記録した電位のトポグラフィ解析が，様々な周波数成分の背景脳波の局在や偏在，脳腫瘍やてんかん棘波の局在など，脳の解剖学的あるいは機能的疾患を推定するために使われている [14, 15, 29]。しかし，獣医学領域では頭皮上に4-8個の電極を左右対称格子状に配列することが一般的で，多電極による脳電位記録はほとんど行われておらず，多電極脳電位記録とトポグラフィマッピングの獣医臨床への応用は試みられていない。それは獣医臨床領域では，神経・精神疾患の診断・治療は我々獣医師と言語によるコミュニケーションがとれない動物が対象であるので，その精神的状態を客観的に把握する術はなく，その診断・治療評価が極めて困難な事，また詳細な脳機能異常はあまり臨床対象とされていないこと，麻酔下でなければ脳波の検査が実施できない事，動物種により頭蓋の形状が様々であることなど多くの

理由が考えられる。てんかんの診断についても実際に脳波を検査して確定診断することは一般的ではなく、CT や MRI といった画像診断で脳腫瘍などの形態学的異常が除外されたら、てんかんと仮診断し、薬物で発作をコントロールするのが一般的である。

一方、体性感覚誘発電位（SEP）は人医療では、非侵襲的神経機能検査法として、脳神経外科・整形外科・麻酔科などでの診断・術中モニタリングとして応用される検査法で、末梢神経や脳機能の検査として獣医臨床領域でも応用可能と思われる。

そこで、人医領域で用いられている多電極脳電位記録とトポグラフィ処理により正常なイヌの脳波をスペクトル分析することで、意識レベルの把握、てんかん脳波の解析によるてんかんの診断、将来的にはてんかん外科への応用といった臨床上的有用性を検討することも目的として、脳波を測定し解析を行った。この脳波の測定にあたり、ヒトとイヌの解剖学的相違（皮膚、筋、骨など）を考慮した。さらに多電極脳電位記録とトポグラフィマッピングの臨床上的有用性を示すために、SEP・視覚誘発電位（VEP）の検討、てんかんと診断されたイヌの脳波を測定し、解析を行った。

第2節 材料及び方法

第1項 正常なイヌの脳波・SEP・VEP

1) 実験動物

本実験には、身体的及び神経学的に異常の認められない 10 頭のビーグル犬 (3-5 歳 ; メス 3 頭, オス 7 頭 ; 体重 7.7-11.7 kg) を用いた。

2) 電極

記録電極, 基準電極及び設置電極にはエナメル線 (直径 100 μ m, 長さ約 40 cm) を使用した。生体側 (記録部位) は末端の被膜を 1-2mm, リード線への接続端は約 25mm の被膜を剥離し銅線を露出した。頭部の筋活動の影響を除去するために, 電極の記録部位を筋肉下まで通し頭蓋骨骨膜に接触させる必要があり, 25G の注射針をガイドとして, エナメル線を注射針の内腔に通した状態で刺入した。基準電極は鼻先の皮下に, 接地電極は頸部背側正中皮下に設置した。

ビーグル犬の頭蓋に 1 列 5 本計 25 本の記録電極を設置した。記録電極の配置は、体軸方向は前頭骨頬骨突起と後頭骨頭頂部の位置, 横軸は左右の前頭骨頬骨突起を基準 (Fig. 6) とした四角形に 25 本の電極を配置した (Fig. 7)。Fig. 8 に電極と大脳皮質との位置関係を示した。

3) 記録装置

記録電極をリード線で 25 チャンネルの生体用増幅器 (Multichannel Amplifier: 日本光電工業株式会社, 東京都新宿区) に接続した。時定数は 0.3

秒，帯域通過フィルター;3kHz に設定した．25 チャンネル生体用増幅器からの出力は，A/D 変換ボードを経由して，MemCalc を組み込んだ周波数特性や脳波トポグラフィを解析するための，特注のソフトウェア (MultiTrace EEG MTS00480; 有限会社メディカルトライシステム，東京都小平市) をインストールしたパーソナルコンピュータシステムにオンラインで取り込んだ．このソフトウェアにより，脳波を連続的に取り込み，リアルタイムでモニターがしながら，波形をハードディスクに保存した．保存された波形の周波数解析，電位マッピング，帯域マッピングの解析はオフラインで行った．

4) 電気刺激装置

体性感覚誘発電位 (SEPs) の電気刺激には，左側前腕中央部付近の正中神経近傍に挿入した双極の針電極を使用し，電気刺激装置 (SEN-7103; 日本光電工業株式会社) に接続し刺激を与えた．電気刺激 (持続時間;0.2 秒，刺激間隔;470m 秒) の強度は前肢端の指が動く最小の刺激強度を閾値 (T) とし，その 1.2, 1.3, 1.5, 1.8 と 2.0 倍の強度に調整した．

5) 閃光刺激装置

VEP に用いる閃光刺激にはレチノグラム用光刺激装置 (日本光電工業株式会社) を使用した．刺激強度は 0.6 ジュール (J)，刺激間隔は 0.5Hz で両眼に対して刺激を行った．キセノンランプを両眼の中央部分から約 20cm 離してストロボ発光を実施した．実験犬は少なくとも 1 時間は暗闇に馴致した後，シールドされた暗室にて VEP を記録した．

6) 脳波の記録方法

犬に全身麻酔導入薬として、短時間作用型の静脈内麻酔薬であるプロポフォール (7.0 mg/kg) を 60 秒以上かけて静脈内注射し、気管チューブ挿管後、2.5-3.5%の濃度でイソフルランによる吸入麻酔を施した。イソフルランの濃度は眼瞼反射の消失する最小濃度で調節維持した。イソフルラン吸入麻酔を選択したのは、一般臨床で使用されていることと、神経の活性に対する麻酔の影響を最小限にするためである [33, 40]。

脳波は、単極誘導法により、前述した 25 チャンネルの生体用増幅器およびパーソナルコンピュータを用いて記録した。正常犬の脳波は 10-17 分間記録した。

7) データ解析の方法

通常、動物の脳波は麻酔下で実施されるため、睡眠時に優位となる δ 波と θ 波についてのみ解析を行った。正常犬の脳波のトポグラフィは、脳波における各周波数の含有率を算出し、その結果を基に描出した。マッピング表示は、電極配置図に基づき、Fig. 7 の通りに設定した。周波数帯域の条件は、 δ 波は 1-4Hz、 θ 波は 4-8Hz とした。脳波解析ソフトウェア (MultiTrace EEG MTS00480) は、4 秒間ごとに周波数解析を行うので、トポグラフィの作成も 4 秒間ごとに行い、相対パワー値で表示した。

SEP および VEP は、それぞれの記録電極における 500-1000 個の電位を MacLab データ集積分析システム (ADInstruments: Bella Vista NSW AUSTRALIA) を用い

て平均加算することで波形を得た。同一潜時の誘発電位のピークを増幅する事により、トポグラフィを構築した。

SEP および VEP の波形には、それぞれ特徴的な陽性 (P) および陰性 (N) ピークが認められた。各ピークの命名は既報に従い、極性と潜時(SEP)あるいはピークの出現順 (VEP) を用いた。これらの各ピークの頭皮上での 2 次元分布を明らかにするために、前述した脳波解析ソフトウェアを用いて各ピークの振幅値の頭皮上分布をトポグラフィ表示した。

第2項 てんかんと診断されたイヌの脳波

1) 実験動物

本実験には、中枢神経系の異常を疑われ、動物病院（ネオベッツ VR センター：大阪府）に紹介された犬の内、てんかんと診断された犬3頭（雄2，雌1）を用いた。各症例の品種、性別、年齢、体重、臨床所見、検査結果を以下に示す。

a) 症例1：スムースコートチワワ，雌，1才7ヶ月

来院1年前に初発の全般発作が起こった。その後、発作が起きることはなかったが、1ヶ月前から、10～14日間隔で発作が起こるようになった。血液検査所見は、ALP：229以外、特に異常は認められなかった。総胆汁酸の食餌負荷試験も実施したが、正常範囲（Post：30nmol/L）であった。CT検査からも特に異常は認められなかった。

b) 症例2：ロングコートチワワ，雄，2才9ヶ月

来院1週間前に初発の全般発作が起こった。それ以降発作は起こっていない。血液検査所見には特に異常は認められなかった。CT検査から、左右非対称の側脳室の拡張が認められたが、非特異的と思われた。

c) 症例3：シーザー，去勢済雄，14才2ヶ月，6.4kg

来院1ヶ月前より、昼夜を問わず断続的に吠え続けるようになった。吠え始めると、眼の焦点が合わないような状態が続いた。診察室では瞳孔以外に神経学的な異常は認められず、意識レベルも正常であった。眼科検査で、左右の虹

彩萎縮が認められ、瞳孔散大や対光反射消失の原因と考えられたが、威嚇反射により視力は認められたことから、神経学的な問題はないと判断した。血液検査では ALT : 167IU/L とやや高値を示す以外に異常は認められなかった。CT 検査により、側脳室、第四脳室や脳溝の拡大が認められ、脳脊髄液の流出障害もしくは脳萎縮を疑わせる所見が得られた。脳脊髄液検査は正常であった。

2) 電極

記録電極、基準電極、接地電極には、長さ 24 mm、記録部位 14 mm、直径 0.4 mm (曲がりにくい太さ) のアンマ針を用いた。このアンマ針に中継リードを接続し記録を行った。アンマ針は中継リードに付け替え可能な針である。中継リードにはシールドされたリード線 (ON201-020) を用いた (中継リード、アンマ針ともに株式会社ユニークメディカル製)。

症例はすべて小型犬であったので、記録電極として 16 個の電極を使用した。電極配置は、日本脳波・筋電図学会の臨床脳波検査用標準モニタージュで小児用に電極数を減じた 16R の配置 (Fig. 9) を採用した。基準電極は鼻先、接地電極は後頭骨後部に設置した。

3) 脳波の記録方法

今回の実験では脳波記録に日本光電工業株式会社製脳波計 Neurofax EEG-1714 を用いた。記録条件は、HF : 60Hz, sensitivity : 10 μ V, TC : 0.3s, CAL : 50 と設定した。

心拍数の安定と麻酔後の流涎抑制のために、アトロピン (0.02 mg/kg) の前

投与を行った。全身麻酔導入薬として、短時間作用型の静脈内麻酔薬であるプロポフォール (6.0 mg/kg) を 60 秒以上かけて静脈内注射し、気管チューブ挿管後、イソフルレンによる吸入麻酔を施した。吸入麻酔は、自発呼吸が出る深度に維持した。すべての症例で、プロポフォールの影響を極力少なくするため、麻酔導入から 30 分以上経過した後、脳波の記録を行った。脳波の測定は単極誘導法で行い、脳波計で記録した。さらに、その出力波形をコンピューターに 15-20 分間記録し、オフラインでの解析に用いた。

4) データ解析の方法

トポグラフィは上記の脳波周波数解析ソフトウェアを用いて作成した。ソフトウェアは 25 チャンネルを基本に設計されているため、16R の配置では記録されない正中線上のデータには、Fig. 10 の通りに電極番号 1, 3, 5, 7, 9 の電極のデータを使用しマッピングを行った。トポグラフィの作成は、 δ 波と θ 波について正常な犬の脳波のときと同様に行われた。

第3節 結果

第1項 正常なイヌの脳波

測定された脳波データの1例を Fig. 11 に示した.

Fig. 12 と Fig. 13 に 60 秒間 (4 秒×15=60 秒) の脳波記録から作成したトポグラフィを表示した. Fig. 12 と Fig. 13 にはそれぞれ δ 波, θ 波の相対パワー値を示した. δ 波は時間経過に伴う変動はあるものの, 前頭部から頭頂部が優位で, ほぼ左右対称であった (Fig. 12). 一方, δ 波と対照的に θ 波では後頭部や側頭部が優位となる傾向が認められた (Fig. 13).

第2項 SEP

Fig. 14 に, 電極 2 から記録した代表的な SEP の電位図を示した. 刺激強度は 1.2T, 1.5T, 1.8T であった (Dog-No. 7). 1.2T の刺激では, 2 つの陽性ピーク (下向き) と 1 つの陰性ピーク (上向き) が, それぞれ, 6, 14, 10msec (P6, P14, N10) で明瞭に観察された. 刺激強度を 1.3T または 1.5T と増しても SEP に注目すべき変化は見られなかった. 刺激強度 1.8T では, 新たなピークが誘発された. 2 つの陰性ピークと 1 つの陽性ピーク (N16, P20, N27) が 10 頭の実験犬のうち 7 頭で観察された. 左側正中神経を 1.8T で刺激し 25 本の各電極から記録された SEP 波形を Fig. 15 に示した. 記録部位によって異なる皮質電位が記録された. Fig. 16 に 1.8T 刺激による P14, P20, P46, N27 のトポグラフィ表示を示した. P14 と P20 は刺激部位と反対側が最も相対パワー値が大きく

なる Focus が認められた。P46 も同様に刺激と反対側に Focus が認められたが、P14 や P20 と異なり 2 カ所（前頭部と頭頂部）に認められた。さらに刺激強度を増やしても SEP に明らかな変化は認められなかった。

第3項 VEP

Fig. 17 に閃光刺激による VEP の平均波形を示した。3つの陽性成分と2つの陰性成分から成る典型的な FVEP（閃光刺激による VEP）が閃光刺激の後、150msec の間に記録された。

Fig. 18 はその 5 つの成分 (P1, N1, P2, N2, P3) のそれぞれの潜時におけるトポグラフィ表示を示した。P1 は前頭部で優位であったのに対し、N1 と N2 は後頭部が優位であった。

第4項 てんかんの犬の脳波

a) 症例 1

記録された脳波を Fig. 19 に示した。特徴的な所見としては、全般に棘波や鋭波が高頻度に出現し、徐波が混在していた。側頭部において左右差が認められた。また頭頂部から後頭部の脳波は、他の領域と比較して高振幅であるが、これは脳電位の出力部位から記録部位までの距離の影響も考えられた。

δ 波のトポグラフィでは次のような特徴が示された (Fig. 20)。60 秒間のうち 20 秒間 (Fig20, No. 2, 5, 9, 10, 13) では相対パワー値の低下が明らかであった。また、相対パワー値が最も高い部分 (Focus) は後頭部で多く認められた。

θ 波のトポグラフィは Focus が前頭部に見られることもあったが、正常犬のよ

うに後頭部から側頭部に局在するのではなく脳全体を移動していた (Fig. 21).

b) 症例 2

記録された脳波を Fig. 22 に示した. 特徴的な所見としては, 全般に棘波や鋭波が高頻度に出現し, 徐波が混在していた. また頭頂部から後頭部の脳波は, 他の領域と比較して振幅が高い傾向が認められたのも症例 1 と同じ傾向であった.

δ 波のトポグラフィは (Fig. 23), 相対パワー値が症例 1 に比べてさらに低下する傾向が見られ, Focus も 4 秒間ごとに様々な領域を移動していた. θ 波 (Fig. 24) の相対パワー値は正常犬と比較してやや高い傾向が見られた. Focus も脳全体を移動しており, 出現部位に偏りは見られなかった.

c) 症例 3

記録された脳波を Fig. 25 に示した. 症例 1, 2 と同様に, 全般に棘波や鋭波が高頻度に出現し, 徐波も混在していた. また頭頂部から後頭部が, 他の領域と比較して振幅が高い傾向が認められたのも, 他の症例と同様であった.

δ 波のトポグラフィは (Fig. 26) 相対パワー値が症例 2 よりもさらに低い傾向が認められた. また, Focus が認められた場合でも, その部位は前頭部 (Fig. 26 No3), 右側側頭部 (Fig. 26 No4), 後頭部 (Fig. 26 No5) などに散在しており, 頭頂部での出現は認められなかった. θ 波では (Fig. 27) 正常犬と比較して高い傾向が見られた. Focus は脳全体を移動していた.

第4節 考察

第1項 正常なイヌの脳波

今回の研究では実験犬の睡眠段階は脳波上、拍手に対する反応で睡眠紡錘波を示す第2段階[13]を維持していた。出現する脳波は δ 波と θ 波が優勢であった。Ishiharaら[22]はヒトでは、連続加算作業のような精神作業中に正中前方で θ 波が活性を示し、大脳皮質では δ 波と θ 波が優勢であったと報告している。今回の実験では (Fig. 12, Fig. 13), ヒトと同様にイヌの脳波の特定の部位で特定の周波数帯の脳波が出現することが確かめられた。 δ 波は大脳皮質の正中前方で優位であり、 θ 波は側頭から後頭部へと優位に広がっていた。正常な中頭種のイヌの鎮静下の脳波において6–12 Hzの波 (θ 波と α 波) が主に後頭部と頭頂部に認められたことが報告されている[34]。トポグラフィにより δ 波と θ 波の変動する様子が明らかになったことは、25チャンネルの脳波記録によるトポグラフィ表示により大脳皮質の活動の詳細が明らかになることを示している。

第2項 SEP

今回のデータは1.2–1.5Tから1.5–1.8Tに刺激強度を増加させる事で、より閾値の大きな、異なる求心性線維を活性化し、より潜時の長いピークを作り出すということを示しているのであろう。

1.2–1.5Tでの電気刺激は、より閾値の低いグループIIの求心性線維と同

様に、低閾値のグループ I の筋求心性線維をも刺激している可能性が高いと解釈する事が出来る。さらに、グループ A の皮膚求心性線維もまた刺激されているのであろう。1.5T 以上の刺激強度は、より高い閾値のグループ II やグループ A の求心性線維を刺激するのであろう。2T 未満で刺激される神経は有髄の低閾値の筋・皮膚求心性線維であり、これらの求心性入力により活性化される脊髄経路は脊髄内の同側の背角を通る [52]。3 個の陽性ピーク (P14, P20, P46) と 1 個の陰性ピーク (N27) のトポグラフィ表示 (Fig. 16) は、これらの 10msec より長い潜時の誘発電位のピークが大腦皮質で発生した事を示唆している。潜時 14msec と 20msec の陽性ピーク (P14, P20) の相対パワー値は刺激側の反対側の中央外側部で最も高くなった。これらの領域は体性感覚野や視床に相当すると考えられる [35]。刺激側と反対側で明瞭な SEP のピークが観察されたという事実は、体性感覚が体の部位と反対側に投射するという事実を反映していると考えられる。P14 は刺激強度 1.2T で観察されたが、P20 は 1.8T 以上でみられた。したがって、P14 はグループ I の筋求心性線維を刺激する低閾値求心性入力による反応であるのに対し、P20 はグループ I の求心性線維に加えて、グループ II の筋求心性線維に相当する高閾値入力と低閾値皮膚求心性線維も関与した [50] 反応と考えられる。P14 と P20 のトポグラフィ表示で相対パワー値の最大となった部位が 1 ヲ所に局在していたことは、より高閾値の求心性入力よりも、低閾値の求心性入力の方が、体性感覚野のより狭い範囲または皮質の一次運動野を活性化することを示している。Woolsey [52] は犬やネコでは、一

次運動野と感覚野は脳の前部部分に位置しているとしている。一方、潜時 46msec の陽性ピーク (P46) のトポグラフィ表示で2つのエリアでFocusが見られた；ひとは前方中央，もう一カ所は刺激側の対側中央部であった。これらの領域は体性感覚野にうまく重なっていない。Desmedt ら [14]は今回のイヌのデータと同様な、ヒトの正中神経刺激による SEP のトポグラフィ表示を示した。

第3項 VEP

3つの陽性成分と2つの陰性成分から成る典型的な FVEP (閃光刺激による VEP) が記録されたが (Fig. 17), このパターンは Kimotsuki ら [27]と Strain ら [42]によって報告されているのと同様であった。Fig. 18 に示したトポグラフィ表示の結果から, P1, N1, N2 はそれぞれ, 網膜電位, 網膜から脳幹への電位, 脳幹から視覚野への電位に起因するものだと考えられる。さらに, P3 は視覚野からの反応を反映している。今回の結果から, 過去の研究 [27, 42]に見られるような質的な相違は観察されなかった。

第4項 てんかんのイヌの脳波

脳波が, イヌのてんかんの診断のための日常検査として一度も確立されたことはない。近年では, 多くの脳波の技術的側面を主に扱う論文, または犬のてんかんの診断においてその補助として, 脳波を用いた症例報告が発表されている [2, 4, 10, 16, 17, 21, 23, 26, 32, 34, 39, 41]。本実験では, てんかんの犬の脳波を測定するだけでなく, トポグラフィによる2次元解析を行った。てんかん

の犬の脳波から作成されたトポグラフィの解析結果は、正常犬のものとは大きく異なっていた。このことから、てんかんの脳波におけるトポグラフィ解析の有用性が示唆される。しかし、てんかん発作の焦点や傷害部位の位置を特定することはできなかった。この局在診断には、速波成分のトポグラフィ解析が必要であると考えられる。さらに振幅値から作成されるトポグラフィの併用も、てんかん発作の焦点や傷害部位の位置特定に寄与するであろう。また、本実験では、てんかんの犬の脳波は16チャンネルで記録されたため、トポグラフィ作成時のマッピングの位置と、実際に脳波が測定された電極の位置が異なる部位やチャンネルが重複している箇所が存在する。よって、より正確な脳波診断のためには、電極数を増加する、もしくはマッピングがより正確に作成できるような電極配置を行なうことが望ましいと考えられる。

てんかん発作の発作焦点を脳波のトポグラフィ表示で明示するためには、正常例も含めた更なるデータの集積が必要であろう。

第5節 小括

犬の脳波と体性感覚誘発電位 (SEP) および視覚誘発電位 (VEP) を 25 本の電極を用いて測定し、トポグラフィ表示することで頭皮上の電位分布を明らかにした。またてんかんと診断された犬の脳波のトポグラフィ表示を行った。イソフルラン麻酔下での正常犬の脳波の δ 波のトポグラフィでは、前頭部から頭頂部が優位 (Focus) でほぼ左右対称であった。また、 θ 波は後頭部や側頭部が優位となる傾向が示された。これに対して、てんかんの犬では相対パワー値の低下や Focus の変動が示された。SEP や VEP は正常犬で刺激に対応した反応の局在が確認された。

脳電位をトポグラフィ表示することで、脳の様々な部分の詳細な情報を得ることが可能となり、臨床における脳疾患の診断、脳機能の評価の手段として有用となりうることが示唆された。

第 6 章

総括

本研究では、電気生理学的手法を用いて、動物の運動機能に関する末梢神経と中枢神経の関係についての理解を深め、さらに、中枢神経系の機能評価をより確実にするための診断技術を確立し、神経疾患の治療の基礎とすることを目的とした。

第3章と第4章の知見から、後肢筋運動ニューロンと体幹皮膚求心性神経との神経回路が、動物の姿勢制御にきわめて重要な役割を果たしていることが示唆された。このことは、重心の動的な安定性が運動にとって重要であるが、その調節に四肢末端からの感覚情報のみならず、体幹皮膚からの感覚情報も重要であるという事を意味している。

動物の運動機能障害に対する治療法として、リハビリテーションが重要な要素であるが、可動域運動、ストレッチ、筋肉への負荷運動、ハイドロセラピー、温熱療法、冷却療法、経皮的電気刺激、マッサージなどが行われてはいるものの、関節の可動域を維持し、筋肉量を増加し、血行促進、疼痛緩和といったことが経験的に行われているにすぎない。その様な中で、リハビリプログラムの実践者には、体表からのマッサージは最も重要なものと考えられており、今回の研究はリハビリテーションに直結するというわけではないが、体表からのマッサージの重要性の裏付けともなった。

第5章では、多電極脳電位記録によるトポグラフィマッピングが、誘発電位

の有用性について、あるいは脳機能評価の手段として有用となり得ることが示唆された。

動物の運動機能障害においては、手術やリハビリテーションの対象として臨床的に大きな問題である椎間板ヘルニアの、より正確な診断や予後判定、脳腫瘍の手術時の切除可能部位の判定、末梢神経障害の部位の特定などにSEPを応用していくことが期待される。そのためには、各成分の頭皮上における局在を明確に表示し、生理学的意義を明らかにする必要がある。

また、脳波の研究では、将来的にはてんかん棘波の振幅によるトポグラフィを示して、てんかん焦点の局在を明らかにすることにより、難治性てんかんの外科手術に応用できる可能性が考えられる。また、脳波の各周波数成分が時間経過によって現れ、消える様子を動画として記録解析するdynamic topographyの研究も脳疾患の診断に寄与する可能性が考えられる。

今後、動物ではほとんど行われていない覚醒時脳波の研究、脳地図の作成などを視野に入れ、正常例や疾患例の更なるデータの蓄積と解析を行い、臨床に応用し、より正確な診断に基づく適切な治療を実施することにより、神経疾患を持つ動物とその飼い主のHABをより良く維持し、双方のQOL向上に役立てたい。

謝 辞

終わりに臨み、主査を務めてくださった山口大学農学部獣医学科教授の和田直己先生に対し感謝の意を表します。また、副査を務めてくださった、山口大学農学部教授の山本芳実先生並びに鹿児島大学農学部教授の川崎安亮先生に深謝いたします。また、論文作成にあたり有益なご助言を頂きました山口大学農学部教授の音井威重先生に謹んで敬意を表します。最後に、実験に対し惜しみないご協力をくださいました山口大学農学部獣医学科獣医生体システム科学研究室の学生の皆様と、症例を提供して下さったネオベッツVRセンターのスタッフの皆様に深く感謝いたします。

参考文献

1. Abrahams V.C. and Keane J. 1984. Contralateral L Midline, and commissural Motoneurons of neck muscles: a retrograde HRP study in the cat. *J Comp Neurol* **223**: 448-456.
2. Bagley R.S., Harrington M.L. and Moore M.P. 1996. Surgical treatments for seizure. Adaptability for dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* **26**: 827-842.
3. Barrett J.N. and Crill W.E. 1974. Specific membrane properties of cat motoneurons. *J Physiol* **239**: 301-324.
4. Berendt M., Hogenhaven H., Flagstad A. and Dam M. 1999. Electroencephalography in dogs with epilepsy: similarities between human and canine findings. *Acta Neurol Scand* **99**: 276-283.
5. Binder M. and Mendell L. The segmental Motor system. Oxford, New York: Oxford University Press, 1990.
6. Burke R.E. 1967. Motor unit types of cat triceps surae muscle. *J Physiol* **193**: 141-160.
7. Burke R.E., Levine D.N., Tsairis P. and Zajac F.E., 3rd. 1973. Physiological types and histochemical profiles in motor units of the cat gastrocnemius. *J Physiol* **234**: 723-748.

8. Carlson H. 1976. Distribution of myofibrillar ATPase in the lumbar back muscles of the cat. *Acta Physiol Scand* **98**: 509-511.
9. Carlson H. 1978. Morphology and contraction properties of cat lumbar back muscles. *Acta Physiol Scand* **103**: 180-197.
10. Crowell-Davis S.L., Lappin M. and Oliver J.E., Jr. 1989. Stimulus-responsive psychomotor epilepsy in a Dobermann Pinscher. *J Am Anim Hosp Assoc* **25**: 57-60.
11. Cullheim S. and Kellerth J.O. 1976. Combined light and electron microscopic tracing of neurons, including axons and synaptic terminals, after intracellular injection of horseradish peroxidase. *Neurosci Lett* **2**: 307-313.
12. Cullheim S. and Ulfhake B. 1979. Observations on the morphology of intracellularly stained gamma-motoneurons in relation to their axon conduction velocity. *Neurosci Lett* **13**: 47-50.
13. Dement W. and Kleitman N. 1957. Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility, and dreaming. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **9**: 673-690.

14. Desmedt J.E. and Bourguet M. 1985. Color imaging of parietal and frontal somatosensory potential fields evoked by stimulation of median or posterior tibial nerve in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **62**: 1-17.
15. Desmedt J.E., Nguyen T.H. and Bourguet M. 1987. Bit-mapped color imaging of human evoked potentials with reference to the N20, P22, P27 and N30 somatosensory responses. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **68**: 1-19.
16. Dodman N.H., Knowles K.E., Shuster L Moon-Fanelli A.A., Tidwell A.S. and Keen C.L. 1996. Behavioral changes associated with suspected complex partial seizures in bull terriers. *J Am Vet Med Assoc* **208**: 688-091.
17. Dodman N.H., Miczek K.A., Knowles K., Thalhammer J.G. and Shuster L. 1992. Phenobarbital-responsive episodic dyscontrol (rage) in dogs. *J Am Vet Med Assoc* **201**: 1580-1583.
18. Egger M.D., Freeman N.C. and Proshansky E. 1980. Morphology of spina L Motoneurones mediating a cutaneous spinal reflex in the cat. *J Physiol* **306**: 349-363.

19. Gasser H.S., and Graham, H.T. 1933. Potentials produced in the spinal cord by stimulation of dorsal roots. *Amer J Physiol* 103: 315-323.
20. Holstege G., van Neerven J. and Evertse F. 1987. Spinal cord location of the motoneurons innervating the abdominal, cutaneous maximus, latissimus dorsi and longissimus dorsi muscles in the cat. *Exp Brain Res* 67: 179-194.
21. Huanmin G., Yaoquan L., Shaoping L., Bo X. and Chao W. 2006. A reversible middle cerebral artery occlusion model using intraluminal balloon technique in monkeys. *J Stroke and Cerebrovascular Diseases* 15: 202-208.
22. Ishihara T. and Yoshi N. 1972. Multivariate analytic study of EEG and mental activity in juvenile delinquents. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 33: 71-80.
23. Jaggy A. and Heynold Y. 1996. [Idiopathic epilepsy in the dog]. *Schweiz Arch Tierheilkd* 138: 523-531.
24. Kaneko T., Caria M.A. and Asanuma H. 1994. Information processing within the motor cortex. I. Responses of morphologically identified motor cortical cells to stimulation of the somatosensory cortex. *J Comp Neurol* 345: 161-171.

25. Kernell D. and Zwaagstra B. 1981. Input conductance axonal conduction velocity and cell size among hindlimb motoneurons of the cat. *Brain Res* **204**: 311-326.
26. Kersten U. 1993. Möglichkeiten der EEG Diagnostik beim Hund. *Mh Vet Med Assoc* **48**: 451-455.
27. Kimotsuki T., Yasuda M., Tamahara S., Matsuki N. and Ono K. 2005. Topographic analysis of flash visual evoked potentials in dogs. *J Vet Med Sci* **67**: 869-875.
28. Light A.R. and Durkovic R.G. 1976. Horseradish peroxidase: an improvement in intracellular staining of single, electrophysiologically characterized neurons. *Exp Neurol* **53**: 847-853.
29. Lombroso C., Duffy, F.H. Brain electrical activity mapping in the epilepsies. In: Akimoto H, et al. (ed), *Advances in Epileptology*. New York: Raven Press, 1982;173-179.
30. Macpherson J.M. and Fung J. 1998. Activity of thoracic and lumbar epaxial extensors during postural responses in the cat. *Exp Brain Res* **119**: 315-323.
31. Macpherson J.M. and Ye Y. 1998. The cat vertebral column: stance configuration and range of motion. *Exp Brain Res* **119**: 324-332.

32. Parker A.J. 1982. Differential diagnosis of brain disease. Seizures. *Mod Vet Pract* **63**: 374-379.
33. Pathak K.S., Amadio M., Kalamchi A., Scoles P.V., Shaffer J.W. and Mackay W. 1987. Effects of halothane, enflurane, and isoflurane on somatosensory evoked potentials during nitrous oxide anesthesia. *Anesthesiology* **66**: 753-757.
34. Pellegrino F.C. and Sica R.E. 2004. Canine electroencephalographic recording technique: findings in normal and epileptic dogs. *Clin Neurophysiol* **115**: 477-487.
35. Redding R.W., Prynne R.B. and Wagner J.L. 1966. Clinical use of the electroencephalogram in canine encephalitis. *J Am Vet Med Assoc* **148**: 141-149.
36. Richmond F.J., Scott D.A. and Abrahams V.C. 1978. Distribution of motoneurons to the neck muscles, biventer cervicis, splenius and complexus in the cat. *J Comp Neurol* **181**: 451-463.
37. Rose P.K. 1981. Distribution of dendrites from biventer cervicis and complexus motoneurons stained intracellularly with horseradish peroxidase in the adult cat. *J Comp Neurol* **197**: 395-409.
38. Schomburg E.D. 1990. Spinal sensorimotor systems and their supraspinal control. *Neurosci Res* **7**: 265-340.

39. Schutt-Mast I. and Stephan I. 1996. [Significance of electroencephalography for the diagnosis of seizures in dogs]. *Tierarztl Prax* 24: 129-136.
40. Schwender D., Daunderer, M, Mulzer, S, Klasing, S, Finsterer, U and Peter, K. 1996. Spectral edge frequency of the electroencephalogram to monitor "depth" of anaesthesia with isoflurane or propofol. *Br J Anaesth* 77: 179-184.
41. Srenk P. and Jaggy A. 1996. Interictal electroencephalographic findings in a family of golden retrievers with idiopathic epilepsy. *J Small Anim Pract* 37: 317-321.
42. Strain G.M., Jackson R.M. and Tedford B.L. 1990. Visual evoked potentials in the clinically normal dog. *J Vet Intern Med* 4: 222-225.
43. Vanner S.J. and Rose P.K. 1984. Dendritic distribution of motoneurons innervating the three heads of the trapezius muscle in the cat. *J Comp Neurol* 226: 96-110.
44. Wada N., Akatani J., Miyajima N., Shimojo K. and Kanda K. 2006. The role of vertebral column muscles in level versus upslope treadmill walking-an electromyographic and kinematic study. *Brain Res* 1090: 99-109.

45. Wada N. and Kanda K. 2001. Neuronal pathways from group-I and -II muscle afferents innervating hindlimb muscles to motoneurons innervating trunk muscles in low-spinal cats. *Exp Brain Res* **136**: 263-268.
46. Wada N., Kanda Y., Tokuriki M. and Kanda K. 2000. Neuronal pathways from low-threshold muscle and cutaneous afferents innervating tail to trunk muscle motoneurons in the cat. *J Comp Physiol A* **186**: 771-779.
47. Wada N., Miyajima N., Akatani J., Shimojo K. and Kanda K. 2006. Electromyographic activity of m. longissimus and the kinematics of the vertebral column during level and downslope treadmill walking in cats. *Brain Res* **1103**: 140-144.
48. Wada N., Shikaki N., Tokuriki M. and Kanda K. 1999. Neuronal pathways from low-threshold hindlimb cutaneous afferents to motoneurons innervating trunk muscles in low-spinal cats. *Exp Brain Res* **128**: 543-549.
49. Wada N., Takahashi K. and Kanda K. 2003. Synaptic inputs from low threshold afferents of trunk muscles to motoneurons innervating the longissimus lumborum muscle in the spinal cat. *Exp Brain Res* **149**: 487-496.

50. Willis Jr.W.E. and Coggeshall R.E. Sensory mechanisms of the spinal cord. New York: Plenum Press, 1991.
51. Wilson E.O. Biophilia; the human bond with other species. Cambridge, U.S.A.: Harvard University Press, 1984.
52. Woolsey C. Organization of somatic sensory and motor areas of the cerebral cortex. In: Harlow HaW, CN (ed), Biological and Biochemical Bases of Behavior. Madison, WI: The University of Wisconsin Press, 1958;63-81.
53. Yamazaki K. 人は動物に何を求めるのか, ノーマライゼーション 障害者の福祉, 2005;(5)30-32.

参考図書

大熊 輝雄：臨床脳波学第5版，東京，医学書院，1999

下地恒毅 編集：誘発電位－基礎から臨床応用まで－，新潟，西村書店，1992

藤原哲司：筋電図・誘発電位マニュアル改訂第4版，京都，金芳堂，2004

図説

Fig.1 2T-10T で同側の iDC の単一パルス刺激により ABSm 運動ニューロンに誘発されたシナプス後電位の 8 回掃引平均.

上側と下側のトレースは PSP と脊髓背面電位を示す.

最下段パネルの上向き ↑ 矢印と下向き ↓ 矢印は, 脊髓背面電位の立ち上がり と PSP の開始を示す.

刺激強度の増加は PSP の振幅の増大をもたらすことに注意.

Fig.2 L2-L5 において 5T での両側 VC 刺激により PBS_t 運動ニューロンに誘発された PSP の平均. iVC 刺激と cVC 刺激は各髄節において各々, IPSP を伴う EPSP と IPSP を誘発した.

上側と下側のトレースは PSP と脊髓背面電位を示す.

Fig.3 L2-L5 において 5T での両側 VC 刺激により GS 運動ニューロンに誘発された PSP の平均.

iVC 刺激は刺激した神経の髄節に IPSP のみを誘発し, cVC 刺激では反応が無かった.

運動ニューロン (L6-L7) に近づくほど PSP の振幅は増大した.

上側と下側のトレースは PSP と脊髓背面電位を示す.

Fig.4 DC と VC を 5T で両側を刺激することにより ABSm, PBSt および GS の各運動ニューロンに誘発された様々なタイプの PSP(EPSP, IPSP, EPSP/IPSP, IPSP/EPSP).

体幹皮膚神経は主に屈筋運動ニューロン (ABSm,PBSt) で EPSP を伸筋運動ニューロン (GS) では IPSP を誘発した.

3 種の運動ニューロン全てでの PSP 発現率は DC 刺激よりも VC 刺激の方が大きく, GS 運動ニューロンでは同側と対側の神経刺激による PSP 出現率に差が見られた.

Fig.5 2 本の腰最長筋運動ニューロンの平面上への再構築.

下段には後肢筋と皮膚神経における電気刺激の効果を示す.

腰最長筋運動ニューロンの細胞体が脊髓腹角の外側に位置すること, 樹状突起の分布パターンは運動ニューロンにより違いがあることに注目.

WM : 白質, **GM** : 灰白質, **R** : 頭側, **C** : 尾側, **M** : 内側, **L** : 外側, **i** : 同側, **c** : 対側, **Q** : 大腿四頭筋神経, **PBSt** : 大腿二頭筋後部および半腱様筋神経, **GS** : 腓腹筋神経, **Sur** : 腓腹神経, **Tib** : 脛骨神経, **SPc** : 浅腓骨神経

Table 1 腰最長筋運動ニューロンの形態学的特徴

(1)細胞体 (μm^2), (2)平均直径(μm), (3)一次樹状突起の数,
(4)細胞体からの樹状突起の分布範囲 : (4)*1 ; 頭側方向(μm),
(4)*2 ; 尾側方向(μm), (4)*3 ; 内側方向(μm), (4)*4 ; 外側方向(μm),
(4)*5 ; 背側方向(μm), (4)*6 ; 腹側方向(μm), (5) ; 樹状突起の総
延長(μm) , (6) ; 白質内における樹状突起の総延長(μm)

Table 2 後肢筋および皮膚神経を 5T で刺激した後に生じたシナプス後
電位のパターン

E : 興奮性シナプス後電位, **I** : 抑制性シナプス後電位, **N** : 無反
応

Fig.6 頭蓋上の 25 本の脳波記録電極の配置の基準. 体軸方向は前頭
骨頬骨突起と後頭骨頭頂部の位置, 横軸は左右の前頭骨頬骨突起
を基準とした四角形に 25 本の電極を配置した.

Fig.7 正常犬の電極配置図 ; 25 本の電極と電極番号

Fig.8 大脳皮質と電極との位置関係 (a は背面, b は側面からの図)

Fig.9 電極配置図(てんかんのイヌ)

Fig.10 イヌでのマッピング(てんかんのイヌ)

Fig.11 正常犬の脳波

Fig.12 60 秒間 (4 秒×15) 脳波記録を基に作成したトポグラフィ表示.
正常犬 ; 0-4Hz(δ 波)

Fig.13 60 秒間 (4 秒×15) 脳波記録を基に作成したトポグラフィ表示.
正常犬 ; 4-7Hz(θ 波)

Fig.14 1.2-1.8T で正中神経を電気刺激した後, 2 番の電極から記録した SEP. 刺激強度を増大させるにつれてより長い潜時においてピークが認められた.

Fig.15 左正中神経刺激を 1.8T で刺激して得られた各単電極での SEP

Fig.16 1.8T 刺激で得られた SEP の P14,P20,P46 と N27 のトポグラフィ表示. P14 と P20 のトポグラフィ表示のフォーカスは反対側の中央部分で観察された.

Fig.17 閃光刺激による VEP の平均波形

Fig.18 VEP のそれぞれの潜時におけるトポグラフィ表示. P1 の表示における F.R.L はそれぞれ頭蓋の前方, 右側, 左側を示す.

Fig.19 てんかんのイヌの脳波(症例 1) 16 チャンネルそれぞれから記録された脳波

Fig.20 てんかんのイヌ(症例 1)のトポグラフィ (δ 波)

Fig.21 てんかんのイヌ(症例 1)のトポグラフィ (θ 波)

Fig.22 てんかんのイヌの脳波(症例 2) 16 チャンネルそれぞれから記録された脳波

Fig.23 てんかんのイヌ(症例 2)のトポグラフィ (δ 波)

Fig.24 てんかんのイヌ(症例 2)のトポグラフィ (θ 波)

Fig.25 てんかんのイヌの脳波(症例 3) 16 チャンネルそれぞれから記録された脳波

Fig.26 てんかんのイヌ(症例 3)のトポグラフィ (δ 波)

Fig.27 てんかんのイヌ(症例 3)のトポグラフィ (θ 波)

A: ABSm-MN (No.12)
iDC L4

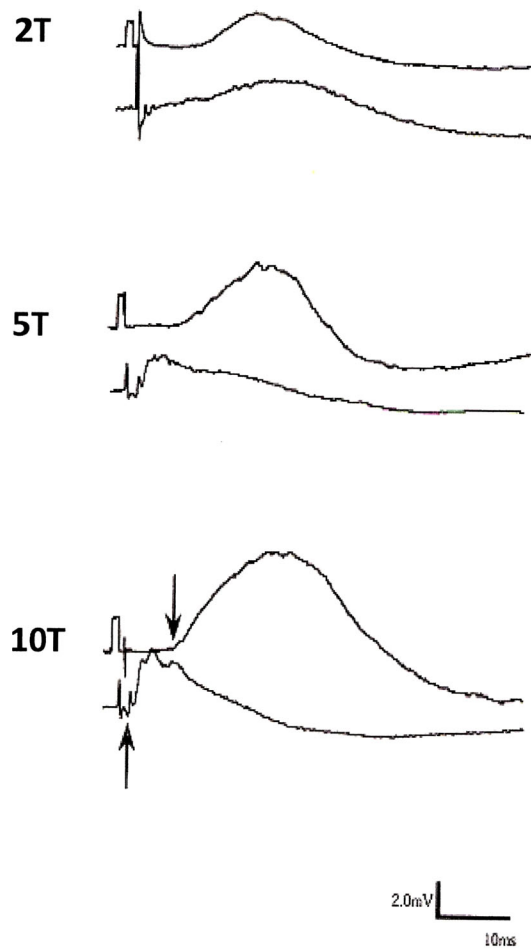


Fig.1: Averaged postsynaptic potentials of eight sweeps produced in an ABSm motoneuron (ABSm-MN) by single-pulse stimulation of DC on the ipsilateral side (iDC) at 2-10T. The upper and lower traces show the PSP and incoming volley. The upward and downward arrows in the lowest panel indicate the onsets of incoming volley and PSP. Note that increasing the stimulus intensity led to an increase in the sizes of PSPs.

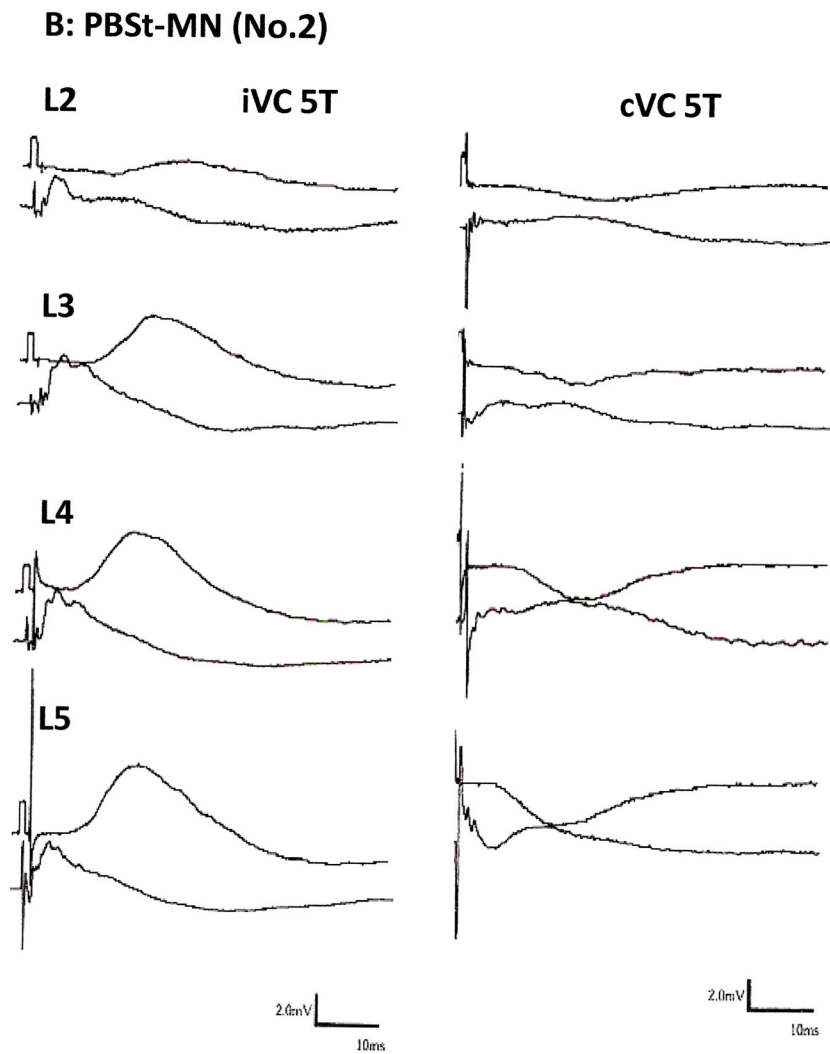


Fig2: Averaged PSPs recorded from a PBST motoneuron (PBSt-MN) after stimulation of VC on the both sides entering into L2-L5 at 5T. Stimulation of VC on the ipsilateral (iVC) and contralateral side (cVC) cause EPSP followed IPSP and IPSP independently on spinal segments.

C: GS-MN (No. 21)

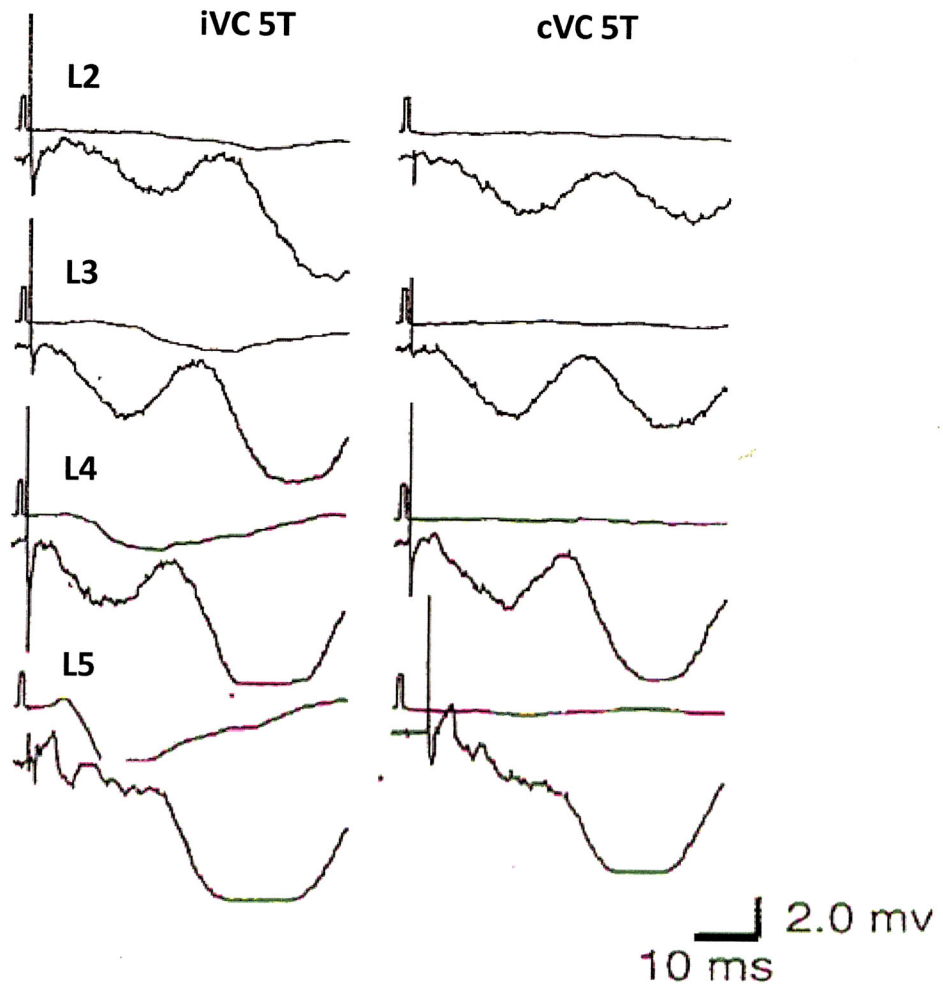


Fig.3: Averaged PSPs recorded from a GS motoneuron (GS-MN) after stimulation of VC on the both sides at L2-L5. Stimulation of iVC causes IPSP independently on spinal segments independent of stimulated nerves, and the stimulation of cVC did not produce any effects. Note that the size of PSP was increased as the stimulated nerves became closer to spinal segments of motoneurons (L6-L7).

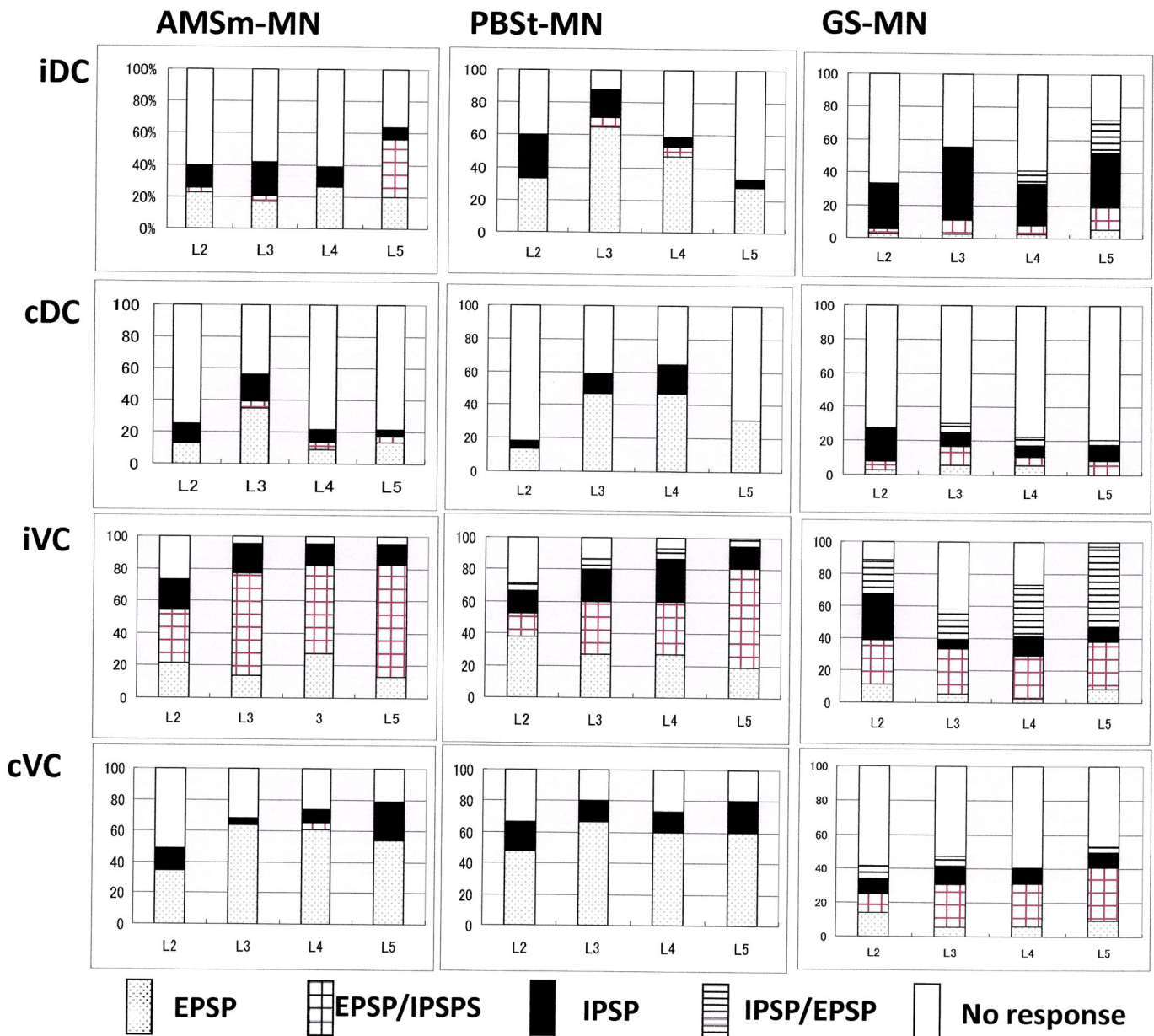


Fig.4 Incidence of different types of PSPs (pure EPSP, pure IPSP, EPSP followed IPSP, IPSP followed EPSP) in the ABSm, PBSt and GS motoneurons after stimulation of DC and VC on both sides at 5T. Stimulation of trunk cutaneous nerves mainly produced EPSPs in the flexor motoneurons (AMSm and PBSt) and IPSPs in the extensor motoneurons (GS). The appearance rates of PSPs in all three kinds of motoneurons were greater after stimulation of VC than after stimulation of DC, and the differences in the appearance rates after stimulation of nerves on the ipsilateral side and the contralateral side were observed in GS motoneurons.

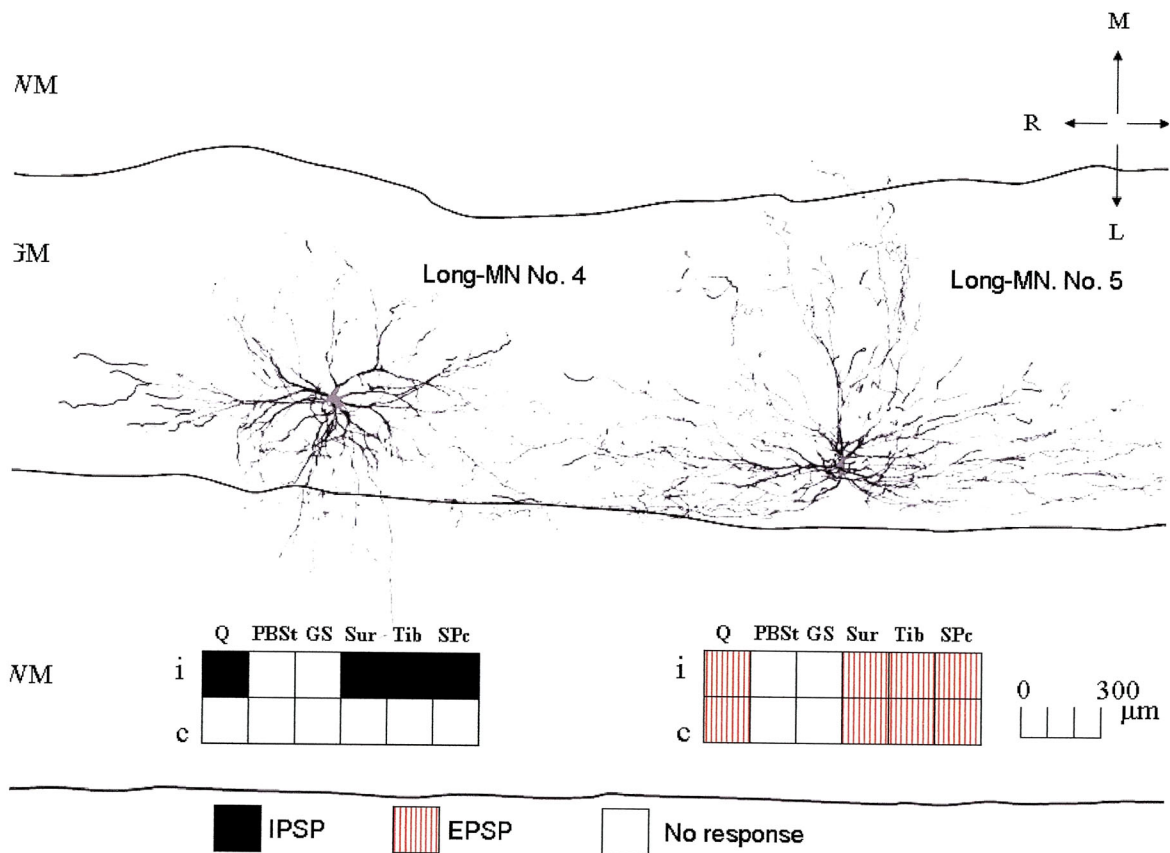


Fig. 5 - Reconstruction of 2 Long Motoneurons in the horizontal plane.
 The effects of electrical stimulation on the hindlimb muscle and cutaneous nerves are shown in the lower panel. Note the Long Motoneurons somas located in the lateral area of the ventral horn and the differing dendritic distribution patterns among the motoneurons. WM, white matter; GM, gray matter; R, rostral; C, caudal; M, medial; L, lateral; i, ipsilateral; c, contralateral; Q, quadriceps femoris; PBSt, posterior biceps femoris and semitendinosus; GS, gastrocnemius; Sur, sural; Tib, tibialis; SPc, superior cutaneous.

Table 1. Morphological characteristics of Long Motoneurons

腰最長筋運動ニューロンの形態学的特徴

Neuron No.	Indicators of parameter										
	(1)	(2)	(3)	(4)*1	(4)*2	(4)*3	(4)*4	(4)*5	(4)*6	(5)	(6)
1	1853	48.6	10	1053	906	600	893	300	1050	58199.7	1655.9
2	2895	61.3	8	1680	1453	1133	200	750	600	34013.9	3415.9
3	2578	57.3	9	1343	1493	746	866	700	800	41520.7	4224.8
4	1712	46.7	6	720	704	824	248	600	200	11918.9	5141.9
5	2561	57.1	10	900	942	900	283	800	400	23834.5	519.1
6	2358	54.8	12	880	544	600	312	300	600	24145.8	3200.4
7	1114	37.7	7	1272	1111	556	1056	900	600	13638.7	2116.6
8	1280	40.4	6	560	1030	1008	784	1600	1000	31668.9	6706.5
9	1137	38.0	9	705	549	123	694	1800	800	15658.0	2006.6
10	2252	53.6	9	800	690	416	388	600	600	44000.7	3324.8
11	1812	49.7									
12	2501	56.4									
13	2300	52.8									

(1) Soma area (μm^2); (2) average diameter (μm); (3) number of primary dendrites; (4)*1 (μm), (4)*2 (μm), (4)*3 (μm), (4)*4 (μm), (4)*5 (μm) and (4)*6 (μm), dendritic distribution ranges in the rostral, caudal, medial, lateral, dorsal and ventral directions from the nucleus; (5) total dendritic length (μm); (6) dendritic length in white matter (μm).

Table 2. PSP pattern after stimulation of hindlimb muscle and cutaneous nerves at 5T

No.	iQ	cQ	iPBSt	cPBSt	iGS	cGS	Isur	cSur	iTib	cTib	iSPc	cSPC
1	I	N	N	N	I	N	I	N	I	N	I	N
2	E	E	N	N	N	N	E	E	E	E	E	E
3	E	E	I	N	E	E	E	E	E	E	E	E
4	E	E	N	N	N	N	E	E	E	E	E	E
5	E	N	N	N	I	N	E	N	I	I	I	I
6	E	E	I	I	E	E	E	E	E	E	E	E
7	E	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
8	N	N	N	N	N	N	E	N	E	N	N	N
9	E	N	N	N	E	N	N	N	N	N	N	N
10	I	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
11	E	N	N	N	N	N	E	N	E	N	E	N
12	E	N	N	N	N	N	E	N	E	N	E	E
13	E	E	I	N	I	N	I	N	I	N	I	N

E: PSP. I: IPSP. N: No response.

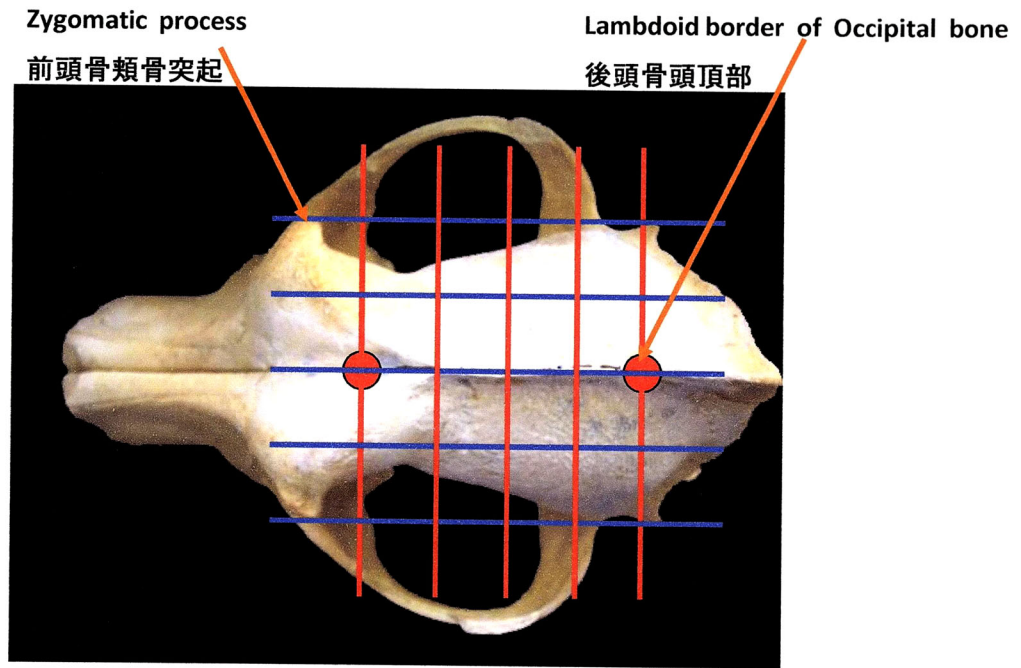


Fig.6 Standard of recording electrode arrangement

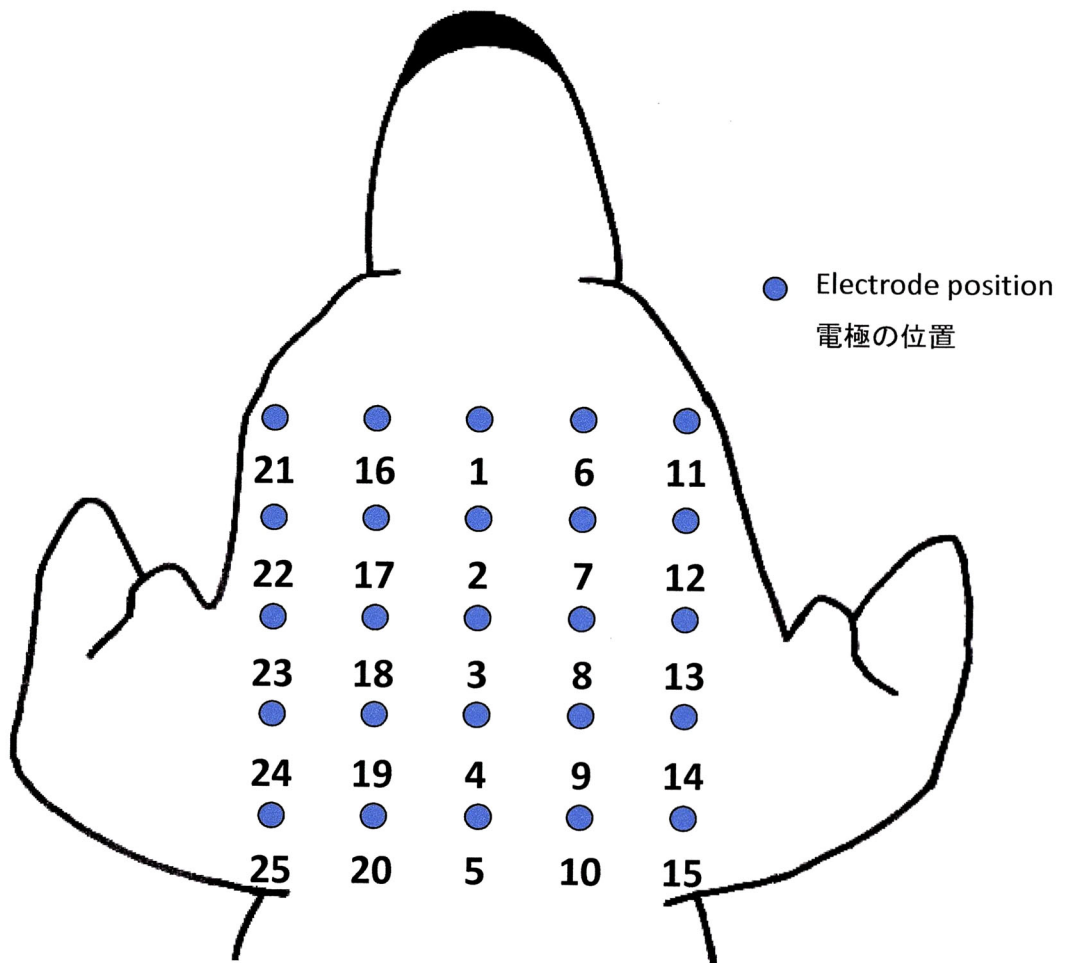
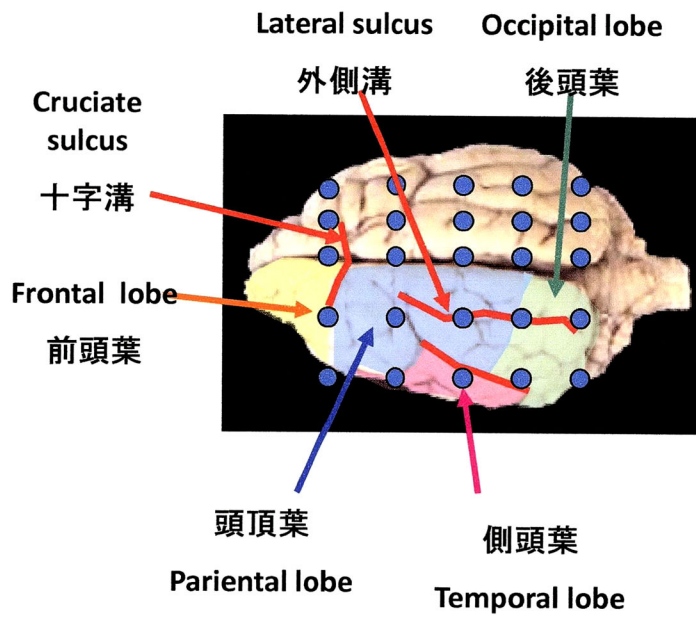
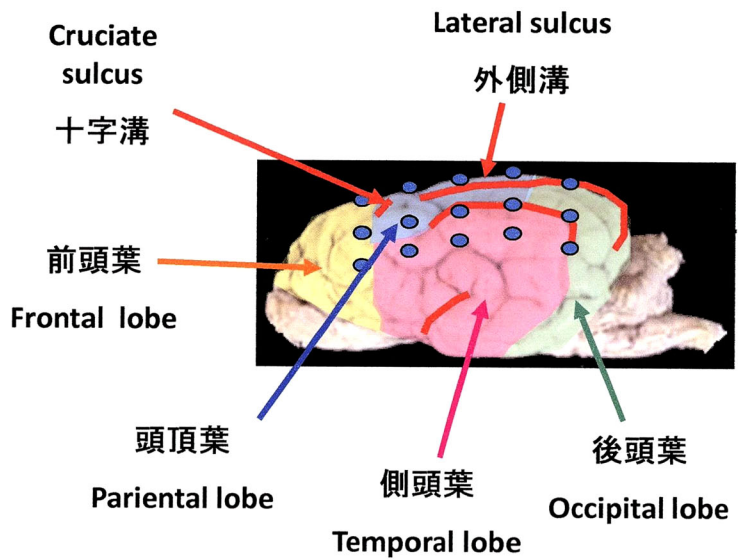


Fig.7 Electrode arrangement (Normal dog)

(a)



(b)

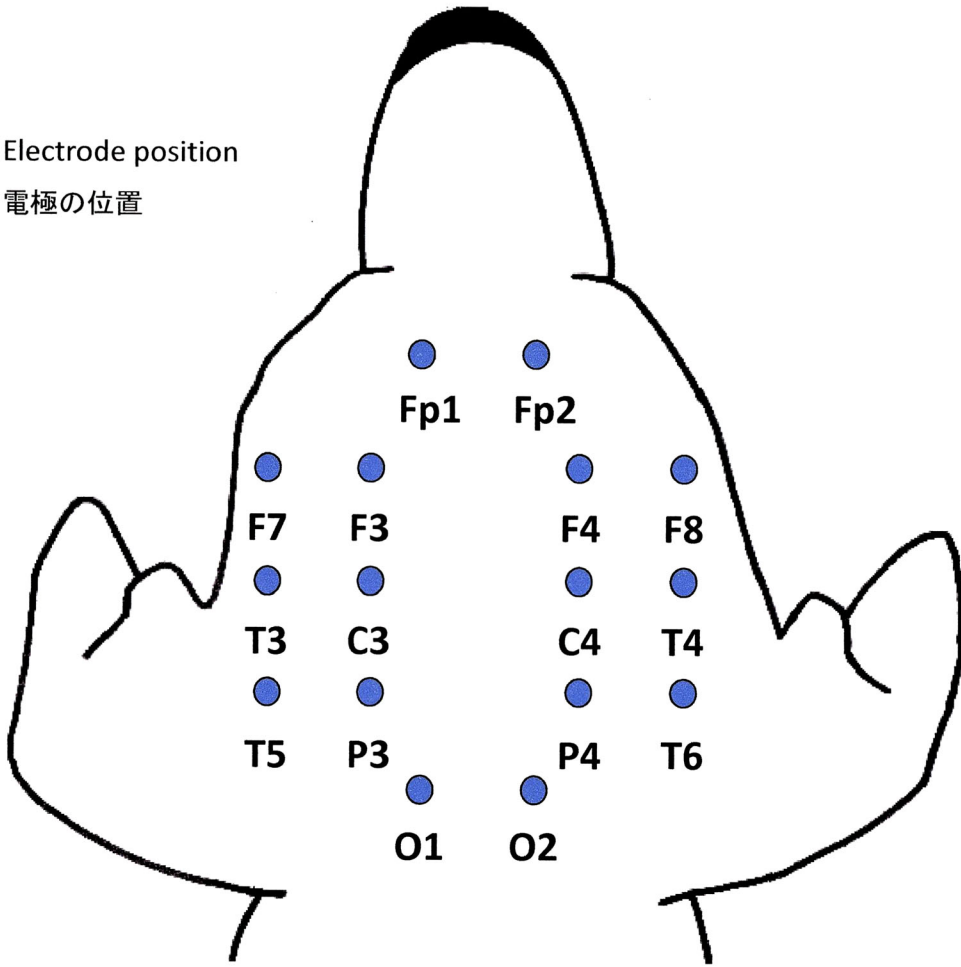


● Electrode position
電極の位置

Fig.8

The relationship between the cerebral cortex and the electrodes.
(a;dorsal side, b;lateral side)

● Electrode position
電極の位置



Fp1→1CH
Fp2→2CH
F3→3CH
F4→4CH
C3→5CH
C4→6CH
P3→7CH
P4→8CH
O1→9CH
O2→10CH

Fig.9 Electrode arrangement (epilepsy dog)

F7→11CH
F8→12CH
T3→13CH
T4→14CH
T5→15CH
T6→16CH

Arrange to CH name like above.

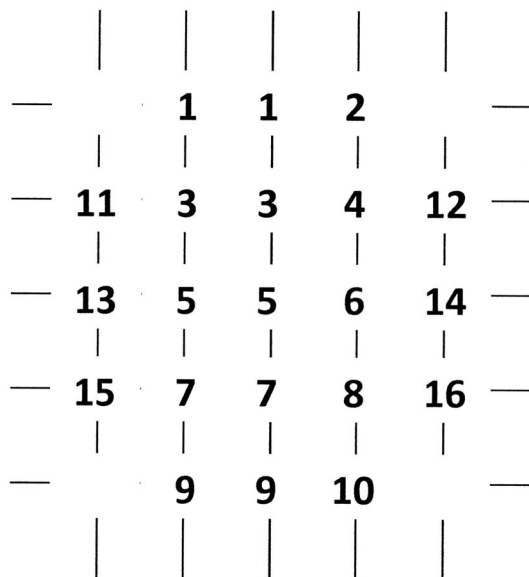


Fig.10 Mapping in dog(epilepsy dog)

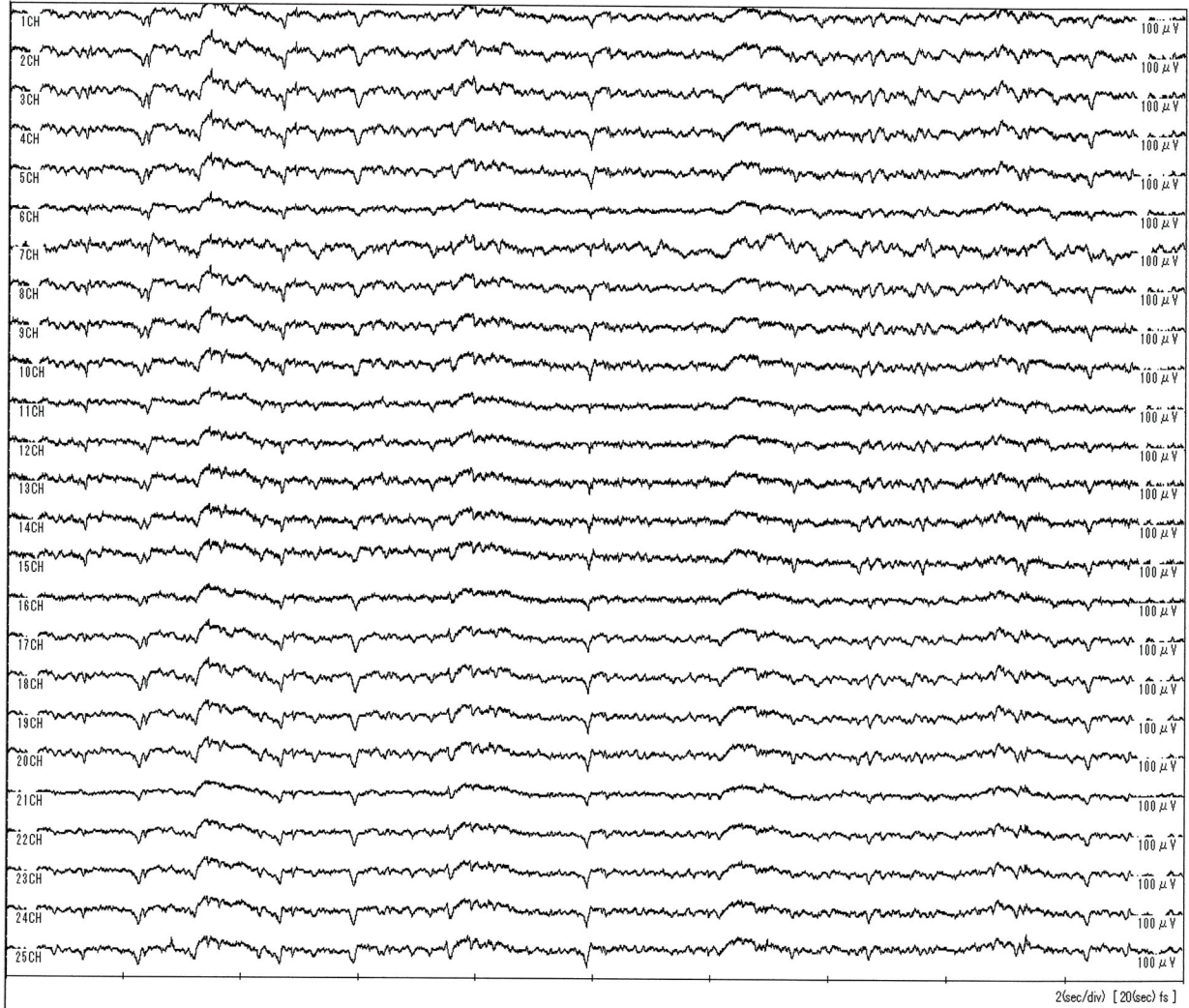


Fig.11 EEG of normal dog recording from each 25 channels.

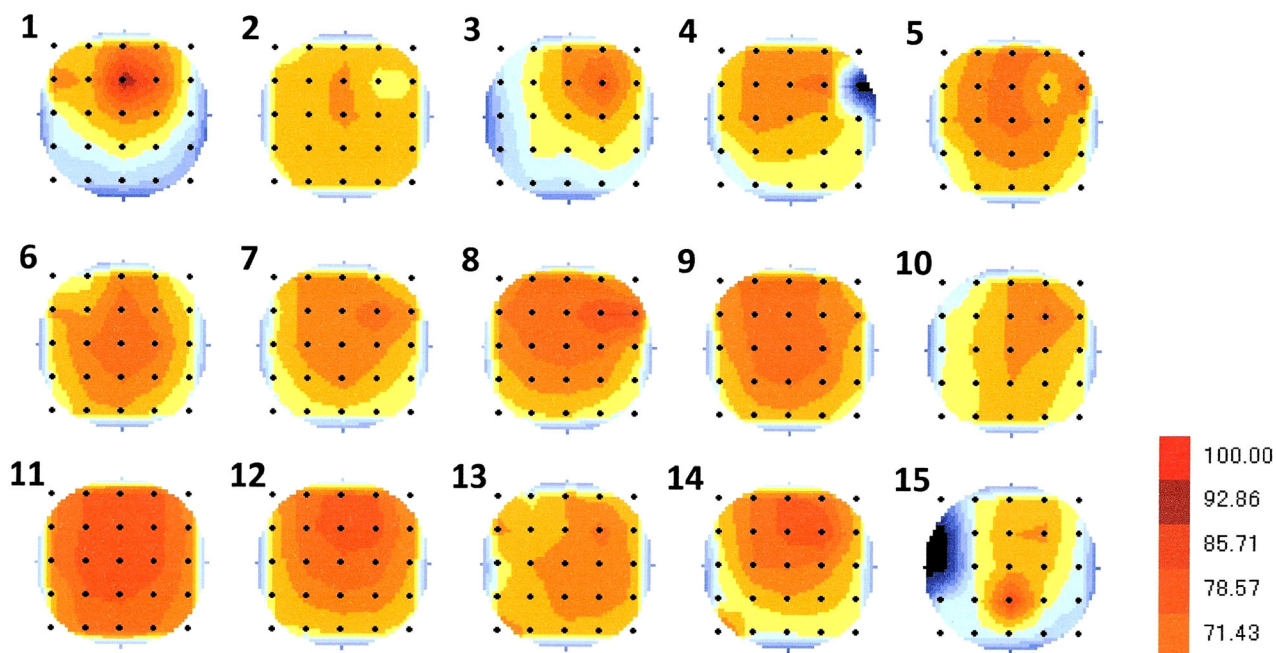


Fig.12 Topography from normal dog (δ wave)

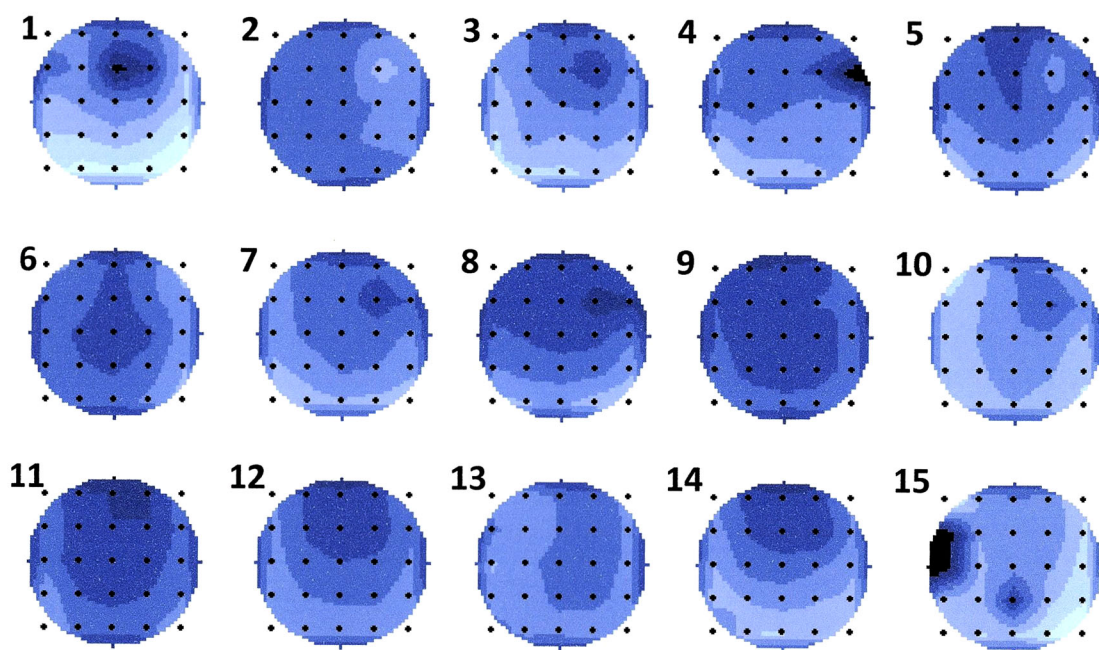


Fig.13 Topography from normal dog (θ wave)

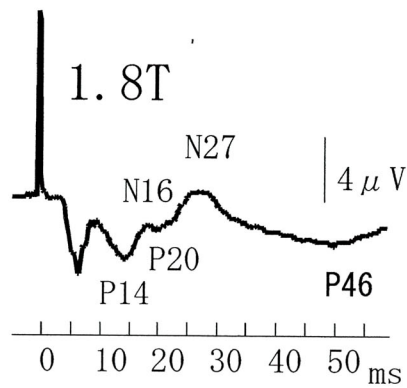
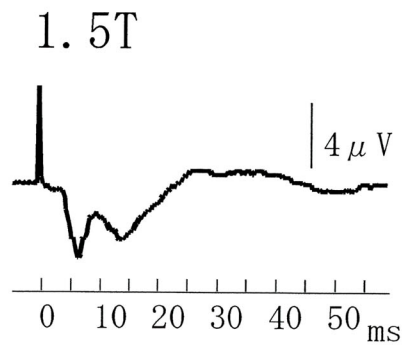
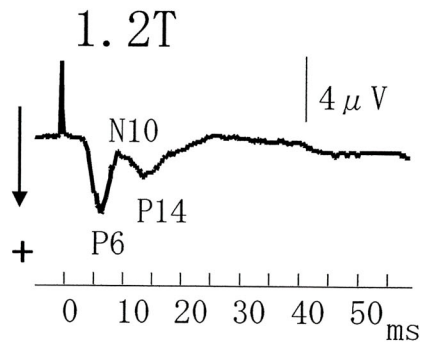
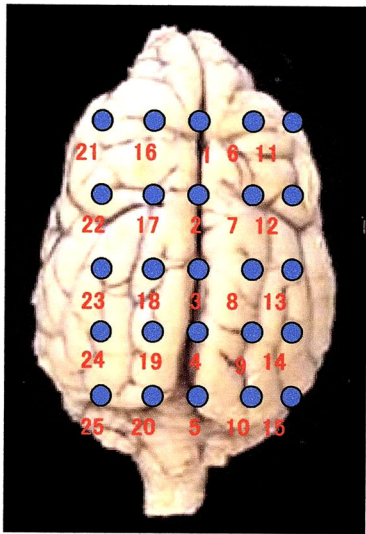


Fig.14 Somatosensory evoked potential recorded from electrode-2 after electrical stimulation of medial nerve at 1.2~1.8T.(Dog –No.7)



● Electrode position
電極の位置

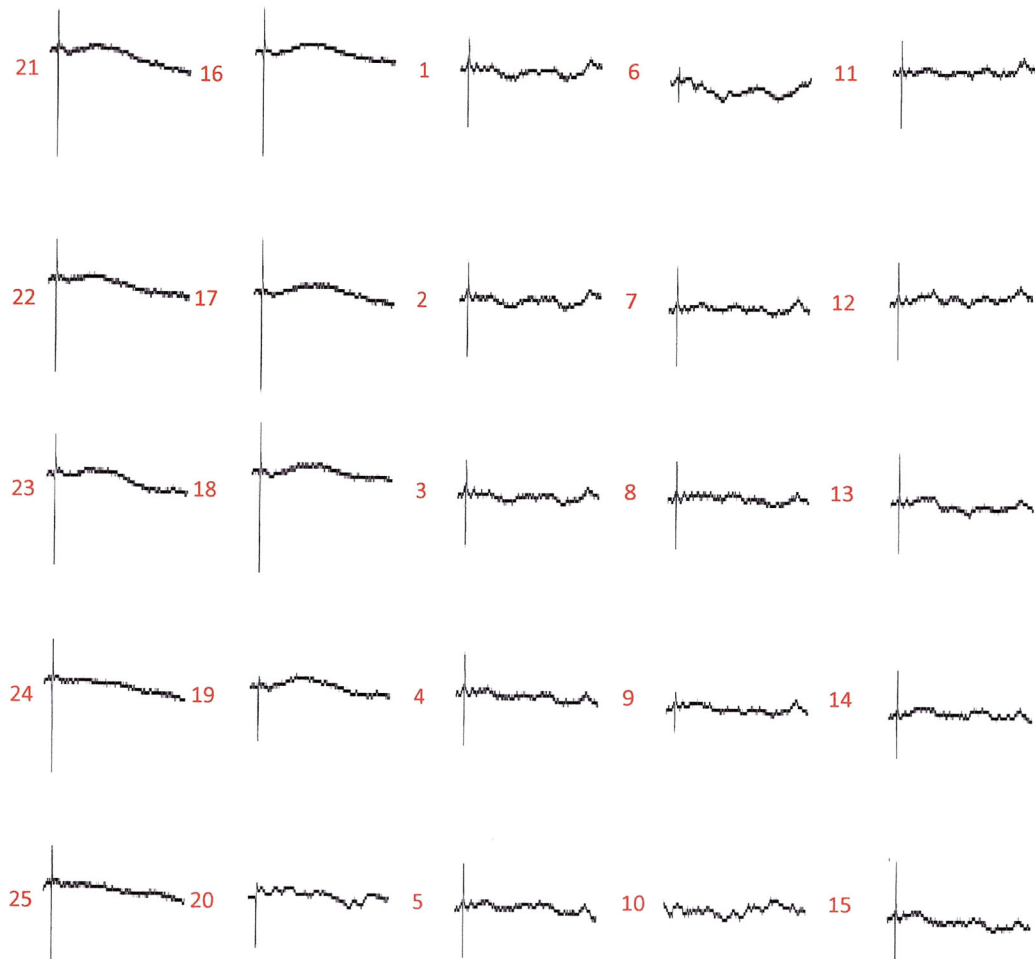


Fig.15 Somatosensory evoked potential recorded from 25 electrodes after electrical stimulation of medial nerve at 1.8T.

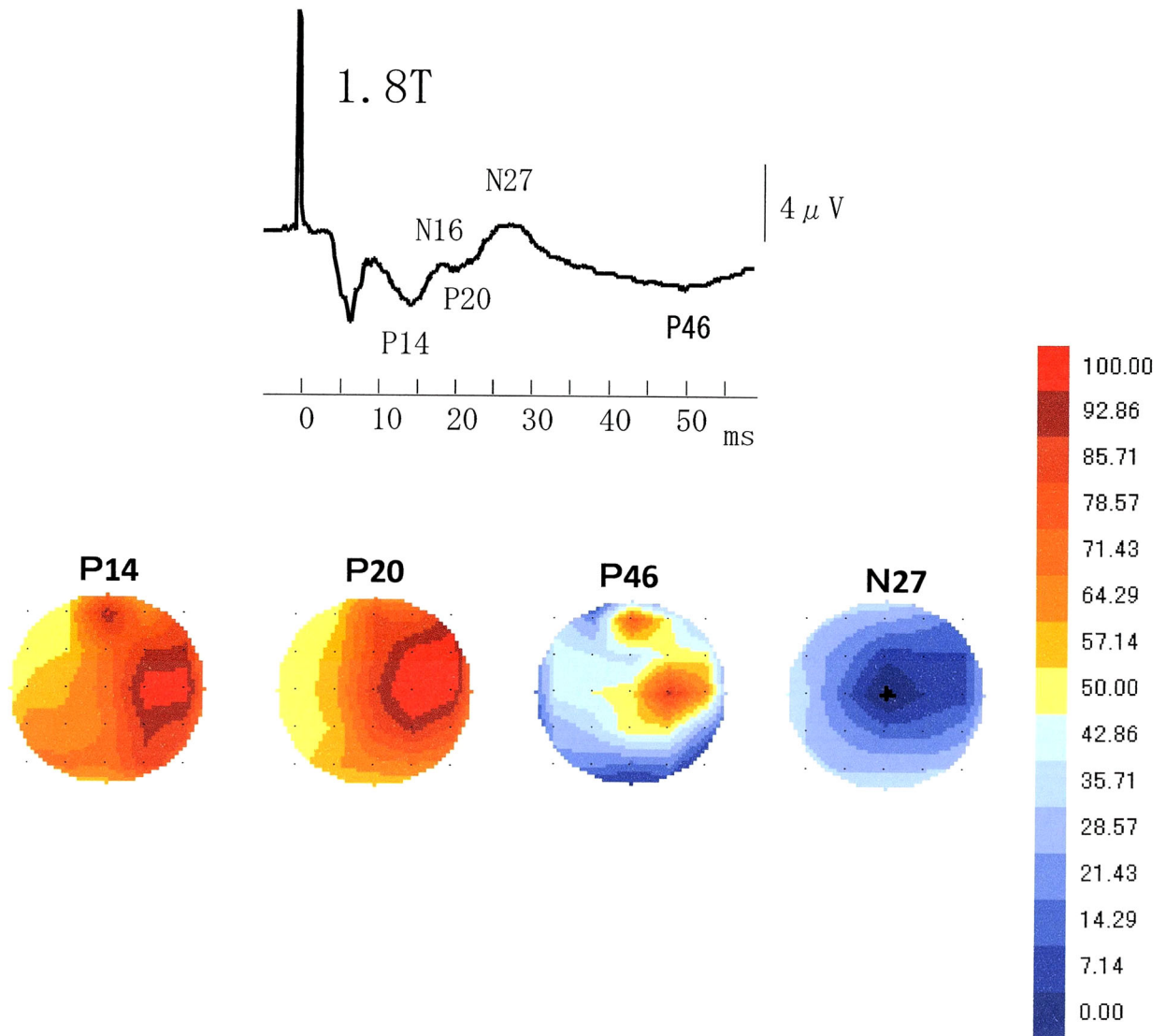


Fig.16
 Topographic analyzing of SEP P14, P20, P46 and N27, after electrical stimulation of medial nerve at 1.8T.

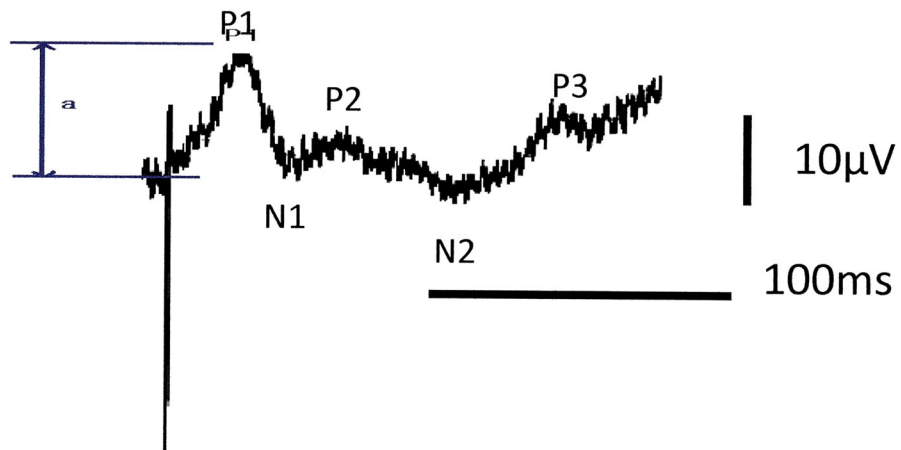


Fig.17 Flash Visually evoked potentials (FVEP)

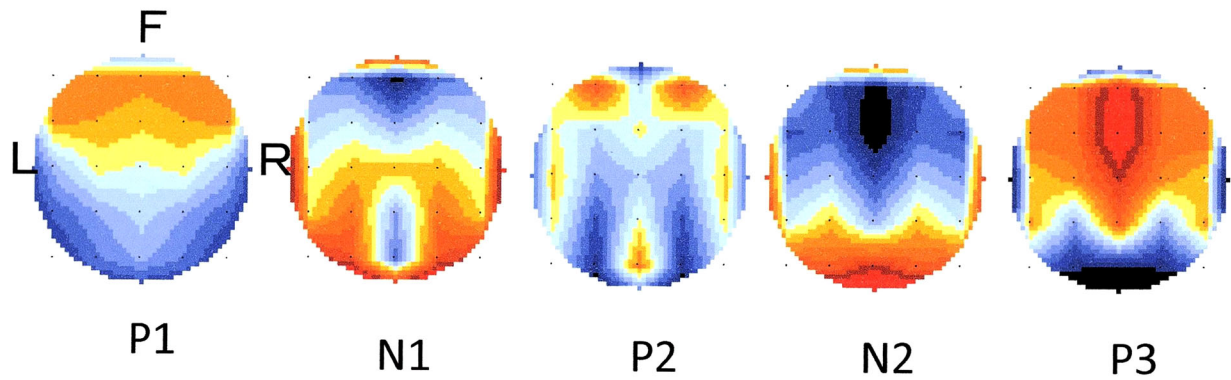


Fig.18 Topographic mappings corresponding to the latency of each averaged waveform on the flash VEP. In a picture at P1, F.R.L indicate front, right and left on the scalp, respectively.

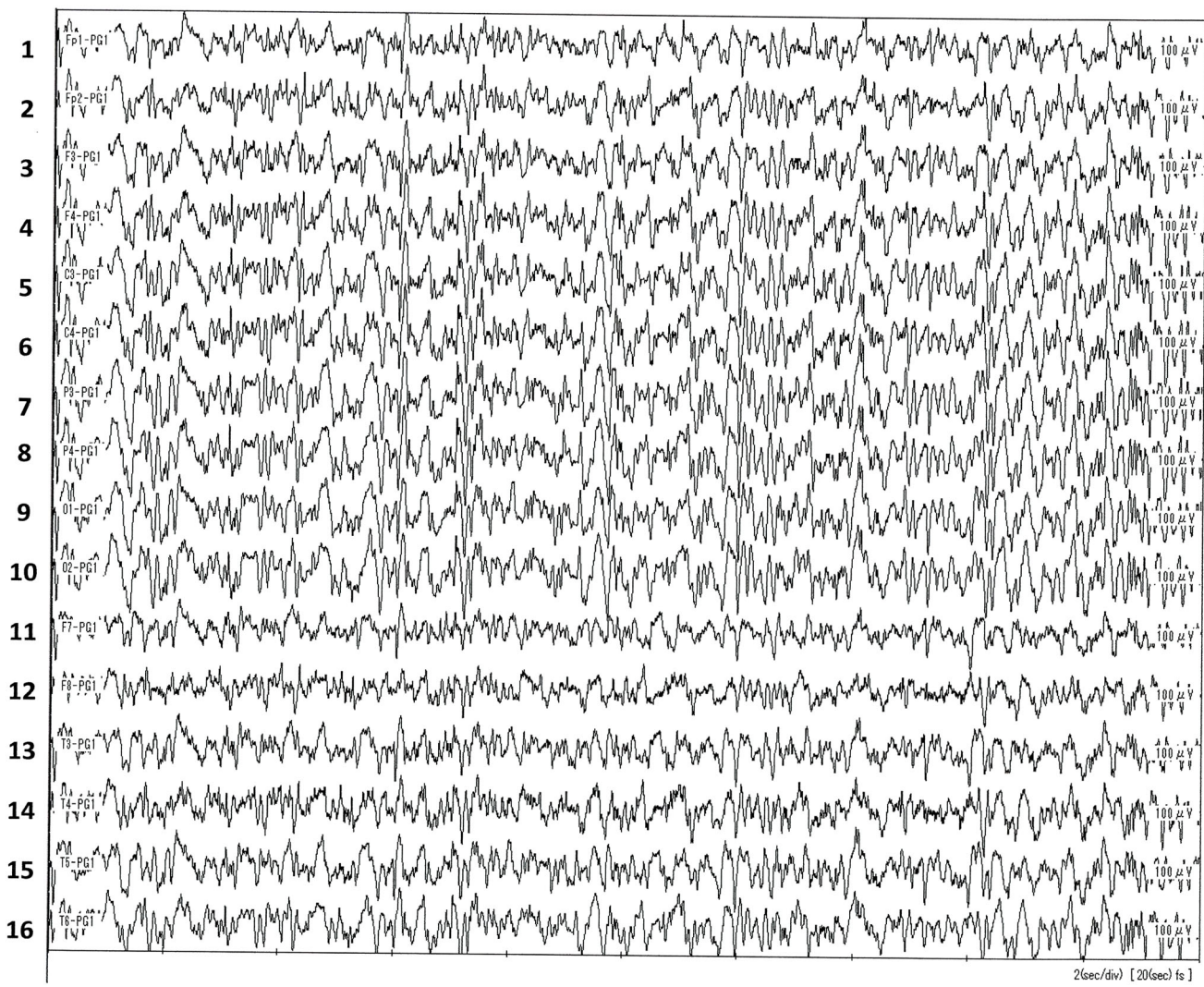


Fig.19 EEG of epilepsy dog recorded from each 16 channels. (Case 1)

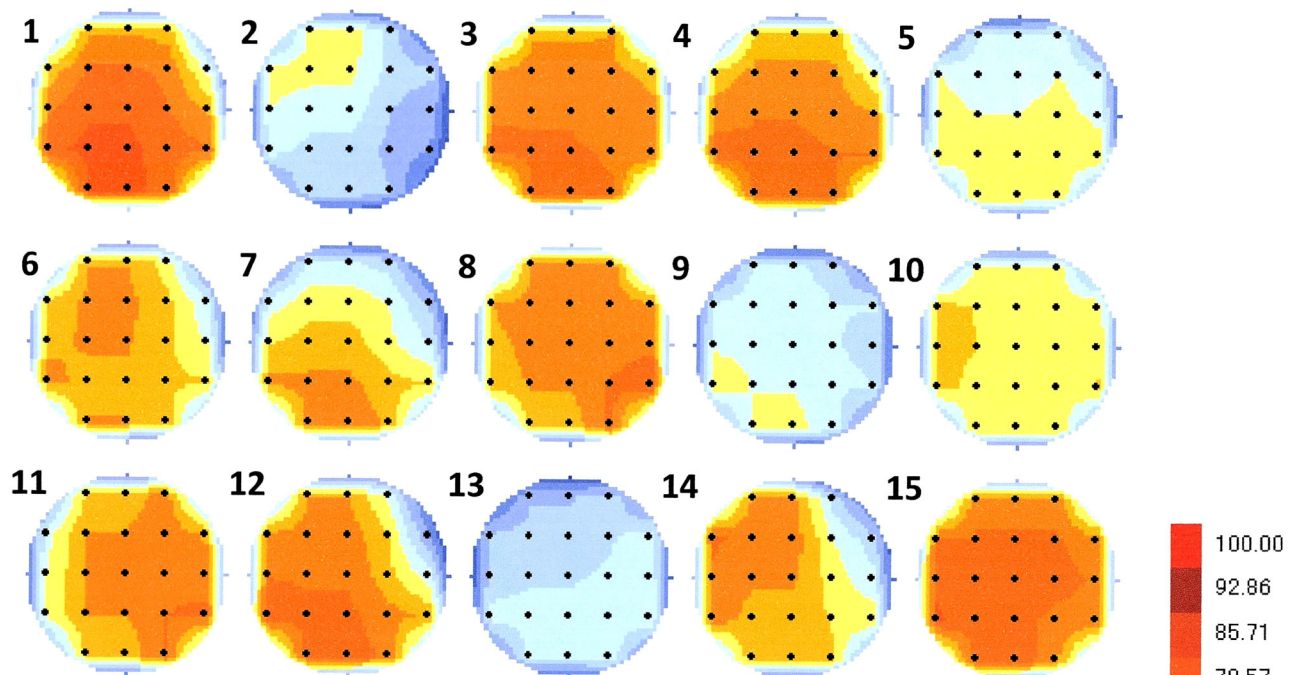


Fig.20 Topography from case 1 epilepsy dog (δ wave)

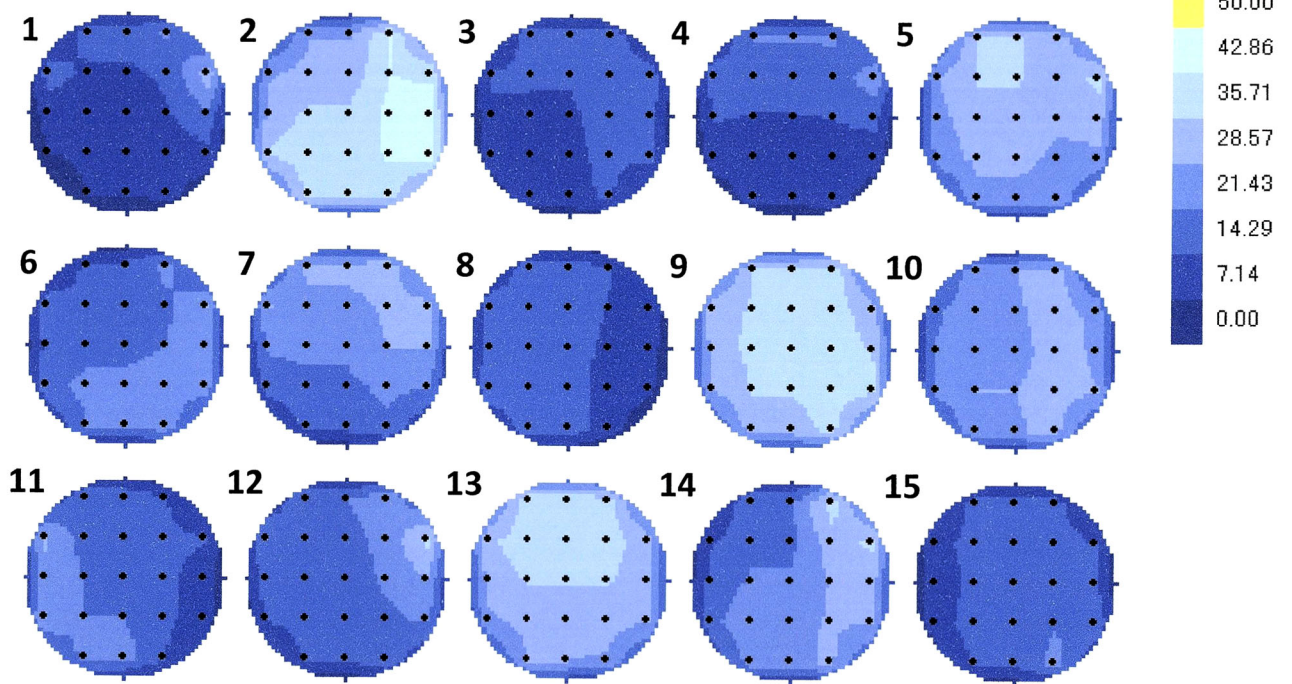


Fig.21 Topography from case 1 epilepsy dog (θ wave)

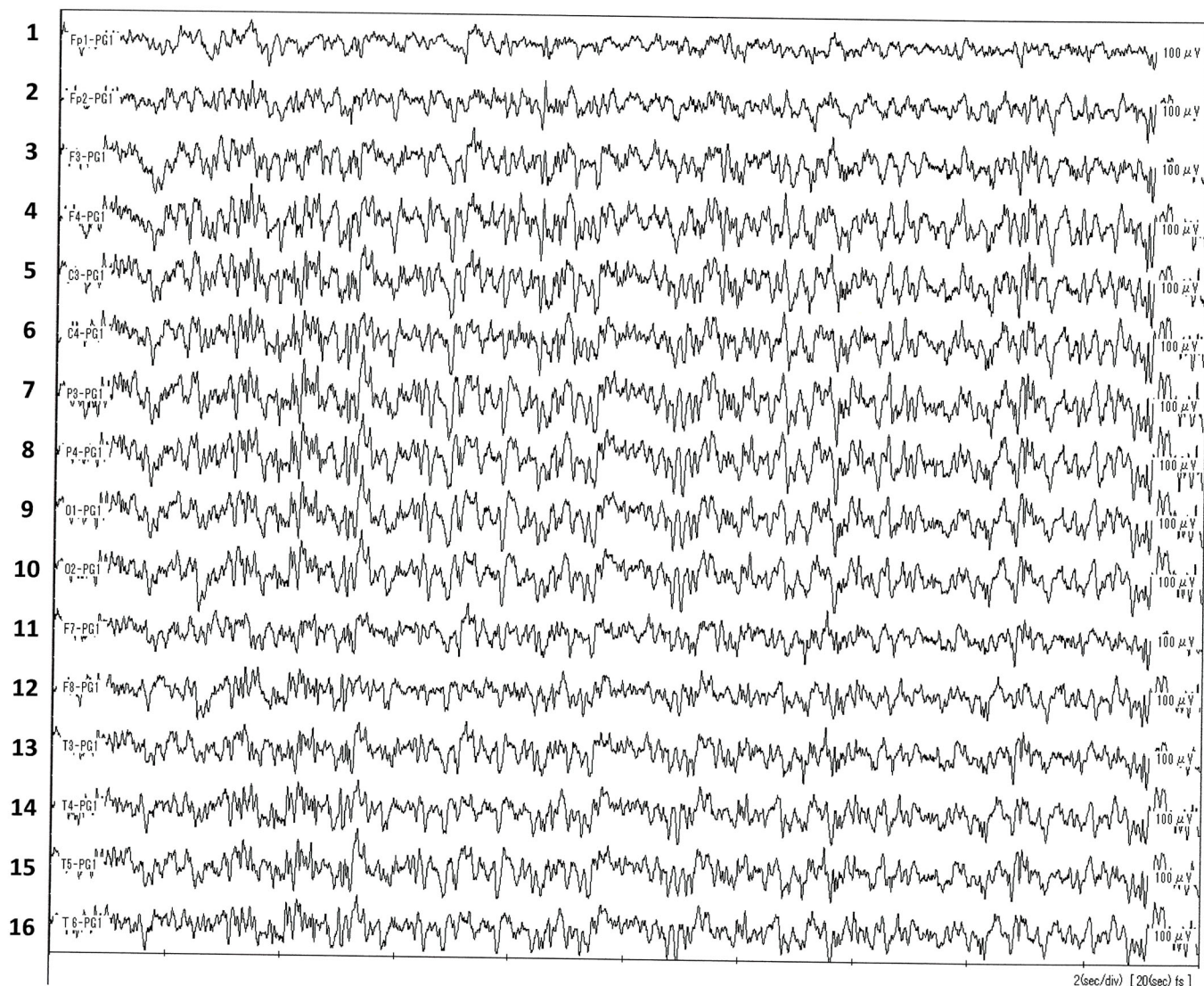


Fig.22 EEG of epilepsy dog recorded from each 16 channels. (Case 2)

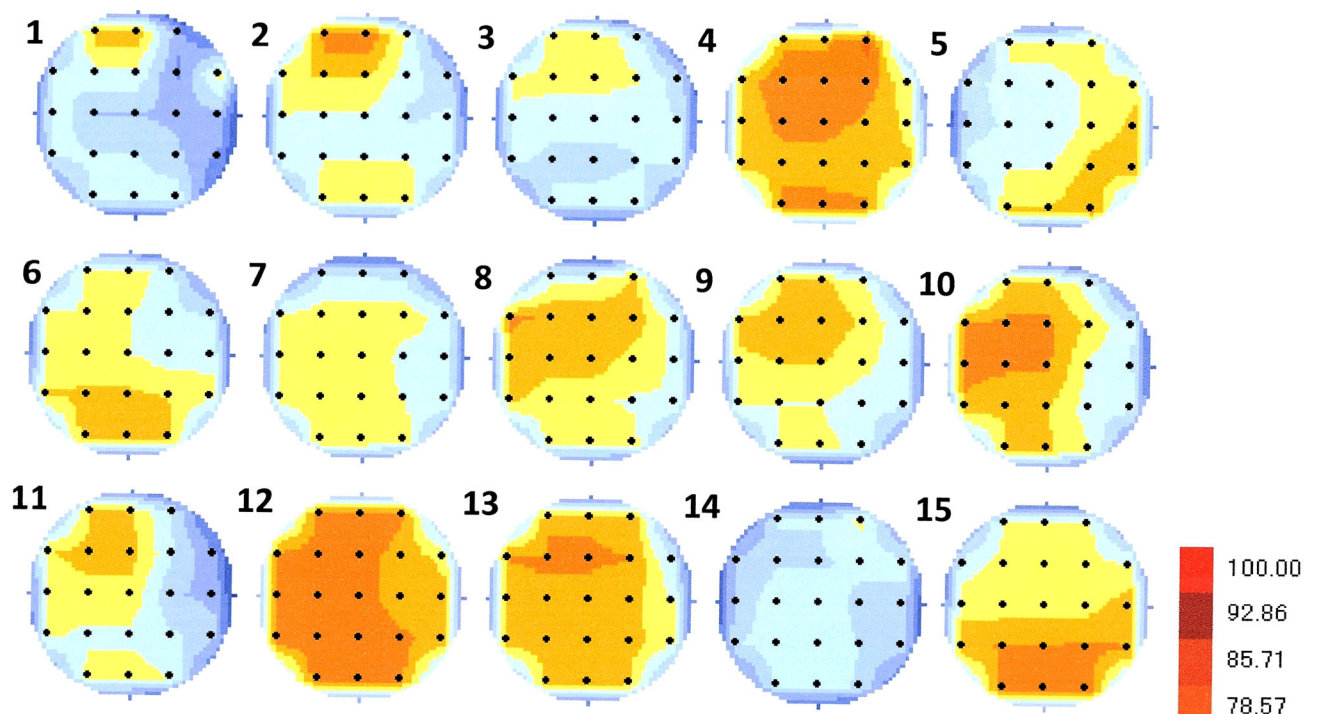


Fig.23 Topography from case 2 epilepsy dog (δ wave)

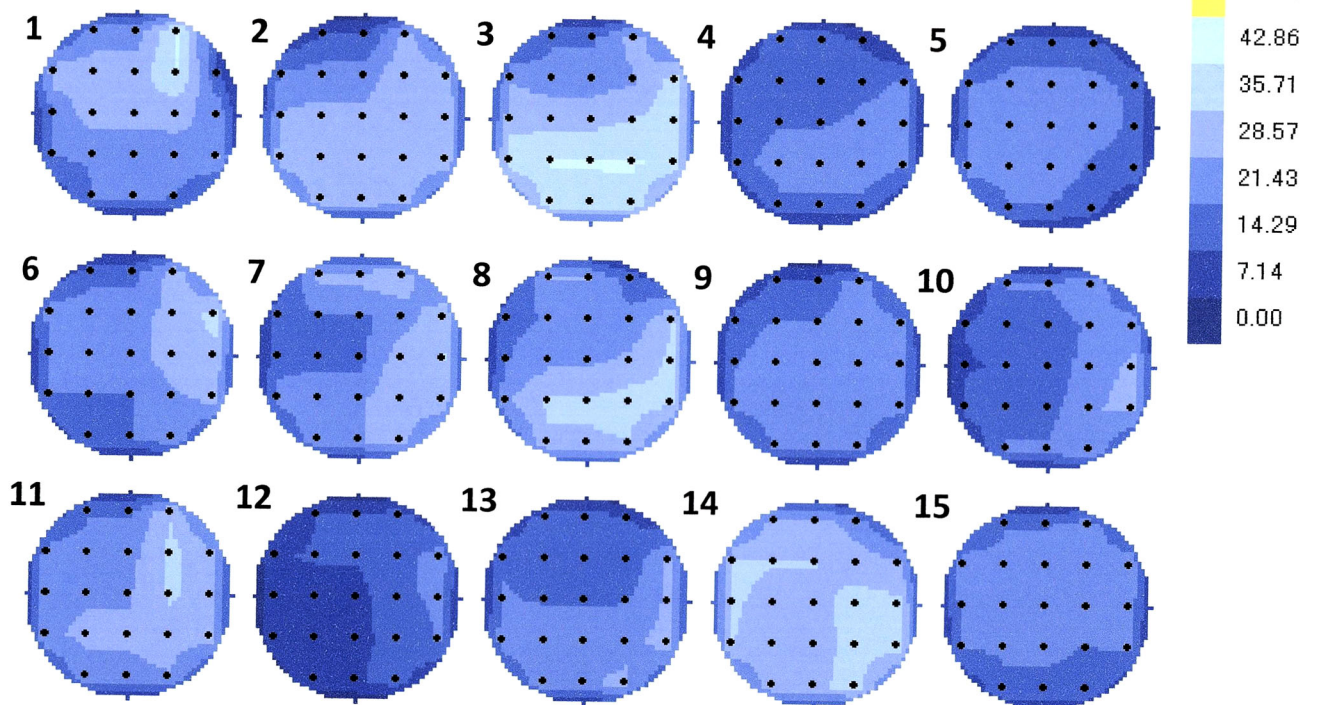


Fig.24 Topography from case 2 epilepsy dog (θ wave)

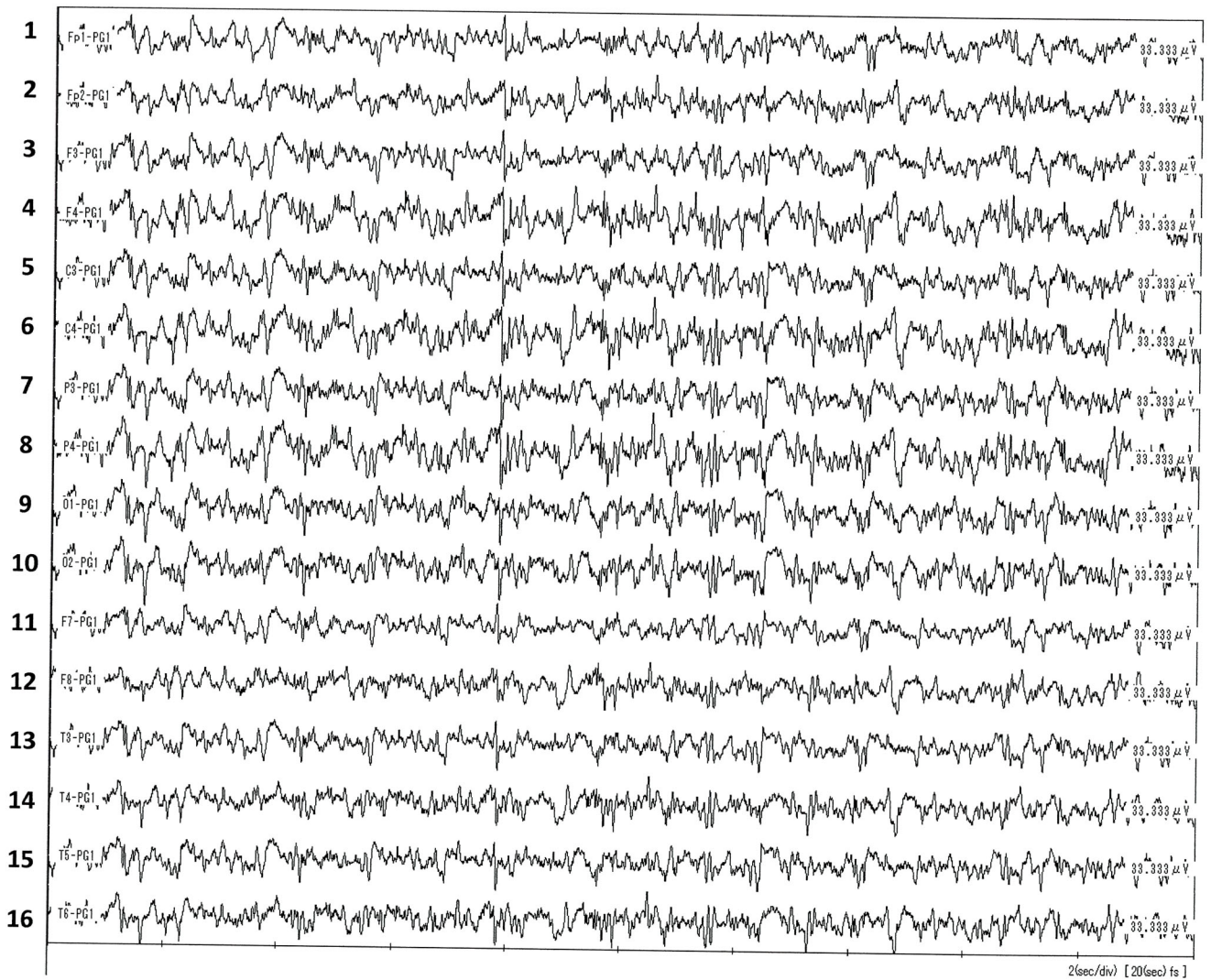


Fig.25 EEG of epilepsy dog recorded from each 16 channels. (Case 3)

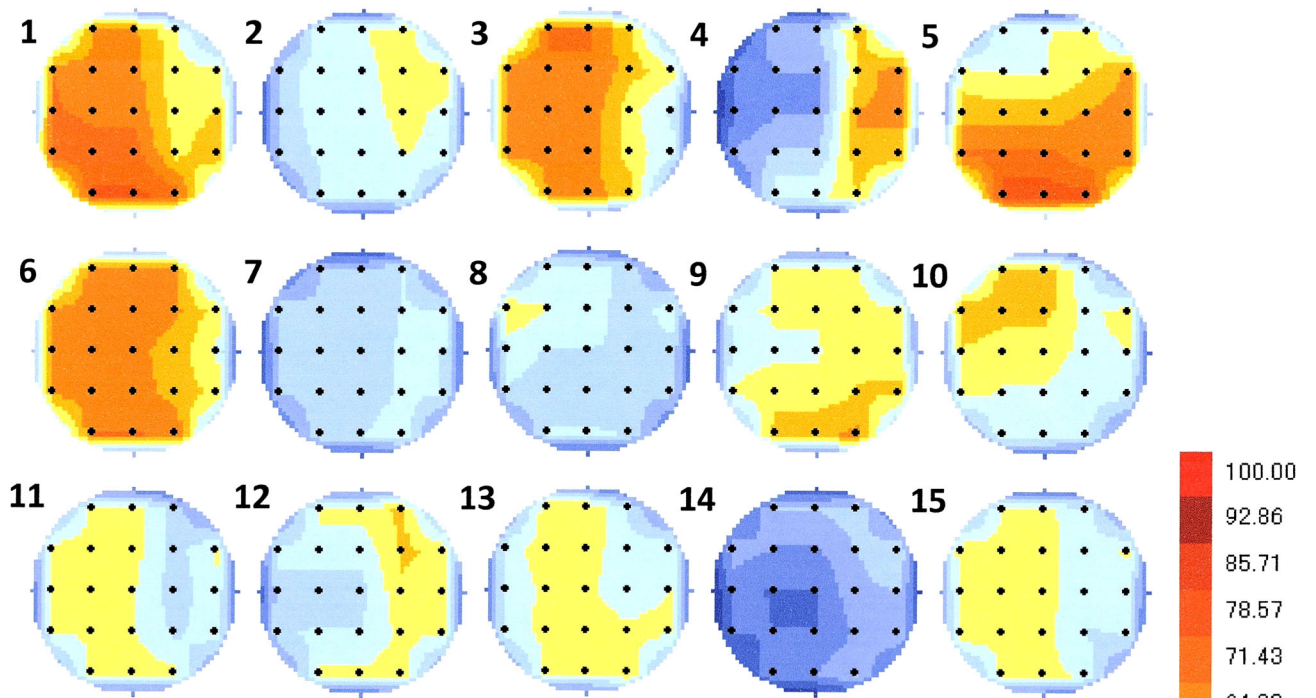


Fig.26 Topography from case 3 epilepsy dog (δ wave)

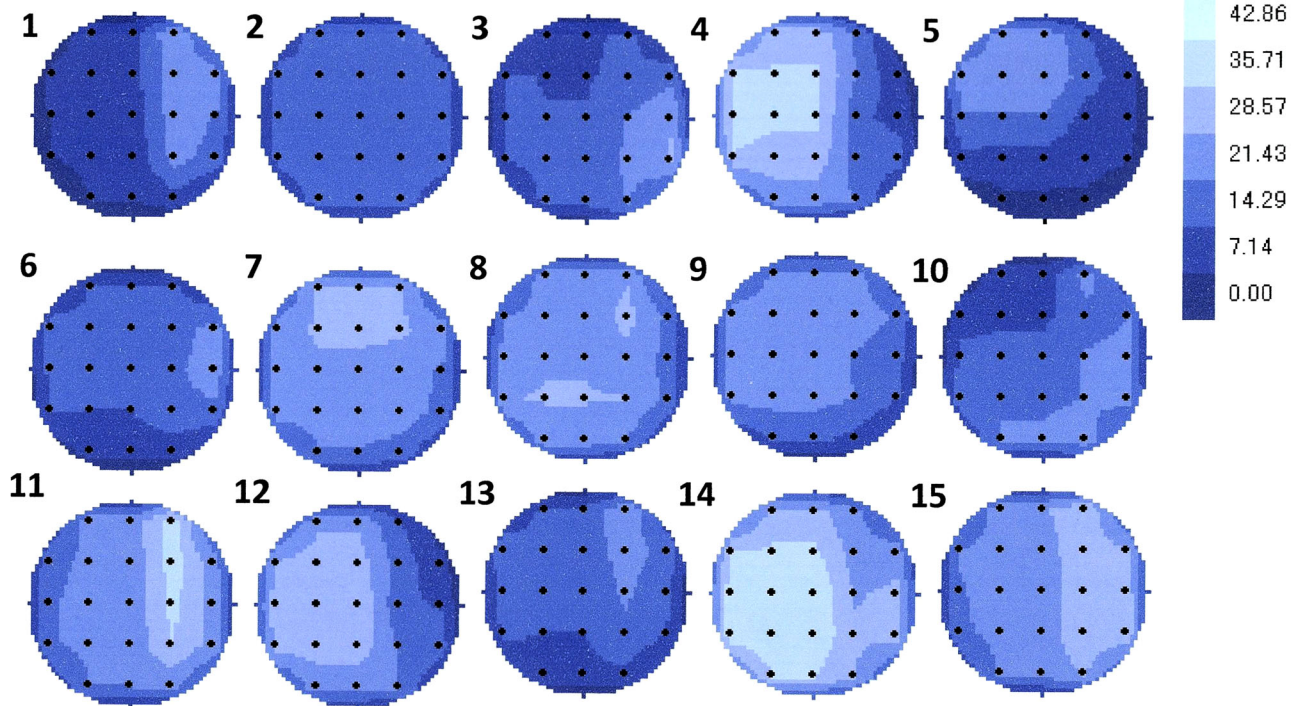


Fig.27 Topography from case 3 epilepsy dog (θ wave)