

「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」
平成 17 年度採択研究代表者

吉岡 芳親

大阪大学免疫学フロンティア研究センター・特任教授

次世代無侵襲・定量的脳機能イメージング法の開発

1. 研究実施の概要

本研究では、脳波、心電図、呼吸等の多様な生理学的指標と磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)による脳内温度計測、機能的磁気共鳴画像(fMRI)、近赤外分光法(NIRS)の同時計測法を確立するとともに新規解析法を導入し、ヒト脳の覚醒安静時・活動時や睡眠時の脳活動を定量的に解析するための次世代無侵襲・定量的脳機能イメージング法の開発を行ってきた。基礎理論構築から技術開発まで充実して行うため、ヒトを対象とした(1)「高精度脳温計測技術開発と臨床応用」と(2)「fMRI/NIRS と生理学的指標の同時計測技術の開発(マルチモーダル fMRI)による脳活動計測の定量化」、主に動物や *in vitro* の系における(3)「神経-脳血流・脳温変化の基礎理論構築」と(4)「高度生体機能イメージング技術開発」の4つの中心課題を設け研究を遂行してきた。成果の一部の活用になるが、H20年度からは脳外科グループに参加して頂き、臨床応用の可能性の検討を始めた。また、脳活動信号の高精度検出化や自律神経機能の影響を評価する必要があるため、生理方面を強化した。

(1)では、脳活動に伴う温度変化や脳活動のベースとしての脳内温度の精密計測のため、磁気共鳴装置の安定性・感度の向上を更に推し進め、運動負荷や飲水といった日常的な条件下での脳内温度変化を明瞭に評価できるようになった。臨床での脳内温度データも取得開始し、PETで得られる脳循環代謝と比較できるようにした。多次元計測のための測定シーケンスの改良を行い、高速での撮像も進展させ、ヒトでの測定もできた。より広範囲でアーチファクトの少ないシーケンスにするため開発を進めた。

(2)では、fMRIと脳波及びその他の神経生理学的指標の同時計測・解析システムを構築し、更に、脳の自発的活動状態に対応する神経回路網をfMRIで同定するための解析手法を確立した。そして、神経回路網の特異性から脳の状態を評価できる可能性があることを示した。

(3)では、神経活動に伴う脳局所の温度変化をミリケルビンのレベルで計測可能なシステムを構築し、電気刺激や薬物刺激による脳内温度変化を明瞭に検出できるようになり、機能的脳温度イメージングの可能性を確認した。また、血流の寄与を除外した計測も必要

であるので、脳切片を用いて、刺激に伴う電気信号と温度分布の変化を同時計測できるシステムを構築した。

(4) では、超高磁場 (11.7 テスラ) 磁気共鳴装置により、動物での詳細な温度計測も可能となった。また神経可塑性や記憶に関わる情報も得られるようになった。超高感度・高機能撮像のための高感度温度プローブや機能・分子イメージングプローブの開発も同時に行い、動物実験でも良好な画像が得られることを確認した。動物を用いた視覚刺激実験では、特殊な刺激と解析方法により、方位交差性抑制のダイナミクスを明らかにした。

2. 研究実施内容(文中にある参照番号は 4.(1)に対応する)

本研究では、今までの脳機能研究では難しかった定量的な脳機能計測を行うため、脳波、心電図、呼吸等の多様な生理学的指標と磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)による脳内温度計測、機能的磁気共鳴画像(fMRI)、近赤外分光法(NIRS)の同時計測法を確立するとともに新規解析法を導入し、ヒト脳の覚醒安静時・活動時や睡眠時の脳活動を定量的に解析する次世代無侵襲・定量的脳機能イメージング法の開発を行ってきた。基礎理論構築から技術開発まで充実して行うため、4つの中心課題を設け研究を遂行してきた。成果の一部の活用になるが、H20年度からは脳外科グループに参加して頂き、臨床応用の可能性の検討を始めた。また、脳活動信号の高精度検出化や自律神経機能の影響を評価する必要があるため、生理方面を強化した。

「高精度脳温計測技術開発と臨床応用」では、装置の安定化、新規の測定シーケンス・受信コイル・解析方法の開発を更に進め、運動負荷や飲水といった日常的な条件下での脳内温度変化を明瞭に評価できるようにした。健常人での脳内温度に関する情報は非常に乏しかったが、飲水や運動負荷で予想される脳の温度変化のみならず、冷刺激での脳内温度上昇や運動負荷と無関係の脳温上昇も確認できるようになった。脳内温度は、生理的条件下でも、0.5-1.0℃程度は容易に且つダイナミックに変動することが分かってきた。高速での多次元計測のため、新規の測定シーケンス(独自のEPSI)を考案し、より広範囲でアーチファクトの少ないシーケンスを開発している。臨床グループとともに患者さんの脳内温度データも取得開始し、PETやSPECTで得られる脳循環代謝情報と比較できるようにした。一側性脳主幹動脈閉塞性病変による慢性脳虚血の患者では、PET上脳酸素代謝量が正常で脳酸素摂取率が上昇している時のみ患側大脳半球の脳温度は有意に上昇し、脳酸素代謝量が低下している場合には他の脳循環代謝量に関係なく患側大脳半球の脳温度は有意に低下していることが明らかとなった⁸⁾。

「神経-脳血流・脳温変化の基礎理論構築」では、高感度赤外線カメラを用いることで脳表の温度変化をミリケルビンレベルで検出可能な温度イメージングシステムを構築してきた。このシステムを用いて体性感覚刺激に伴うラット脳表温度変化を計測した結果、下肢電気刺激に伴って大脳1次体性感覚野において刺激後約2秒にピークをもつ有意な温度上昇が観察された。温度上昇には時間的遅れがあることや温度変化領域が体性感覚野を灌流する軟膜細動脈と一致することから、この温度変化は血流変化を反映した2次的なものが主と考えられた。そのため、神経活動そのものに伴う温度変化を検出するべく脳皮質切

片を電気刺激し、2次元電極アレイによる電気信号と赤外線カメラによる皮質温度変化の同時精密計測を行った。結果の1例を図1に示す。ラット大脳皮質体性感覚野を含む厚さ $300\ \mu\text{m}$ の切片を2次元マルチ電極(8x8、 $150\ \mu\text{m}$ 間隔の電極アレイ約 1mm^2 、MED64)上に置き、一つを刺激電極として用い $30\text{-}100\ \mu\text{A}$ の電流で刺激し他の電極により皮質切片の電位応答(field potential)を計測した。同時に赤外線カメラ(Merlin MID)により皮質切片の温度変化を計測した。図1a)は興奮性シナプス後電位(fEPSP)を示す電位変化の典型例で、刺激($50\ \mu\text{A}$, $0.5\ \text{ms}$, bipolar)後 5ms 程度に負のピークをもつ時間変化を示している。図1b)が同時に計測した興奮部位を含む脳切片の温度変化で、1実験あたり100~150回のアンサンブル平均の12切片、23実験に対する平均値を示す。刺激後約 $0.1\ \text{ms}$ に $0.6 \times 10^{-4}\text{K}$ のピークをもつ時間変化で、コントロール値に対して統計的に有意な温度上昇であった。

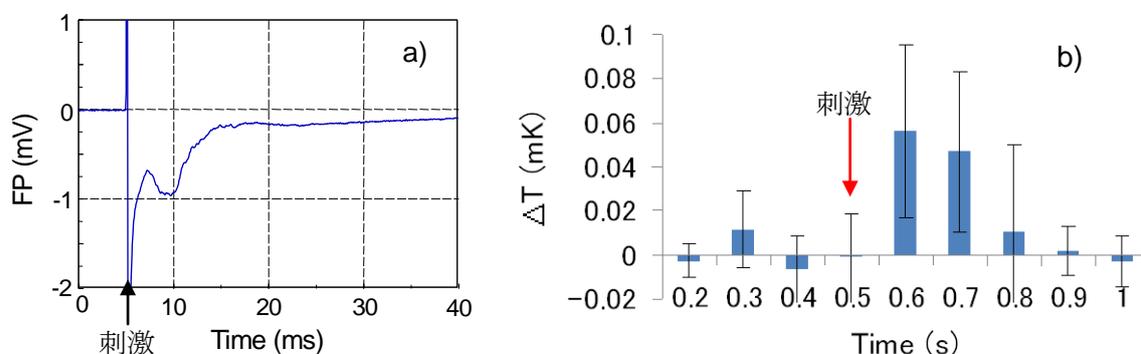


図1. ラット皮質切片における電気刺激($50\ \mu\text{A}$, $0.5\ \text{ms}$, bipolar)に対する応答。a): 電位応答(2次元電極アレイ), b) 温度応答(赤外温度イメージング)(バーは標準偏差)。

「fMRI/NIRSと生理学的指標の同時計測技術の開発(マルチモーダルfMRI)による脳活動計測の定量化」では、fMRIとNIRSの同時計測により、視覚刺激時の後頭部1次視覚野ではBOLD信号が血流変化を反映し、NIRS信号が血液量の変化を反映することを示した。併せて、脳賦活時に両者の信号変化に乖離が生じることを明らかにした¹⁾。NIRS計測は注意が必要で、oxy-Hbではなくdeoxy-Hbの変化が脳活動と対応している事、また、呼吸の変動に伴う全身性の血中酸素飽和度の変化が大きく影響する事が分かった。脳波-fMRI同時計測システムと自発的脳活動の領域間での相関を解析する手法(spontaneous BOLD fluctuation analysis)を用いることにより、ある覚醒レベルにおいてどのような脳内ネットワークが形成されているかを明らかにする手法を確立した。この手法により、覚醒安静状態、浅いNREM睡眠、深いNREM睡眠、そしてREM睡眠では、異なる脳内ネットワークが形成されており、そのネットワークはこれまでに知られていた各覚醒レベルでの基本的な脳機能と関連していることを明らかにした。これまでに異なる覚醒レベルの脳内ネットワークを、脳活動の相関を調べる方法を用いて比較した研究は無く、新たな科学的知見を与えたと言える。さらにこの研究成果は、脳活動の絶対的な原点を決定するのに役立つと考えられる。また、レム睡眠中の急速眼球運動時には網膜からの視覚入力が無いにもかかわらず、一次視覚野が活動している事を確認した。さらに記憶や情動と深く

関与する海馬傍回や扁桃体等の覚醒時の眼球運動では活動しない領域の賦活を認めた（図 2）。従来睡眠は脳の休息という *passive* な過程と見なされていたのに対して、ヒトの脳が睡眠中に自発的に眼球を動かし、記憶や情動に関与する領域を活性化させている事を示している²⁾。これらの成果は、本研究開発の中核となる脳波 - fMRI 同時計測システムにより、睡眠時及び安静時の脳活動の検出が可能であることを示している。

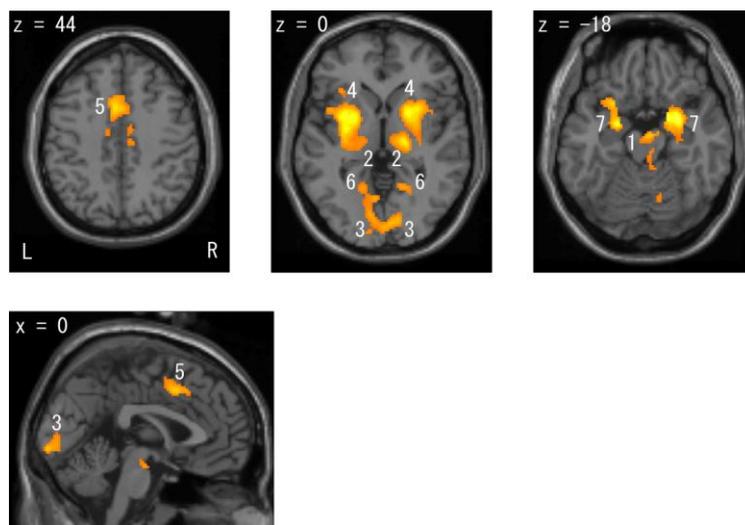


図 2. レム睡眠中の急速眼球運動に伴って賦活された領域。網膜からの視覚入力が無いにもかかわらず第一次視覚野に明瞭な賦活が出現し、さらに覚醒時の眼球運動では賦活されない扁桃体や海馬傍回に賦活が認められた。

「高度生体機能イメージング技術開発」ではヒト用計測技術を検証し、更に理論的・生理学的裏付けを行ってきた。超高磁場（11.7 テスラ）磁気共鳴装置を用い、非侵襲的に小動物での詳細な温度計測も可能となった。超高感度・高機能撮像のための高感度温度プローブや機能・分子イメージングプローブの開発も同時に行い^{3,4)}、有る条件では、一細胞、一粒子レベルでの画像化も可能であった。瞬時的な脳活動のみならず、長時間的な脳活動を反映する神経可塑性や記憶に関わる基質的・生理的変化の描出も可能となってきた。特殊な撮像法やプローブを用いることで、ラットのバレル大脳皮質のコラム構造の形成・形成不全に対応すると思われる画像や学習・記憶に関わる造影画像を得ることができた。脳活動に伴う温度変化の基礎的な情報を得るため、小動物の脳内に電極と温度センサーを埋め込み、電気的な脳活動の記録と脳の温度を同時に記録できるようにした。麻酔下のラットを用いた感覚野の刺激実験では、脳活動と共に 0.1 °C 程度の温度上昇が確認できた。視覚野細胞の受容野の機能を詳細に調べるため、振幅変調サイン波刺激を用いたユニークな解析法により、V1 細胞の高次受容野の精密計測を初めて可能にした⁵⁾。また、特殊な刺激と解析方法により、方位交差性抑制のダイナミクスを明らかにした⁶⁾。

3. 研究実施体制

(1)「吉岡」グループ

①研究分担グループ長:吉岡 芳親(大阪大学、特任教授)

②研究項目

磁気共鳴法を用いた温度計測法の高性能化・高精度化
脳内温度計測の多次元化
温度を指標とした脳活動の評価

(2)「関」グループ

①研究分担グループ長:関 淳二(国立循環器病センター研究所、室長)

②研究項目

光干渉断層法(OCT)による神経-血流連関反応の定量化及び機序解明
脳賦活時の皮質温度変化の定量化と脳温度イメージング(BTI)の基本原理の確立

(3)「宮内」グループ

①研究分担グループ長:宮内 哲((独)情報通信研究機構、研究マネージャー)

②研究項目

マルチモーダル fMRI による生理学的状態の決定と fMRI 計測の定量化
ヒトにおける循環・自律系の変化が NIRS 及び MRS 信号値に及ぼす影響の定量化、及び動物実験による検証

(4)「松田」グループ

①研究分担グループ長:松田 豪(GE 横河メディカルシステム株、シニアサイエンティスト)

②研究項目

温度計測の高精度化並びに多次元化
3次元温度分布画像計測のための測定シーケンス並びに解析プログラムの開発
温度計測高精度化のための装置の高安定化・高感度化

(5)「大澤」グループ

①研究分担グループ長:大澤 五住(大阪大学大学院、教授)

②研究項目

磁気共鳴法による温度計測の基礎的検討
脳活動に伴う脳代謝の定量的評価
1) 磁気共鳴法による温度計測の基礎的検討
2) 蛍光および磁性ナノプローブ開発と動物組織内でのプローブ性能評価
3) 触覚、視覚刺激装置の開発とイメージング計測系への統合
4) 高分解能脳機能光イメージングシステム、多光子顕微鏡と微小電極記録による in-vivo プローブ評価および電氣的神経活動と他の脳活動指標の相関計測

(6)「精山」グループ

①研究分担グループ長:精山 明敏 (京都大学大学院、教授)

②研究項目

非侵襲脳活動計測技術における自律神経機能の影響の解明と脳活動信号の高精度検出化

テーマ1) 自律神経機能の変化が BOLD/NIRS 信号に与える影響の分離・定量化

(1) NIRS を中心とした研究を分担

(2) MRI/MRS を中心とした研究を分担

テーマ2) 動物モデルによる neurometabolic function, neurovascular function の決定

(7)「小笠原」グループ

①研究分担グループ長:小笠原 邦昭 (岩手医科大学、教授)

②研究項目

非侵襲的脳活動計測技術の臨床応用を目的としている。臨床患者を対象にし、主に高磁場磁気共鳴装置を用いた非侵襲的脳活動評価技術の臨床応用を行う。現在までの評価手段としての、PET、SPECT も併用し、関連を検討する。主な項目は次の2つである。

1) 脳腫瘍・脳血管障害患者での高精度多次元脳温測定

2) 脳血行動態と脳内温度分布の相関の評価

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表 (原著論文)

1. Seiyama: Dissociation of Stimulus-Induced Responses in Regional Cerebral Blood Flow and Blood Volume in the Visual Cortex of Humans. *Health Science* 4: 7-18, 2008.
2. Miyauchi S, Misaki M, Kan S, Fukunaga T, Koike T: Human brain activity time-locked to rapid eye movements during REM sleep. *Exp Brain Res* 192: 657-667, 2008.
3. Jin T, Yoshioka Y, Komai Y, Seki J, Seiyama A: Gd³⁺-Functionalized Near-Infrared Quantum Dots for In Vivo Dualmodal (Fluorescence/Magnetic Resonance) Imaging. *Chem Comm*: 5764-5766, 2008.
4. Jin T, Fujii F, Komai Y, Seki J, Yoshioka Y: Preparation and characterization of highly fluorescent, glutathione-coated near infrared quantum dots for in vivo fluorescence imaging. *Int J Mol Sci* 9: 2044-2061, 2008.
5. Tanaka H, Ohzawa I: Surround suppression of V1 neurons mediates orientation-based representation of high-order visual features. *J Neurophysiol* 101: 144-1462, 2009. Epub 2008 Dec 24.
6. Kimura R, Ohzawa I: Time course of cross-orientation suppression in the early visual cortex. *J Neurophysiol* 101: 1463-1479, 2009. Epub 2008 Dec 17.

7. Furuta A, Nakadomari S, Misaki M, Miyauchi S, Iida T. Objective perimetry using functional magnetic resonance imaging in patients with visual field loss. *Experimental Neurology* 217: 401-406(2009)
8. 石垣大哉、吉岡芳親: proton magnetic resonance spectroscopy を用いた非侵襲的脳温測定による脳循環代謝状態の評価: PET との比較, *岩手医学雑誌*, 61 巻 103-110(2009)

(2) 特許出願

平成 20 年度 国内特許出願件数 : 1 件 (CREST 研究期間累積件数 : 2 件)