

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：94301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01857

研究課題名(和文) 脳内神経伝達物質の非侵襲ダイナミクス解析法-functional MRS-の確立

研究課題名(英文) Development of an experimental protocol and analytical method for functional magnetic resonance spectroscopy

研究代表者

河内山 隆紀(Kochiyama, Takanori)

株式会社国際電気通信基礎技術研究所・脳情報通信総合研究所・研究員

研究者番号：90380146

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：近年、ニューロイメージング研究においてMagnetic Resonance Spectroscopy (MRS) への関心が高まっており、機能的MRS (functional MRS; fMRS) による脳機能の解明が期待されている。中でもMEGA-PRESS法は、興奮性及び抑制性の神経伝達物質であるGABAやグルタミン酸の計測に有用であるが、それらの物質の脳内での濃度は低く、計測精度を高めるためには、適切な実験計画や解析法を構築する必要がある。本研究では、MEGA-PRESS法によるfMRS実験を行う際の最適な計測条件と解析条件について検討した。

研究成果の概要(英文)：Magnetic resonance spectroscopy (MRS) allows for noninvasive quantification of brain metabolism. Recently functional MRS (fMRS) is increasingly performed to study the dynamic change in brain metabolism and the neurometabolic correlates of behavioral measures or disease states. Spectral editing MRS techniques such as MEGA-PRESS sequence is commonly used to measure gamma-aminobutyric acid (GABA) and glutamate which is the main excitatory and excitatory neurotransmitter in the brain, respectively. However, there are problems of low signal-to-noise ratio and substantial variability in concentration estimates over time due to less than optimal measurement settings and analytical methods as well as their inherent low concentrations. In this work, we investigated the parameters for data acquisition and analysis to achieve high quality and reproducibility of neurometabolic concentrations and provided some methodological recommendations about these settings.

研究分野：脳計測科学

キーワード：磁気共鳴スペクトロスコピー法 MRS 機能的磁気共鳴スペクトロスコピー法 fMRS 磁気共鳴画像 MR  
| 脳機能計測 非侵襲的脳活動計測

## 1. 研究開始当初の背景

ヒト脳科学研究における飛躍的進歩は、非侵襲脳活動計測法によって支えられてきた。例えば、電気的な神経活動を直接計測する手法としては、脳波や脳磁図がある。機能的磁気共鳴画像法 (functional MRI; fMRI) や機能的近赤外線スペクトロスコピー法は神経活動に伴う血液動態反応を計測する手法として利用されている。神経活動に関連した生理学的変化には、神経化学的 (あるいは代謝的) 変化もある。代表的な興奮性の神経伝達物質であるグルタミン酸や同じく抑制性に働く  $\gamma$ -アミノ酪酸 (gamma-aminobutyric acid; GABA) を計測できれば、神経活動の興奮状態や抑制状態を評価することが可能である。非侵襲的に脳内の神経伝達物質や生化学的代謝産物を評価する方法に、磁気共鳴スペクトロスコピー法 (Magnetic Resonance Spectroscopy; MRS) がある (Duncana et al., 2014)。MRS 自体は、伝統的な手法であり、計測・解析方法の整備は進んでいるが、従来計測対象は、安静時における時間情報のない「静的」な事象であり、時間的に変化する「動的」な事象ではない。近年、神経化学的なダイナミクスを評価する手法として、functional MRS (fMRS) への関心が高まりを見せている。fMRS が実現できれば、課題遂行中に生じる脳内の抑制性・興奮性の変化を評価可能である。しかしながら、fMRS に関する方法論的検討は始まったばかりで、最適な実験プロトコルや解析法が確立しているとは言い難い状況である。

## 2. 研究の目的

本研究は、脳内神経伝達物質の非侵襲ダイナミクス解析法 (functional MRS; fMRS) を確立するために、実験プロトコルと解析法の最適化を目的とする。例えば、課題関連性の神経伝達物質の変化を精度高くかつ安定して計測するための最適な刺激提示時間 (加算回数) の検討、スペクトル・レジストレーション等、MRS 時系列データ解析におけるノイズ軽減や解析結果の再現性を高めるための設定パラメータを検討する。

## 3. 研究の方法

実験は、(株) ATR-Promotions 脳活動イメージングセンタに設置された 3 テスラ MRI 装置 (Siemens 社製、Trio あるいは Prisma fit) を利用した。実験の目的に応じて複数の生体分子を含む MRS ファントム及び同意を得た健康成人の実験参加者での計測を実施した。シングルボクセル MRS データを、Trio では 12 チャンネル頭部コイルにてシーメンス社提供の MEGA-PRESS シーケンスにより計測した (Mullins et al., 2014)。同様の計測を Prisma fit では 20 チャンネル頭部コイルにてミネソタ大学提供の MEGA-PRESS シーケンスで行った。撮像パラメータは、TR/TE =

2000/68ms、バンド幅=1000Hz、選択的ダブル・バンドパルスを、edit off スキャンでは、4.7 ppm と 7.5 ppm に、edit on スキャンでは、1.9 ppm と 4.7 ppm に印加、それらを交互に計測し、解析時に両者を差分することで GABA、グルタミン酸を強調したスペクトルを得た。シミングは、FASTMAP を用い、適時マニユアルシミングを実施した。関心領域の大きさや加算回数は、実験毎に異なるため、後述する。代謝物の計測時には水抑制を適用した。代謝物濃度推定の際に内部標準物質として水を利用するために、別途、少数加算回数の水抑制を行わない計測も実施した。

解析は、フリーのアカデミック・ソフトウェアである、TARQUIN (<http://tarquin.sourceforge.net/>) と GANNET (<http://www.gabamrs.com/>) を中心に利用した。また画像解析や信号処理に SPM (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>) と MATLAB (<http://www.mathworks.co.jp>) を利用した。解析の詳細については、後述する。

## 4. 研究成果

## 【実験 1】

実験を始めるにあたって、解析プラットフォームの整備を行った。各ソフトウェアは、前処理や代謝物濃度の推定法 (厳密に言えばスペクトル推定法) に特徴を持っており、目的によってそれらを使い分けたり、あるいは組み合わせることで、より精度の高い解析が可能である。ところが、ファイルの入出力については、ソフトウェア間での統一が取れておらず、相互利用に障害があった。そこで、ファイル形式間での変換プログラムを作成することにより、解析における利便性の向上を図った (図 1)。

シーメンス社製の MRI 装置では、MRS データは、TWIX、RDA、IMA (DICOM) の 3 つの形式で出力される。本研究では、GANNET、TARQUIN を中心に利用し、将来的には FID-A、LCModel の利用を計画している。特に前処理に関して、本研究では、時系列的前処理の 1 つである周波数・位相ドリフトの補正法に注目しており、その点においては、GANNET と FID-A が備えている精度の高いスペクトル・レジストレーションに優位性があった。しかしながら、GANNET (と FID-A) では、MRI 装置のファイル出力に際して特殊な操作の必要な TWIX 形式のみの対応であった。そこで、GANNET をより一般的な RDA と IMA 形式に対応させるための変換プログラムを作成した。ここで RDA 形式は、時系列データの一括出力には対応しておらず、MRI 装置でのファイル出力操作は 1 時点のデータ毎に行う必要があった。そのため、全時点の出力に際しては、操作回数が数百回にのぼり、実験遂行上の大きな負担となっていた。そこで、汎用性が高く時系列データの一括出力に対応している IMA 形式を RDA 形式に変換するプログラムを作成して、利便性を向上させた。なお、実験途中

で GANNET のバージョンアップによって IMA 形式の利用できるようになったため、施設により仕様が異なる IMA 形式を GANNET の入力が可能なる仕様に変換するためのプログラムを新たに作成した。

TARQUIN のスペクトル推定法は、有償ソフトウェアの LCModel と類似しており、GANNET よりも一般的かつ汎用性が高い。本研究でも、両者の比較には関心があつた。しかしながら、TARQUIN は時系列で計測された IMA 形式や RDA 形式には対応していなかったため、IMA 形式を TARQUIN が対応している DPT (Danger Plot) 形式に変換するプログラムを作成した。TARQUIN でも周波数・位相ドリフトの補正法は実施できたが、スペクトル・レジストレーションに比較すると簡易なものであつた。そこで、前処理を GANNET で実施し、濃度推定を TARQUIN で実施する解析プロトコルを可能にするため、GANNET の出力を DPT 形式に変換するプログラムを作成した。

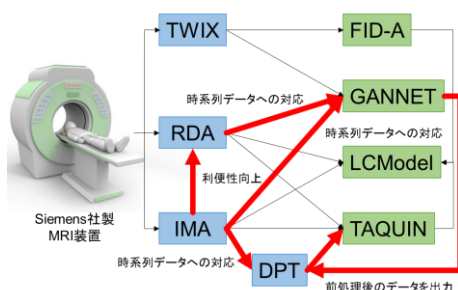


図 1 解析プラットフォーム

本成果は、本研究課題だけでなく、申請者の参加した共同研究においても活用された (雑誌論文①②③)。

### 【実験 2】

動的な神経化学的変化を検証するために視覚刺激を観察中の実験参加者の第一次視覚における MRS 計測を行った。実験参加者は 2 名であり、8 分 20 秒の計測を 2 回実施した。実験課題は、8Hz のチェッカボード刺激を用いた。刺激提示には、ブロック・デザインを用いた。ブロック長は、3 分 20 秒 (100 計測点 ; 50 on/off ペア) とし、安静-課題-安静-課題-安静の順で実施した。関心領域は、第一次視覚野で、鳥距溝を含むように設置した (図 2a)。その体積は、 $20 \times 20 \times 20 \text{mm}^3$  とした。解析には GANNET を用いて、GABA とグルタミン酸の濃度の推定を行った。図 2b は、代表実験参加者における代謝物濃度の 1 時点毎の推定結果であり、縦軸に代謝物、横軸に時間、色の濃さが代謝物濃度を示している。両代謝物濃度は、時間と共に変動しているものの課題に関連したパターンは見られなかった。そこで、全安静ブロックと全課題ブロックのそれぞれで加算することで SN 比を向上させて評価を行ったが、GABA、グルタミン酸、興奮/抑制比 (GABA/グルタミン酸濃度比) に関する課題関連性の増減は、実験参加者間や 2 回

の繰り返し測定の間で一貫しなかった (図 2c)。

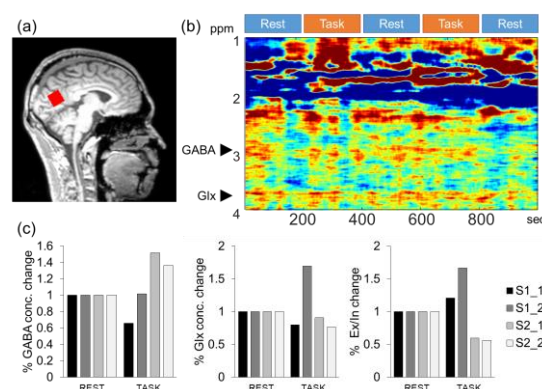


図 2 視覚課題中の fMRS 計測結果

その原因として、まず計測上の問題として、Phase Cycling を利用しなかったことが考えられる。Phase Cycling は、MRI 装置やコヒーレントノイズあるいは VOI 外の組織から生じる不要な信号を抑制する手法であり、計測時に撮像シーケンスのパラメータの一つとして設定可能である。Phase Cycling は、計測ノイズ軽減において有効であるが、サイクルステップの設定が必要であり、複数時点の計測データを加算することではじめて 1 つのノイズ軽減されたデータを得るため、時間解像度が犠牲になるという制限がある。本実験では、当初、動的な fMRS データの取得に重点を置いたため、Phase Cycling を利用しなかったが、それによってデータに混入したノイズは、予想以上に大きく、データのクオリティを著しく低下させてしまった。そこで、以後の計測では、Phase Cycling を利用することとし、その設定パラメータであるサイクルステップ数に関する検討を行った。その結果、時間解像度は失ってしまうが、加算回数あたりのノイズ軽減の程度が最も高いサイクルステップ数 16 (32 計測点 ; 16 on/off ペア) を採用することとした (図 3)。

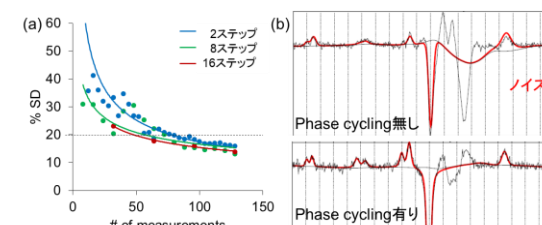


図 3 Phase Cycling におけるステップ数の設定とその効果

次に課題設計上及び解析上の問題として、今回の検討では、1 課題あたりの計測時間長、あるいは加算回数は 0~100 計測点 (50 on/off ペア) としたが、十分に安定する結果とならなかった。解析パラメータについてもソフトウェアのデフォルトに依っており、その妥当性の検討も十分とはいえなかった。そ

ここで、第3実験として、再検査法を利用して、結果再現性の点で最適な計測時間長やソフトウェア設定の検討を行った。

### 【実験 3】

最適な実験計画や解析設定を決定するために、再検査法による検討を行った。再検査法は、各実験参加者に複数回の計測を実施し、それらの計測間での結果再現性の高さの点で、最適な計測・解析パラメータを評価する方法である。本実験では、テスト-再テストの2回の計測を実施し、それらの間の代謝物濃度推定値の平均絶対誤差率や相関係数を再現性の計量値とした。

評価対象は、計測パラメータとしては、課題設計上重要な計測時間長(加算回数)とし、解析パラメータとしては、時系列データの安定性向上に寄与する周波数・位相ドリフトの補正方法とした。その他、いくつかの計測及び解析パラメータについての検討を行っているが、解析は現在も継続中であり、また特許性を持つ結果もあるため、本報告では計測時間長に関する結果のみ紹介する。

計測時間長は、最大加算回数を512回(256 edit on/off ペア)と多めに設定し、Phase Cycling が利用できる最小加算回数の32(16 ペア)から512(256 ペア)の間で、結果再現性が十分に高くなる加算回数ほどの程度かを評価した。実験は、同意を得た14名の健康実験参加者に対して行った。課題は、安静課題のみとした。濃度評価を行う対象代謝物は、GABAとした。解析には、TARQUINとGANNETを用いた。関心領域は視覚野とし、その体積は、 $20 \times 30 \times 20 \text{mm}^3$ とした。

図4a、4cには、1日目と2日目の全実験参加者の平均GABA濃度推定量を加算回数に対してプロットした((a)TARQUIN、(c)GANNET)。両日間の差が目立たなくなる加算回数は、192計測点(96 on/off ペア)であることが分かった。図4b、4dには、1日目と2日目のGABA濃度推定量の平均絶対誤差率を加算回数に対してプロットした((b)TARQUIN、(d)GANNET)。

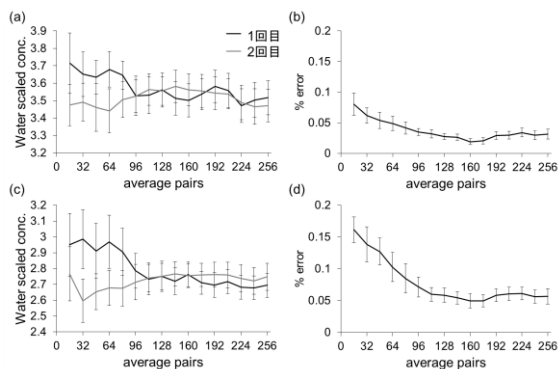


図4 GABA濃度推定量と加算平均回数との関係

全体的に、TARQUINの方が誤差率は小さく、

両ソフトウェア共に、192-224計測点(96-112 on/off ペア)を境にしてエラーの減少がフラットになった。分散分析による統計評価の結果もそれらの所見を支持しており192計測点(96 on/off ペア)以上では、隣接する加算回数と有意差が見られなくなった。結果再現性の点では、少なくとも192計測点(96 on/off ペア)の加算回数が必要であった。

本研究成果は、第46回日本磁気共鳴医学会大会にて発表予定である。

### 【実験 4】

以上の検討結果を踏まえて、動的な神経化学的变化を検証するためにワーキングメモリ課題中(2-back課題)の2名の実験参加者のMRS計測を行った。実験課題は、安静-課題-安静のブロック・デザインとし、各ブロックの長さは、再テスト法による検討結果に基づき、推定値が安定するに十分な6分24秒、加算平均回数としては192計測点(96 on/off ペア)を確保した。関心領域は、後部帯状回・楔前部とした(図5a)。その体積は、 $20 \times 20 \times 20 \text{mm}^3$ とした。本領域は、BOLD-fMRI実験においては、ワーキングメモリ課題中に活動の減少を示しており、MRS計測によってその神経活動を興奮性・抑制性バランスの観点から特徴づけることに関心があった。解析には、GANNETを用いた。図5bは、代謝物濃度の1時点毎の推定結果であり、縦軸に代謝物、横軸に時間、色の濃さが代謝物濃度を示している。明確な課題関連性の変化は見られなかったが、安静、課題それぞれのブロックで192計測点(96 on/off ペア)での加算平均を実施したところ、GABAでは、課題に伴い初回の安静時に対するパーセント変化率として1-2%の濃度減少が、グルタミン酸では、同1%程度の増加が見られた。興奮/抑制比も課題関連性の増加を示した(図5c)。

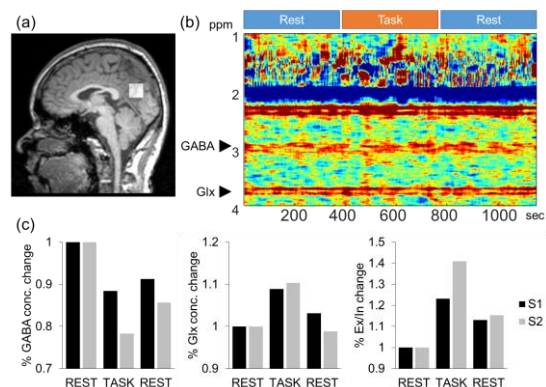


図5 ワーキングメモリ課題中のfMRS計測結果

この結果は、fMRI実験から予想される結果、興奮/抑制比が課題関連性の減少を示す、とは異なっている。この原因に関しては、1つに関心領域の設定の問題がありうる。先行研究によると後部帯状回・楔前部は、ワーキン



グメモリ課題中に抑制性の活動だけでなく興奮性の活動を示すサブ領域があることが示されており、今回は関心領域がそのような領域に置かれた可能性がある。本実験では、関心領域の中心座標は文献的に決定していたが、正確には各実験参加者での事前のfMRI実験による決定が望まれた。

本研究では、fMRSの確立のため、実験プロトコールと解析法の最適化を試みた。これまでのところ、精度よく代謝物濃度を推定するためには、192計測点(96 on/offペア;通常のTRで、5-6分)程度の加算が必要であった。この結果から、課題関連性の代謝物濃度変化を検出するためには、比較的長い定常状態を持つブロック型の実験計画が望ましいといえる。同時に秒オーダーの「動的」な現象を捉えることは困難であることが示唆された。データのSN比は、加算回数だけでなくシミングの手法や関心領域体積に影響されるので、さらなる最適化や時間解像度の向上のためには、それらを評価変数に加えた検討が必要であろう。解析法については、少なくとも周波数・位相ドリフト補正などの時系列データ安定性に関する信号処理は必須であること、また基準周波数などの各処理の設定細目の慎重な選択が必要であることが分かった。今後、その他の設定項目についても検討を進めて、推奨設定を提案する計画である。

#### <引用文献>

① Duncan NW, Wiebking C, Northoff G, Associations of regional GABA and glutamate with intrinsic and extrinsic neural activity in humans—a review of multimodal imaging studies, *Neurosci Biobehav Rev*, vol. 47, 2014, 36–52.

② Mullins PG, McGonigle DJ, O’Gorman RL, Puts NA, Vidyasagar R, Evans CJ, Cardiff Symposium on MRS of GABA, Edden RA, Current practice in the use of MEGA-PRESS spectroscopy for the detection of GABA, *Neuroimage*, vol. 86, 2014, 43–52

#### 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2件)

① Hirohito M. Kondo, Takanori Kochiyama, Normal Aging Slows Spontaneous Switching in Auditory and Visual Bistability, *Neuroscience*, 査読有, 2017, in Press  
DOI: 10.1016/j.neuroscience.2017.04.040

② Tatsuto Takeuchi, Sanae Yoshimoto, Yasuhiro Shimada, Takanori Kochiyama, Hirohito M. Kondo, Individual differences in visual motion perception and the associated neurotransmitter

concentrations in the human brain, *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 査読有, Vol. 372, Issue 1714, 2017, 1–7

DOI: 10.1098/rstb.2016.0111

③ Sanae Yoshimoto, Tatsuto Takeuchi, Yasuhiro Shimada, Takanori Kochiyama, Hirohito M. Kondo, Neurotransmitter concentrations in the brain and visual motion assimilation/contrast, *基礎心理学研究*, 査読無, 34巻1号, 2015, 201–202

[学会発表] (計2件)

① 河内山隆紀、島田育廣、近藤洋史、藤本一郎、玉置遼平、正木信夫、定藤規弘、今水寛、再テスト法を用いたGABA-edit MRS実験における最適な計測条件及び解析設定の検討、第46回日本磁気共鳴医学会大会、2018年9月7–9日、ホテル日航金沢・金沢市アートホール(石川県金沢市)

② Tatsuto Takeuchi, Sanae Yoshimoto, Yasuhiro Shimada, Takanori Kochiyama, Hirohito M. Kondo, Individual Differences in Visual Motion Perception and the Associated Excitatory and Inhibitory Neurotransmitter Concentrations in the Brain, *Optical Society of America Fall Vision Meeting*, 2015年10月18日, San Jose (USA)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

河内山 隆紀 (KOCHIYAMA, Takanori)  
株式会社国際電気通信基礎技術研究所・脳情報通信総合研究所・研究員  
研究者番号: 90380146

##### (2) 連携研究者

今水 寛 (IMAMIZU, Hiroshi)  
株式会社国際電気通信基礎技術研究所・脳情報通信総合研究所・認知機構研究所・所長  
研究者番号: 30395123

##### (3) 連携研究者

定藤 規弘 (SADATO, Norihiro)  
生理学研究所・大脳皮質機能研究系・教授  
研究者番号: 00273003

##### (4) 研究協力者

島田 育廣 (SHIMADA, Yasuhiro)  
(株) ATR-Promotions

##### (5) 研究協力者

藤本 一郎 (FUJIMOTO, Ichiro)  
(株) ATR-Promotions

(6) 研究協力者

玉置 遼平 (TAMAOKI, Ryohei)

(株) ATR-Promotions