

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06120

研究課題名(和文)脳科学に寄与する新指標の提案と脳機能評価法の確立

研究課題名(英文)A proposal of novel index contributing to brain science and an establishment of evaluation method of brain function

研究代表者

栗田 太作(Kutita, Daisaku)

東海大学・情報教育センター・准教授

研究者番号：10547970

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、新指標としてNIRS信号の脈派の割合から見かけの動脈血酸素飽和度(App-SpO₂)を定義した。ラット頭皮除去モデルの脳賦活NIRS信号をオプトード分離距離(S-D)2.5-10mmで測定し、脳内App-SpO₂値として妥当であるか評価した。また、頭皮血流モデルでは、独立成分分析(ICA)を用い、脳賦活の脳内App-SpO₂値が再現できるか検討した。頭皮除去モデルでS-Dが5.0-7.5mmの賦活前のApp-SpO₂値は、約60-70%であった。賦活中は、賦活前に比べ約3%増加した。また、ICAで頭皮血流の影響を除去すると、賦活中のApp-SpO₂値は、賦活前に比べ約2%増加した。

研究成果の概要(英文)：This study defined the apparent arterial oxygen saturation (App-SpO₂) from the pulse wave rate of the NIRS signals as a novel index. The NIRS signals of the brain activation were measured at optode separation distance (S-D), 2.5-10 mm, in the scalp removed rat model, and App-SpO₂ were evaluated whether they provided valid information as to arterial oxygen saturation in the brain. In the scalp intact rat model where is influence from skin blood flow, independent component analysis (ICA) was used to find out the brain activation signal from obtained the NIRS signals. In the scalp removed rat model, App-SpO₂ value before activation was about 60-70% at S-D separation, 5.0-7.5 mm. During activation, the value increased about 3% compared to the rest. In addition, when ICA removed the effects of scalp blood flow, the App-SpO₂ value during activation increased about 2% compared to the rest. These results indicate that App-SpO₂ can be a novel index for the evaluation method of brain function.

研究分野：機能的近赤外分光法

キーワード：NIRS信号 拍動成分 見かけの動脈血酸素飽和度 ヒゲ刺激 バレル領域 バンドパスフィルター 頭皮血流 独立成分分析

1. 研究開始当初の背景

修正ピア・ランバート則による脳内の血液血行動態反応に起因する酸素化および脱酸素化ヘモグロビン濃度長変化(HbO、HbR)の経時変化、すなわち NIRS 信号の問題点は、主に2つある。1つめは、局所の脳内光路長が不明のため単位が濃度長となり、濃度を定量化したものではなく、脳の部位間や特定部位の被験者間の直接的な比較ができないこと。2つめは、NIRS 信号に頭皮血流の変化などの生理的アーチファクトが混在しても、検出光として区別できないことである [文献]。

先ず1つめの問題点の解決策として、NIRS 信号の濃度長という濃度と光路長の積で与えられる単位に対し、積の影響を受けない新しい指標を提案した。

新しい指標を導入するために、着目した NIRS 情報は、最新の NIRS 技術を用い、高速サンプリングされた HbO と HbR の経時変化には脈派(拍動成分)が出現することであった。

6分間歩行課題において、前額部の NIRS 計測を行った。代表的な1チャンネル(右前頭前野)から得られた5秒間の NIRS 信号に適切なバンドパス処理を行い抽出した波形を図1に示す。

安静時、歩行課題時ともに HbO と HbR の拍動成分が認められた。また、HbO と HbR の拍動成分の振幅や周期は、安静時(図1上段)と歩行課題時(図1下段)とでは異なっていた。この安静時に対する課題時の拍動成分の変化から、拍動成分の振幅が脳賦活と何らかの関係があると推察した。

そこで、次に示す校正式(A)を新しい指標として、脳内の見かけの動脈血酸素飽和度(Apparent-SpO₂、以下 App-SpO₂、単位は%)を定義した。

$$\text{App-SpO}_2 = \text{HbO}(\text{C-T}) / (\text{HbO}(\text{C-T}) + \text{HbR}(\text{C-T})) \times 100 \dots (A)$$

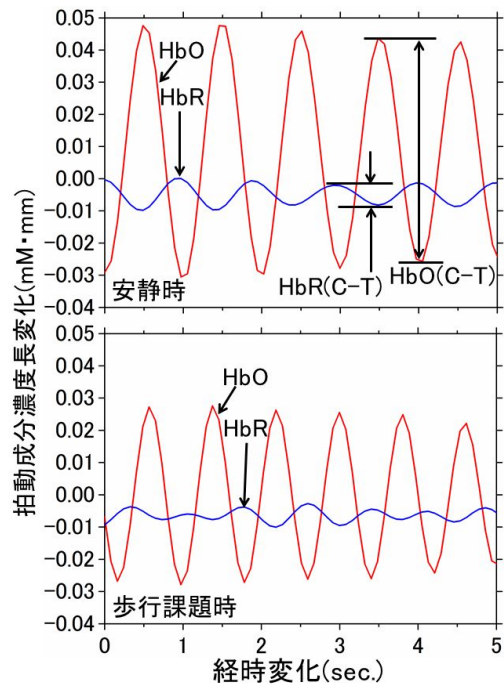


図1: 安静時(上段)と歩行課題時(下段)のHbOおよびHbRの拍動成分の経時変化(5秒間)。HbO(C-T)およびHbR(C-T)は各拍動成分における山から谷の強度を表す。

ここで、HbO(C-T)と HbR(C-T)は、NIRS 信号を適切なバンドパス処理を行い、抽出した HbO と HbR の1拍動内での山(C: crest)から谷(T: trough)の強度を表す(図1上段参照)。

この(A)式により App-SpO₂ 値は、安静時で約 82%、歩行課題時で約 76%となった。この新しい指標とした App-SpO₂ の優位性は、NIRS 信号の濃度長という積で与えられる単位に束縛されず、光路長の影響が相殺された割合(%)で表現されるため、脳の部位間や特定部位の被験者間の直接的な比較が、容易になることである。

2つめの問題点の解決策として、脳内の NIRS 信号に混在している頭皮血流成分を NIRS 信号から分離する統計的手法を確立することであった。また、定義した App-SpO₂ も NIRS 信号の拍動成分から算出されるため、頭皮血流などの生理的アーチファクトが混在していると考えられた。頭皮血流の影響を評価するためには、比較的厳しい生理的条件下で行う必要があるため、代替手段として実験小動物を用いる基礎実験を計画した。

2. 研究の目的

本研究では、実験動物を対象とし、fNIRSを用いて、頭皮除去モデルおよび頭皮モデルにおける、ヒゲ刺激により賦活させた体性感覚野皮質内バレル領域を測定する。脳賦活における従来の NIRS 信号の単位である濃度長に対し、NIRS 信号の拍動成分の割合で定義された脳内の見かけの動脈血酸素飽和度を新指標とし、さらに NIRS 信号から頭皮血流成分を分離・除去する統計学手法を取り入れた脳機能評価法を確立する。

3. 研究の方法

(1) 対象

正常成熟ラット、9-10 週齢、252-275g、雄、47 匹のうち、NIRS 信号に脳賦活に伴う血液血行動態反応が認められた 14 例とした。

(2) 研究プロトコール

ラット前処置は、イソフルラン (2-4%) および 30% O_2 混合の吸入麻酔下で、頭皮除去、頭皮除毛、ヒゲカット、頭蓋窓作製、大腿動脈のカニューレション法などを行った。しかしながら、イソフルランは、賦活脳血流量を低下させる報告がある[文献]。そのため、前処置後の NIRS 測定では、脳循環代謝測定で一般的に用いられている α -クロラロース (50mg/kg) 腹腔内麻酔に切り替えて行った。

ラットが生理的条件下であることを確認するため、ヒーティングパッドや各種センサーを装着し、小動物用バイタルサイン監視装置や血圧測定アンプにより直腸体温、心拍数、末梢 SpO_2 (下肢掌の経皮的酸素飽和度)、血圧などの管理を行った。直腸体温は、 38.0 ± 0.5 に維持した。NIRS 計測は、ラット頭部を定位固定フレームに設置して行った。

脳を賦活させる方法は、ヒゲ刺激により体性感覚野皮質内バレル領域の脳血流が増加することを利用した[文献]。

ヒゲ刺激は、マイコンによるサーボモーター制御システムを導入し、サーボモーターの出力軸に取り付けられた樹脂製のヘラによ

り、予め 1cm にカットされたラット顔面左側のヒゲを 3Hz で連続電動反屈させた。

ヒゲ刺激プロセスは、安静 60 秒、ヒゲ刺激 60 秒、ヒゲ刺激後安静 120 秒の計 240 秒間とし、NIRS 測定を行った。

頭皮血流の影響がなく脳内の直接的な NIRS 信号を得るために、頭頂骨上の頭皮を除去し、バレル領域を含む体性感覚野皮質上の頭頂骨に頭蓋窓を形成した頭皮除去モデルを作製した。また、頭皮血流の変化などの生理的アーチファクトが混在した NIRS 信号を得るために、頭頂骨上の頭皮に除毛クリームを塗り、頭毛を取り除いた頭皮モデルを作製した。

頭蓋窓の作製において、バレル領域を含む体性感覚野皮質上の頭頂骨は、超硬カッターを用い、生理食塩水で冷やしながら、ブレグマ右吻側 5mm 外側 4.5mm から尾側 7.5mm 外側 6mm までの縦断線に沿って削り出していき、幅約 3mm の四角い半透明の平面 (12.5×3 mm) の窓を形成した。この頭蓋窓からは、架橋静脈が確認できた。

(3) NIRS 測定

NIRS 装置は、Spectratech OEG-17APD を用いた。サンプリング時間は、ラットの心拍数に対応した 5.12×10^{-3} sec である。

オプトード (光照射部と光検出部の対) のチャンネル数は、外径 2.5mm の光ファイバーケーブルを用い、光照射部に 1 本、光検出部に 4 本で構成し、ケーブル 5 本を互いに接触させ 1 列に並べて 4 チャンネルとした。オプトード分離距離は、2.5、5.0、7.5、10.0mm となる。オプトードの位置は、バレル領域を含む体性感覚野皮質上の頭蓋窓や頭皮に設置した。

(4) App- SpO_2 値の算出

生の HbR 波形の拍動成分では周期性が明確でないためその強度が求まらず、(A) 式に従いリアルタイムで App- SpO_2 値を評価することが困難であった。そこで、HbO と HbR 波形

をバンドパスフィルターにかけ、オフセットを0に設定した拍動成分のみを抽出した。低域と高域のカットオフ周波数は、血圧の振幅スペクトルを求め、そのピーク周波数(ラット心拍数)や周波数帯域幅に基づき決定した。抽出されたHbOとHbRの拍動成分は、(A)式における強度に対し、振幅の絶対値の総和としてヒゲ刺激プロセス60秒毎にApp-SpO₂値を算出した。

(5) 頭皮モデルのApp-SpO₂の評価

頭皮モデルのヒゲ刺激プロセスに対するNIRS信号から得られたApp-SpO₂値は、独立成分分析により、頭皮除去モデルから得られた脳内の直接的なApp-SpO₂値を再現できるか評価した。

4. 研究成果

(1) 対象の生理パラメーター

正常成熟ラット14例は、 α -クロラロース麻酔下で、末梢SpO₂が98%、心拍数が333-416回/分、呼吸数が61-67回/分、直腸体温が37.8-38.0、血圧の収縮期血圧/拡張期血圧が111-135/85-92mmHgで、これらは概ね正常範囲内であった[文献]。また、これらのパラメーターは、ヒゲ刺激プロセス4分のNIRS測定中で、変化が認められなかった。

(2) 頭皮除去モデルのNIRS信号の変化

頭皮除去モデルのオプトード分離距離2.5、5.0、7.5、10.0mmにおけるヒゲ刺激プロセスから得られた血液血行動態反応の代表例を図2に示す。分離距離5.0、7.5、10.0mmにおいて、血液血行動態反応に起因するNIRS信号では、ヒゲ刺激開始から開始後約20秒までHbOは徐々に増加し、鏡像的にHbRは減少してHbT(=HbO+HbR)は増加する経時変化が認められた。その後ヒゲ刺激終了まで、HbOとHbTは若干減少し、HbRは鏡像的に増加する経時変化が認められた。分離距離2.5mmのNIRS信号は、ほとんど変化が認められなかった。また、分離距離7.5と10.0mmにおいて、10.0mmの光路長の方が7.5mmより

大きいにも関わらず、ヒゲ刺激中のHbOとHbRの分離する大きさは、ほぼ等しいことが認められた。

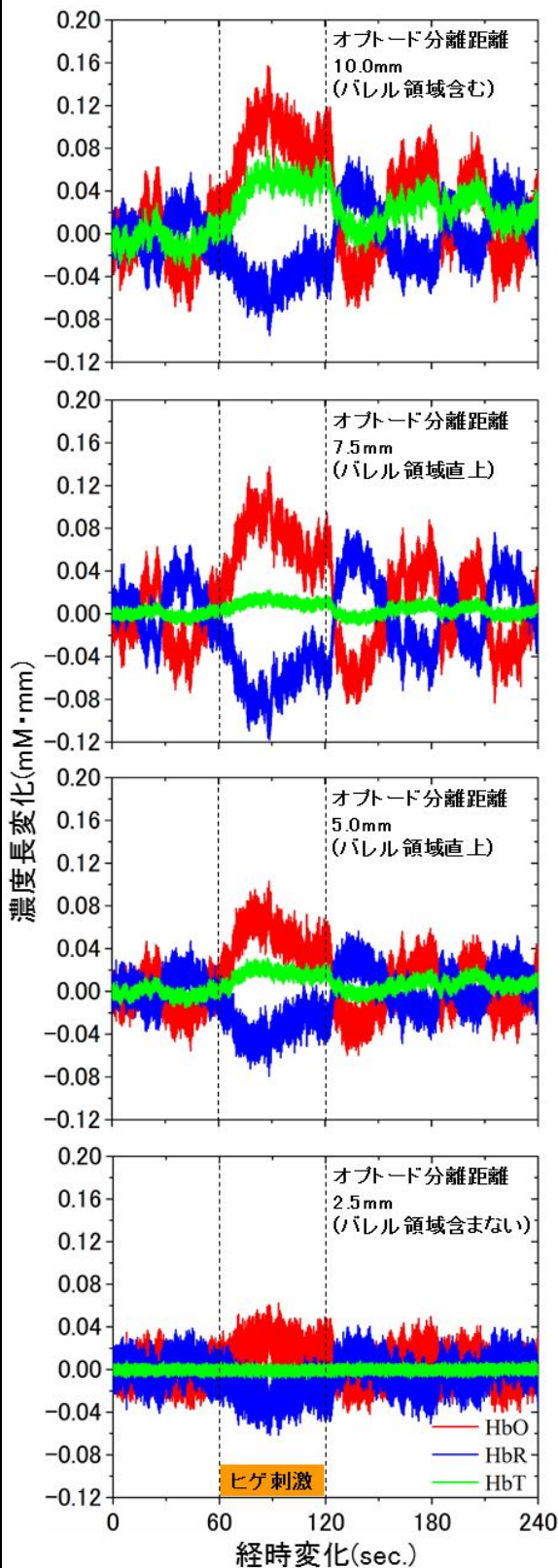


図2: 頭皮除去モデルのオプトード分離距離におけるヒゲ刺激プロセスに対する酸素化、脱酸素化、総ヘモグロビン濃度長変化(HbO、HbR、HbT)の経時変化。

(3) 頭皮除去モデルの App-SpO₂ の評価

頭皮除去モデルのオプトード分離距離 2.5、5.0、7.5、10.0mm におけるヒゲ刺激プロセスに対する App-SpO₂ の変化を図 3 に示す。分離距離 5.0 と 7.5mm のヒゲ刺激前安静 60 秒の App-SpO₂ 値は、約 60-70% であった。ヒゲ刺激 60 秒の App-SpO₂ 値は、ヒゲ刺激前安静に比べ約 3% 増加する傾向が認められた。ヒゲ刺激後の App-SpO₂ 値は、減少してヒゲ刺激前の App-SpO₂ 値に回復する傾向が認められた。

分離距離 2.5 と 10.0mm の App-SpO₂ 値は、分離距離 5.0 や 7.5mm と比べ、ヒゲ刺激プロセスに対する App-SpO₂ 値の依存性が認められなかった。オプトード分離距離とバレル領域の関係において、分離距離 5.0 や 7.5mm では、バレル領域からの直接的な App-SpO₂ 値であったのに対し、2.5mm ではバレル領域を含まないため App-SpO₂ 値が変化しないと考えられた。10.0mm では、バレル領域含む皮質領域からの何らかの血流変化を反映し、App-SpO₂ 値が変化していると考えられた。また、分離距離 5.0 や 7.5mm の App-SpO₂ 値は、ヒトの正常範囲 60-75% と比較し妥当である [文献]。従って、頭皮除去モデルの App-SpO₂ において、最適となるオプトード分離距離は、5.0-7.5mm であると考えられた。

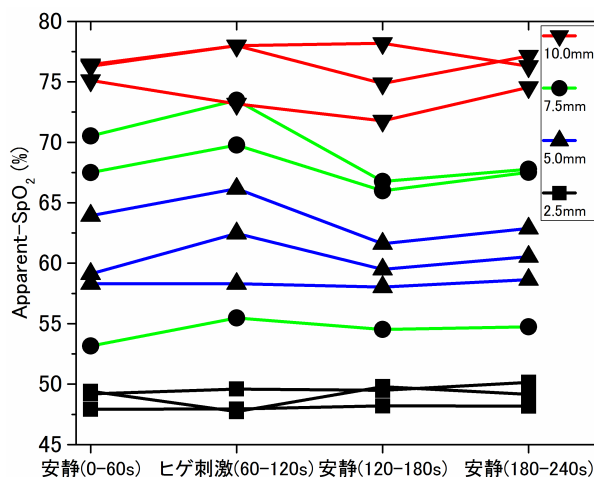


図 3：頭皮除去モデルのオプトード分離距離 2.5mm()、5.0mm()、7.5mm()、10.0mm() におけるヒゲ刺激プロセスに対する見かけの動脈血酸素飽和度 (Apparent-SpO₂) の変化。

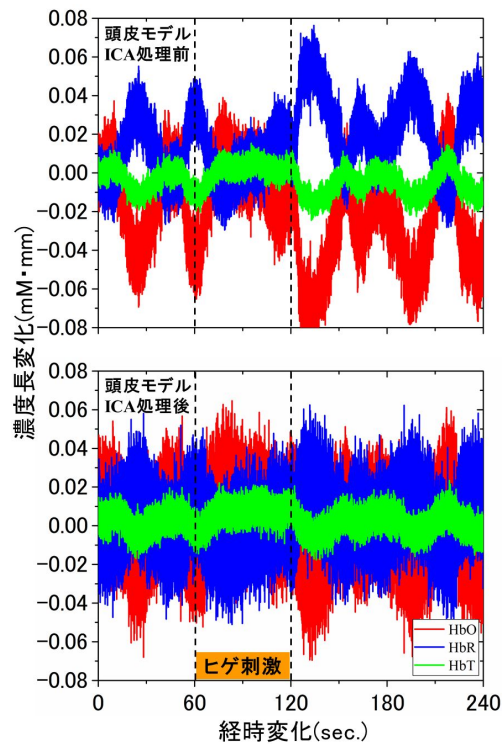


図 4：頭皮モデルの独立成分分析 (ICA) 処理前 (上段) と後 (下段) におけるオプトード分離距離 7.5mm でのヒゲ刺激プロセスに対する酸素化、脱酸素化、総ヘモグロビン濃度長変化 (HbO、HbR、HbT) の経時変化。

(4) 頭皮モデルの App-SpO₂ の評価

頭皮モデルのオプトード分離距離 2.5、5.0、7.5、10.0mm におけるヒゲ刺激プロセスから得られた NIRS 信号は、独立成分分析 (ICA) により、4 つの独立成分に分離される [文献]。分離距離 2.5mm の NIRS 信号は、他の分離距離と比べ、頭皮血流の影響を多く含むと考えられる。そのため、2.5mm の NIRS 信号と任意の独立成分との差が最小となる独立成分が、頭皮血流成分と見なせる。

頭皮モデルの分離距離 7.5mm から得られた NIRS 信号の代表例を図 4 上段に示す。図 2 に示した頭皮除去モデルの NIRS 信号とは異なり、ヒゲ刺激プロセスの血液血行動態反応が認められなかった。前述の ICA により分離した頭皮血流成分と見なせる独立成分を、この分離距離 7.5mm の NIRS 信号から除去した NIRS 信号を図 4 下段に示す。ICA 処理前と比べ処理後の NIRS 信号は、若干ではあるがヒゲ刺激プロセスに対する血液血行動態反応が認められた。

図4に示す頭皮モデルのICA処理前と処理後のNIRS信号から得られたヒゲ刺激プロセスに対するApp-SpO₂の変化を図5に示す。ICA処理前のApp-SpO₂値は、ヒゲ刺激プロセスで変化がなく、65%程度であった。ICA処理後のヒゲ刺激前安静60秒のApp-SpO₂値は、約52%で頭皮除去モデルと比べやや低値を示したが、ヒゲ刺激60秒のApp-SpO₂値は、ヒゲ刺激前安静に比べ約2%増加する傾向が認められた。ヒゲ刺激後のApp-SpO₂値は、減少してヒゲ刺激前のApp-SpO₂値に回復する傾向が認められた。従って、頭皮除去モデルから得られた脳内の直接的なApp-SpO₂値を再現できると考えられた。

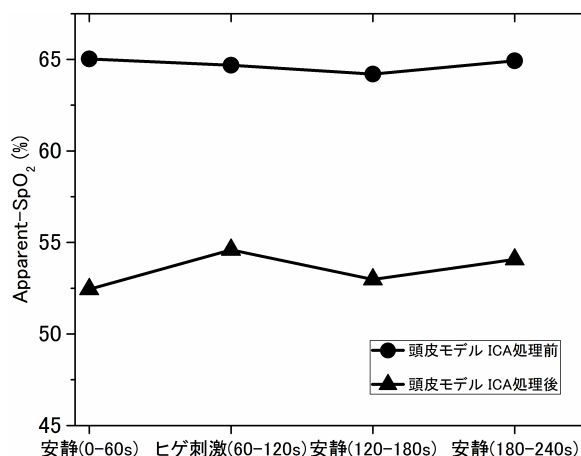


図5: 頭皮モデルの独立成分分析(ICA)処理前(●)と処理後(▲)におけるオプトード分離距離7.5mmでのヒゲ刺激プロセスに対する見かけの動脈血酸素飽和度(Apparent-SpO₂)の変化。

<引用文献>

Toshimitsu Takahashi et al., Influence of skin blood flow on near-infrared spectroscopy signals measured on the forehead during a verbal fluency task, *NeuroImage*, 57, 2011, 991-1002
 田桑弘之、松浦哲也、げっ歯類の脳循環測定から探る脳血流調節機序、比較生理生化学、29巻4号、2012、226-234
 Ute Lindauer et al., Characterization of CBF response to somatosensory stimulation: model and influence of anesthetics, *Am.J.Physiol*, 264, 1993, 1223-8
 佐野圭司 監修、脳卒中実験ハンドブック、株式会社アイピーシー、1990、4
 M.Thavasoathy et al., A comparison of cerebral oxygenation as measured by the NIRO 300 and the INVOS 5100 Near

Infrared Spectrophotometers, *Anaesthesia*, 57, 2002, 999-1006
 Aapo hyvarinen et al., Independent component analysis: algorithms and applications, *Neural Networks*, 13, 2000, 411-430

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

栗田太作、研究紹介 近赤外分光法(NIRS)、NPO法人「広域連携医療福祉システム支援機構」脳機能活性化分科会、2017年3月15日、東海大学伊勢原キャンパス(神奈川県伊勢原市)
 栗田太作、脳科学に寄与する新指標の提案、広域連携医療ネットワークシステム研究会、2017年6月4日、東海大学伊勢原キャンパス(神奈川県伊勢原市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕(計2件)

NIRSデータ欠損を補完するC言語ソースプログラム
 ヒゲ刺激を制御するPython言語ソースプログラム

6. 研究組織

(1)研究代表者

栗田 太作(KURITA, Daisaku)
 東海大学・情報教育センター・准教授
 研究者番号: 10547970

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

灰田 宗孝(HAIDA, Munetaka)
 東海大学医療技術短期大学・看護学部・教授
 研究者番号: 20208408

瀧澤 俊也(TAKIZAWA, Shunya)

東海大学・医学部・教授

研究者番号: 70197234

(4)研究協力者

高張 洋子(平成27~28年度)

岩尾 佳代子(平成29年度)

東海大学・伊勢原研究推進部・生命科学統合支援センター・技術員