

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K07701

研究課題名(和文) 神経細胞賦活を直接観る4次元fMRI法の開発

研究課題名(英文) Development of four-dimensional fMRI method for direct detection of activated neurons

研究代表者

山本 徹 (Yamamoto, Toru)

北海道大学・保健科学研究所・名誉教授

研究者番号：80261361

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：高粘性である細胞内では酸素の常磁性緩和効果が増強されることに着目し、細胞内からの信号を強調した時系列拡散強調信号の揺らぎを解析した。安静時脳活動を表す0.1Hz以下の揺らぎは、縦緩和短縮の信号増強と横緩和短縮の信号低減が拮抗する特異的TEの存在を示唆し、この揺らぎは細胞内酸素濃度変動を反映しているといえる。また、拡散強調fMRI信号にも神経細胞内の酸素濃度変化を反映する信号が得られない特異的TEの存在が示唆され、その撮像条件(TR, TE)で得られたfMRI信号は血流变化的な挙動を示した。一方、細胞内の酸素濃度変化を強調する撮像条件では刺激開始直後から立ち上がるfMRI信号が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

fMRIは、通常、神経賦活に遅れて発生する血流変化を利用するもので、神経細胞からの信号を直接捉えるものではない。fMRIを用いた論文の70%が擬陽性であるとの指摘もあり(Eklund, PNAS, 2016)、神経細胞の賦活を直接捉える新しいfMRIの開発が待望されている。本研究は賦活直後から発生する神経細胞内酸素濃度の速い変化を反映する信号がMR信号に現れ得ることを示し、撮像パラメータとの関係を理論的、実験的に明らかにした。本研究の成果は新しいfMRI開発上の大きな基盤となり、血流変化とは異なるこの速い信号変化を効率的に捉えることで神経電位変化追隨するfMRIの完成が近づくものと考えている。

研究成果の概要(英文)：Focusing on the phenomenon that the NMR relaxation due to paramagnetic substance is enhanced in viscous solution, we analyzed temporal fluctuation of diffusion-weighted MR signal which enhances intra cellular signal. Amplitude of the low frequency signal fluctuation lower than 0.1 Hz, which reflects default mode network, indicated existence of the specific TE that counterbalances signal increase due to longitudinal relaxation time shortening and signal decrease due to transverse relaxation time shortening. This low frequency signal fluctuation has been understood as appearance of intracellular oxygen concentration fluctuation. Diffusion-weighted fMRI signal also showed the existence of the specific TE in that intracellular oxygen concentration changes do not appear but hemodynamic changes appear. Using scan parameters to enhance intracellular oxygen concentration changes, fMRI signal showed rapid increases after the onset of the stimuli.

研究分野：医学物理

キーワード：MRI oxygen paramagnetism relaxation

1. 研究開始当初の背景

脳機能研究で広く用いられている fMRI は、通常、神経賦活に伴う血流変化を利用するもので、神経細胞からの信号を直接捉えるものではない。そのため、実際に賦活している神経細胞群から流れ出る排出静脈を中心に広く賦活領域として描出されることが多い。また、賦活領域から流れ出る主要な静脈が MRI の磁場方向に走行する場合は、実際に賦活していても描出されない場合もある (Anderson DJ, Proc Intl Soc Magn Reson Med, 13:782, 2005)。このような fMRI の原理的課題が認識されずに fMRI を用いて多くの論文が発表されているが、その 70% が擬陽性であるとの指摘もあり (Eklund A, PNAS, 113:7900, 2016)、神経細胞の賦活を直接捉える fMRI の新たな手法の開発が待望されている。刺激に伴う神経賦活に 2 秒程度遅れて血流変化が起こり、通常の fMRI ではそれに起因する MR 信号変化を捉えているが、拡散強調撮像法を併用した fMRI では刺激開始直後から MR 信号が増加し始め、この信号が賦活した神経細胞由来のものであるといわれている。その信号発生機序については、賦活に伴う神経細胞の膨潤であるとの解釈があるが確証はなく、fMRI における速い信号変化が何によるものかは不明のままである。この速い信号変化が賦活神経細胞由来のものであれば、それを捉えることで神経電位に追従する fMRI も期待できる。速い fMRI 信号変化の機序を知ることは開発上の大きな基盤となり、新しい fMRI の完成が近づくものと考えている。

2. 研究の目的

本研究は、MRI を用いて神経活動を画像化する fMRI の空間的・時間的精度向上を目指し、まず、一部の研究で認められている賦活神経細胞由来と考えられる速い MR 信号変化の機序を明らかにすることを目的とする。我々は、細胞内のような高粘性状態では、常磁性体である酸素分子が MR 信号に与える影響が著しく増強される可能性に着目し、神経活動に伴う細胞内の酸素濃度変化を反映する速い MR 信号変化が現れるのではと考えた。本研究ではこの仮説検証を目指し、高粘度の細胞内からの MR 信号を強調する拡散強調撮像を用いて TE、時系列撮像 TR および MPG (motion probing gradient) 印加方向を変えて、1) 安静時 MR 信号揺らぎ解析、2) 光刺激の fMRI 信号解析を行い、得られる信号の発生機序のモデル化を試みた。

3. 研究の方法

1) 安静時大脳時系列拡散強調 MR 信号の揺らぎ解析

3T MRI にてボランティア 1 名を対象に SE-EPI DWI 法 (マトリックスサイズ 128 × 128, FOV 240 mm × 240 mm, スライス厚 5 mm) によりシングルスライス頭部時系列撮像を行った。揺らぎ信号の変動率の TR、TE 依存性を見るために TR を 500, 800, 1000, 1300, 1400, 1700 ms と変え、また、TE を 90, 95, 100, 105, 110 ms と変えて撮像した。さらに、MPG (b 値 = 2000 s/mm²) を x (左右), y (前後), z (頭尾) 軸それぞれに印加した場合で実施し、TR、TE、MPG 方向の合計 75 組の時系列撮像を行った。組み合わせごとに得られた時系列画像データについて、各ピクセルの時系列データの平均信号強度 (S) を求めた。TR と TE の組み合わせごとに 3 つの MPG 方向の S マップが得られるが、ピクセルごとに S が最小の MPG 方向のデータを選択し S_{min} 時系列画像データを再構成し、また、S が最大の MPG 方向のデータをピクセルごとに選択し S_{max} 時系列画像データも再構成した。得られた S_{min} および S_{max} 時系列画像データについてピクセルごとに、1) 安静時神経活動が現れる 0~0.1 Hz、2) 主に呼吸成分が含まれる 0.1~0.3 Hz、3) 0.3 Hz~ナイキスト周波数 (Nq Hz) の 3 つの周波数帯域に分割してそれぞれの帯域成分のスペクトル強度 (ΔS) を求め、S と ΔS の散布図の近似直線の傾きを信号変化率 (ΔS/S) とし、その TE、TR 依存性を調べた。また、実験中のボランティアの呼吸数、心拍数もモニタした。

2) 拡散強調 fMRI 信号の解析

7T MRI にて、ボランティア 3 名を対象に SE-EPI DWI 法により頭部時系列撮像を行った。8 秒間のチェッカーボード光刺激を行い、3 mm × 3 mm × 3 mm の空間分解能でマルチスライス fMRI 撮像を実施した。この時、TR を 500, 1000, 2000 ms、また、TE を 50, 60, 70 ms と変え、さらに MPG (b 値 = 2000 s/mm²) を x (左右), y (前後), z (頭尾) 軸それぞれに印加した場合の TR、TE、MPG 方向の合計 27 組の fMRI 撮像を行った。TR と TE の組み合わせごとに 3 つの MPG 方向の S マップが得られるが、ピクセルごとに S が最小の MPG 方向のデータを選択し S_{min} 時系列画像データを再構成し、また、S が最大の MPG 方向のデータを選択し S_{max} 時系列画像データも再構成した。S_{min}、S_{max} 時系列画像データを対象に fMRI 解析を行い、撮像条件 (TR、TE) ごとに賦活領域を画像化し、その領域の刺激に同期した賦活信号変化率の時系列変化 (タイムコース) を求めた。

4. 研究成果

1) 安静時大脳時系列拡散強調 MRI 信号の揺らぎ解析

拡散強調撮像により粘度の高い細胞内からの MRI 信号が強調される。高粘度下では常磁性体による横緩和と時間短縮効果が増強されるので、拡散強調信号には細胞内の常磁性体である酸素

濃度の変化が顕在化する。拡散強調信号は、拡散成分が b 値に依存して抑制され残存する成分のスピネコー信号であるので、以下 b 値による抑制項を割愛して議論する。
スピネコー信号強度 (S) は次式で与えられる。

$$S = M(1 - e^{-R_1 \cdot TR}) \cdot e^{-R_2 \cdot TE} \quad [1]$$

ここで、 M はプロトン密度に比例する定数で、 R_1 、 R_2 はそれぞれ縦緩和時間、横緩和時間の逆数である縦緩和率、横緩和率である。[1]式の両辺の自然対数をとると、

$$\ln S = \ln M + \ln(1 - e^{-R_1 \cdot TR}) - R_2 \cdot TE \quad [2]$$

となる。[2]式の変分は、

$$\frac{\Delta S}{S} = \frac{TR}{e^{R_1 \cdot TR} - 1} \times \Delta R_1 - TE \cdot \Delta R_2 \quad [3]$$

となる。ここで、信号発生源が増減しないもの (M が一定) とした。 ΔS は信号強度変化、 ΔR_1 は R_1 の変化量、 ΔR_2 は R_2 の変化量である。ここで、酸素分子は常磁性体であり R_1 、 R_2 を変化させるため、 ΔR_1 、 ΔR_2 は酸素濃度変化 $\Delta [O_2]$ に比例する。その比例定数 (緩和度) をそれぞれ r_1 、 r_2 として[3]式の両辺の絶対値をとると、

$$\left| \frac{\Delta S}{S} \right| = \left| r_2 \cdot TE - r_1 \cdot \frac{TR}{e^{R_1 \cdot TR} - 1} \right| \cdot \Delta [O_2] \quad [4]$$

と表される。これを図で表したものを図 1 に示す。

[4]式および図 1 より、細胞内酸素濃度変化による信号変化では、信号変化率が 0 となる TE が存在し、その TE (TE_0) は、

$$TE_0 = \frac{r_1}{r_2} \cdot \frac{TR}{e^{R_1 \cdot TR} - 1} \quad [5]$$

と表せる。式[4]、[5]より、 TE が TE_0 以上のとき信号変化率 $\Delta S/S$ は TE と共に増加し、また、 $\Delta S/S$ が 0 となる TE_0 は TR の低下と共に極限值 ($r_1 / (r_2 \cdot R_1)$) へ漸近的に上昇する。頭部拡散強調信号の安静時脳機能を反映する低周波 ($0 \sim 0.1$ Hz) 成分の $\Delta S/S$ に TE_0 (約 50 ms) が現われた (図 2A 青色データ)。拡散強調撮像では MPG 方向に垂直な方向に動く成分は抑制されないで、得られる信号には抑制されない血流成分が残存する。賦活と共に神経細胞の酸素代謝が亢進し酸素濃度が低下すると R_2 は低減し MR 信号が増す (TE が TE_0 以上の場合)。加えて、血流も増加して血流からの信号も増す。したがって、神経細胞と残存血流の低周波成分の信号は正相関する。

また、血流は呼吸・拍動周期でも変動し、毛細血管からの酸素供給も同様に変動するので細胞内酸素濃度もそれらの周期で受動的に変動している。したがって、呼吸・拍動周期で血流が高まっている時には細胞内の常磁性体である酸素の濃度も受動的に高まり細胞からの MR 信号は低下する。このように、呼吸・拍動周期で増加する残存血流信号とは逆に細胞内からの信号は相補的に低下す

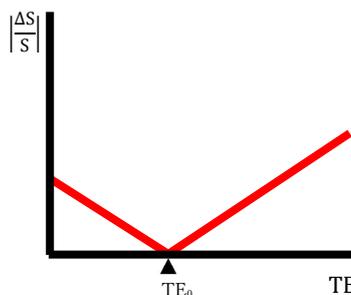


図 1 酸素濃度変化による信号変化率の理論の模式図
細胞内酸素濃度変化による信号変化率の理論では、信号変化率が 0 となる特異的な TE (TE_0) が存在する。

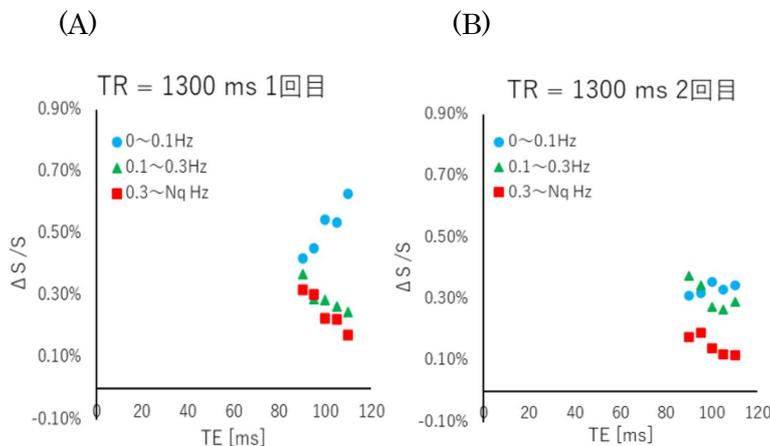


図 2 拡散強調信号変化率の TE 依存性
安静時脳機能を反映する低周波成分 ($0 \sim 0.1$ Hz)、呼吸成分 ($0.1 \sim 0.3$ Hz) およびそれ以上の高周波成分 ($0.3 \sim$ ナイキスト周波数 (Nq)) に分けて表示。全てのデータの TR は 1300 ms なので Nq は 0.38 Hz。
(A) 1 回目の S_{min} 時系列画像データ解析結果。(B) 2 回目の S_{min} 時系列画像データ解析結果。

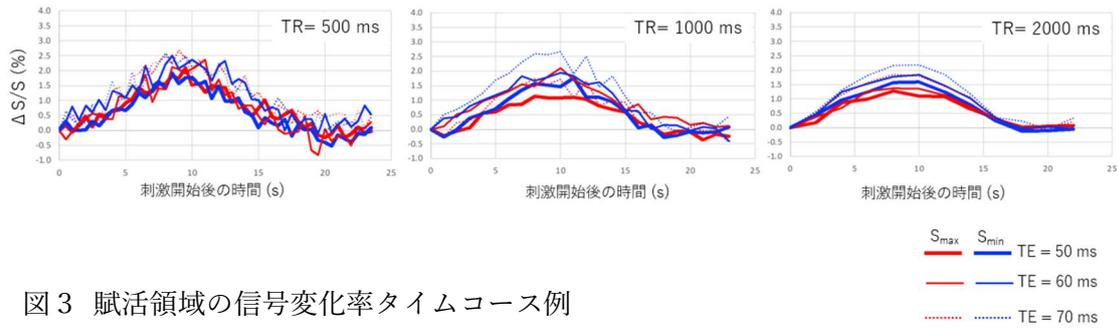


図3 賦活領域の信号変化率タイムコース例

る。スラブ外の血流のスライス面内への流入によるプロトン密度的変動の信号変化率は TE に依存しないが、細胞内の R2 変化の信号変化率は TE とともに増す。それらの信号変化は相補的であるので、拍動を反映する高周波成分 (0.3~0.38 Hz および呼吸成分 (0.1~0.3 Hz) の TE 依存性は負の傾きを持つ (図 2)。なお、図 2A のデータ取得時の呼吸周波数は 0.1~0.3 Hz にあり、拍動の折り返し周波数は 0.3~0.38 Hz にあったが、拍動の折り返し周波数が低周波領域に及んだときは、得られた低周波成分の結果は

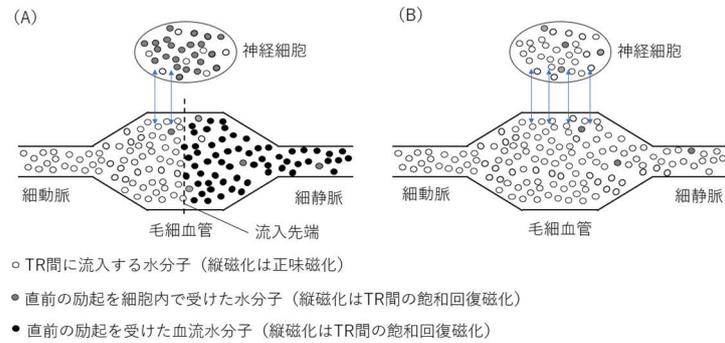


図4 励起直前の縦磁化のモデル図

(A) TR が短くスラブ外から流入する水分子がスライスを貫通しない場合. (B) TR が長くスラブ外から流入する水分子がスライスを貫通する場合. この図は細動脈, 毛細血管, 細静脈のそれぞれの血管径ではなく各総体積を反映している.

乱れた (図 2B). TR が 1300 ms から低下すると $\Delta S/S$ の低周波成分の値は低下し, TE_0 は TR の低下と共に増加する理論的傾向が読み取れた. なお, TR が 1400 ms と 1700 ms の $\Delta S/S$ の低周波成分の値は 1300 ms の時よりも低下した. ナイキスト周波数 ($1/(2TR)$) が低下し高周波帯域が狭くなり, 拍動周波数が低周波領域に折り返されたことが原因のひとつと考えられる.

2) 拡散強調 fMRI 信号の解析

撮像条件 (TR, TE) ごとに得られた S_{min} , S_{max} 時系列画像データを対象に描出した賦活領域のタイムコースの典型例を図 3 に示す. TR=1s で TE=50ms のとき, S_{min} , S_{max} から得られたタイムコースは共に刺激開始後 2 秒程度から立ち上がる脳血行動態的变化を示し, TE が 60, 70ms と増すにしたがいこの血流変化に先立つ変化が現れた. 特に, 残留血流の影響が少ない S_{min} の場合, TE が 60, 70ms でともに刺激開始直後からの立ち上がりを示した. この状態のモデル図を図 4A に示す. TR 間にスラブ外から励起されない正味磁化の血流 (白丸) が流入し, TR 前に励起された水分子 (黒丸) は押し流されるとともに, 毛細血管と細胞内の水分子が交換される. なお, 撮像スライスに流入した血液が毛細血管に到達するまで 0.5 秒程度であることが報告されているので (Francis ST, Magn Reson Med, 59:316, 2008), TR が 1s の様子を表すこのモデルは妥当である. TE が 50ms のときのタイムコースが脳血行動態的变化であったので, この時のタイムコースは図 4A の流入先端の変動を表し, 細胞内で TR 前に励起された水分子 (灰丸) からの信号変動は抑制されている解釈できるので, TR=1s の場合の TE_0 が約 50ms だといえる. 一方, TE が 60ms, 70ms と増すに従い, 細胞内の水分子 (灰丸) からの信号変化も発生し検出されるので, タイムコースに現れるこれらの TE の速い立ち上がりは賦活に伴う細胞内の酸素代謝亢進による酸素分子の低下を示唆する. タイムコースの 0~5 秒の平均値の TE 依存性を図 5A に示す. 毛細血管に至る流入先端の変動はプロトン密度変動なので, この図ではオフセット値となる. TR=1s の場合, TE=50ms (TE_0) でそのときの $\Delta S/S$ の値 0.8 がオフセット値であると解釈できる. なお, 5 秒超から 10 秒までのタイムコースの平均値のグラフ (図 5B) では, 賦活に伴い血流が亢進しオフセット値が増していることが認められる. TR=2s のときは, 図 4B のように, スラブ外から流入する血流がスライスを貫通し流入先端の変動が現われず, また, 毛細血管と細胞内の水分子のほとんどが TR 間に交換しているものと考えられる. 図 4B で TR 間に流入した血流の水分子で細胞内に至ったものから主に信号変化が発生する. 流入血流水分子の縦磁化は正味磁化であり T1 緩和の影響 ([3]式 右辺第 1 項) が現われず, その縦磁化が励起されることで発生する MR 信号は細胞内の R2 の変化のみ反映し, 刺激開始直後からの神経細胞内の酸素濃度低下が速やかに現れる. この MR 信号は T1 緩和の影響を受けていないので, TE に正比例した信号強度変化率を示す. 図 5 の TR=2s のデータはこの正比例関係を示している. TR=0.5s の場合は, 安静時は流入先端が細動脈に収まっているものと考えられ, タイムコースは SNR に劣るものの TR=

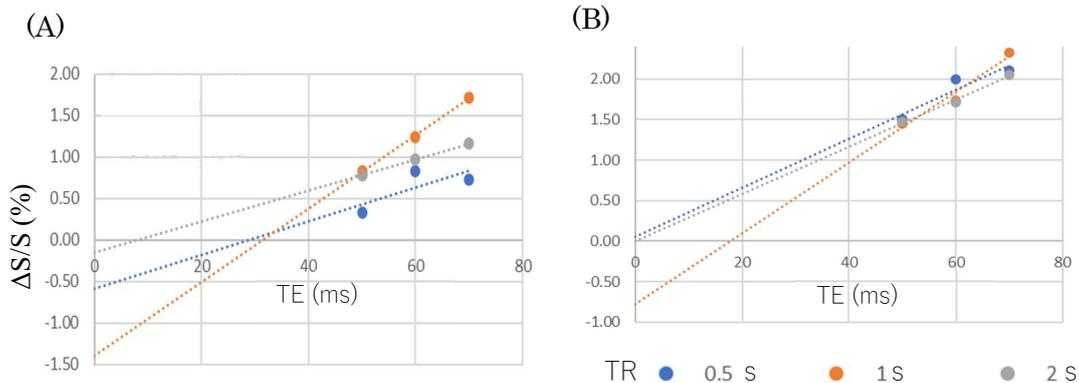


図5 fMRI 信号強度の TE 依存性 (A) 0 秒から 5 秒までの平均信号変化率. (B) 5 秒超から 10 秒までの平均信号変化率.

1s と同様である (図3). 流入血流の変化量は TR に比例するが、オフセット値が TR=2s よりも低減している (図5A). 賦活直後の 5 秒間に比べ、賦活が亢進した刺激開始後 5 秒超から 10 秒までの信号強度変化率の増加が他の TR のものよりも顕著である (図5B). 脳血行動態が亢進すると流入先端が毛細血管領域に達し、流入血液の水分子が細胞内に及ぶようになる. TR が短いので、細胞内に留まっている水分子の縦磁化の回復が進まず流入成分の縦磁化 (正味磁化) のコントラストが大きく、細胞内からの信号は流入成分の寄与が顕在化し信号強度変化率が顕著に増したものと解釈できる. 流入成分は TR 間の縦緩和の影響を受けていないので、その TE 依存性は TE_0 を持たない正比例的傾向を示す (図5B). 図6に賦活領域を表示した fMRI マップを示す. TR=500ms の結果は、他の TR の結果に比べると SNR が低く、描出される領域が少ない. TR=1000ms, TE=50ms

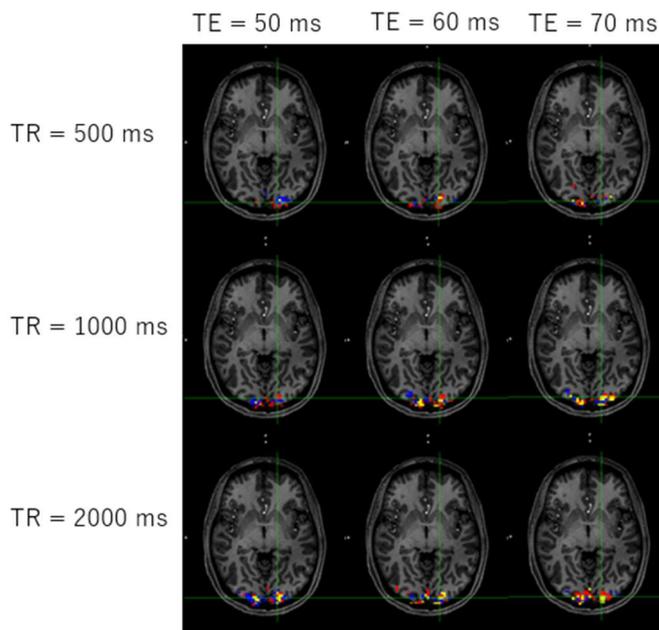


図6 fMRI マップ S_{min} 画像データのみから描出された賦活領域 (青) S_{max} 画像データのみから描出された賦活領域 (赤) S_{min}, S_{max} 画像データから共通に描出された賦活領域 (黄)

(TE_0) の結果が残存血流の影響が顕在化しているピクセルであると考えられる. このときの fMRI マップは、黄色のピクセルが少なく、顕在化する残存血流が MPG 方向を変えても共通で存在することが少ないことが読み取れる. TR=1000ms で TE を増すと、賦活神経細胞領域が TE=50ms の結果に重畳されて現れる. TR=2000ms ではタイムコースに速い立ち上がりが見られ、神経賦活領域が描出されているものと解釈できる. 描出された領域の賦活強度は TE にほぼ正比例して増加する (図5) ので描出される賦活領域は TE 値 50, 60, 70 ms にしたがって正比例的に漸増している. これらの賦活領域は TR=1000ms, TE=50ms で現れた残存血流の影響が顕在化したピクセル上にほとんどが重畳されるので、 $3\text{mm} \times 3\text{mm} \times 3\text{mm}$ の空間分解能では、真の賦活焦点から離れた排出静脈は残存しないものと考えられる. MPG 印加後に残存する血流の血管内水分子は血管走行方向の移動に加え血管径方向の拡散的移動もあり、ある程度以上の径の血管では MPG に垂直な走行をしていても抑制されるものと思われる. したがって、TR=1000, 2000ms で TE が大きな場合の結果には、通常の fMRI で現れる排出静脈の影響を抑制して、神経賦活領域が描出されているものと考えられる. なお、データ取得時の呼吸・拍動などの影響が再現性を劣化させる. TR=1000ms, TE=70ms のときの結果が S_{min}, S_{max} それぞれの画像データから描出された共通賦活領域 (黄色) の割合が最も高く、高い信号強度変化率 (図5) を反映した結果となっている. 脳血行動態変化に先立ち現れる速い信号変化を捉えることで、数~100ms の時間分解能の新しい fMRI 技術が発表されているが (Nunes D, NeuroImage, 231:117862, 2021) (Toi PT, Science, 378:160, 2022), 我々は、その速い変化は賦活神経細胞内の酸素代謝亢進による酸素濃度低下が一因であると考えている. 本研究は、賦活に伴う神経細胞内酸素濃度の低下が MR 信号に現れ得ることを示した. 特に、酸素濃度の低下は R2 のみならず R1 も低減し、スピンエコー系撮像法ではそれらの低減効果は相補的であり、酸素濃度変化が現れない特異的 TE (TE_0) の存在を実証した. 賦活 MR 信号変化を最適化するには、 TE_0 を避ける TE の設定などをはじめ撮像法の様々な工夫の余地がある.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tang M, Inomata S, Yamamoto T	4. 巻 32(S2)
2. 論文標題 Observation of the Neural Activity Foci Using fMRI with Diffusion Weighted Datasets	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Progress in Medical Physics	6. 最初と最後の頁 S54-S55
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tang M, Inomata S, Yamamoto T
2. 発表標題 Observation of the Neural Activity Foci Using fMRI with Diffusion Weighted Datasets
3. 学会等名 The 9th Korea-Japan Joint Meeting on Medical Physics（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kikuchi K, Tang M, Yamamoto T
2. 発表標題 Observation of intracellular oxygen concentration changes in MRI signal
3. 学会等名 第119回日本医学物理学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kusumoto R, Tang M, Yamamoto T
2. 発表標題 Oxygen molecules decrease relaxation times of magnetic resonance signal conspicuously in cellular mimetic viscous solution
3. 学会等名 第117回日本医学物理学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 楠本梨沙, 唐明輝, 山本徹
2. 発表標題 細胞模擬高粘性溶液の横緩和時間短縮効果の酸素濃度依存性
3. 学会等名 第47回日本磁気共鳴医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tang M, Kusumoto R, Kikuchi K, Kida I, Yamamoto T
2. 発表標題 Observation of relaxation-time-shortening effect of intracellular oxygen in MRI signal: in vitro and in vivo studies
3. 学会等名 ISMRM JPC 2019
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	黄田 育宏 (Kida Ikuhiro) (60374716)	国立研究開発法人情報通信研究機構・脳情報通信融合研究センター脳機能解析研究室・主任研究員 (82636)	
研究分担者	唐 明輝 (Tang Minghui) (80794156)	北海道大学・保健科学研究所・特任助教 (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------