

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25750409

研究課題名(和文) マルチモダルMRIとfMRIを用いたヒト睡眠時における脳幹部神経核の活動の同定

研究課題名(英文) Non-invasive evaluation of human brainstem activity during sleep by multimodal MRI

研究代表者

寒 重之(Kan, Shigeyuki)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・寄附講座助教

研究者番号：20531867

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト脳幹部の神経核の活動を非侵襲的に評価できる方法の確立を目指して、7T MRIにおいてEEG/fMRI同時計測システムの構築と、fMRIによる脳幹部神経核の活動の同定の可能性の評価に取り組んだ。EEGキャップの改良の結果、7T MRIにおいてもこれまでと同程度の脳波が計測できることが確認でき、fMRI撮像による電極の発熱もないことが分かった。脳幹部の活動の同定では、7T MRIであっても眼球運動に伴う神経核の活動は困難であったが、交感神経活動に伴う青斑核と思われる部位での活動が同定できた。また、rs-fMRIを用いることで青斑核と機能的結合を持つ脳部位を検討できる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：To develop an evaluation method of human brainstem activity during sleep, we constructed a simultaneous EEG/fMRI recording system on a 7T MRI and investigated feasibility that fMRI can detect human brainstem activity. We confirmed that we can record EEG with 7T MRI, and that fMRI scanning does not produce harmful electrode heating. In regard to identification of brainstem activity by fMRI, we found brainstem activity related to sympathetic activity induced by salient auditory stimuli, although we was not able to detect brainstem activity related to saccades. Location of this brainstem activity almost overlapped that of the locus ceruleus which was identified on a neuromeranin image. Furthermore, we showed the possibility that rs-fMRI can identify function connectivity of the locus ceruleus.

研究分野：神経科学

キーワード：fMRI 脳波 脳幹

1. 研究開始当初の背景

fMRI の登場により、さまざまな情報処理に関わるヒト脳活動が検討されてきた。しかし、それは主に大脳皮質および限られた皮質下部位にとどまり、大脳の活動を修飾する脳幹部の種々の神経核の活動の検討については、まだ確立した手法は存在しない。

脳幹部の神経活動は、関連する重要な神経核が存在する痛みや睡眠に限らず、注意の分配などの観点から認知機能においても重要であり、脳幹部神経核の活動を非侵襲で評価出来れば、神経科学のみならず臨床上の価値も高い。

本研究課題では、超高磁場 MRI が提供する高い空間解像度および SN 比を生かして脳幹部の活動を同定・描出できるのではないかと考え、fMRI と脳波の同時計測、ヒト脳幹部の特定の神経核を非侵襲的に同定できる Neuromelanin imaging、また賦活型および安静時 fMRI とを組み合わせて、動物で研究が進んでいる睡眠に関わる脳幹部神経核を対象として、その活動を評価する手法の開発に取り組んだ。

2. 研究の目的

本研究課題の最終的な目的は、睡眠時の脳幹部の活動をヒトで非侵襲的に計測する技術の開発である。この目的を達成するためには、まず、fMRI 撮像中の被験者が覚醒しているのか、それとも睡眠しているのか、またどのくらいの深さの睡眠状態なのかを判別できなくてはならず、したがって fMRI 撮像中に脳波を計測できなければならない。そのために、7T MRI 装置において使用できる EEG/fMRI 同時計測システムを新たに構築することが不可欠である。

また、3T MRI において脳幹部に位置する神経核の活動が同定できたという報告はあるが (Linzenbold et al., 2011, Murphy et al., 2014)、7T MRI の fMRI において必ずしも活動が同定できるとは限らない。そこで、7T MRI で覚醒中の被験者に刺激提示あるいは課題負荷をおこない、安定して脳幹部の神経核の活動を同定することができるのかを検討した。

したがって、本研究課題では、1) 超高磁場 7T MRI における EEG/fMRI 同時計測システムの構築、2) fMRI 撮像と同時に記録した EEG の質の検討ならびに 3) fMRI による脳幹部の神経活動の同定可能性の検証の 3 つを、具体的な本研究課題の目的とした。

3. 研究の方法

本研究課題の目的は、1) 超高磁場 7T MRI における EEG/fMRI 同時計測システムの構築、2) fMRI 撮像と同時に記録した EEG の質の検討ならびに 3) fMRI による脳幹部の神経活動の同定可能性の検証の 3 点であった。

7T MRI における EEG/fMRI 同時計測システムの構築では、安全性の観点から fMRI 撮像による電極の発熱の危険性を評価した。

fMRI 撮像と同時に記録した EEG の質の検討では、fMRI 撮像中にヒト脳波を同時に計測し、途中合図によって被験者に開眼・閉眼を 8 回繰り返させた。ノイズ除去処理後の脳波に対して FFT をおこない、開眼時および閉眼時の帯域パワーにおいて明らかな変化が確認できるかを調べた。

また、fMRI による脳幹部の神経活動の同定可能性の検証では、これまでに脳幹部の活動が報告されている眼球運動課題および顕著性の高い聴覚刺激を用いて fMRI 撮像をおこなって、再現性のある形で脳幹部の活動が同定できるかを検討した。さらに、5 分間の安静時 fMRI をおこない、同じ被験者で撮像した脳幹部に位置する青斑核を同定できる Neuromelanin 画像を基に同定した青斑核をシードとした seed-based correlation analysis をおこなって、青斑核と機能的結合を持つ皮質・皮質下部位を同定できるかの検討もおこなった。

本研究課題では、以下の MRI 装置、脳波計、脳波データ解析ソフトウェア、fMRI データ解析ソフトウェアを使用した。

MRI 装置: Signa 950 System 7.0 Tesla MRI (米 GE 社製)

脳波計: Brain Amp MR plus および Brain Amp ExG MR (独 Brain Products 社製)

脳波取得およびデータ解析ソフトウェア: Brain Vision Recorder、Brain Vision Analyzer (独 Brain Products 社製)

fMRI データ解析ソフトウェア: SPM8 (Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, University College London)、Conn (<http://www.nitrc.org/projects/conn>)

(1) 7T MRI における EEG/fMRI 同時計測システムの構築

fMRI 撮像に伴う電極の発熱に関する検討
テスト撮像用の試験体 (phantom) に脳波計測用電極キャップをかぶせ、電極部にペーストを注入した後、MRI 対応温度計 (Reflex Signal Conditioner、カナダ Neoptix 社製) を用いて fMRI 撮像中の電極部の温度をサンプリング周波数 1Hz で計測した。計測した電極は Fz と Cz の 2 つで、撮像は 20 分間おこなった。EPI の主要撮像パラメータは、TR/TE/FA=3000ms/28.9ms/80deg、FoV=256mm、Matrix size=64x96、Slice thickness 3mm であった。

撮像以外の要因によって EEG に混入する MRI 由来ノイズの検討

EEG に混入する機械ノイズを計測するために、電極ペーストを全体に塗布した phantom に脳波計測用キャップをかぶせて、MRI 装置内に設置し、データを計測した。

このとき、1) 通常の状態、2) ヘリウムポンプを停止し、液体ヘリウムの循環を停止した状態、3) ヘリウムポンプおよび装置の空冷装置を停止した状態の3つの条件でノイズの記録をおこない、各条件のデータについてフーリエ解析をおこなって、条件間で変化が見られた周波数成分を調べた。

EEG キャップの改良

fMRI データの撮像には一般的に phased-array coil が用いられるが、今回使用した 7T MRI に付属のコイルでは、安全性や MRI への影響の懸念なしに脳波計測用キャップと脳波計とを接続することができなかつた。そのため、脳波計測用キャップから出ているリード線の配置およびコネクタの形状を変更して、付属のコイルでも撮像できるように対応した。

改良をおこなった脳波計測用キャップでもオリジナルのものと変わらない脳波が計測できるかを、fMRI 撮像中に脳波を計測し、開閉眼による波の出現・減少が確認できるかを調べることによって確かめた。

2) fMRI と同時計測した脳波の質の検討

fMRI 撮像中の被験者に、合図によって開眼・閉眼をおこなわせて、波の出現・減少を生じさせた。開眼期・閉眼期共に 15 秒で、それぞれ 8 回繰り返した。

解析ソフトを用いて fMRI 撮像に伴うノイズおよび被験者の心拍に起因するノイズを除去した後、開眼期・閉眼期を取り出し、FFT をおこなって、8 つのエポックの平均パワを計算した。

開眼期から閉眼期、あるいは閉眼期から開眼期の波の変化および開眼期と閉眼期との比較において、パワに明らかな変化が見られるかを視察によって調べた。

3) fMRI による脳幹部の神経活動の同定可能性の検証

被験者に眼球運動課題の遂行および顕著性の高い聴覚刺激を提示して、神経活動が脳幹部で見られるかを調べた。

眼球運動課題は、20 秒間の課題ブロック中に約 20 回の衝動性眼球運動（サッケード）をおこなうもので、これを 20 秒間のレストを挟んで 9 回繰り返すものである。本研究では、一人の被験者に対してこの撮像を 2 回繰り返した。

聴覚刺激に対する反応を見る計測では、車のブレーキ音や女性の叫び声、アラーム音などの顕著性の高い聴覚刺激を 1 回の測定中に 24 回提示した（持続時間はすべて 2 秒に統一）。聴覚刺激の提示の間隔は平均 20 秒で、また順応を防ぐために、聴覚刺激を提示しない試行（null 試行）も 6 回含めたこの撮像を一人の被験者に対して 2 回おこなった。

さらに、この計測では、聴覚刺激によって、覚醒度の変化が生じたかを皮膚コンダクタ

ンス反応を用いて確認した。皮膚コンダクタンス反応を計測する電極は、左手の人差し指と中指の指先に装着した。皮膚コンダクタンス反応の出現およびオンセットの同定は実験者の視察によりおこなった。

解析は、眼球運動課題の計測がブロックデザインで、聴覚刺激提示の計測がイベント関連デザインでおこなった。

このような賦活型の fMRI に加えて、本研究では同じ被験者に対して安静時 fMRI の撮像もおこなった。そのデータを用い、Neuromeratin imaging で同定した青斑核をシードとした seed-based correlation analysis を実施して、青斑核と有意な機能的結合を持つ脳部位が同定できるかを調べた。安静時 fMRI の撮像は 10 分間閉眼状態でおこない、青斑核の同定は一般的な解剖学的位置関係を踏まえ視察でおこなった。

被験者は 10 名の健康成人（20-60 歳）であった。

4. 研究成果

(1) 7T MRI における EEG/fMRI 同時計測システムの構築

fMRI 撮像に伴う電極の発熱に関する検討
現在では、MRI 対応脳波計がいくつかのメーカーから発売されているが、基本的にメーカーが動作を保証しているのは 3T MRI までである。MRI 撮像中の EEG の記録においてもっとも問題となるのは、MRI 撮像に伴い電極あるいはリード線が発熱することによって被験者に熱傷を惹起する危険性である。そこで、ヒトでの EEG の記録をおこなう前に、phantom を用いて fMRI 撮像中の脳波電極の温度を温度計で計測し、fMRI 撮像による脳波電極の発熱が生じないことを確認した。

fMRI 撮像中の電極の温度を図 1 に示す。TR3 秒、60 スライスという実際に撮像で用いるパラメタで 20 分の撮像をおこなっても、電極の温度上昇は 1 未満であった。この結果は、電極位置を変えて再度測定した場合でも同じであった。したがって、7T MRI での fMRI の撮像であっても、電極の発熱によって

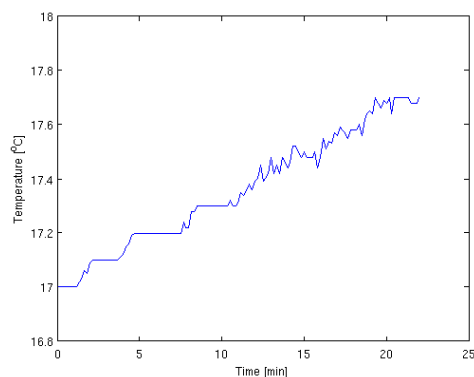


図 1 20 分間の fMRI 撮像中における脳波電極 (Fz) の温度変化

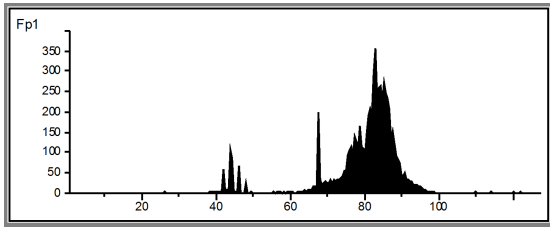


図 2 MRI 装置に由来する EEG に混入する機械ノイズのパワースペクトル

被験者に熱傷を惹起する可能性は低いことが確認できた。

撮像以外の要因による EEG に混入する MRI 由来ノイズの検討

fMRI 撮像中に記録した脳波には、撮像に直接起因するもの以外にも、MRI 装置に由来する機械ノイズが混入する。特に、冷却用ヘリウムの循環に伴うノイズは影響が大きい。ただし、施設ごとにその程度は大きく異なる。そこで、本研究で使用している 7T MRI 装置において、実際にヘリウムの循環によって EEG に生じるノイズがどの程度であるのかを、実際にヘリウムポンプを止めて検討した。

MRI の冷却系をすべて停止した状態、MRI のヘリウムポンプを止めた状態、どの装置も止めていない通常の状態を比較した結果、40-50Hz の帯域でヘリウムの循環に起因すると思われるノイズ成分が認められた(図 2)。しかし、本研究で用いた 7T MRI 装置では、このヘリウムの循環に起因するものよりも数倍大きなノイズが MRI 装置を冷却するための空調機器の動作によって生じていることが分かった。また、その周波数帯域は 60-100Hz であった。

この空調機器を止めたまま MRI の撮像を行うことはできないことから、60-100Hz の周波数帯域の波についての検討をおこなうことは困難である。一方、覚醒度を判断する指標となる波や、深い睡眠を表す波などの睡眠に特有の脳波については、その周波数帯域は 20Hz 以下であり、7T MRI での同時計測であっても、被験者の覚醒・睡眠状態を判断する指標として用いることが可能であると考えられる。

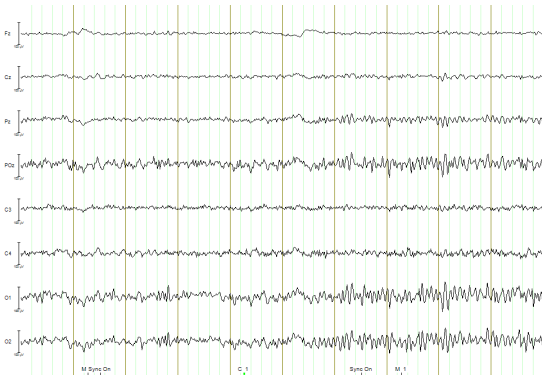


図 3 閉眼による波の消失と閉眼による波の出現

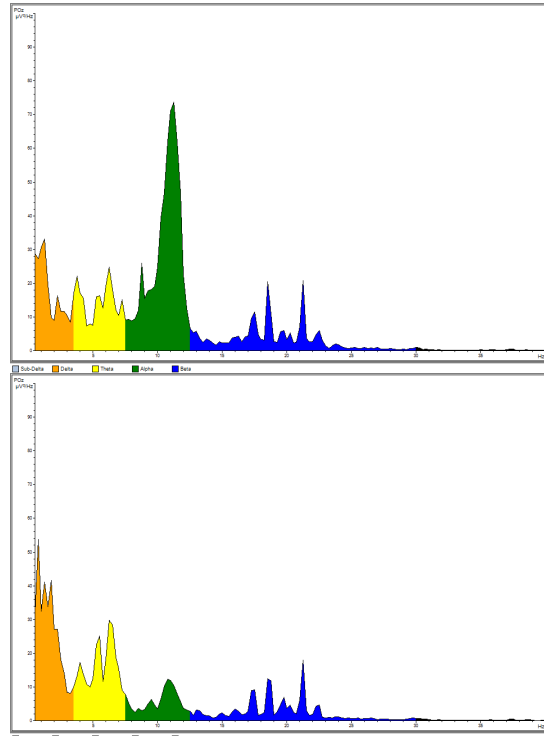


図 4 閉眼と閉眼でのパワの違い。(上)閉眼時のパワースペクトル、(下)閉眼時のパワースペクトル。緑色の帯域が帯域。

EEG キャップの改良

EEG/fMRI 同時計測の普及に伴い、MRI 対応の脳波電極もいくつかのメーカーから市販されている。しかし、本研究で使用した MRI で用いられているヘッドコイルでは、その形状の為、撮像に支障がないように脳波計測用キャップを脳波計に接続することができなかった。

そこで、脳波計と接続するコネクタの形状と、EEG キャップからコネクタまでのケーブルの形態を変更することによって、EEG キャップを脳波計に接続することが可能となった。

また、被験者で実際に fMRI との同時計測をおこなったところ、MRI 画像上にも、脳波上にも目立った問題は見当たらなかった。

(2) fMRI と同時計測した脳波の質の検討

fMRI 撮像中に計測した脳波によって、基礎律動の変化を判定できるかを検討するため、fMRI 撮像中に被験者に閉眼・閉眼の合図をおこない、閉眼時の波の出現および閉眼による波の消失が確認できるかを調べた。

典型的な一名の被験者の測定例を図 3 に示す。閉眼では明瞭な波の出現が確認でき、さらに閉眼による波の消失も確認できた。また、図 4 に示す脳波のパワースペクトルにおいても、閉眼時と閉眼時では帯域のパワに明らかな差があった。

閉眼による波の出現・消失は、他の複数の被験者でも確認することができたことから、覚醒度、特に覚醒か入眠しているかの

判断は、fMRI 撮像中に記録した脳波でも可能であることが示された。

(3) 7T MRI での fMRI による脳幹部の活動の同定

眼球運動による動眼神経核、外転神経核の賦活

眼球の運動は 6 本の外眼筋によって担われており、それら外眼筋の収縮を制御しているのが脳幹部に位置する動眼神経核や外転神経核などの眼球運動に関連する種々の神経核である。

眼球運動の実行に伴う動眼神経核や外転神経核の活動は、すでに 3T MRI においても報告がなされており (Linzenbold et al., 2011)、7T MRI ではより確実に活動を同定することが可能になると期待される。そこで、眼球運動に伴う神経核の活動を 7T MRI で同定できるかを Linzenbold らの実験パラダイムを基に検討した。

眼球運動に関連する皮質領野である、前頭眼野 (FEF)、補足眼野 (SEF) および頭頂眼野 (PEF) の活動は 7T MRI でも確認することができた。しかし、脳幹部の活動については、予想に反して、明らかに眼球運動に伴う活動だと思われるものは認められなかった。

顕著性の高い聴覚刺激での青斑核の賦活

先行研究によって顕著性が高い刺激 (たとえばオッドボール課題のレア刺激) などに対して青斑核は顕著な反応を示すことが報告されている (Murphy et al., 2014)。今回は、先行知見を基に、女性の叫び声など顕著性の高い聴覚刺激を被験者に提示して、刺激の提示に伴う脳活動および刺激の提示によって生じた交感神経活動に伴う脳活動を同定し、脳幹部の活動が同定できるかを検討した。

聴覚刺激に伴う脳活動を図 5 に示す。聴覚刺激に伴う脳活動は、基本的に一次聴覚野のみに見られ、大脳を含め、他の領域では明瞭な賦活は見られなかった。

一方、聴覚刺激によって生じた、あるいは聴覚刺激の提示とは無関係に自発的に生じた交感神経活動 (= 皮膚コンダクタンス反応) に伴う脳活動は、帯状回や島皮質などの辺縁系を含む広い脳部位で見られ、また複数の被験者で脳幹部でも活動が見られた (図 5 右)。さらに、これら脳幹部での活動は、青

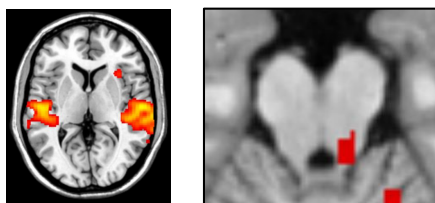


図 5 顕著性の高い聴覚刺激の提示に伴う脳活動。(左) 聴覚刺激の提示に伴う聴覚野の活動。(右) 皮膚コンダクタンス反応の出現に伴う脳幹部の活動

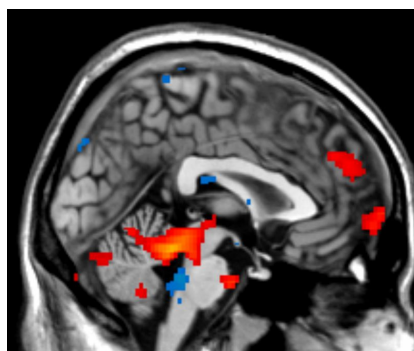


図 6 Seed-based correlation analysis によって描出された右青斑核と有意な機能的結合を持つ脳部位

斑核を高信号領域として描出できる Neuromelanin imaging において同定された青斑核の位置とほぼ一致していた。したがって、皮膚コンダクタンス反応に伴う脳幹部の活動は青斑核の活動である可能性がある。

rs-fMRI による青斑核の機能的結合

近年、賦活型の fMRI 研究に加え、安静時の自発性脳活動およびその領域間の活動の同期性に着目をした安静時 fMRI (resting-state fMRI; rs-fMRI) が注目されている。本研究でも、rs-fMRI を用いて、青斑核を Neuromelanin imaging によって同定し、その青斑核をシードとする seed-based correlation analysis をおこなって、青斑核と有意な機能的結合を持つ領域を検討した。

図 6 に典型的な被験者の seed-based correlation analysis の結果を示す。右青斑核は内側前頭前野と中脳水道周囲灰白質に有意な正の機能的結合を持ち、傍正中橋網様体とは負の機能的結合を有していた。

この結果は、安静時 fMRI を用いて脳幹部の神経活動を評価する可能性を示唆するものであるが、まだ少数の被験者での確認にとどまっており、さらに多くのデータで検討する必要がある。

5. 主な発表論文等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寒 重之 (KAN, Shigeyuki)

大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座助教

研究者番号 : 20531867

(2) 研究協力者

宮内 哲 (MIYAUCHI, Satoru)

佐々木 真理 (SASAKI, Makoto)

樋口 さとみ (HIGUCHI, Satomi)