

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390292

研究課題名(和文) デフォルトモードネットワークの活動測定による神経変性疾患の発症前診断

研究課題名(英文) Towards preclinical diagnosis of Alzheimer's disease based on the default network activity

研究代表者

福山 秀直 (Fukuyama, Hidenao)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90181297

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：脳のデフォルトモードネットワーク(DMN)の臨床応用を目指し、まずDMNについてネットワークのつながりが部位によって異なる様式で担われていることを示した。また血流に依存しない拡散強調機能的MRI(DfMRI)の信号源についてヒトおよび動物で従来法と異なる観察ができることを確かめた。さらにDfMRIの信号源を確立するため光学的手法であるレーザースペckル血流計と、ヘモグロビン変動を評価する内因性光信号イメージングの同時計測系を開発した。ラットのヒゲ刺激に対する体性感覚野の血流変化とヘモグロビン変動を高時空間分解能で観察した。これらの結果は、脳機能計測の大前提である神経血管連関の解明に有用である。

研究成果の概要(英文)：Default mode network (DMN) is a large-scale brain network with intriguing properties, but observation of the DMN has been heavily relied on blood flow-based methods such as functional MRI. Our project aimed at establishing measurement of "true" neural activity by using diffusion-weighted functional MRI. Human and animal MRI studies were conducted on DMN connectivity as well as DfMRI signal origin. At the same time, we have newly developed a high-performance measurement system that enables simultaneous measurements of cerebral blood flow changes using laser speckle blood flow imaging and hemodynamic responses using optical intrinsic signal imaging. With the system, we found dynamic changes in cerebral blood flow and hemoglobin with high spatial and temporal resolution during whisker stimulation in a rat brain. These results indicate that our system is useful to elucidate a precise mechanism of neurovascular coupling.

研究分野：脳機能イメージング

キーワード：機能的MRI デフォルトモードネットワーク アルツハイマー病 認知症 脳血流 レーザースペckル血流計

1. 研究開始当初の背景

動物が起きている間、脳は常に活動しているが、その中で脳のデフォルト・モード・ネットワーク (Default mode network, DMN) といわれる領域群は「自己意識」に関与した機能を持つこと、またアルツハイマー病で活動が変化するなど、特に病因論的な観点から注目を集めている。しかし従来の研究は、その手法が「神経-血管連関」に大きく依存しており、観察したものがどこまで純粋な神経活動に由来するか明らかでない。また測定にかかる血流応答には、年齢や疾患の影響もあると推測される。したがって DMN の理解を通して脳を理解するには、神経血管連関そのものの解明も必須である。最終的には当該ネットワークの神経基盤を解明することで、脳の定常状態の生理学的な、また病理学的な意義について基本的理解が進み、有用なバイオマーカーの開発が期待できる。最終的な臨床応用には、侵襲性の少ない MRI 装置を用いることが最適であると思われる。

2. 研究の目的

(1) 脳のデフォルトネットワーク Default mode network などの活動性を測定する手法を確立する。このため、機能的 MRI で患者及び健常者のデータを収集するだけでなく、そこから純粋な神経活動を反映する信号を取り出す手法を開発する。ヒトにおいては DMN の性質を調べた研究と、信号アーチファクトを除去する研究、動物 (ラット) においては、我々の開発した拡散強調機能的 MRI 法 (Diffusion-fMRI, DfMRI) を用い、アルツハイマー病とも関連の深いニコチン型アセチルコリン受容体を刺激する実験を行った。

(2) MRI を用いない基礎的検討として、小動物の脳血流を直接的かつ詳細に評価可能なレーザースペックル血流計と、内因性信号の光イメージング技術によりヘモグロビン変動を評価する Optical Intrinsic Signal Imaging (OIS) の同時計測により神経活動と脳血流の関係を明らかにすること。

3. 研究の方法

(1) DMN の結合性の機能的意義の研究：20 名の健常者で機能的 MRI 実験を行った。各ブロックは 24 秒間で、安静 ワーキング メモリ課題 文章を読む という 3 つの条件がランダムに生じた。解析は SPM8 と、独立成分分析 (ICA) を利用した。

DMN の再現性実験：健常成人 8 名に対し、1 週間以上を空けて二度の安静時 fMRI 撮像を行った。3 テスラ全身用装置 (シーメ

ンス社製) を用い、TR=0.5s のサンプリング間隔で 6 分間 x 2 回、全脳の信号を得た。各被験者のデータで、それぞれ独立成分分析 (ICA) を行い、神経活動ではないと考えられる成分 (artifact) の時間情報で説明できる変動を重回帰分析によって取り除いた。Artifact 成分の決定には、時間変化に 0.2Hz 以上の成分が多いこと、脳実質より脳表や脳室などの信号成分が多いこと、あるスライスに限局していることの 3 つを基準とした。各被験者から、後部帯状回の関心領域の信号を抽出し、それとの相関を検出するため重回帰分析を行った。関心のない変量として白質の信号、脳脊髄液 (脳室内) の信号もデザインに取り入れた。ノイズ除去によって、同じ被験者での再現性が改善するかどうかを外像の相関係数で定量した。また、Intraclass correlation を用いて数値としての再現性も評価した。

ラット MRI 実験：Bruker 社製、静磁場強度 7 テスラの小動物用 MRI 装置を用いて、2 年にわたる数回の実験で計 70 匹の Wistar ラットを撮像した。ラットは 9 群に分け、ニコチン 0.35 mg/kg、0.1 mg/kg、ニコチンなしのものを、それぞれ DfMRI, Spin-echo BOLD (SE), Gradient-echo BOLD (GE) の 3 種類で撮像した。すべてに共通して 32mm の撮像範囲、マトリックスサイズ 100 x 100、スライス厚 1.7mm で 6 スライス を撮像した。ニコチンもしくは生理食塩水を撮像開始後 10 分で右の尾静脈に挿入したカテーテルよりワンショット静注した。その後 20 分間、合わせて 30 分間の撮像を行った。解析は SPM8 を用い、3 種類の fMRI を別に解析した。

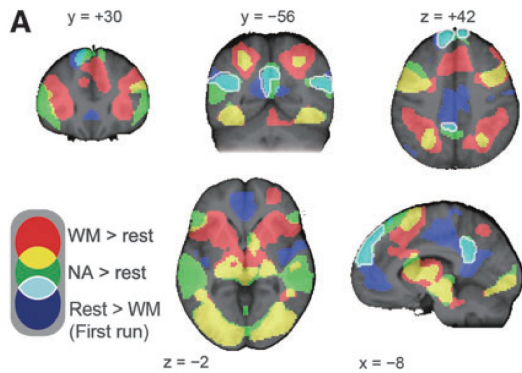
(2) 近赤外光を用いた非接触で脳血流を画像化することのできるレーザースペックル血流計のシステムを構築し、ラット脳における神経活動時の脳血流評価をおこなった。またヘモグロビンの光吸収変化を利用した内因性光信号イメージング (OIS) のシステムを構築し、ラット脳における神経活動時のヘモグロビン変化の評価をおこなった。

さらに、開発したレーザースペックル血流計と OIS を組み合わせ、脳血流とヘモグロビン変化の同時計測をおこなった。計測は 1 台の CCD カメラを用いておこない、画像処理により、血流画像とヘモグロビン変化画像とを分離した。以上を統合して、賦活に伴う脳血流・神経活動の同時記録手法を確立することで、DfMRI の神経活動としての評価の裏付けをおこなった。

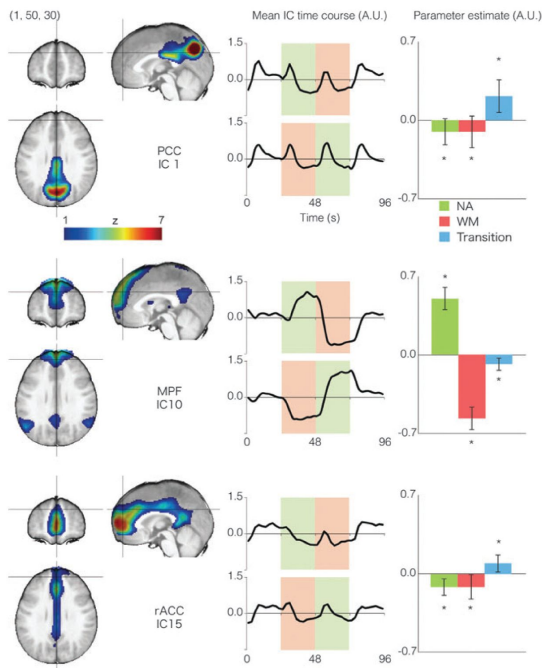
4. 研究成果

(1)

図：空色の部分が core DMN



図：中段が core DMN のコンポーネント。ブロックの移行時に活動が変化せず、ほかの2つのコンポーネントとは異なるニューロン群が動いていると解釈される

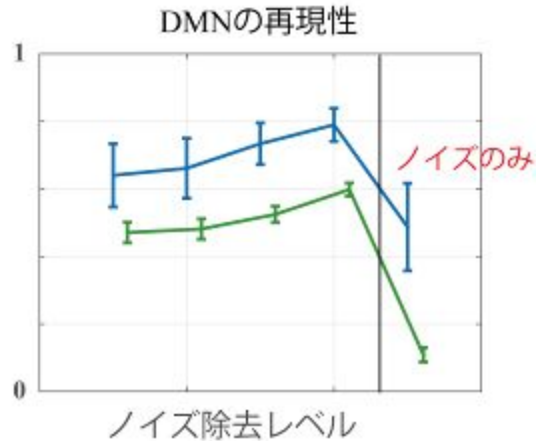


DMN はワーキングメモリ課題で安静時よりも低下する部位として定義したが、その中でも物語文を読むことで活動が上昇する部位は各クラスターの中心部に位置し、これを core DMN と命名した。Core DMN 以外のコンポーネントは、それぞれ後部帯状回とは緊密につながっているが、全く異なるタイムコースを示し、DMN の部位間のつながりはヘテロな性質を持つことがわかった。

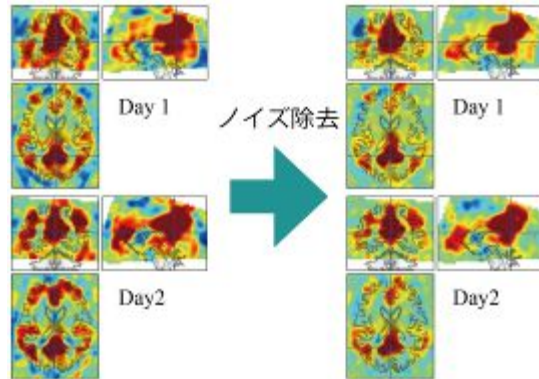
再現性実験：3つのパラメータを使ったノイズ除去によって再現性は明らかに改善し、また個人間での DMN のばらつきも減少した。取り出したノイズ成分だけを使った場合は再現性が低かったが、個人内ではまだ再現

された要素があり、血流のアーチファクト自体の個体差がデータに入り込むことがわかった。臨床的なバイオマーカーとしての活用にはノイズ除去の利用が必須であると思われた。

図：縦軸は画像同士の相関係数。左からノイズ除去なし、36%、56%、78%のコンポーネントを除去したもの。右端は逆に除去されなかった成分を除去したもの。

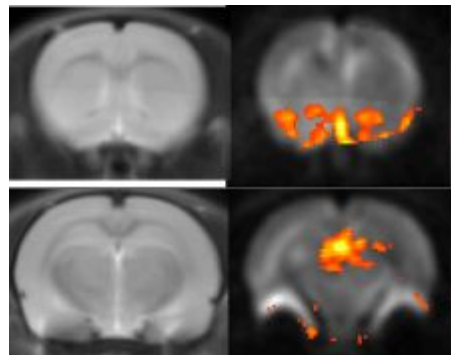


図：同一被験者でも日が変わると変化があるが、ノイズ除去により一緻度が高くなる

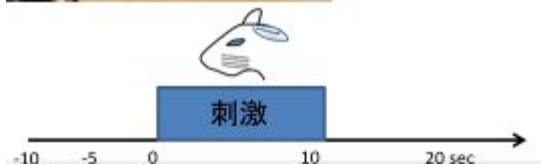


ラット実験：ラットではニコチン静注によって、従来の報告とは大きく異なる結果が得られ、特に腹側線条体に限局した活動がドーパミン系との関連で興味深い。

図：ニコチン静注による、ラット脳の拡散強調信号の変化。水分子の拡散信号の変化は血流変化とは全く異なる分布を示した



(2)我々が開発したレーザースペckル血流計は、近赤外レーザー(785nm)とCCDカメラで構成される。時間分解能は最大で57fps、空間分解能が最小で10 x 10 μmで観察可能。10秒間のラットのヒゲ刺激に対し、対側の体性感覚野表面の血流は、刺激開始から5秒後に安静時に対して約3%の増加を示し、刺激終了後10秒で安静時の値に戻っていくことを確認した。



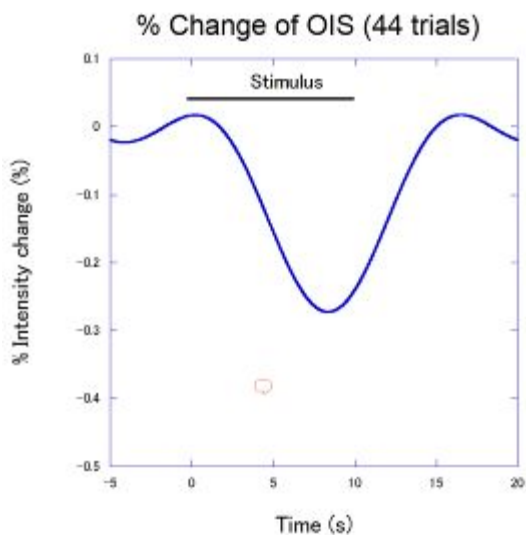
OIS は、517 - 542nm (緑) のバンドパスフィルタを取り付けたハロゲン光源と CCD カメラで構成される。CCD カメラは、レーザースペckルのものと同じである。

10秒間のラットのヒゲ刺激に対し、対側の体性感覚野表面のヘモグロビン変化は、刺激開始から反射光の強度は減少し、刺激終了時に約0.3%の減少を認めた。その後、安静時の値に戻っていくことを確認した。

次にスペckルとOISの同時計測をおこなった。近赤外光と緑の可視光を同時に照射し、1台のCCDカメラで観察した。得られた画像に対し、ベースライン成分を引くことでスペckル成分を、平均処理でノイズ除去を行うことによりOIS成分をそれぞれ抽出することができた。これにより、同じ関心領域における血流変化とヘモグロビン変化を同時に評価できることが示された。以上の結果から、レーザースペckル血流計とOISによる、血流・ヘモグロビン変化の同時イメージングが可能であることを示した。これはニューロバスキュラーカップリングの解明やDfMRIの神経活動としての

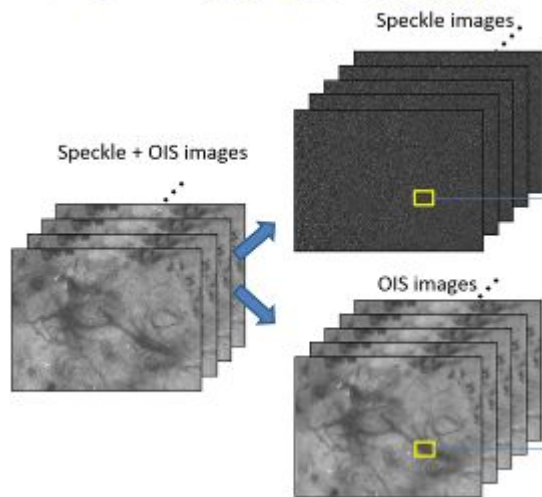
評価の裏付けとして有用となるであろう。
図：横棒で示された10秒間の刺激に対して内因性の信号変化が検出された

Optical intrinsic signal imaging (OISI)



Band pass filter (bandwidth is 0.001-0.1Hz) was applied to the data for physiological artifact.

レーザースペckルとOISの同時計測



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13件)

Aso T and Fukuyama H., Functional Heterogeneity in the Default Mode Network Edges., *Brain Connectivity.*, May 2015, 5(4): 203-213. (査読有り) doi:10.1089/brain.2014.0256.

Suzuki T, Oishi N, Fukuyama H. Simultaneous Measurement of Local Brain Temperature and Cerebral Blood Flow

Change in Rats for Quantitative Functional Brain Imaging. Proceedings of the 2014 IEEE International Conference on Complex Medical Engineering. 1:214-219,2014 (査読有り)

Isaias I, Spiegel J, Brumberg J, Cosgrove KP, Marotta G, Oishi N, Higuchi T, Kusters S, Schiller M, Dillmann U, Van Dyck C, Buck A, Herrmann K, Schloegl S, Volkmann J, Lassmann M, Fassbender K, Lorenz R, Samnick S. Nicotinic acetylcholine receptor density in cognitively intact subjects at an early stage of Parkinson's disease. *Front. Aging Neurosci.* 6:160,2014 (査読有り) doi: 10.3389/fnagi.2014.00160

Inano R, Oishi N, Kunieda T, Arakawa Y, Yamao Y, Shibata S, Kikuchi T, Fukuyama H, Miyamoto S. Voxel-based clustered imaging by multiparameter diffusion tensor images for glioma grading. *NeuroImage: Clinical* 5:396-407,2014. (査読有り) doi: 10.1016/j.nicl.2014.08.001

Hattori Y, Okamoto Y, Maki T, Yamamoto Y, Oishi N, Yamahara K, Nagatsuka K, Takahashi R, Kalaria RN, Fukuyama H, Kinoshita M, Ihara M. Silent Information Regulator 2 Homolog 1 Counters Cerebral Hypoperfusion Injury by Deacetylating Endothelial Nitric Oxide Synthase. *Stroke* 45:3403-3411,2014. (査読有り) doi: 10.1161/STROKEAHA.114.006265

Hiyoshi-Taniguchi K, Oishi N, Namiki C, Miyata J, Murai T, Cichocki A, Fukuyama H. The Uncinate Fasciculus as a Predictor of Conversion from aMCI to Alzheimer Disease. *J Neuroimaging*, in press. doi: 10.1111/jon.12196 (査読有り)

Ashizuka A, Mima T, Sawamoto N, Aso T, Oishi N, Sugihara G, Kawada R, Takahashi H, Murai T, Fukuyama H. Functional relevance of the precuneus in verbal politeness. *Brain Research.* 91:48-56,2015. (査読有り) doi:10.1016/j.neures.2014.10.009

Iseki K, Fukuyama H, Oishi N, Tomimoto H, Otsuka Y, Nankaku M, Benninger D, Hallett M, Hanakawa T. Freezing of gait and white matter changes: a tract-based spatial statistics study. *J Clin Mov Disord*, in press. (査読有り) doi:10.1186/s40734-014-0011-2

大石直也、福山秀直 . アルツハイマー型認知症の評価 - C-11 PiB PET などによるアミロイドイメージング . *INNERVISION* 29(5):100-102,2014 (査読なし)

Aso, T., Urayama, S., Fukuyama, H., and Le Bihan, D., Comparison of diffusion-weighted fMRI and BOLD fMRI responses in a verbal working memory task, *Neuroimage*, 67, p. 25-32, 2013. (査読有り) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23147237>

Le Bihan, D., Joly, O., Aso, T., Uhrig, L., Poupon, C., Tani, N., Iwamuro, H., Urayama, S.I., and Jarraya, B., Brain tissue water comes in two pools: evidence from diffusion and R2' measurements with USPIOs in non human primates, *Neuroimage*, 62(1), p.9-16, 2012 (査読有り) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22584234>

[学会発表] (計 6 件)

Assessment of the Reproducibility of BOLD signal-based Hemodynamic MRI., Aso T., Fukuyama H., The 23rd Annual meeting for International Society for Magnetic Resonance in Medicine., 2015, Toronto

鈴木崇士、大石直也、福山秀直、ラット脳温度・血流イメージングによる神経 脳循環代謝調節機構の評価、第26回日本脳循環代謝学会総会、岡山、2014.11.21

大石直也、並木千尋、福山秀直 . MCI から AD への移行予測向上を目指して - 灰白質・白質構造変化を用いた検討 - 第33回日本認知症学会学術集会、2014.11.29-12.1、横浜

大石直也、吉井崇喜、福山秀直 .
ラット脳の Voxel-based Morphometry
における Non-local Means ノイズ除去
フィルタの効果 . 第 37 回日本神経科学
大会、2014.9.11-13、横浜

Oishi N . Structural MRI for early
diagnosis of dementia . International
Conference on Complex Medical
Engineering 2014, 2014.6.26-29,
Taipei, Taiwan

大石直也、中奥由里子、長谷佳樹、猪
原匡史、福山秀直 . 自己組織化マップ
と局所脳血流に基づく脳梗塞の層別化
と認知機能の関連 . 第 55 回日本神経学
会総会、2014.5.21-24、博多

麻生俊彦、浦山慎一、福山秀直
機能的 MRI による皮質ネットワークの
実在性の検証、第 16 回日本ヒト脳機能
マッピング学会、2014.3.6.-3.7

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://hbrc.kuhp.kyoto-u.ac.jp/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

福山 秀直 (Fukuyama, Hidenao)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：9 0 1 8 1 2 9 7

(2)研究分担者

浦山 慎一 (Urayama, Shin-ichi)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：1 0 2 7 0 7 2 9

(3)研究分担者

麻生 俊彦 (Aso, Toshihiko)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：5 0 3 9 7 5 4 3

(4) 研究分担者

松橋 眞生 (Matsuhashi, Masao)
京都大学・学内共同利用施設等・准教授
研究者番号：4 0 4 5 6 8 8 5

(5) 研究分担者

大石 直也 (Oishi, Naoya)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：4 0 5 2 6 8 7 8

(6) 研究分担者

鈴木 崇士 (Suzuki, Takashi)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：1 0 5 7 2 2 2 4