

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 29 日現在

機関番号：34416

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22500376

研究課題名（和文）

ドップラ光コヒーレンス断層法による脳皮質深部微小循環調節機構の解析

研究課題名（英文）

Analysis of deep microcirculation in cerebral cortex by Doppler optical coherence tomography

研究代表者

関 淳二（SEKI JUNJI）

関西大学・先端科学技術推進機構・非常勤研究員

研究者番号：20163082

研究成果の概要（和文）：OCT 信号に含まれる血流からのドップラ信号を微小血管のマーカーとすることによって、ラット大脳皮質深部の微小血管を可視化した。ドップラ OCT 法によって得られた血流の 3 次元空間分布は、深さ 1.5mm に至る皮質の微小血管、特に穿通枝微小血管の走行を明瞭に示した。同時に計測した血流速度の拍動変化から、細動脈と細静脈を分離できた。更に、下肢電気刺激に伴い、1 次体性感覚野の下肢領域における微小血管の血流速度は 10% 程度の増大を見せたのに対して、他領域の微小血管で変化は見られなかった。皮質の深さ方向での微小血管の構築や血流の情報は、コラム間のみならず層間の血流調節機構の新しい理解につながるだろう。

研究成果の概要（英文）：In order to visualize microvessels deeply embedded in the cortical tissue of brain, the Doppler frequency shift caused by blood flow is used as a marker to find out blood vessels in OCT signals. The 3-dimensional distribution of blood flow velocity obtained by Doppler OCT technique delineated penetrating microvessels as well as microvessels running deep in the cerebral cortex up to 1.5 mm depth. Penetrating arterioles were discriminated from venules based on the flow direction and pulsatility of blood flow. Electrical stimulus of hindpaw induced significant velocity increase in the penetrating arterioles (about 13% of the control value) and pial arterioles (10%) in the hindpaw area of primary somatosensory (S1) cortex, while the flow velocity did not change significantly in microvessels in the other area of S1 cortex. The information of structure and blood flow of microvessels in the direction of depth can help us to understand blood flow regulation among layers as well as functional columns of cerebral cortex.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：生体工学、微小循環

科研費の分科・細目：脳神経科学・融合脳計測科学

キーワード：ドップラ OCT、神経循環カップリング、穿通枝血管、機能的カラム、層構造、局所循環調節、1 次体性感覚野、周波数領域 OCT

1. 研究開始当初の背景

現在脳機能イメージングに広く用いられている機能的MRI及び近赤外光トポグラフィ装置は、脳活動に伴う局所血流量や局所血液量の増大、もしくはそれらによって変化する血液中の酸化もしくは還元ヘモグロビン量が増加する領域を検出し、これを脳活動部位としている。従ってこれらの手法は、神経活動と局所脳血流量とが強く相関すること（神経-循環カップリング）を暗黙の前提としている。

一方大脳皮質は、直径 0.5-1 mm 程度のコラム構造が表面にモザイク状に配列するとともに、厚さ数 mm の範囲に深さ方向に6つの層構造が存在している。このうちコラム構造は神経活動の機能単位と考えられているが、層ごとにも神経細胞の種類や構築が異なり機能的に違う役割を果たしている。皮質内部の微小血管の空間分布は、異なるコラムのみならず、異なる層に対して血流調節がなされていることを推測させる。

神経-循環カップリングにおいて、このようなサブミリメートルスケールでの3次元的な血流調節機構が働いているとすれば非常に興味深い。これまで我々は、レーザドップラ法を用いてラットの脳軟膜微小血管における血流を計測することにより、脳活動や頭蓋内圧による微小血管内の血流速度変化を計測してきた。更に、光干渉断層法（OCT）やドップラ OCT 法によって脳皮質の深さ方向の構造や軟膜微小血管血流の脳活動に伴う変化を解析し、脳活動時には反応性充血に伴って脳表の隆起や拍動振幅が急激に大きくなることを明らかにしてきた。

OCT法は生体組織に対して10ミクロン程度の空間分解能で数 mm の深さまで観察を可能とする手法である。しかし画像のコントラストは、組織の光反射率の違いを反映するのみであるため、組織に埋没した組織深部の微小血管を他の組織から区別することは難しい。これに対して、微小血管内の血流からの反射光はドップラ効果による周波数偏移を伴っており、これを血管のマーカースとすれば OCT 構造画像では検出困難な、組織深部の微小血管を検出することが可能になると考えられる。

2. 研究の目的

上記考察から、神経活動と脳微小循環とのカップリングはサブミリメートルスケールで、皮質の水平方向のみならず垂直方向にも及ぶと考えられる。これを解析するには、脳皮質の局所領域を灌流する微小血管の構築と血流量を深さ数 mm 迄、数ミクロン程度の分解能で計測する必要がある。

光コヒーレンス断層法（OCT）は、観察深度・空間分解能の条件を満たしているが、単

に構造画像のみでは周囲組織に埋め込まれている皮質深部の微小血管を可視化することは困難である。本研究では、まずドップラ OCT 法を用いてドップラ偏移を検出することにより、血流からの信号を血管のマーカースとして皮質深部の微小血管を描出することを旨とする。

更に、本手法は微小血管の可視化と同時に、OCT 構造画像と同じ観察深度・空間分解能で微小血管内血流速度を定量化することができる。感覚刺激を用いて体性感覚野の皮質局所の神経活動を活性化し、これに伴う皮質深部微小血管における血流速度変化を計測することによって皮質内部での神経-循環カップリングについて数ミクロンの空間分解能で3次元解析を旨とする。

3. 研究の方法

(1)OCT 信号における血流によるドップラ周波数偏移を微小血管のマーカースとすることによって、脳皮質深部の微小血管を3次元的に可視化する。

(2)ドップラ周波数から赤血球速度を求め、大脳皮質における深さ数 mm までの微小血管において数ミクロンの空間分解能で血管内の血流速度分布を定量的に計測する。

(3)ラットを用いた動物実験によりドップラ OCT システムの計測性能を実証する。特に脳表から皮質内へ貫入する穿通枝細動脈、これから皮質の各層へと枝別れする末端細動脈の3次元走行及び血流動態を計測解析する。

(4)同時計測する大腿動脈圧を時間基準に血流の拍動特性を定量化し、血管の動静脈の弁別を可能にする。

(5)ラットの下肢感覚神経を電気刺激することにより、皮質1次体性感覚野（S1）の神経活動を惹起する。神経活動に伴う皮質深部微小血管における血流速度変化を精密に計測し、神経活動領域と他領域での血流変化を比較する。

(6)以上を総合して、皮質深部微小血管の局所神経活動に伴う循環調節機構を明らかにし、3次元かつ微小スケールでの神経-循環カップリングの検証を試みる。

(7)周波数掃引レーザ光源を用いて周波数領域でのスキャンを行うとともに、ガルバノメータスキャナを用いて2次元的に高速走査することによりデータ取得の高速化を図る。

4. 研究成果

(1)ラットを対象にした *in vivo* 実験によって、皮質の深さ 2mm 程度までの深部微小血管、特に穿通枝細動脈、細静脈を有効に検出できることを確かめた。血流速度を3次元表示することにより、脳表の軟膜細動脈から穿

通枝細動脈への分岐部の構造、穿通枝微小血管の皮質内分布が明瞭にとらえることができる。また血流速度の方向と合わせて、同時計測した大腿動脈圧を時間基準にして、微小血管内血流速度の位相変化を計測することにより、血流の拍動性を定量化し、穿通枝微小血管の動脈、静脈の分別を可能にした(図1参照)。

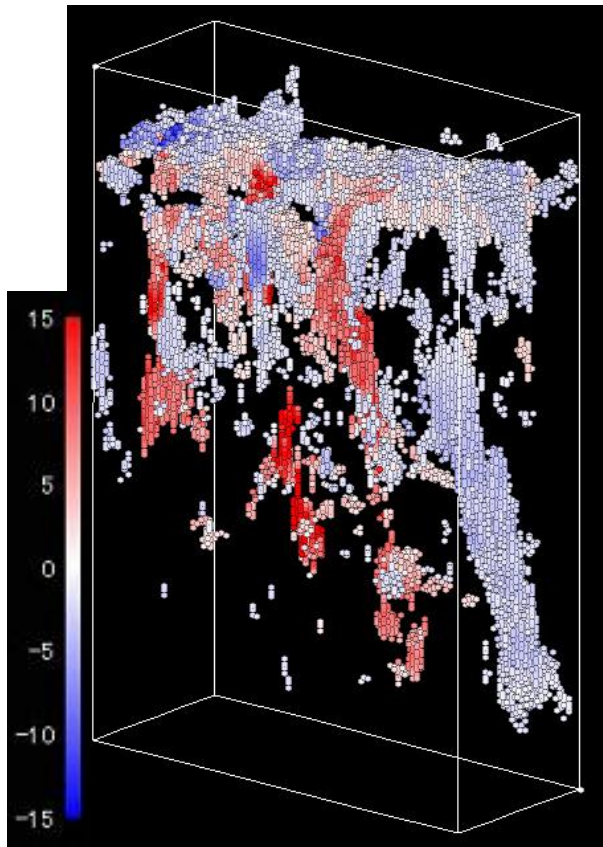


図1. ラット大脳皮質微小血管の血流速度分布の3次元表示。
ラットの脳表 $1 \times 0.3 \text{ mm}^2$ 、深さ 1.5 mm までの領域の微小血管の3次元走行を示す。上下に走る赤い像は穿通枝細動脈、青は穿通枝細静脈。上面の脳表に沿って走るのは軟膜微小血管。赤は下向き速度、青は上向き速度、色の濃淡は血流速度の大小を表す(左端カラーバー、単位は mm/s)。

(2)ラット下肢を電気刺激した際の皮質内微小血管における血流速度を計測した結果、刺激と反対側の脳皮質1次体性感覚野(S1)の下肢領域を走行する血管では、軟膜細動脈、穿通枝細動脈、細静脈のいずれも10%程度の血流速度の増大を示した。これは統計的に有意な増大であったのに対して、S1の他領域の微小血管では軟膜細動脈、穿通枝細動脈、細静脈のいずれも有意な血流速度変化を示さ

なかった(図2参照)。

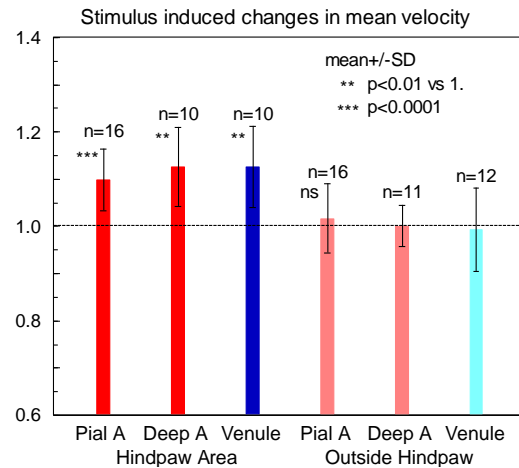


図2. 下肢電気刺激に伴う皮質微小血管内血流速度の変化: 下肢領域と他領域との比較。

値は、平均値 \pm 標準偏差(SD)を示す。
, *は、刺激前後の血流速度変化の統計的有意さの確率を示す。PiaA: 軟膜細動脈, DeepA: 穿通枝細動脈

(3)時間領域 OCT に加え、周波数掃引光源を用いた周波数領域 OCT 法を導入するとともに、ガルバノスキャナーを用いた高速2次元走査を行うことによって、OCT による画像取得を大幅に高速化することを可能にした。

これをヒトの皮膚に応用し、OCT 信号強度の皮下深度に対する減衰係数を求めたところ、減衰係数と血糖値との間に負の相関があることを確かめることができた。この結果は、本手法を用いて血糖値を非侵襲的に計測可能であることを示している。

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4件)

1. Infrared thermal imaging of rat somatosensory cortex with whisker stimulation, Suzuki T., Ooi Y., Seki J., J. Appl. Physiol. **112** (7), 1215-22, 2012, 査読有, DOI: 10.1152/jappphysiol.00867.2011.
2. Effects of autonomic nervous system on functional neuroimaging: analyses based on the vector autoregressive model, Seiyama A., Sasaki Y., Takatsuki A., Seki J., Adv. Exp. Med. Biol. **737**, 77-82, 2012, 査読有, DOI: 10.1007/978-1-4614-1566-4_12.
3. Temperature imaging by infrared measurement in rat somatosensory

cortex with whisker stimulation, Suzuki T., Seki J., Ooi Y., Proc. 9th World Congress for Microcirculation, Medimond, 75-79, 2011, 査読無.

4. Visualization of microvessels deeply embedded in cerebral cortex of rats by Doppler optical coherence tomography, Seki J., Suzuki T., Ooi Y., Proc. 9th World Congress for Microcirculation, Medimond, 59-63, 2011, 査読無.

[学会発表] (計 10 件)

1. マイクロチャネル内流れ中の血小板模擬粒子の運動、田中慎之介、関淳二、板野智昭、関眞佐子、第 36 回日本バイオレオロジー学会、福岡、2013.6.8.
2. Brain temperature and brain energy changes during tasks and light anesthesia: estimation with MRS. Yoshioka Y., Oikawa H., Kanbara Y., Matsumura Y., Inoue T., Shinohe Y., Joh S., Matsuda T., Nabetani A., Seki J., 国際磁気共鳴医学会 ISMRM, Salt Lake City, USA, 2013.4.25.
3. Fundamental researches on measurement of the blood glucose concentration using the polarimetric technique. Seiyama A., Suekane A., Miura T., Seki J., International Society of Oxygen Transport to Tissue, Bruges, Belgium, 2012.8.21.
4. ドップラ OCT 法によるラット脳微小循環の可視化、関淳二、鈴木崇士、大井康浩、第 34 回日本バイオレオロジー学会、吹田、2011.6.4.
5. Doppler optical coherence tomography revealed the structure and function of penetrating microvessels of rat cerebral cortex in vivo, 関淳二、鈴木崇士、大井康浩、第 36 回日本微小循環学会、名古屋、2011.2.12.
6. Temperature imaging of neural activity in rat brain evoked by whisker stimulation, 鈴木崇士、大井康浩、関淳二、第 36 回日本微小循環学会、名古屋、2011.2.12
7. Temperature imaging by infrared measurement in rat somatosensory

cortex with whisker stimulation, Suzuki T., Seki J., Ooi Y., 9th World Congress for Microcirculation, Paris, France, 2010.9.26.

8. Visualization of microvessels deeply embedded in cerebral cortex of rats by Doppler optical coherence tomography, Seki J., Suzuki T., Ooi Y., 9th World Congress for Microcirculation, Paris, France, 2010.9.28
9. Visualization of microvessels deeply embedded in the rat cerebral cortex by Doppler OCT technique, Seki J., Suzuki T., Ooi Y., 第 49 回日本生体医工学会、大阪国際交流センター、大阪、2010.6.27
10. Visualization of deep microvessels in cerebral cortex by optical coherence tomography, Seki J., Suzuki T., Ooi Y., 2010 KSBB Spring Meeting and International Symposium, Kyungwon University, Seongnam, Korea, 2010.4.16

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関 淳二 (SEKI JUNJI)
関西大学・先端科学技術推進機構・非常勤
研究員
研究者番号：20163082

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

駒井 豊 (KOMAI YUTAKA)
大阪大学・免疫学フロンティア研究センタ
ー・准教授
研究者番号：40443486