

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461752

研究課題名(和文) マルチモダリティ脳画像を用いたヒト・マウスをつなぐトランスレータブル脳指標の開発

研究課題名(英文) Development of neuroimaging-based, translatable biomarkers applicable to both human and mouse

研究代表者

八幡 憲明 (Yahata, Noriaki)

国立研究開発法人放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・研究員

研究者番号：70409150

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、脳形態や脳活動などに関連するマルチモダリティの磁気共鳴画像(MRI)計測をマウスに対して縦断的に実施し、ヒトMRIデータとの相同性・臨床指標との関連性を精査することで、ヒト・マウス共通に評価可能な脳画像指標の確立を目指した。脳構造画像に対するvoxel-based morphometry、安静時脳機能画像に対する機能的結合解析、ならびにヒトとの比較を通して、辺縁系～基底核の脳構造・脳機能結合が、ヒト・マウスに共通する自閉症のバイオマーカーとなる可能性が示唆された。今後、自閉症に特徴的な行動のフェノタイプとの対応関係等を精査しながら、得られた指標の特性を検討することが有意義と思われる。

研究成果の概要(英文)：We aimed to establish a neuroimaging-based biomarker that allows quantitative characterization of autism in the mouse-to-human translational research. Specifically, by using magnetic resonance imaging, we conducted longitudinal measurements of mouse brains (C57BL/6J) and thereby explored differential characteristics of the structure and spontaneous activity between autism model and wild-type mice. Conducting voxel-based morphometry on the structural images, inter-regional functional connectivity analysis on the resting-state functional images, as well as comparison of these findings with independent human studies, we have identified that gray matter volume and functional connectivity involving the limbic system through basal ganglia are candidate biomarkers of autism that are common to both human and mouse. Future investigation on their relationship with autism-specific behavioral phenotypes (such as socio-communicative deficits) is required to further clarify the clinical implication.

研究分野：精神神経科学

キーワード：脳・神経 精神疾患 安静時脳機能画像 自発的脳活動 機能的結合 自閉症 疾患モデル動物 機械学習

## 1. 研究開始当初の背景

自閉症は、社会性の障害を主徴のひとつとする発達障害であり、その頻度は1万人あたり20人(自閉症スペクトラム障害まで含めると60人)と報告されている。社会的負担(burden)の大きい疾患であり、その病態解明と有効な治療法の確立は、現代精神医学の最重要課題のひとつといえる。近年、その発症に関わるものとして、シナプス形成に関わる分子や、愛着・信頼形成等の社会性行動に影響を与える分子などが注目されるようになり、特に後者については、例えばオキシトシンを用いて社会機能の改善を目指す臨床試験が行われる段階に達している。また、MRI等の画像検査の進展により、システムレベルでの病態理解も進み、健常者と比較した場合に、疾患特異的な脳構造上の所見や認知課題遂行時のネットワーク活動異常も報告されている。このように自閉症についての知見は、分子・細胞レベルからシステムレベルに至るまで、各階層で数多く蓄積されてきている。しかし現状では、階層間の知見を架橋し、病態の包括的な理解を促すような指標、すなわち臨床研究と基礎研究の知見を結ぶような指標は明確に確立されていない。例えばモデルマウス研究において、モデルの妥当性を示す行動バッテリーは存在するが、ヒトとの間で相互比較可能な脳画像や生理指標は見出されておらず、当該分野の研究を推進させる上でボトルネックの一つとなっている。

以上のような経緯を踏まえると、脳形態や脳活動などに関するマルチモダリティのMRI計測を元に、マウスとヒトをつなぐトランスレータブル脳指標を探索することは、自閉症の病態解明研究において有意義と考えられる。研究開始当初において、このような試みは国内外ともに極めて限定的であった。ヒト研究で盛んに行われている voxel-based morphometry の手法にならい、モデルマウスと野生型マウスの脳形態を少数個体同士、特定の週齢で比較したものが僅かに存在した程度であった(例 Ellegood et al. 2012)。また、自閉症患者の脳形態研究では、頭周・頭蓋内容積・局所脳体積において定型発達者とは異なる、時期特異的な発達パターンが報告されていたが(Courchesne et al. Neuron 2007)、これをマウスの脳画像研究で検証したものはなかった。その他、ヒト・マウス共通に評価出来る中間表現型として、fMRI や MR スペクトロスコピーを用いた試みも存在していなかった。

## 2. 研究の目的

本研究は、脳形態や脳活動などに関連するマルチモダリティの磁気共鳴画像(MRI)計測をマウスに対して縦断的に実施し、ヒトMRIデータとの相同性・臨床指標との関連性を精査することで、ヒト・マウス共通に評価可能な脳画像指標の確立を目指した。ヒトと動物をつなぐトランスレータブル脳指標を

開発することで、「ヒト精神疾患の脳画像研究で見られた所見の分子基盤をモデル動物で検討する」「モデル動物で見られた所見がヒト精神疾患で実際に見られるかを検証する」などといった研究上の課題が、今後定量的に評価可能となることを目指した。

## 3. 研究の方法

Bruker社製・動物用7テスラMRI装置を用いて、マウス(C57BL/6J)に対するMRI撮像を行った。自閉症モデルマウス(以下TG群)と野生型マウス(以下WT群)に対するMRI計測を、各個体の幼年期(3~4週齢)から成熟期(7~8週齢)に至るまで縦断的に実施した。MRI撮像のモダリティとしては以下の3種類を選択し、収集された各データに対する下処理~統計解析まで、必要な方法論を開発しながら検討を進めた:

### (1) 脳構造画像

マウス頭部専用の過冷却高感度RFコイルを使用しながら高空間分解能の画像データを収集した。また撮像期間の終了後は、摘出脳に対するex vivo撮像を行い、超高精度・高信号対雑音比の脳構造画像を得た。自己開発のプログラム、ないしFSL(FMRIB, Oxford, UK)等の画像解析ソフトウェアパッケージを使用しながら、信号ムラ補正、標準脳座標系への非線形変換、各組織クラス(灰白質・白質・脳脊髄液)への分画等を行った後、voxel-based morphometryによる2群間の体積比較を行った。

### (2) 安静時脳機能画像

麻酔下にあるマウス脳の自発的脳活動を10分間functional MRIにて計測した。撮像プロトコルの設定にあたっては、AMED脳科学研究戦略推進プログラムなどを通して定められた『ヒト用標準プロトコル』を参考にした。取得後のローデータに対しては、FSLないしStatistical Parametric Mapping (SPM; UCL, UK) Software等を用いながらスライスタイミング補正、体動補正、標準脳座標系への非線形変換、平滑化等の下処理を行った。その後、自己開発したプログラムを用いて脳領域間の機能的結合を求め、2群間の比較を行った。

### (3) MR スペクトロスコピー計測

帯状回周辺に関心領域を設定し、計測を行った。標準的解析ソフトウェアを用いながら、主要代謝物に対する計測を行った。

### (4) ヒトデータ解析

また、ヒトとマウスで相互比較可能な脳指標を見出すことを目的として、文部科学省『包括型脳科学研究支援ネットワーク』等を通して収集されたヒトデータ(MRI画像ならびに臨床情報)の解析を行い、自閉症に特異的な脳情報の抽出を行った。

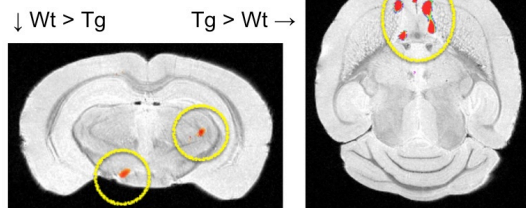
#### 4. 研究成果

##### (1) 脳構造画像に対する評価

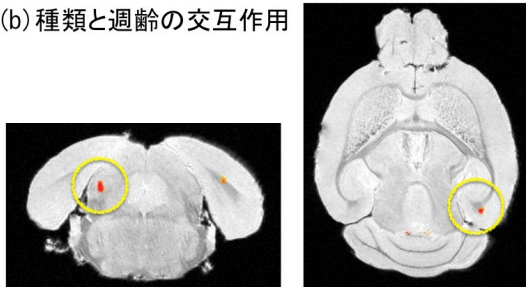
脳構造の評価にあたっては、まず研究期間前半に撮像されたマウスの高解像度 MR 構造画像 (RARE シーケンス 3D 画像) に対して、灰白質・白質・脳脊髄液の各コンパートメントに分画することで、組織別の分布確率マップ (tissue probability map) を作成した。これを用いて、Diffeomorphic Anatomical Registration Through Exponentiated Lie Algebra (DARTel; Ashburner 2007) 法による voxel-based morphometry 解析を行った。TG/WT 群に対する「種別×週齢」の 2 要因因子分析を行ったところ、種別に対する有意な主効果が基底核などの部位で、種別と週齢の有意な交互作用が海馬周辺部位に認められた ( $p < 0.001$ , uncorrected)。すなわち、疾患特異的な脳構造変化のうち、発達過程に依存するもの、依存しないものの双方を個別に見出すことができた。

##### 2 要因 (種別 × 週齢) 因子分析の結果

###### (a) 種別の主効果



###### (b) 種類と週齢の交互作用

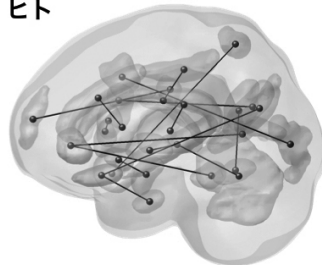


( $p < 0.001$ , uncorrected)

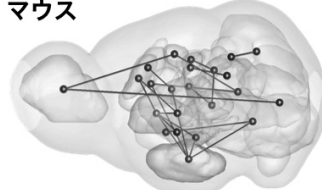
##### (2) 安静時脳機能画像に対する評価

マウス脳を 60 個の小領域に分割定義した解剖学的アトラスを用いて各脳部位の平均 BOLD 時系列データを抽出し、脳部位間の時間的相関関係 (機能的結合) を計算した。これを全ての脳領域のペアについて求めることで

ヒト



マウス



得た相関行列を用いて、TG/WT 群の比較を行った。結果として、扁桃体・被核・視床などの部位を端点に含む機能的結合 (全結合の約 0.1%) について、2 群間の有意差を認めた。

さらに、これらの解析で得られた結果と、ヒトから得られる知見との間で、相同性に関する検討を行った。文部科学省『包括型脳科学研究支援ネットワーク』などを通して収集された成人ヒト MRI 脳構造画像、安静時脳機能画像をもとに、自閉スペクトラム症群 (ASD 群)・定型発達群 (TD 群) を高精度に判別する機械学習アルゴリズムを開発した。このアルゴリズムによって抽出された ASD 特異的な機能的結合は、全結合の約 0.2% を占め、上記データだけでなく、独立コホートデータにおいても ASD 群/TD 群を高精度に判別することができた。また、ASD 当事者の確定診断に用いられる臨床評価尺度 (自閉症診断観察検査; ADOS) のうち、当事者のコミュニケーション障害の程度を表す評価項目 (ADOS-A) を、統計的に有意な精度で推定することができた。これら ASD 特異的な脳機能的結合には、扁桃体や基底核の構造物を端点に持つものが多数含まれていることが分かり、(Yahata et al. Nature Communications 2016)、当該研究でマウス脳から得られた所見との相同性が示唆された。

##### (3) MR スペクトロスコピーについて

帯状回周辺を関心領域に設定したスペクトロスコピー計測から主要代謝物の計測と 2 群比較を試みたが、安定したスペクトルを得るのに要する加算回数が多く、縦断的データ収集を行っている個体への負担が大きかったため、計測と評価を見送った。

〔結論〕本研究の検討を通して、辺縁系～基底核の脳構造・脳機能結合がヒトとマウスに共通する自閉症のバイオマーカーとなる可能性が示唆された。今後、自閉症に特徴的な行動のフェノタイプとの対応関係等を精査しつつ、得られたトランスレータブル指標の特性を検討することが有意義と考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 7 件)

① [Yahata, N.](#), Morimoto, J., Hashimoto, R., Lisi, G., Shibata, K., Kawakubo, Y., Kuwabara, H., Kuroda, M., Yamada, T., Megumi, F., Imamizu, H., Nández, J.E., Takahashi, H., Okamoto, Y., [Kasai, K.](#), Kato, N., Sasaki, Y., Watanabe, T., Kawato M. A Small Number of Abnormal Brain Connections Predicts Adult Autism Spectrum Disorder. Nat. Commun., 7:11254 (2016). DOI:10.1038/ncomms11254 査読有。

② Aoki, Y., Watanabe, T., Abe, O., Kuwabara, H., [Yahata, N.](#), Takano, Y., Iwashiro, N., Natsubori, T., Takao, H.,

Kawakubo, Y., Kasai, K. & Yamasue, H. Oxytocin's neurochemical effects in the medial prefrontal cortex underlie recovery of task-specific brain activity in autism: a randomized controlled trial. *Mol Psychiatry*. 20(4):447-453 (2015). DOI:10.1038/mp.2014.74 査読有.

③森本淳, 八幡憲明, 橋本龍一郎, 川人光男. rs-fcMRI を用いた精神疾患の判別. *Clinical Neuroscience*. 33:1192-1194 (2015). 査読無.

④森本淳, 八幡憲明, 橋本龍一郎, 川人光男. 脳活動ビッグデータ解析による病態理解に向けた疾患判別. *分子精神医学*. 15(1) (2015). 査読無.

⑤Aoki, Y., Yahata, N., Watanabe, T., Takano, Y., Kawakubo, Y., Kuwabara, H., Iwashiro, N., Natsubori, T., Inoue, H., Suga, M., Takao, H., Sasaki, H., Gono, W., Kunimatsu, A., Kasai, K. & Yamasue, H. Oxytocin improves behavioural and neural deficits in inferring others' social emotions in autism. *Brain*. 137(11), 3073-86 (2014). DOI:10.1093/brain/awu231 査読有.

⑥Watanabe, T., Abe, O., Kuwabara, H., Yahata, N., Takano, Y., Iwashiro, N., Natsubori, T., Aoki, Y., Takao, H., Kawakubo, Y., Kamio, Y., Kato, N., Miyashita, Y., Kasai, K. & Yamasue, H. Mitigation of sociocommunicational deficits of autism through oxytocin-induced recovery of medial prefrontal activity: a randomized trial. *JAMA Psychiatry*. 71(2), 166-175 (2014). DOI:10.1001/jamapsychiatry.2013.3181 査読有.

⑦八幡憲明. 脳活動計測による精神疾患の診断と治療の展望. *Medical Science Digest* 40(5), 20-22 (2014). 査読無.

[学会発表] (計7件)

①八幡憲明. 安静時脳機能結合を通じた自閉スペクトラム症の神経基盤理解と臨床応用の可能性. 第112回日本精神神経学会学術総会. 2016年6月2日. 幕張メッセ(千葉).

②八幡憲明. 安静時脳機能結合に基づく精神疾患の理解と今後の展望. 第43回日本磁気共鳴医学会大会. 2015年9月10日. 東京ドームホテル(東京).

③八幡憲明. 安静時脳機能結合に基づく精神疾患の理解と今後の展望. 第18回日本薬物脳波学会学術集会(招待講演). 2015年6

月26日. コガノイベイホテル(和歌山).

④Yahata, N. et al. A machine-learning-based study on the neural substrates of autism spectrum disorder using resting-state fMRI. 第36回日本生物学的精神医学会. 2014年9月30日. 奈良県文化会館(奈良).

⑤Yahata, N. et al. A machine-learning-based investigation on the neural substrates of autism spectrum disorder using resting-state fMRI. 第37回日本神経科学大会(Neuro2014). 2014年9月12日. パシフィコ横浜(横浜).

⑥Yahata, N. et al. A machine-learning-based biomarker for autism spectrum disorder using resting-state functional MRI. 11th World Congress of Biological Psychiatry. 2013年6月24日. 国立京都国際会館(京都).

⑦Yahata, N. et al. A machine-learning-based biomarker for autism spectrum disorder using resting-state functional MRI. 第36回日本神経科学大会(Neuro2013). 2013年6月23日. 国立京都国際会館(京都).

[その他]

ホームページ等

報道発表『自閉症を脳回路から見分ける先端人工知能技術を開発—人種を超えたバイオマーカー・自閉症の実体：脳回路の変位』

[http://www.amed.go.jp/news/release\\_20160414.html](http://www.amed.go.jp/news/release_20160414.html) (2016年4月14日)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

八幡 憲明 (YAHATA, Noriaki)

放射線医学総合研究所・

分子イメージング研究センター・研究員

研究者番号：70409150

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

笠井 清登 (KASAI, Kiyoto)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：80322056

神出 誠一郎 (JINDE, Seiichiro)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30376454

田中 慎二 (TANAKA, Shinji)

東京大学・医学部・助教

研究者番号：60548494

青木 伊知男 (AOKI, Ichio)  
放射線医学総合研究所・  
分子イメージング研究センター・  
チームリーダー  
研究者番号：10319519