

「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」  
平成17 年度採択研究代表者

吉岡 芳親

大阪大学免疫学フロンティア研究センター・特任教授

次世代無侵襲・定量的脳機能イメージング法の開発

## § 1. 研究実施の概要

本研究では、脳波、心電図、呼吸等の多様な生理学的指標と磁気共鳴スペクトロスコピー (MRS) による脳内温度計測、機能的磁気共鳴画像 (fMRI)、近赤外分光法 (NIRS) の同時計測法を確立するとともに新規解析法を導入し、ヒト脳の覚醒安静時・活動時や睡眠時の脳活動を定量的に解析するための次世代無侵襲・定量的脳機能イメージング法の開発を行ってきた。基礎理論構築から技術開発まで充実して行うため、ヒトを対象とした (1) 「高精度脳温計測技術開発と臨床応用」と (2) 「fMRI/NIRS と生理学的指標の同時計測技術の開発 (マルチモーダル fMRI) による脳活動計測の定量化」、主に動物や *in vitro* の系における (3) 「神経-脳血流・脳温変化の基礎理論構築」と (4) 「高度生体機能イメージング技術開発」の4つの中心課題を設け研究を遂行した。また、各グループで開発してきた技術を統合した計測も進展させた。

(1) では、脳活動に伴う温度変化や脳活動のベースとしての脳内温度の精密計測のため、磁気共鳴装置の安定性・感度の向上を更に推し進めた。6秒での計測も実用レベルになった。日常的な口腔内刺激や発熱時の温度変化も評価できるようになった。脳内温度と脳循環代謝の評価と臨床応用のため、患者症例のデータも蓄積し、温度と PET で得られる脳循環代謝と比較できるようにした。脳内温度の高速・多次元計測のための測定シーケンスの改良を進め、ヒトでも問題なく使用できるようにした。また、脂肪抑制・水抑制の調整を行い、精度を向上させた。

(2) では、次の3つの成果が新たに得られた。1) 3T-MRI-fNIRS 同時計測システムの開発を行い、ヒト視覚野の賦活検査を対象に得られた信号変化を比較し、拡散イメージング法 > fNIRS > BOLD 法の順に、ニューロン活動を反映した信号変化を捉えている事を示した。2) 周波数解析に基づく自律神経機能解析ソフトを開発し、今までに構築してきた NIRS をベースとした脳波、呼吸、脈波、皮膚血流のマルチモーダル同時計測システムを実際にヒト脳機能計測に応用し、自律神経機能の変化が NIRS 信号に与える影響の定量化に成功した。3) 吉岡らが開発してきた脳内温度計測技術を脳機能計測に応用し (fMRS)、fMRI (BOLD) 法との比較から、fMRS が健康人での脳機

能計測にも応用ができることを示すことができた。fMRI-脳波同時計測によるレム睡眠時の急速眼球運動に伴う脳活動を fMRI で計測した結果を国際誌に発表した( Miyauchi et al. *Experimental Brain Research* 192: 657-667, 2009. H20 年度報告分)、国際的な論文評価システムである Faculty of 1000 Medicine によって必読文献 (Must Read) として紹介され、高い評価を受けた。

(<http://f1000medicine.com/article/jnkxqt88q52eycv/id/1160329>を参照)

(3) では、神経活動に伴う脳局所の温度変化をミケルビンのレベルで計測可能なシステムを構築し、感覚刺激に伴う脳内温度変化とレーザスペックル血流計による血流分布変化との比較が可能となった。また、ドップラ OCT 法を用いて皮質深部微小血管及び血流の 3 次元分布を計測するシステムを構築し、神経活動に伴う皮質の層ごとの血流変化が解析可能なことを示した。

(4) では、超高磁場 (11.7 テスラ) 磁気共鳴装置により、動物での脳内温度計測をいくつかの刺激時にも行えるようにした。また詳細な MRI や特殊プローブを用いることで、神経可塑性や味覚嫌悪学習をモデルとした記憶に関わる情報も得られるようになった。組織高選択性プローブ開発も実際に動物実験で機能することを確認することができた。ラット脳に活動電位記録電極、温度計、血流計を同時に刺入し記録するシステムを作り上げ、計測できるようにした。そして、刺激応答部位に相当する場所で、神経活動の上昇と温度の上昇に有意な正の相関があることが分かった。大脳の高次視覚野細胞の特性にヒントを得て、画像特徴の一つである曲率を信頼度高く抽出する手法を開発した。MRI はデータの大部分は画像であるが、これらの実験データの処理に留まらず、もっと広範な画像処理一般、例えばロボット視覚、製品検査、画像認識等にも応用可能な技術である。

## § 2. 研究実施体制

### (1) 「吉岡」グループ

① 研究分担グループ長: 吉岡 芳親 (大阪大学、特任教授)

② 研究項目

- ・磁気共鳴法を用いた温度計測法の高性能化・高精度化
- ・脳内温度計測の多次元化
- ・温度を指標とした脳活動の評価

### (2) 「関」グループ

① 研究分担グループ長: 関 淳二 (国立循環器病センター研究所、室長)

② 研究項目

- ・光干渉断層法 (OCT) による神経 - 血流連関反応の定量化及び機序解明
- ・脳賦活時の皮質温度変化の定量化と脳温度イメージング (BTI) の基本原理の確立

(3)「宮内」グループ

①研究分担グループ長:宮内 哲(独立行政法人 情報通信研究機構、研究マネージャー)

②研究項目

- ・マルチモーダル fMRI による生理学的状態の決定と fMRI 計測の定量化
- ・ヒトにおける循環・自律系の変化が NIRS 及び MRS 信号値に及ぼす影響の定量化、及び動物実験による検証

(4)「松田」グループ

①研究分担グループ長:

松田 豪(GE ヘルスケア・ジャパン株式会社、シニアサイエンティスト)

②研究項目

- ・温度計測の高精度化並びに多次元化
- ・3次元温度分布画像計測のための測定シーケンス並びに解析プログラムの開発
- ・温度計測高精度化のための装置の高安定化・高感度化

(5)「大澤」グループ

①研究分担グループ長:大澤 五住(大阪大学大学院、教授)

②研究項目

- ・磁気共鳴法による温度計測の基礎的検討
- ・脳活動に伴う脳代謝の定量的評価
  - 1) 磁気共鳴法による温度計測の基礎的検討
  - 2) 蛍光および磁性ナノプローブ開発と動物組織内でのプローブ性能評価
  - 3) 触覚、視覚刺激装置の開発とイメージング計測系への統合
  - 4) 高分解能脳機能光イメージングシステム、多光子顕微鏡と微小電極記録による in-vivo プローブ評価および電氣的神経活動と他の脳活動指標の相関計測

(6)「精山」グループ

①研究分担グループ長:精山 明敏(京都大学大学院、教授)

②研究項目

非侵襲脳活動計測技術における自律神経機能の影響の解明と脳活動信号の高精度検出化

- ・テーマ1) 自律神経機能の変化が BOLD/NIRS 信号に与える影響の分離・定量化
  - (1) NIRS を中心とした研究を分担
  - (2) MRI/MRS を中心とした研究を分担
- ・テーマ2) 動物モデルによる neurometabolic function, neurovascular function の決定

(7)「小笠原」グループ

①研究分担グループ長:小笠原 邦昭(岩手医科大学、教授)

## ②研究項目

非侵襲的脳活動計測技術の臨床応用を目的としている。臨床患者を対象にし、主に高磁場磁気共鳴装置を用いた非侵襲的脳活動評価技術の臨床応用を行う。現在までの評価手段としての、PET、SPECTも併用し、関連を検討する。主な項目は次の2つである。

- 1) 脳腫瘍・脳血管障害患者での高精度多次元脳温測定
- 2) 脳血行動態と脳内温度分布の相関の評価

## § 3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

本研究では、今までの脳機能研究では難しかった定量的な脳機能計測を行うため、脳波、心電図、呼吸等の多様な生理学的指標と磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)による脳内温度計測、機能的磁気共鳴画像(fMRI)、近赤外分光法(NIRS)の同時計測法を確立するとともに新規解析法を導入し、ヒト脳の覚醒安静時・活動時や睡眠時の脳活動を定量的に解析する次世代無侵襲・定量的脳機能イメージング法の開発を行ってきた。基礎理論構築から技術開発まで充実して行うための4つの中心課題を進展させ、さらにグループ間の技術連携による多面的計測や解析に比重をかけた。

「高精度脳温計測技術開発と臨床応用」では、脳活動に伴う温度変化や脳活動のベースとしての脳内温度の精密計測のため、磁気共鳴装置の安定性・感度の向上を更に推し進めた。日常的な口腔内刺激や発熱時のダイナミックな温度変化も評価できるようになった。宮内・精山グループと共に脳内温度と脳波等のいくつかの生理学的パラメーターの同時計測も行い評価できるようにした。脳内温度の高速・多次元計測のための独自の測定シーケンスの改良を進め、ヒトでも問題なく使用できるようにした。また、脂肪抑制・水抑制の調整を行い、精度を向上させた。脳内温度と脳循環代謝の評価と臨床応用のため、患者症例のデータも蓄積し、温度とPETで得られる脳循環代謝と比較できるようにした。MRSで得られた脳温度を用いることにより、一側性脳主幹動脈閉塞性病変による慢性脳虚血の脳酸素代謝量低下および脳酸素摂取率上昇を高い精度で知ることが可能であることを解明した<sup>(2)</sup>。さらに、これを臨床応用し、頸動脈狭窄症に対する内膜剥離術後合併症である過灌流の発生を高い精度で術前に予知することも証明した<sup>(7)</sup>。

「神経－脳血流・脳温変化の基礎理論構築」では、高感度赤外線カメラを用いることで脳表の温度変化をミリケルビンレベルで検出可能な温度イメージングシステムを構築してきた。これまでの結果、短時間の下肢電気刺激ではラット脳表の温度変化はせいぜい数ミリケルビンであること、加えて血圧の上昇が無視できず刺激箇所と同側の皮質においても温度上昇が認められた。

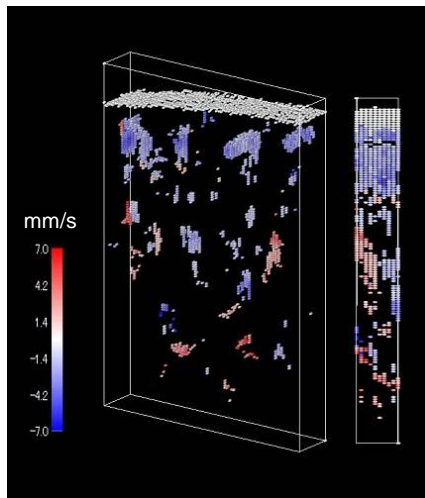


図 1. ラット大脳皮質におけるドップラ OCT による深部微小血管の血流速度分布の 3 次元表示 (擬似カラー、 $1000 \times 1500 \times 100 \mu\text{m}$ )。右は側面図。最上部の白色は皮質表面、速度の正負は、表面から遠ざかる方向を正とした。垂直方向の正速度をもつ血管は、穿通枝細動脈と考えられる。

そのため、血圧変動が無視でき長時間の刺激が可能で広く使われている手法として顎ヒゲの振動刺激を採用し、そのための刺激装置の作成及び、レーザスペckル血流計を用いて脳表 1 次体性感覚野においてヒゲ刺激による血流分布変化を二次元的に計測解析した。その結果、バレルを含む皮質領域で 10~20%の血流増大が認められた。また、光干渉断層法(OCT)において、ドップラ信号を用いた大脳皮質の深部微小血管の検出法を考案し、構造画像のみでは検出困難な、脳表から皮質内部へ貫入する穿通枝細動脈や皮質各層へと分岐する末端細動脈等の微小血管を 1 mm 以上の深さまで追跡できるうえに血流速度の定量化を可能にする手法の開発を進めている。

「fMRI/NIRS と生理学的指標の同時計測技術の開発(マルチモーダル fMRI)による脳活動計測の定量化」では、昨年度までに確立した脳波及び他の神経生理学的指標と fMRI の同時計測技術を活用し、自発性脳活動に伴う fMRI 信号の脳内ネットワーク解析を行った。

fMRI-脳波同時計測によって得られた脳波から覚醒水準の変動を求め、覚醒水準の変動に伴う脳内ネットワークの変動を解析し、覚醒安静状態における覚醒水準のわずかな変動に伴って、視床と一次視覚野及び Default Mode Network 内の各領域間の機能的連関が変化する事を明らかにした(図 2)。この結果から、fMRI を用いて領域間の機能的連関を調べる事により、刺激やタスクによる特定の領域の一過性の活動ではなく、覚醒水準などの脳の一定の状態を機能的に評価できる可能性を示した。

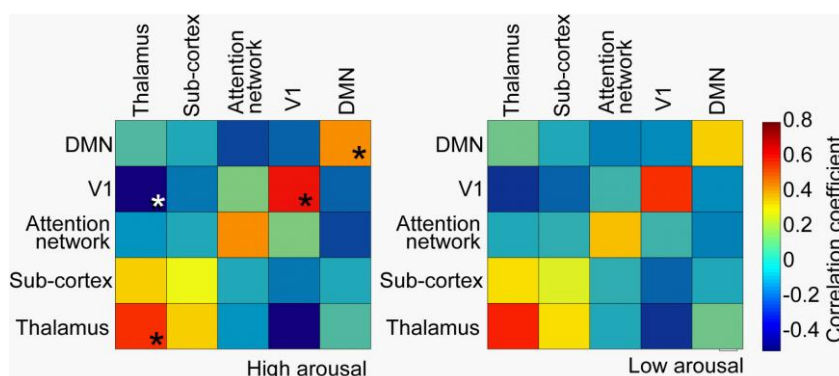


図 2. 高覚醒時(左)と低覚醒時(右)の領域間の相関マトリックス。アスタリスクは、高覚醒時と低覚醒時で機能的連関が有意に変化した事を示す。

また、同時計測した心電図から、心拍変動に起因する fMRI 信号の変動成分を同定した。その結果、図 3 に示したように、心拍変動に対して負の相関を示す領域は、側脳室周囲の上衣下静脈の走行と一致していた。この事から、側脳室周囲の深部白質の fMRI 信号の変化は、脳活動に起因するものではなく、心拍変動に伴う上衣下静脈の血流変化を反映している事を明らかにした<sup>9)</sup>。

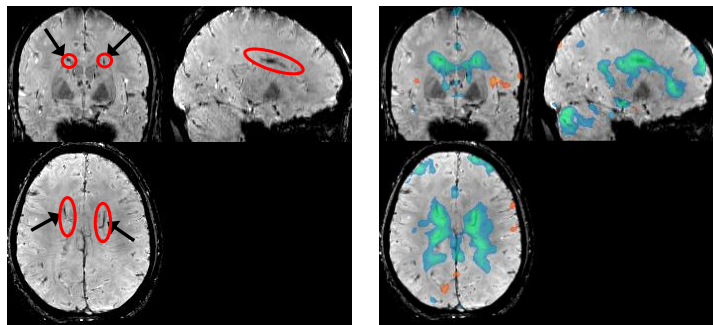


図 3. 3D FLASH 画像での上衣下静脈の走行(左、赤丸で囲った低信号領域)と、心拍変動に対して負の相関を示す領域(右、緑～青の領域)。

上衣下静脈は、脳梗塞の好発部位である動脈支配域の分水嶺領域に位置しており、fMRI で見られた上衣下静脈での心拍変動と fMRI 信号との強い相関関係は、深部白質を栄養する脳内細動脈の循環調節状態・循環調節機能を反映していると考えられる。この発見は、脳活動以外の fMRI 信号の変動要因を明らかにし、それをノイズとして除去する方法を確立するとともに、fMRI による脳梗塞好発部位の循環調節機能の新たな評価法として重要な意義がある。

#### 特記事項

fMRI-脳波同時計測によるレム睡眠時の急速眼球運動に伴う脳活動に関する論文 (Experimental Brain Research 192: 657-667, 2009. H20 年度報告分) が国際的な論文評価システムである

Faculty of 1000 Medicine によって高い評価を受け、必読文献として紹介された。

(<http://f1000medicine.com/article/jnkxqt88q52cycv/id/1160329>を参照)

さらに、3T-MRI-fNIRS 同時計測システムの開発を行い、ヒト視覚野の賦活検査を対象に得られた信号変化を比較し、拡散イメージング法 > fNIRS > BOLD 法の順に、ニューロン活動を反映した信号変化を捉えている事を示した<sup>(1)</sup>。一方、NIRS をベースとした脳波、呼吸、脈波、皮膚血流のマルチモダル同時計測システムの開発では、H20 年度に完成させた同時計測システムを実際にヒト脳機能計測(逆さマウス実験)に応用し、周波数解析に基づく自律神経機能解析ソフト開発と併せて、自律神経機能の変化が NIRS 信号に与える影響の定量化に成功した。さらに、これまでに吉岡らが開発してきた MRS による局所的脳内温度変化計測技術を脳機能計測(視覚刺激)に応用し(fMRS)、fMRI (BOLD) 法との比較から、fMRS が健常人での脳機能計測にも応用ができることを示すことができた。

「高度生体機能イメージング技術開発」では、超高磁場(11.7 テスラ)磁気共鳴装置による動物での脳内温度計測をいくつかの刺激時にも行えるようにした。また詳細な MRI により大脳皮質の神経可塑性に関する情報が得られるようになったし、特殊プローブを用いることで、味覚嫌悪学習をモデルとして記憶想起に関わる場所を特定することができた<sup>(7)</sup>。今までの fMRI では得ることが難しいような長期的な脳活動の情報も得られる可能性があることが示唆された<sup>(6)</sup>。組織高選択性プローブを用いた研究も進め、良好な識別能を有することが分かった<sup>(5)</sup>。ラット脳で活動電位、温度、血流を同時に記録できる数百マイクロン程度のプローブを作りあげ計測できるようにした。刺激応答部位に相当する場所で、神経活動の上昇と温度の上昇に有意の正の相関があることが分かった。動物の視覚野細胞の視覚刺激に対する応答を調べる実験では、細胞受容野周辺抑制はテクスチャーの境界などの高次視覚情報を表現しており、高次受容野の精密計測を開発したことにより、これらの情報が方位と空間周波数に基づくものであるという示唆を得た<sup>(3)</sup>。また、方位交差抑制は多くの視覚野細胞が持つ非線形反応の一つである。二つの正弦波を重畳した視覚刺激と逆相関法に基づく解析により方位交差抑制のダイナミクスを明らかにした<sup>(4)</sup>。大脳の高次視覚野細胞の特性にヒントを得て、画像特徴の一つである曲率を信頼度高く抽出する手法を開発した。本研究から派生した画像処理技術として、大阪大学を出願人として、特許を出願した。MRI はデータの大部分は画像であるが、これらの実験データの処理に留まらず、もっと広範な画像処理一般、例えばロボット視覚、製品検査、画像認識等にも応用可能な技術である。

## § 4. 成果発表等

### (4-1) 原著論文発表

#### ● 論文詳細情報

1. Kohno S, Sawamoto N, Urayama S, Aso T, Aso K, Seiyama A, Fukuyama H, Le Bihan D: Water-diffusion slowdown in the human visual cortex on visual stimulation precedes vascular responses. *J Cereb Blood Flow Metab* 2009; 29: 1197-1207; doi:10.1038/jcbfm.2009.45.

2. Ishigaki D, Ogasawara K, Yoshioka Y, Chida K, Sasaki M, Fujiwara S, Aso K, Kobayashi M, Yoshida K, Terasaki K, Inoue T, Ogawa A: Brain Temperature Measured Using Proton MR Spectroscopy Detects Cerebral Hemodynamic Impairment in Patients With Unilateral Chronic Major Cerebral Artery Steno-Occlusive Disease: Comparison With Positron Emission Tomography. *Stroke* 2009; 40: 3012-3016; doi:10.1161/strokeaha.109.555508.
3. Tanaka H, Ohzawa I: Surround suppression of V1 neurons mediates orientation-based representation of high-order visual features. *J Neurophysiol* 2009; 101(3): 1444-1462; doi:10.1152/jn.90749.2008.
4. Kimura R, Ohzawa I: Time course of cross-orientation suppression in the early visual cortex. *J Neurophysiol* 2009; 101(3):1463-1479; doi:10.1152/jn.90681.2008.
5. Kinoshita M, Yoshioka Y, Okita Y, Hashimoto N, Yoshimine T: MR molecular imaging of HER-2 in a murine tumor xenograft by SPIO labeling of anti-HER-2 Affibody. *Contrast Media Mol Imaging* 2010; 5: 18-22; doi:10.1002/cmimi.363.
6. Inui-Yamamoto C, Yoshioka Y, Sasaki K, Ooi Y, Inui T, Umeda M, Kawai Y, Seiyama A, Ohzawa I: The brain mapping of the retrieval of conditioned taste aversion memory using manganese-enhanced MRI in rats. *Neuroscience* 2010; 167(2): 199-204; doi:10.1016/j.neuroscience.2010.02.027.
7. Murakami T, Ogasawara K, Yoshioka Y, Ishigaki D, Sasaki M, Kudo K, Aso K, Nishimoto H, Kobayashi M, Yoshida K, Ogawa A: Brain Temperature Measured by Proton Magnetic Resonance Spectroscopy Predicts Cerebral Hyperperfusion after Carotid Endarterectomy. *Radiology*; in press.
8. 乾千珠子, 乾颯, 吉岡芳親, 志村剛, 大澤五住: 味覚嫌悪学習の想起によって活性化する側坐核の遠心性投射路の可視化:マンガン造影MRI法を用いて. *日本味と匂学会誌* 2009; 16: in press.
9. 寒重之, 小池耕彦, 三崎将也, 宮内哲: 自発性K複合に伴うfMRI信号変化と心拍変動との関係 -EEG/fMRI同時計測を用いた検討-. *臨床神経生理学* 2009; 37(6): 423-431.

#### (4-2) 知財出願

- ① 平成21年度特許出願件数(国内 1件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 3件)