

氏名（本籍地）	よし だ ゆう と 吉 田 侑 冬
学位の種類	博 士（情報科学）
学位記番号	情 博 第 6 9 1 号
学位授与年月日	平成 3 1 年 3 月 2 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科、専攻	東北大学大学院情報科学研究科（博士課程）応用情報科学専攻
学位論文題目	大脳局所血液量動態の光学イメージング計測と 高次脳機能解析に関する研究
論文審査委員	（主査）東北大学教 授 中尾 光之 東北大学教 授 井樋 慶一 東北大学教 授 木下 賢吾 東北大学准教授 片山 統裕

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 第 1 章 序論

統合失調症などの多くの精神疾患や自閉スペクトラム症（ASD）などの発達障害は、現時点では専門の医師による問診なしに診断することができない。しかし、医師の経験に依存するところが大きいと診断結果がばらつきやすく、また定量的評価が難しいという問題がある。そのため、問診によらず生理検査によって診断できるバイオマーカーの開発が必要と考えられ、多数の研究が行われている。最近、機能的核磁気共鳴イメージング（fMRI）や多点脳波で計測される自発性脳活動にこれらの疾患や障害の特徴が表れることがわかってきた。特に、安静時の脳の各領域で計測された信号の相関係数により定量化される安静時機能的結合（resting state functional connectivity, rsFC）の有用性を示唆する研究が多数報告され、注目を集めている。

一方、精神・神経疾患のメカニズムを探る基礎医学研究においては実験動物としてマウスが広く用いられてきた。マウスで得られた知見をヒトの診断や治療に役立てるためには、マウスにおいても自発性脳活動を解析し、ヒトとの対応関係を明らかにする必要がある。マウス自発脳活動解析においては、fMRI より空間分解能が高く実験コストが小さい内因性光信号イメージング（IOSI）法が用いられてきた、なかでも酸素化ヘモグロビン濃度（HbO）動態を測る IOSI-HbO 法が広く利用されてきた。その他には、大脳皮質血液量（CBV）を定量する IOSI-CBV 法があり、は空間解像度が HbO 法より優れているため、刺激応答特性の研究では利用されてきた。しかし、自発性脳活動計測に利用した研究はこれまでなかった。

本研究では、IOSI-CBV 法を用いたマウスの安静時自発性脳活動計測、および解析法の確立、安静時機能結合解析に用いることの妥当性について検討する。さらに、発達障害等の疾患解析のモデル実験として、脳の構造異常を有する疾患モデルマウスの特徴づけを試みることにした。

### 第 2 章 研究の背景と目的

マウスを用いた rsFC 研究では多波長の低ノイズ光源を高速で切り替えて照射し皮質の HbO 濃度を計測する IOSI-HbO 法や、レーザーを走査的に照射し血流量（CBF）を計測するレーザースペックル法（LSCI-CBF）などが利用されている。これらの手法に比べ、CBV イメージングは単一波長光源のより簡易な実験系で観察できる。また、背景の生理学的機構がシンプルで時間・空間分解能が優れており、刺激反応に限定すれば HbO と類似した応答特性を有することが報告されている。しかし、IOSI-CBV 法は自発脳活動計測に適用されていなかった。そこで本研究では、マウスの脳の自発性活動計測に IOSI-CBV 法を適用するための手法を確立し、その性能を評価することを第一の目的とした。また、従来の rsFC 解析で非神経性成分除去のために利用されている広域信号除去（GSR）と呼ばれる前処理が rsFC に及ぼす影響について考察し、その問題点を指摘した。

これまで、脳卒中モデルやアルツハイマー病モデルの疾患マウスに IOSI-HbO や LSCI-CBF 計測を試み、rsFC にその疾患特徴が見られたという報告がある。本研究では、胎児期/乳幼児期

メチマゾール誘発 一過性甲状腺機能低下症マウスに着目した。この疾患は、脳の形態形成時の甲状腺ホルモン不足が原因で長期的な発達障害/精神遅滞や運動機能障害を示すことが知られている。脳の形態形成時の甲状腺ホルモン不足は、大脳皮質や海馬におけるパルブアルブミン (PV) 陽性介在ニューロンの密度低下や大脳皮質 2,3 層の薄層化などを引き起こす。PV ニューロンの減少や機能不全は統合失調症や ASD などの脳疾患と関わりがあることが知られており、この疾患モデル動物の解析はその他の疾患メカニズムの解明に有用であると考えられる。そこで、薬剤投与により一時的に甲状腺ホルモンを抑えることで疾患モデルマウスを作成し、健全なマウスと自発脳活動を比較することで疾患を表現するパラメータを探索した。

### 第3章 実験方法および解析方法

本研究で行った実験には C57BL/6 マウスを用いた。また、発達障害などに関連する自発性脳活動を調査する実験のため、薬物により脳の構造異常を誘導したマウス (薬剤投与群) を作成し、実験に用いた。IOIS-CBV イメージング、皮質脳波 (EEG) および筋電図 (EMG) 計測のための手術を行い、3 日以上回復期間ののちに計測を行った。実験日には、直前に約 6 時間の断眠処置を行い、暗室の顕微鏡下に無痛的に頭部を固定して計測を行った。IOSI-CBV イメージングは、キセノン光源および低ノイズ LED 光源で緑色光を大脳皮質に経頭蓋的に照射し、その散乱光 (523 ± 5 nm) を CCD カメラで撮影し、PC に画像を保存した。これと同時に、CCD のタイミング信号、EEG や EMG などの生体信号を別の PC に収録した。

一部の実験では光源ノイズが解析の障害になることが判明したため、前処理として独立成分分析を用いた光源ノイズ除去アルゴリズムを開発した。シミュレーション解析の結果、この手法により光源ノイズを 10~15dB 低減させることができることを明らかにした。

CBV 信号にベニング処理、ベースライン除去および変化率への変換を適用した。先行研究に倣い、rsFC 解析に用いられる帯域透過フィルタ (FC 帯域: 0.009-0.08Hz) を適用した。また、空間的なノイズ低減のためにガウシアンフィルタを適用した。従来からの報告から、IOSI 信号は大脳皮質全域において、体動などに相関する大きな同相成分 (広域信号, Global signal, GS) を有するため、これを除去する処理が実施されることが多い。本研究の 4 章および 5 章の解析では、各時刻における全観測領域の平均値によって GS を推定し、各画素の輝度時系列をこれと無相関化することにより GS を除去する処理 (GSR) を適用した。

EEG, EMG および呼吸リズムを用いてマウスの覚醒・睡眠状態判定を行い、各区間を覚醒状態 (Wake)、高速眼球運動睡眠 (REM 睡眠)、徐波睡眠 (NREM 睡眠) の 3 状態に分類した。

疾患モデルマウスの行動特性を調査するために、オープンフィールド行動実験を行い、新規環境におけるマウスの行動を 30 分間観察した。計測データから画像処理により特徴量を評価した。

### 第4章 大脳皮質局所血液量動態に基づく機能的結合の推定法

4 章では、IOSI-CBV 法によるマウス大脳皮質の安静時自発性活動の計測・解析結果を示し、その有用性を明らかにするとともに、従来の rsFC 解析法の問題点について考察した。

従来のヒトの研究においては GS には心拍や体動などの非神経性の成分が多く含まれていると考えられている。しかし、マウスの CBV 信号において GS の成分の調査は行われていなかった。そこで、非神経性信号の寄与について調査するために、GS の FC 帯域成分と、心拍および呼吸の瞬時周波数ゆらぎとの相互相関解析を行った。その結果、GS と心拍ゆらぎの間には明瞭な負の相関があり、心拍ゆらぎが先行していることが明らかになった。呼吸ゆらぎについても同程度の相関が観察された。以上の結果から、GS が非神経性の成分を強く含んでいることが確認された。

従来法に倣い、GSR 適用後の信号を用いて単相関 rsFC 解析を行った結果、正の相関を示す 3 つのサブネットワーク構造が観察された。また、前頭と後頭の領域間には負の相関関係があることが示唆された。この CBV 信号を用いる妥当性を評価するために、従来法による rsFC 推定結果、すなわち、IOSI-HbO 法、およびレーザードップラー脳血流計測 (LSCI-CBF) 法で得た信号に GSR 処理と単相関解析を適用して推定された rsFC と比較した。その結果、本研究の推定結果の妥当性を確認することができた。

単相関解析で推定された正の相関については神経生理学的に妥当な結合であり、偏相関解析によってもほぼ同様の推定結果が得られた。しかし、負の相関が推定された結合については、偏相関解析では無相関であると推定され、偏相関解析では負の相関と推定された結合はほとんどなか

った。偏相関解析では負の相関が観察されなかったことは、単相関の負の相関が GS 等のコモンドライバーの影響で生じていることを示唆している。また、rsFC の負の相関については先行研究により GSR 処理によって発生している可能性が指摘されている。さらに本研究では、GS と負の相関の関係について、CBV が空間的に伝搬する特性を持つ場合、GSR は伝搬波の位相をひずませ、このひずみによって負の相関が発生する可能性があることをシミュレーションおよび実データを用いて指摘した。

## 第5章 胎児期／乳幼児期一過性甲状腺機能低下症モデルマウスの大脳皮質時空間ダイナミクス解析

5章では、発達障害などに関連する自発性脳活動動態を表現するパラメータを探索することを目的に、薬物により脳の構造異常を誘導されたマウスを対象に行動試験、脳波解析、および自発性 CBV 活動の解析を行った結果について述べた。

オープンフィールド行動試験の結果、薬剤投与群の大部分のマウスにおいて行動量が減少することが分かった。しかし、不安様行動には変化が見られなかった。

脳波のパワースペクトル密度解析を行った結果、薬剤投与群は対照群に比べ、NREM 睡眠時の  $\delta$  波パワーが顕著に大きいことが明らかになった。また、前頭と後頭の相互相関解析を行った結果、薬物投与群は NREM および REM 睡眠時において、両領域の  $\delta$  波のタイムラグが対照群より小さいことが分かった。大脳皮質における  $\delta$  波の伝搬には、皮質内の側方結合による経路と、視床-皮質間結合を経由する経路がある。伝搬の遅延時間を考慮すると、薬物投与群においては視床-皮質経路に異常が生じていた可能性が示唆される。

次に、従来法に倣い、安静時自発性 CBV 活動信号を対象に GSR 処理後に単相関 rsFC 解析を行ったところ、行動試験や脳波解析とは異なり、薬物投与群と対照群の間には顕著な差がみられなかった。その原因として、4章で示したように振動性と伝搬性をもつ信号に GSR 処理を適用したことが考えられた。そこで、GSR 処理を排し、各機能領域の CBV 信号の相互相関解析を行い、その時空間ダイナミクスを評価した。高い精度でタイムラグを評価する必要があるため、安定した状態が長く維持される NREM 睡眠期のデータを解析対象にした。その結果、薬物投与群においては、運動野の活動が他の領域に対し約 500 ms 先行する性質があることが分かった。対照群においてはこのような顕著なタイムラグは見られなかった。タイムラグを高精度で推定するためには、高サンプリング周波数で計測する必要がある。本研究で用いた IOSI-CBV 法は、従来から用いられている fMRI や IOSI-HbO 法に比べ高いサンプリングレートを持ち、サブミリ秒オーダーのタイムラグの検出に適していた。これにより実際に提案手法を用いて、相互相関解析を行うことで疾患モデルマウスの一部の特徴が検出できることが示された。薬剤投与群で観察された特徴の生理学的メカニズムの解明は今後の課題である。

## 第6章 結論

本論文は、マウスの脳局所血液量動態の光学イメージング計測・解析手法を確立するとともに、脳の構造異常を有するマウスの大脳皮質血液量動態を特徴づける新しい解析手法を開発し、その有用性を示した。