

本内容は1月14日12時に解禁です。それ以降、報道へのご活用お願いいたします。

平成 26 年 1 月 14 日
学校法人自治医科大学・学校法人中央大学・学校法人京都産業大学

脳表面から光で直接脳血流変化を計測する新技術！

—開頭手術中の感覚機能の高精度リアルタイムモニタリングにミニブタ実験で成功—

学校法人自治医科大学 先端医療技術開発センター 研究員 宇賀美奈子・教授 渡辺英寿
学校法人中央大学 研究開発機構 教授 檀一平太
学校法人京都産業大学 総合生命科学部 教授 齋藤敏之

研究成果のポイント

- 脳表面からのダイレクト光トポグラフィーを開発し、ミニブタを用いた実験で、世界に先駆け脳機能計測に成功
- ミニブタ脳内の鼻の感覚地図を、光を用いて血流変化として、3mm の高精度で可視化
- 開頭手術中の言語、運動、感覚機能などの高精度リアルタイム脳血流モニタリングの実現につながる成果

<概要>

自治医科大学(宇賀、渡辺)、中央大学(檀)、京都産業大学(齋藤)らの共同研究グループは、世界に先駆け、大脳皮質表面からダイレクトに光で脳の血流反応を計測し、脳活動を高精度の2次元マップとして表現する手法の開発に成功しました。

これまで、頭の表面に複数の光源と受光センサーを配置し、センサーの情報をもとに脳血流の変化を脳表面上の分布として2次元画像として表示する「光トポグラフィー」という技術は実用化されていましたが、空間解像度が2cm程度で(3cm格子状プローブ配置の場合)、脳以外の皮膚組織などからの信号混入の可能性があります。一方、今回、開発に成功した「ダイレクト光トポグラフィー法」では、脳の表面に複数の光源と受光センサーを5mm 間隔で配置し、約3mm の高精度で、異なる位置の脳活動を分離することが可能になりました。

今回の実験では、麻酔下で開頭手術中のミニブタの鼻の異なる位置(上部、中部、下部)に電気刺激を与えました。この場合、脳の体性感覚野の異なる位置(前部、中部、後部、約8mm 間隔)で脳神経細胞が活動することが判っています。この脳神経細胞の位置を調べた上で、ダイレクト光トポグラフィー法による計測を行ったところ、鼻の電気刺激位置に応じた脳の体性感覚野の位置で、脳の血流反応が起こることが実証されました。

これまで、開頭手術中に患者に発話してもらって言語野を同定する等、大脳皮質から脳血流変化を計測したい事例があっても対応は困難でしたが、我々の開発したダイレクト光トポグラフィー技術はこういった要請に応える技術と期待できます。今後、ミニブタによる基礎実験を進め、ヒトの脳神経外科手術中の脳機能モニタリングへの臨床応用実現を目指して参ります。

本研究成果は、米国の科学雑誌「NeuroImage (ニューロイメージ)」オンライン版(1月11日付け)に掲載されました。なお、研究の詳細については下記ウェブサイトにてご覧いただけます。

<http://brain-lab.jp/wp/?p=775>

本内容は1月14日12時に解禁です。それ以降、報道へのご活用をお願いいたします。

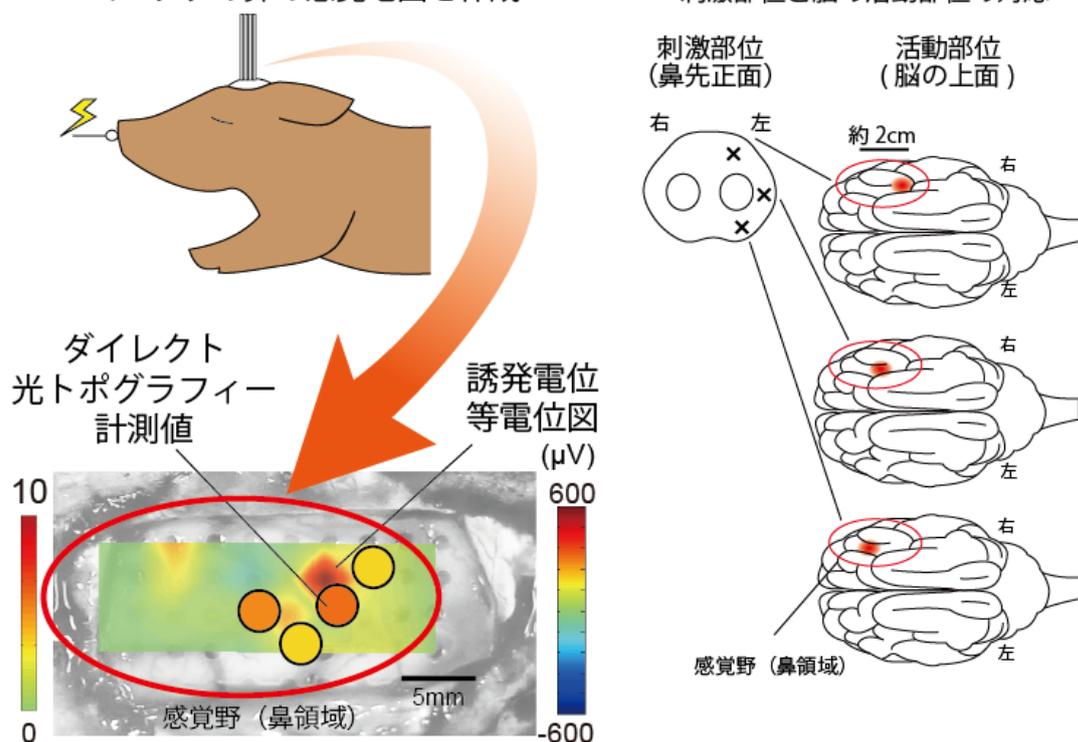
平成 26 年 1 月 14 日
学校法人自治医科大学・学校法人中央大学・学校法人京都産業大学

〈研究の概要図〉

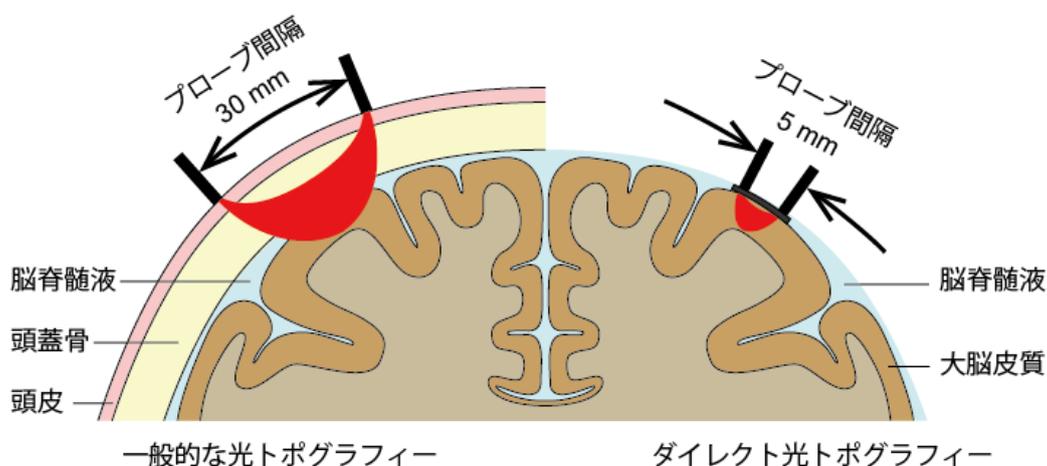
脳表面からのダイレクト光トポグラフィー

ダイレクト光トポグラフィーを用いて
ミニブタの鼻の感覚地図を作成

ダイレクト光トポグラフィーで計測された
刺激部位と脳の活動部位の対応



ダイレクト光トポグラフィーと一般的な光トポグラフィーの計測イメージ



本内容は1月14日12時に解禁です。それ以降、報道へのご活用をお願いいたします。

平成 26 年 1 月 14 日
学校法人自治医科大学・学校法人中央大学・学校法人京都産業大学

〈研究の背景〉

光トポグラフィーとは近赤外光を用いて非侵襲的に脳血流状態の変化を計測し、脳機能・活動状態を可視化する技術です。脳機能計測技術としては PET(陽電子放射断層撮影)や fMRI(機能的核磁気共鳴画像法)も用いられますが、これらに比べて光トポグラフィー装置は小型・軽量で、磁場や放射性物質の管理も不要という特徴を持っています。また、PET や fMRI のように装置内で頭部を固定する必要がないため被験者に対する拘束性も低い技術です。これらの利点から光トポグラフィーの臨床応用が期待されています。これまでに、「言語優位半球の特定」や「てんかんの発作焦点脳部位の決定」への有効性が示され、2002年に保険収載がなされています。また、近年は脳外科に限らず、先進医療として精神科診断での活用も広がっています。

このような臨床応用の進展を背景に、「光トポグラフィーによる脳機能モニタリングを開頭手術中に実現できないか」という期待が高まっています。たとえば、脳に腫瘍ができたときには、開頭手術によって腫瘍部位を取り除く治療が必要になりますが、「どこまで脳部位を取るべきか」という判断は困難です。腫瘍部位をなるべく大きく切除すれば、再発防止は期待できますが、脳機能を温存させるためには、切除部位を最小限にとどめることが肝要です。この線引きを明確にするために有効な方法の一つは、開頭手術中の脳機能モニタリングです。たとえば、開頭手術中に麻酔を醒まし、言葉を発してもらいます。このとき、言語に関するとと思われる脳部位に電気刺激を加え、失語症が誘発されれば、その部位は言語機能を司っており、その機能を温存すべきと判断されます。しかし、この検査法も万能ではありません。言語機能に間接的に関わっている領域などは、見落とされる可能性もあります。そこで、実際の脳血流変化を、脳の機能マップとして高精度に可視化できる技術が望まれています。

このような技術として、高密度脳波グリッドによる脳機能モニタリングも有用と考えられています。脳波の計測はミリ秒(1000分の1秒)単位の高速な神経反応をとらえるのに向いているものの、発話や運動のように、ある程度長期間(秒単位)で持続する脳活動の計測には不向きです。このような脳活動の計測には、神経活動によって誘発される脳血流変化の計測が適しています。脳血流の計測を導入すれば、通常の神経心理学検査で用いられる語流暢課題、呼称課題や文法課題など、実施可能な言語課題の幅が格段に広がり、言語機能温存へのより慎重な判断が可能になります。

ところが、これまで光トポグラフィーを用いて、頭皮の上からではなく、脳の表面から、大脳皮質の脳活動を脳機能マップとして画像化できた例はありませんでした。頭皮上からの計測では、脳に光が到達するまでに頭皮、頭蓋骨などで光の散乱が起ります。また、脳内に到達し、反射してきた光も頭蓋骨や頭皮で散乱しながら皮膚の表面に戻ってきます。脳の活動をとらえるためには、送光器と受光器の間隔は3cmに広げる必要がありました。いわば、通常的光トポグラフィーは、ある程度強い光で、広い領域の脳活動を、血液の濃さとして、磨りガラスの上からぼんやりと眺めるような計測です。一方、脳の表面に直接光を当てれば、脳以外の組織での散乱は起こらないので、送光器と受光器の間隔を狭めることが原理的には可能です(図 1)。しかし、実際には、送光器

本内容は1月14日12時に解禁です。それ以降、報道へのご活用をお願いいたします。

平成 26 年 1 月 14 日

学校法人自治医科大学・学校法人中央大学・学校法人京都産業大学

と受光器の間隔を狭めると、光の漏洩が起ってしまったたり、送光器や受光器が脳に不完全に接触するといった問題が生じていました。

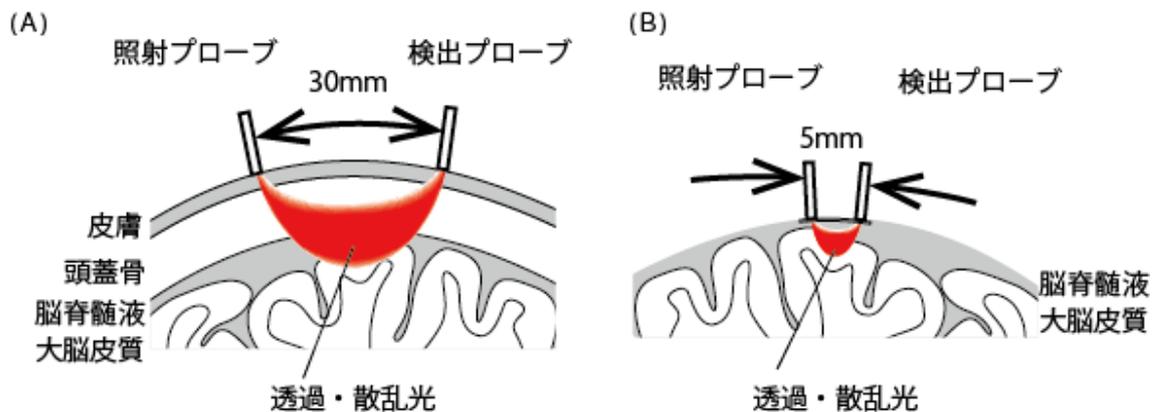


図1. 光トポグラフィーの計測イメージ

(A)一般的な光トポグラフィー。光が脳表面に届くためにはプローブ間隔を広くする必要があり、頭皮や頭蓋骨の影響も受ける。(B)ダイレクト光トポグラフィー。頭皮や頭蓋骨の影響を受けないためプローブ間隔を狭くすることができる。

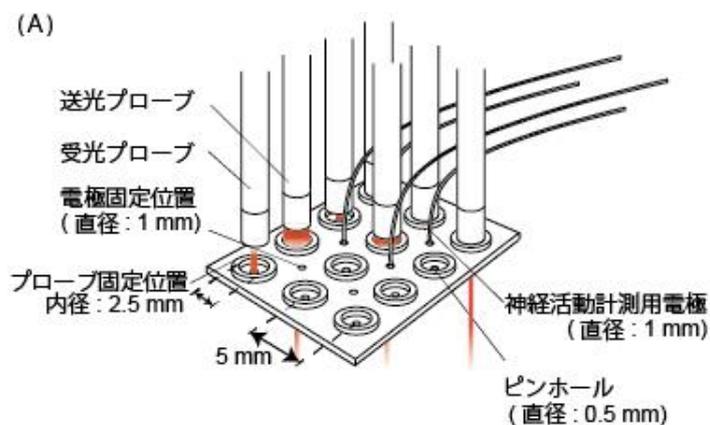
今回我々は、このような問題を解決するために、大脳皮質ダイレクト計測専用のシート型プローブホルダーを開発いたしました(図2)。これは遮光性の高いゴム素材でできており、プローブの先端を土手のようにカバーするとともに、光を通すピンホールが下部に開いています。これによって、大脳皮質の形状に合わせた適度な変形と光の漏洩防止が実現できました。また、計測が実際にうまくいっているかどうかを確認するために、脳の電気信号を同時計測でとらえるための電極も装備しています。

本内容は1月14日12時に解禁です。それ以降、報道へのご活用をお願いいたします。

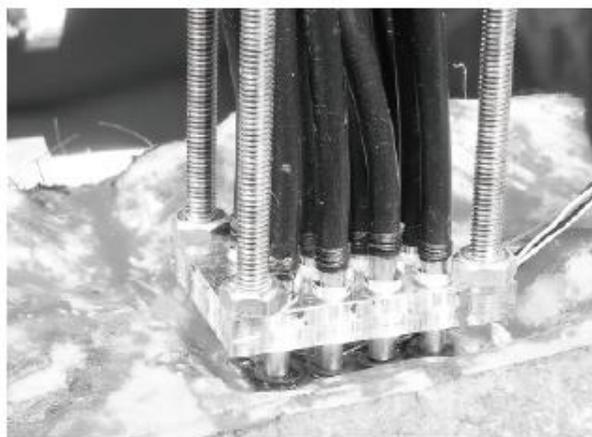
平成 26 年 1 月 14 日

学校法人自治医科大学・学校法人中央大学・学校法人京都産業大学

このシート型プローブホルダーを用いて、ミニブタの鼻先の皮膚に電気刺激を加え、大脳皮質からダイレクト光トポグラフィー計測をおこないました。



(B)

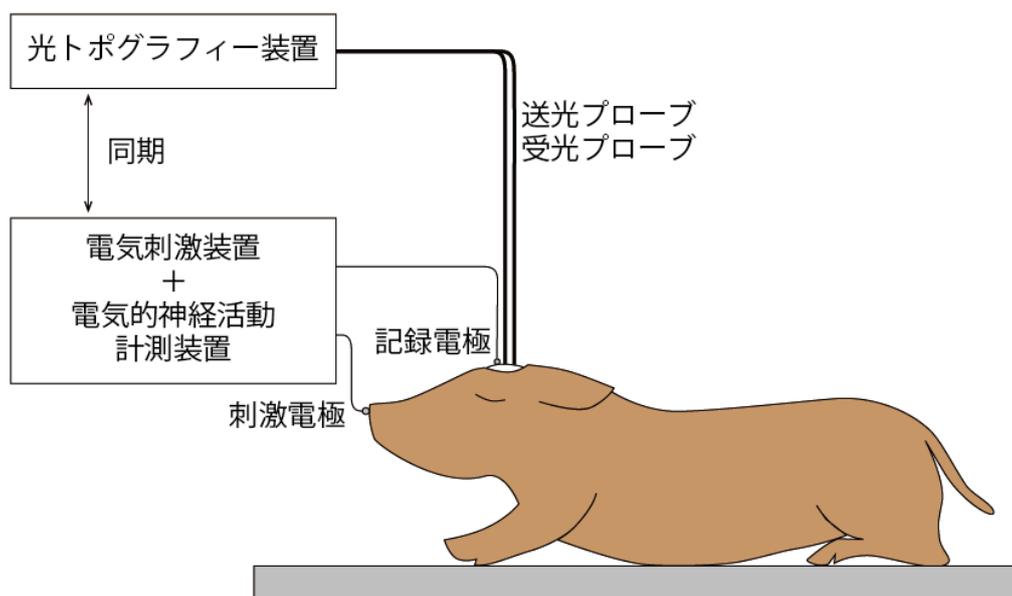


〈研究の内容〉

本研究は3頭のミニブタ(メキシカンヘアレスブタ)を実験の対象としました。ミニブタに全身麻酔を施した後、頭部右側頭蓋骨を切除し、大脳皮質の表面を露出させました(図3)。

本内容は1月14日12時に解禁です。それ以降、報道へのご活用をお願いいたします。

平成 26 年 1 月 14 日
学校法人自治医科大学・学校法人中央大学・学校法人京都産業大学



計測の対象となる脳領域としては、ミニブタ大脳皮質の前方にある吻側部を選びました。この吻側部という領域は、これまでの研究で、ミニブタの鼻先の感覚領域として詳細な感覚地図が描かれています。一般的に、ブタは鼻先の感覚が鋭く、脳の大きさに比較して鼻の感覚領域が広がっています。鼻の位置を上部、中部、下部に約2cmの間隔でずらしながら刺激すると、脳の吻側部では前部、中部、後部に約7mmずれた位置で神経活動が盛んになることが判っています。しかし、それぞれの個体で、脳の感覚領域の位置は微妙にずれているため、予め実験でその位置を確かめておく必要があります。

そこで、2.5mm 間隔で穴が空いたシリコン製グリッドシート(全40穴)をミニブタ脳の吻側部の上に設置し、その上に電極を置きました。また、グリッドシート的位置をミニブタ頭部の基準点の位置とともに、ニューロナビゲーターという光を使った3次元位置計測装置で記録しました。そして、ミニブタの鼻先の上部、中部、下部を電気で刺激したところ、それぞれ、脳の吻側部の前部、中部、後部で神経活動が高まりました。この時の神経活動の分布を、ニューロナビゲーターで計測した位置情報を基に、2次元の脳活動マップとしました。なお、ミニブタの吻側部は表面が平らであるため、2次元のマップとしてもほぼ位置が正しく表示できます。

このようにしてミニブタ脳の鼻感覚領域を確認した後、その領域をターゲットとして、ダイレクト光トポグラフィー計測を行いました。計測機の信号処理部分は既存の光トポグラフィー装置(日立メディコ ETG100)を用いました。この機械は、830nm と760nm の2種類のレーザー光を光源として

本内容は1月14日12時に解禁です。それ以降、報道へのご活用をお願いいたします。

平成 26 年 1 月 14 日

学校法人自治医科大学・学校法人中央大学・学校法人京都産業大学

有しており、アバランシェフォトダイオードを受光装置として用います。2波長で得られる信号から、修正ピアランバート法に基づき、酸素化ヘモグロビン(oxyHb)と脱酸素化ヘモグロビン(deoxyHb)の濃度由来の信号変化を計測することができます。今回の計測では、そのうち、信号変化の大きいoxyHbを用いました。データのサンプリングは10Hz(1秒に10回)としました。

この光トポグラフィ装置に、特別仕様の光ファイバーを接続し、その先端部を、位置調整用のマニピュレーターに固定しました。さらに、光ファイバーの先端に遮光シートグリッド式のプローブホルダーを被せました。このプローブホルダーは遮光性の高い柔軟なゴム素材で作られており、脳の形状に合わせてある程度柔軟に変形することができます。さらにまた、光ファイバーの先端を円形の構造体が土手状に覆い、横方向への光の漏れを防いでいます。そして最も重要な工夫は、プローブホルダーの光ファイバー設置面に開けられた小さな穴です。この穴は、直径0.5mmに正確に制御され、一定量の光を光ファイバーからプローブホルダーを通して脳の表面に送れるようにデザインされています。このような工夫によって、送光プローブから受光プローブへ脳を通らずに漏れてしまう光漏洩の問題が回避され、脳に適切な量の光を照射し、適切な量の反射散乱光を検出することが可能となりました。もう一点、重要な特徴として、プローブホルダーには脳神経活動計測用の微小電極が埋め込んであります。これによって、脳血流変化が脳神経活動と同期しているかどうかを確認することが可能となっています。

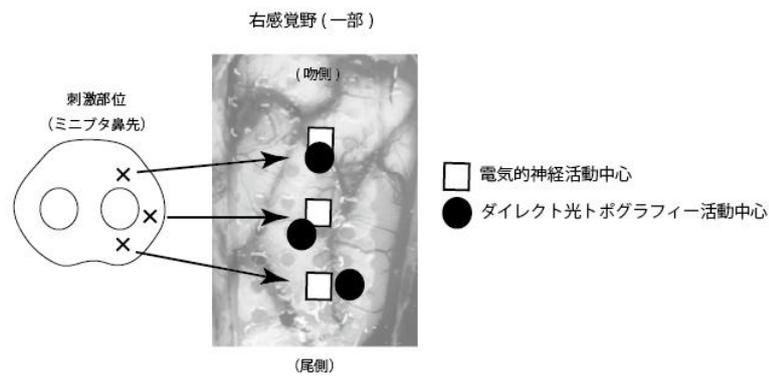
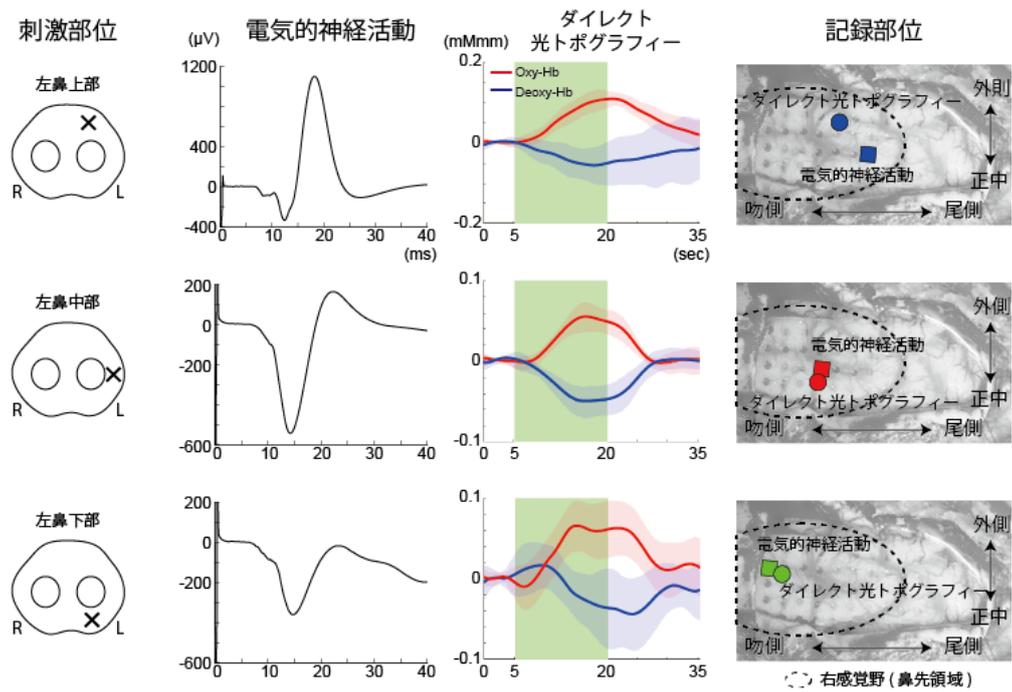
実験では、ミニブタの左鼻上部に4Hz(1秒に4回)の電気刺激を15秒間流し、20~30秒間の休息を与えました。この刺激-休息のセットを10回繰り返しました。さらに、左鼻中部、左鼻下部にも同様の刺激を加えました。また、対照実験として、反対側の右鼻にも同様の刺激を加えました。

このようにして得られた脳血流反応(oxyHb)の時系列データを「適応型一般線型モデルによる回帰分析」という新たに開発された解析手法によって解析しました。この手法は、ある刺激に対して一般的に予想される血流反応をモデル関数として予想し、このモデル関数と計測データがどの程度当てはまるかを調べる手法です。この部分が「一般線形モデルによる回帰分析」に相当します。ただし、麻酔下での血流反応は、通常よりも遅くなったりする可能性があるため、反応のずれを考慮した解析を行う必要があります。ここが「適応型」に相当する部分です。

この手法によって、観測データを解析したところ、脳神経活動計測の結果と同様に、ミニブタの左鼻先の上部、中部、下部を電気で刺激したところ、それぞれ、脳の右半球吻側部の前部、中部、後部で脳血流反応のピークが観察されました。同時に計測された神経活動の計測でも予想通りの神経応答が確認されました(図4、図5)。一方、反対側の右鼻先の刺激では、そのような血流反応の変化は検出されませんでした。同時に計測された神経活動の計測でも神経応答が検出されませんでした。

本内容は1月14日12時に解禁です。それ以降、報道へのご活用をお願いいたします。

平成 26 年 1 月 14 日
 学校法人自治医科大学・学校法人中央大学・学校法人京都産業大学



これらの結果については、実験を実施した3頭のミニプタ全てで再現が確認されました。これらの結果を総合して、我々は、ダイレクト光トポグラフィーは、脳神経細胞の電気生理的計測と同様

本内容は1月14日12時に解禁です。それ以降、報道へのご活用をお願いいたします。

平成 26 年 1 月 14 日

学校法人自治医科大学・学校法人中央大学・学校法人京都産業大学

に、大脳皮質の血流反応を高精度で計測することが可能であり、ミニブタの鼻先の刺激位置を脳内感覚マップとして高い精度で分離することが可能であることを明らかにしました。

〈今後の期待〉

今回の研究は2つの重要な科学的意義を有しています。第一に、ダイレクト光トポグラフィーは従来の光トポグラフィー計測の空間解像度を飛躍的に向上させました。今回の結果では、約3mmの間隔で設置された計測チャンネルから、約7mm離れた脳領域の機能的分化を分離することができました。これは、従来の光トポグラフィーの空間解像度を1桁上げたこととなります。このような高精度の脳機能イメージング法を現段階でヒトに直接適用することは倫理的な理由から困難ですが、ダイレクト光トポグラフィー計測の実現は、動物実験を通じた脳機能イメージングの基礎研究にブレークスルーをもたらすことが可能です。すなわち、光トポグラフィーの問題点であった空間解像度を向上させ、ミリメートル単位の機能画像構築が実現可能となります。特に、近年急速な進歩を遂げている光による3次元画像再構築法である光拡散トモグラフィー技術への応用が期待されます。本研究は、光による脳機能画像構築の限界への挑戦を推進することになるでしょう。

第二に、本研究は開頭手術中の脳機能イメージングを実現するための重要な布石を提供します。光トポグラフィーは簡便にかつほぼリアルタイムで脳血流状態を観察できる技術でありながら、開頭手術中など必要性が求められる状況に十分に対応できていませんでした。大脳皮質からのダイレクト光トポグラフィー計測がヒトで可能になれば、患者の言語や運動に関連する脳領域を正確に同定するなど、臨床現場における応用範囲はさらに広がると考えられます。さらに、我々の開発した方法は既存の機器を流用して実現することが可能です。このため、今回使用したプローブホルダーをより高性能で安全なものに改良すれば、ヒト臨床試験への応用は十分実現可能であると予想されます。

今後は、動物実験を通し、ダイレクト光トポグラフィーの技術的最適化と原理究明を目指していくとともに、ヒト臨床応用に向けた安全性の向上にも取り組んでまいります。これにより、今後のヒト臨床応用への礎を築き、ダイレクト光トポグラフィーを実用化するための基盤技術を整備していく予定です。特に、本研究で得られた研究シーズを発展させ、脳の表面に接する部分をシート状に一体化させた計測ユニットの開発に挑戦します。光計測ユニットの取扱いを簡便にすることで計測のための処置時間の短縮を図り、滅菌処理を容易にします。このような技術は、開頭手術中の脳血流反応モニタリングを簡便にするだけでなく、埋込型の光計測ユニットの実現にもつながります。埋込型の光計測ユニットによって、ベッドサイドでの長時間の高精度脳機能モニタリングが可能となり、てんかん発作の焦点決定などの臨床応用に大きな効果を発揮し、脳神経外科学におけるエポックを創出すると期待されます。

〈謝辞〉

本研究は、科学研究費補助金挑戦的萌芽研究(25670625)、基盤研究B(23390354、25282243)、基盤研究C(24500480)の支援を一部受けて行われました。

本内容は1月14日12時に解禁です。それ以降、報道へのご活用お願いいたします。

平成 26 年 1 月 14 日
学校法人自治医科大学・学校法人中央大学・学校法人京都産業大学

〈本成果の発表論文〉

タイトル:

Direct cortical hemodynamics mapping of somatotopy of pig nostril sensation by functional Near-infrared Cortical Imaging (fNCI).

(機能的近赤外皮質イメージング法によるブタ鼻感覚脳内表象の直接皮質血流動態計測)

著者: 宇賀美奈子^{1,2}、齋藤敏之^{1,3}、佐野俊文¹、横田英典⁴、小黑恵司⁴、エドミ・エジソン・リジキ⁴、水谷勉⁴、桂卓成⁵、檀一平太^{1,2,*}、渡辺英寿^{1,2,4}

¹ 自治医科大学医学部先端医療技術開発センター

² 中央大学研究開発機構

³ 京都産業大学総合生命科学部

⁴ 自治医科大学医学部脳神経外科学講座

⁵ 日立製作所中央研究所

*応答著者(檀 一平太)

掲載誌:NeuroImage 電子版 (2014 年 1 月 11 日)

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811914000081>

〈問い合わせ先〉

自治医科大学

研究に関すること

渡辺英寿(わたなべ えいじゅ)(自治医科大学 医学部 脳神経外科学講座 教授)

〒329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311-1

Tel: 0285-58-7373

E-mail: eiju@jichi.ac.jp

広報に関すること

飯村久恵(いいむらひさえ)(自治医科大学研究支援課)

〒329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311-1

Tel:0285-58-7550

E-mail: shien@jichi.ac.jp

中央大学

研究に関すること

檀一平太(だん いっぺいた)(中央大学理工学部人間総合理工学科/研究開発機構 教授)

〒112-8551 東京都文京区春日1-13-27

Tel: 03-3817-7272

E-mail: dan@brain-lab.jp

本内容は1月14日12時に解禁です。それ以降、報道へのご活用お願いいたします。

平成 26 年 1 月 14 日
学校法人自治医科大学・学校法人中央大学・学校法人京都産業大学

広報に関すること

加藤裕幹(かとうゆうき)(中央大学研究支援室)

〒112-8551 東京都文京区春日1-13-27

Tel: 03-3817-1603

E-mail: k-shien@tamajs.chuo-u.ac.jp

京都産業大学

研究に関すること

齋藤敏之(さいとう としゆき)(京都産業大学 総合生命科学部 動物生命医科学科 教授)

〒603-8555 京都市北区上賀茂本山

Tel: 075-705-3073

E-mail: saito3ys@cc.kyoto-su.ac.jp

広報に関すること

京都産業大学学長室広報担当

〒603-8555 京都市北区上賀茂本山

Tel: 075-705-1411

E-mail: kouhou-ka@star.kyoto-su.ac.jp

〈用語の解説〉

・光トポグラフィ:近赤外分光法(near-infrared spectroscopy :NIRS)、機能的近赤外分光分析法(fNIRS)、光機能イメージング法などとも呼ばれる。近赤外光を利用し、脳神経活動によって引き起こされる局所的な脳血流の変化を、血中の酸素化ヘモグロビンと脱酸素化ヘモグロビンの濃度変化からモニターする計測法である。他の脳機能イメージング法と比較して、装置がコンパクト、低拘束、完全無侵襲といった利点を持つ。

・ミニブタ:研究目的で品種改良により矮小化されたブタで、成熟しても体重が 50kg 程度にしかない品種を指す。ブタは皮膚構造や臓器の構造がヒトに近く、医学・生命科学の分野では実験動物としての需要が増えている。しかし、家畜ブタは成熟すると体重が 100kg を超える。長期飼育した場合に体重増加も大きく、取り扱いが難しかった。実験動物用に品種改良したミニブタでは、20Kg から 40kg のものが実験や医学研修に比較的良好に使用される。

自治医科大学にはブタを対象とした大型実験施設があり、種々のミニブタを利用した医学研究・医学研修が行われている。

なお、本研究で用いられているメキシカンヘアレスブタはメキシコ原産で、独立行政法人 家畜改良センターが改良しているミニブタの系統であり、皮膚が薄く体毛が少ないことが特徴である。