

独立成分分析法を用いた鍼刺激に関連する脳の機能的結合の検討

眞野 博彰*

明治国際医療大学大学院鍼灸臨床医学

要 旨 鍼刺激は広範な脳の領域に脳活動を引き起こし、さらにその影響は鍼刺激終了後も持続すると考えられる。本研究では、血行動態モデルを仮定する仮説検証型解析法である回帰分析法と、仮定しない探索的解析である独立成分分析法を用い、右合谷穴燃鍼刺激時、鍼刺激後安静時、安静時の脳活動を比較検討した。

独立成分分析によって鍼刺激時、鍼後安静時、安静時の各データから各 15, 17, 24 の機能的結合を得た。これらの機能的結合の空間相関から、各条件における機能的結合の類似性および固有性を検討し、燃鍼時固有の機能的結合に、仮説検証型解析ではみとめなかった頭頂小葉、視床、帯状回、側頭回などの痛み、情動、記憶、注意関連領域をみとめた。また、鍼後安静時において、後頭極、外側後頭皮質、紡錘状回、舌状回、楔部など視覚野に広がる機能的結合と、一次・二次体性感覚野、補足運動野、帯状回や海馬傍回などの辺縁皮質領域を含む固有の機能的結合をみとめた。

本研究では、鍼刺激時に、従来の仮説検証型の解析法では捉えられなかった領域を含む機能的結合を捉えた。また、鍼刺激終了後の安静時脳活動において、鍼刺激の影響と考えられる機能的結合を捉えた。

Key words 鍼 Acupuncture, 機能的磁気共鳴画像法 Functional MRI, 機能的結合 Functional Connectivity, 安静時脳活動 Resting State Network, 独立成分分析法 Independent Component Analysis (ICA)

Received November 28, 2008; Accepted January 14, 2009

1. はじめに

現在、機能的磁気共鳴画像法 (functional Magnetic Resonance Imaging; fMRI) は優れた非侵襲的脳機能画像法の一つとして様々な脳機能研究に用いられている。fMRI では、脳局所の神経活動亢進に伴う局所血流の増加と酸化ヘモグロビンの相対的増加による MR 信号増加 (blood oxygenation level dependent (BOLD) 効果) を、ミリメートル単位の空間分解能と秒単位の時間分解能で捉えることができる¹⁾。

これまでいくつかの論文で fMRI を用いて鍼刺激に関連する脳活動を捕捉する試みが報告されてき

た。福永らは右合谷穴への鍼通電刺激時に、両側縁上回 (二次体性感覚野 secondary somatosensory area (S2)) から島、内側前頭回、帯状回の賦活を報告している²⁾。また、Yoo らは、合谷への燃鍼時に、中心前回、中心溝底部、外側溝の後下方向に広がる二次体性感覚野の賦活を報告している³⁾。これらの先行研究は、単一刺激に対する血行動態反応のモデルである血行動態反応関数 (Hemodynamic Response Function; HRF) を仮定し、刺激パラダイムにこのモデルを当てはめて得られた時系列変化 (参照関数) に相関して MRI 信号が変化する領域を、脳賦活領域とする。しかしながら、仮定した血行動態変化に合致しない領域、あるいは血行動態変化を予測できない脳活動は、脳活動領域として検出できない。

一方、近年発達してきている fMRI を用いた脳研

*連絡先: 〒 629-0392 京都府南丹市日吉町
明治国際医療大学脳神経外科
TEL: 0771-72-1181, FAX: 0771-72-0234
E-mail: mano@meiji-u.ac.jp

究分野の一つに、刺激を伴わない安静時脳活動の研究がある。このなかに、脳の領域間の経時的信号変化の相関関係を調べることで、それぞれの活動領域の相互関係を評定する、機能的結合 (Functional Connectivity; FC) 解析と呼ばれる試みがある^{4,5)}。

機能的結合の解析には幾つかの方法があるが、なかでも音声などの混合信号の信号源分離の分野で発達してきた技術である独立成分分析法 (Independent Component Analysis; ICA) は、近年 fMRI の機能的結合解析に応用されるようになり、HRF を仮定せずデータからアーチファクトや機能的結合を分離できる手法として注目されている⁶⁻⁸⁾。機能的結合解析のもう一つの解析法で、設定した関心領域 (シード) の経時的信号変化と相関するボクセルを求める相互相関解析 (Cross-Correlation Analysis; CCA) 法に対し、独立成分分析法はシードを設けずに全脳の領域間の相関関係を検出でき、HRF の仮定も必要ないため、データ駆動型解析法 (Data-driven Analysis) 探索型解析法 (Exploratory Analysis) などと呼ばれる⁹⁻¹¹⁾。この方法は、血行動態反応の仮定が成り立たない全脳の未知なる脳活動の機能的結合を解析する方法として適している。

安静時脳活動研究分野において発達してきた探索型解析法の中心的手法が独立成分分析法であるが、本手法により分離される独立成分の中には、生体由来のアーチファクトや、MRI 測定系由来のアーチファクトなど、様々なノイズも含まれる。現在、分離された独立成分のなかからこれらのアーチファクトを判別する明確な基準は存在しないが、MRI 測定系由来のアーチファクトは高周波の周波数分布が比較的多く、また周期性をもった生体由来のアーチファクトとしてあげられる心拍は約 1Hz、呼吸は約 0.3Hz 前後の周波数である。従って、これらの成分を含まない 0.1Hz 以下の周波数の成分が、脳活動に由来すると考えられ、多くの研究が脳活動解析の判別の基準としている¹²⁾。また、このような独立成分における、脳の各領域の相関の度合いを反映した独立成分マップ (以下 IC マップ) には、特定の領域に広がる共通するマップがいくつかあり、同一被験者内および被験者間でこれらの再現性をみとめたという報告がある¹³⁻¹⁵⁾。

機能的結合の生理学的な解釈についての議論はあるが、うつ病患者群と健常被験者群の安静時脳活動の比較を行い、うつ病患者群における膝下野と視床の機能的結合の有意な増大をみとめた報告¹⁶⁾や、アルツハイマー病患者群と健常被験者群の比較において、帯状回後部と海馬の機能的結合の有意な低下をみとめたことなどから、関連する機能的結合を初

期アルツハイマー病の判別の生物指標として提案する報告¹⁷⁾などがある。現在このように、機能的結合を指標に脳機能を評価する試みがなされている。

独立成分分析法を導入して鍼刺激時と鍼刺激後の安静時の脳活動の機能的結合を解析することにより、これまでの HRF を仮定した手法では捉えることが出来なかった鍼刺激に関連する脳の活動を明らかに出来る可能性がある。本研究では、鍼刺激が脳に及ぼす影響を検討することを目的として、撚鍼時の脳活動を、従来の仮説検証型解析法と、探索型解析法である独立成分分析法を用いて検討する。また、鍼刺激後の脳活動への影響を検討するため、探索型解析法である独立成分分析法を用いて、鍼刺激後の安静時脳活動と鍼刺激の関係ない安静時脳活動を機能的結合を基に比較検討する。

II. 対象と方法

1. 対象

健常被験者 14 名 (男性 11 名, 女性 3 名, 20-31 歳, 右利き) を測定対象とした。諸々の理由により 4 名のデータが不採用となり (後述), 最終的な解析対象としたのは 10 名 (男性 8 名, 女性 2 名) であった。

被験者全員に対して、本実験の目的および実施方法、実験により発生すると考えられる危険性について説明を行い、同意を得た上で本実験を実施した。なお本実験は明治国際医療大学倫理委員会で承認を受けた上で実施した (承認番号: 20-7)。

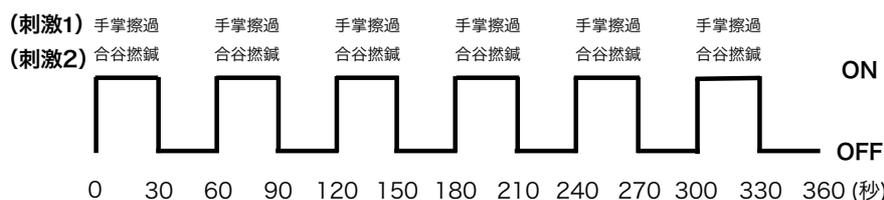
2. 方法

1) 刺激

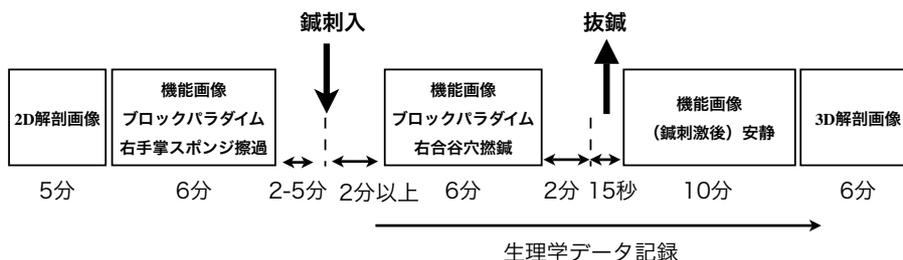
全ての測定において、被験者に仰臥位、閉眼を指示した。また、機能画像測定中に睡眠状態におちっていないかどうかを確認するために、測定に伴い MR 装置より発せられる撮像音停止後、直ちに開眼するよう指示し、実験者が確認を行い、約 5 秒以内に開眼できたかどうか判別した。また、撮像中の覚醒を、5 段階 (1: 寝た, 2: 眠かった, 3: 普通, 4: 意識がさえていた, 5: 興奮していた) で自己評価をさせた。約 5 秒以内の開眼が確認でき、かつ覚醒の自己評価が 3 以上であった測定データを採用した (実験では、5 秒以内に開眼できなかった 1 名のデータが不採用となった)。

(i) 刺激 1. 右手掌スポンジ擦過刺激

右手掌に対し、家庭用食器洗浄用スポンジの粗面を利用し、約 2Hz の頻度で、手動で遠位・近位方向に双方向の擦過を行った。30 秒間の刺激と安静を交互に 6 回ずつ繰り返すブロックパラダイムを用



<実験 1>



<実験 2>

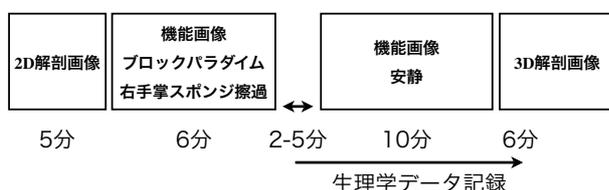


図 1 刺激・実験パラダイム. 上段：(刺激1) 右手掌スポンジ擦過刺激ならびに(刺激2) 右合谷穴鍼撚刺激にて用いられた、30秒間の刺激と30秒間の安静を交互に6回ずつ繰り返すブロックパラダイム. 中段：実験1の流れ. 2次元解剖画像取得後、ブロックパラダイム形式の右手掌スポンジ擦過刺激時の機能画像を測定した. この後、右手合谷穴に刺針操作し、1cmから1.5cm程度刺入した. 生理学データの記録を開始し、続いてブロックパラダイム形式の右合谷穴撚鍼刺激時の機能画像を測定した. 続いて抜鍼後、鍼刺激後安静時の脳活動の測定をした後、生理学データの記録を終え、最後に高精度3次元解剖画像を取得した. 下段：実験2の流れを図に示す. 2次元解剖画像取得後、ブロックパラダイム形式の右手掌スポンジ擦過刺激時の機能画像を測定した. 続いて、安静時脳活動の機能画像を測定し、これと同時に生理学データの記録を行った. 最後に高精度3次元解剖画像を取得した.

いた(図1).

他の刺激に伴う脳活動測定データに、探索型解析である独立成分分析を行う場合、想定される結果がないため、測定が正しく行われていたか確認できない. そのため、従来の仮説検証型解析方法で既知の脳活動を確認し、正しく測定が行われたか検証可能にするため、本刺激系を組み入れた. すなわち、右手掌スポンジ擦過刺激で想定される脳活動がとらえられなかった場合は、そのデータを使用しないこととした.

(ii) 刺激2. 右合谷穴撚鍼刺激

右合谷穴に対し、ディスク銀鍼(直径 ϕ 0.2mm, 長さ39mm, アサヒ医療器)を、深度1-1.5cmで刺入した. 消毒・刺針操作の影響を排除するために、2分以上経過後に、約1Hzの頻度で撚鍼手技を行った. 測定中、押し手は行わず、刺激部位への鍼以外の刺激を除外した. 30秒間の刺激と安静を交互に6回ずつ繰り返すブロックパラダイムを用いた. 6回

目の30秒間の安静終了後、2分の間隔をあけて抜鍼を行った(図1).

(iii) 刺激3. 安静

10分間の無刺激状態を続けた.

2) 実験

(i) 実験1

測定の検証のための擦過刺激に続けて、撚鍼、鍼刺激後安静において測定を行った(図1).

(ii) 実験2

実験1と同じ被験者に対し、安静時脳活動を測定するために、別の日に行った. 測定の検証のための擦過刺激に続き安静において測定を行った(図1).

3) 測定方法

(i) MRI測定装置および測定方法

1.5T臨床用MR装置(Signa LX, GE, USA)および標準ヘッドコイルを用いた. 被験者にはMRIテー

ブル上に仰臥位となり、極力頭部の動きを抑えるように指示し、標準ヘッドコイル内で、ベルトで頭を固定した。被験者間での結果の比較を可能にするため、脳の位置および部位の補正のための高分解能2次元および3次元解剖学的画像の撮像を行った。これらの画像をもとに、空間的標準化を行った。2次元解剖画像は、spin echo法 (TR = 500ms, TE = 15ms, Flip angle = 20°, Matrix size = 256 × 192, FOV = 220mm, スライス厚 = 4mm, スライス間ギャップ = 1mm, スライス数 = 30, 積算回数 = 1, 水平断) を使用した。3次元解剖画像には、3D fast gradient echo法 (TR = 6.8ms, TE = 1.6ms, Flip angle = 20°, Matrix size = 256 × 192, FOV = 220mm, スライス厚 = 1.4mm, スライス数 = 124, 積算回数 = 1, 測定時間 = 2min 42s, 水平断) を使用した。脳機能画像は、2D gradient echo - echo planar imaging (GRE-EPI)法 (TR = 3000ms, TE = 50ms, Flip angle = 90°, Matrix size = 64 × 64, FOV = 220mm, スライス厚 = 4mm, スライス間ギャップ = 1mm, スライス数 = 30, 積算回数 = 1, 水平断) を使用した。右手手掌スポンジ擦過刺激、右合谷穴撚鍼刺激では1回の測定あたり120回連続して撮像を行い6分間に合計3600枚 (120 × 30スライス) の画像を撮像した。安静時データは1回の測定あたり200回連続して撮像を行い10分間に合計6000枚 (200 × 30スライス) の画像を撮像した。

(ii) 生理学データ記録装置および測定方法

独立成分分析を行うデータから心拍動・呼吸由来のアーチファクトを低減する目的で、MRI測定装置に備え付けられた脈波計とレスピレーションバンドをそれぞれ被験者の右手示指末節指腹および上腹部に取り付け、心拍周期 (脈波間隔周期) および呼吸周期をモニターした。

これらの信号は、MRIデータ取得に対する正確な時間情報を得るためのトランジスタートランジスタロジック (TTL) パルスと共に、1000HzのサンプリングレートでDAQカード (National Instruments Corp., Austin, TX, USA) によりデジタルライズされ、Windows XP SP2オペレーションシステム上で作動するソフトウェアLabview (National Instruments Corp., Austin, TX, USA) 上で組まれた自作システムを通じ、コンピューターのハードディスクに記録した。

4) 画像解析

ハードウェア及びOSはIntel社製2GHz Core Duoプロセッサと2MB 667MHz DDR2 SDRAMのメモリーを搭載したiMacコンピュータ (Apple,

Cupertino, CA, USA) 上で、Mac OS Xバージョン10.4.11をOSとして用いた。画像解析には、Matlab 7.4 (Mathworks, USA) とfMRI Software Library (FSL, University of Oxford, UK) を使用した。

(i) 仮説検証型解析

実験1および2の右手掌スポンジ擦過刺激時データと、実験1の右合谷穴撚鍼時データに対し、回帰分析をおこなった。

(a) 頭部動揺補正

測定で得られた機能画像全てに対して、FSLのアドインであるmcflirtを用いて測定中の被験者の頭部動揺の評価と補正を行った。これは、fMRIのアーチファクトの一つである頭部動揺により生じる擬陽性の脳活動を低減するためである。例えばある領域において、頭部動揺により無信号領域と有信号領域が移動すると、擬似性の活動が出現する。このアーチファクトを出来る限り統計解析の前に低減させる為この処理を行った。各測定における機能画像の最初一枚を基準として、(X, Y, Z)の各軸に対し、検出された頭部動揺が1ピクセルの大きさの約29パーセント以上 (約1mm以上) の動きがあったデータは不採用とした (1名のデータが不採用となった.)。

(b) 空間的平滑化

この後、信号雑音比の改善のため、各ボクセルに対し画像の上下前後左右にそれぞれ半値幅5mmのGaussian kernelを用い空間的平滑化を行った。

また時間方向に対し、最大カットオフ周波数が各機能画像のサンプリング時間の半分の長さになるハイパスフィルターを適用し、低周波のドリフト成分を除去した。

(c) 空間的標準化

これら空間的前処理の最後に、体動補正後の画像データに対し、空間的標準化 (spatial normalization) を行った。通常、脳の形態には個人差があるため、被験者間での比較はできない。各被験者個人のデータを合わせグループ化して解析するためには、個人の脳を標準脳に空間的正規化させる必要がある。このためにMcCormell Brain Imaging Center of the Montreal Neurological Institute (MNI) が作成したMNIテンプレートを標準脳として採用し、機能画像を二次元解剖画像へマッチさせ、これをさらに三次元解剖画像へマッチさせた。これをさらに標準脳にマッチさせた。各個人の脳を標準脳に変形することで、グループ解析を可能にした¹⁸⁻²¹⁾。

(d) 統計解析

採用されたデータに対し、空間的前処理を行った後、手掌擦過時および撚鍼時データを、FSLのアド

インである Feat を用いて、仮説検証型の統計解析を行った。手掌擦過時データは個人解析を行い、撚鍼時データはグループ解析を行った。仮定した HRF とブロックパラダイムからなる参照関数に有意に適合するボクセルを求めた。多重比較補正を加えた有意水準 5%未満を有意とした。

(ii) 探索型解析法

実験 1 の右合谷穴撚鍼時データと鍼刺激後安静時データ、実験 2 の安静時データに対し、独立成分分析をおこなった（データの欠損と信号の折り返しによる MR 測定系の問題により 2 名のデータが不採用となった）。

頭部動揺補正を行った後、生理学データを用いたフィルタリング処理を行った。次いで、仮説検証型解析と同様に、空間的平滑化、空間的標準化を行った。探索型解析法に特有の生理学データを用いたフィルタリング処理は次のように行った。fMRI の信号は、心拍動や、呼吸時の胸部運動に伴う頭部のわずかな動揺や脳の拍動による脳脊髄液の動きなどによって変化を生じる。これらの変動を低減する目的で、Non-parametric mapping (NPM, University of South Carolina, South Carolina, USA) のアドインである Physiological Noise Reduction Tool (P.A.R.T.) を用い、AD コンバータを通してコンピュータに取り込んだ心拍及び呼吸の変動から fMRI 計測データを補正した。具体的には、心拍 1 周期を 40 と、呼吸 1 周期を 20 の位相に分割し、計測した機能画像をもっとも近かった位相に振り分け、平均化し、心拍および呼吸による信号変動を導出し、機能画像データから差し引くことで、これらの影響を低減する。この手法は、安静時 fMRI 解析の前処理として有効であると考えられている²²⁾。次に統計解析として、撚鍼時データ、鍼刺激後安静時データ、安静時データについて、FSL のアドインである Melodic を用いて、各条件のグループ独立成分分析を行った。P > 0.5 を有意とし、これを超えるボクセルを有意な独立成分のあったボクセルとした。Melodic では独立成分の有意性を、ベイズ推定のフレームワークを利用して求める。通常の統計手法では、観測データは、背後にある直接観測できない母集団から、ある確率（母数）を伴って発生する確率変数と解釈し、標本から母数の推定量を求める。一方、ベイズ推定では、観測データは母集団にあるデータ発生機序から、最大の確率を伴って発生すると考えられ、観測データは固定される。代わりに、未知の母数が確率変数であると解釈し、その尤度が最大の状態の未知の母数を求める。Melodic における信号の推定では、データは 2 つの確率分布モデルをもつ母数の混合か

らの観測と考えるガウシアン-ガンマ-ミクスチャーモデル (Gaussian gamma mixture model) が使用される。各ボクセルにおいて、無信号として棄却される帰無仮説に正規分布を、信号として採用される対立仮説にガンマ分布を仮定し、無信号の帰無仮説の尤度 0.5 に対する、信号の対立仮説の尤度からの尤度比 P を事後確率として求め、P > 0.5 となるボクセルを有意とする^{23,24)}。

(a) 独立成分の選定

Cordes らは、TR = 400 ミリ秒で fMRI を計測し、刺激提示時もしくは課題遂行時に相関をみとめた視覚野、聴覚野、体性感覚野の皮質領域のボクセルの経時信号変化の周波数成分分布を調べた結果 0-0.1Hz の周波数帯が概ね 90%以上であったと報告している¹²⁾。このことから fMRI データに低周波数成分を多く含む部位は脳機能活動に関連すると考えることができる。従って、今回 ICA で計算された信号の時間変動関数の中から 0-0.1Hz の周波数成分の寄与率の高い関数を脳機能活動に関連する時間変動関数とした。また、今回 TR = 3 秒でデータ測定を行っており、全体のパワースペクトル領域が狭いことを考慮して、0.1Hz 以下の周波数のパワースペクトルの寄与率の閾値を 80%とした。

(b) 機能的結合の空間相関の算出と分類方法

機能的結合マップに対し、マップの空間相関を調べた。各データから分離された機能的結合マップが、他の刺激条件で得られた機能的結合マップと空間的にどの程度相関・類似するか検討するために、各機能的結合マップの 2 値化画像を作成し、比較した条件において、これらの空間相関が相互に一番高く、かつ、相関係数 0.2 以上の機能的結合の組を関連づけた。De Luca らは、安静時脳活動の独立成分分析を行い、分離される独立成分の再現性を確認する目的で、複数被験者の複数回の安静時データから分離された IC マップにおける空間相関を調べている²⁵⁾。彼らは、相関の閾値として相関係数 0.15 (P < 0.00015) 以上を用いている。本研究ではより高い閾値を用い、空間相関に対してより厳しい検定をおこなった。

III. 結果

1) 仮説検証型解析の結果

(i) 右手手掌スポンジ擦過

実験 1、実験 2 ともに、刺激対側の左一次・二次体性感覚野、刺激同側の小脳に活動をみとめた (図 2)。すべての被験者において類似した結果をみとめた。MR 測定系の確認のため、これらの典型的な脳

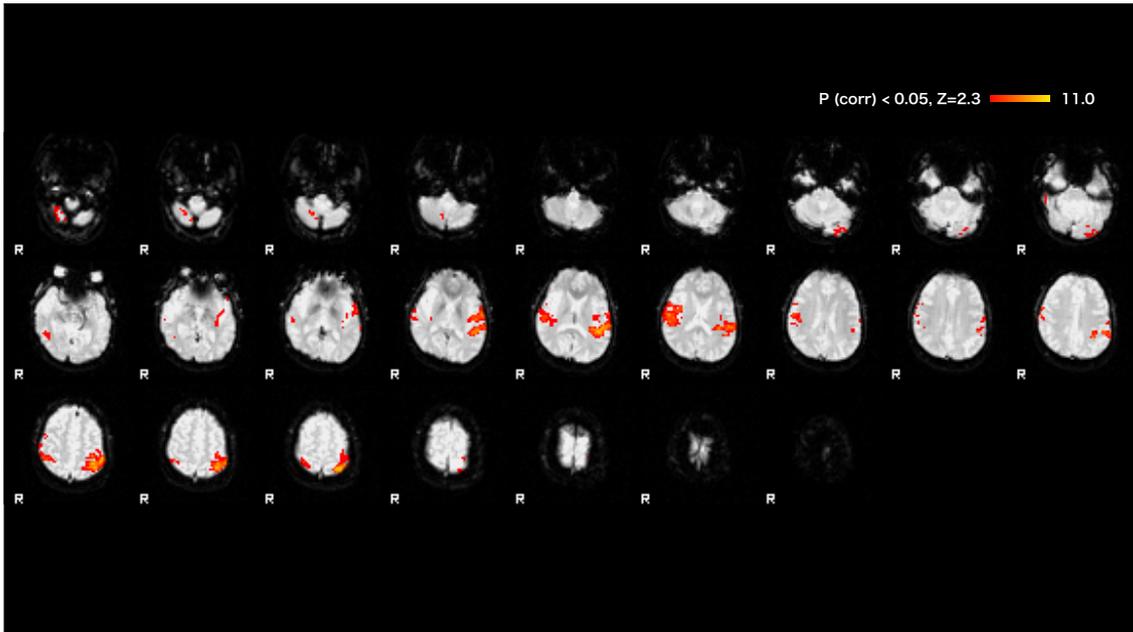


図2 右手掌スポンジ擦過刺激時脳活動。仮説検証型解析を行った右手掌スポンジ擦過刺激時の脳活動を示す。一例として、ある被験者から得られた脳活動マップを同一個人の水平断元画像上に重ね合わせて表示する。多重比較補正を行った有意水準Pが0.05未満のボクセルを脳活動とした。脳活動マップは正規化した統計量Zの2.3から11.0の範囲で表し、図右上にカラースケールを示す。本例では、刺激対側の左一次体性感覚野と両側二次体性感覚野、小脳に活動をみとめた。各画像の右側を図中にRで示す。

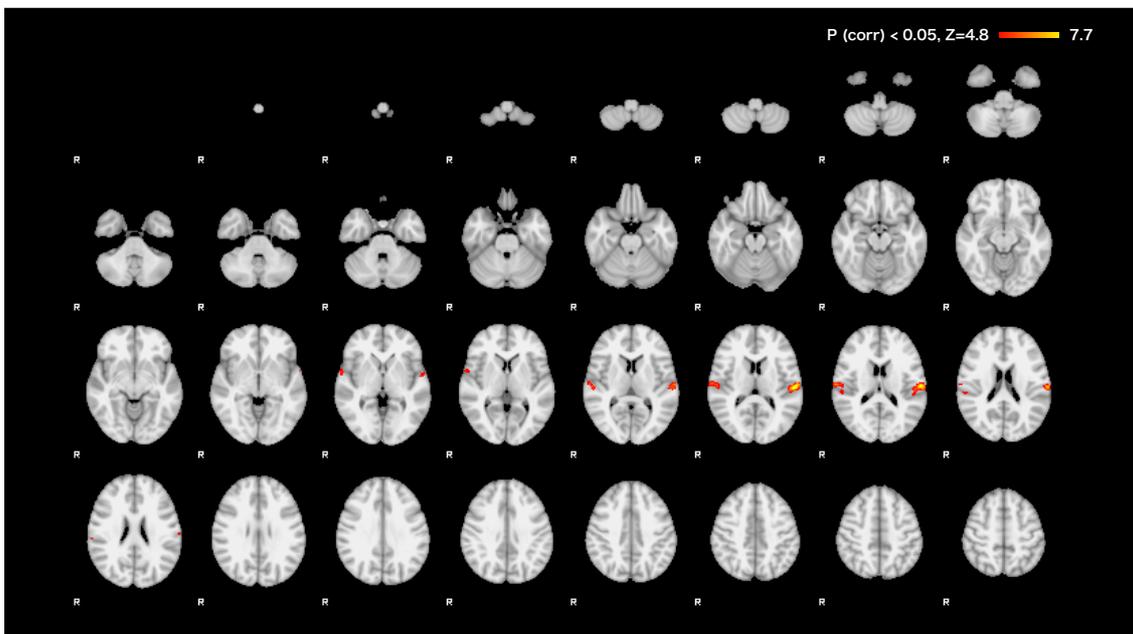


図3 右合谷穴撚鍼刺激時脳活動。仮説検証型解析を行った右合谷穴撚鍼刺激時脳活動を示す。グループ解析により、全被験者に共通する脳活動のマップを標準脳(MNIテンプレート)上に重ね合わせた水平断画像を示す。多重比較補正を行った有意水準Pが0.05未満のボクセルを脳活動とした。脳活動マップは正規化した統計量Zの4.8から7.7の範囲で表し、図右上にカラースケールを示す。縁上回前部、横側頭回、側頭平面、頭頂弁蓋皮質、ヘッシュル回、上側頭回に活動をみとめた。各画像の右側を図中にRで示す。

活動をみとめなかった場合には、データを不採用とすることとしていたが、全例に脳活動を確認できたため、この点により不採用となった被験者はいな

かった。

(ii) 右合谷穴撚鍼刺激

グループの解析の結果、縁上回前部、横側頭回、

表 1 機能的結合の空間相関

	鍼刺激	相関係数	鍼後安静	相関係数	安静
3条件全てに共通した 機能的結合	A02	0.43	PAR02	0.67	R15
	A04	0.28	PAR15	0.39	R19
	A05	0.37	PAR17	0.45	R20
	A09	0.42	PAR04	0.4	R18
	A10	0.37	PAR09	0.54	R21
	A11	0.52	PAR12	0.48	R05
	A14	0.44	PAR13	0.39	R13
	A15	0.62	PAR05	0.56	R08
3条件で部分的に共通した 機能的結合	(α) A07	0.32	PAR16	0.42	(ϵ) R07
	(β) A12	0.33	PAR03	0.29	(α) R01
	(γ) A01		PAR01	0.48	(δ) R09
	(δ) A03		PAR07	0.34	(γ) R02
	(ϵ) A06		PAR08	0.31	R12
	(ζ) A13		PAR10	0.43	R22
			PAR11	0.41	R03
					(β) R16
					(ζ) R04
					(α)0.29, (β)0.48, (γ)0.39, (δ)0.37, (ϵ)0.34, (ζ)0.31
各条件で固有の 機能的結合	A08		PAR06		R06
			PAR14		R10
					R11
					R14
					R17
					R23
					R24

右合谷穴撚鍼刺激 (A01-15)・鍼刺激後安静 (PAR01-17)・安静 (R01-24) の機能的結合の空間相関を示す。上段：右合谷穴撚鍼刺激と鍼刺激後安静 (A-PAR)，鍼刺激後安静と安静 (PAR-R)，右合谷穴撚鍼刺激と安静 (A-R) の3つの条件間全てで空間相関をみとめた，全ての条件に共通する機能的結合の組み合わせをしめす。中段：右合谷穴撚鍼刺激と鍼刺激後安静 (A-PAR)，鍼刺激後安静と安静 (PAR-R)，右合谷穴撚鍼刺激と安静 (A-R) の条件間のいずれかで，空間相関をみとめた組み合わせをしめす。右合谷穴撚鍼刺激と鍼刺激後安静 (A-PAR) は赤枠で，鍼刺激後安静と安静 (PAR-R) は青枠で囲み，右合谷穴撚鍼刺激と安静 (A-R) は各機能的結合の横にギリシャ文字の添え字を配し，対応する相関係数を中段下に示す。下段：各条件固有の機能的結合を示す。

側頭平面，頭頂弁蓋皮質，ヘシュル回，上側頭回に全被験者に共通する活動をみとめた (図3)。

2) 探索型解析 (独立成分分析法) の結果

撚鍼時データから分離された独立成分は A (Acupuncture)，鍼刺激後安静時データから分離された独立成分は PAR (Post Acupuncture Resting state)，安静時のデータから分離された独立成分は R (Resting state) として，各独立成分がもつ機能的結合を表示した (記載例:A01, PAR01, R01, …) (表1)。

- (i) 実験1
撚鍼時データから分離された機能的結合は計15であった (A01-A15)。
鍼刺激後安静時データから分離された機能的結合は計17であった (PAR1-PAR17)。
- (ii) 実験2
安静時のデータから分離された機能的結合は計24であった (R01-R24)。
- (iii) 機能的結合の空間相関
撚鍼時，鍼刺激後安静時，安静時の3つの全てに

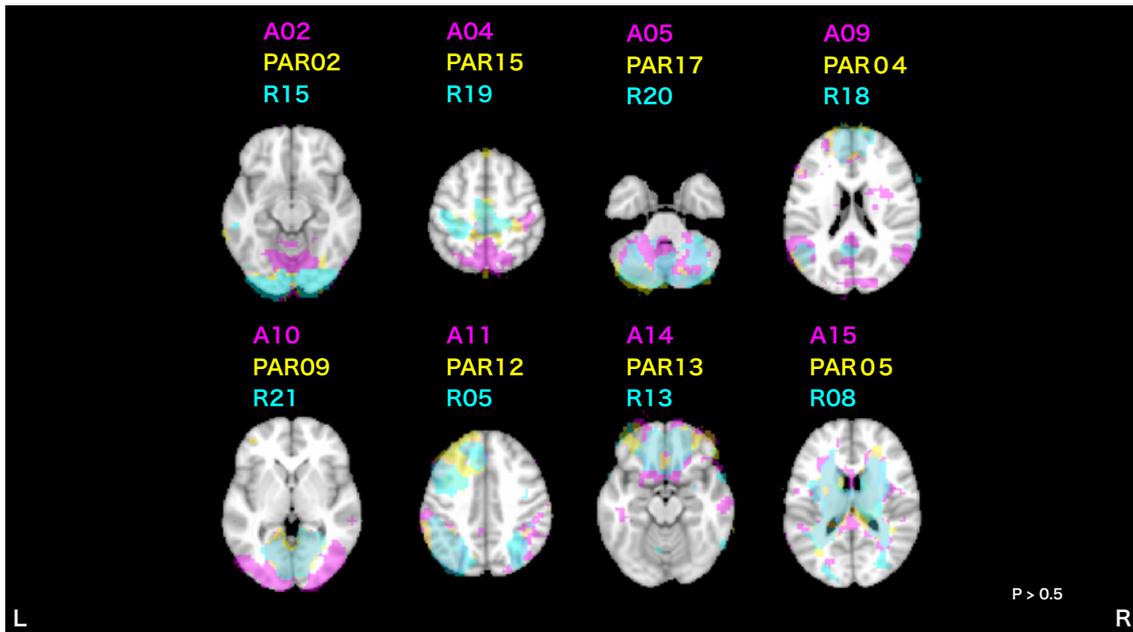


図4 右合谷穴撚鍼刺激・鍼刺激後安静・安静の3群全てに共通の機能的結合。右合谷穴撚鍼刺激・鍼刺激後安静・安静の全てに共通してみとめられた機能的結合マップを標準脳上に重ね合わせた画像を示す(右合谷穴撚鍼刺激(A):マゼンタ, 鍼刺激後安静(PAR):イエロー, 安静(R):シアン)。無信号の尤度0.5に対する信号の尤度から算出された事後確率が $P > 0.5$ のボクセルを有意な機能結合をもつボクセルとした。A02とPAR02とR15, A04とPAR15とR19, A05とPAR17とR20, A09とPAR04とR18, A10とPAR09とR21, A11とPAR12とR05, A14とPAR13とR13, A15とPAR05とR08の組み合わせであった。各組み合わせから、空間相関の特徴を示す部位の水平断画像を一枚ずつ示す。画像の左右を図中にLRで示す。

空間相関をみとめた組み合わせ(A-PAR-R-A)はA02とPAR02とR15, A04とPAR15とR19, A05とPAR17とR20, A09とPAR04とR18, A10とPAR09とR21, A11とPAR12とR05, A14とPAR13とR13, A15とPAR05とR08であった(図4)。これ以外に、撚鍼時と鍼刺激後安静時の機能的結合マップのなかで、空間相関が相互に一番高く、相関係数0.2以上であった組み合わせは、A07とPAR16, A12とPAR03であった。鍼刺激後安静時と安静時の機能的結合マップのなかで、空間相関が相互に一番高く、相関係数0.2以上であった組み合わせは、PAR16とR07, PAR03とR01, PAR01とR09, PAR07とR02, PAR08とR12, PAR10とR22, PAR11とR03であった。撚鍼時と安静時の機能的結合マップのなかで、空間相関が相互に一番高く、相関係数0.2以上であった組み合わせは、A07とR01, A12とR16, A01とR02, A03とR09, A06とR07, A13とR04であった。また、どの機能的結合マップとも空間相関をみとめない、各条件固有の機能結合があった。各条件固有の機能結合のうち、安静時固有の機能的結合マップがR06, R10, R11, R14, R17, R23, R24であった。両側側頭葉, 前頭葉, 帯状回, 頭頂葉, 後頭葉などに機能的結合をみとめた(図5)。撚鍼時固有の機能的結合マップがA08であった。A08は、前頭弁蓋,

帯状回周辺, 前帯状回, 上前頭回, 中心後回, 縁上回, 頭頂弁蓋, 側頭平面, ヘシュル回, 島, 視床, 脳幹部, 下頭頂小葉, 上頭頂小葉, 楔部, 上側頭回, 中側頭回, 下側頭回, 小脳に機能的結合をみとめた(図6)。鍼刺激後安静時固有の機能的結合マップはPAR06とPAR14であった。PAR06では、後頭極, 外側後頭皮質, 舌状回, 紡錘状回, 楔部, 小脳に機能的結合をみとめた(図7)。PAR14では、中心前回, 中心後回, 上頭頂小葉, 帯状回後部, 縁上回, 補足運動野, 上前頭回, 中前頭回, 側頭平面, ヘシュル回, 頭頂弁外部, 前帯状回, 前頭極, 中側頭回後部, 上側頭回後部, 側頭極, 眼窩前頭皮質, 下前頭回, 前頭弁蓋皮質, 下前頭回, 島皮質, 海馬傍回, 脳梁下部皮質, 中前頭皮質, 前頭極, 楔部に機能的結合をみとめた(図8)。

IV. 考察

右合谷穴撚鍼刺激データの仮説検証型解析により、有意な賦活がみとめられた縁上回前部, 頭頂弁蓋皮質などの領域は二次体性感覚野(S2)として知られている。これらの領域の賦活は、合谷穴を対象とした福永やYooらの先行研究^{2,3)}の結果と一致している。Huiらは、安静と刺激を繰り返すブロックパラダイムを使用し、合谷穴刺激時に、側坐核, 扁

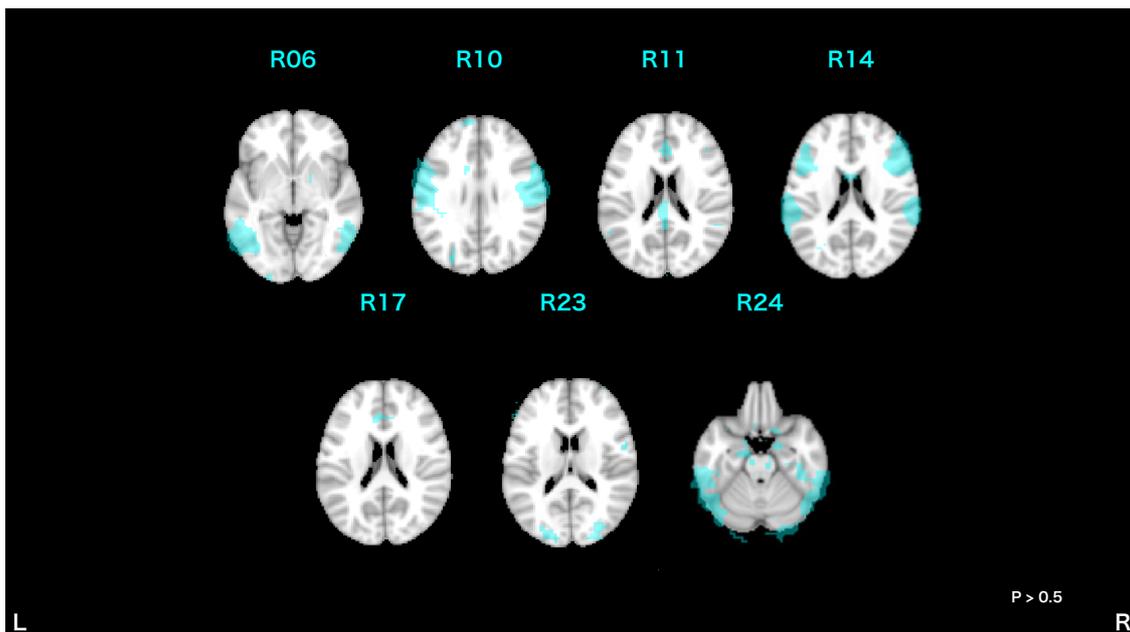


図5 安静時に固有の機能的結合. 安静時固有の機能的結合マップ R06, R10, R11, R14, R17, R23, R24 を標準脳上に重ね合わせ、各マップの特徴をあらわす水平断画像を一枚ずつ示す. 両側側頭葉, 前頭葉, 帯状回, 頭頂葉, 後頭葉などに機能的結合をみとめた. 事後確率 $P > 0.5$ のボクセルを有意とした. 画像の左右を図中に LR で示す.

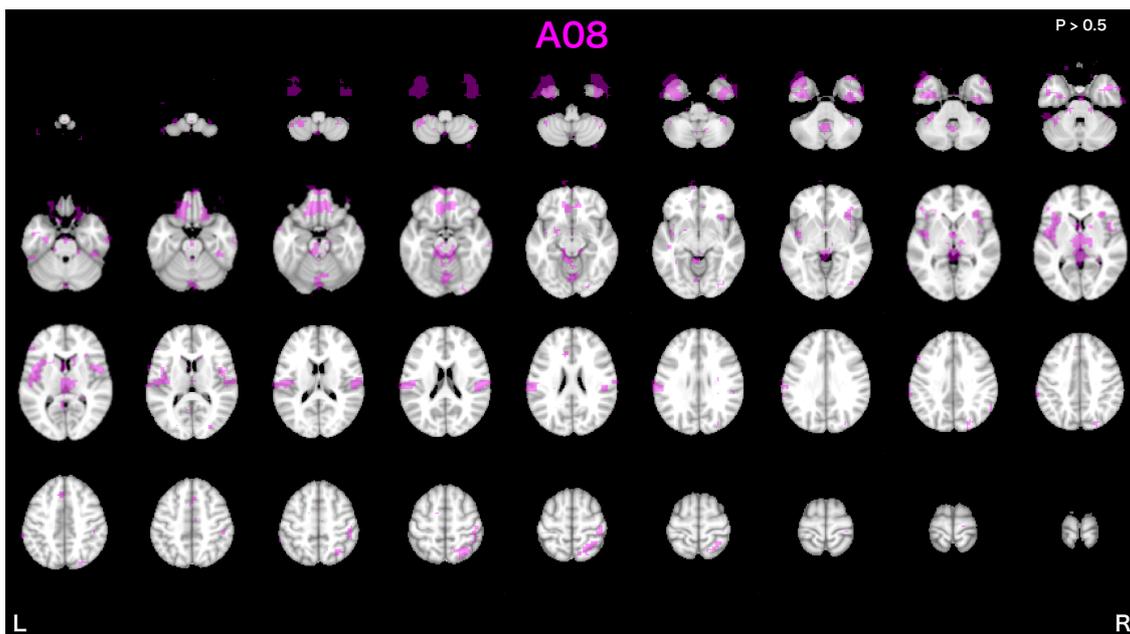


図6 右合谷穴撚鍼刺激に固有の機能的結合. 鍼刺激時固有の機能的結合マップ A08 を標準脳上に重ね合わせた水平断画像を示す. 前頭弁蓋, 帯状回周辺, 前帯状回, 上前頭回, 中心後回, 縁上回, 頭頂弁蓋, 側頭平面, ヘシュル回, 島, 視床, 脳幹部, 下頭頂小葉, 上頭頂小葉, 楔部, 上側頭回, 中側頭回, 下側頭回, 小脳に機能的結合をみとめた. 事後確率 $P > 0.5$ のボクセルを有意とした. 画像の左右を図中に LR で示す.

扁桃体, 海馬, 海馬傍回, 視床, 腹側被蓋領域, 前帯状回, 尾状核, 被殻, 側頭極, 島の信号低下をみとめ, 刺激時に痛みを伴った被験者では逆に, これらの領域の信号上昇をみとめたと報告し²⁶⁾, 表面的な体性感覚刺激でこれらの領域に信号変化をみとめ

ないことから, 鍼刺激によって修飾されるのは, このような辺縁系や皮質下領域であろうと結論づけている. 彼らの解析法は, 各ボクセルに, 安静と刺激のそれぞれのブロックの平均を算出し, それを比較するため, 信号低下領域にも言及している. fMRI

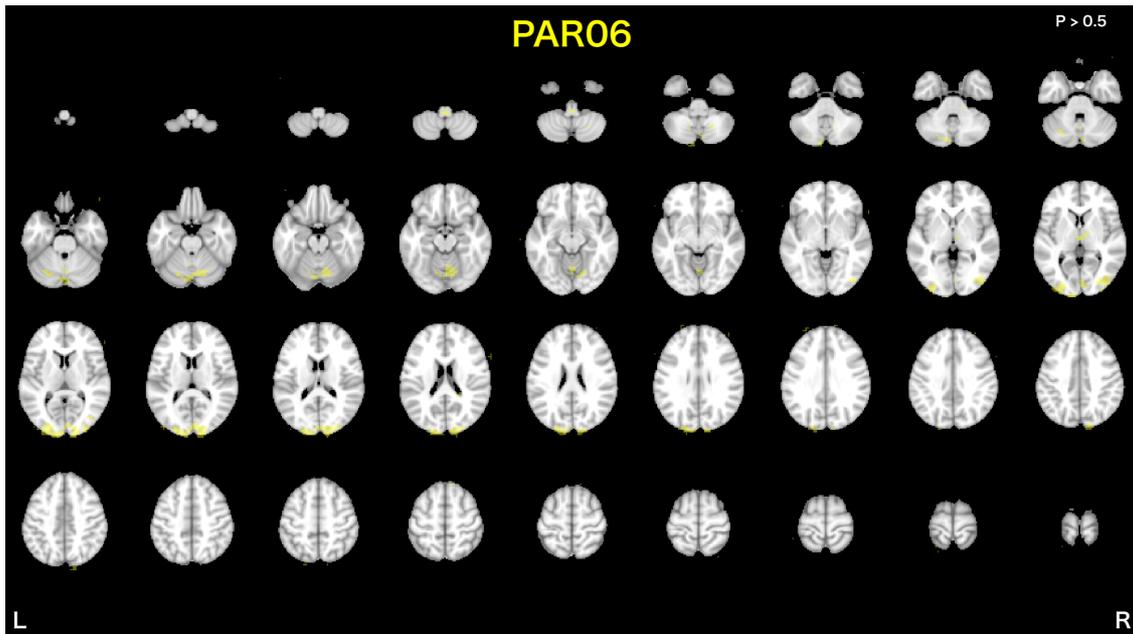


図7 鍼刺激後安静時に固有の機能的結合 PAR06. 鍼刺激後安静時に固有の機能的結合マップ PAR06 を標準脳上に重ね合わせた水平断画像を示す。後頭極、外側後頭皮質、舌状回、紡錘状回、楔部、小脳に機能的結合をみとめた。事後確率 $P > 0.5$ のボクセルを有意とした。画像の左右を図中に LR で示す。

を用いた研究には、刺激あるいは課題に対し、ネガティブな経時的信号変化を報告する研究もある²⁷⁾。しかし、fMRIにおける刺激関連性の信号低下は生理学的に解釈し難く、また HRF の仮定も十分でないため、本研究では検討を行っていない。

独立成分分析で他の刺激時の機能的結合マップと空間相関をみとめない撚鍼時に固有の機能的結合 A08 は、前頭弁蓋、帯状回周辺、前帯状回、上前頭回、中心後回、縁上回、頭頂弁蓋、側頭平面、ヘシュル回、島、視床、脳幹部、下頭頂小葉、上頭頂小葉、楔部、上側頭回、中側頭回、下側頭回、小脳にみとめた(図6)。S1 や S2 以外に、体性感覚刺激や痛みと関わるとされる視床や、痛み、情動、記憶、注意に関わるとされる帯状回などの辺縁系領域を含み、鍼刺激が広範な領域の脳活動をひきおこしていることを示すものである。

鍼刺激後安静時には、PAR06 と PAR14 の固有な機能的結合をみとめた。PAR06 では、後頭極、外側後頭皮質、舌状回、紡錘状回、楔部、小脳に機能的結合をみとめた。これらは二次および三次の高次視覚野領域も含み、それらは視覚注意や視覚の特徴抽出に関連するといわれている(図7)。視覚に関連する機能的結合が鍼刺激後の安静時に存在した可能性が示唆される。

PAR14 では、中心前回、中心後回、上頭頂小葉、帯状回後部、縁上回、補足運動野、上前頭回、中前頭回、側頭平面、ヘシュル回、頭頂弁外部、前帯状

回、前頭極、中側頭回後部、上側頭回後部、側頭極、眼窩前頭皮質、下前頭回、前頭弁蓋皮質、下前頭回、島皮質、海馬傍回、脳梁下部皮質、中前頭皮質、前頭極、楔部に機能的結合をみとめた(図8)。撚鍼時に固有であった A08 に比べ、S1, S2, 補足運動野および帯状回後部に広い機能的結合をみとめた。この結果から、鍼刺激に関する体表の位置情報や、記憶、情動、注意などの処理が、鍼刺激後にも行われている可能性が考えられる。これらは、鍼刺激終了後にも脳活動への影響が存在することを示すものである。

撚鍼時と鍼刺激後安静時、鍼刺激後安静時と安静時、安静時と撚鍼時の3つの全ての刺激条件間に空間相関をみとめた組み合わせが8組あった(図5)。これらは、撚鍼時、鍼刺激後の安静時、鍼刺激と無関係な安静時において共通した機能的結合である可能性が示唆される。あるいは、全ての測定に共通するノイズやアーチファクトである可能性も考えられる。特に A15 と PAR05 と R08 は脳室周辺に広がり、脳脊髄液の信号変化に由来するアーチファクトである可能性が考えられる。今後さらにノイズやアーチファクトを取り除くことのできる解析法の開発が必要である。

Dhondらは、安静時ネットワークのなかで特徴的かつ鍼刺激に関わり深いと考えられる2つの機能的結合、体性感覚野と運動野の機能的結合である Sensorimotor Network (SMN) と、痛みとの関連

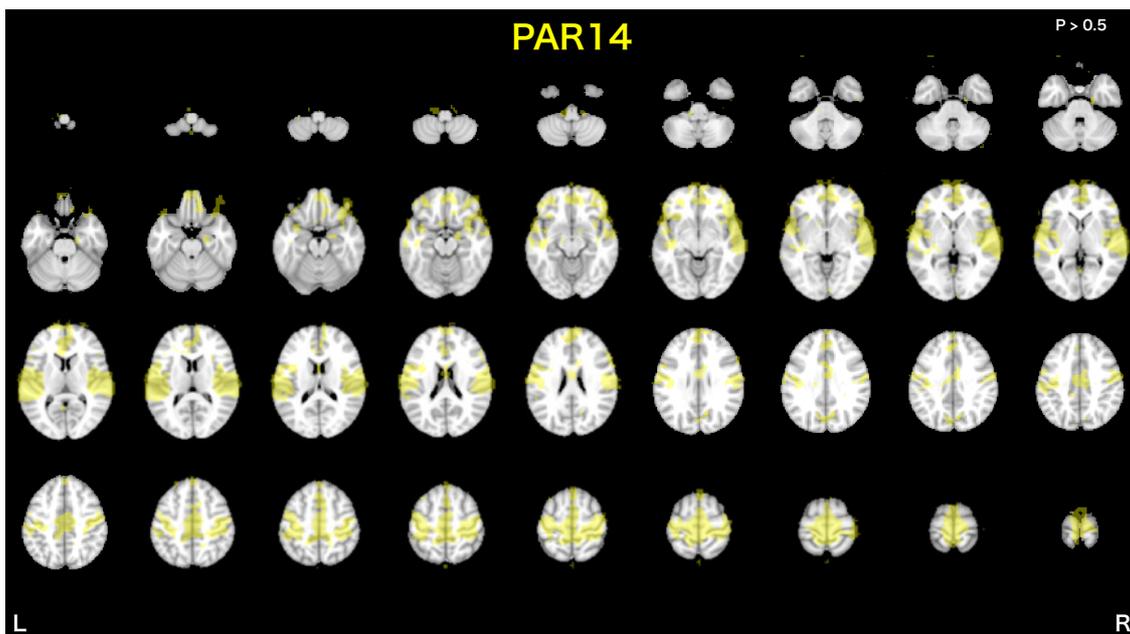


図8 鍼刺激後安静時に固有の機能的結合 PAR14. 鍼刺激後安静時固有の機能的結合マップ PAR14 を標準脳上に重ね合わせた水平断画像を示す。中心前回、中心後回、上頭頂小葉、帯状回後部、縁上回、補足運動野、上前頭回、中前頭回、側頭平面、ヘシュル回、頭頂弁外部、前帯状回、前頭極、中側頭回後部、上側頭回後部、側頭極、眼窩前頭皮質、下前頭回、前頭弁蓋皮質、下前頭回、島皮質、海馬傍回、脳梁下部皮質、中前頭皮質、前頭極、楔部に機能的結合をみとめた。事後確率 $P > 0.5$ のボクセルを有意とした。画像の左右を図中に LR で示す。

の知られる内側前頭前野と頭頂の機能的結合である Default Mode Network (DMN) に注目し、実鍼刺激と偽鍼刺激の介入前後の安静時脳活動を比較した。彼らは、Grecius らによって提案された機能的結合の時空間的評価法¹⁷⁾を用いて SMN と DMN を同定し、実鍼刺激後の SMN では帯状回、小脳などの痛み関連領域の増強と、DMN では前帯状回、中脳水道周辺灰白質などの痛み関連領域、扁桃体などの情動系関連領域、海馬体、中側頭回などの記憶関連領域の増強とを報告している²⁸⁾。鍼刺激終了後の脳活動を検討した初めての研究である。しかしながら、鍼刺激に関連すると予想された SMN と DMN というネットワークに局限した機能的結合の検討のみで、その他の機能的結合についての検討はなされていない。これに対し本研究では、ネットワークに制限を加えない手法により、鍼刺激時の A08、鍼後安静時の PAR06、PAR14 の機能的結合を捉え、PAR06 と PAR14 の分布は Dhond らの報告の領域を含み、さらに広範な機能的結合を示すものであった。

Zhang ら²⁹⁾は、足三里穴への鍼刺激と安静を3回繰り返す実験において、独立成分分析法を用いて解析し、鍼刺激前安静時に、両側の前頭回と側頭回、上および下頭頂小葉、外側中心前および後回、前帯状回皮質、海馬および海馬傍回、外側の島および視床、楔前部、尾状核、小脳の山頂、山腹、後頭葉楔

部にネットワークをみとめ、鍼刺激中には、これらに加え、橋、後帯状回、被殻、小脳、錐体および橋が含まれたと報告している。鍼後の安静時では、前頭回、上側頭回、中心後回外側に機能的結合がみられたと報告している。鍼刺激と安静を繰り返すと、鍼刺激時と安静時における機能的結合が変化し、その差が少なくなることから、鍼に伴う脳活動への影響は、長期間持続するものであると結論している。これらの報告は、鍼刺激中および鍼刺激終了後に脳の固有の機能的結合がとらえられた我々の結果を支持するものであり、鍼治療における脳活動への影響が即時的なものだけでなく、持続的なものであるを示すものである。

本研究においては、測定系の検証のためにまずスポンジによる手掌擦過刺激による測定を行った。この擦過刺激が、実験1ではその後続く、撚鍼時および鍼刺激後の安静時、実験2では安静時の脳活動に与える影響は明らかではない。擦過刺激直後に行った鍼刺激の測定は、同じく擦過刺激直後に行った安静時の測定結果との相関を検討したうえで、鍼刺激固有の機能結合 A08 として観測されたものであり擦過刺激の影響は少ない成分であると考えられるが、安静時の機能結合の中には擦過刺激の影響を受けたものが含まれる可能性は否定できない。スポンジによる擦過刺激は体性感覚の触覚刺激であり即時的な影響が強く、影響の残存は比較的少ないと考

えられるが、より純粋な鍼刺激や鍼刺激後安静時の脳機能の解明のためには擦過刺激を先行して行わない実験や、さらには偽鍼刺激にともなう脳機能との比較解析が今後の課題である。また、本研究では他の刺激と相関の強かった機能結合については個々の検討は行わなかった。これは共通するアーチファクトや、聴覚刺激としての測定撮像音や視覚刺激としての照明の脳機能への影響が完全には排除できないため、各刺激固有の脳機能にのみ注目したものである。これらの問題が改善されればより詳細な脳機能解析が可能になるものと期待される。

V. 結語

本研究では、探索型解析法である独立成分分析を使用し、撚鍼時において、従来の仮説検証型の解析法では捉えられなかった領域を含む、機能的結合を捉えることができた。また、鍼刺激後の安静時脳活動において、鍼刺激の影響と考えられる機能的結合を捉えることができた。これらの結果は、鍼刺激の脳活動への影響を検討する研究に新たな知見を与える。

謝辞 本研究に際し、終始御指導いただいた明治国際医療大学脳神経外科学教室田中忠蔵教授、樋口敏宏教授、同医療情報学教室梅田雅宏准教授、渡辺康晴助教に深く感謝致します。

文献

- Ogawa S, Lee TM: Magnetic Resonance imaging of blood vessels at high fields: In vivo and in vitro measurements and image simulation. *Magn Reson Imaging*, 8: 557-566, 1990.
- 福永雅喜: 鍼通電刺激の脳高次機能におよぼす影響の検討: 機能的磁気共鳴画像法を用いて. *明治鍼灸医学*, 25: 7-20, 1999.
- Yoo SS, Kerr CE, Park M, et al: Neural activities in human somatosensory cortical areas evoked by acupuncture stimulation. *Complement Ther Med*, 15: 247-254, 2007.
- Greicius MD, Krasnow B, Reiss AL, et al: Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100: 253-258, 2003.
- Greicius MD, Flores BH, Menon V, et al: Resting-state functional connectivity in major depression: abnormally increased contributions from subgenual cingulate cortex and thalamus. *Biol Psychiatry*, 62: 429-437, 2007.
- McKeown MJ, Makeig S, Brown GG, et al: Analysis of fMRI data by blind separation into independent spatial components. *Hum Brain Mapp*, 6: 160-188, 1998.
- Calhoun VD, Adali T, McGinty VB, et al: fMRI activation in a visual-perception task: network of areas detected using the general linear model and independent components analysis. *Neuroimage*, 14: 140-151, 2001.
- Beckmann CF, Jenkinson M, Woolrich MW, et al: Applying FSL to the FIAC data: model-based and model-free analysis of voice and sentence repetition priming. *Hum Brain Mapp*, 27: 380-391, 2006.
- Correa N, Adal T, Calhoun VD: Performance of blind source separation algorithms for fMRI analysis using a group ICA method. *Magn Reson Imaging*, 25: 684-694, 2007.
- Ylipaavalniemi J, Vigário R: Analyzing consistency of independent components: an fMRI illustration. *Neuroimage*, 39: 169-180, 2008.
- Nakada T, Suzuki K, Fujii Y, et al: Independent component-cross correlation-sequential epoch (ICS) analysis of high field fMRI time series: direct visualization of dual representation of the primary motor cortex in human. *Neurosci Res*, 37: 237-244, 2000.
- Cordes D, Haughton VM, Arfanakis K, et al: Frequencies contributing to functional connectivity in the cerebral cortex in "resting-state" data. *AJNR Am J Neuroradiol*, 22: 1326-1333, 2001.
- Beckmann CF, DeLuca M, Devlin JT, et al: Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 360: 1001-1013, 2005.
- Damoiseaux JS, Rombouts SA, Barkhof F, et al: Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 13848-13653, 2006.
- Fox MD, Raichle ME: Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci*, 8: 700-711, 2007.
- Greicius MD, Flores BH, Menon V, et al: Rest-

- ing-state functional connectivity in major depression: abnormally increased contributions from subgenual cingulate cortex and thalamus. *Biol Psychiatry*, 62(5): 429-437, 2007.
17. Greicius, MD, Srivastava, G, Reiss, AL, Menon, V: Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: evidence from functional MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(13): 4637-4642, 2004.
 18. Collins DL, Neelin P, Peters TM, et al: Automatic 3-D intersubject registration of MR volumetric data in standardized Talairach space. *J Comput Assist Tomogr*, 18(2): 192-205, 1994.
 19. Evans AC, Collins DL, Mills SR, et al: 3D statistical neuroanatomical models from 305 MRI volumes. *Proc IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging*, 31(3): 1813-1817, 1993.
 20. Friston KJ, Ashburner J, Poline JB, et al: Spatial registration and normalization of images. *Human Brain Mapp*, 2: 165-189, 1995.
 21. Talairach P, Tournoux J: A stereotactic coplanar atlas of the human brain. Thieme Verlag, Stuttgart, 1988.
 22. Deckers RH, van Gelderen P, Ries M, et al: An adaptive filter for suppression of cardiac and respiratory noise in MRI time series data. *Neuroimage*, 33(4): 1072-1081, 2006.
 23. Beckmann CF, Smith SM: Probabilistic independent component analysis for functional magnetic resonance imaging. *IEEE Trans Med Imaging*, 23: 137-152, 2004.
 24. Beckmann CF, Smith SM: Tensorial extensions of independent component analysis for multi-subject fMRI analysis. *Neuroimage*, 25: 294-311, 2005.
 25. De Luca M, Beckmann CF, De Stefano N, et al: fMRI resting state networks define distinct modes of long-distance interactions in the human brain. *Neuroimage*, 29: 1359-1367, 2006.
 26. Hui KK, Liu J, Makris N, et al: Acupuncture modulates the limbic system and subcortical gray structures of the human brain: evidence from fMRI studies in normal subjects. *Hum Brain Mapp*, 9: 13-25, 2000.
 27. Shmuel A, Yacoub E, Pfeuffer J, et al: Sustained negative BOLD, blood flow and oxygen consumption response and its coupling to the positive response in the human brain. *Neuron*, 36: 1195-1210, 2002.
 28. Dhond RP, Yeh C, Park K, et al: Acupuncture modulates resting state connectivity in default and sensorimotor brain networks. *Pain*, 136(3): 407-418, 2008.
 29. Zhang Y, Wei Q, Peng L, et al: An fMRI study of acupuncture using independent component analysis. *Neurosci Lett*, 449: 6-9, 2009.

Investigation of Functional Connectivity Related to Acupuncture in the Human Brain by Independent Component Analysis

Hiroaki Mano

Department of Neurosurgery, Meiji University of Integrative Medicine

ABSTRACT

Introduction: Although many studies using fMRI have been performed to map brain activation induced by acupuncture stimulation, various patterns of the maps have been reported. Considering how difficult it is to assume an appropriate hemodynamic response function of acupuncture stimulation, it might be useful to investigate changes in functional connectivity (FC) induced by acupuncture during needle manipulation and resting state after needle manipulation. Independent Component Analysis (ICA) which allows us to separate fMRI data into independent and non-Gaussian spatiotemporal components without any use of a reference function or predefined seed voxel(s), is extensively applied as an exploratory analysis for the investigation of resting state functional connectivity. Functional connectivity is explained as interregional temporal correlation represented by frequency fluctuations below 0.1 Hz, resulting from a combination of interrelated physiological brain processes. In order to investigate the spatial extent of functional connectivity implicated by acupuncture, we investigated the three datasets using ICA: resting state, resting state after acupuncture and during needle manipulation.

Materials and Methods: Fourteen healthy right-handed volunteers participated and 10 data sets were obtained. We obtained one dataset over a period of 6 minutes during manual needle manipulation at LI4 on the right hand data, a 10 for minute resting state after acupuncture and a 10 data for minute normal resting state from 10 participants. ICA was performed for all data using MELODIC of FSL (FMRIB, Oxford University, UK). The resulting maps were estimated by the alternative hypothesis test of Gaussian gamma mixture model thresholded at $P > 0.5$. We probed the power spectrum of every obtained IC time course and we defined those ICs as FC for which the contribution of frequency fluctuations lower than 0.1 Hz was greater than 80%. Spatial consistency between all different significant IC maps was quantified by finding the spatial correlation coefficient of each map from one condition with each map of the remaining condition. The map pairs with the best correlation were interrelated with the conditions and investigated as assorted pairs.

Results and Discussion: Under several conditions, we found similar pair patterns, but we also identified ten individual patterns. One of the individual patterns was found during acupuncture, two in the resting state after acupuncture and seven in the normal resting state. We focused on the three individual patterns in acupuncture and the resting state after acupuncture. The isolated pattern in acupuncture spread toward regions related to pain and affect. One isolated pattern in the resting state after acupuncture spread towards the visual area and the rest spread towards the regions related to sensorimotor, pain, affect and memory. Our results indicate that these networks could explain the effects of acupuncture on the human brain.