

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

大鼠腦電位信號分佈與 MicroPET 功能性影像之相關性研究

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-2213-E-002-066-

執行期間：93 年 08 月 01 日至 94 年 10 月 31 日

執行單位：國立臺灣大學醫學工程學研究所

計畫主持人：趙福杉

計畫參與人員：陳君熒，施彥宇

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 95 年 1 月 11 日

大鼠腦電位信號分佈與 microPET 功能性影像之相關性研究

計畫編號：NSC 93-2213-E-005-066

執行期限：93 年 8 月 1 日至 94 年 7 月 31 日

主持人：趙福杉 台灣大學醫學工程學研究所

兼任助理：陳君熒、施彥宇

一、中文摘要

本計畫以功能性影像的方法來量測大腦神經活化時相關生理反應的時間及空間分佈情形。我們發現此種實驗模型在基礎神經科學研究上提供了相當有價值的訊息。本研究使用正子電腦斷層掃描與功能性磁共振分別量測神經活化時大腦對於葡萄糖的代謝以及血氧濃度的變化。實驗結果不僅提供了大鼠後肢及尾部在痛覺刺激時，大腦體感覺拓譜圖及其動態反應，也使我们發現此分佈與電生理方法所量測到結果大致吻合。

關鍵詞：微型正子電腦斷層掃描、功能性磁共振、大腦皮質、視丘、福馬林、大鼠

Abstract

The techniques of functional imaging were used to provide 3D spatial-temporal mapping of nociceptive responses during specific neural activation in brain. We find that the results could provide invaluable information for basic neuroscience research. For image experiments, we do in vivo brain mapping studies with ^{18}F -FDG (Fluorodeoxyglucose) PET (Positron Emission Tomography) to measure relative cerebral metabolic rate of glucose (rCMRglc) and BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent) fMRI (Functional Magnetic Resonance Imaging) to measure hemodynamic response. The results not only show the global somatotopic organization of noxious stimulation on hindquarters in rats, but also find that the activated positions were well correlated with electrophysiological experiments.

Keywords: microPET; fMRI; cerebral cortex; thalamus; formalin, rat

二、前言

在各種感覺形式的研究中，痛覺是生物維持生命不可或缺的感覺，雖然疼痛常令人苦不堪言，但也在生命過程中提供警訊並扮演著相當重要的角色。在電生理上，由於痛覺的反應不易區分清楚，因此在神經科學的研究中屬於較困難的一環，相對的也一直受到研究學者的重視。目前雖已知傳遞痛覺的周邊神經種類，但在中樞神經的調控及分佈則尚未明確清楚。

在神經科學的研究上，電生理技術提供了極佳的時間解析度，使其得以偵測到毫秒等級的神經動作電位反應。但對於大腦幾百億個神經細胞相互連接運作所表現出的訊號，電生理方法便無法提供空間上大範圍的神經活性表現。因此，功能性影像技術是唯一可在有限時間內觀察到大腦整體功能性訊號分佈的方法。本研究的主要目的為觀察大鼠腦部對於後肢及尾部的疼痛反應，並將功能性造影與電生理記錄之結果作進一步的整合與分析。

三、方法

正子電腦斷層造影(Positron Emission Tomography)是一種非侵入性的核子醫學造影技術，它藉由正子放射性核醫藥物為標幟在體內的示蹤劑，並利用偵檢器接收互毀效應發生後所產生的伽馬光子對，再經由數學方法進行

影像重建而成像。若使用 ^{18}F -FDG (Fluorodeoxyglucose)藥物，則重建後的影像可以表現出葡萄糖在體內代謝與分佈的情形，並提供相對的生理代謝狀況。此實驗使用台北榮總迴旋加速器中心之微型正子電腦斷層造影系統(microPET)。大鼠(Wistar, male, 250-350 g)經由 ketamine 麻醉後(100 mg/kg, i.p.)，於尾靜脈注射 2 mCi 的 FDG，並使用本實驗室開發與此系統相符之大鼠專用頭部定位儀做精確的頭部定位。本實驗使用兩種造影流程：(1) 注射 FDG 後，再將福馬林溶液注射於左後肢腳掌做為痛覺刺激，以避免引發其他種類的神經活化，並做 1 小時之動態腦部造影(5 min/frame)；(2) FDG 注射 40 分鐘後，待藥物攝取達平衡時造影(5 min/frame)，並在造影時間達一半時施以痛覺刺激。

功能性磁振造影 (Functional Magnetic Resonance Imaging, fMRI) 利用 BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent) 的對比概念，觀察血氧濃度的改變。在神經活化之區塊由於氧的需求量增加，使得局部腦血流帶來更多的充氧血，利用去氧血紅素存在造成區域磁場擾動而降低訊號的特性，而在活化區便可得到較強的訊號。根據強主磁場將組織磁化後，使用適當的脈衝序列造影，即可在梯度編碼與計算其感應電流後重建成像。此實驗使用中研院 Bruker Biospec BMT 47/40 4.7T 之微型磁振造影系統(microMRI)。大鼠(Wistar, male, 250-350 g)在經由 α -chloralose 麻醉(80 mg/kg, i.p.) 與定位後，實驗初步以中矢狀面之 T2 影像做為參考，則可依照 anterior commissure 所通過之處，定出精確的結構位置。本實驗選定 Bregma -0.8 mm, -2.8 mm, -4.8 mm 及 -6.8 mm 四處，以快速自旋迴訊脈衝序列(Fast spin echo pulse sequence)取得鼠腦冠狀面之高解析度 T2 解剖影像，所使用之造影參數為 TR = 4000 ms, TE = 80 ms, FOV = 4 cm, SLTH = 2 mm, NEX = 2,

acquisition matrix = 256×128 (輸出影像重建為 256×256)。在功能性影像上，選擇在相同位置以梯度迴訊脈衝序列(Gradient echo pulse sequence)做動態造影，所使用之造影參數為 TR = 215 ms, TE = 20 ms, flip angle = 22.5° , FOV = 4 cm, SLTH = 2 mm, NEX = 2, acquisition matrix = 256×128 (輸出影像重建為 256×256)，造影重複 40 次，並於第 21 次取像時，將福馬林溶液注射於左後肢腳掌做為痛覺刺激。

四、結果

Digital image processing GUI

在資料處理上，本計畫開發了一套適用於數種醫學影像格式之軟體。此圖形使用者介面(GUI)，除了可做基本的影像讀取與處理外，尚可計算 ROI (Region of Interest)及 VOI (Volume of Interest)內各種統計參數、時間活性曲線(Time Activity Curve)分析、參數影像(Parametric Image Analysis)運算、統計式圖形(Statistical Map) 運算、刺激相關係數分析(Cross-Correlation Analysis)、三維表面描繪(3D Surface Rendering)、影像對位與融合(Image Registration & Fusion)等等，並可與大鼠腦圖譜(Paxinos and Watson, 1998)做精準的對位與評估(圖 1)。

FDG microPET experiments

在 microPET 的實驗上，我們發現當 FDG 於腦中代謝達動態平衡時，若圈選 ROI 持續觀察同一腦區在各個時間點的活性反應，則在左後肢福馬林刺激後，主要會使 thalamus、primary somatosensory cortex (SI)、secondary somatosensory cortex (SII) 以及 anterior cingulate cortex (ACC)處相對放射性活度上升(圖 2)。若使用參數影像分析的方式，計算刺激前後影像上相對活性的比值，則可發現計算結果在 SI 處有顯著表現，且若取刺激後 20

分鐘的影像來做計算，則反應區域將比刺激後 10 分鐘的參數影像更集中於 cortex 處(圖 3)。

BOLD fMRI experiments

實驗結果顯示，在 microPET 影像中對痛覺有較大反應的 thalamus、SI、ACC 等腦區，在 fMRI 實驗亦觀察到高度的相關性，且 secondary somatosensory cortex (SII)、periaqueductal gray (PAG)、superior colliculus、motor cortex 也有明顯的刺激反應曲線(圖 4、圖 5)。其中，利用 MRI 空間解析度較高的特性，我們在影像與圖譜做校準與融合後發現 thalamus 反應的區域較集中於 medial dorsal thalamus (圖 6)。此結果與使用電生理記錄到的反應相符。此外，利用動態影像序列顯示的方法也可觀察到相同的現象，並可更清楚的顯示鼠腦血氧濃度對於痛覺刺激後時間與空間上的整體性反應 (圖 7)。

五、討論

¹⁸F-FDG 藥物是利用迴旋加速器所產生的放射性同位素氟-18 標定於去氧葡萄糖分子上，在經由靜脈注射後，將與體內原有的葡萄糖分子競爭，而聚集於代謝旺盛的器官組織中。由於在實驗過程中已儘量排除其他可能影響實驗結果之因素，因此在 microPET 影像上所看到的相對訊號強度改變，可推論為此區域由於局部腦神經活化的緣故，而增加了葡萄糖的代謝。且藉由計算 TAC 所得到的事件誘發反應 (event-related response)，可協助我們斷定前述腦區與痛覺的相關性較高。圖 3 的參數影像在與圖譜對照後可發現圖譜中所定義之 SI 尾部腦區在後肢痛覺刺激時亦有活化。由此再度驗證了後肢與尾部在大鼠大腦皮層的體感覺拓譜圖上有重疊的現象。

在 BOLD fMRI 實驗上，所觀察到的活性反應是一種綜合 cerebral blood flow (CBF)、cerebral blood volume (CBV) 及 cerebral

metabolic rate of oxygen (CMRO₂) 的生理現象。在 fMRI 的實驗中，我們觀察到在 spinal thalamic tract (STT) 路徑上所通過的區域有顯著的活化，且本研究也證明了相關區域在血氧濃度的代謝反應與電生理方法所記錄到的神經訊號一致。除了主要的痛覺傳導路徑之外，本實驗在 motor cortex 及 superior colliculus 也觀察到活化的現象。

從這些結果顯示了功能性影像之長處，即在很短的時間內得知腦部各個位置或層級對於某種特定感覺的反應區域。這個特點是電理技術所無法提供的，這也印證了本計畫當初之構想是深具價值。但是如前言所述，功能性影像由於成像時間之限制，所以無法具有足夠的時間解析度來觀察神經系統如何處理特定的感覺信號，因此尚待電生理記錄來彌補此項功能，換句話說，藉由功能性影像之分析我們得知了腦中那些負責福馬林所引起持續疼痛的位置，而今後可針對這些位置之電生理反應作功能性的驗證與判定。

在本計畫執行的過程中我們共發表了五篇研討會論文，而期刊論文有一篇在審查中亦有一篇正在撰寫中，預定在第二年的計畫結束時會有更多的成果可以發表，並預計其後的一年間可經由本計畫之支持而完成一份博士學位之論文，在此十分感謝國科會之支持，使得實驗得以順利進行。

本計畫之成果發表：

1. Jen-Yu Li, Jin-Kae Jang, Chien-Ya Hung, Tsung Hsien Su, Shih-Chiang Lee, Te-Son Kuo and Fu-Shan Jaw, "Implementation of a microprocessor-based system for real-time monitoring of vital signs and feedback control of depth of anesthesia," The Fourth IASTED

International Conference on
Biomedical Engineering (IASTED
BioMed), Innsbruck, Austria,
February 15–17, 2006.

2. Jen-Yu Li, Te-Son Kuo and
Fu-Shan Jaw, “Normalization of
the effect of sampling rate on the
computational complexity of
electroencephalograph for
evaluation of depth of anesthesia,”
The Fourth IASTED International
Conference on Biomedical
Engineering (IASTED BioMed),
Innsbruck, Austria, February 15–17,
2006.
3. Chien-ya Hung, Jen-Yu Li, Te-Son
Kuo, Fu-Shan Jaw, “Analyzing
effects of sodium pentobarbital on
hemodynamic responses by using a
graphic control system,” 27th IEEE
EMBS Annual International
Conference, Shanghai, China,
September 1-4, 2005.
4. P.-L. Lu, C.-P. Chen, F.-S. Jaw,
“Study of noxious responses in rat
medial thalamus,” Chinese
biomedical engineering society
annual meeting, December, 2005.
5. C.-P. Chen, P.-L.Lu, F.-S. Jaw,
“Investigating lateral thalamus of
rat with nociceptive stimuli,”
Chinese biomedical engineering
society annual meeting, December,
2005.

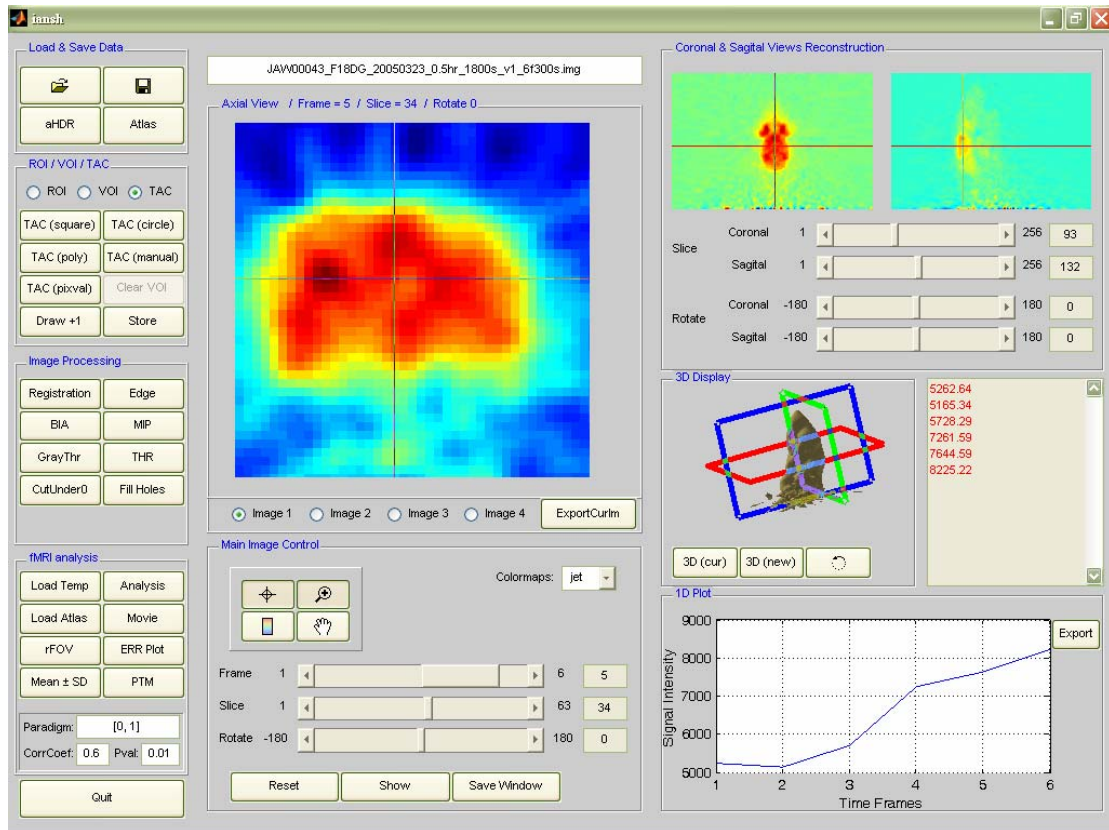


圖 1. 本實驗室所開發之數位影像處理圖形使用者介面

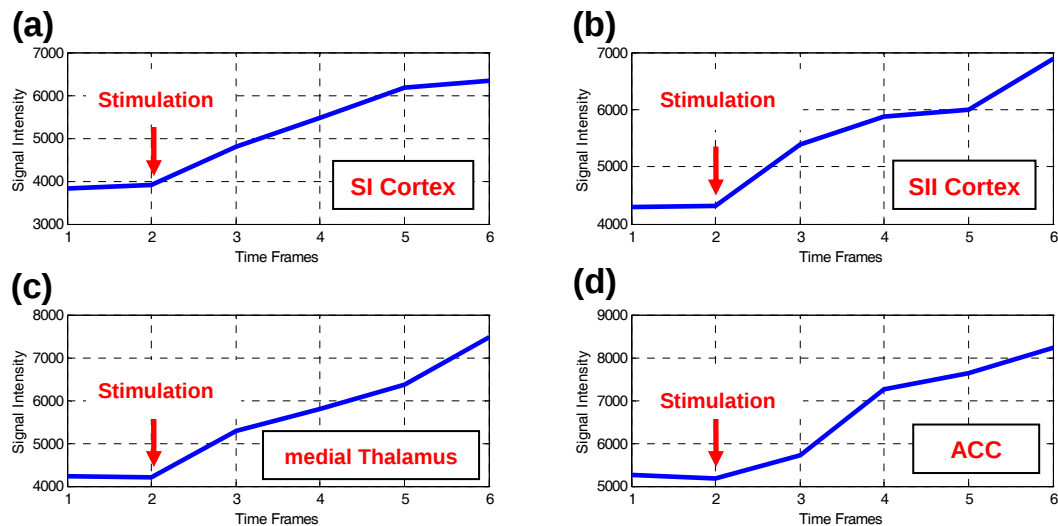


圖 2. FDG-microPET 影像之時間活性曲線，橫軸為時間，縱軸為相對活性。每組影像造影 5 分鐘，共取 6 組。第 21 組影像開始造影時在左後肢給予福馬林痛覺刺激。(a)到(d)分別為 primary somatosensory cortex、secondary somatosensory cortex、medial thalamus 以及 anterior cingulated cortex。

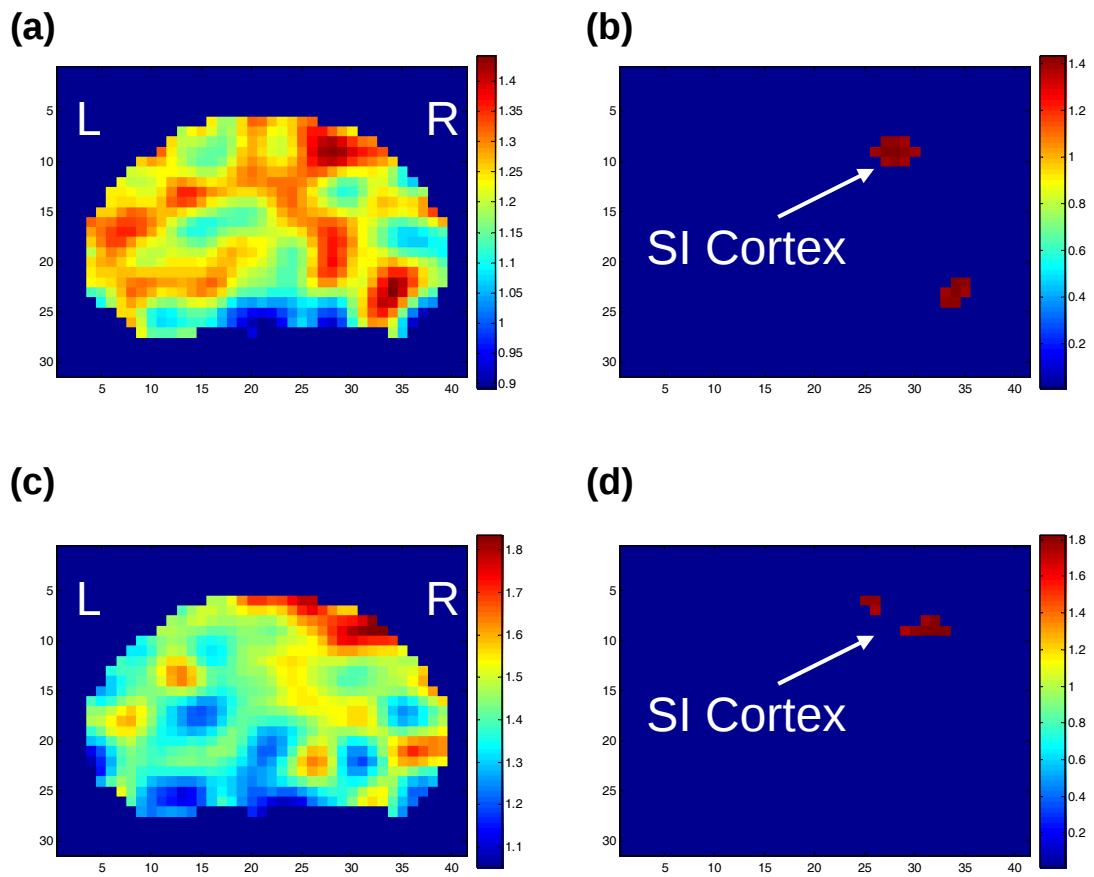


圖 3. (a)將刺激後 10 分鐘之影像與未刺激之影像點對點相除並設定適當閾值去除非腦部之區域。(b)相除之結果再刪去 95%訊號強度以下之值，以表示出變化最明顯之區域。(c)、(d)將刺激後 20 分鐘之影像做相同之處理，發現反應更集中於 cortex 處。

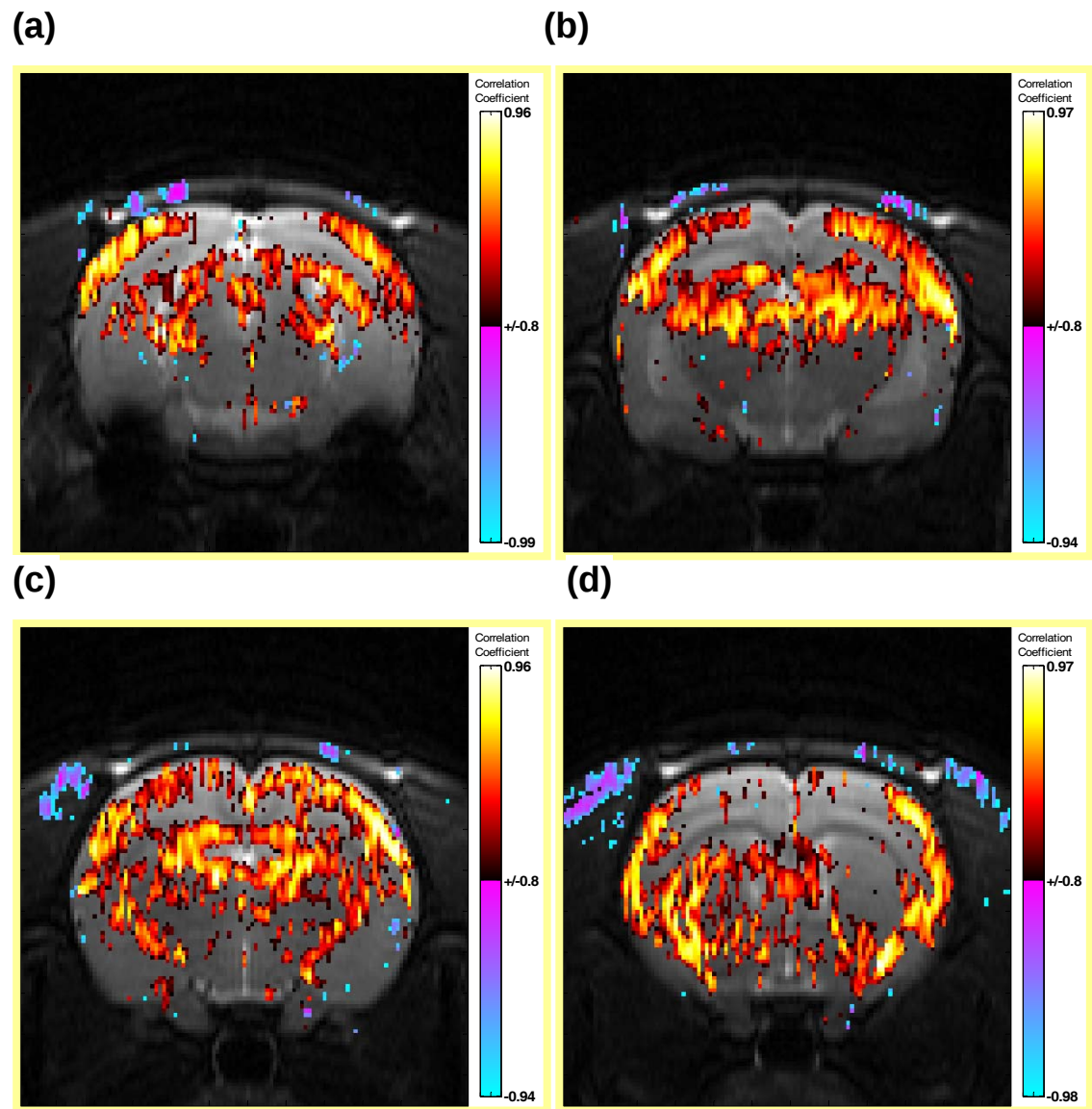


圖 4. fMRI 影像之相關係數分析結果，(a)~(d)分別是位於 bregma -0.8 mm、-2.8 mm、-4.8 mm、-6.8mm 之冠狀切面。

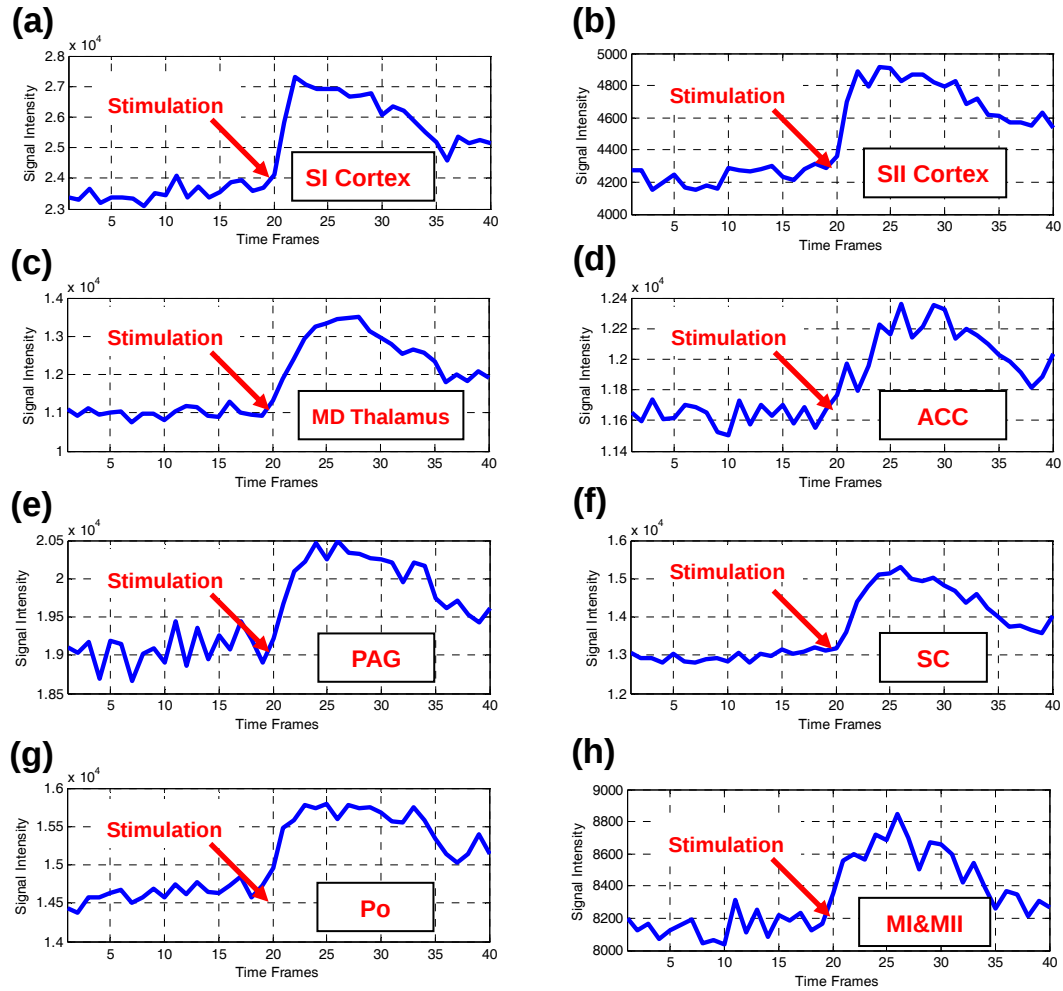


圖 5. fMRI 影像之時間活性曲線，橫軸為時間，縱軸為訊號強度。每組影像造影 27 秒，共取 40 組。第 21 組影像開始造影時在左後肢給予福馬林痛覺刺激。(a) 到(h)分別為 primary somatosensory cortex、secondary somatosensory cortex、medial dorsal thalamus、anterior cingulated cortex、periaqueductal gray、superior colliculus、posterior thalamic nuclei group 以及 motor cortex。

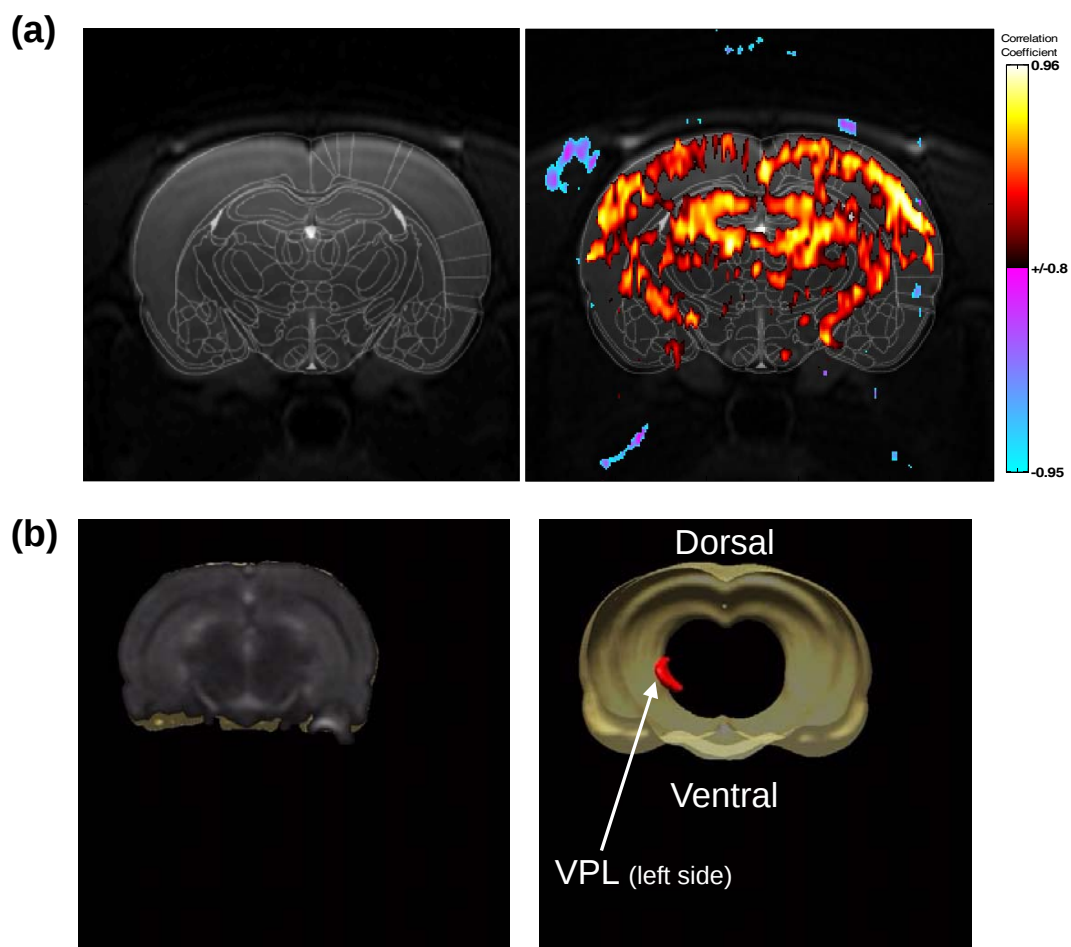


圖 6. (a)與大鼠腦圖譜做影像對位與融合之結果。(b)利用 MRI 影像與鼠腦圖譜分別做出三維重建之結果，在校準後可提供更多三度空間之解剖資訊。

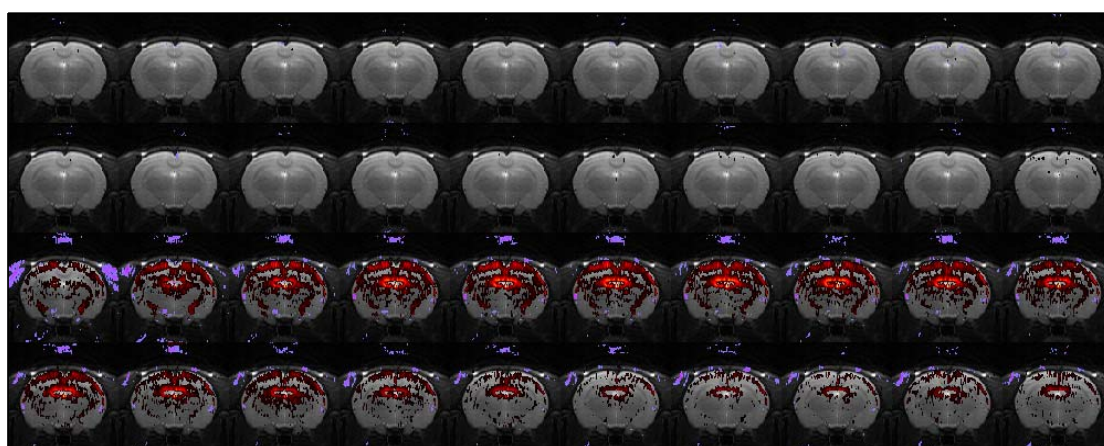


圖 7. 動態影像序列顯示 40 組 MR 影像。每張影像皆與未刺激前的二十張影像平均值相減，時間序列依左至右、上至下。