

日本医療研究開発機構 官民による若手研究者発掘支援事業
事後評価報告書



I 基本情報

補助事業課題名：（日本語）脳発達障害早期診断に向けた次世代超音波計測システム（社会実装目的型の医療機器創出支援プロジェクト）

（プログラム名）（英語）Advanced ultrasonic measurement system for early diagnosis of brain developmental disorders (Project to support the creation of medical devices for the purpose of social implementation)

実施期間：令和2年9月3日～令和4年3月31日

補助事業担当者 氏名：（日本語）疋島啓吾
（英語）Keigo Hikishima

補助事業担当者 所属機関・部署・役職：
（日本語）産業技術総合研究所・健康医工学研究部門・主任研究員
（英語）National Institute of Advanced Industrial Science and Technology・Health and Medical Research Institute・Senior researcher

II 補助事業の概要

補助事業の成果およびその意義等

脳発達障害の1つである自閉スペクトラム症 (ASD) は、コミュニケーション障害、言語能力低下、繰り返し行動を主症状とし (米精神医学会による診断基準 ; DSM-V, 2013)、2020 年の米国疾病対策センターの調べでは米国において 54 人に 1 人の高い有病率が報告され、身近な障害として認識されている。

近年、脳の可塑性が高い発達早期における療育介入が児の社会予後を改善させると注目されており (Pickles, *Lancet* 2016)、一歳児から開始できる早期療育プログラムも開発されている。しかし、ASD の多くは就学前後に診断がつき、このような早期介入の実施を阻む要因の1つとなっている。そのため ASD において早期検査法の開発は治療法の開発と同様に重要である。

近年、MRI を用いた脳機能ネットワーク解析によって、生後 6 か月の超早期に ASD の診断を予測した報告があり (Emerson, *Sci Transl Med* 2017)、ASD の脳機能ネットワーク研究が盛んに行われている。

そこで、我々は ASD 特徴的な脳機能ネットワークを脳の可塑性が高い乳幼児を対象に簡便かつ安全に検査する医療機器の実現を目指し、超音波イメージングを利用した脳機能ネットワークの前臨床研究を開始した。

初めに、128 の振動素子数で 15MHz の高い中心周波数を有したリニアプローブ (L22-14vX) を用い、麻酔下のマウスの脳を対象に超音波の高速計測法である平面波イメージングを用いて計測した。7.5kHz のパルス繰り返し周波数において -15 度から +15 度の角度範囲で計測された平面波画像の合成画像 (500Hz のサンプリング周波数) を、50 回繰り返し計測した。特異値分解による時空間フィルターと 15Hz のハイパス時間フィルターによって血流成分を抽出し、積分することで最終的に 10Hz の計測サンプリング周波数、画素サイズ $100 \mu\text{m}$ の高時空間分解能計測により脳血流量画像を取得した (図 1)。

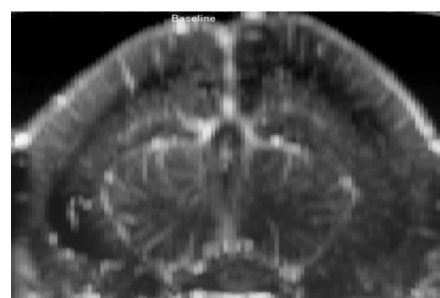


図 1. 超音波イメージングによる高解像度脳血流量画像

次に、計測された脳血流量画像が神経活動に伴う血流量の増加を捉えられるか検証すべく、覚醒下のマウスの脳計測中、ヒゲを 5Hz で動かして得られた時系列データ (ベースライン 15 秒間、刺激 4 秒間、刺激後 11 秒間) を解析した。その結果、ヒゲからの入力信号が伝達される脳の視床中継核

とその先の体性感覚領域 (バレル野) が統計学的有意に高い脳血流量の分布として得られ、体性感覚領域の信号は刺激前に比べて 25% 程度増加と非常に高いコントラストであることがわかった。血流量の増加はヒゲ刺激後約 1 秒から立ち上がり、刺激終了後約 4 秒間程度持続しており、神経-血管カップリングにおける血流動態応答と一致したことから超音波イメージングにより捉えられた信号変化は神経活動由来であると考えられた。

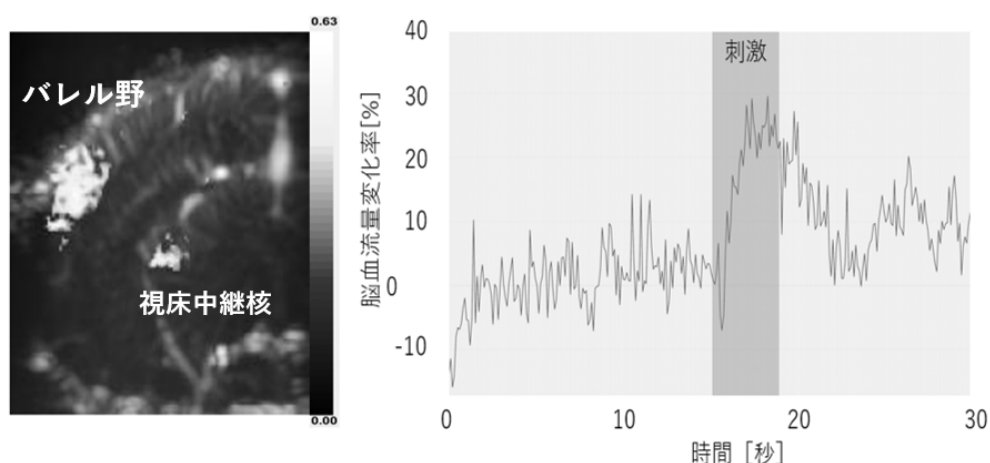


図 2. 体性感覚刺激時の高時空間分解能超音波脳血流量イメージングとその解析によって得られた脳の活動分布 (左) と一次体性感覚野 (バレル野) における脳血流量変化 (右)

次に、覚醒下における安静状態のマウスの脳を 10 分間計測し、得られた脳血流変化に対し、自発性神経活動を反映する 0.01~0.08Hz 帯域の信号変化をバンドパスフィルターによって抽出した。そして、抽出した低周波数帯域の脳血流量画像を脳アトラス座標へ形状変換し、各脳領域を関心領域とした領域間のピアソン相関係数から脳機能ネットワークを可視化した (図 3)。得られた脳ネットワークは、我々の過去の研究で得られた安静時におけるマウスの脳機能ネットワーク MRI による解析結果と比較検証し、脳領域間結合性マトリックスにおいて両者が高い相関を有していることがわかり、超音波を用いた脳機能ネットワークの妥当性を確認した。さらに、理化学研究所 水間博士との共同研究において、確立した脳機能ネットワーク計測を自閉症様社会行動を示すモデルマウスに適用し、超音波を用いて自閉症特徴的な脳ネットワークを捉えることに成功した。

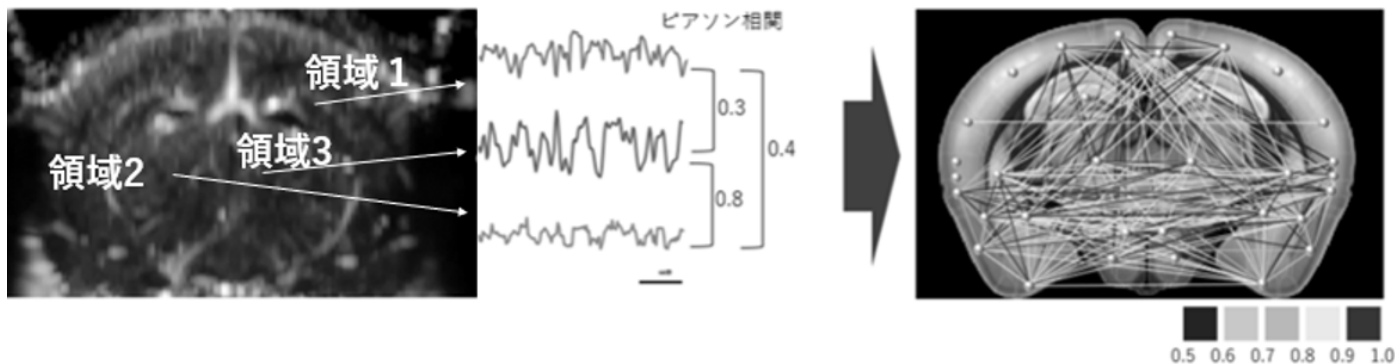


図 3. 安静時脳機能超音波イメージングにより得られた神経活動から計算した脳機能ネットワーク

また、並行し開発サポート機関の協力を受けて、医療機器開発のための様々な要件（製品化ニーズ、臨床ニーズとの合致、具備すべき安全性・有効性、治験対応、品質マネジメントシステムなど規制への対応、その医療機器としての事業性）を学び、専門家によるメンタリングを受けた。これにより、開発する医療機器のニーズが明確となり、そのニーズに沿った市場を理解し、開発方針を軌道修正した。さらに、関連する超音波計測技術の先行特許調査、特許出願を行い製品化に向けた道筋を立てることができた。

以上より、医療機器開発に向けた前臨床研究開発、特許出願、医療機器開発方針の明確化を達成することができた。今後、前臨床研究によるモデル動物の評価、乳幼児用のデバイスの開発、臨床研究と医療機器開発研究を進め、ASD の早期検査法としての有用性を確認する。

Autism spectrum disorder is a prevalent brain development disorder that affects 1 in 54 people (2020, U.S. data), meaning that many people know someone with this condition. The hallmarks of autism spectrum disorder are communication disorders, decreased verbal fluency, and repetitive behaviors. The disorder is a social problem as the associated severe long-term stress on affected children and their family members can complicate the condition and cause extreme fatigue and depression in family members. Interventions provided in early development while the brain is still highly plastic have recently gained attention for improving the social outcomes of affected children. (Pickles, *Lancet* 2016). Autism spectrum disorder, however, is often diagnosed around the start of schooling. This delay is one factor hampering early intervention. Developing techniques for the early detection of autism spectrum disorder is therefore as important as developing treatments. Recently, a brain network analysis using resting-state functional magnetic resonance imaging (rs-fMRI) was reported to predict the diagnosis of ASD at age 6 months (Emerson, *Sci Transl Med* 2017). The final goal of this study is developing a medical device to examine brain functional networks in babies in a noninvasive technique using ultrasound imaging without body restraint. As basic research for this goal, we investigated a method for measuring functional brain networks in mice using ultrasound imaging. At first, we conducted a measurement of the ultrasound doppler imaging of mouse brain under anesthesia, and we could obtain high-resolution cerebral blood volume (CBV) images. Next, to verify whether the high-resolution CBV imaging could capture the increase in CBV associated with the neural activity, we conducted a measurement of time-series high-resolution CBV images of the awake mouse with whisker stimulation. The results showed that the thalamic relay nucleus and the somatosensory area, which process signals from the whiskers, were statistically mapped as increased CBV, and the signal changes in the somatosensory area showed a high increase of around 25% that before stimulation. From the time-course data in the somatosensory area, the increase of CBV began around 1 second after whisker stimulation and continued for 4 seconds after the end of stimulation, consistent with the hemodynamic response in neurovascular coupling, suggesting that the signal changes captured by ultrasound imaging were derived from neural activity. Next, we measured CBV of the resting-state awake mouse and visualized the brain functional network from CBV signal components derived from spontaneous neural activity between brain regions. The obtained brain connectivity matrix was compared with the results of resting-state functional MRI of awake mouse in our previous study, and the high correlation confirmed the validity of our brain function network measurement method using ultrasound imaging. In the future, we will develop an ultrasound-based device for infants and toddlers and proceed with clinical research to confirm its usefulness as an early testing method for ASD.