

大鼠感觉运动系统静息态脑网络研究*

夏 阳 董 凯 赖永秀** 罗 程 雷 蕾 尧德中

(电子科技大学生命科学与技术学院, 神经信息教育部重点实验室, 成都 610054)

摘要 为了理解啮齿类动物的脑功能连接, 本文利用 9.4T fMRI 获得轻度麻醉状态下大鼠静息状态及刺激激活的数据, 通过互相关分析构建节点之间的相关系数矩阵并计算相应的网络参数. 结果发现: 给予前爪电刺激时, 刺激对侧初级感觉皮层(S1)、丘脑(Tha)有较强的正激活, 双侧尾状壳核(CPu)有较强的负激活. 静息状态时大鼠感觉/运动皮层内部、丘脑内部的连接性较强, 而感觉/运动皮层与丘脑之间的连接较弱, 双侧感觉运动系统之间存在较强的同步低频振荡, 感觉运动系统在静息态时的脑网络具有小世界属性. 结果提示, 啮齿类动物在大脑信息处理中的功能分离和整合可能与人类存在某些相似性, 支持哺乳动物中枢神经系统的基本功能存在遗传保守性的观点.

关键词 fMRI, 感觉/运动系统, 静息态功能连接, 低频振荡, 小世界网络

学科分类号 Q42

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00236

功能磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI)已经被广泛地应用于清醒人脑的认知、情绪以及脑的一些基本功能的研究^[1]. 研究已经证实, 人脑在静息状态下, 躯体感觉、运动、听觉以及视觉皮层, 甚至亚皮层核团之间存在血氧水平依赖(blood oxygen level dependent, BOLD)信号的同步低频振荡(low frequency fluctuation, LFF)^[2-3], 因而, 同步 LFF 可以用来反映在空间上相互分离的脑区之间的功能连接. 同时, BOLD fMRI 静息态脑功能连接的研究表明, 血液动力学响应和神经活动的对应关系在清醒人脑和麻醉动物(如猴)中是相似的^[4]. 近年来, fMRI 已经开始应用于麻醉状态下的非认知相关的动物脑功能及机制研究, 但主要还停留在对 BOLD 信号的自发振荡的分析方面^[5]. 随着脑网络研究手段的进步, 最近已有学者开始关注啮齿类动物(大鼠)静息态的大脑功能连接情况^[6].

大量人脑在生理和疾病状态下的复杂网络研究均提示人脑网络具有小世界属性^[7]. Meunier 等^[8]通过构建静息态脑功能网络来分析网络的模块化结构及年龄老化对模块化产生的影响, 结果显示, 无论年轻被试还是老年被试都具有显著优于随机网络的模块化特征. 最近, He 等^[9]发现大脑功能网络在时间和空间尺度上都可以划分为相互连接的具有特定

功能的子网络, 如感觉/运动网络、听觉网络、视觉网络、注意网络和默认网络等. 在非人类灵长类动物的研究中也显示, 猴子的脑功能网络拓扑满足小世界特性^[10]. 但目前, 类似的研究在啮齿类动物还未见报道.

本文利用互相关分析(cross-correlation analysis)研究轻度麻醉状态大鼠感觉运动系统的 fMRI 脑功能连接, 并分析其相应的网络参数, 以此探讨啮齿类动物脑网络的特征和信息处理机制.

1 材料与方法

1.1 动物准备与数据采集

6 只体重 220~340 g 的雄性 Sprague-Dawley 大鼠, 在美托咪定(medetomidine)麻醉下进行静息状态和前爪电刺激状态的功能磁共振数据采集. 在扫描过程对大鼠血压、血氧饱和度、呼吸频率、体温等生理参数进行同步监测, 数据采集过程中维持生理参数于正常状态. 数据采集在美国 Emory

* 国家自然科学基金资助项目(81071222, 30870655).

** 通讯联系人.

Tel: 028-83201018, E-mail: laiyyx@uestc.edu.cn

收稿日期: 2012-04-07, 接受日期: 2012-05-17

University 进行、所有实验程序符合 Emory University 动物伦理委员会的要求。

大鼠静息状态和前爪刺激的磁共振数据均由 9.4T 磁共振系统(Bruker, 德国)扫描获得。功能图像扫描参数为: 体素大小为 0.47 mm×0.47 mm×1 mm, TE=15 ms, TR=2 s, 层厚=1 mm, 层数=8, 矩阵大小 64×64, FOV=3 cm×3 cm, 使用 GE EPI 序列采集。刺激状态扫描设计矩阵为: 静息状态(20 s)+刺激(20 s)+静息状态(40 s)。在前爪刺激实验之前, 对大鼠进行了 600 s 的静息状态磁共振数据扫描。同层的 T1 加权结构像采集采用 MDEFT 序列。

电刺激模式采用传统的前爪刺激, 将针形双极电极插入大鼠左或右前爪的第 2 和第 4 脚趾之间的皮下, 施加电流刺激以激活相应的体感运动皮层区域。电刺激参数为: 脉宽 0.3 ms, 电流强度 2 mA, 频率 9 Hz。本实验中 5 例数据为右前爪刺激, 1 例为左前爪刺激。

1.2 激活区与 ROI 定义

使用 SPM2 软件对刺激和静息状态的 fMRI 数据进行预处理, 以校正大鼠呼吸及心脏搏动等生理因素造成的头动伪迹。对数据进行 0.01~0.1 Hz 的带通滤波后, 利用独立成分分析(independent component analysis, ICA)将分离的空间独立成分对应的时间序列与刺激模式做延时相关, 获得最大相关系数的成分^[11], 并定义其中的活动为相应的刺激激活区, 再结合大鼠脑立体图谱^[12]和文献[6]中啮齿类动物感觉运动系统的解剖结构, 手工选择出 11 个感兴趣区(region of interest, ROI), 包括: 初级/次级感觉区(primary/secondary sensory areas, S1/S2), 其中 S1 区主要关注前肢代表区(S1FL)和躯干代表区(S1Tr); 初级/次级运动区(primary/secondary motor areas, M1/M2); 胼胝体(corpus callosum, CC); 丘脑(thalamus, Tha)包括丘脑腹后内侧核/丘脑腹后外侧核(ventral posterior medial thalamic nucleus/ventral posterior lateral thalamic nucleus, VP)、丘脑后核(posterior thalamic nucleus, PO)和丘脑腹外侧核(ventral lateral thalamic nucleus, VL); 与运动相关的基底节包括尾状壳核(caudate putamen, CPu)和苍白球(globus pallidus, GP)。此外, 本文选择了与视觉功能相关的中脑上丘(superior colliculus, SC)作为对照。

1.3 静息状态的功能连接

针对上述 11 个 ROI 脑区及其对侧的同源区, 利用下列互相关公式对 ROI 的平均时程做相关分

析, 得到由 ROI 之间的互相关系数(r)构成的连接矩阵。

$$r = \frac{\sum (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2 \sum (Y_i - \bar{Y})^2}} \quad (1)$$

1.4 大鼠感觉/运动系统网络特征分析

用复杂网络的方法研究不同脑区间信号的相互关系是目前脑功能连接分析的主要手段。

聚类系数(cluster coefficient, C)是衡量网络集团化程度的重要指标。节点 v 的聚类系数 $C(v)$ 是与该节点相邻的所有节点之间的实际连接边数和可能的最大连接边数的比值。对于一个无向的连接图, 如果节点 v_i 具有度 k_i , 其相邻节点 $N(v_i)$ 可能具有的边为 $\frac{k_i(k_i-1)}{2}$, 则

$$C(v_i) = \frac{2}{k_i(k_i-1)} |\{e = \{v_j, v_k\} | v_j, v_k \in N(v_i)\}| \quad (2)$$

如果与 v_i 相邻的节点均相互连接, 则该值为 1, 如果与 v_i 相邻的节点相互间均不存在连接, 则该值为 0。网络的聚类系数是指所有节点的聚类系数的均值, 该值可用来刻画网络中局部聚类的趋势。

特征路径长度(character path length, L)是网络中任意 2 个节点间的最短路径的平均值。该值是平均连接程度的测度, 可以表征网络的全局路由效率, 其中 $d(v_j, v_k)$ 表示 2 个节点间的最短距离。

$$L = \frac{1}{n(n-1)} \sum_{v_j, v_k \in v, j \neq k} d(v_j, v_k) \quad (3)$$

本文中, 我们计算了大鼠感觉运动系统网络的特征参数, 包括聚类系数(C_{real})和特征路径长度(L_{real})。为了更好地刻画该网络是否具有小世界属性, 我们多次生成了与该网络边数相同的随机网络, 并计算其平均路径长度(L_{rand})和聚类系数(C_{rand})。进一步计算了小世界指标(small-world-ness), 即, $\lambda = L_{\text{real}}/L_{\text{rand}}$, $\gamma = C_{\text{real}}/C_{\text{rand}}$, $\sigma = \gamma/\lambda$ 。与随机网络相比, 小世界网络具有更高的聚类系数($\gamma > 1$)和相似的短的特征路径长度($\lambda \approx 1$), 即 $\sigma > 1$ ^[13]。

2 结 果

2.1 空间 ICA 定位激活区

利用 ICA 算法, 对 6 例大鼠数据计算激活区的结果显示, 前爪刺激对侧的初级感觉皮层(S1)区和丘脑(Tha)有较强的正激活, 双侧尾状壳核(CPu)有较强的负激活。图 1 是左前爪电刺激的 BOLD 反应结果在 T1 加权解剖像上的显示, 右侧 S1 区和 Tha 可见明显的正激活(红色/黄色), 双侧 CPu

和其他皮层区域显示负激活(蓝色)。根据这些结果, 结合大鼠脑立体图谱等知识, 我们选择了上述 11 个 ROIs 及其对侧同源区用于构建静息态的脑网络。

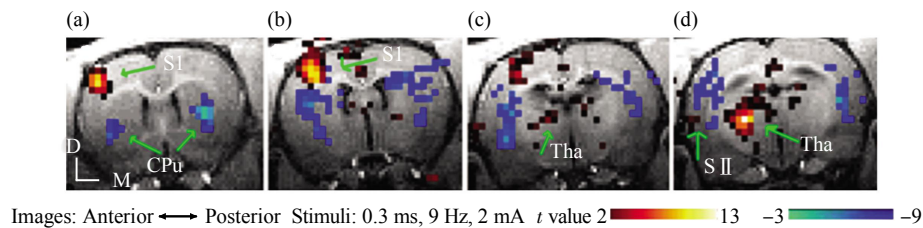


Fig.1 Left forepaw electrical stimulation induced BOLD response of one rat in four consecutive slices
Positive BOLD responses (red/yellow) are observed in left forepaw areas of S1, S II and left thalamus, while negative BOLD responses (blue) are observed in bilateral CPu and other cortical areas. S1: Primary somatosensory area; S II : Secondary somatosensory area; CPu: Caudate putamen; Tha: Thalamus; Positive BOLD responses: red/yellow; Negative BOLD responses: blue; D: Dorsal; M: Medial; Slice thickness: 1 mm.

2.2 静息态的功能连接

图 2 显示 6 只大鼠感觉运动系统在静息状态的平均 BOLD 时间序列的相关连接矩阵, 可见静息状态时躯体感觉皮层(S1/S2)和运动皮层(M1/M2)之间、丘脑核团内部的连接性较强, 但感觉 / 运动皮层与丘脑及其他脑区间的连接较弱。此外, 左右半球的同源脑区之间还存在同步化低频振荡(高度相关)。

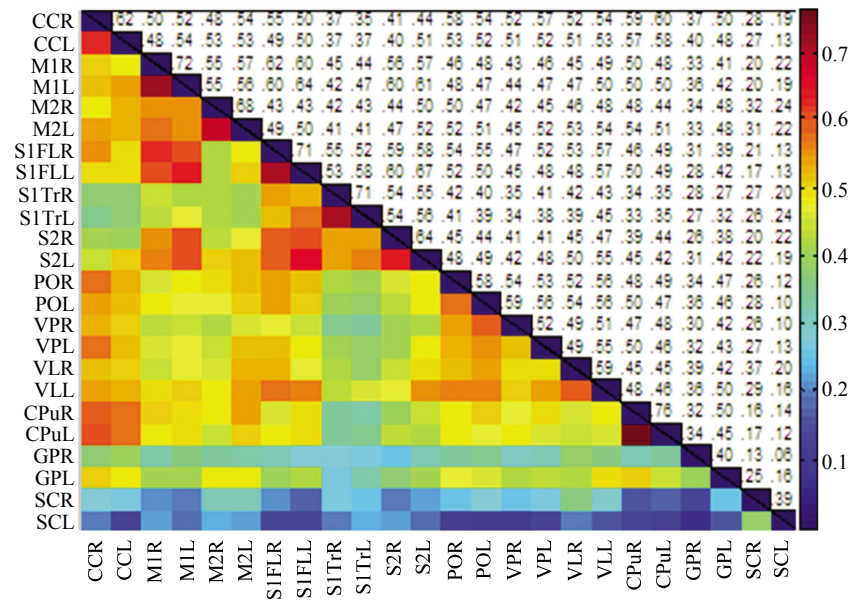


Fig. 2 Correlation coefficient matrix of average resting-state BOLD time courses in the rat sensorimotor system
Results from 6 rats are averaged. The SC from visual system was included as a control. The lower triangular part of the graph displays the coefficient according to the color bar on the right, and the upper triangular part (mirror image) of the graph tabulates the corresponding correlation coefficient values. The strongest correlations are in intra-sensorimotor cortex and intrathalamic. The lowest correlations are in the CC.

2.3 感觉运动系统脑网络特征

由于目前对构建网络的阈值没有明确的定义, 我们选择了 21 个相关系数阈值(0.2~0.3, 步长 0.05)来进行二值化处理, 研究大鼠感觉运动系统的网络属性。我们计算了这 21 个大鼠感觉运动网

络及其边数相同的随机网络的相关参数。将大鼠感觉运动系统脑网络与随机网络进行比较, 均发现 $\gamma > 1$, $\lambda \approx 1$, $\sigma > 1$ (图 3)。这些结果提示大鼠感觉运动系统脑网络在静息状态时具有小世界属性。

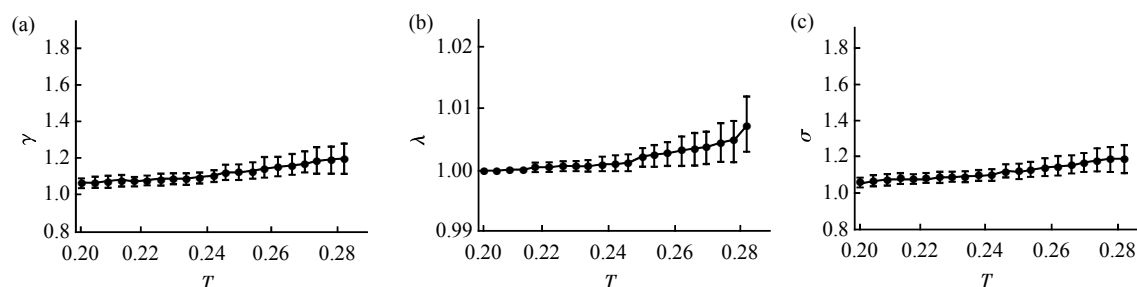


Fig. 3 The changes of (a) γ , (b) λ and (c) σ for rat sensorimotor network at different threshold

Here, γ is significantly greater than 1 while λ is near the value of 1 over the whole range of T . $\sigma = \gamma/\lambda$, which is typically >1 . Error bars correspond to standard error of the mean. T : Threshold (correlation coefficient values).

3 讨 论

前爪电刺激是一种常用的用于证实前爪代表区 (S1FL) 以及丘脑、S2 区的刺激反应实验模式, 已被广泛用于 fMRI 实验中描述特定的感觉通路^[14]. 本研究也表明, fMRI 可以准确定位大鼠前爪刺激的感觉运动系统激活区的变化, 其显示的激活部分解剖部位与已有的研究结果一致^[5-6]. 该实验模式的优势在于能直观地显示功能区的解剖部位, 具有较高的空间分辨率和时间分辨率, 重复性好. 因此, 应用该模型可更深入地研究躯体感觉皮层区脑功能的变化.

近年来, 静息态 fMRI 的研究发现, 低频振荡 (0.01~0.1Hz) 在空间分离的脑区间存在高的相干度, 具有明显的网络行为^[15]. 1995 年, Biswal 等^[16] 用 fMRI 检测静息状态下人脑的活动信号, 发现双侧第一躯体感觉区、语言区和第一躯体运动区都存在有同步 LFF, 提出了运动皮层功能连接的概念. 人的静息态 fMRI 显示, 人脑的某些区域存在任务相关的负激活^[17], 但其产生机制并不清楚. 针对静息态的 fMRI 数据, 我们发现大鼠感觉运动系统的主要成分, 包括 S1/S2、M1/M2、丘脑的 VP、PO 等核团内部具有较强的功能连接, 且双侧半球同源脑区间还存在明显的同步 LFF, 与 Zhao 等报道的结果一致^[5-6].

大脑在静息状态下的功能网络具有小世界属性已被普遍接受^[18-19]. 在某些生理或病理状态下 (如任务状态、癫痫、精神分裂症等), 脑网络可能会更

偏向于随机网络或规则网络^[20]. 来自神经元水平的电生理研究也显示, 猫的视觉系统具有小世界属性, 该特性可以反映功能脑网络对局部或全局信息处理的需求^[21]. 本研究发现, 大鼠感觉运动系统脑网络在静息态时具有小世界属性, 与在人脑和其他动物上的结果类似.

总之, 我们的结果提示, 大鼠在静息状态下感觉运动系统脑网络的 BOLD 信号存在自发同步低频振荡的区域性长时程相关, 其网络具有小世界属性. 可以推测, 啮齿类动物在大脑信息处理中的功能分离和整合可能与人类存在某些相似性, 提示哺乳类动物神经系统进化过程中遗传保守性的存在.

致谢 感谢美国 Emory University 的 Hu Xiaoping 博士和 Zhao Fuqiang 博士为本研究提供的磁共振数据.

参 考 文 献

- [1] Logothetis N K, Pauls J, Augath M, *et al.* Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature*, 2001, **412**:150-157
- [2] Hampson M, Peterson B S, Skudlarski P, *et al.* Detection of functional connectivity using temporal correlations in MR images. *Hum Brain Mapp*, 2002, **15**(4): 247-262
- [3] Damoiseaux J S, Rombouts S A R B, Barkhof F, *et al.* Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(37): 13848-13853
- [4] Vincent J L, Patel G H, Fox M, *et al.* Intrinsic functional architecture in the anaesthetized monkey brain. *Nature*, 2007, **447**: 83-86
- [5] Zhao F, Zhao T, Zhou L, *et al.* BOLD study of stimulation-induced neural activity and resting-state connectivity in medetomidine-

- sedated rat. *Neuroimage*, 2008, **39**(1): 248–260
- [6] Pawela C P, Biswal B B, Cho Y R, *et al.* Resting-state functional connectivity of the rat brain. *Magn Reson Med*, 2008, **59** (5): 1021–1029
- [7] Achard S, Salvador R, Whitcher B, *et al.* A resilient, low-frequency, small-world human brain functional network with highly connected association cortical hubs. *J Neurosci*, 2006, **26**(1): 63–72
- [8] Meunier D, Achard S, Morcom A, *et al.* Age-related changes in modular organization of human brain functional networks. *Neuroimage*, 2009, **44**(3): 715–723
- [9] He Y, Wang J H, Wang L, *et al.* Uncovering intrinsic modular organization of spontaneous brain activity in humans. *PLoS One*, 2009, **4**(4): e5226
- [10] Stephan, Hilgetag K E, Burns C C, *et al.* Computational analysis of functional connectivity between areas of primate cerebral cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2000, **355**(1393): 111–126
- [11] Chen H F, Yao D Z. Discussion on the choice of separation component in fMRI data analysis by Spatial Independent Component analysis. *Magnetic Resonance Imaging*, 2004, **22** (6): 827–833
- [12] Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. New York: Elsevier Academic Press, 2005
- [13] Watts D J, Strogatz S H. Collective dynamics of 'small-world' networks. *Nature*, 1998, **393**: 440–442
- [14] Lowe A S, Beech J S, Williams S C R. Small animal whole brain fMRI: innocuous and nociceptive forepaw stimulation. *Neuroimage*, 2007, **35**(2): 719–728
- [15] 尧德中, 罗程, 雷旭, 等. 脑成像与脑连接. *中国生物医学工程学报*, 2011, **30**(1): 6–10
- Yao D Z, Luo C, Lei X, *et al.* *Chin J Biomedical Engineering*, 2011, **30**(1): 6–10
- [16] Biswal B, Yetkin F Z, Haughton V M, *et al.* Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med*, 1995, **34**(4): 537–541
- [17] Fox M, Snyder A Z, Vincent J L, *et al.* The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(27): 9673–9678
- [18] Salvador R, Suckling J, Coleman M R, *et al.* Neuro-physiological architecture of functional magnetic resonance images of human brain. *Cereb Cortex*, 2005, **15**(9): 1332–1342
- [19] Sporns O. Small-world connectivity, motif composition, and complexity of fractal neuronal connections. *BioSystems*, 2006, **85**(1): 55–64
- [20] Ponten S C, Bartolomei F, Stam C J. Small-world networks and epilepsy: Graph theoretical analysis of intracerebrally recorded mesial temporal lobe seizures. *Clinical Neurophysiology*, 2007, **118**(4): 918–927
- [21] Yu S, Huang D B, Singer W, *et al.* A Small World of Neuronal Synchrony. *Cerebral Cortex*, 2008, **18**(2): 2891–2901

Study on Resting-State Functional Connectivity of Rat Sensorimotor System*

XIA Yang, DONG Kai, LAI Yong-Xiu**, LUO Cheng, LEI Lei, YAO De-Zhong

(Key Laboratory for NeuroInformation of Ministry of Education, School of Life Science and Technology,
University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610054, China)

Abstract In order to better understand functional connectivity of rodent brain, we analyzed the functional magnetic resonance imaging (fMRI) data of the resting-state and forepaw electrical stimulation from lightly anesthetized rat at 9.4 T using cross-correlation analysis. The results showed that the primary somatosensory cortex (S1) and thalamus (Tha) were significantly positively activated, the caudate putamen nucleus (CPu) was significantly negatively activated during forepaw stimulation. The higher connectivity bilateral intra-sensory/motor cortices and bilateral intra- thalamus, but lower connectivity between sensory/motor cortex and thalamus were found during the resting state. Synchronized low frequency fluctuation (LFF) was observed between functionally related brain regions. In addition, the brain network of sensorimotor system showed small-world feature during resting-state. These results suggested that rodents have some similar properties with human in functional separation and integration during brain information processing, and strongly support the view that the underlying physiology of CNS is conserved across mammalian species.

Key words fMRI, sensorimotor system, resting-state functional connectivity, low frequency fluctuation (LFF), small-world network

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00236

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (81071222, 30870655).

**Corresponding author.

Tel: 86-28-83201018, E-mail: laiylx@uestc.edu.cn

Received: April 7, 2012 Accepted: May 17, 2012