

令和5年度
厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)

バイタルサインの統合的評価による急性毒性試験の判定基準策定と代替法に資する研究
-診断学とAIによる致死性予測と人道的エンドポイントの設定-

分担研究報告書

分担研究課題 脳波解析による神経毒性予測

研究分担者 鈴木 郁郎 東北工業大学・大学院工学研究科・電子工学専攻 教授

研究要旨

本研究では、化合物を動物に投与した際に測定されたバイタルサインの総合的評価と致死性予測を可能とする解析手法の構築を目的として、まずは、二層カーボンナノチューブ(Double-Walled Carbon Nanotube: DWCNT)を基にしたCNTヤーン(Siddarmark LLC)を用いたラット脳波測定データから、化合物投与による脳波信号の変化を捉えるための解析手法を検討した。FFT(Fast Fourier Transform)によるPSD(Power Spectral Density)を算出し、PSDのピーク値および、ピーク周波数を定量化することで被験物質投与による脳波信号の変化を評価した。また、脳波データに対してバースト解析を実施する独自の解析手法(特許第7138995号)を用いることで、脳波データから神経活動信号に関する複数の解析パラメータを算出し、被験物質に対する脳波信号の周波数依存的な変化を評価した。本研究で検討したFFTのPSDによる脳波解析および、脳波データのバースト解析を用いることで、CNTヤーンによる脳波測定データにおける化合物投与時の脳波変化を捉えられることが確認された。本解析手法は化合物を動物に投与した際に測定されたバイタルサインの総合的評価と致死性予測を可能とする解析手法の基盤としての活用期待できる。

A 研究目的

本研究では、化合物を動物に投与した際に測定されたバイタルサインの総合的評価と致死性予測を可能とする解析手法の構築を目的とした。まずは、二層カーボンナノチューブ(Double-Walled Carbon Nanotube: DWCNT)を基にしたCNTヤーン(Siddarmark LLC)を用いたラット脳波測定デ

ータから、化合物投与による脳波信号の変化を捉えるための解析手法を検討した。

B. 研究方法

二層カーボンナノチューブを基にしたCNTヤーン(CNT-Y)を用いて計測された、雌性ヘアレスラット(HWY/Slc)8~12週齢の脳波測定データの

解析を実施した。被験物質として三環系抗うつ薬の一つであるアミトリプチリン塩酸塩 (Amitriptyline HCl、富士フィルム和光純薬) および、ムスカリン性アセチルコリン受容体の阻害薬であるアトロピン硫酸塩 (ATROPINE SULFATE、田辺三菱製薬) を使用し、ラットへの投与前後の脳波データを用いた。

脳波データは、被験物質投与前、投与後等のSectionで分割し、FFT (Fast Fourier Transform) によるPSD (Power Spectral Density : パワースペクトル密度) を各Sectionで算出した。算出されたPSDのピーク値および、ピーク周波数を定量化し、各Sectionを比較することで被験物質投与による脳波信号の変化を評価した。

また、脳波データに対してバースト解析を実施する独自の解析手法(特許第7138995号)を用いることで、脳波データから神経活動信号に関する複数の解析パラメータを算出した。これらの解析パラメータは複数の周波数帯域でそれぞれ算出可能なため、被験物質に対する脳波信号の周波数依存的な変化を評価することができる。

C. 研究結果

FFTのPSDによる脳波解析

図1にAmitriptyline 50mg/kg試験時の脳波波形を示す。Amitriptyline投与前のSection Aおよび、Amitriptyline投与後のSection B、Section C、Section Dを解析対象とした。各SectionでFFTによるPSDを算出した結果、Section A (投与前) ではピーク値 0.088 V²/Hz、ピーク周波数 2 Hz、Section B (投与後0-8分) ではピーク値 0.091 V²/Hz、ピーク周波数 2 Hz、Section C (投与後8-16分) ではピーク値 0.075 V²/Hz、ピーク周波数 2 Hz、Section D (投与後16-24分) ではピーク値 0.072 V²/Hz、ピーク周波数 2 Hzであった(図2)。いずれのSectionにおいてもピーク周波数は2 Hzであったが、Amitriptyline投与によりPSDのピーク値が時間経過と共に減弱する傾向が観察された。

図3にAtropine 5mg/kg試験時の脳波波形を示す。Atropine投与前のSection A、Atropine投与後のSection Bおよび、麻酔をoffにしたSection Cを解析対象とした。各SectionでFFTによるPSDを算出し

た結果、Section A (投与前) ではピーク値 0.076 V²/Hz、ピーク周波数 2 Hz、Section B (投与後) ではピーク値 0.078 V²/Hz、ピーク周波数 2 Hz、Section C (麻酔off) ではピーク値 0.102 V²/Hz、ピーク周波数 2 Hzであった(図4)。いずれのSectionにおいてもピーク周波数は2 Hzであり、Atropine投与によるPSDのピーク値の変化はSection AとSection Bで観察されなかった。Section CではPSDのピーク値が増強した結果が得られたが麻酔を中止し覚醒したことによる影響と考えられる。

図5にAtropine 50mg/kg試験時の脳波波形を示す。Atropine投与前のSection A、Atropine投与後のSection Bおよび、麻酔をoffにしたSection Cを解析対象とした。各SectionでFFTによるPSDを算出した結果、Section A (投与前) ではピーク値 0.057 V²/Hz、ピーク周波数 2 Hz、Section B (投与後) ではピーク値 0.051 V²/Hz、ピーク周波数 2 Hz、Section C (麻酔off) ではピーク値 0.121 V²/Hz、ピーク周波数 1 Hzであった(図6)。Atropine投与によるPSDのピーク値および、ピーク周波数の変化はSection AとSection Bで観察されなかった。Section CではPSDのピーク値が増強し、ピーク周波数が1 Hzに変化した。麻酔を中止し覚醒したことによるラットの行動および、電極操作等のノイズの影響が含まれていると考えられる。

脳波データのバースト解析

脳波データに対するバースト解析手法(特許第7138995号)を用いて、神経信号であるオシレーションおよび、高頻度神経活動であるバーストを検出し、それぞれの頻度(Oscillation rate, Burst rate)を算出した。脳波信号はバンドパスフィルタにより、θ波帯域(5-8 Hz)、α波帯域(8-14 Hz)、β波帯域(15-25 Hz)、γ波帯域(30-50 Hz)、high-γ波帯域(70-150 Hz) および、150-200 Hzに分割し、各周波数帯域でバースト解析を実施した。

Amitriptyline 50mg/kg試験時のバースト解析の結果を図7に示す。θ、α、β、γ波帯域で、Amitriptyline投与後のSection CでOscillation rateが増加し、Section Dで減少した。High-γ、150-200 Hzでは、投与後Section BからOscillation rate

が減少した。High- γ 波帯域でBurst rateが投与後Section Cにかけて上昇した。150-200Hzでは投与後Section BからBurst rateが減少した。

Atropine 5mg/kg試験時のバースト解析の結果を図8に示す。 θ 、 α 、 γ 、high- γ 波帯域で、Atropine投与後にOscillation rateが増加した。また、 θ 、 α 、 β 波帯域で、Atropine投与後にBurst rateが顕著に減少したのに対して、 γ 、high- γ 、150-200 HzではBurst rateが上昇した。

Atropine 50mg/kg 試験時のバースト解析の結果を図9に示す。すべての周波数帯域で、Atropine投与後にOscillation rateが顕著に増加した。 γ 、high- γ 、150-200 HzではBurst rateが顕著に上昇した。

D. 考察

FFTのPSDによる脳波解析について、Amitriptylineおよび、Atropine投与によりPSDのピーク周波数は変化しないものの、Amitriptyline投与によりPSDのピーク値が減弱する傾向を捉えることができた。Atropineについても、投与後Sectionをより詳細に区分することで投与後の時間経過による脳波信号の変化を捉えられる可能性があると考えられる。また、麻酔時と覚醒時でPSDのピーク値に差異があったことから、動物の状態を考慮した評価が必要であると考えられる。

脳波データのバースト解析について、Amitriptyline投与により、低周波数帯域ではOscillation rateが増加し、高周波数帯域ではOscillation rateが減少する特徴が観察された。Atropine投与ではOscillation rateの増加が観察され、低周波数帯域ではBurst rateが減少し、高周波数帯域ではBurst rateが顕著に増加する特徴が観察された。この特徴は濃度依存的により顕著に変化した。Amitriptyline投与、Atropine投与いずれの場合も、周波数帯域に依存した特徴が観察され、化合物投与による脳波信号の変化を捉えることが可能であった。

麻酔下ではなく覚醒時の脳波データであれば、脳波測定時の一般状態観察および、その他のバイタルサインを指標にして脳波データをラベリングすることで、活動状態に依存した脳波信号の特徴を捉えることができると考えられる。

E. 結論

本研究で検討したFFTのPSDによる脳波解析および、脳波データのバースト解析を用いることで、CNT-Yによる脳波測定データにおける化合物投与時の脳波変化を捉えられることが確認された。本解析手法は化合物を動物に投与した際に測定されたバイタルサインの総合的評価と致死性予測を可能とする解析手法の基盤としての活用に期待できる。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

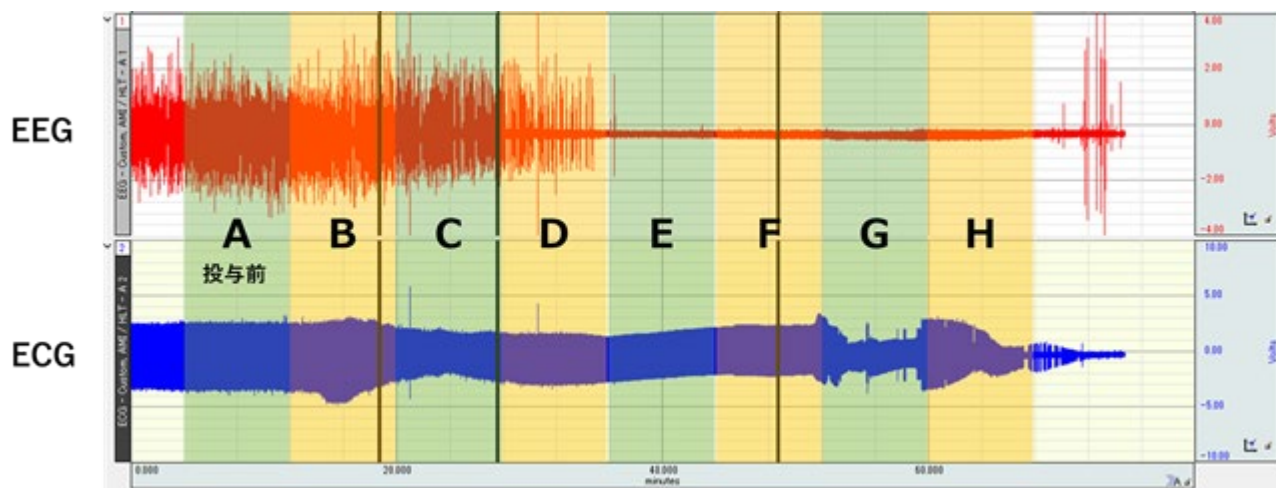


図1 Amitriptyline 50mg/kg 試験時の脳波波形(上段)、心電図(下段)

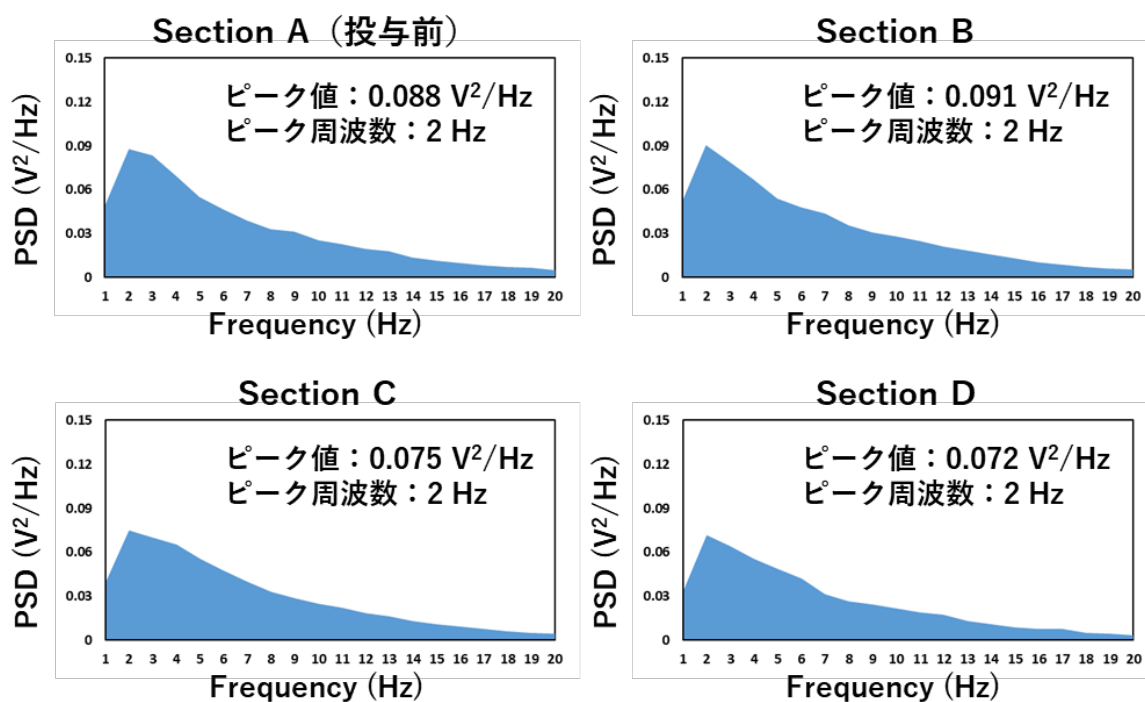


図2 Amitriptyline 50mg/kg試験時のFFTによるPSD

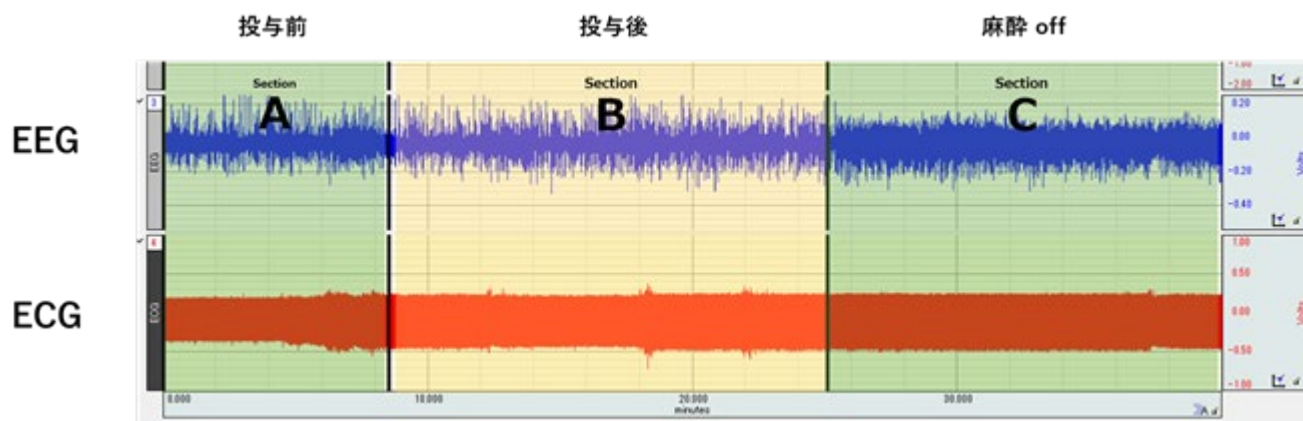


図3 Atropine 5mg/kg試験時の脳波波形（上段）、心電図（下段）

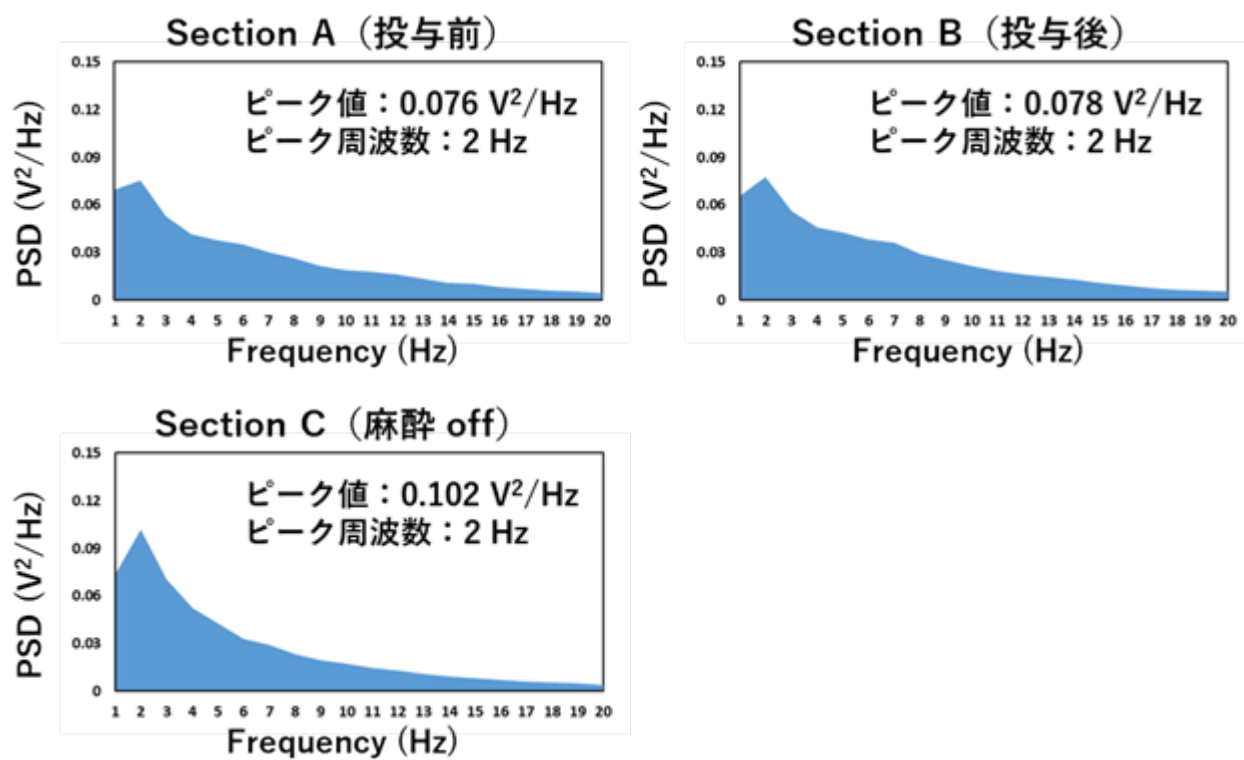


図4 Atropine 5mg/kg試験時のFFTによるPSD

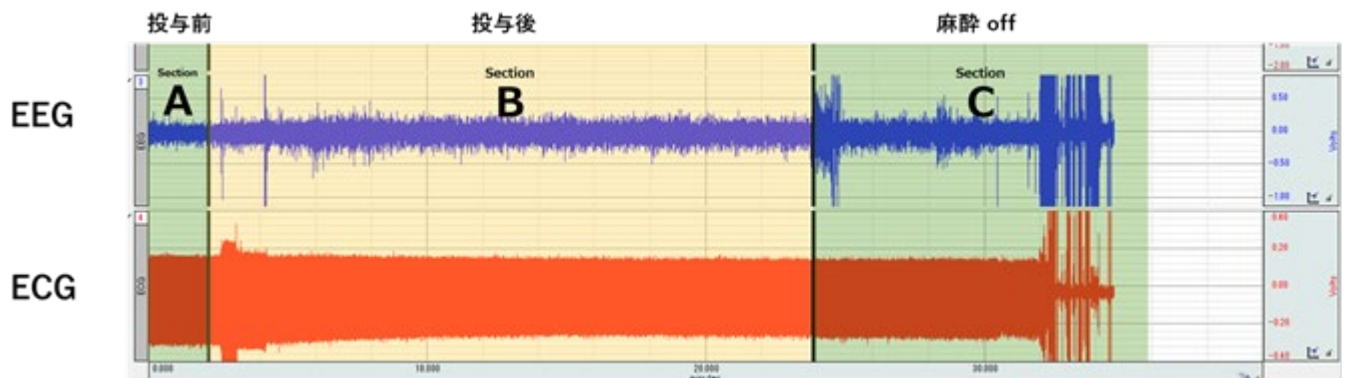


図5 Atropine 50mg/kg試験時の脳波波形（上段）、心電図（下段）

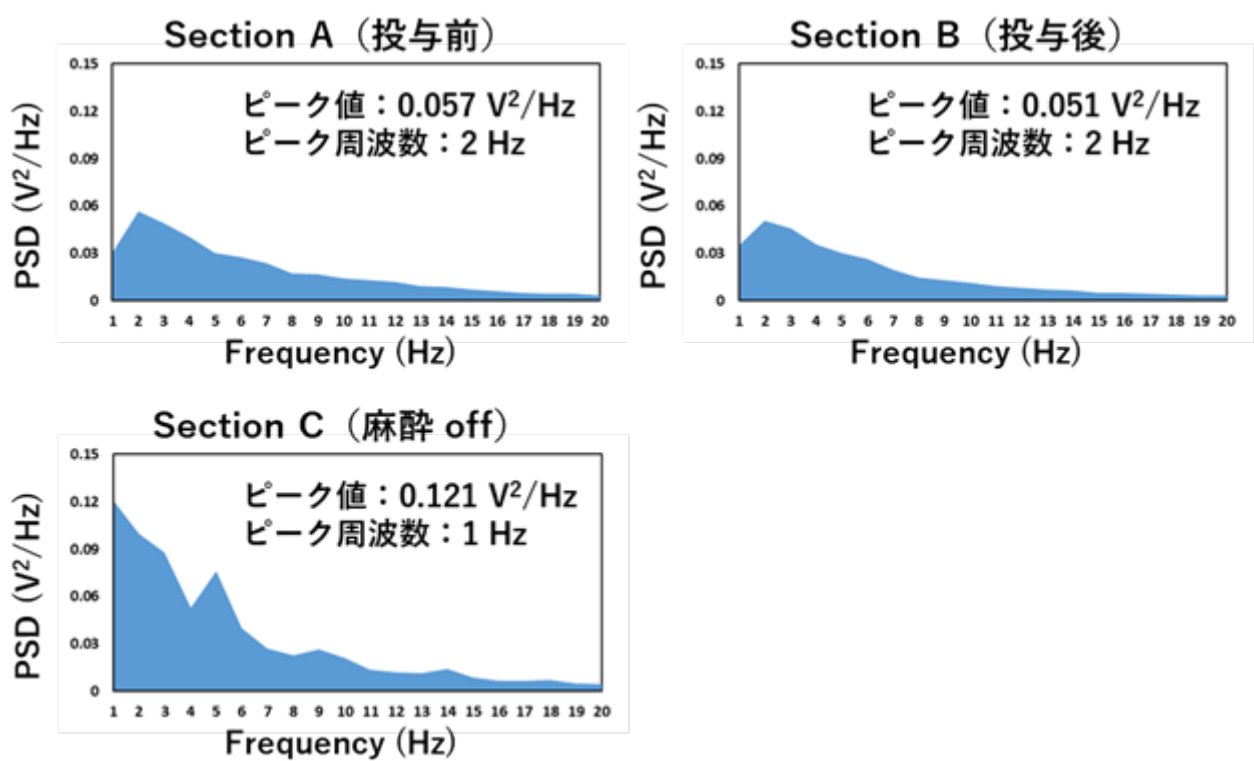


図6 Atropine 50mg/kg試験時のFFTによるPSD

Amitriptyline 50 mg/kg

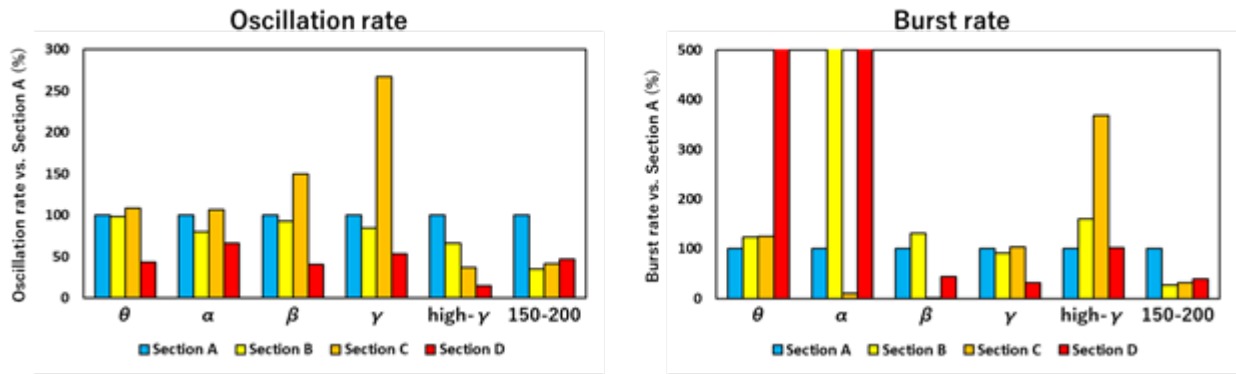


図7 Amitriptyline 50mg/kg試験時のOscillation rate (左図)、Burst rate (右図)

Atropine 5 mg/kg

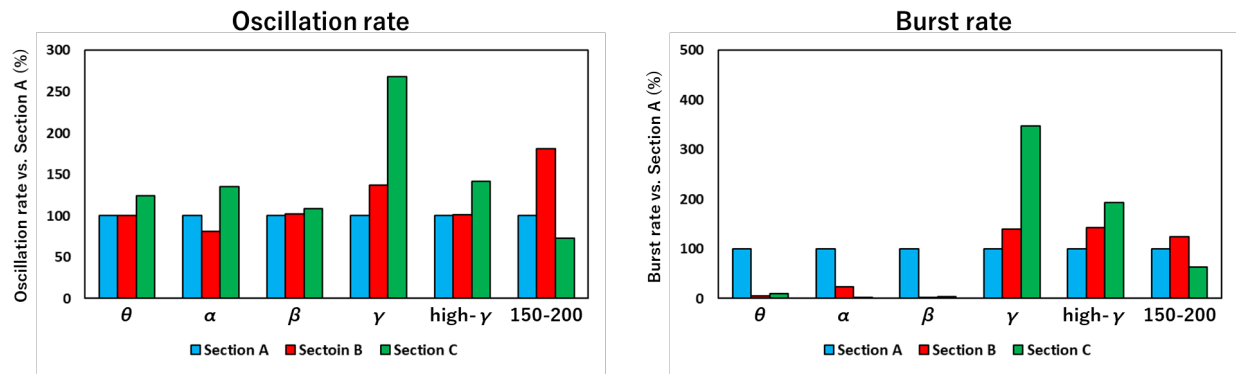


図8 Atropine 5mg/kg試験時のOscillation rate (左図)、Burst rate (右図)

Atropine 50 mg/kg

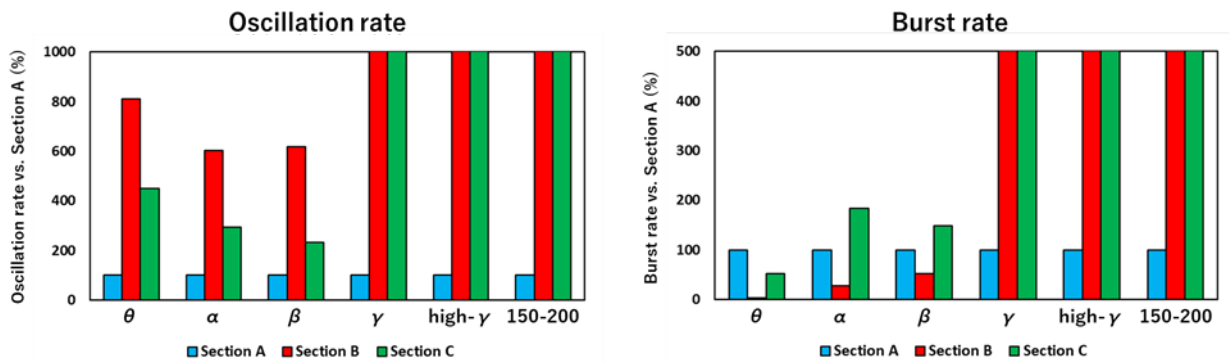


図9 Atropine 50mg/kg試験時のOscillation rate (左図)、Burst rate (右図)