❖实验研究

Acute effects of alcohol on brain function monitored with resting-state fMRI in rhesus monkeys

DING Zhaoming[1], *WANG Haibao*[2], *YU Yongqiang*[2*],
CHENG Wenwen[2], *SHU Hongmin*[2]
(1. *Department of Radiology, the Fourth Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei* 230000, *China*; 2. *Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei* 230022, *China*)

[**Abstract**] **Objective** To assess the acute effects alcohol on brain function of healthy rhesus monkeys by resting-state fMRI-fractional low frequency oscillation amplitude (fALFF). **Methods** Seven healthy male rhesus monkeys were studied by resting-state fMRI prior to (control group) and 10 minutes after initiation of alcohol administration (alcohol group), brain areas with difference of fALFF between two groups were acquired by ALFF algorithm. **Results** Compared with control group, brain areas with decreased fALFF in alcohol group included the right occipital lobe, right middle temporal gyrus, left posterior central gyrus, right side cuneus/calcarine, right superior frontal gyrus, posterior cingulate and cerebellum, thalamus, and brain areas with increased fALFF included the bilateral frontal gyrus, bilateral inferior temporal gyrus, the right side of the central gyrus, precuneus, posterior cingulate, left hippocampus, bilateral insular cortex and brain stem, cerebellum, right basal ganglia (all $P<0.01$). **Conclusion** Acute effects of alcohol on brain function in rhesus monkeys have a global effect.

[**Key words**] Alcohol; Functional magnetic resonance imaging; Resting-state fMRI; Rhesus
DOI:10.13929/j.1003-3289.2016.07.001

静息态 fMRI 评估酒精注射急性期恒河猴脑功能改变

丁兆明[1],王海宝[2],余永强[2*],程文文[2],束宏敏[2]
(1.安徽医科大学第四附属医院影像科,安徽 合肥 230000;2.安徽医科大学第一附属医院放射科,安徽 合肥 230022)

[**摘 要**] **目的** 采用静息态 fMRI 基于分数低频振荡幅度(fALFF)算法评价酒精急性期恒河猴脑功能改变。**方法** 分别对 7 只雄性健康恒河猴于给予酒精前(对照组)及 10 min 后(酒精组)行静息态 fMRI 扫描,采用 fALFF 算法获得两组 fALFF 值存在差异的脑区。**结果** 静息态下,酒精组 fALFF 值低于对照组的脑区为右枕叶、右侧颞中回、左侧中央后回、右侧楔叶/距状沟、右侧额上回、后扣带回及小脑、丘脑($P<0.01$);酒精组 fALFF 值高于对照组的脑区包括双侧额上回、双侧颞下回、右侧中央前回、楔前叶、后扣带回、左侧海马、双侧岛叶及脑干、小脑、右侧基底核(P 均<0.01)。**结论** 酒精急性期恒河猴脑功能的改变具有全脑效应。

[**关键词**] 酒精;功能磁共振成像;静息态 fMRI;恒河猴
[**中图分类号**] R-332;R445.2 [**文献标识码**] A [**文章编号**] 1003-3289(2016)07-0995-05

[**基金项目**] 国家自然科学基金(8171326、81571308)、省级高校自然科学研究基金(K12013ZD08)。
[**第一作者**] 丁兆明(1987—),男,安徽蒙城人,在读硕士。研究方向:神经影像学。E-mail:1105991828@qq.com
[**通信作者**] 余永强,安徽医科大学第一附属医院放射科,230022。E-mail:yuyongqiang@hotmail.com
[**收稿日期**] 2015-11-28 [**修回日期**] 2016-05-13

近年，静息态功能影像学在神经药理学的研究已经取得重大进展，相比任务态，其避免了人为学习某项技能或执行特定任务时的个体差异，且可进行跨物种研究，已经成为药物临床应用前研究的重要工具[1]。目前，已被证明可以用于神经药理学研究的影像学方法有动脉自旋标记(arterial spin labeling，ASL)和静息态 fMRI。研究[2]显示，急性饮酒后可立刻引起脑神经元活动和局部脑血流量的改变，这些改变与认知控制、情感处理、工作记忆、感觉运动功能密切相关。动物实验是基础研究的重要工具，非人灵长类动物模型对神经影像学研究具有参考价值。研究[3]显示，恒河猴默认网络(default mode network，DMN)与人类具有相似性，且麻醉状态下网络连接仍具有完整性，均充分证明了此类模型应用于临床研究的可行性。本研究采用静息态 fMRI 基于分数低频振荡幅度(fractional amplitude of low frequency，fALFF)评估急性饮酒后恒河猴脑功能的变化。

1　材料与方法

1.1　实验对象　选取 7 只雄性恒河猴，无酒精接触史，年龄 3～5 岁，体质量 6～10 kg。实验方法为给酒精前后自身对照[3-4]，对所有实验动物均进行 2 次相同的 fMRI 扫描，间隔 1 周以上。操作过程：首先麻醉实验动物，采用 3%戊巴比妥钠肌肉注射，剂量 1 ml/kg 体质量、诱导期约 15 min(可根据情况适当加量)，于大腿部放置留置针，确定动物达麻醉状态后运送至扫描室，摆好体位，对呼吸、心率进行监控，盖被子以保证体温。先进行一次 BOLD-fMRI 扫描，获取基础静息态数据作为对照组，然后于静脉推注酒精(40°伏特加，用生理盐水稀释 1 倍；酒精组)，剂量为 0.44 g/kg 体质量，约 5 min。给药后延迟 10 min[3]进行第 2 次 BOLD 扫描以及其他序列扫描。整个扫描过程约 2 h，扫描结束后将动物运回动物房，确保其清醒后离开。

1.2　仪器与方法　采用 GE Discovery 750W 3.0T MR 扫描仪，头部 32 通道相控阵线圈。功能像采用 BOLD 的 EPI 单次激发全脑轴位扫描，TE 35 ms，TR 2 000 ms，FA 90°，FOV 24 cm×24 cm，矩阵 64×64，层厚 2.5 mm，层距 0.5 mm，层数 26。轴位 3D 解剖图像采用快速扰相梯度翻转恢复序列扫描，TE 3.1 ms，TR 7.2 ms，FA 8°，FOV 25.6 cm×25.6 cm。矩阵 256×256，层厚 1.0 mm，层数 172。

1.3　图像处理　采用基于 MatLab 7.12(R2011a)的 dpabi 软件中的 DPARSF 3.2 for monkey data 及 SPM12 数据处理软件对静息态 fMRI 数据进行处理，先将图像由 DICOM 格式转换为 NIFTI 格式；剔除前 10 个时间点数据；头动校正，剔除头部平移＞2.5 mm 及转动＞2.5°的数据；行空间标准化，先将静息态功能像匹配至 T1WI 解剖图像上，再将 T1WI 图像配准至 112RM-SL_T1 模板[5](软件自带公认模板)进行标准化，以 2 mm×2 mm×2 mm 体素单元重采样；然后进行高斯半高全宽(3 mm)平滑处理；去线性漂移和低频滤过处理，活动频率范围为 0.01～0.08 Hz 的低频信号；采用 Friston24 去除协变量，包括去趋势线、头动参数、脑脊液、脑白质信号等；计算全脑 fALFF 值。将组间 fALFF 有差异的脑区通过 MRIcroN 软件呈现出来，通过 MNI 坐标找到相应脑区，根据猴脑解剖图谱确定各脑区具体位置[6-7]。根据峰值坐标找到后扣带回前后部两个变化明显的脑区，用 5 mm 小球对其进行标记，提取出 fALFF 值，做成柱状图。共进行 14 次图像采集，其中 13 次符合要求。

1.4　统计学分析　采用 SPM12 软件对两组 fALFF 进行配对样本 t 检验，$P<0.01$(非校正)及簇丛≥3 个体素为差异有统计学意义；根据 MNI 坐标呈现统计学差异的脑区。

2　结果

酒精组与对照组 fALFF 值存在差异的脑区见表 1、2，图 1。酒精组 fALFF 值低于对照组的脑区为右枕叶、右侧颞中回、左侧中央后回、右侧楔叶/距状沟、右侧额上回、后扣带回及小脑、右侧丘脑。酒精组 fALFF 值高于对照组的脑区为双侧额上回、双侧颞下回、右侧中央前回、楔前叶、后扣带回、左侧海马、双侧岛叶及脑干、小脑、右侧基底核。差异较大的脑区包括双侧额上回、右侧颞中回、楔前叶、楔叶/距状沟、后扣带回及右岛叶，簇丛均≥8 个体素。酒精组与对照组后扣带回前部($t=4.433$，$P<0.01$，图 2)、后部($t=3.396$，$P<0.01$，图 3)fALFF 值差异有统计学意义。

表 1　与对照组相比，酒精组 fALFF 值减低的脑区

脑区	体素	MNI 坐标(mm)			t 值	P 值
		x	y	z		
右枕叶	4	8	−16	34	4.076	＜0.001
右侧颞中回	8	26	10	12	3.693	＜0.001
左侧颞上沟	5	−18	6	24	3.520	＜0.001
左侧中央后回	4	−16	12	28	3.178	0.001
右楔叶/距状沟	8	10	−16	28	3.168	0.001
右侧额上回	10	18	32	28	2.997	0.002
左侧小脑	4	−6	−4	4	2.909	0.002
双侧后扣带回	5	2	−8	20	2.894	0.002
右侧丘脑	3	2	12	16	2.729	0.004

注：$P<0.01$ 及簇丛≥3 个体素为差异有统计学意义

表 2　与对照组相比，酒精组 fALFF 值增加的脑区

脑区	体素	MNI 坐标(mm)			t 值	P 值
		x	y	z		
右侧颞下回	5	22	4	0	4.178	<0.001
左侧颞下回	3	−22	6	−4	2.930	0.002
双侧楔前叶	12	2	−10	28	4.160	<0.001
双侧后扣带回	9	0	2	22	3.906	<0.001
左侧海马旁回	4	−12	−2	16	3.380	<0.001
小脑	7	0	−10	12	3.455	<0.001
小脑	3	−14	−14	2	3.431	<0.001
小脑	3	14	−14	0	2.652	0.005
右侧中央前回	5	20	20	28	3.232	0.001
双侧额上回	8	2	20	34	3.020	0.002
双侧额上回	5	−4	46	14	2.885	0.002
右侧额上回	7	6	44	22	3.003	0.002
左侧额上回	5	−4	46	14	2.885	0.002
右侧基底核	3	4	22	16	2.977	0.002
右侧岛叶	9	18	16	18	2.839	0.003
左侧岛叶	3	−20	10	14	2.811	0.003
脑干	5	−4	−4	−4	2.794	0.003

注：P<0.01 及簇丛≥3 个体素为差异有统计学意义

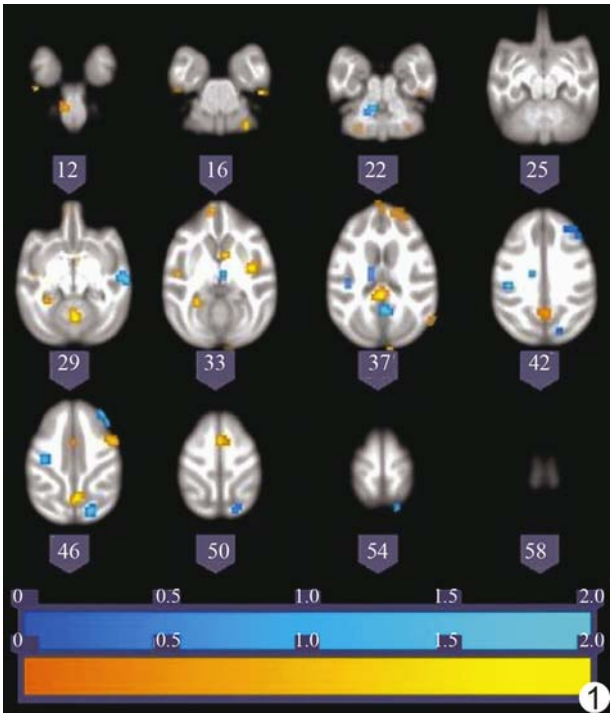

图 1　酒精组与对照组 fALFF 值存在显著差异的脑区　冷色区域示酒精组 fALFF 值减低的脑区，暖色区域示酒精组 fALFF 值增加的脑区

3　讨论

酒精对神经系统的作用机制极其复杂，可影响多个递质系统，包括 γ-氨基丁酸、谷氨酸、多巴胺、血清素、乙酰胆碱等；此外其还可以与细胞膜结合，改变细胞膜磷脂成分，通过变构调节与受体、膜蛋白发生作用，改变细胞膜的转运功能[2]。既往 PET 和 ASL 的研究[2,8]结果显示，酒精对脑血流量的影响不具有全脑效应，影响范围比较局限、主要包括额叶、颞叶和小脑。但 Strang 等[4,9]改变给药方式后的研究表明，酒精能引起全球血流量增加，该研究很好地控制了酒精上升速率、浓度及作用时间，可信度更高。大量任务态、静息态 fMRI 研究[2-3]表明，急性饮酒对多个脑网络产生广泛而显著的影响。本研究结果表明，酒精能引起多个脑区活动的改变，涉及额颞枕叶、基底核、丘脑、小脑、脑干、岛叶及海马，范围广泛。这些结果均更加确定了酒精的全脑效应。酒精急性期脑活动及血流量的改变，反应了该脑区对酒精的敏感度，急性期改变越明显，在长期饮酒过程中，相同脑区的结构及功能损伤程度将越明显[10]。

各种关于非人灵长类动物 DMN 的研究[3]表明，DMN 具有跨物种相似性，目前可以确定的脑区有楔前叶、后扣带回、内侧前额叶皮层、颞上回，亦有部分脑区只在非人灵长类动物的 DMN 中出现，如视觉皮层及颞叶[3]。DMN 是第一个静息态下观察的脑网络，反映了静息态大脑最基本的代谢要求，与许多高级认知活动(如内在心理活动、周围环境监测、情景记忆检索等)密切相关。Weber 等[11]研究表明，口服酒精 60 min后 DMN 网络连接呈混合性增加或减低，90 min后普遍减低。另一项类似研究[12]也表明，口服酒精后 DMN 功能连接、ALFF、ReHo 均发生变化，且功能连接减弱主要发生在左侧大脑半球。本研究中 DMN 涉及的脑区，如楔前叶、后扣带回、内侧前额叶皮质及左侧颞叶脑活动均发生了显著变化，楔前叶与后扣带回最为明显(图 1)。有报道[12]认为两者是 DMN 中心节点，最易受影响，本研究也证实了此观点。后扣带回与感觉监控、立体定位及记忆功能密切相关。Bjork 等[2]认为酒精急性期感觉区的功能连接增加，进而扩大了酒精的线索诱导效应，本研究中后扣带回活动改变明显，呈混合性增加或减低。上述研究结果均表明酒精急性期 DMN 受到严重影响。

人类额叶与其他脑区协调参与学习、记忆、情绪、注意及执行控制等多种认知功能的加工与处理[13-14]，本研究显示，前额叶脑自发活动变化明显，呈混合性增加或减低，表明前额叶对酒精敏感。一项对慢性饮酒者的研究[15]表明，其前额叶结构及执行功能的严重受损是成瘾者复发的主要原因。但亦有研究[3]指出，前额叶对麻醉剂同样敏感，因此麻醉剂对脑功能的影

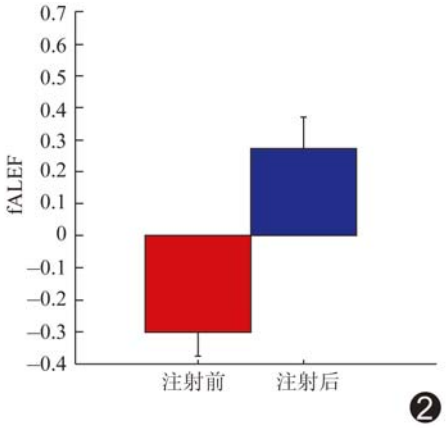

图 2　给酒精后恒河猴后扣带回前部 fALFF 值增加

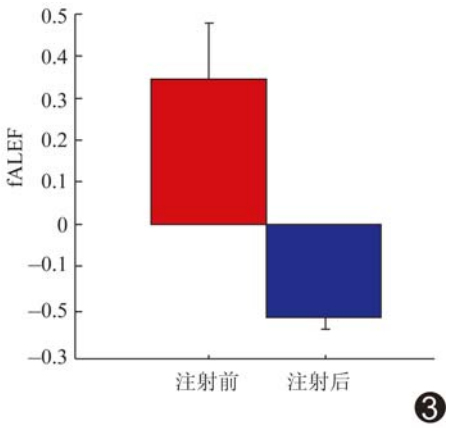

图 3　给酒精后恒河猴后扣带回后部 fALFF 值减低

响有必要进一步研究。PET 研究[16]证实酒精能激活中脑边缘系统，增加伏隔核、杏仁核、岛叶及中脑的代谢水平，同样的结论在任务态 fMRI 中也得到证实[2]。本研究也表明，酒精能显著激活中脑边缘系统，涉及脑区包括双侧岛叶、脑干、左侧海马旁回及左侧杏仁核、右侧伏隔核所在区域，且这些区域的 fALFF 值均增加。一项有关情绪加工的研究[17]表明双侧杏仁核功能分离，左、右杏仁核分别与情绪的提取与编码相关。本研究亦只发现左侧杏仁核区被激活，提示杏仁核功能可能跨物种相似，有待进一步研究。基底核与小脑是运动设计与认知网络的重要组成部分，小脑功能涉及运动设计、工作记忆、执行功能，本研究中，小脑活动呈混合性增加或减低，与 Zheng 等[12]的研究报道一致。基底核与行为学习、认知规划、情感功能等密切相关，内囊是大脑与脑干、脊髓连接的主要线路，与感觉、运动功能相关。一项任务态研究[18]表明基底核活动减低，亦有静息态 fMRI 的研究[12]表明左侧基底核 ALFF 升高，本研究中除右侧伏隔核所在区域 fALFF 值增加外，其他基底核并未发现异常。

酒精对神经元代谢的影响因素包括酒精浓度、曝光时间及曝光速率[19]。Spagnolli 等[20]的研究主要采用口服给药，而鉴于性别、年龄、遗传及第一代谢等一系列因素导致的个体差异，静脉给药可以有效避免上述不利因素，特别是采用计算机辅助注射系统（computer-assisted infusion of ethanol system，CAIS）[4,9]，其可以控制酒精的浓度、升降速率及作用时间，对药理学的研究至关重要。另外，酒精具有血管活性，酒精对血流量的增加作用依赖于自身扩血管作用和局部代谢引起的血流改变[9]。这就造成了 ASL 与 fMRI 信号与实际脑代谢存在误差，且随着酒精剂量的增加这种误差将增大，这也是目前该项研究一般采用中等剂量的原因。

总之，酒精注射急性期恒河猴脑功能的改变具有全脑效应，主要涉及双侧前额叶、小脑、楔前叶、楔叶/距状沟、后扣带回及右岛叶、右颞叶。非人灵长动物模型对临床药物研究具有非常重要的参考价值。

［参考文献］

[1] Khalili-Mahani N, Van Osch MJ, De Rooij M, et al. Spatial heterogeneity of the relation between resting-state connectivity and blood flow: An important consideration for pharmacological studies. Hum Brain Mapp, 2014,35(3):929-942.

[2] Bjork JM, Gilman JM. The effects of acute alcohol administration on the human brain: Insights from neuroimaging. Neuropharmacology, 2014,84(SI):101-110.

[3] Telesford QK, Laurienti PJ, Friedman DP, et al. The effects of alcohol on the nonhuman Primate brain: A network science approach to neuroimaging. Alcohol Clin Exp Res, 2013,37(11):1891-1900.

[4] Strang NM, Claus ED, Ramchandani VA, et al. Dose-dependent effects of intravenous alcohol administration on cerebral blood flow in young adults. Psychopharmacology (Berl), 2015,232(4):733-744.

[5] Mclaren DG, Kosmatka KJ, Oakes TR, et al. A population-average MRI-based Atlas collection of the rhesus macaque. Neuroimage, 2009,45(1):52-59.

[6] Martin RF, Bowden DM. A stereotaxic template Atlas of the macaque brain for digital imaging and quantitative neuroanatomy. Neuroimage, 1996,4(2):119-150.

[7] Lewis JW, Van Essen DC. Corticocortical connections of visual, sensorimotor, and multimodal processing areas in the parietal lobe of the macaque monkey. J Comp Neurol, 2000,428(1):112-137.

[8] Rickenbacher E, Greve DN, Azma S, et al. Effects of alcohol intoxication and gender on cerebral perfusion: An arterial spin labeling study. Alcohol, 2011,45(8):725-737.

[9] Marxen M, Gan G, Schwarz D, et al. Acute effects of alcohol on brain perfusion monitored with arterial spin labeling magnetic resonance imaging in young adults. J Cereb Blood Flow Metab, 2014,34(3):472-479.

[10] Ramage AE, Lin AL, Olvera RL, et al. Resting-state regional cerebral blood flow during adolescence: Associations with initiation of substance use and prediction of future use disorders. Drug

Alcohol Depend, 2015,149:40-48.
[11] Weber AM, Soreni N, Noseworthy MD. A preliminary study on the effects of acute ethanol ingestion on default mode network and temporal fractal properties of the brain. MAGMA, 2014,27(4):291-301.
[12] Zheng HY, Kong LM, Chen LM, et al. Acute effects of alcohol on the human brain: A resting-state fMRI study. Biomed Res Int, 2015,2015:947529.
[13] 牛稳,王海宝,余永强.fMRI 动态观察脑梗死患者脑运动功能的恢复.中国医学影像技术,2015,31(5):697-701.
[14] 毕军焱,王海宝,余永强.静息态 fMRI 评价神经梅毒脑功能改变.中国医学影像技术,2015,31(4):523-526.
[15] Erdozain AM, Callado LF. Neurobiological alterations in alcohol addiction: A review. Adicciones, 2014,26(4):360-370.
[16] YoderKK, Constantinescu CC, Kareken DA, et al. Heterogeneous effects of alcohol on dopamine release in the striatum: A PET study. Alcohol Clin Exp Res, 2007,31(6):965-973.
[17] Sergerie K, Lepage M, Armony JL. A process-specific functional dissociation of the amygdala in emotional memory. J Cogn Neurosci, 2006,18(8):1359-1367.
[18] Anderson BM, Stevens MC, Meda SA, et al. Functional imaging of cognitive control during acute alcohol intoxication. Alcohol Clin Exp Res, 2011,35(1):156-165.
[19] Wetherill L, Morzorati SL, Foroud T, et al. Subjective perceptions associated with the ascending and descending slopes of breath alcohol exposure vary with recent drinking history. Alcohol Clin Exp Res, 2012,36(6):1050-1057.
[20] Spagnolli F, Cerini R, Cardobi N, et al. Brain modifications after acute alcohol consumption analyzed by resting state fMRI. Magn Reson Imaging, 2013,31(8):1325-1330

《中国医学影像技术》杂志 2016 年征订启事

《中国医学影像技术》杂志于 1985 年创刊,是由中国科学院主管,中国科学院声学研究所主办的国家级学术期刊。刊号:ISSN 1003-3289,CN 11-1881/R。曾获百种中国杰出学术期刊,现为中国精品科技期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库核心期刊、《中文核心期刊要目总览》收录期刊、荷兰《医学文摘》收录源期刊、英国《科学文摘》收录源期刊、俄罗斯《文摘杂志》收录源期刊、WHO《西太平洋区医学索引》(WPRIM)来源期刊、《日本科学技术振兴机构中国文献数据库》(JSTChina)收录期刊。

《中国医学影像技术》杂志是临床医学影像学与影像医学工程及理论研究相结合的综合性学术期刊,刊登放射、超声、核医学、介入治疗、影像技术学、医学物理与工程学等方面的基础研究及临床实验研究的最新成果。以论文质量优、刊载信息量大、发刊周期短为其特色,是我国影像医学研究探索和学术交流的良好平台。

《中国医学影像技术》为月刊,160 页,大 16 开本,彩色印刷。单价 20 元,全年定价 240 元。订户可随时向当地邮局订阅,邮发代号 82-509;亦可向编辑部直接订阅,免邮寄费(欢迎通过银行转账,附言栏请注明订阅杂志名称)。

联系电话:010-82547903　　传真:010-82547903

E-mail:cjmit@mail.ioa.ac.cn　　网址:www.cjmit.com

编辑部地址:北京市海淀区北四环西路 21 号大猷楼 502 室　　邮编:100190

银行账户名:《中国医学影像技术》期刊社　　账号:110907929010201

开户行:招商银行北京分行清华园支行　　联系人:田苗