

❖ 实验研究

Investigation of default mode networks in rhesus macaque brain with 7.0T resting-state fMRI

FU Xiaowei^{1,2}, GUO Chengzhen^{1,2}, YANG Danzhou³, ZHANG Ying^{4,5*}

(1. College of Computer Science and Technology, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065, China; 2. Hubei Province Key Laboratory of Intelligent Information Processing and Real-time Industrial System, Wuhan 430065, China; 3. College of Pharmacy, Purdue University, West Lafayette 47907, USA; 4. Institute of Biophysics, Chinese Academy of Science, Beijing 100101, China; 5. State Key Laboratory of Brain and Cognitive Science, Beijing 100101, China)

[Abstract] **Objective** To investigate default mode networks (DMN) in healthy rhesus monkey brain. **Methods** Under anesthesia, two healthy rhesus macaques underwent resting-state fMRI at a 7.0T MR scanner. The functional images were firstly normalized to the standard rhesus monkey template 112SM-RL-T1, and the GIFT software was applied to conduct group-level independent component analysis on all preprocessed functional images. **Results** The functional connectivity maps of the resting-state networks of rhesus macaques were obtained using this method. DMN bilaterally included posterior cingulate cortex, anterior cingulate cortex, medial parietal cortex, retrosplenial cortex, arcuate sulcus, ventral intraparietal area, temporo-parietal area, superior temporal sulcus dorsal bank and a portion of visual cortex. **Conclusion** With the help of cutting-edge 7.0T fMRI technology, It was demonstrated that DMN of rhesus macaque brain highly resembled the ones in human, which could support the notion that non-primates are useful models for neuropharmacological and neurocognitive studies.

[Key words] Magnetic resonance imaging; Rhesus macaques; Default mode networks; Independent component analysis

DOI:10.13929/j.1003-3289.201709141

7.0T 静息态 fMRI 分析恒河猴脑默认网络

付晓薇^{1,2}, 郭承珍^{1,2}, 杨丹洲³, 张迎^{4,5*}

(1. 武汉科技大学计算机科学与技术学院, 湖北 武汉 430065; 2. 智能信息处理与实时工业系统湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430065; 3. 普渡大学药学院, 西拉法叶 47907; 4. 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101; 5. 脑与认知科学国家重点实验室, 北京 100101)

[摘要] **目的** 分析健康恒河猴大脑的默认网络(DMN)结构。**方法** 采用 7.0T fMRI 获得麻醉状态下健康恒河猴的静息态数据;以 DPARSF 软件包对猴脑静息态功能像进行预处理,将其配准到恒河猴标准模板 112SM-RL-T1;之后利用 GIFT 软件包对预处理后的功能像数据进行组独立成分分析。**结果** 本文方法可较准确地对猴脑静息态数据进行预处理,并获得静息态脑网络功能连接图;其中 DMN 包括位于中线区的后扣带回、前扣带回、内侧顶叶皮质、后压部皮质以及大脑左右半球较为对称的腹侧壁内区域、背侧颞上沟回、颞区、弓状沟回及部分视觉区域等脑区。**结论** 借助 7.0T fMRI,本文证实恒河猴默认网络与人类默认网络在结构上具有相似性,此类模型可辅助进行药理性实验研究以及神经认知类研究。

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2012CB825500)、中国留学基金委资助项目(201408420205)、湖北省自然科学基金(2017CFB506)、湖北省高校省级教学改革研究项目(2016234)、智能信息处理与实时工业系统湖北省重点实验室开放课题项目(2016znss02A)、武汉科技大学研究生院教研项目(Yjg201614、Yjg201613)、大学生创新基金研究项目(16ZRA072)。

[第一作者] 付晓薇(1977—),女,辽宁鞍山人,博士,教授。研究方向:图像处理、量子信号处理等。E-mail: fwx_wh0409@wust.edu.cn

[通信作者] 张迎,中国科学院生物物理研究所,100101;脑与认知科学国家重点实验室,100101。E-mail: ying.zhang.j@gmail.com

[收稿日期] 2017-09-25 **[修回日期]** 2018-01-22

[关键词] 磁共振成像;恒河猴;默认网络;独立成分分析

[中图分类号] R-332; R445.2 [文献标识码] A [文章编号] 1003-3289(2018)06-0801-06

fMRI 技术已广泛用于脑神经科学的临床和基础研究。基于 fMRI 的大脑网络研究主要分为任务态和静息态 fMRI。相比任务态 fMRI, 静息态 fMRI 可避免不同被试主动执行特定任务或接受某种刺激时产生的脑激活差异, 已成为神经药理学研究的重要工具之一^[1]。Raichle 等^[2]首次提出静息态默认网络(default mode networks, DMN)假说, 表明 DMN 在任务相关试验中呈负激活而在静息态下呈正激活。静息态下, DMN 可能涉及更高级别的认知活动, 如自动监控周围环境、进行记忆工作等。随后, 众多学者^[3-5]围绕 DMN 展开了复杂疾病发生机制、药物疗效等的研究。目前临床主要采用 3.0T 以下 fMRI 设备进行疾病的早期定性分析和治疗。研究^[6]表明, MR 设备的场强越高, 其成像速度越快, 图像分辨率越高、噪声越小。7.0T fMRI 设备可获得质量更好的图像数据, 其软件处理系统可完成目前几乎所有的 MR 序列和波谱实验, 但场强过高对人体的伤害以及采集数据的差异仍有待研究。非人灵长类动物模型比啮齿类动物更适合代替人类研究待解决的问题^[7]。本研究针对 7.0T fMRI 设备扫描获得麻醉状态下健康恒河猴的静息态数据, 采用 DPARSF 软件包^[8]、SPM 12^[9]、FSL 5.0.9^[10]及 marsbar_0.44^[11]等图像分析软件进行预处理后, 以 GIFT^[12]软件包进行独立成分分析, 提取 7.0T 静息态 fMRI 恒河猴脑 DMN 结构。

1 材料与方法

1.1 实验对象 选取 2 只成年雄性健康恒河猴(编号为 M1 和 M2), 体质量分别为 8.7 kg 和 9.7 kg, 年龄 8.5 和 7.8 岁。所有手术及实验程序均遵循北京市实验动物管理条例, 并符合中国科学院生物物理研究所伦理委员会规则。

实验动物麻醉前 12 h 禁饲食、麻醉前 3 h 限制饮水。建立持续静脉输液通道, 采用丙泊酚(1 mg/kg 体质量)建立基础麻醉, 以输液泵持续静脉滴注[速率 0.3 mg/(kg·min)]。先将恒河猴俯卧保定于特制的动物实验架, 再将其上门齿置于特制牙托, 之后置于特制 fMRI 工作台, 持续观测呼吸频率, 并间歇观察其麻醉状态。动态调整药物滴注速度并保持持续稳定麻醉状态 15~30 min 后, 将恒河猴移入 MR 扫描设备。实验过程中使动物保持安静、静止, 并于实验结束停药后 30 min 内将其安全、清醒地送返动物房。

1.2 仪器与方法 采用 Siemens Magnetom Investigational Device 7.0T syngo MR B17 MR 扫描仪, 自制三通道相控阵线圈。采用平面回波序列完成全脑轴位扫描, 采集静息态功能像, 对 M1、M2 扫描 6 组, 每组采集 336 个时间点, TR 6 000 ms, TE 23 ms, FA 90°, 扫描层数 76, 层厚 1 mm, FOV 96 mm×90 mm, 层内分辨率 1 mm×1 mm, GRAPPA 加速, 加速因子为 2; 以 T1W 磁化快速梯度回波序列采集结构像, TR 2 200 ms, TE 3.22 ms, TI 1 050 ms, FA 7°, 扫描层数 176, 层厚 0.7 mm, FOV 135 mm×135 mm, 层内分辨率 0.7 mm×0.7 mm。

1.3 图像预处理 基于 MATLAB 7.11(R2010b)开发环境, 采用 DPABI_V2.0 软件包中的 DPARSF 4.0 for monkey data、SPM12、FSL 5.0.9 及 marsbar_0.44 等软件对静息态 fMRI 猴脑数据进行预处理(图 1)。具体步骤: ①根据 DPABI_V2.0 软件包支持的数

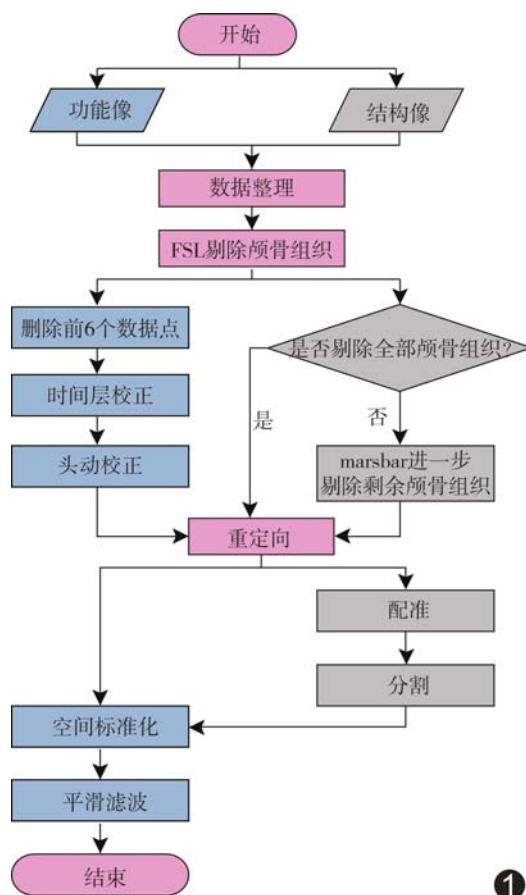


图1 静息态 fMRI 猴脑数据预处理过程

据格式,采用 MRICro 工具 (<http://www.cabiatl.com/mricro/mricron/dcm2nii.html>) 将功能像由 3D NIFTI 格式转换为 4D NIFTI,并按软件包要求的目录顺序对功能像和结构像数据进行整理;②使用 FSL 5.0.9 工具包中的 BET 组件剔除颅骨组织,观察结构像中是否仍存在未能剔除的颅骨组织,如存在则通过 marsbar_0.44 结合 SPM12 进一步剔除;③为降低磁饱和效应的影响,剔除每组功能像的前 6 个时间点;④进行时间层校正和头动校正,剔除头部平移 >1 mm 或转动 $>1^\circ$ 的数据;⑤对后续数据进行空间标准化,因采集的猴脑 fMRI 数据的方向、原点位置与 DPARSF 4.0 for monkey data 支持的猴脑模板 112SM-RL-T1^[13] 相差甚大,故对功能像和结构像进行重定向,设置 reorient 交互界面中的 pitch、roll 和 yaw,使大脑的方向与 112SM-RL-T1 模板一致,再调整 right、forward 和 up 使其原点大致接近 112SM-RL-T1 模板原点位置;⑥将重定向后的功能像配准到相应的结构像;⑦根据白质、灰质和脑脊液的先验组织分割模型^[13] 对配准后的结构像进行分割;⑧依据分割结果,将功能像标准化到 112SM-RL-T1 模板上,并重采样为 $2\text{ mm} \times 2\text{ mm} \times 2\text{ mm}$ 大小的体素;⑨使用高斯核函数进行空间平滑滤波(FWHM 3 mm)。

1.4 独立成分分析 采用 GIFT^[12] 软件包 (<http://mialab.mrn.org/software/gift/index.htm>) 对预处理后的静息态 fMRI 功能像数据进行组独立成分分析 (group independent component analysis, group-ICA)。对 M1 和 M2 各采集 6 组功能像数据,经头动校正后的数据集包括 8 组功能像数据。先采用 GIFT^[12] 软

件包中的 MDL 标准,估计组级别独立成分 (group-level independent components, group-ICs) 的总个数,估计结果为 12;然后使用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 算法对该数据集进行时间降维;再以 Informax 算法对降维后的数据集进行空间

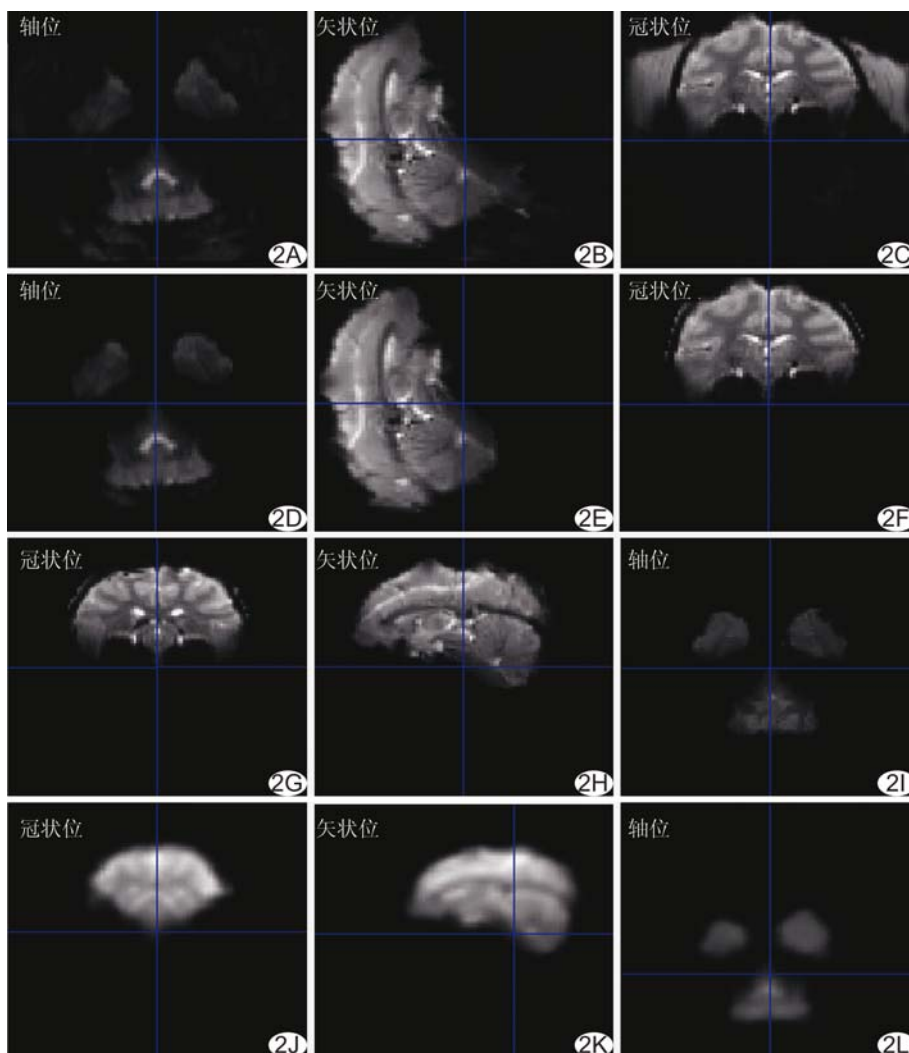


图 2 静息态恒河猴 M1 的 1 组功能像预处理结果 A~C. 原始功能像数据; D~L. 依次为颅骨剔除(D~F)、重定向(G~I)及空间标准化加平滑滤波结果(J~L)

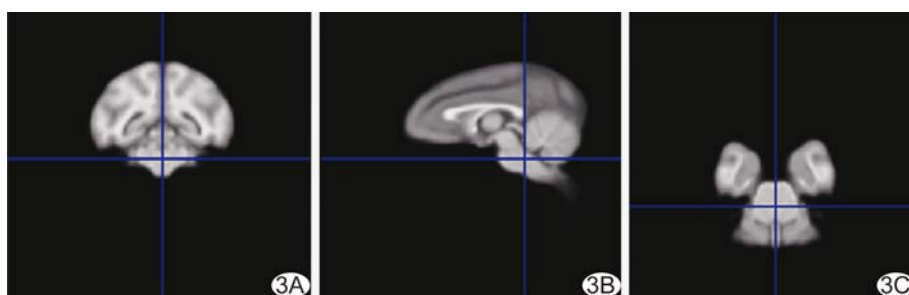


图 3 恒河猴脑标准模板 112SM-RL-T1 A. 冠状位; B. 矢状位; C. 轴位

group-ICA, 获得 12 个 group-ICs; 由于 ICA 是一个随机估计过程, 计算所得成分图取决于初始条件, 为保证分解的质量, 采用 ICASSO 工具包将 ICA 算法进行 20 次迭代; 由 group-ICs 进行重建获得每组功能像数据对应的 ICs。将每个独立成分归一化为 z 值, 每个独立成分包括空间激活分布图和对应时序图。 z 值越大, 表明激活区越强烈。设置阈值 $z > 1.5$, 获取 DMN 空间分布激活图。

2 结果

M1 的 1 组静息态功能像数据预处理结果见图 2。原始功能像数据包含脑组织和颅骨组织, 经颅骨剔除后, 功能像数据图像仅包含脑组织部分。采用 DPABI 软件包中的 Viewer 查看恒河猴脑标准模板 112SM-RL-T1(图 3)。重定向后的功能像数据原点与恒河猴模板原点大致接近(图 2, 3), 且功能像成功配准到标准模板上(图 2)。

采用 GIFT^[12] 软件包对预处理数据进行空间 group-ICA, 获得 12 种 ICs。手动将 ICs 的总数目分别设置为 10 和 14 进行相同实验, 实验步骤以及其他参数均与上述一致。在 ICs 总数目分别为 10、12、14 时, 采用 group-ICA 方法获取的 DMN 空间分布激活图叠加显示在 112SM-RL-T1 模板的结果见图 4, group-ICA 方法提取的 DMN 结构呈现较好的稳定性。图 4B 中 DMN 包含的脑区主要有位于中线区的后扣带回(23a/b 区)、前扣带回(24b/c 区)、内侧顶叶皮质(7m 区)、后压部皮质(29/30 区), 及大脑左右半球较为对称的弓状沟回(8bs 区)、腹侧壁内区域(ventral intraparietal area, VIP)、背侧颞上沟回(TPO、Tea 区)、

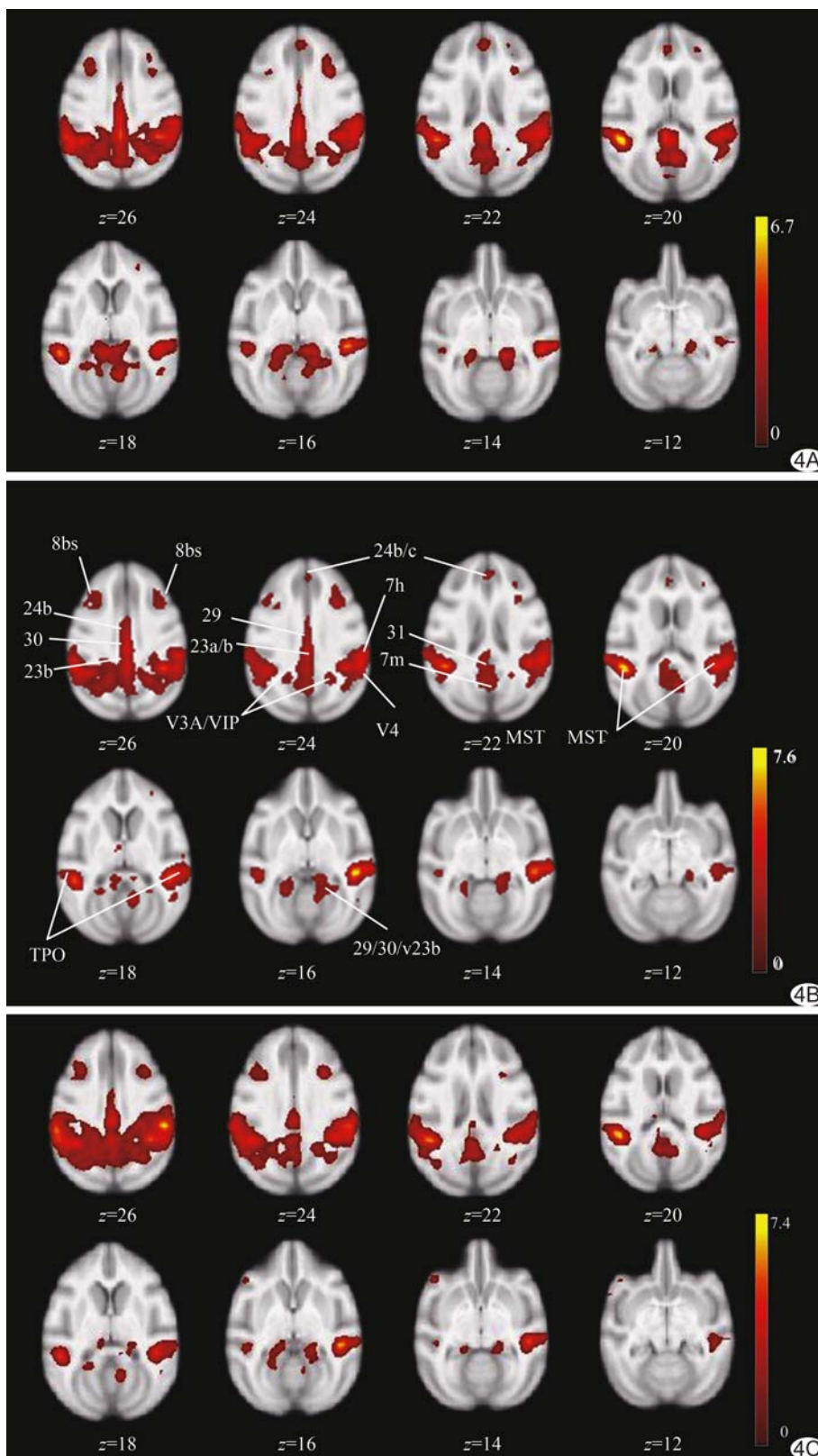


图 4 ICs 总数为 10(A)、12(B)、14(C)时的 DMN 空间分布激活图 (色柱表示 z 值范围)

颞区(MST 区)及部分视觉区域(V3A、V4 和 7b 区)等脑区。

3 讨论

DMN 是静息态下激活最强的网络,反映大脑在静息态下仍然存在众多高级认知活动。DMN 是最常被研究也是最受争议的脑网络。目前关于恒河猴脑 DMN 结果并无确切的定义,提取 DMN 的方法主要为种子相关分析法和独立成分分析。种子相关分析方法是通过选取 ROI 为种子点,计算脑区与种子点的连接程度。Vincent 等^[14]采用种子相关分析法发现麻醉恒河猴存在 DMN,在包含后扣带回(23 区和 31 区)和楔前叶(7m 区)的后中线设置种子点,发现该种子点与侧额顶皮质(7a 区和额上沟回)和后海马旁回存在功能连接,背内侧前额叶皮质也呈现较强的相关性,尽管该脑区与前扣带回存在大部分重叠。随后, Margulies 等^[15]使用相同的数据集进行种子点相关分析,将种子点严格设于后扣带回,所得 DMN 包括后扣带回、腹侧前额叶、背侧前额叶皮质、顶下小叶,并不包括侧额顶皮质和海马结构,并提出楔前叶并不是 DMN 的一个组成部分,与既往研究^[16]结果一致。Teichert 等^[17]利用基于种子的研究方法对 3 只麻醉猴进行研究,在后中侧皮质设置种子点,结果发现 DMN 不包括内侧额叶、背侧额叶和海马结构。上述研究均采用种子相关分析法探讨恒河猴脑 DMN,但结果并不完全一致,原因是所得功能连接图在很大程度上取决于种子点位置的选择。通常种子相关分析法只能获得与种子点存在较强功能连接的脑区,并不能获得完整的网络空间分布图。

相比种子相关分析法,独立成分分析主要将 fMRI 全脑数据进行空间分离成多个独立成分,每个成分即为一套功能网络,可获得脑区之间的连接情况。Hutchison 等^[18]借助独立成分分析方法获得与 DMN 最匹配的独立成分,其空间分布图包括后扣带回、前扣带回、楔前叶、顶叶皮质以及单侧的腹内侧前额叶皮质。最近, Mantini 等^[19]对 10 只恒河猴在清醒状态下执行任务时的 fMRI 数据进行 Meta 分析,结果表明当任务要求由静息态转为面向外部处理时,其中一些脑区组成的网络活动强度减弱。该网络根据定义可认为是 DMN,其结果与既往研究^[18]的基于后扣带回种子点所得 DMN 大部分相同,但不包括侧额顶皮质和海马结构。

相比 3.0T 设备,采用 7.0T 设备所得 fMRI 具有更高分辨率及较低信噪比,其强大的软件处理系统可完成几乎所有 MR 序列和波谱实验^[6]。本研究采用 7.0T MR 获得健康麻醉恒河猴的静息态 fMRI 数据,

旨在研究恒河猴大脑 DMN 结构特征。本文采用 group-ICA 方法检测到恒河猴脑存在 DMN 结构,包含后扣带回、前扣带回、内侧顶叶皮质、后压部皮质以及大脑左右半球较为对称的弓状沟回、腹侧壁内区域、额上沟回、额区顶枕叶及部分视觉区域等脑区。与上述研究结果不同之处是,本文所得 DMN 包含部分视觉皮质,但不包含楔前叶。

研究^[16]表明人脑 DMN 对称地包含后扣带回、后压部皮质、楔前叶、腹侧、背内侧前额叶皮质、顶下小叶、外侧额叶皮质和海马结构。本研究麻醉恒河猴 DMN 主要出现在大脑中线部分,包括后扣带回、前扣带回、内侧顶叶皮层和后压部皮质,与人脑 DMN 较为相似。

(致谢:感谢中国科学院生物物理研究所李鹏程同学协助承担部分实验及数据处理工作。)

[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. *Human brain mapping*, 2014, 35(3):929-942.
- [2] Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, et al. A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(2):676-682.
- [3] 张洪英,王世杰,杨明,等.正常老年人静息状态脑功能磁共振的默认网络研究. *中国医学影像技术*, 2008, 24(8):1189-1191.
- [4] Agosta F, Pievani M, Geroldi C, et al. Resting state fMRI in Alzheimer's disease: Beyond the default mode network. *Neurobiol Aging*, 2012, 33(8):1564-1578.
- [5] Kaplan R, Adhikari MH, Hindriks R, et al. Hippocampal sharp-wave ripples influence selective activation of the default mode network. *Curr Biol*, 2016, 26(5):686-691.
- [6] Hahn A, Kranz GS, Seidel EM, et al. Comparing neural response to painful electrical stimulation with functional MRI at 3 and 7T. *Neuroimage*, 2013, 82:336-343.
- [7] Hutchison RM, Everling S. Monkey in the middle: Why non-human primates are needed to bridge the gap in resting-state investigations. *Front Neuroanat*, 2012, 6:29.
- [8] Yan CG, Wang XD, Zuo XN, et al. DPABI: Data processing & analysis for (resting-state) brain imaging. *Neuroinformatics*, 2016, 14(3):339-351.
- [9] Friston KJ, Holmes AP, Worsley KJ, et al. Statistical parametric maps in functional imaging: A general linear approach. *Hum Brain Mapp*, 1994, 2(4):189-210.
- [10] Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, et al. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage*, 2004, 23(Suppl 1):208-219.
- [11] Matthew Brett. MarsBaR Documentation, Release 0.44. [2017-

- 09-25]. <http://marsbar.sourceforge.net/index.html>.
- [12] Calhoun VD, Adali T, Pearlson GD, et al. A method for making group inferences from functional MRI data using independent component analysis. *Hum Brain Mapp*, 2001, 14(3):140-151.
- [13] 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.
- [14] Vincent JL, Patel GH, Fox MD, et al. Intrinsic functional architecture in the anaesthetized monkey brain. *Nature*, 2007, 447(7140):83-86.
- [15] Margulies DS, Vincent JL, Kelly C, et al. Precuneus shares intrinsic functional architecture in humans and monkeys. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(47):20069-20074.
- [16] Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL. The brain's default network. *Ann N Y Acad Sci*, 2008, 1124(1):1-38.
- [17] Teichert T, Grinband J, Hirsch J, et al. Effects of heartbeat and respiration on macaque fMRI: Implications for functional connectivity. *Neuropsychologia*, 2010, 48(7):1886-1894.
- [18] Hutchison RM, Leung LS, Mirsattari SM, et al. Resting-state networks in the macaque at 7T. *Neuroimage*, 2011, 56(3):1546-1555.
- [19] Mantini D, Gerits A, Nelissen K, et al. Default mode of brain function in monkeys. *J Neuroscience*, 2011, 31(36):12954-12962.

本刊可以直接使用的英文缩略语(一)

- 计算机体层摄影术(computed tomography, CT)
 多层螺旋 CT(multiple-slice CT, MSCT)
 多排螺旋 CT(multi-detector CT, MDCT)
 高分辨率 CT(high resolution CT, HRCT)
 容积 CT(volumetric computed tomography, VCT)
 CT 血管造影(computed tomographic angiography, CTA)
 CT 静脉造影(CT venography, CTV)
 磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)
 功能磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI)
 扩散(弥散)加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)
 磁敏感加权成像(susceptibility-weighted imaging, SWI)
 扩散(弥散)张量成像(diffusion tensor imaging, DTI)
 灌注加权成像(perfusion weighted imaging, PWI)
 磁共振血管造影(magnetic resonance angiography, MRA)
 磁共振波谱(magnetic resonance spectroscopy, MRS)
 氢质子磁共振波谱(proton magnetic resonance spectroscopy, ¹H-MRS)
 表观扩散(弥散)常数(apparent diffusion coefficient, ADC)
 数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)
 经导管动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)
 经颈静脉肝内门-体分流术(transjugular intrahepatic porto-systemic shunt, TIPS)
 冠状动脉血管造影术(coronary angiography, CAG)
 最大密度投影(maximum intensity projection, MIP)
 容积再现技术(volume rendering technique, VRT)
 表面阴影成像(surface shaded displace, SSD)
 最小密度投影(minimum intensity projection, MinIP)
 多平面重建(multi-planar reconstruction, MPR)
 多平面重组(multi-planar reformation, MPR)
 容积再现(volume rendering, VR)
 容积重建(volume reconstruction, VR)
 曲面重组(curved planar reformation, CPR)
 曲面重建(curved planar reconstruction, CPR)
 自旋回波(spin echo, SE)
 快速自旋回波(fast spin echo, FSE)或者(turbo spin echo, TSE)
 快速场回波(fast field echo, FFE)
 平面回波成像(echo planar imaging, EPI)
 梯度回波(gradient echo, GRE)
 信噪比(signal noise ratio, SNR)
 对比噪声比(contrast noise ratio, CNR)
 血氧水平依赖(blood oxygenation level dependent, BOLD)
 视野(field of view, FOV)
 时间飞跃法(time of flight, TOF)
 激励次数(number of excitation, NEX)
 各向异性分数(fractional anisotropy, FA)
 钆喷替酸葡甲胺(Gadolinium—DTPA, Gd-DTPA)