

博士論文

中強度運動で高まる認知課題パフォーマンスの神経基盤
: fNIRS を用いた脳機能イメージング研究

平成 21 年度
筑波大学大学院 人間総合科学研究科
体育科学専攻

柳澤 弘樹

目次

第 1 章 緒言.....	1
第 2 章 先行研究.....	6
1. 前頭前野.....	6
2. 運動と高次認知機能.....	7
2 - 1. ヒューマンスタディー.....	7
2 - 2. アニマルスタディー.....	7
2 - 3. 運動による前頭前野の活性化が認知機能に与える影響.....	8
3. 前頭前野の局所脳血流動態.....	9
3 - 1. Neurovascular coupling.....	9
3 - 2. 高次認知機能と前頭前野の局所脳血流動態.....	9
4. 機能的近赤外線分光法装置 (fNIRS).....	11
4 - 1. 原理.....	11
4 - 2. 特徴.....	12
4 - 3. fNIRS 測定の限界 (多チャンネル化の問題点).....	12
4 - 4. 多チャンネル計測の統計解析.....	13
5. 測定領域の空間解析.....	14
5 - 1. 国際 10 - 20 システムと標準脳座標系のリンク.....	14
5 - 2. バーチャルレジストレーション.....	15
5 - 3. 確率的レジストレーション.....	15
第 3 章 中強度運動により増加する前額部皮膚血流と中大脳動脈血流速度の増加と回復過程 (研究課題 1 - 1).....	20
1. 目的.....	20

2. 方法	21
2-1. 被験者	21
2-2. 実験手順	21
2-3. 中大脳動脈血流速度 (MCA V_{mean})	22
2-4. 皮膚血流 (SBF)	22
2-5. 呼気ガス	23
2-6. 心拍数	23
2-7. 統計解析	23
3. 結果	27
3 - 1. MCA V_{mean}	27
3 - 2. SBF	27
3 - 3. ETCO ₂	27
3 - 4. 心拍数	27
4. 考察	29
5. 要約	30
第4章 中強度運動で高まる認知課題パフォーマンスは前頭前野局所脳血流応答を増加させるか？ (研究課題 1-2)	31
1. 目的	31
2. 方法	31
2-2. 実験手順	32
2-3. Color-word Stroop 課題 (CWST)	32
2-4. 実験デザイン	38
2-5. fNIRS 測定	38
2-6. 統計解析	39

3. 結果.....	44
3-1. CWST の RT.....	44
3-2. CWST の rCBF.....	44
4. 考察.....	48
5. 要約.....	49
第5章 ST課題による rCBF 動態の測定 ～block デザインと event - related デザインの比較～（研究課題 2 - 1）.....	50
1. 目的.....	50
2. 方法.....	51
2-1. 被験者.....	51
2-2. 実験手順.....	51
2-3. CWST.....	52
2-3. fNIRS の装着.....	52
2-4. 統計解析.....	52
3-1. CWST の RT.....	59
3-2. CWST の rCBF.....	59
4. 考察.....	71
5. 要約.....	72
第6章 Event - related デザインにおける異なる試行間間隔が前頭前野局所脳応答の増大に 関与するか？（研究課題 2 - 2）.....	73
1. 目的.....	73
2. 方法.....	74
2-1. 被験者.....	74
2-2. 実験手順.....	74

2-3. CWST.....	74
2-4. fNIRS の装着.....	74
2-5. 統計解析	75
3. 結果.....	77
3-1. CWST の RT.....	77
3-2. CWST の rCBF	77
4. 考察.....	82
5. 要約.....	84
第7章 CWST 時の rCBF 変化を評価するための解析方法の確立（研究課題 2 - 3）	85
1. 目的.....	85
2. 方法.....	86
2-1. 被験者.....	86
2-2. 実験手順	86
2-3. CWST.....	87
2-4. fNIRS の装着.....	87
2-5. 統計解析	87
3. 結果.....	89
4. 考察.....	92
5. 要約.....	93
第8章 CWST の課題成績と前頭前野局所脳血流応答に対する習熟レベルの関与（研究課題 2 - 4）	94
1. 目的.....	94
2. 方法.....	95
2-1. 被験者.....	95

2-2. 実験手順	95
2-3. CWST	96
2-4. fNIRS の装着	96
2-5. 統計解析	96
3. 結果	98
3-1. CWST の RT	98
3-2. CWST の rCBF	98
4. 考察	102
5. 要約	103
第9章 中強度運動後の認知課題パフォーマンスは、前頭前野の局所脳血流応答の増大が 関与するか？（研究課題3）	104
1. 目的	104
2. 方法	105
2-1. 被験者	105
2-2. 実験手順	105
2-3. fNIRS の装着	105
2-4. バーチャルレジストレーション法	105
2-5. 統計解析	106
3. 結果	110
3-1. CWST の RT	110
3-2. CWST のエラー	111
3-3. fNIRS の結果	115
3-4. RT と rCBF の相関	116
4. 考察	120

5. 要約.....	122
第10章 認知課題成績と rCBF 応答増加の連関を促す運動時間の検討 (研究課題4)	123
1. 目的.....	123
2. 方法.....	123
2-1. 被験者.....	123
2-2. 実験手順.....	123
2-3. fNIRS の装着.....	124
2-4. 統計処理.....	124
3. 結果.....	126
3-1. CWST の RT.....	126
3-2. CWST の rCBF.....	126
4. 考察.....	126
5. 要約.....	134
第11章 総合討論.....	135
第12章 総括.....	140
第13章 結論.....	142
謝辞.....	143
引用文献.....	144

この論文は次の原著論文に、未発表の実験結果を加えてまとめられている

1. Hiroki Yanagisawa, Ippeita Dan, Morimasa Kato, Daisuke Tsuzuki, Masako Okamoto, Hideaki Soya. Acute Moderate Exercise Elicits Increased Lateral-prefrontal Activation and Improves Cognitive Performance with Stroop Test. *Neuroimage* (doi:10.1016/j.neuroimage.2009.12.023)
2. Hiroki Yanagisawa, Ippeita Dan, Hideaki Soya. Effect of duration of acute moderate exercise on exercise-elicited cortical activation and cognitive performance on Stroop task: A preliminary examination. *International Journal of Human Movement Science* (In press)

略号及び用語解説

- **ACC**
anterior cingulate cortex, 前帯状回
- **AD/HD**
attention deficit/hyperactivity disorder
- **PL**
preauricular point left
- **PR**
preauricular point right
- **BA**
brodmann's area, ブロードマンエリア
- **BDNF**
brain derived neurotrophic factor, 脳由来神経栄養因子
- **BL**
block design, ブロックデザイン
- **CWST**
color-word stroop task, ストループ課題
- **CVC**
cutaneous vasoconstrictor, 皮膚血管収縮神経線維
- **Ca⁺**
カルシウムイオン
- **CTL**
control group, コントロールグループ
- **CWST**
color-word stroop task, 色文字式ストロープ課題
- **Cz**
central zentrum, 正中中心部
- **deoxy-Hb**
deoxyhemoglobin, 還元化ヘモグロビン
- **DLPFC**

dorsolateral prefrontal cortex, 前頭前野背外側部

- **EEG**

electroencephalogram, 脳波計

- **ER**

event related, 事象関連

- **ERP**

event related potencial, 事象関連電位

- **ETCo₂**

end-tidal carbon dioxide tension, 終末呼気二酸化炭素分圧

- **EX**

exercise group, 運動グループ

- **fMRI**

Functional magnetic resonance imaging, 機能的核磁気共鳴画像装置

- **fNIRS**

functional near-infrared spectroscopy, 機能的近赤外線分光法装置

- **ETCo₂**

- end-tidal carbon dioxide, 終末呼気炭酸ガス濃度

- **FDR**

false discovery rate, 偽陽性確立の制御

- **FWE**

family-wise error, 偽陽性または第一種の過誤

- **FP**

Frontal Pole, 前頭極

- **Hb**

hemoglobin, ヘモグロビン

- **IFC**

inferior frontal cortex, 下前頭前野

- **IFJ**

inferior frontal junction

- **ITI**

inter trial interval, 課題間間隔

- **Iz**

inion zentrum, 後頭結節点

- **LDF**

laser doppler flowmetry, レーザードップラー血流計

- **LPBA40**

loni probabilistic brain atlas

- **MCA**

middle cerebral artery velocity, 中大脳動脈

- **MCA V_{mean}**

middle cerebral artery velocity, 中大脳動脈平均血流速度

- **MCI**

Mild cognitive impairment, 軽度認知障害

- **MEG**

Magnetoencephalography, 核磁気共鳴画像法

- **MNI**

Montreal Neurological Institute, モントリオール神経科学研究所の開発した脳の画像処理・解析

- **MRI**

Magnetic Resonance Imaging system, 磁気共鳴画像装置

- **NIRS**

near-infrared spectroscopy, 近赤外分光法

- **N.S**

no significant, 統計的に有意ではない

- **NZ**

nasion zentrum, 鼻骨正中部

- **oxy-Hb**

oxyhemoglobin, 酸素化ヘモグロビン

- **PaCo₂**

arterial carbon dioxide partial pressure, 動脈血二酸化炭素分圧

- **PET**

Positron Emission Tomography, 陽電子放出断層撮影法

- **PFC**

prefrontal cortex, 前頭前野

- **rCBF**
regional cerebral blood flow, 局所脳血流量
- **ROI**
region of interest, 関心領域
- **RT**
reaction time, 反応時間
- **SBF**
skin blood flow, 皮膚血流量
- **SPECT**
single photon emission computed tomography, 単光子放射線コンピュータ断層撮影
- **ST**
stroop task, ストロープ課題
- **TCD**
transcranial doppler, 超音波ドップラー法
- **\dot{V}_E**
分時呼気換気量
- **$\dot{V}O_2$**
分時酸素摂取量
- **$\dot{V}O_{2max}$**
最大酸素摂取量
- **$\dot{V}CO_2$**
分時炭酸ガス排出量
- **WCST**
Wisconsin card sorting task, ウィスコンシンカードソートテスト
- **WM**
working memory, ワーキングメモリー
- **Eriksen Flanker 課題**
前帯状皮質の活動の増加を伴い競合性を生じさせる実験課題
- **Go / No - go 課題**
ある種類の刺激が提示されたときにボタンを押し、異なる種類の刺激が提示されたときにはボタンを押さない実験課題
- **アストロサイト**

中枢神経系に存在するグリア細胞のひとつ

- **ウィスコンシン・カードソーティングテスト**

特定のルールに合わせてカードを分類していくテスト。験者はランダムにルールを変えて被験者はそれを予測しながら遂行していく

- **コンピュータ断層撮影**

放射線などを利用して物体を走査しコンピュータを用いて処理する技術

- **ポジトロン断層法**

陽電子検出を利用したコンピューター断層撮影技術

- **仮想レジストレーション**

頭皮上の測定座標から確率論的に脳の測定部位を推定する方法

- **機能的磁気共鳴画像法**

核磁気共鳴 (nuclear magnetic resonance, NMR) 現象を利用して生体内の内部の情報を画像化する方法

- **近赤外線分光法赤外線分光法**

近赤外線を照射して吸収された度合い(吸光度)の変化によって成分を算出する神経活動の間接的な測定法

- **語流暢課題**

ある範疇内の単語を制限時間内にできるだけ多く表出する能力を測るテスト

- **国際 10-20 システム**

鼻根 (N) と後頭極 (I) を結ぶ線を 10%、20%、20%、20%、20%、10%に分割して頭皮上に基準点を定める方法

- **最大酸素摂取量**

単位時間あたりにその人が取り入れることのできる酸素の量のこと

- **算術課題**

計算課題

- **事象関連電位**

課題などの刺激にともない神経活動が亢進する際の電位

- **自閉症**

社会性や他者とのコミュニケーション能力の発達が遅滞する発達障害の一種

- **前頭前野**

前頭葉のうち運動野、補足運動野よりも前方の大脳皮質領域

- **単一光子放射断層撮影**

体内に投与した放射性同位体から放出されるガンマ線を検出してその分布を断層画像化する方法

- **注意欠陥多動性障害**

多動性、不注意、衝動性を症状の特徴とする発達障害もしくは行動障害

- **聴覚課題**

聴覚を用いる課題で、脳機能測定では音と高次機能を併用する能力を測る際に用いられる

- **統合失調症**

妄想や幻覚などの多様な症状を示す、精神疾患の一つ

- **脳機能イメージング法**

生きている脳内の各部の生理学的な機能測定し画像化する方法や技術

- **脳磁図**

脳の電氣的な活動によって生じる磁場を超伝導量子干渉計 (SQUIDS)を用いて計測する技術

- **脳由来神経栄養因子**

標的細胞表面上にある特異的受容体 TrkB に結合し、神経細胞の生存・成長・シナプスの機能亢進などの神経細胞の成長を調節する脳細胞の増加には不可欠な神経系の液性蛋白質

- **標準脳座標**

脳機能イメージングで用いられる標準化された脳座標のこと

- **陽電子放射断層法**

陽電子検出を利用したコンピューター断層撮影技術

第1章 緒言

現在の日本社会では高齢者における認知機能低下と認知症患者の増加、うつ病などの精神疾患患者の増加が社会問題となっている。認知症は前頭前野の神経活動の低下が関与することが明らかにされているが、明確な治療方法の解明には至っていない (Dickerson and Sperling, 2009)。うつ病に関してもモノアミン欠乏による生化学的異常であることが解明され、シナプスや遺伝子レベルでの研究が進められているが治療方法が明確にされていないのが現状である (Shigeto, 2005)。このように認知症や精神疾患などの症状緩和や治療には様々な研究が進められているなか、近年では運動が脳機能を向上させるために効果的であるという報告がされている (Banich *et al.*, 2000, Milham *et al.*, 2001, Kramer *et al.*, 2006, Hillman *et al.*, 2008, Prakash *et al.*, 2009)。運動と脳の関連を報告している動物実験では運動が海馬の神経新生が促進され学習記憶が向上することが明らかにされている (van Praag *et al.*, 1999)。また、ヒトでは有酸素運動が前頭前野認知機能の1つである実行機能を高め (Kramer *et al.*, 1999)、さらに灰白質と白質の体積をも増加させるという (Colcombe *et al.*, 2006)。このように運動を取り入れることで脳にポジティブな効果をもたらすことが多くの報告で支持されていることから、運動と脳機能の関連についてさらなる研究を進める意義が示唆される。

運動と脳機能に関する研究では Kramer *et al.* (2006) が献身的に多くの報告をしている。彼らは長期的な中強度運動によって記憶力が向上すること (Kramer *et al.*, 1999)、一過性の中強度運動が選択反応時間を短縮させること (Davranche *et al.*, 2006) を報告されてきた。このように中強度運動がヒトの前頭前野にポジティブな効果を与え認知機能が向上すると示唆されるが、これらの報告で用いられている中強度は強度設定が正確に行われていないなどの問題点が挙げられる (Colcombe and Kramer, 2003)。また、運動と認知機能の報告で用いられてきた運動は長期的なものがほとんど

で、一過性の運動効果については報告されていなかった (Kramer *et al.*, 1999, Milham *et al.*, 2002, Colcombe and Kramer, 2003)。長期的な運動による効果は、生活スタイルが変化すること、食生活が変化することなど様々な要因が含まれるため、一過性の運動効果について明らかにする必要があると示唆される。唯一、Millham *et al.* (2009) による報告が一過性の運動により認知課題成績の向上に伴う脳活動部位について報告している。しかし、この報告では認知機能の向上にともなう関連脳部位を詳細に特定するには至っていない。これらの先行研究から、一過性の中強度運動が前頭前野の機能を向上させる可能性は高いが詳細は不明であるというのが現状である。

前頭前野の機能は思考、記憶、注意、複雑な認知過程など高度な知的過程である。これまで、前頭前野機能を測定する方法として Go/No-go 課題や Flanker 課題、Stroop 課題などが用いられてきた。中でも中強度運動によって向上するのは Stroop 課題や Flanker 課題で評価できる実行機能であると報告されている (Kramer *et al.*, 1999, Schroeter *et al.*, 2004b, Colcombe *et al.*, 2006, Kamiyo *et al.*, 2007)。これらの先行研究から中強度運動が認知機能に与える影響を解明するには、前頭前野の実行機能を測定する課題を用いることが妥当であると言える。中強度運動で Stroop 課題や Flanker 課題の成績が向上するという報告は多いが (Kamiyo *et al.*, 2004, Harada *et al.*, 2004)、課題遂行に関連した脳関連部位を特定したものは極めて少ない。そのため、運動と認知機能の関連を明らかにするには課題遂行にともなう脳関連部位を特定することが必要である。

脳の神経活動を画像化して処理する Neuroimaging 法に代表される装置にポジトロン断層法 (PET, positron emission tomography) や機能的磁気共鳴画像装置 (fMRI, functional magnetic resonance imaging) がある。この2つの装置は脳活動を領域別に調べる golden standard であり、認知課題時の活性化領域を詳細に測定できる。しかし、測定の際に被験者は磁気シールドルームに設置された装置の狭いスキャナーの中で、

仰向けになった状態で頭部を固定しなければ測定が出来ない。そのため課題や測定条件が大きく制約されてしまい、自由行動下で認知機能を評価するには適さない。その点、日本を中心に開発が進められている機能的多チャンネル近赤外線分光法装置 (fNIRS, functional near-infrared spectroscopy) は拘束性が低く、非侵襲的に測定できる (Koizumi et al., 2003)。Schroeter (2007)らは fNIRS を用いて若者や高齢者、認知症患者など様々な被験者の認知課題中 (Stroop 課題)の脳神経活動について報告している (Schroeter et al., 2002, Schroeter et al., 2003, Schroeter et al., 2004b, Schroeter et al., 2007, Jourdan Moser et al., 2009)。

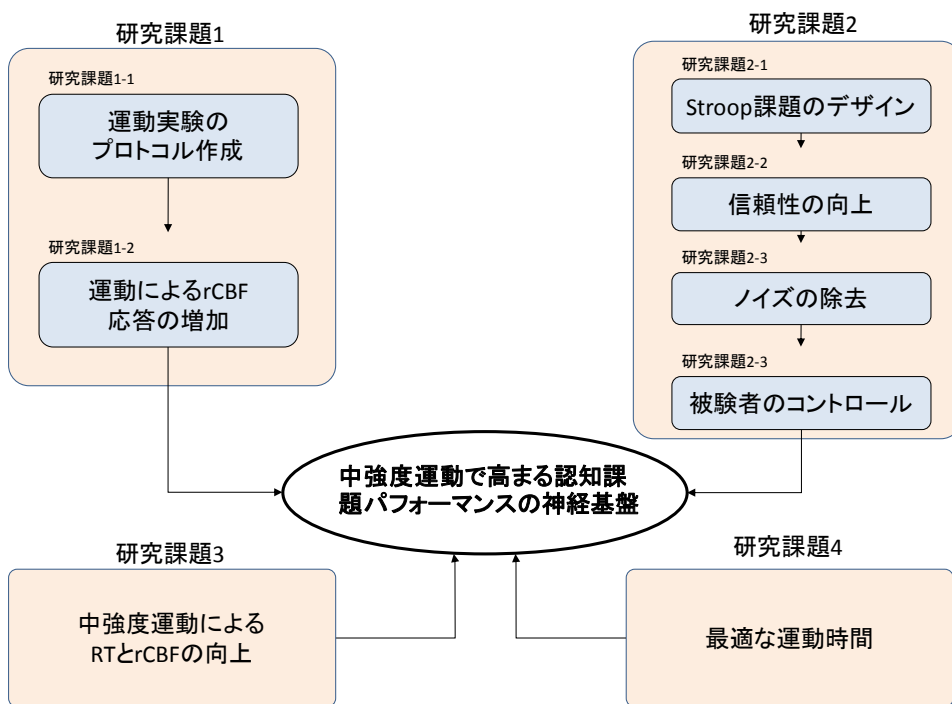
若者から高齢者まで、健常者から高齢者まで幅広く報告をしている Schroeter et al. (2002)が用いている Stroop 課題は、注意機能を含む国際的な神経学的基盤テストとして認知されている前頭前野の認知テストである。ヒトは文字を見ると無意識にその意味を認知してしまうため、文字の色を判断するのが困難になる。これを認知的干渉 (stroop 干渉)と呼び、前頭前野の選択実行機能を反映するとされている (Stroop, 1935, Zysset et al., 2001, Derrfuss et al., 2005)。また fNIRS は非侵襲でリアルタイムに局所脳血流 (rCBF: regional cerebral blood flow)を測定できる方法である (Ito et al., 2000)。Schroeter et al. (2002)は fNIRS を用いて Stroop 課題時の脳の事象関連局所脳血流応答を初めて測定した。それによれば血管性認知症患者は健常者に比べて Stroop 課題成績が悪く前頭前野背外側部 (DLPFC, lateral prefrontal cortex) の血流応答が健常者よりも低いことが原因であることが示された (Schroeter et al., 2007)。

しかし、こうした fNIRS による測定は fMRI や PET に比べると測定の方法論が確立していないだけでなく空間分解能が悪いため測定領域も曖昧なものとなっている (Ito et al., 2000)。Stroop 課題中の脳活動部位は時間経過にともなって変化するので (Leung et al., 2000) 課題特性に合った活動部位を特定出来ないのは大きな問題点と言える。

最近こうした問題に対して、fNIRS の空間分解能をあげるためのアルゴリズム（バーチャルレジストレーション法）が開発された（Okamoto and Dan, 2005）. この方法は、fMRI や PET と同様、AAL や LBPA40 などヒトの標準脳を用いるもので、空間座標系を利用して脳表上の測定点を標準脳座標に記述し共通座標系に統一して示すことが可能となった. これによって複数被験者のデータ統合によるグループ解析と fMRI や PET による研究報告との比較が容易になった（Okamoto and Dan, 2005）. このバーチャルレジストレーション法は 1cm 以内の精度で計測点を脳表上に表現できるため MRI 計測が無くても NIRS だけで脳回レベルの空間解析が可能となる. この測定法を導入することで、細かな領域ごとの血流動態を把握することが可能となった. この方法を用いることで中強度運動が前頭前野の認知機能に与える影響を明確にすることが出来る.

以上のことから、fNIRS は中強度運動による認知機能の向上を明らかにするために大変有用な装置であると言える. しかし fNIRS には空間分解能意外にも時間分解能の低さも問題となる. 認知機能の背景である脳内情報処理過程をみる手段には fNIRS の他に PET, fMRI, MEG, EEG がある. 中でも MEG や EEG は時間分解能に大変優れており、事象関連電位（ERP, Event-Related Potencial）による神経活動の変化を 1000 分の 1 秒まで測定することが可能である. 一方、fNIRS で測定できる血流は神経活動の 6~8 秒後に現れるため（Schroeter et al., 2004a）これ以上短い時間での測定は不可能である. しかし fNIRS の限界を考慮しても自由行動下で局所脳血流動態を測定できること、高い空間分解能で部位別の活動を定量化できるという点で本実験に適した装置であると言える.

そこで本研究では中強度運動後に ST 課題を課し、その際の前頭前野局所血流応答を fNIRS で測定して運動を課さない対照群との比較から運動効果を評価する. おそらく、運動後の ST 課題時にはパフォーマンスの増加と同期して、事象関連局所血流応答が増加することが示唆される.



本研究計画の概念図

第2章 先行研究

1. 前頭前野

大脳皮質は大きく前頭葉，頭頂葉，側頭葉，後頭葉に分けられる．このうち中心溝より前にある大きな部分が前頭葉である．前頭葉は，中心溝の前にある第1次運動野，その前にある運動前野や補足運動野などの運動関連領と，この運動関連領野よりもさらに前にある前頭前野（前頭連合野）に分けられる．前頭前野を解剖学的にみると，間脳の視床にある背内側核から神経線維の投射を受けている領域と定義することもできる（Alexander and Crutcher, 1990）．

前頭前野の機能はウィスコンシンカードソートテスト（WCST, Wisconsin Card Sorting Task）や CWST などの認知課題を用いてその機能が評価されてきた（Stuss et al., 2000）．これらの報告から，前頭前野の機能は極めて多岐にわたることが明らかになっている．前頭前野の腹側部や底面（Brodmann's Area, BA11, 12,13）は情動や動機付けとの関係が深いのに対して，背外側部は記憶，注意，学習，行動のモニタリング，運動のプログラミング，ワーキングメモリーを司ることが明らかにされている．この他にも前頭前野は判断，予測，反応結果の評価，行動抑制との関連も深いことから前頭前野は高次機能の多くと密接に関わっている領域であると言える．

近年では，前頭前野の機能と活動領域を特定すべく陽電子放射断層法（PET, positron emission tomography）や機能的核磁気共鳴画像撮影法（fMRI, functional magnetic resonance imaging), fNIRS によって生体の活動を非侵襲的に測定することが可能となった．思考，記銘，想起，ワーキングメモリー課題などの遂行の際に前頭前野が活性化することは広く周知され，近年では認知症，うつ病，ADHD といった症状との関連についての研究が進められ治療や予防に関する報告が数多くされている．

2. 運動と高次認知機能

2 - 1. ヒューマンスタディー

脳の機能低下により引き起こされる問題として認知症, うつ病, ADHD などがある. 認知症は加齢に伴い記憶力や認知機能が低下する病気であり, 高齢化社会である日本が早急に対応しなくてはならない問題の一つである. 認知症にはアルツハイマー型認知症と脳血管性認知症がある. このうち脳血管性認知症の原因となる細小血管障害によって, Stroop 課題時の前頭前野外側部の局所脳血流が低下する (Schroeter et al., 2007). また, 高齢者だけでなく若者にも増加しているうつ病も前頭前野外側部における活性の低下が原因であると考えられており (Ebmeier et al., 2006), 身体活動がそのリスクを軽減するという (Kramer et al., 1999).

次に社会生活を営む上で支障をきたす注意欠陥・多動性障害 (AD/HD, Attention deficit / Hyperactivity disorder) は子どもから大人まで広い世代で症状が表れる. AD/HD は感情的な衝動性や注意力, 集中力の欠如といった症状を示す病気で ST 課題の成績が健常者よりも低く前頭前野における血流が健常者と異なる (Jourdan Moser et al., 2009). 近年, この AD/HD に対しても運動がその症状を緩和させるということで注目が集まっている (Barkley, 1998). このように運動はヒトの脳の機能低下を抑制するだけでなく健康的に維持するためにも有用な手段として期待されている.

2 - 2. アニマルスタディー

ヒューマンスタディーにおいて運動が認知機能を向上させるという結果は, 多くの動物実験で報告されている. 回転ホイールを用いた自発運動モデルを用いた実験では脳由来神経栄養因子 (BDNF, Brain - derived neurotrophic factor) の発現を増加させることが明らかとなった (Neeper et al., 1996). この他にも神経新生を促進させることや学習記憶能を向上させることなども確認されている (Kempermann et al., 1997, van

Praag et al., 1999).

2 - 3. 運動による前頭前野の活性化が認知機能に与える影響

運動が認知機能に与える影響として、身体活動レベルを高く維持することが認知機能を維持すること (Yoshitake et al., 1995, Friedland et al., 2001), 高い有酸素性能力を持つ者は記憶, 視空間, 注意といった認知機能も高いことが報告されている (Colcombe et al., 2004). 有酸素運動を4ヶ月間行った介入実験では、 $\dot{V}O_{2max}$ の向上と並行して認知テストの成績も有意に向上した (Kramer et al., 1999) ことなどから、日常の運動習慣や有酸素性能力が高齢者の認知機能に好影響を与える可能性は極めて高い。一方、継続的な運動だけでなく一過性の運動でも認知機能が改善されるという報告もある (Hogervorst et al., 1996, Cian et al., 2001). 健常者だけでなく肺移植患者に対して6minの運動を行ったところ、運動によって血中酸素濃度が改善すると同時に、認知課題成績が有意に向上した (Parekh et al., 2005) ことから、一過性の運動も年齢や身体活動レベルを問わず認知機能に影響を与えると考えられる。

一過性の運動における強度と認知機能の向上には逆U字の関係が示されており強度によって認知機能が低下することもある (Chmura et al., 1994). 認知機能の向上に効率のよい運動強度は心拍数がや約120(回/分)が最適であり (Delignières. et al., 1994), 最大酸素摂取量 ($\dot{V}O_{2max}$, maximal oxygen uptake) の40%から60%において認知機能を向上させることが報告されている (Davranche et al., 2006). 逆に超高強度運動時には認知機能が低下するという (Brisswalter et al., 1997). これらの報告から、一過性の運動でも認知機能が向上することと中強度が至適運動強度であることが示唆される。しかし、一過性の中強度運動によって認知課題時に脳血流がどのような変化をしているのかは明らかになってない。

3. 前頭前野の局所脳血流動態

3 - 1. Neurovascular coupling

神経細胞は活動の亢進によって増加するエネルギー需要を満たすため、活性部位において速やかに血流が増加する Neurovascular coupling という調節機構がある (Roy and Sherrington, 1890, Lauritzen, 2001). Neurovascular coupling による局所脳血流 (rCBF, regional cerebral blood flow) の増加は、神経活動を反映していると言える。脳神経活動に伴う脳血流変化のメカニズムについては不明な点が多いものの、神経活動の興奮をグリア細胞の一種であるアストロサイト (星状細胞) が感知し、毛細血管を拡張するという説が有力である (Haydon and Carmignoto, 2006)。アストロサイトは、樹状突起を伸ばし一方を多数のシナプスに接しつつ、もう一方を血管の周りを取り巻くように張り巡らされている。神経活動が亢進するとアストロサイトの Ca^{2+} 濃度変化が引き金となってアラキドン酸の代謝産物が放出され、血管が拡張される。

神経細胞レベルでは、脳の神経活動が活動するときは数ミリ～数百ミリ秒レベルの高速な反応が起こる。神経活動が起こった脳領域において局所的な酸素消費量が増える結果、酸素化ヘモグロビン (oxy-Hb) 濃度が減少し、脱酸素化ヘモグロビン (deoxy-Hb) 濃度が増加すると同時に血管の拡張が起こり血流速度と血流量が増加する。fMRI や fNIRS はこの血流代謝動態を非侵襲的に連続測定することで間接的ではあるが神経活動を測定することを可能とした装置である。

3 - 2. 高次認知機能と前頭前野の局所脳血流動態

認知課題時の rCBF 動態は認知課題の種類によって異なり筆記課題 (Yamamoto and Yamashita, 1999)、聴覚課題 (Sakai and Suga, 2001)、算術課題 (Hock et al., 1995)、ウィスコンシン・カードソーティングテスト (Kwee and Nakada, 2003)、語流暢課題 (Hock et al., 1997, Fallgatter et al., 1997) を行っているときの神経活動領域が

fMRI や PET を用いた報告で明らかにされている。fMRI や PET は脳の深部まで活性部位を詳細に特定することが可能である。また 1993 年以降は NIRS が脳機能測定に多く用いられている (Villringer et al., 1993, Kato et al., 1993)。

数ある認知課題の中で高次認知機能のうち実行機能と抑制機能の要素を含み認知的干渉が起こる課題として stroop 課題がある (Zysset et al., 2001)。Stroop 課題は古くから用いられている認知課題テストで Eriksen Flanker 課題と並び高次認知機能を反映する (Stroop, 1935, Eriksen and Eriksen, 1974)。Stroop 課題は実行機能を司るとされる前帯状皮質 (ACC, anterior cingulate cortex) (Pardo et al., 1990, MacLeod, 1991) と DLPFC (MacDonald et al., 2000, Schroeter et al., 2007)、色や文字の識別に関する左舌状回と左一次視覚野 (Pardo et al., 1990)、言語ネットワークでブローカとウェルニッケを含むの左シルビウスの活性が特に活性化することが確認されている (Indefrey and Levelt, 2000, Maess et al., 2002)。

Stroop 課題の成績と rCBF に関する研究は多く、Schroeter et al. (2002) は NIRS を用いて Stroop 課題時の事象関連による血流動態を測定したところ、高齢者は若者に比べて血流変化が小さいことを報告している (Schroeter et al., 2003)。また、血管性痴呆患者の反応時間は遅く血流増加も小さいことからこの血流応答性が反応時間に関わっていると示唆している (Schroeter et al., 2007)。うつ病や認知症患者を対象にした報告では、前頭前野における血流低下が顕著であり (Hund-Georgiadis et al., 2003)、前頭前野における活性の低下が認知機能が低下する原因だと考えられている。このような課題成績と CBF の関係は stroop 課題だけでなく、語流暢課題でもアルツハイマー患者の左半球の活性が低下するという (Fallgatter et al., 1997)。これらの背景には前頭前野における大脳皮質白質部分のグルコース代謝の低下が血管反応性の低下を招くと言う (Hund-Georgiadis et al., 2003)。その結果、情報処理過程のスピードが低下することから (Prins et al., 2005) この機構の改善に運動がどのような関

与をするのか解明することは大きな意義を持つと言える。

4. 機能的近赤外線分光法装置 (fNIRS)

4 - 1. 原理

脳神経の活動を測定する脳機能イメージング法として コンピュータ断層撮影 (CT, Computed Tomography), 機能的磁気共鳴画像法 (fMRI, functional Magnetic Resonance Imaging), 脳磁図 (MEG, Magneto encephalography), 陽電子放出断層撮影 (PET, Positron Emission Tomography), 単一光子放射断層撮影 (SPECT, Single Photon Emission Computed Tomography) などがある。MEG はニューロンの活動電位を直接測定しており, 時間分解能に関しては 1 / 1000 秒まで測定することが可能である。しかし, MEG や PET は便宜性が悪く身体的な自由度が低いので動作に制限加えられ課題に支障をきたす。一方, 近年開発された近赤外線分光法装置 (NIRS, near infrared spectroscopy) は非侵襲的で局所脳血流 (rCBF, regional cerebral blood flow) をリアルタイムに測定することが可能である (Villringer et al., 1993, Ito et al., 2000)。また, 身体的な拘束がほとんど無いため課題への影響を最小限に抑えることが出来る。

近赤外線分光法は近赤外光 (785 nM と 830 nM) が身体の組織に異なる選択反応性を持つ性質を利用した装置で, 神経活動の亢進に伴う酸素型ヘモグロビン (oxy-Hb) と還元型ヘモグロビン (deoxy-Hb) の濃度変化を測定している (Villringer et al., 1993)。近赤外線光は放射された後, 皮膚や頭蓋骨を浸透して体内に入り, バナナ状のアーチを描いてプローブから 2-5cm の距離まで達する間に身体の組織に反射, 吸収される。脳で吸収されなかった光の断片は再び頭皮の表面まで戻ってくるため検出プローブによって検出される。近赤外線光はこのようにして組織の真下に放出されそれぞれのプローブ間で検知された光の差から Hb 濃度を測定している。一般的に oxy-Hb と doxy-Hb

の吸光特性は異なるため 2 種類以上の波長の近赤外線光を用いることで濃度変化を計測することが出来る。基本的に Beer-Lambert の原理と同一のものであるが、生体内では相対的な濃度変化量を測定することになる。fNIRS により測定された oxy-Hb と deoxy-Hb 動態は、fMRI による脳血流 (CBF, cerebral blood flow) 動態と一致しており (Kleinschmidt et al., 1996) データの信頼性の高さは多くの研究で実証されている (Koizumi et al., 1999, Obrig and Villringer, 2003)。

4 - 2. 特徴

fNIRS が脳機能測定装置より優れている点として、1) 近赤外光は完全な非侵襲で繰り返しの測定が可能である。2) 時間分解能が長けているためヘモグロビン動態を 0.1sec という細かな時間まで測定することが可能で、脳の血流代謝をリアルタイムに反映することができる。3) 実験中に被験者の身体的な自由度が高く課題遂行時の動作に何ら制限を与えない。4) 小さく持ち運びすることが可能である。一方、その他の機械より劣っている部分としては、fNIRS が側定しているヘモグロビン動態は、1) 相対的な変化であり絶対的な変化を観察することが出来ない。2) 近赤外光の照射距離が短いため大脳新皮質の表面部分を測定するのが限界で、溝になっている深部は測定出来ない。3) 空間分解能が大変低い。4) 頭蓋骨や皮膚を透過しているため脳の血流動態だけでなく、頭皮における皮膚血流動態の変化が影響する可能性が高い (Buono et al., 2005, Davis et al., 2006)。

4 - 3. fNIRS 測定の限界 (多チャンネル化の問題点)

運動野と前頭前野は情報の相互投射をしていることが神経学的に明らかにされている (Barbas and Pandya, 1987, Luppino et al., 1993)。そのため、運動をすることによって直接的もしくは間接的に前頭前野の活性が高まるとしてもおかしくない。運動時の

rCBFを測定するには環境条件や機械的な特定からfMRIやPETよりもfNIRSが適している。しかし、加温による皮膚血流上昇がfNIRS信号に影響を与える (Davis et al., 2006) という報告などから、運動時のfNIRSのデータに皮膚血流など他の因子が影響することが危惧される。また運動が血管径や血圧の変化をもたらすため、課題による血流変化と運動による血流変化と区別しなければ神経活動の変化を明らかにすることは出来ない。

運動中の脳活動をfNIRSで測定した報告があるが、その結果は一貫したものではない。Miyai et al. (2001)は歩行運動中に大脳皮質一次運動野と補足運動野において脳血流が増加したと報告している。また、右側頭皮質でのみ脳血流の変化量と血圧に相関関係が確認され部位によって反応性が異なることを示唆した報告もある (Williamson et al., 1999)。このようにfNIRSを用いて運動中の脳血流動態を明らかにするには更なる知見を積み重ねることが必要である。

4 - 4. 多チャンネル計測の統計解析

fNIRSによる多チャンネル測定が可能となってから、そのデータ解析に対して注意する必要がある。多チャンネル計測によってあるチャンネルが偶然に間違っただけで賦活領域と判定される確率はチャンネル数の増加とともに増える。通常の検定では有意確率を5%水準に定めているため、偽陽性や第一種の過誤を防ぐことが出来る。しかし、多チャンネル計測でチャンネル数が20個に増えることで偽陽性は20倍になる。このチャンネル数の増加にともなう偽陽性のことをfamily-wise error (FWE) と呼び、多チャンネル計測ではFWEを抑制するために多重比較補正が必要となる (Singh and Dan, 2006)。fNIRSの解析で主に使われている多重比較補正はBonferroni法、FDR補正法である。Bonferroni法は偽陽性の出現を厳密に制御するという意味で有用な補正方法である。しかし、補正が厳しすぎて有意な活性を棄却してしまう危険性が高い。そのため、

統計的検出力の低下を防ぐために FDR 補正法がある。FDR 補正法は陽性と検出された場合に、偽陽性が生じる可能性 (FDR, false discovery rate) を制御するという考えのものである (Singh and Dan, 2006)。fNIRS のデータのように中程度の賦活領域を安定的に検出することが出来ることから、fNIRS 計測に適した解析法と言える。

5. 測定領域の空間解析

5 - 1. 国際 10 - 20 システムと標準脳座標系のリンク

fNIRS 計測は頭皮上から照射される近赤外線分光によって測定される。fNIRS は多チャンネル測定が可能になり、活動領域をリアルタイムに測定する脳機能マッピングの装置である。脳機能マッピングとは、脳の構造が機能的に分化しているという特徴 (Collins et al., 1994)にもとづいて、脳の構造とその機能を結びつけるというものである。しかし fNIRS では脳の構造情報が得られないため空間分解能が極めて低いという問題を抱えていた (Koizumi et al., 2003)。そこで頭皮上の位置を記述するために古くから用いられている国際 10-20 システムを活用して MNI (Montreal Neurological Institute) 3次元定位座標系 (Collins et al., 1994)を対応させて確率論的なレジストレーションが開発された (Okamoto et al., 2004)。

この確率論的なレジストレーションは 1988 年に Talairach と Tournoux によって作成された 3次元定位標準脳座標系の基礎から始まる (Talairach and Tournoux, 1988)。脳の深部にある前交連と後交連に向かう線を y 軸、前交連から y 軸と垂直に正中線方向に伸ばした線を z 軸とした。そして、この yz 軸平面の原点を通る線を x 軸とした。この方法で人間の脳を Talairach 空間に並べることが可能となり同時にすべての脳の位置を X,Y,Z の 3つの座標で表すことが可能となった。この座標系を用いることで被験者ごとの脳画像を標準化できる。しかし、Talairach 標準脳は高齢により委縮が始まった脳を

用いていることから正確性に欠けるという欠点も持ち合わせていた。そのため近年では確率的表現に適した MNI が開発され (Collins et al., 1994) MNI 152 が広く普及している。

5 - 2. バーチャルレジストレーション

バーチャルレジストレーションとは、fNIRS のプローブホルダーを国際 10-20 法の基準点に準じて装着すれば再現性がとれるという仮説の上でコンピュータによってシミュレーションをして測定位置を同定するというものである (Tsuzuki et al., 2007)。

バーチャルレジストレーションでは、まず MRI 画像のデータベースからリサンプリング法によりバーチャル被験者を生成する。そして fNIRS のプローブホルダーの形状からバーチャル・プローブホルダーを生成する。その後、これらのバーチャル情報を合成して頭部のプローブ位置を標準脳座標系に変換し、脳表へと投射する。

このバーチャルレジストレーション法を用いる際に重要となるのがプローブの設置位置に再現性があるということである。主に、国際 10 - 20 法などの基準点を定めて装着するという方法がとられるが基準となる点が 1 点だけではプローブが回転してしまうため再現性を取ることが出来ない。そこで 2 点以上の基準点を定めて装着することが必要となる。

5 - 3. 確率的レジストレーション

確率的レジストレーションとは、国際 10 - 20 法の基準点を媒介として fNIRS のチャンネル位置を MNI 座標系にレジストレーションすることを言う。この方法によって被験者の MRI 画像が無くても fNIRS で測定したチャンネルの位置を同定することが可能である。fNIRS の測定の際に国際 10 - 20 システムを基準としてプローブを配置して 3D 座標測定装置を用いてチャンネルごとの空間座標を測定する。そして、国際 10-20 シ

ステムの Nz (nasion zentrum), Iz (inion zentrum), Cz (central zentrum), PL (preauricular point left), PR (preauricular point right) を基準に座標変換をして MNI 標準脳空間に変換する方法である。また、同時に脳表上への変換も行えるため、複数名の被験者を集めてレジストレーションに利用する参照脳の数を増やすことで統計的に処理するとその精度が向上する。推定精度はおよそ 1 cm 以内であることから、脳の機能単位である脳回レベルの解析が可能となる。これによって fMRI や PET といった他の計測法で測定されたデータとの比較も可能となる。

第3章 研究目的および課題

研究目的

中強度運動後の認知課題パフォーマンスの向上に関連する前頭前野の局所脳血流動態が関与するか検証する。

研究課題

本研究の目的を達成するため、以下の研究課題を設定した。また、各研究課題にはそれぞれ複数の小課題を設定した。

【研究課題 1】前頭前野の局所脳血流動態を fNIRS で測定するための実験プロトコルの作成

研究課題 1 - 1. 中強度運動により増加する前額部皮膚血流と中大脳動脈血流速度の増加と回復過程

fNIRS は皮膚血流と中大脳動脈の影響を受けやすく測定データを歪める可能性が高い。そのため、中強度運動で亢進する前額部皮膚血流と中大脳動脈血流速度が安静時の値に回復するまでに要する時間を明らかにする。

研究課題 1 - 2. 中強度運動で高まる認知課題パフォーマンスは前頭前野局所脳血流応答を増加させるか？

中強度運動による皮膚血流と中大脳動脈血流速度の回復過程を考慮して作成した実験プロトコルを用いて、中強度運動で高まる認知課題パフォーマンスは前頭前野の局所脳血流応答の増大をともなうか検証する。

【研究課題 2】 Color-word Stroop 課題の課題特性を反映する前頭前野局所脳血流応答の検討

研究課題 2-1. ST課題による rCBF 動態の測定 ～block デザインと event - related デザインの比較～

認知課題成績の向上は、前頭前野における情報処理過程の向上もしくはそれらが円滑に機能するようになった結果である。そこで、課題成績との神経基盤を明らかにするために課題中の前頭前野局所脳血流反応の増大を Block デザインと Event-related デザインで検討する。連続して課題を回答する Block デザインの方が前頭前野局所脳血流反応の増大が大きくなるはずである。

研究課題 2-2. Event - related デザインにおける異なる試行間間隔が前頭前野局所脳応答の増大に關与するか？

試行間間隔の違いが前頭前野局所脳血流応答の増大に対して影響するか検証する。刺激に対する局所脳血流応答までの時間は被験者間で一定では無いので試行間間隔が適切でなければ前頭前野局所脳血流応答を測定することが出来ないはずである。

研究課題 2-3. CWST 時の rCBF 変化を評価するための解析方法の確立

Color-word Stroop 課題による前頭前野局所脳血流応答の測定データはフィルタリングすることでノイズを除去することが可能か検討する。これによって事象関連の血流反応からノイズが除去されるのであれば、Stroop 干渉による活動領域を正確に同定することが可能になるはずである。

研究課題 2-4. CWST の課題成績と前頭前野局所脳血流応答に対する習熟レベ

ルの関与

Color-word Stroop 課題の課題成績と前頭前野局所脳応答は習熟度によって異なるか検証する。習熟度によって前頭前野局所脳応答が変化するのであれば実験初期から後期にかけて Stroop 干渉による前頭前野局所脳応答が大きくなるはずである。

【研究課題 3】 中強度運動後の認知課題パフォーマンスは、前頭前野の局所脳血流応答の増大が関与するか？

ST 課題パフォーマンスが前頭前野の局所脳血流動態に関与するか検証する。課題成績と血流変化の Neural-Correlate が見られれば、特定の領域における神経活動の変化を明らかにすることが出来るだろう。

【研究課題 4】 認知課題成績と rCBF 応答増加の連関を促す運動時間の検討

一過性の中強度運動で高まる認知課題パフォーマンスは短時間でも再現出来るか検討する。中強度運動による促通効果が認知機能を向上させるのならば運動時間が短くても認知機能の向上と前頭前野局所脳血流応答の増大があるはずである。

第3章 中強度運動により増加する前額部皮膚血流と中大脳動脈血流速度の増加と回復過程（研究課題1 - 1）

1. 目的

近年、運動と認知機能に関するものでは Kramer et al. (1999, 2006) のグループを中心に運動習慣がポジティブな効果をもたらすことが報告がされてきた。彼らの一連の報告で長期的な運動が認知機能を向上させ ACC や DLPFC の活動性が増すことが報告されている。2009 年には一過性の中強度運動が認知機能を向上させ、その背景には前頭前野と頭頂部の神経活動の亢進があることが示された (Hillman et al., 2009)。しかし一過性の運動による認知機能の向上が関与する脳活動領域を特定するには至っていない。

近年開発が進んだ脳機能イメージング装置の中で fNIRS は身体的自由度が高く、持ち運ぶことが可能であることから、一過性の運動の効果を評価するには最も適している。fNIRS を用いて運動中に局所脳血流が増加することが示されているが (Miyai et al., 2001)、その妥当性にはいくつかの問題が提起されている。

fNIRS は照射プローブから放射された近赤外線光が皮膚や頭蓋骨を浸透して体内に入り大脳皮質に届く。その後、一部の近赤外線光はバナナ状のアーチを描いて吸光プローブで検出される。この間に近赤外線光は身体の組織に反射、吸収されその減衰度の違いから大脳皮質のヘモグロビン濃度の変化を測定する。しかし運動による血圧の増加や発汗が光の減衰度を変化させるため測定したデータが神経活動によるヘモグロビン濃度の変化を反映しないことが危惧される。以上のことから本研究の目的を達成するために fNIRS の測定データに影響を与えうる中大脳動脈血流速度 (MCA V_{mean} , middle cerebral artery velocity mean) (Molinari et al., 2006) と皮膚血流 (Davis et al., 2006) の回復に要する時間を明確にする必要がある。

MCA V_{mean} は前頭前野および側頭部に多くの血液を供給する動脈で血圧が 50 ～

170 mmHg までの範囲の変動であれば一定に保たれることが知られている (Aaslid et al., 1989, Hellstrom and Wahlgren, 1993, Brys et al., 2003). しかし、 $MCA V_{mean}$ は常に一定ではなく運動負荷によって変化するとの報告もあることから (Moraine et al., 1993, Hellstrom and Wahlgren, 1993, Pott et al., 1997, Ide et al., 1998)運動後の回復に要する時間を明確にする必要がある.

また、皮膚血流は深部体温の上昇に伴い増加し、皮膚血管が拡張して熱を体外に放出する. 特に前頭部の皮膚血流は運動刺激に対して他の身体部位の皮膚に比べ最も敏感であり、運動開始後に他の部位より早く上昇を始めることが報告されている (Melchior and Hildebrandt, 1967)ことから、運動後の回復に要する時間について明らかにしなければならない.

そこで研究課題 1-1 では、中強度運動による $MCA V_{mean}$ と SBF が安静レベルに回復するまでに要する時間を明らかにすることを目的とした.

2. 方法

2-1. 被験者

被験者は健常な男子大学生 10 名 (22.0 ± 1.4 歳). 被験者は過去に神経性の病気や精神的な疾病の無い者とした. 実験への参加に関して、予め被験者に研究の目的、方法、予想されうる危険性を書面にて十分説明した上で参加の同意を得た. 実験はすべて筑波大学体育科倫理委員会規定に基づいて実施した.

2-2. 実験手順

各被験者は事前にサイクル型エルゴメーター (ストレングスエルゴ 240, 三菱電機, Japan) で漸増負荷ペダリング運動時の呼気ガスを測定し、 $\dot{V}O_{2max}$ を計測した. 測定された最大酸素摂取量から被験者ごとに 50% $\dot{V}O_{2max}$ 相当の運動強度 (W)を算出した

(Table 1).

被験者の頭部には、超音波ドップラー (TCD, transcranial doppler) プローブ, レーザードップラー血流計 (LDF, laser Doppler flowmetry), 呼気ガスマスクを装着した. 実験は1分間の安静の後, $50\% \text{Vo}_{2\text{max}}$ の運動強度で10分間のペダリング運動を行わせ, 運動終了後は20分間の安静を保たせ, 各パラメータを測定した. ペダリング運動は座位姿勢で行い, 毎分60回転のペースで行わせた (Fig. 1, 2).

2-3. 中大脳動脈血流速度 ($\text{MCA } V_{\text{mean}}$)

$\text{MCA } V_{\text{mean}}$ (mm/sec)の測定は超音波ドップラー血流計 (WAKI1, Atys medical, France) を用いた. 測定部位は超音波が減衰しにくい頭蓋骨部分からのルートを選び $\text{MCA } V_{\text{mean}}$ を測定した. $\text{MCA } V_{\text{mean}}$ の同定には, まず側頭部頬骨弓の上縁に沿ってプローブを水平方向, 垂直方向に動かして前窓, 中窓, 後窓のいずれから強い信号が得られる部分を探した. そして, 焦点深度を 55 – 65 mm にしてウイリス輪血管の終末部から外側 30 mm 程度までたどれる血管を中大脳動脈 (MCA , middle cerebral artery) とした. MCA の測定深度は約 45–60 mm (Keith, 1992)で, 波形の高速成分が比較的強いものである. 測定部位が決まった後, 純正のヘッドギアを用いて, MCA の測定位置がずれないようにヘッドギアを用いて確実にプローブを頭部に固定した. データは AD 変換器 (PowerLab, ADInstruments, Australia) によりデジタル変換しコンピュータに保存した. 1 分間ごとの平均速度 (mm / sec) を $\text{MCA } V_{\text{mean}}$ として算出した.

2-4. 皮膚血流 (SBF)

SBF の測定にはレーザードップラー血流計 (FLO-C1, OMEGAWAVE, Japan) を用いた. 国際 10-20 法の Fpz の位置にファイバーの先端をドーナツ状の両面テープで貼り付けた. 受信レーザー光の周波数変調から血流速度 (velocity), 光の強さから血液量

(mass) を測定して、血流速度と血液量の積から算出された血液量 (flow) に相当する。データは AD 変換器 (PowerLab, ADInstruments, Australia) によりデジタル変換し、コンピュータに保存した。得られたデータは安静値を 100 %とした増加率に換算し、1 分間の平均値として求めた。

2-5. 呼気ガス

運動によって増加する呼気ガスの回復過程を観察するために、呼気ガス分析機 (AE-300s, ミナト医科学, Japan) を用いて breath - by - breath 法で連続測定をした。呼気ガスは $\dot{V}O_2$ (分時酸素摂取量), $\dot{V}CO_2$ (分時炭酸ガス排出量), $\dot{V}E$ (分時呼気換気量), $ETCO_2$ (終末呼気炭酸ガス濃度) を運動開始から終了までそれぞれ測定した (Fig. 2)。

2-6. 心拍数

心拍数は無線式スポーツ心拍計 (POLAR HEART RATE MONITOR, POLAR ELECTRO OY, Finland) を用いた。心拍数は安静時から毎分測定して運動終了後 20 分まで 1 分ごとに測定した。

2-7. 統計解析

MCA V_{mean} と SBF は 0.1 秒でサンプリングを行い、測定終了後に 1 分間の平均値を算出した。呼気ガスは 5 秒ごとにサンプリングを行い、測定終了後に 1 分間の平均値を算出した。心拍数は 10 秒後ごとにサンプリングを行い、終了後に 1 分間の平均値として算出した。すべてのパラメーターの解析には一元配置の分散分析を行い、*post - hoc* として多重比較検定として Dunnet を用いた。データはすべて平均値と標準誤差で示した。統計処理には SPSS for Windows (SPSS Inc., ver.11.0) を用いて有意水準は 5%とした。

Table 1. Subjects' characteristics

	RQ	RPE	HR (bpm)	Work Load (W)	$\dot{V}O_{2max}$ (ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)
50% $\dot{V}O_{2max}$	0.9 ± 0.1	14.7 ± 1.0	135.1 ± 6.5	83.9 ± 13.3	
$\dot{V}O_{2max}$	1.3 ± 0.2	20.0 ± 0.0	185.9 ± 1.5	207.0 ± 19.2	46.3 ± 10.4

Inter-subject mean values of respiratory quotient (RQ, $\dot{V}CO_2/\dot{V}O_2$), rating of perceived exertion (RPE), heart rate (HR), workload (W), and maximum oxygen intake ($\dot{V}O_{2max}$) recorded at the end of the exercise at an intensity of 50% $\dot{V}O_{2max}$ and at an intensity of $\dot{V}O_{2max}$. Data are expressed as mean ± S.D. (n = 10).



Fig. 1 Experimental design

Physiological parameters were measured while subjects performed exercise using a recumbent type cycle ergometer.

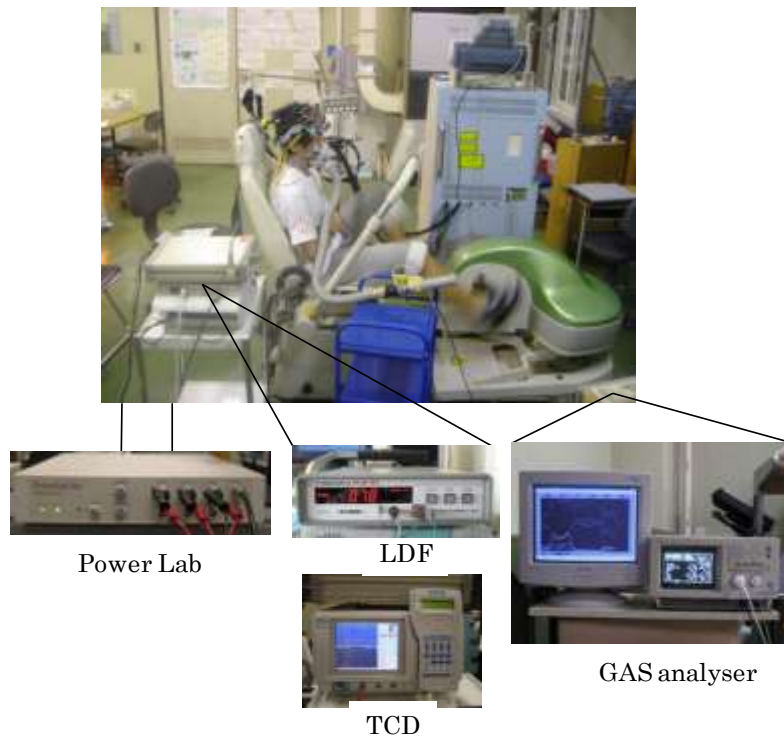


Fig. 2 Measurements of MCA V_{mean} and SBF during exercise.

We performed time-line monitoring of MCA V_{mean} , SBF, HR, and $\dot{V}\text{CO}_2$ to find the time interval required to stabilize these physiological parameters of exercise after 10 minutes of pedaling at an intensity of 50% $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$.

3. 結果

3 - 1. $MCA V_{mean}$

$MCA V_{mean}$ は安静時に比べて運動開始後 3 分後にその増加が有意となり、4 分後にピーク値を示した。続いて運動継続中にもかかわらず測定値は低下して、7 分後には安静時と比べて有意差がみられなくなった。この状態は運動開始後 7 分の値は運動が終了して維持された (Fig. 3)。

3 - 2. SBF

SBF は運動開始直後から増加し、開始後 8 分で有意な増加を示した。その後、運動開始後 9 分でピークとなり、運動終了後 1 分まで有意な増加を示すことが確認された。運動終了後は緩やかに減少して、20 分以降は安定した値を示した (Fig. 3)。

3 - 3. $ETCO_2$

$ETCO_2$ は運動開始直後に増加し、運動 1 分後から終了後 2 分まで有意な増加を示した。運動終了後 3 分以降は大きく変動することなく安静時と同一のレベルを維持した (Fig. 3)。

3 - 4. 心拍数

運動中の心拍数は開始後 1 分から終了後 2 分まで有意な増加を示した。運動が終了すると HR は速やかに低下し、運動終了後 2 分以降は安定した値を示した (Fig. 3)。

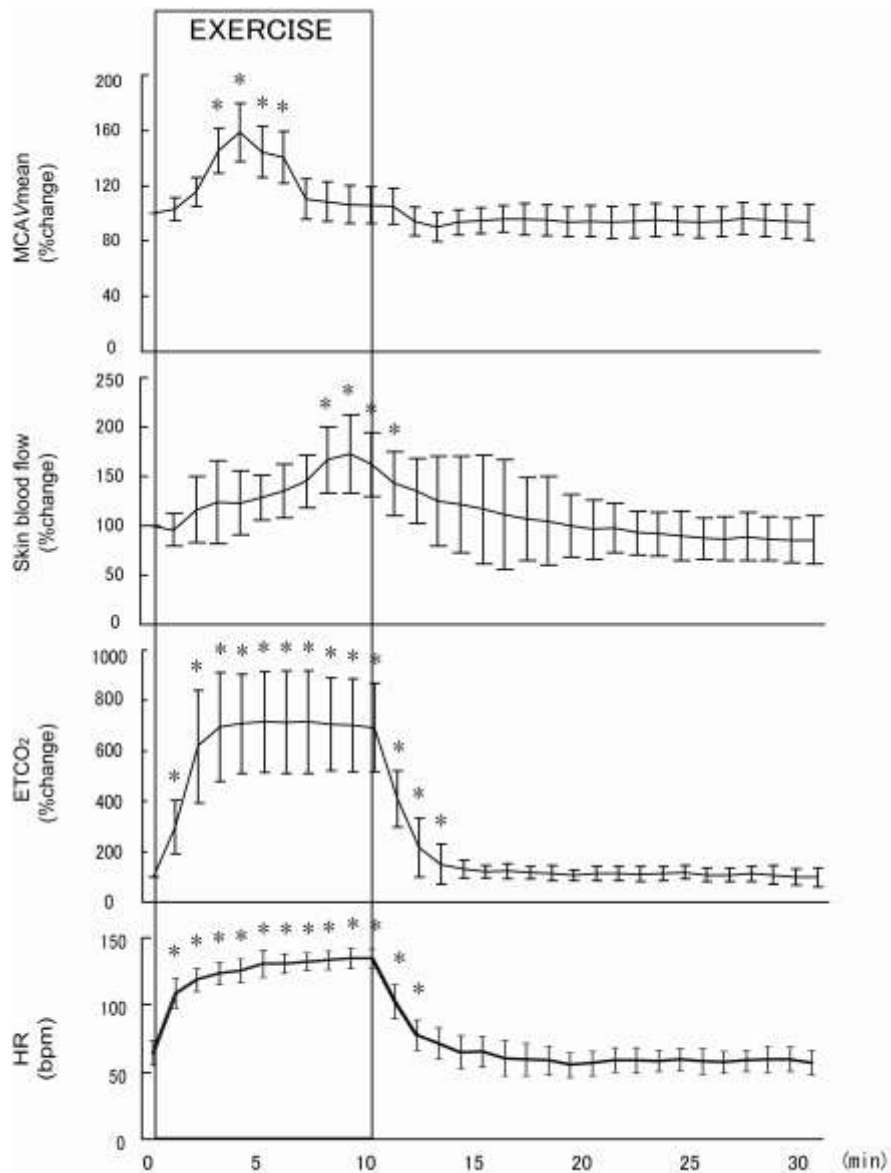


Fig. 3 The effect of exercise, compared with rest period

Trends of the physiological parameters of exercise before, during, and after an acute exercise bout. Inter-subject mean of physiological parameters at each time point are plotted. Error bars indicate standard deviation. Time points with significant exercise effects compared to the signal intensities at the onset are indicated with asterisks (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Dunnet's test). MCA V_{mean} , middle cerebral artery mean blood velocity; SBF, skin blood flow; HR, heart rate; $\dot{V}CO_2$, Carbon dioxide output at rest and during pedaling at 50% $\dot{V}O_{2\text{max}}$ of maximal O_2 intake ($\dot{V}O_{2\text{max}}$). Data are expressed as mean \pm S.D. (n = 10).

4. 考察

本実験では $50\% \dot{V}O_{2max}$ 強度で 10 分間の運動を行い $MCA V_{mean}$ と SBF の亢進と回復過程について検討した。その結果、運動が終了して後数分で $MCA V_{mean}$ と SBF は安静時と同一のレベルにまで回復することが明らかとなった。

$MCA V_{mean}$ 超音波を用いて血流速度を測定する手法であるが、このときの条件として測定している動脈の血管内径が一定であることが前提である。しかし、現在まで運動中の MCA の血管径について一致した見解は得られておらず、高強度運動で疲労困憊に至るような場合は MCA の収縮が起これ、 $MCA V_{mean}$ が血流量を反映しない可能性があるとの報告もある (Jorgensen et al., 1992)。MRI による報告では、ヒトの MCA は大きな収縮は起こらないとされているが (Serrador et al., 2000, Schreiber et al., 2000), MCA 以外の血管では運動による血中ノルアドレナリンの増加や動脈血圧の上昇が、血管収縮を引き起こすという報告もある (Ogoh et al., 2005)。今回の結果でも運動継続中に $MCA V_{mean}$ が低下し始めたことから MCA の血管内径が変化した可能性は無いとは言えない (Pott et al., 1997)。いずれにせよ $50\% \dot{V}O_{2max}$ の運動終了後は $MCA V_{mean}$ は安静レベルに戻り一貫して安定するという結果が得られた。以上の結果から運動が終了していれば $MCA V_{mean}$ は安静時と同等に安定しており、fNIRS の測定データに影響を与えることは無いと言える。

SBF に関しては、運動開始直後から増加して 8 分後以降に有意となった。運動をすると身体は熱を発生するため深部体温が上昇する。この際、熱を体外に放出するために皮膚血管が拡張する。今回の実験でも運動開始後 7 分あたりから被験者の額に発汗が見られたことから皮膚血管が拡張したと考えられる。特に今回 SBF を測定した前頭部の額は他の身体部位の皮膚に比べて敏感で運動を開始すると速やかに血管が拡張することが報告されている (Melchior and Hildebrandt, 1967)。fNIRS の測定は頭皮上から近赤外線光を照射するため、 SBF のわずかな変化で測定データが変化してしまう。その

ため運動により前額部の SBF が増加する際は fNIRS の測定データにはノイズが含まれてしまう。実際にこのような変化がある中でも fNIRS 測定は不可能ではないが (Suzuki et al., 2004), SBF の変化が神経活動によるヘモグロビンの変化を覆ってしてしまう可能性は高い。そのため運動中に限らずその回復過程でも SBF が安静時の値まで回復して安定していることを待ってから測定するのが望ましい。今回の結果から SBF が安定するのは運動開始後約 25 分 (終了後約 15 分) であった。これ以降であれば SBF が fNIRS に影響を与えることが無いと考えられる。そこで本研究では、25 分 (運動終了後 15 分) で fNIRS を測定するものとする。

5. 要約

中強度運動による $MCA V_{\text{mean}}$ と SBF の測定を通して、運動後の回復過程について実験を行った結果、以下の知見を得た。

50% $\dot{V}O_{2\text{max}}$ で 10 分間の運動を行っている際、

1. $MCA V_{\text{mean}}$ は運動開始後 4 分で最高値を示し、以後低下した。
2. $MCA V_{\text{mean}}$ は運動が終了したときに安静レベルまで回復しており以後安定する。
3. SBF は運動開始後 9 分で最高値となり、運動終了後 1 分まで有意な増加を示した。
4. SBF は 25 分 (終了後約 15 分) で安静時の値にまで回復して安定する。
5. HR, 呼気ガスは運動終了後 3 分以降安定である。

これにより、中強度運動後による前額部 SBF と $MCA V_{\text{mean}}$ の回復過程が明らかになり実験プロトコルを作成することが可能となった。

第4章 中強度運動で高まる認知課題パフォーマンスは前頭前野局所脳血流応答を増加させるか？（研究課題 1-2）

1. 目的

研究課題 1-1 において $MCA V_{mean}$ と SBF の運動後の回復過程について検討した。その結果、運動中、いったん増加してこれらのパラメーターは運動後約 15 分で安静レベルに回復することを確認した。このことから運動後 15 分であれば $fNIRS$ の測定が可能であることが示唆される。本研究では中強度運動後の $CWST$ 成績の向上に関連する前頭前野の活動部位を明確にすることが目的である。 $CWST$ 中の $rCBF$ 変化は神経活動の亢進に伴う毛細血管レベルの血流変化である。これは $MCA V_{mean}$ や SBF に比べると極めて小さいものである。そこで研究課題 1-2 では研究課題 1-1 の結果をもとに作成した実験プロトコルを用いて実際に中強度運動後に $CWST$ を行った。今回の実験で行う $CWST$ は Schroeter et al. (2002) によって確立された実験モデルである。すなわち彼らと同様の結果を再現することが出来れば $MCA V_{mean}$ と SBF が影響していないと考えられる。

2. 方法

2-1. 被験者

本実験では研究課題 1-1 と同一の被験者を用いて実験を行った。被験者は色覚異常や言語判断能力に異常がなく、かつて神経性の病気や精神的な病気を伴っていないことを確認した。また被験者は右腕を利き腕とし母国語は日本語である者とした。実験はすべて筑波大学体育科倫理委員会規定に基づいて実施した。

2-2. 実験手順

すべての被験者は事前にサイクル型エルゴメーターを用いて $\dot{V}O_{2max}$ を測定した。そして各被験者の $\dot{V}O_{2max}$ から $50\% \dot{V}O_{2max}$ 強度を算出した。また、被験者は本実験で実施するCWSTを本番と同一のプロトコルで7回練習を行い、課題に十分慣れた上で本実験を行った (Fig. 4)。実験当日は起床後から一切の運動を禁止して、実験開始の2時間以内には食事をとらないよう制限した。実験で行う運動は研究課題 1-1 のサイクル型エルゴメーターを用いて $50\% \dot{V}O_{2max}$ 強度の運動を行わせた。運動条件は座位姿勢のまま毎分60回転のペースで各被験者の $50\% \dot{V}O_{2max}$ 強度で10分間の運動とした。CWSTの実施は運動前後とし、課題中の前頭前野局所血流応答をfNIRSで測定した (Fig. 5)。

2-3. Color-word Stroop 課題 (CWST)

本研究のCWSTはStroop (1935) によって作られた課題をZysset et al. (2001)が改良したcolor - word Stroop 課題 (CWST)である (Schroeter et al., 2002) (Fig. 6, 7)。CWSTはスクリーンの上段と下段に2つの単語が表示され、被験者は上段にある単語の文字の色が下段にある文字の意味と一致しているか異なっているかを判断する。被験者は右手と左手の中指でキーボードの“yes”と“no”のボタンを押して回答する。“yes”と“no”のボタンはキーボードの「C」と「M」に一致している。

Neutral 課題 (neutral)はディスプレイ上に表示される文字は上段が“xxxx”であり、赤、緑、青、黄、黒の文字色で表示される。下段の文字は“あか”、“あお”、“みどり”、“きいろ”、“くろ”と黒色で表示される。Congruent 課題 (congruent)と incongruent 課題 (incongruent)は、上段に“あか”、“あお”、“みどり”、“きいろ”、“くろ”の文字がそれぞれ赤、緑、青、黄、黒の文字色表示される。下段には、neutral と同一の“あか”、“あお”、“みどり”、“きいろ”が黒色で表示される。今回の実験では、neutral 10問、congruent 10問、incongruent 10問の計30問をランダムに表示した (Fig. 6)。被験者の回答方法を上

の文字から下の文字へと順に回答を選ぶよう統一するために、視覚的な注意が上段から下段に移るまでに要する 100ms の遅延を設定した (MacLeod, 1991). 問題の回答時間は 1 問につき 12 秒で、上の文字が表示されると 2 秒後に画面は空白になり、フィクセーション (注視点) が 10 秒間表示される。回答は 2 秒経過後も可能であるが修正することは出来ない。各問題内で上段の文字色と下段の文字の意味が一致する確率は 50% であり、一致・不一致はランダムに表示される。問題提示は 17 インチ画面のノート型パソコンを用いて行い、画面から目までの直線距離を 65 cm となるように設置した。被験者は画面以外に気を取られぬように、コンピュータを囲む前側方を黒い布で覆った。各問題の反応時間及び正誤数は PC にデジタル保存される。

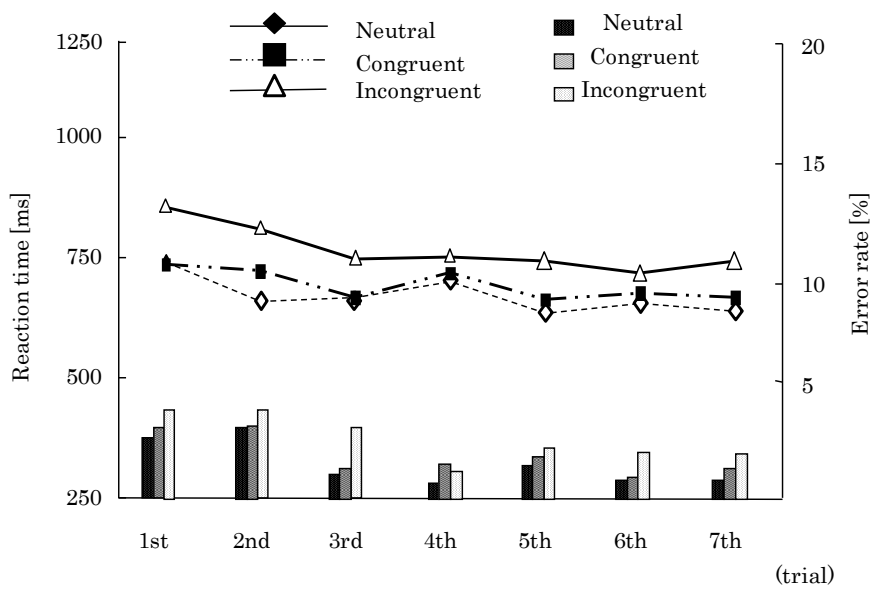


Fig. 4 Stroop performance in the course of practice

Prior to the experiment, a practice session consisting of seven trials was performed.

color-word Stroop task



Fig. 5 fNIRS measurements

Brain activity was measured while subjects performed the Stroop task.

Neutral	Congruent	Incongruent
XXXX あお	あか あお	みどり あお
XXXX あお	あお あお	みどり あお

Fig. 6 Color-word matching Stroop task

Instances of single trials for the neutral, congruent, and incongruent conditions of the color-word Stroop task are depicted. Question given was, "Does the color of the upper word match the meaning of the lower word?" For the top three examples, the correct answer is, "No" for the bottom three examples, the correct answer is, "Yes".

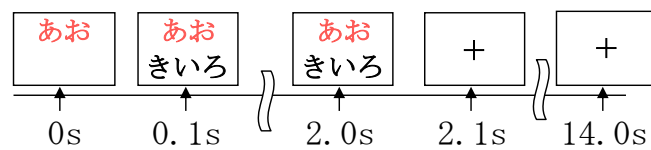


Fig. 7 Color-word Stroop task appearance

The top row was presented 100 ms before the lower row to achieve sequential visual attention (MacLeod, 1991). The correct answer rate assigned to yes and no was 50 % each. Each experimental session consisted of 30 trials including 10 neutral, 10 congruent, and 10 incongruent trials presented in random order with an inter-stimulus interval showing a blank screen for 12 s (Schroeter et al. 2002, 2004b). The stimulus remained on the screen until the response was given, or for 2 s.

2-4. 実験デザイン

CWST は運動前後に 1 回ずつ実施した (Fig. 10). 運動は 10 分間の中強度運動 (50% $\dot{V}O_{2max}$ 強度) を行い, その後 15 分間の安静をとった. 運動前の CWST を pre - trial Stroop, 運動後の CWST を post - trial Stroop とした.

2-5. fNIRS 測定

今回の実験で用いた fNIRS は, 多チャンネル式近赤外線分光法装置 (光トポグラフィ-ETG - 7000, 日立メディコ, Japan) を使用した. この fNIRS 装置は, 強度変調した近赤外線を頭皮上より頭蓋内に向けて照射し, 脳を通過して再び頭蓋外の頭皮上に出てきた近赤外線の強度変化を測定する. 大脳表層の大脳皮質部の血液中の oxy-Hb, deoxy-Hb の変化を連続的かつ非侵襲的に計測することで, 大脳皮質のヘモグロビン動態を測定することが出来る. 測定は 16 個のプローブを 2 枚 (計 48 チャンネル) 使用して前頭前野の rCBF を測定した (Fig. 8). 測定領域は, Tsuzuki ら (2007) によるバーチャルレジストレーション法を用いて, 予め CWST で活性が確認されている DLPFC をカバーするように配置した. 国際 10-20 法を基準にして, 左プローブが ch 13 検出プローブを FT7 に合わせる一方, 他の ch 7, 14, 21 は正中線と並行するように配置した (Fig. 9). 右プローブは ch 24 照射プローブを FT8 に合わせ, ch 4, 11, 18 が正中線と平行になるように配置した. すべてのプローブの先端は頭皮に接触するようにセットした.

測定はストロープ課題表示用の PC と fNIRS を同期させた. fNIRS の準備が完了すると, 被験者がスタートボタンを押すことで作動し開始後 17 秒後に 1 問目の課題が表示される. スタートボタンを押してから連続的に行われ, 最終問題が表示後 17 秒に記録が終了する.

2-6. 統計解析

今回の実験では Stroop 干渉による血流応答を反映する incongruent による oxy-Hb を事象関連で解析した。まず事象関連で incongruent による血流応答を算出するために課題表示と同期したトリガーを 10 回分の rCBF を加算平均した。このようにして算出された血流データから、波形が最高値を示した課題の掲示後 3 秒間 (4 - 7 秒) を反応区間 (Peak), 課題表示前 2 秒間のベース区間 (Base) とした。またこの Peak と Base の差 (Peak - Base) を hemodynamic response とした。運動前の CWST を pre - session, 運動後を post - session とした。

課題ごとの hemodynamic response は増加が有意であるか確認するために安静時からの増加量 (Peak - Base) を 1 sample t-test で検定した (Fig. 11)。その後, 1 sample の t-test で検定した p 値に対して FDR 補正法 (false discovery rate) で多重比較補正をした。統計処理には SPSS for Windows (SPSS Inc., ver.11.0) を用いて, データはすべて平均値と標準誤差で示した。なお, 有意水準は 5% とした。



Fig. 8 fNIRS probe position

We set the region of interest (ROI) to cover the DLPFC activation foci as found in previous fMRI and PET studies (Derrfuss et al. 2005; Laird et al. 2005). Specifically, we used two sets of 4 x 4 multichannel probe holders, consisting of eight illuminating and eight detecting optodes arranged alternately at an inter-optode distance of 3 cm, resulting in 24 channels per set. The left probe holder was placed such that optode 5 (between CH 4 and CH 8) was placed over FT7, with the medial edge of the optode column parallel to the medial line. Likewise, the right probe holder was placed symmetrically.

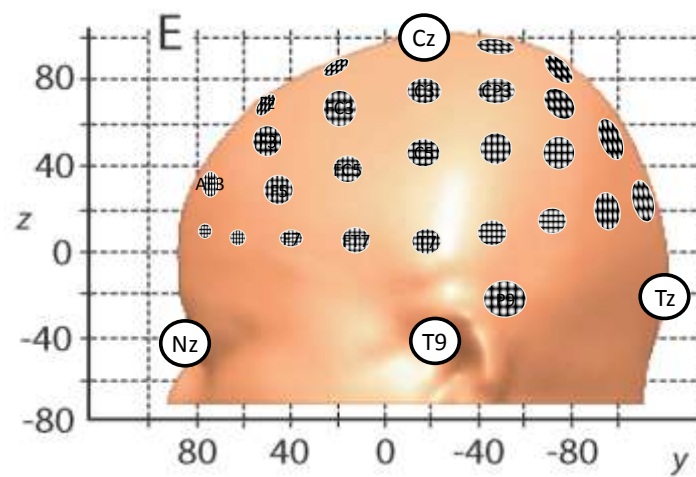


Fig. 9 International 10-20 system

We placed fNIRS probe according to international 10-20 system. The left side probe5 placed on FT7 and the right side probe8 placed on FT8.

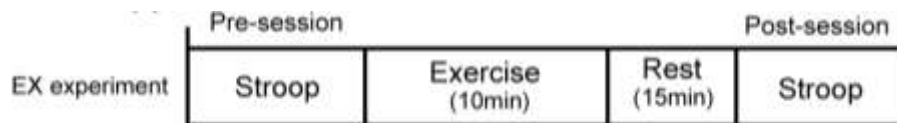


Fig. 10. Experimental design

All subjects attended exercise (EX) experiments with the order being counterbalanced across subjects. In the EX experiment, subjects performed a Stroop task before and 15 min after the exercise. Brain activity was monitored with fNIRS while subjects performed the Stroop task.

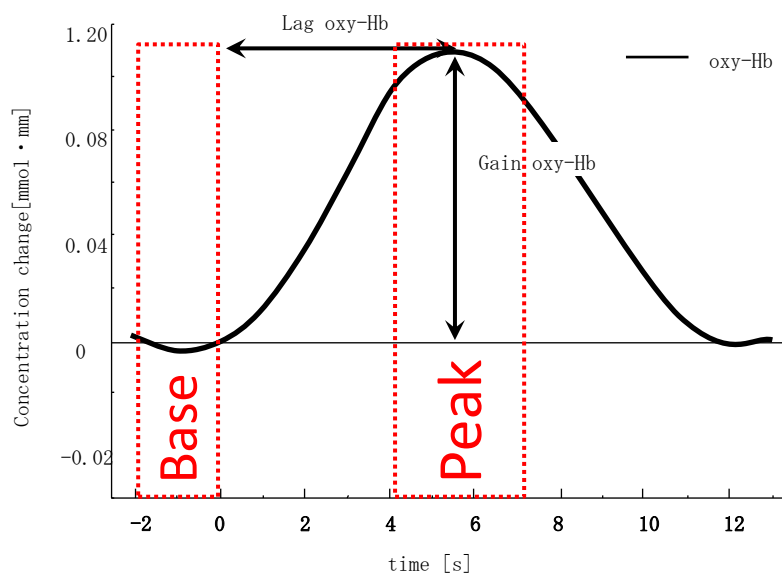


Fig. 11 Sample of Hemodynamic response in oxy-Hb

From the preprocessed time series data, we obtained channel-wise and subject-wise contrast by calculating the inter-trial mean of differences between the Δ oxy-Hb of event (4 - 7 s after trial onset) and baseline (the first 2 s after trial onset) periods.

3. 結果

3-1. CWST の RT

課題時の平均反応時間は neutral が一番早く、続いて congruent, incongruent の順であった (Fig. 12). 反応時間は post - stroop は pre - stroop と比較して, neutral (770.3 ± 210.7 vs. 614.4 ± 158.8 , $P < 0.01$), congruent (781.1 ± 181.0 vs. 663.0 ± 228.9 , $P < 0.01$), incongruent (882.6 ± 235.7 vs. 733.3 ± 223.7 , $P < 0.01$) となり有意に速くなることが確認された. エラー率は pre - stroop と post - stroop 間で有意差は見られなかった (Fig. 13).

3-2. CWST の rCBF

Pre - trial Stroop では DLPFC を中心として事象関連の hemodynamic response が確認された. 各チャンネルにおける活性は Fig. 14 に示した. pre - session で hemodynamic response の増加が有意だったのは ch 2, 3, 6, 7, 9, 10, 13, 14, 16, 17, 19, 37 であった. Post - trial では, ほぼすべてのチャンネルで hemodynamic response の増加が有意となった (Table 2).

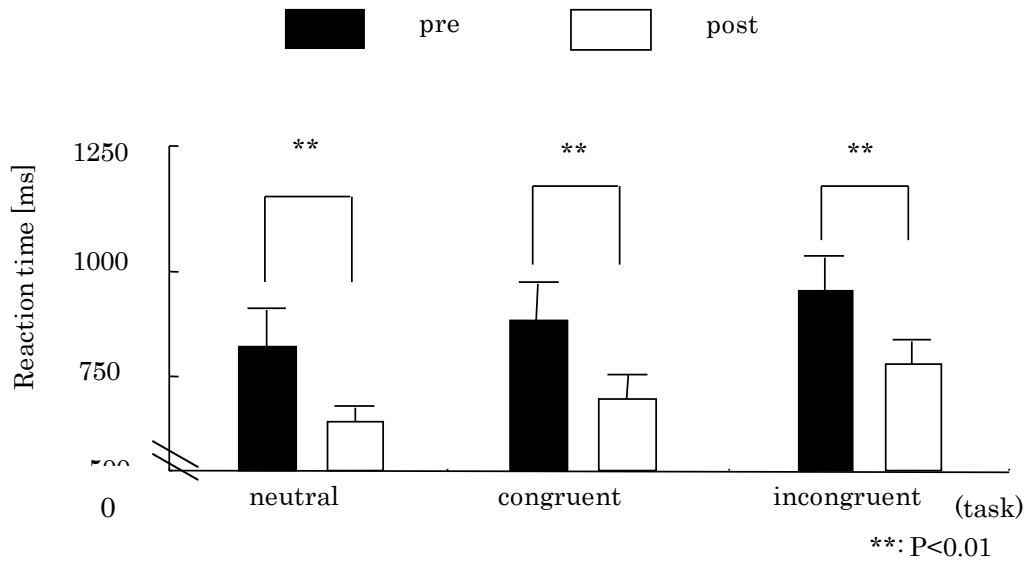


Fig. 12 Reaction time

The black graph shows reaction times in the pre-trial stroop task and the white graph shows shows reaction time in post -trial stroop task.

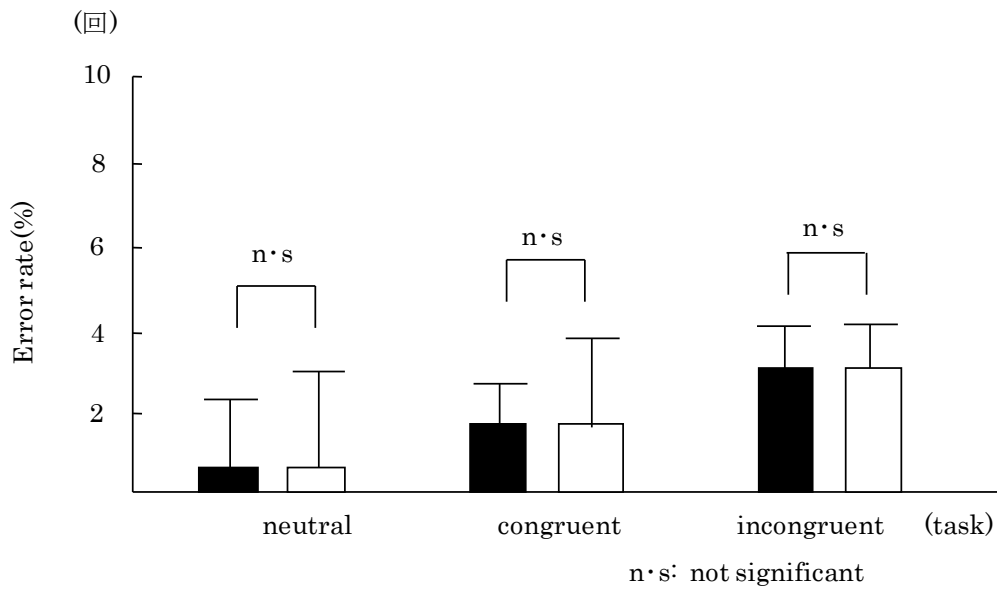


Fig. 13 Error rate

Each graph shows error rate in pre-trial and post-trial Stroop task.

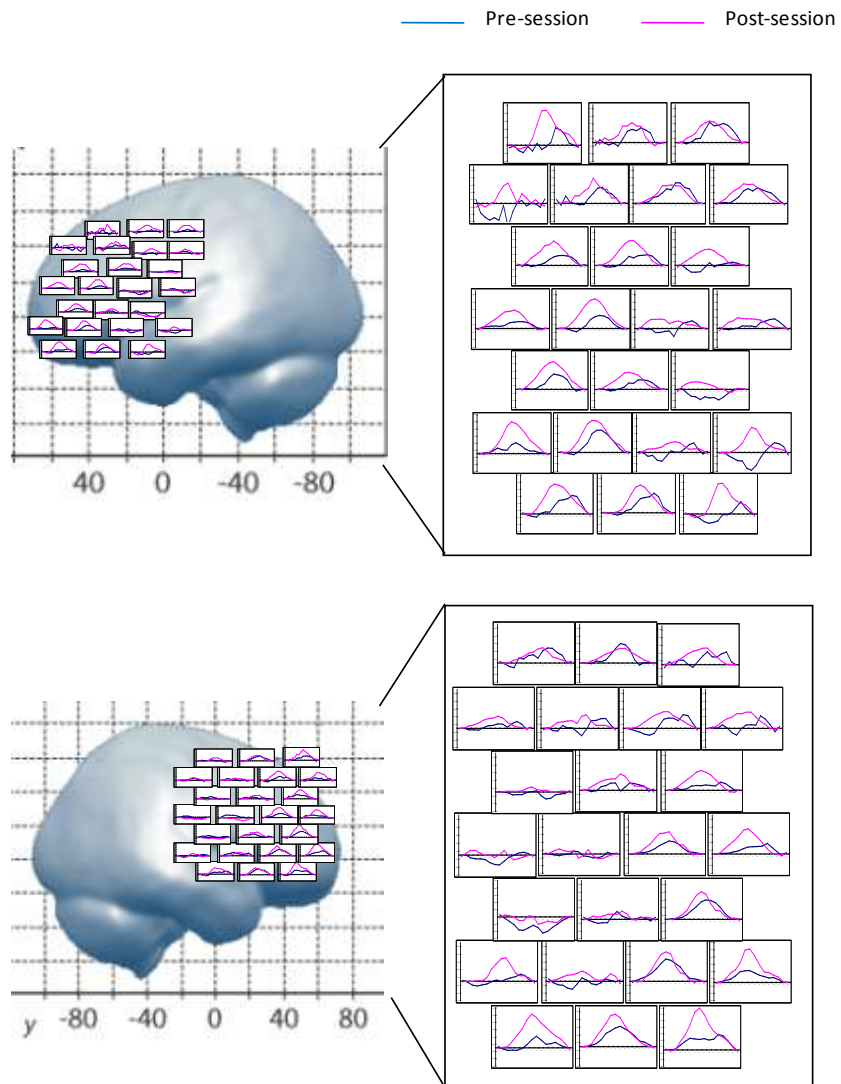


Fig. 14 Hemodynamic response during incongruent task

Illustrate an example of one channel timeline data for oxy-Hb during the Stroop task. We observed increases in the oxy-Hb signal during the Stroop task compared to the baseline in almost all CHs. Blue line indicate pre – session. Pink line indicate post – session.

Table 2. Summary results of hemodynamic response

One sample t-test											
pre-session						post-session					
	Average	±	S.D.		statistic		Average	±	S.D.		statistic
2ch	0.03	±	0.04	0.02	*	2ch	0.05	±	0.05	0.00	**
3ch	0.03	±	0.04	0.04	*	3ch	0.06	±	0.05	0.00	**
6ch	0.04	±	0.05	0.08		6ch	0.05	±	0.04	0.00	**
7ch	0.03	±	0.04	0.03	*	7ch	0.04	±	0.04	0.00	**
9ch	0.03	±	0.04	0.04	*	9ch	0.03	±	0.03	0.00	**
10ch	0.03	±	0.04	0.03	*	10ch	0.03	±	0.03	0.00	**
12ch	0.00	±	0.03	0.62		12ch	0.03	±	0.04	0.01	**
13ch	0.02	±	0.03	0.02	*	13ch	0.04	±	0.04	0.00	**
14ch	0.02	±	0.02	0.04	*	14ch	0.03	±	0.03	0.00	**
15ch	0.01	±	0.05	0.80			0.02	±	0.03	0.05	*
16ch	0.01	±	0.02	0.03	*	16ch	0.04	±	0.05	0.00	**
17ch	0.02	±	0.03	0.05	*	17ch	0.03	±	0.02	0.00	**
19ch	0.01	±	0.02	0.06		19ch	0.03	±	0.03	0.00	**
20ch	0.01	±	0.03	0.15		20ch	0.04	±	0.06	0.02	*
22ch	0.01	±	0.04	0.30		22ch	0.05	±	0.03	0.00	**
23ch	0.01	±	0.04	0.35		23ch	0.01	±	0.05	0.31	
26ch	0.01	±	0.04	0.27		26ch	0.04	±	0.05	0.00	**
27ch	0.00	±	0.03	0.81		27ch	0.05	±	0.05	0.00	**
30ch	0.02	±	0.04	0.12		30ch	0.04	±	0.05	0.00	**
31ch	0.00	±	0.02	0.61		31ch	0.04	±	0.04	0.00	**
33ch	0.01	±	0.04	0.26		33ch	0.03	±	0.04	0.00	**
34ch	0.01	±	0.03	0.14		34ch	0.04	±	0.04	0.00	**
36ch	-0.01	±	0.05	0.60		36ch	0.02	±	0.04	0.04	**
37ch	0.02	±	0.03	0.03	*	37ch	0.03	±	0.04	0.00	**
38ch	0.00	±	0.03	0.86		38ch	0.02	±	0.04	0.04	*
39ch	0.00	±	0.05	0.94		39ch	0.03	±	0.04	0.00	**
40ch	-0.01	±	0.03	0.42		40ch	0.03	±	0.04	0.00	**
41ch	0.00	±	0.03	0.96		41ch	0.02	±	0.04	0.04	*
43ch	0.00	±	0.03	0.86		43ch	0.02	±	0.03	0.01	**
44ch	0.00	±	0.02	1.14		44ch	0.03	±	0.03	0.00	**
46ch	0.00	±	0.04	0.77		46ch	0.02	±	0.04	0.04	*
47ch	0.01	±	0.03	0.59		47ch	0.02	±	0.03	0.00	**

Contrasts (incongruent - neutral) that were above the significance level are shown with asterisks (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, two-tailed.). All data are shown as mean \pm S.D. in units of $\text{mmol} \cdot \text{mm}$.

4. 考察

今回の実験では、CWSTの反応時間が Neutral < Incongruent と先行研究と一致する結果となった (Schroeter et al., 2002). CWSTの難易度は Neutral が最も低く、続いて congruent, incongruent となっている。今回の結果はこれを反映していることから、課題が適切に行われていたことを示している。間違い数については pre-session と post-session とともに 100%に近い値だったため差が見られなかったものと思われる。

反応時間について post-session で短縮が有意であることから運動が認知機能を高めることを示す結果であると言える (Hogervorst et al., 1996). CWSTの成績は、運動によって neutral で 156 ms, congruent で 118 ms, incongruent で 149 ms 短縮され、McLeod et al. (1991) や Schroeter et al. (2002) と一致するものであった。また、一過性の運動で CWSTの反応時間が短縮するという Kubesch (2003)らの報告と一致したことから、従来の報告で用いられた CWSTを本実験で再現できたことから CWSTは適切に行われていたといえる。

次に rCBFについて pre-session と post-session の両方で hemodynamic response を測定することが出来た。Post-session では、Pre-session よりも広い領域で hemodynamic response が確認されたことに関しては運動により血管の反応性が向上したことが原因だと考えられる。CWSTによる神経活動を報告した先行研究によると、DLPFCがCWST時に活性化することが知られている (Schroeter et al., 2002, Schroeter et al., 2007)。今回の実験では pre-session と post-session の両方で DLPFC を中心とする hemodynamic response の増加が有意であることが確認された。Hemodynamic response が確認されたチャンネルに運動野近くの活性が含まれていることに関して、ボタンを押す際の指運動や動眼球運動の影響が関与している可能性は完全に否定することはできない (Courtney et al., 1998, James V et al., 2001)。しかし DLPFC を中心に活性領域が広がっていることから今回の rCBF の変化をそうした運動系の影響によるものとするよりも

Stroop 干渉により神経活動の亢進したと考える方が適切だろう (Roy and Sherrington, 1890, Villringer et al., 1993). したがって運動の前後に関わらず fNIRS による CWST 時の事象関連 rCBF を測定することが可能であることと, その妥当性が証明できたと言える.

5. 要約

運動後に安定して CWST による事象関連の局所脳血流動態を測定できるか明らかにするために実験を行い, 以下の知見を得た.

一過性の 50% $\dot{V}O_{2max}$ のペダリング運動を行わせた結果、

1. 運動前 (pre - session) では DLPFC を中心とした hemodynamic response が確認された.
2. 運動後 (post - session) では pre - session と同様に DLPFC を中心とする領域で hemodynamic response が確認された.
3. 運動後 (post - session) は, pre - session よりも広い範囲で hemodynamic response が起こる.
4. 反応時間は neutral, congruent, incongruent のすべてで運動後に有意な短縮をみせる.

これにより, 運動前後に安定して CWST による事象関連の局所脳血流動態を測定することが可能であることが確認された.

第5章 ST 課題による rCBF 動態の測定 ～block デザインと event - related デザインの比較～ (研究課題 2 - 1)

1. 目的

研究課題 1 - 2 において中強度運動で高まる認知課題パフォーマンスは前頭前野局所脳血流応答を増大させる評価方法の妥当性について検証した。その結果、運動後 15 分で CWST を実施すること、運動後は反応時間の短縮と rCBF の増加が有意であることが確認できた。この結果から中強度運動後の認知機能の向上は神経原生である可能性が極めて高くなった。しかし研究課題 1-2 の fNIRS の測定データにはノイズが多く混在しており Stroop 干渉による活性が極めて小さい被験者も少なくなかった。fNIRS はその簡便性から本研究に適している装置であるが、データにノイズが混在しやすいという課題を併せ持っている。そのため Stroop 干渉による血流が増加する特定脳領域を同定するにはこのノイズを抑える必要がある。

現在までに報告されている fNIRS を用いた実験では、課題中の血流を断続的に測定す block デザイン (BL デザイン) を用いて脳活動を評価しているものが多い (Ide and Secher, 2000, Matsuda and Hiraki, 2006)。これは数分から数十分の局所脳血流を測定する方法であり血流変化を明確に測定することが可能であるが、その反面体動などのノイズの除去が混在しやすい方法である。fNIRS は頭皮上から近赤外線光を照射するため、シグナルとノイズの比 (S/N, signal / noise ratio) が低いという課題が残されている。これは fNIRS だけでなく fMRI などの非侵襲的に脳活動を測定する脳機能イメージング装置には共通する問題点であると言える。fMRI ではこのノイズの問題に対して、神経活動による活動を正確に測定するために課題を数回から数十回繰り返して事象関連 (ER, Event - related) の血流応答を算出するという方法をとっている。fNIRS の実験デザインでも課題数や被験者数を増やすことで測定データの精度を向上させる試みがさ

れているが、BL デザインと ER デザインのどちらが良いのか未だ一定の見解は得られていない。そこで、我々は実験デザインと課題の表示方法を変えることでノイズを可能な限り低くすることを試みた。以上のことから研究課題 2-1 では CWST の測定データのノイズを抑えるために BL デザインと ER デザインの 2 つを比較することで stroop 干渉による hemodynamic response を正確に測定するデザインを決定することを目的とした。

今回の実験では Stroop 干渉による血流の増加は DLPFC を中心に起こることから、前頭前野の DLPFC を中心にプローブを配置した。解析の際には DLPFC に ROI (region of interesting) を絞って解析を行った。仮説としては連続的に課題を行う BL デザインにおいて rCBF 応答が大きくなるを考える。

2. 方法

2-1. 被験者

被験者は健常な一般成人で男性 7 名と女性 1 名 (22.8 ± 2.8 歳) とした。被験者は色覚異常や言語判断能力に異常がなく、かつて神経性の病気や精神的な病気を伴っていないことを確認した。また、被験者は右腕を利き腕とし母国語は日本語である者とした。実験はすべて筑波大学体育科倫理委員会規定に基づいて実施した。

2-2. 実験手順

本実験では BL デザインと ER デザインの 2 つのデザインを比較する。被験者は十分な練習をつんだ後、2 つの実験デザインのどちらかをランダムに行う。実験は 1 日に 2 回行うため、順序効果が無いように配慮した。

被験者は実験室に入室してから安静をとり本実験と同一のプロトコルで構成された

CWST を 3 分間練習した。その後、fNIRS のプローブを前頭前野に装着して本実験を行った。1 回目の実験が終わると直ちに fNIRS のプローブを外し 30 分の安静をとった。このとき心拍数が著しく向上する運動だけを禁止して実験室内を自由に動けるようにした。安静後は先ほどと同一の手順で 2 回目の実験を行わせた。

2-3. CWST

今回の実験では BL デザインと ER デザインの 2 つの実験デザインで比較した。CWST はパーソナルコンピュータで制御して、17 インチディスプレイに表示された課題をキーボードのボタンを押すことで回答をした。BL デザインと ER デザインともに課題の表示と同時に fNIRS にトリガーを出力して記録した。BL デザイン、ER デザインともに問題数は Neutral 30 問、Incongruent 30 問の合計 60 問とした。

BL デザインでは 1 つの Block に同一の課題だけ (Neutral または Incongruent) が 10 問連続で表示されるように設定して表示間隔を 0.35 秒にした。1 Block の回答時間は 21 秒で、neutral を 3 Block、incongruent を 3 Block の合計 6 Block 行った (Fig. 15)。ER デザインは実験課題 1 - 2 と同様の方法で行った (Fig. 16)。

2-3. fNIRS の装着

プローブの配置は実験課題 1 - 2 と同様の方法で DLPFC を覆うように装着した。また、チャンネルごとの測定領域を明確にするために、デジタイザーを用いてチャンネル座標を取得して被験者間で測定領域を統計的に処理した (Tsuzuki et al., 2007) (Fig. 17)。各チャンネルごとの測定位置は Table 2 に示した。

2-4. 統計解析

Stroop 干渉による hemodynamic response は DLPFC を中心に rCBF 応答が増加するこ

とから (Zysset et al., 2001), ROI を ch 12, 13, 16, 36, 37, 40 に絞って解析を行った。BL デザインでは, Neutral と Incongruent のブロックごとに事象関連の血流応答を加算平均して rCBF を算出した。各 Block 開始前 3 秒を Pre, 各 Block の終了後 3 秒を Post をとした。Pre から Post までは 3 秒ごとの平均値を算出して一元配置の分散分析のあと多重比較検定に Dunnett を用いた。ER デザインでは課題表示前の 2 秒間を Base, 課題表示後 4~11 秒を Peak としてその差を算出した。Hemodynamic response は研究課題 1 - 2 と同様の方法で算出した後, 1sample t - test で統計解析を行った。ER デザインの多重比較補正には FDR を用いた。BL デザイン, ER デザインともに neutral と incongruent の hemodynamic response の差から Stroop 干渉による血流応答を算出した (Fig. 16)。統計処理には SPSS for Windows (SPSS Inc., ver.11.0) を用いて, データはすべて平均値と標準偏差で示した。なお, 有意水準は 5%とした。

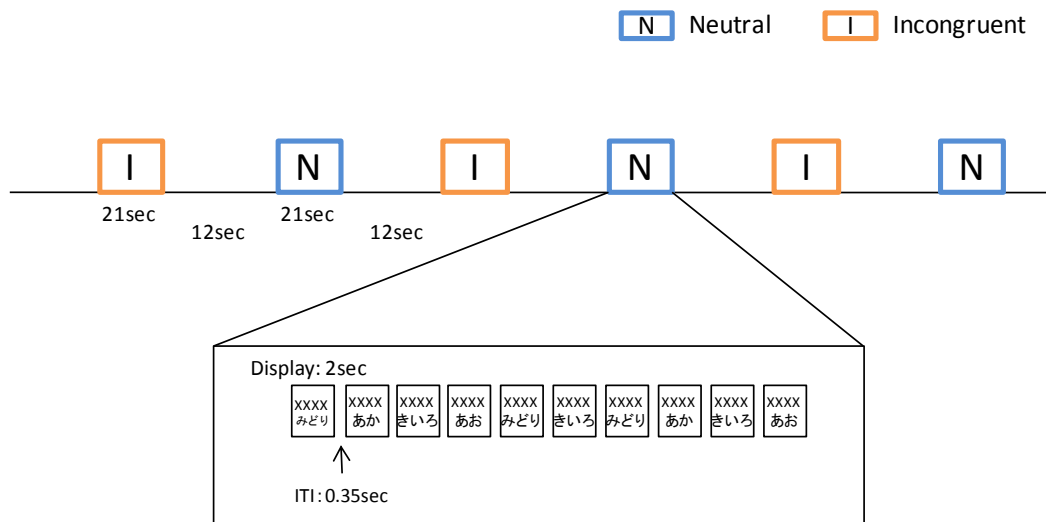


Fig. 15 Experimental design in Block design

Block design contain neutral block and incongruent block. All blocks configure 10 trial.

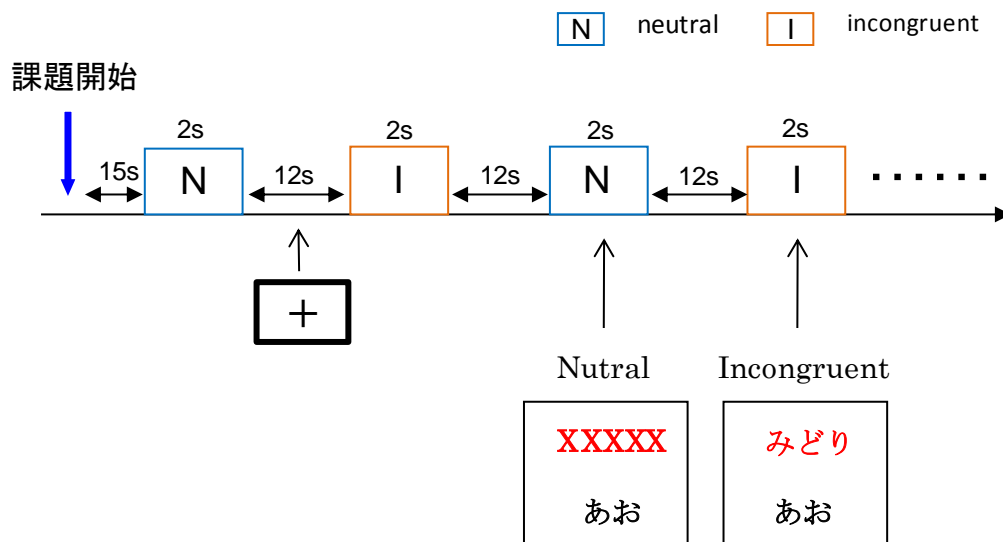
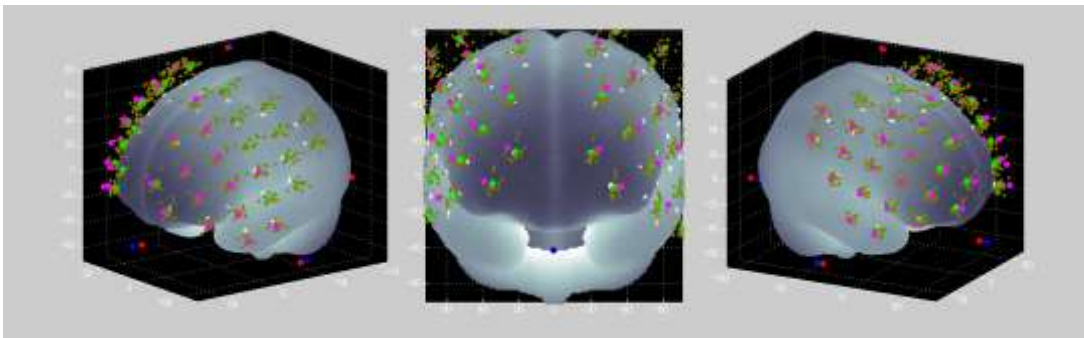
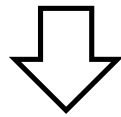
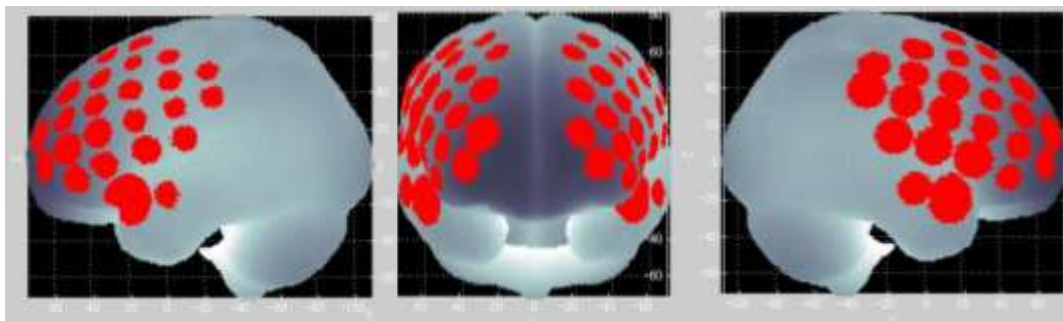
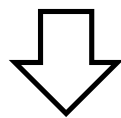


Fig. 16 Experimental design in event-related design

Event-related design contained 30 neutrals trial and 30 incongruent trials.
All trial appeared in random order.



(Sample of digitizing data: N=1)



(Measurement place analysed statistically: N=8)

Fig. 17 fNIRS optode positions using a 3D-digitizer

We measure place of physical measurements for optode positioning each subjects.

Table 3. Estimated fNIRS channel locations

Probe holder 1 Left side					Probe holder 2 Right side				
CH	MNI coordinates			Macroanatomy	CH	MNI coordinates			Macroanatomy
	x	y	z			x	y	z	
1	-	-	-	-	25	-	-	-	-
2	-41.9	53.3	-13.4	Inferior Frontal G., Orbital P.	26	44.1	54	-13.7	Middle Frontal G., Orbital P.
3	-23.2	66.9	-8	Superior Frontal G. Orbital P.	27	25.7	66.9	-8.2	Superior Frontal G., Orbital P.
4	-	-	-	-	28	-	-	-	-
5	-	-	-	-	29	-	-	-	-
6	-38.7	60.2	-2.4	Middle Frontal G., Orbital P.	30	41.2	60.5	-1.9	Middle Frontal G., Orbital P.
7	-16.1	70.2	4.2	Superior Frontal G.	31	18.8	70.4	5.2	Superior Frontal G.
8	-	-	-	-	32	-	-	-	-
9	-49.8	45	4	Inferior Frontal G. Trigeminal P.	33	51.5	44.8	4.4	Inferior Frontal G. Trigeminal P.
10	-32	62.4	13	Middle Frontal G.	34	34.2	62.7	13.4	Superior Frontal G.
11	-	-	-	-	35	-	-	-	-
12	-56.4	27.7	13.4	Inferior Frontal G., Trigeminal P.	36	59.1	27.3	14	Inferior Frontal G. Trigeminal P.
13	-42.4	49.4	21.7	Middle Frontal G.	37	44.8	49.2	21.9	Middle Frontal G., Orbital P.
14	-19.6	61.3	28.8	Superior Frontal G.	38	21.9	60.5	28.3	Superior Frontal G.
15	-62.3	6.1	22.2	Postcentral G.	39	64.7	6	22.2	Precentral G.
16	-50.5	30.5	30.7	Inferior Frontal G. Trigeminal P.	40	52.7	30.2	30.7	Inferior Frontal G. Trigeminal P.
17	-31.3	46.6	37.7	Middle Frontal G.	41	33.3	46.6	37.7	Middle Frontal G.
18	-	-	-	-	42	-	-	-	-
19	-54.6	11.3	38.4	Precentral G.	43	56.7	10.7	37.8	Precentral G.
20	-38.1	30.9	45.8	Middle Frontal G.	44	40.5	31.6	46	Middle Frontal G.
21	-	-	-	-	45	-	-	-	-
22	-58.7	-8.6	45.1	Postcentral G.	46	60.7	-8.2	44.8	Postcentral G.
23	-42.9	14.3	54.1	Middle Frontal G.	47	44.3	15	53	Middle Frontal G.
24	-	-	-	-	48	-	-	-	-

Their most likely estimated MNI coordinates, most likely Brodmann area estimations, and most likely macroanatomical labels are listed.

Table 4. Reaction time

	Neutral		Incongruent		statistic
	RT	± S.D.	RT	± S.D.	
Block design	779.03	± 113.81	956.10	± 167.52	**
Event-Related design	723.71	± 116.88	919.68	± 161.75	**

Stroop task performance for Block design and event-related design experiments.

3. 結果

3-1. CWST の RT

反応時間は BL デザインと ER デザインで差が無かった (Table 4). またエラー数も差は見られなかった.

3-2. CWST の rCBF

BL デザインの hemodynamic response は Neutral, Incongruent とともに pre から増加が有意になることはなかった. Neutral では, 21 秒の間に ch 12, 37 が山なりの hemodynamic response を示したがそれ以外のチャンネルではほとんど変化が見られなかった (Fig. 18). Incongruent でも山なりの hemodynamic response を示すチャンネルは確認できなかった (Fig. 19). また, Stroop 干渉の際の hemodynamic response として Incongruent - Neutral でも Block の開始から終了までほとんど変化が見られなかった. Incongruent - neutral では ch 36, 37, 40 では Block の後半で Incongruent よりも Neutral の血流が高かったため差分をとったところ減少する結果となった (Fig. 20, Table 5, 6).

一方, ER デザインでは Neutral, Incongruent とともにほぼすべてのチャンネルでプラスの hemodynamic response が確認された (Fig. 21, 22). Stroop 干渉による hemodynamic response である Incongruent - Neutral でも血流の増加が確認できた (Fig. 23). これらを Dunnett の多重比較を用いて課題表示前の 2 秒からの変化を検定したところ, Neutral, Incongruent とともに有意な増加があることが確認された (Table 7, 8). また Incongruent - Neutral でも時間的な違いはあったが, すべてのチャンネルで有意な増加を示す結果となった.

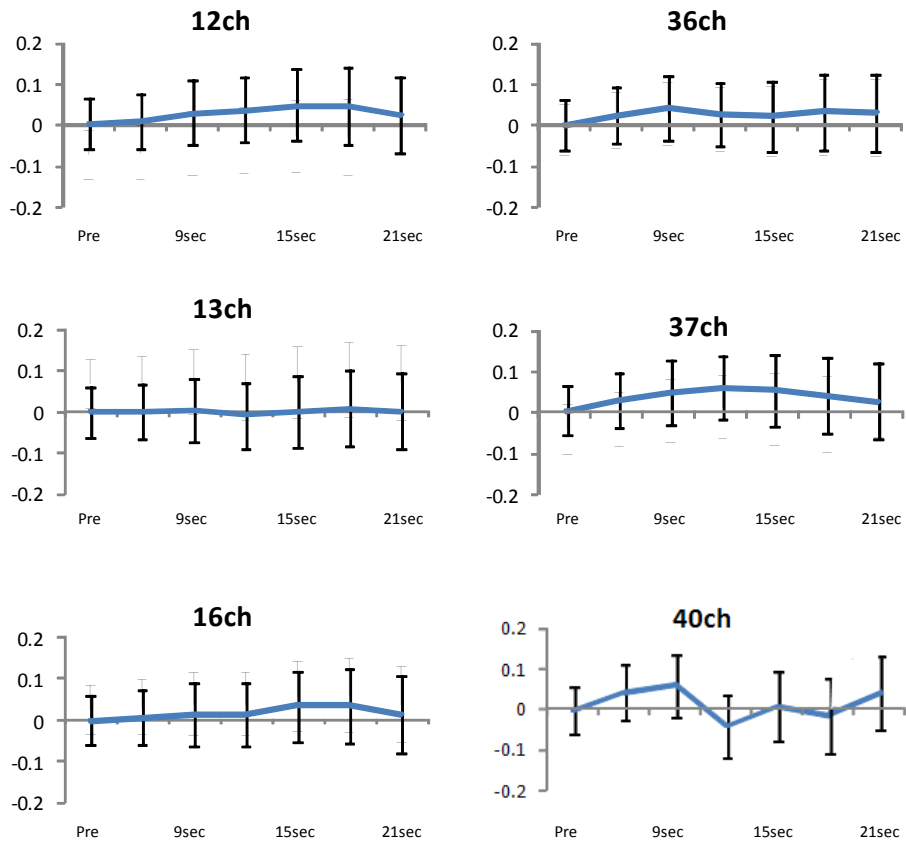


Fig. 18 Hemodynamic response during Neutral task

$\Delta oxy-Hb$ change during neutral task. Channel numbers indicated correspond to Table 3. All data are shown mean \pm S.D.

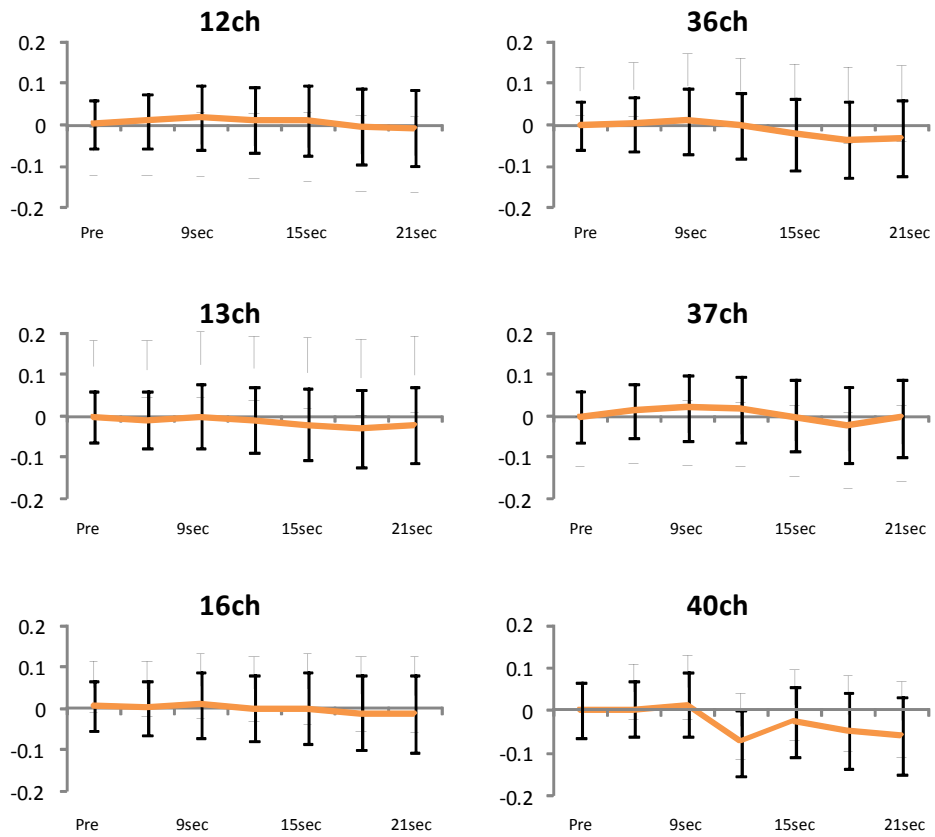


Fig. 19 Hemodynamic response during incongruent task

$\Delta\text{oxy-Hb}$ change during incongruent task. Channel numbers indicated correspond to Table 3. All data are shown mean \pm S.D.

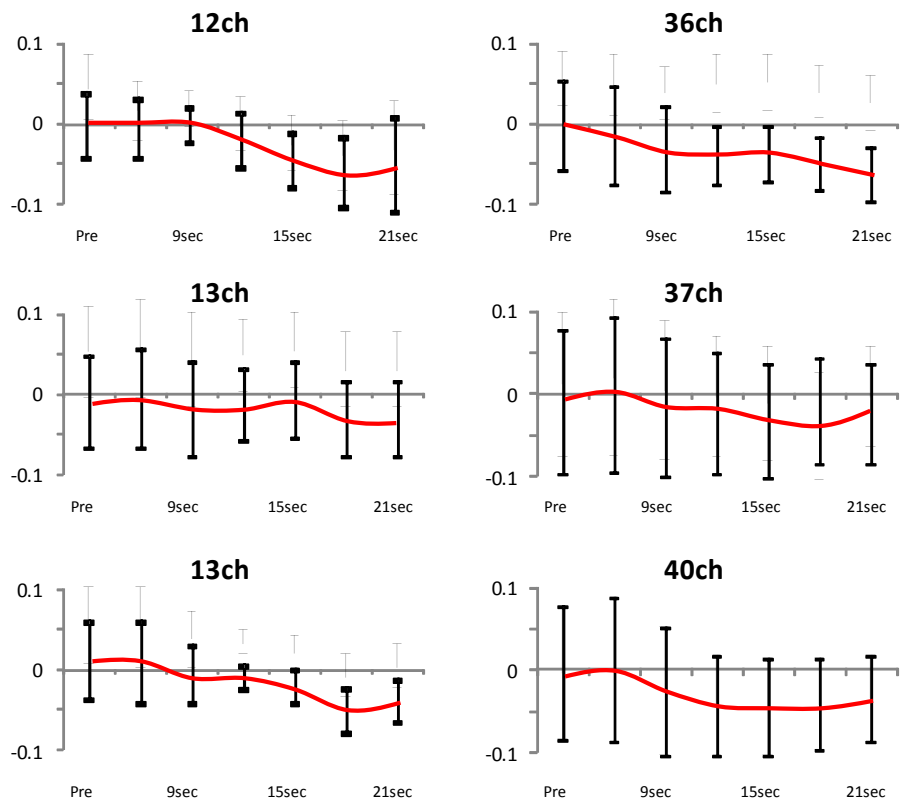


Fig. 20 Hemodynamic change compared Incongruent to Neutral

Δ oxy -Hb change in Stroop interference (incongruent - neutral). Channel numbers indicated correspond to Table 3. All data are shown mean \pm S.D. All data are shown mean \pm S.D.

Table 5. Hemodynamic response in block design (Neutral and Incongruent)

	Pre		4sec		8sec		12sec		16sec		20sec		Post		
	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD	
Neutral															
Left-probe															
12ch	-0.07 ± 0.06	0.07 ± 0.07	-0.07 ± 0.07	0.07 ± 0.08	-0.04 ± 0.08	0.08 ± 0.08	-0.04 ± 0.08	0.08 ± 0.08	-0.03 ± 0.09	0.09 ± 0.09	-0.03 ± 0.09	0.09 ± 0.09	-0.05 ± 0.09	0.09 ± 0.09	N·S
13ch	0.07 ± 0.06	0.07 ± 0.07	0.07 ± 0.07	0.08 ± 0.08	0.06 ± 0.09	0.09 ± 0.09	0.06 ± 0.09	0.09 ± 0.10	0.07 ± 0.10	0.10 ± 0.10	0.08 ± 0.09	0.09 ± 0.09	0.07 ± 0.10	0.10 ± 0.10	N·S
16ch	0.02 ± 0.04	0.03 ± 0.05	0.03 ± 0.05	0.06 ± 0.06	0.04 ± 0.07	0.06 ± 0.07	0.04 ± 0.07	0.07 ± 0.07	0.06 ± 0.07	0.07 ± 0.07	0.06 ± 0.07	0.07 ± 0.07	0.04 ± 0.07	0.07 ± 0.07	N·S
Right-probe															
36ch	-0.01 ± 0.08	0.01 ± 0.08	0.01 ± 0.08	0.07 ± 0.07	0.01 ± 0.07	0.07 ± 0.07	0.01 ± 0.07	0.07 ± 0.07	0.01 ± 0.07	0.07 ± 0.07	0.02 ± 0.07	0.07 ± 0.07	0.02 ± 0.08	0.08 ± 0.08	N·S
37ch	-0.20 ± 0.17	-0.17 ± 0.17	-0.17 ± 0.17	0.16 ± 0.16	-0.15 ± 0.16	0.16 ± 0.16	-0.15 ± 0.16	0.16 ± 0.16	-0.15 ± 0.16	0.16 ± 0.16	-0.16 ± 0.16	0.16 ± 0.16	-0.18 ± 0.16	0.16 ± 0.16	N·S
40ch	-0.19 ± 0.12	-0.15 ± 0.11	-0.15 ± 0.11	0.11 ± 0.11	-0.23 ± 0.12	0.12 ± 0.12	-0.23 ± 0.12	0.11 ± 0.11	-0.18 ± 0.11	0.11 ± 0.11	-0.21 ± 0.12	0.12 ± 0.12	0.11 ± 0.12	0.02 ± 0.02	N·S
Incongruent															
Left-probe															
12ch	-0.06 ± 0.06	0.06 ± 0.06	-0.06 ± 0.06	0.06 ± 0.06	-0.05 ± 0.06	0.06 ± 0.06	-0.05 ± 0.06	0.06 ± 0.06	-0.05 ± 0.06	0.06 ± 0.06	-0.07 ± 0.07	0.07 ± 0.07	-0.07 ± 0.07	0.07 ± 0.07	N·S
13ch	0.12 ± 0.08	0.12 ± 0.08	0.12 ± 0.08	0.08 ± 0.08	0.12 ± 0.09	0.09 ± 0.09	0.12 ± 0.09	0.09 ± 0.09	0.10 ± 0.09	0.09 ± 0.09	0.09 ± 0.10	0.10 ± 0.10	0.10 ± 0.10	0.09 ± 0.09	N·S
16ch	0.05 ± 0.06	0.05 ± 0.06	0.05 ± 0.06	0.06 ± 0.06	0.04 ± 0.06	0.06 ± 0.06	0.04 ± 0.06	0.06 ± 0.06	0.04 ± 0.07	0.07 ± 0.07	0.03 ± 0.06	0.06 ± 0.06	0.03 ± 0.06	0.06 ± 0.06	N·S
Right-probe															
36ch	0.08 ± 0.05	0.09 ± 0.06	0.09 ± 0.06	0.06 ± 0.06	0.08 ± 0.06	0.06 ± 0.06	0.08 ± 0.06	0.06 ± 0.06	0.06 ± 0.06	0.06 ± 0.06	0.05 ± 0.07	0.07 ± 0.07	0.05 ± 0.06	0.06 ± 0.06	N·S
37ch	-0.06 ± 0.09	-0.05 ± 0.09	-0.05 ± 0.09	0.10 ± 0.10	-0.04 ± 0.10	0.10 ± 0.10	-0.04 ± 0.10	0.10 ± 0.10	-0.06 ± 0.11	0.11 ± 0.11	-0.08 ± 0.11	0.11 ± 0.11	-0.06 ± 0.10	0.10 ± 0.10	N·S
40ch	-0.06 ± 0.08	-0.06 ± 0.09	-0.06 ± 0.09	0.08 ± 0.08	-0.14 ± 0.10	0.10 ± 0.10	-0.14 ± 0.10	0.10 ± 0.10	-0.09 ± 0.09	0.09 ± 0.09	-0.11 ± 0.10	0.10 ± 0.10	-0.13 ± 0.06	0.06 ± 0.06	N·S

We focused our region of interest (ROI) on the LPFC. Individual timeline data for the Δ oxy-Hb of each channel were preprocessed with a bandpass filter using cut-off frequencies of 0.04 Hz to remove baseline drift and 0.7 Hz to filter out heartbeat pulsations. From the preprocessed time series data, we obtained channel-wise and subject-wise contrast by calculating the inter-trial mean of differences between the Δ oxy-Hb of every 3 sec and pre period. All data are shown mean \pm S.D. (N·S: no significant)

Table 6. Hemodynamic response in block design (Stroop interference effect)

	Pre		4sec		8sec		12sec		16sec		20sec		Post		
	Ave	± SD	Ave	± SD	Ave	± SD	Ave	± SD	Ave	± SD	Ave	± SD	Ave	± SD	
Incongruent – Neutral															
Left-probe															
12ch	0.01	± 0.02	0.01	± 0.01	0.00	± 0.02	-0.01	± 0.02	-0.03	± 0.03	-0.04	± 0.03	-0.02	± 0.04	N·S
13ch	0.06	± 0.05	0.05	± 0.06	0.05	± 0.04	0.06	± 0.05	0.03	± 0.05	0.02	± 0.05	0.03	± 0.05	N·S
16ch	0.03	± 0.03	0.02	± 0.02	0.01	± 0.01	0.01	± 0.01	-0.01	± 0.02	-0.02	± 0.01	0.00	± 0.02	N·S
Right-probe															
36ch	0.09	± 0.07	0.08	± 0.07	0.07	± 0.04	0.07	± 0.04	0.05	± 0.04	0.03	± 0.04	0.04	± 0.04	N·S
37ch	0.14	± 0.13	0.13	± 0.13	0.12	± 0.11	0.10	± 0.10	0.09	± 0.10	0.08	± 0.10	0.11	± 0.09	N·S
40ch	0.13	± 0.12	0.11	± 0.11	0.09	± 0.09	0.08	± 0.08	0.09	± 0.08	0.08	± 0.08	0.10	± 0.08	N·S

From the preprocessed time series data, we obtained channel-wise and subject-wise contrast by calculating the inter-trial mean of differences between the Δ oxy-Hb of event (4-11 s after trial onset) and baseline (the first 2 s after trial onset) periods. The contrasts obtained were subjected to second level, random effects group analysis, in which we performed one-sample t-tests with a false discovery rate (FDR) control (Singh and Dan, 2006). All data are shown mean \pm S.D. (N·S: no significant)

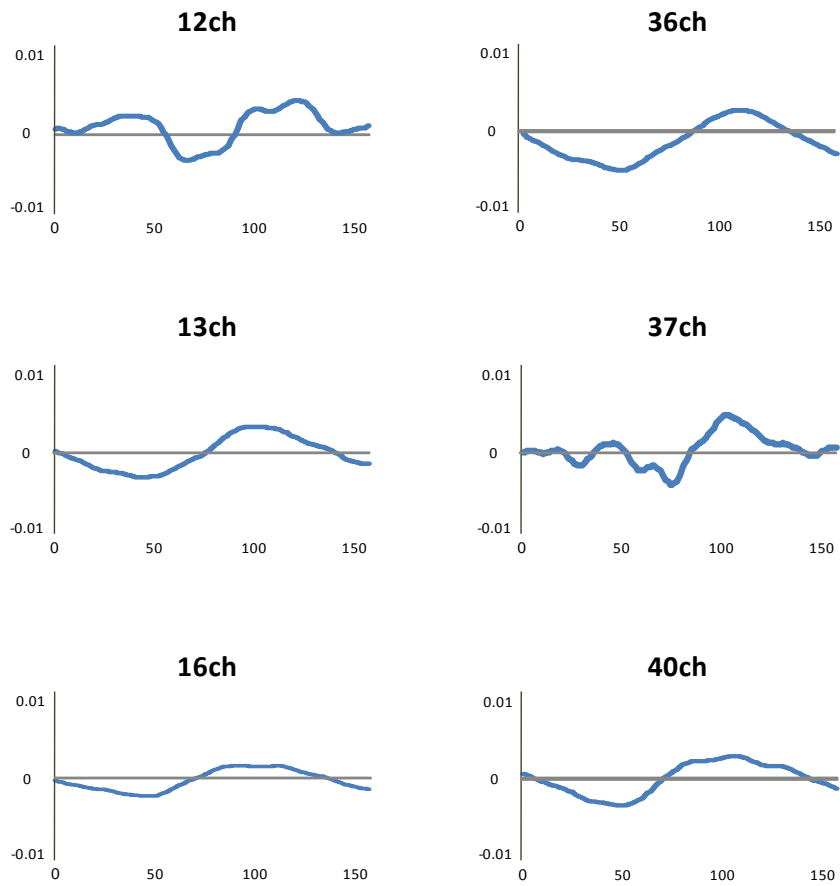


Fig. 21 Hemodynamic response during Neutral

The graph on the right column shows the grand average of $\Delta\text{oxy-Hb}$ (Incongruent - Neutral) time courses from a representative channel. $\Delta\text{oxy-Hb}$ signal change is shown in arbitrary units ($\text{mM} \cdot \text{mm}$).

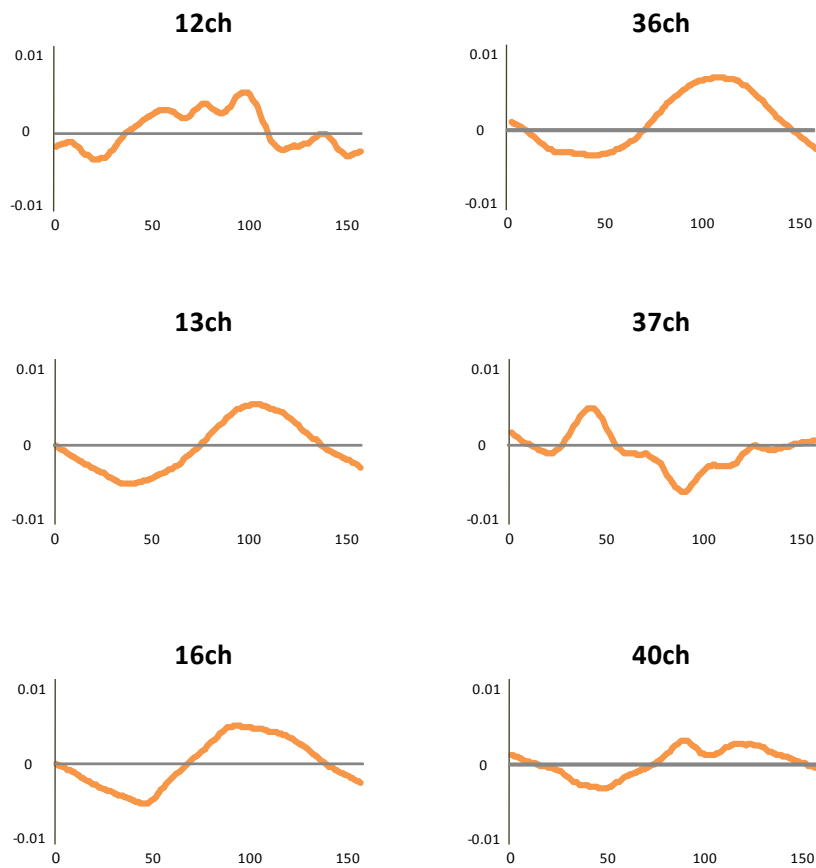


Fig. 22 Hemodynamic response during Incongruent

The graph on the right column shows the grand average of $\Delta\text{oxy-Hb}$ (Incongruent - Neutral) time courses from a representative channel. $\Delta\text{oxy-Hb}$ signal change is shown in arbitrary units ($\text{mM} \cdot \text{mm}$).

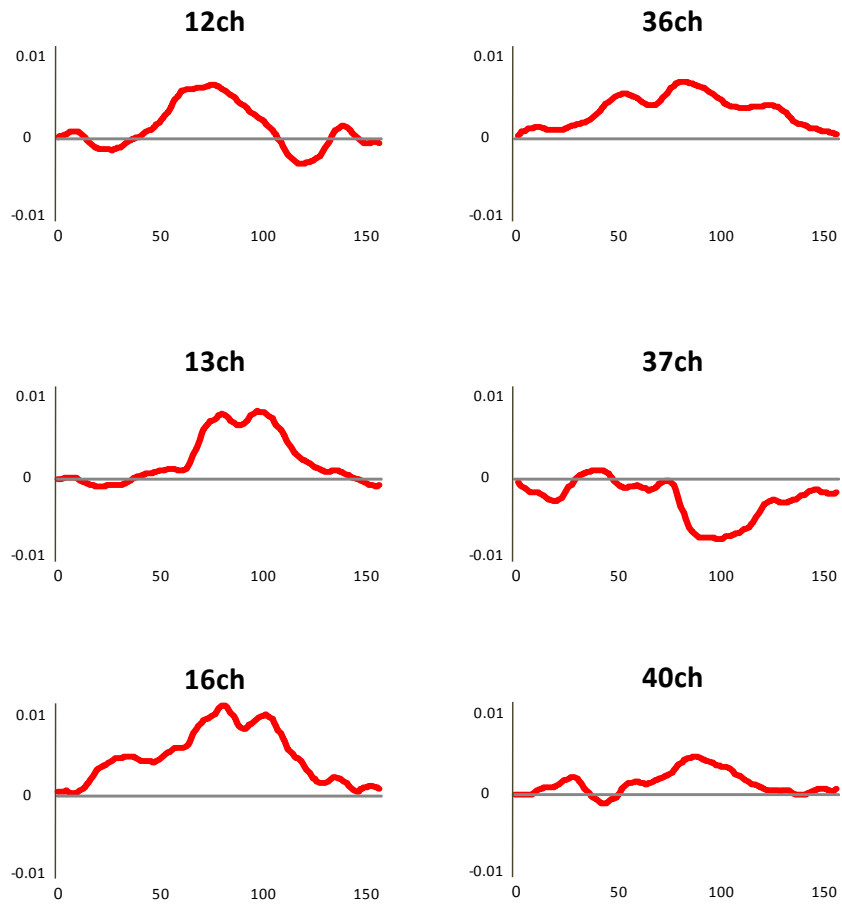


Fig. 23 Hemodynamic change compared incongruent to Neutral)

The graph on the right column shows the grand average of $\Delta\text{oxy-Hb}$ (Incongruent - Neutral) time courses from a representative channel. $\Delta\text{oxy-Hb}$ signal change is shown in arbitrary units ($\text{mM} \cdot \text{mm}$).

Table 7. Summary results of spatial and functional analysis in event-related design (Neutral and Incongruent)

	Pre		4sec		8sec		12sec		16sec		20sec		Post		
	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD	
Neutral															
Left-probe															
12ch	0.0013	± 0.0003	**	0.0017	± 0.0003	**	0.0042	± 0.0003	**	0.0061	± 0.0003	**	0.0044	± 0.0003	**
13ch	-0.0036	± 0.0004	**	-0.0026	± 0.0004	**	0.0004	± 0.0004	**	0.0080	± 0.0004	**	0.0093	± 0.0004	**
16ch	-0.0038	± 0.0004	**	-0.0034	± 0.0004	**	0.0017	± 0.0004	**	0.0078	± 0.0004	**	0.0071	± 0.0004	**
Right-probe															
36ch	-0.0027	± 0.0003	**	-0.0032	± 0.0003	**	-0.0005	± 0.0003	**	0.0050	± 0.0003	**	0.0065	± 0.0003	**
37ch	0.0006	± 0.0004	**	0.0082	± 0.0004	**	0.0100	± 0.0004	**	0.0040	± 0.0004	**	0.0039	± 0.0004	**
40ch	-0.0055	± 0.0004	**	-0.0046	± 0.0004	**	0.0029	± 0.0004	**	0.0042	± 0.0004	**	0.0048	± 0.0004	**
Incongruent															
Left-probe															
12ch	0.0008	± 0.0003	**	0.0039	± 0.0003	**	0.0048	± 0.0003	**	0.0053	± 0.0003	**	0.0014	± 0.0003	**
13ch	-0.0038	± 0.0005	**	-0.0027	± 0.0005	**	0.0025	± 0.0005	**	0.0099	± 0.0005	**	0.0104	± 0.0005	**
16ch	-0.0030	± 0.0004	**	-0.0033	± 0.0004	**	0.0030	± 0.0004	**	0.0075	± 0.0004	**	0.0074	± 0.0004	**
Right-probe															
36ch	-0.0028	± 0.0004	**	-0.0023	± 0.0004	**	0.0026	± 0.0004	**	0.0085	± 0.0004	**	0.0092	± 0.0004	**
37ch	0.0015	± 0.0005	**	0.0045	± 0.0005	**	0.0021	± 0.0005	**	0.0001	± 0.0005	**	-0.0011	± 0.0005	**
40ch	-0.0025	± 0.0004	**	-0.0050	± 0.0004	**	-0.0012	± 0.0004	**	0.0032	± 0.0004	**	0.0025	± 0.0004	**

Under Pre and Post columns, Δ oxy-Hb values from (incongruent-congruent) contrast are shown. Under Pre -Post columns, values from (post (incongruent-neutral))-pre (incongruent-neutral)) contrast are shown. Channel numbers in the first column correspond to Fig. 4A. Contrasts that were above the significance level are shown with asterisks (* $p < \text{FDR } 0.05$, ** $p < \text{FDR } 0.01$, two-tailed.). All data are shown as mean \pm S.D. in units of $\text{mmol} \cdot \text{mm}$. CH, channel number; BA, Broadmann area; Ex experiment, exercise experiment; CTL experiment, control experiment.

Table 8. Summary results of spatial and functional analysis in event-related design (Incongruent - Neutral)

	Pre		4sec		8sec		12sec	
	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD
Incongruent - Neutral								
Left-probe								
12ch	0.000 ± 0.000		0.002 ± 0.000 **		0.001 ± 0.000		-0.001 ± 0.000 **	
13ch	0.000 ± 0.000		0.000 ± 0.000		0.002 ± 0.000 **		0.002 ± 0.000 **	
16ch	0.001 ± 0.000 **		0.000 ± 0.000		0.001 ± 0.000 **		0.000 ± 0.000	
Right-probe								
36ch	0.000 ± 0.000		0.001 ± 0.000 **		0.003 ± 0.000 **		0.003 ± 0.000 **	
37ch	0.001 ± 0.001		-0.004 ± 0.001 **		-0.008 ± 0.001 **		-0.004 ± 0.001 **	
40ch	0.003 ± 0.000 **		0.000 ± 0.000		-0.004 ± 0.000 **		-0.001 ± 0.000 **	
Incongruent - Neutral								
Left-probe								
12ch	-0.003 ± 0.000 **		0.000 ± 0.000 **		0.001 ± 0.000 **		0.000 ± 0.000	
13ch	0.001 ± 0.000 **		0.000 ± 0.000 **		0.000 ± 0.000		0.000 ± 0.000	
16ch	0.000 ± 0.000		0.000 ± 0.000		0.001 ± 0.000 **		0.000 ± 0.000	
Right-probe								
36ch	0.003 ± 0.000 **		0.000 ± 0.000 **		0.002 ± 0.000 **		0.000 ± 0.000	
37ch	-0.005 ± 0.001 **		0.001 ± 0.001 **		-0.003 ± 0.001 **		0.001 ± 0.001	
40ch	-0.002 ± 0.000 **		0.000 ± 0.000 **		-0.001 ± 0.000 **		0.000 ± 0.000	

Under Pre and Post columns, Δ oxy-Hb values from (incongruent-congruent) contrast are shown. Under Pre -Post columns, values from (post (incongruent-neutral)-pre (incongruent-neutral)) contrast are shown. Channel numbers in the first column correspond to Fig. 4A. Contrasts that were above the significance level are shown with asterisks (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, two-tailed). All data are shown as mean \pm S.D. in units of mmol \cdot mm. CH, channel number; BA, Broadmann area; Ex experiment, exercise experiment; CTL experiment, control experiment.

4. 考察

今回の実験では、CWSTによる hemodynamic response をより正確に測定するために BL デザインと ER デザインの比較を行った。仮説では課題を連続で表示する BL デザインの方が ITI (inter - trial interval) が 0.35 秒と極めて短いため hemodynamic response が大きくなり、ER デザインは ITI が 12 s あるため hemodynamic response は小さくなると思った。しかし、結果として BL デザインでは血流が増加したものの分散が大きく統計的な有意差は確認されなかった。一方、ER デザインでは振幅は小さいものの有意な hemodynamic response が確認された。

今回の実験では BL デザインと ER デザインの問題数を一定にして課題環境を統一したのにも関わらず BL デザインでは CWST による hemodynamic response が統計的に変化が確認されなかった。この点に関して BL デザインでは被験者間のばらつきが大きかったことが理由として考えられる。実験中に体動によるノイズは無かったことから、分散が大きくなった理由として眠さによる血流低下や痛みによる血流変化が考えられる。一方 ER デザインは1問ごとの時間が短いため、Stroop 干渉による hemodynamic response が測定出来たと考えられる。例え ER デザインにおいて眠さや痛みで大きく血流が変動したとしても課題の表示ごとに Base となる区間 (2 秒) 設定をするためその影響は最小限に抑えることが出来る。

以上のことから、CWST による rCBF を正確に測定するには ER デザインを用いることが必要であることが明らかになった。しかし ER デザインでも hemodynamic response が安定しない被験者がいたことから、ノイズを抑える方法を確立するのが今後の検討課題であることが明確になった。

5. 要約

CWSTによるrCBFの変化をBLデザインとERデザインで比較して検証したところ、以下の知見を得た。

1. BL デザインでは被験者間のばらつきが大きくなるため、CWST による hemodynamic response を捉えることは困難である。
2. ER デザインではノイズを低く抑え、被験者間のばらつきを小さくするため CWST による hemodynamic response を正確に測定することが可能である。

これにより、CWST を行っているときの rCBF を測定するための最適なデザインを決定することが出来た。

第6章 Event - related デザインにおける異なる試行間隔が前頭前野局所脳応答の増大に關与するか？（研究課題 2 - 2）

1. 目的

CWST の遂行中、DLPFC を中心とする領域で神経活動が向上することが過去の fMRI や PET を用いた研究から明らかにされてきた (Peyrin *et al.*, 1987, Leung *et al.*, 2000, Carter *et al.*, 2000, Banich *et al.*, 2000, Milham *et al.*, 2001, Banich *et al.*, 2001, Norris *et al.*, 2002, Milham *et al.*, 2002, Milham *et al.*, 2003). 近年は fNIRS を用いた報告でも同様の結果が得られており、課題成績と比例して DLPFC の活動が高まることが確認されている (Schroeter *et al.*, 2002, 2003, 2004b, 2007). 研究課題 1, 2 では正確なデータを測定するためのプロトコルを作成し、実験課題 2 - 1 では Stroop 干渉による事象関連の rCBF 測定には ER デザインが適していることが明らかになった.

しかし研究課題 2 - 1 の結果から ER デザインであっても fNIRS の測定データに大きなノイズが混在してしまうことがあることが分かった. このようにノイズが大きい場合は Stroop 干渉による rCBF 増加が安静時と変化しないことになってしまう. ノイズを低く抑えることが出来れば連続する課題ごとに血流増加がみられるはずである. そこで測定データからノイズを除去するための方法を確立するために課題を表示する間隔 (ITI, inter trial interval) を最適化することが挙げられる.

本実験では CWST の異なる ITI による rCBF 応答を測定して、もっとも大きく増加する ITI を同定することを目的とする. 最適な ITI を同定することで最適な CWST の表示間隔を設定した実験プロトコルの作成が可能となる. 仮説としては異なる ITI でも短い方が rCBF 応答は大きくなると考えた.

2. 方法

2-1. 被験者

被験者は健常な一般成人で男性 6 名 (23.8 ± 3.2 歳) とした。被験者は色覚異常や言語判断能力に異常がなく、かつて神経性の病気や精神的な病気を伴っていないことを確認した。また、被験者は右腕を利き腕とし母国語は日本語である者とした。実験はすべて筑波大学体育科倫理委員会規定に基づいて行われた。

2-2. 実験手順

被験者は CWST を十分に練習した上で実験を行った。今回の実験では ITI を 6 秒, 9 秒, 12 秒の 3 つのパターンに分けて効果を比較した。1 日に 1 回 CWST を行い、合計 3 日にかけて実験を行い、順序効果が無いように実施する順番はランダムで行わせた。

被験者は実験室に入って安静をとった後、本実験と同一のプロトコルで CWST を 3 分間練習した。その後 fNIRS のプローブを装着して準備が出来次第 CWST をスタートした。実験はおよそ 10 分で終了することから、CWST の終了が実験の終了を意味する。

2-3. CWST

CWST の表示は実験課題 2 - 1 と同一の方法で被験者に表示した。今回設定した CWST のプロトコルは、ITI を 6 秒, 9 秒, 12 秒の 3 つとした。表示する問題数はすべて neutral 30 問, incongruent 30 問の計 60 問で、課題の難易度が“yes”と“no”で異なるという理由から congruent は表示しなかった (Schroeter et al., 2004b) (Fig. 24)。

2-4. fNIRS の装着

プローブ配置は実験課題 1 - 2 と同様の方法で DLPFC を覆うように配置した。また、チャンネルごとの測定領域を明確にするために、デジタイザーを用いてチャンネル座

標を取得して被験者間で測定領域を統計的に処理した (Tsuzuki et al., 2007). チャンネルごとの測定位置は実験課題 2 - 1 に示したものと同様である.

2-5. 統計解析

CWST による hemodynamic response は oxy-Hb と deoxy-Hb から算出される total - Hb を用いて解析を行った. 今回は CWST による hemodynamic response を測定するため, ROI は DLPFC の直上であるチャンネルのみを解析した. 左半球では ch12, 13, 16, 右半球では ch36, 37, 40 を解析対象のチャンネルとした. ER デザインの統計解析は課題表示前の 2 秒間を Base とし, 課題表示後の rCBF は Pre からの増加量を 1 変量の分散分析で解析した後, 多重比較で Dunnett を用いた. 統計処理には SPSS for Windows (SPSS Inc., ver.11.0)を用いて, データはすべて平均値と標準偏差で示した. なお, 有意水準は 5%とした.

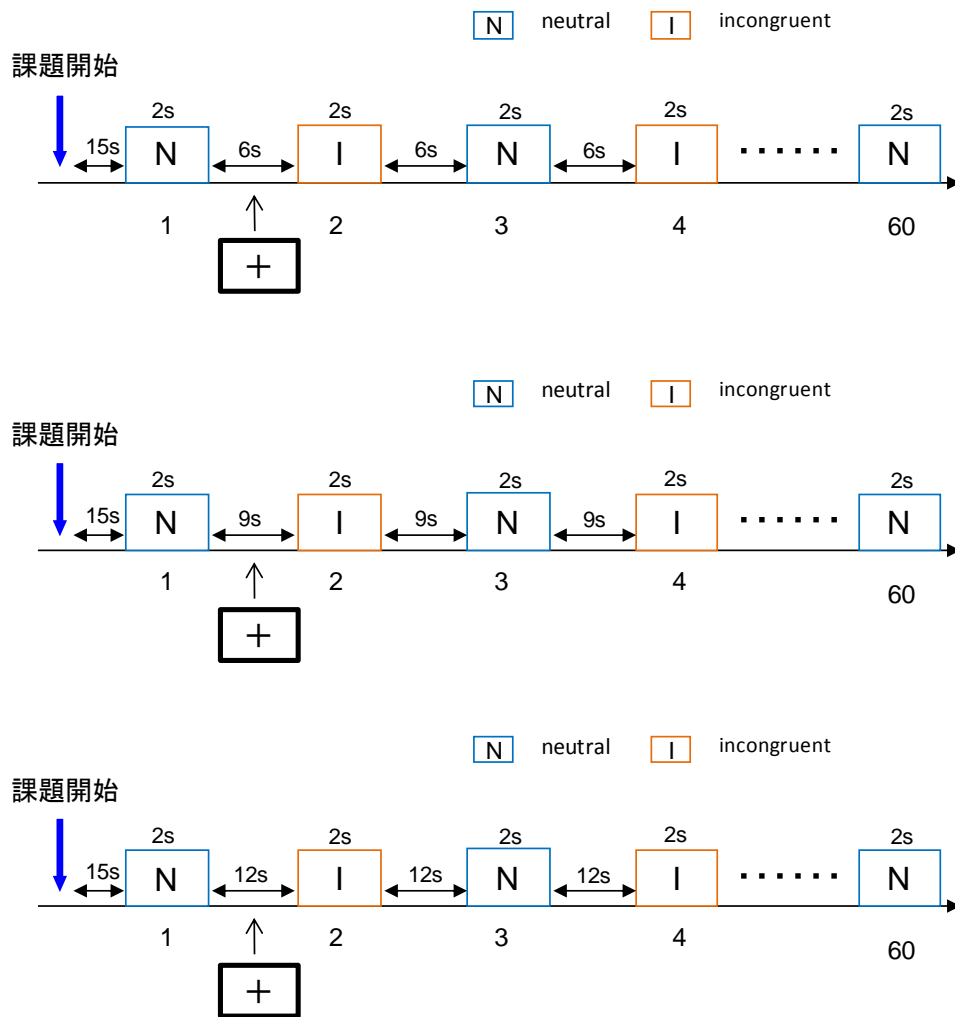


Fig. 24 Experiment protocol

Each experimental session consisted of 30 neutral and 30 incongruent trials presented in random order with an inter-stimulus interval showing a blank screen for 6s, 9s and 12 s.

3. 結果

3-1. CWST の RT

反応時間は neutral よりも incongruent の方が有意に遅いことが確認された。しかし、ITI 6 秒, 9 秒, 12 秒間では値に差はみられなかった (Table 9)。エラー数も差は見られなかった。

3-2. CWST の rCBF

本実験では、CWST の 1 問ごとの表示間隔を変化させることで hemodynamic response による rCBF がどのように変化するか検討した。ITI は 6 秒, 9 秒, 12 秒の 3 つのコンディションで rCBF 応答を測定した。ITI 6 秒のときの hemodynamic response は課題表示前 (pre) の 2 秒間と比較して大きく増加することは無かった (Fig. 25)。左半球では 16 チャンネルが CWST の表示によると考えられるプラスの増加を示したが統計的に有意では無かった。右半球でも課題による血流増加とみられる変化は無かった。

次に ITI 9 秒のときの hemodynamic response は pre と比較して、有意に増加したチャンネルはみられなかった。左半球の ch13, 右半球の ch36, 40 は課題の表示に伴う hemodynamic response は見られなかった (Table 10)。

ITI 12 秒のときの hemodynamic response は pre と比較して左半球の ch12 の 3 秒で増加が有意であることが確認された (pre vs. 6sec: 0.001 ± 0.001 vs. 0.005 ± 0.019 , $p < 0.005$)。課題表示後 1 秒あたりをピークに増加した後, 9 秒では有意に減少した (0.001 ± 0.001 vs. 0.001 ± 0.020 , $p < 0.05$)。同じ左半球の ch16 でも課題表示後 9 秒で増加が有意となった (-0.001 ± 0.002 vs. 0.006 ± 0.011 , $p < 0.05$)。5 秒から増加し始めた山なりの血流増加は 8 秒をピークにして pre のレベルに戻った。右半球では ch37 の課題表示後 3 秒 (0.001 ± 0.002 vs. 0.007 ± 0.014 , $p < 0.05$), 6 秒 (0.001 ± 0.002 vs. 0.012 ± 0.019 , $p < 0.05$) において増加が有意となった。これも左半球と同一のプラスの増加で 2 秒あたり

から徐々に増加し始めた血流は 5 秒あたりをピークとする増加となった。その後、9 秒では pre のレベルに戻った。ch40 では 4 秒から増加し始めた血流は課題表示後 6 秒で増加が有意となった (0.001 ± 0.001 vs. 0.006 ± 0.017 , $p < 0.05$)。

Table 9. Stroop task performances for Block design and Event-Related design experiments

	Neutral		Incongruent		
	RT ± SE		RT ± SE		
ITI 6sec	789.61	± 206.32	1081.7	± 259.18	**
ITI 9sec	818.27	± 251.04	1066.2	± 277.85	**
ITI 12sec	844.74	± 207.01	1088.9	± 233.83	*

Stroop task performance for 6s, 9s and 12s. All data are shown mean ± S.D.
 Asterisks (* p < 0.05, two-tailed.).

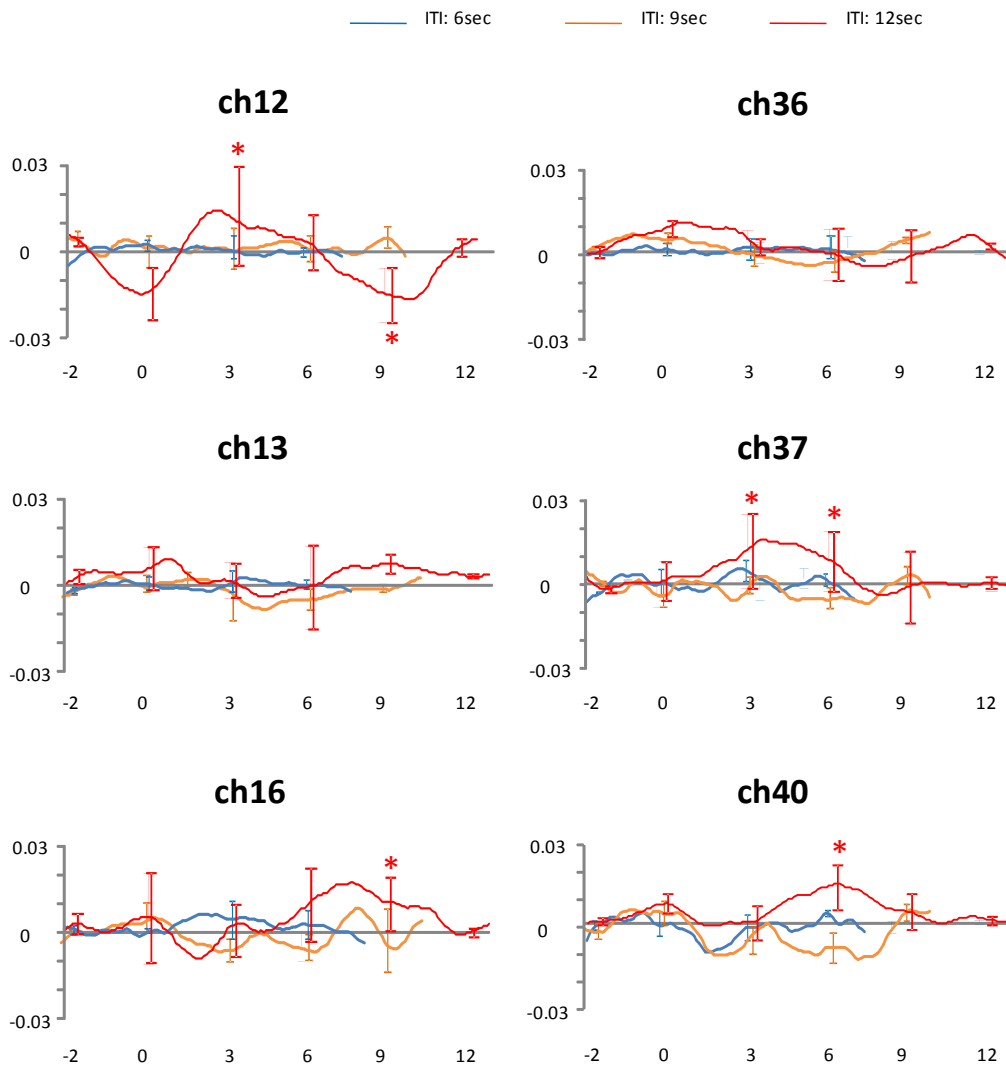


Fig. 25 Hemodynamic response during color-word Stroop task

Illustrate an example of one channel timeline data for oxy-Hb during the Stroop task. We observed increases in the oxy-Hb signal during the Stroop task compared to the baseline in almost all CHs. Asterisks (* $p < 0.05$, two-tailed.).

Table 10. Summary results of spatial and functional analysis (Incongruent - Neutral)

	Pre		3sec		6sec		9sec		12sec	
	Ave	± SD	Ave	± SD	Ave	± SD	Ave	± SD	Ave	± SD
ITI 6sec										
ch12	0.0002	± 0.0001	0.0022	± 0.0032	0.0009	± 0.0047	-0.0003	± 0.0005		
ch13	0.0001	± 0.0005	0.0008	± 0.0047	-0.0002	± 0.0065	0.0009	± 0.0032		
ch16	-0.0001	± 0.0005	-0.0006	± 0.0042	0.0037	± 0.0098	0.0015	± 0.0048		
ch36	0.0001	± 0.0005	0.0009	± 0.0045	0.0003	± 0.0072	0.0009	± 0.0034		
ch37	0.0031	± 0.0044	-0.0225	± 0.0359	0.0033	± 0.0055	-0.0230	± 0.0363		
ch40	-0.0023	± 0.0040	-0.0246	± 0.0379	-0.0196	± 0.0232	0.0074	± 0.0125		
ITI 9sec										
ch12	0.0001	± 0.0005	0.0008	± 0.0075	-0.0015	± 0.0107	0.0003	± 0.0093	-0.0004	± 0.0025
ch13	0.0004	± 0.0003	0.0006	± 0.0038	-0.0001	± 0.0048	-0.0080	± 0.0067	-0.0020	± 0.0024
ch16	0.0001	± 0.0002	0.0029	± 0.0079	-0.0029	± 0.0075	-0.0051	± 0.0085	0.0008	± 0.0071
ch36	0.0003	± 0.0001	0.0005	± 0.0024	-0.0027	± 0.0047	-0.0089	± 0.0061	-0.0039	± 0.0017
ch37	0.0000	± 0.0001	-0.0037	± 0.0071	-0.0019	± 0.0051	-0.0031	± 0.0032	-0.0031	± 0.0026
ch40	0.0008	± 0.0013	0.0043	± 0.0090	-0.0068	± 0.0059	-0.0081	± 0.0036	-0.0075	± 0.0081
ITI 12sec										
ch12	0.0000	± 0.0003	-0.0097	± 0.0239	0.0051	± 0.0192 *	0.0113	± 0.0329	0.0010	± 0.0195 *
ch13	0.0000	± 0.0001	0.0053	± 0.0189	0.0023	± 0.0192	-0.0063	± 0.0253	0.0023	± 0.0168
ch16	-0.0001	± 0.0002	0.0084	± 0.0297	-0.0020	± 0.0229	-0.0037	± 0.0161	0.0064	± 0.0105 *
ch36	0.0000	± 0.0000	0.0065	± 0.0047	0.0076	± 0.0067	-0.0003	± 0.0156	-0.0033	± 0.0309
ch37	0.0001	± 0.0002	0.0058	± 0.0126	0.0072	± 0.0138 *	0.0120	± 0.0192 *	0.0023	± 0.0277
ch40	0.0000	± 0.0001	0.0061	± 0.0069	0.0003	± 0.0132	0.0064	± 0.0167 *	0.0095	± 0.0178
									0.0018	± 0.0083

Under Pre and Post columns, Δ oxy-Hb values from (incongruent-congruent) contrast are shown. Under Pre -Post columns, values from (post (incongruent-neutral)-pre (incongruent-neutral)) contrast are shown. Channel numbers in the first column correspond to Fig. 4A. Contrasts that were above the significance level are shown with asterisks (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, two-tailed.). All data are shown as mean \pm S.D. in units of mmol \cdot mm. CH, channel number; BA, Broadmann area; Ex experiment, exercise experiment; CTL experiment, control experiment.

4. 考察

本実験では CWST の異なる ITI による rCBF 応答を測定して、もっとも大きく増加する ITI を同定することを目的として実験を行った。最適な ITI を同定するために ITI は 6 秒, 9 秒, 12 秒の 3 パターンを設定した。当初は異なる ITI の中でも短い方が血流の増加が大きいという仮説をたてたが、結果として ITI 12 秒のときに CWST による hemodynamic response 最も大きくなる結果となった。

ITI 6 秒では CWST の回答による hemodynamic response は無かった。解析対象とした DLPFC を覆うチャンネルは fMRI や PET、fNIRS を用いた報告から Stroop 干渉で血流が増加することが明らかにされている (Carter *et al.*, 1995, Leung *et al.*, 2000, Carter *et al.*, 2000, Banich *et al.*, 2000, Milham *et al.*, 2001, Banich *et al.*, 2001, Milham *et al.*, 2002, Mead *et al.*, 2002, Milham *et al.*, 2003, Schroeter *et al.*, 2004a, Derrfuss *et al.*, 2005)。そのため今回の実験でも DLPFC に位置する領域で hemodynamic response が起こらないはずはないが、ITI 6 秒では何の変化も確認できなかった。この理由として今回の解析に用いた加算平均に原因があるのかもしれない。解析では neutral30 問と Incongruent30 問を課題ごとに 1 問の課題表示を行い、その血流反応を加算平均した。つまり課題表示前の 2 秒を Base として課題表示後の血流増加を測定した。rCBF は脳波とは異なり活動による変化がピークに達するまで 6 秒~8 秒ほどかかる (Schroeter *et al.*, 2002)。そのため、ITI 6 秒に設定すると、CWST による血流がピークになるときは次の課題が表示されてしまう。今回は neutral と incongruent の 2 種類をランダムで表示したので、前課題による血流増加が次の課題にかぶってしまうと次課題の Base 血流が高くなる可能性がある。次課題ではその場合上乗せされるので高くなった Base に対して Stroop 干渉による hemodynamic response が結果的に血流増加がマスクされても不思議ではない。

ITI 9 秒の hemodynamic response は pre と比較して増加が有意となるチャンネルは無かった。しかし左半球の ch13, 16, 右半球の ch36, 40 において、ITI 6 秒よりも CWST

による hemodynamic response らしき変化がある。しかしこれらのチャンネルは 3 秒から 8 秒でマイナス方向に血流が変化しており、Stroop 干渉によるプラスの血流増加とは異なる。これはまさに先ほどの仮説通りの応答が反映されたからに他ならない。ITI 9 秒では課題表示後 9 秒で次課題が表示される。そのため Schroeter et al. (2004a)が報告しているように、hemodynamic response の増加がピークに達するまで 6 ~ 8 秒かかるとしたら、pre 値に回復するために要する時間は 12 ~ 14 秒となる。このように考えると ITI 9 秒では前課題の血流増加が回復しておらず、hemodynamic response の増加がマスクされている可能性が高い。

ITI 12 秒の hemodynamic response は ch12, 16, 37, 40 で増加が有意となった。これは 12 秒の ITI を設けたことで前課題の血流増加が pre 値に戻ってから次課題が表示されたことによると考えられる。先ほどの仮説からすると血流増加がマスクされなかったことが血流増加を大きくしたのだろう。

今回の結果では ITI 6 秒、9 秒では hemodynamic response による血流増加が有意とはならなかった。しかし fMRI や PET による先行研究からこれらの課題時にも hemodynamic response による血流増加が起こっていると考えられる (Carter et al., 1995, Leung et al., 2000, Carter et al., 2000, Banich et al., 2000, Milham et al., 2001, Banich et al., 2001, Milham et al., 2002, Mead et al., 2002, Milham et al., 2003, Derrfuss et al., 2005)。しかし、今回の実験では CWST を複数回行い、それを加算平均するという解析を行った。そのため ITI 6 秒、9 秒では CWST の Stroop 干渉による血流応答がマスクされてしまい 12 秒でのみ血流増加が有意となったのだろう。今回は ITI を 6 秒、9 秒、12 秒で比較したので、これ以外の ITI については不明である。しかし、本実験の条件下では fNIRS は ITI を 12 秒設けなければ事象関連で hemodynamic response の測定は出来ないということが明らかとなった。最後に予備実験で ITI を 15 秒や 20 秒に設定して行ったところ、被験者が極度の眠気を訴えた。眠さや測定データの正確性を考えると ITI 12

秒が妥当である可能性が高いということを補足しておく。

5. 要約

CWSTによる hemodynamic response の増加が最も大きくなる ITI を特定するために3つの条件のもと実験を行ったところ、以下の知見を得た。

今回設定した ITI 6 秒、9 秒、12 秒の結果から以下の結論が導かれた。

1. ITI 6 秒、9 秒では、おそらく前課題の血流増加が次課題に影響してしまうため事象関連の rCBF を測定することは困難である。
2. ITI 12 秒では前課題の血流増加の影響を強く受けないことから、事象関連の rCBF を測定するために適している。

これにより、本研究の条件下では CWST の Stroop 干渉による hemodynamic response を測定するためには ITI を 12 秒に設定する必要があることが明らかとなった。

第7章 CWST 時の rCBF 変化を評価するための解析方法の確立（研究課題 2-3)

1. 目的

fNIRS を用いて歩行中の rCBF を測定した報告では測定中にプローブがずれるなどの原因でノイズが混在してしまい、正確な測定が困難であると言える。特に測定中のプローブのずれは急激な血流増加を示すデータとなることもあるため、誤って解釈する危険性が高まる。体動を伴わない課題でもノイズが混在することがあるため、実験デザインや解析方法の確立が不可欠である。fNIRS の測定データからノイズを除去する方法は未だ確立されていない為、実験デザインに合った解析方法を確立しなければならない。研究課題 2-1 では実験デザインの比較を行い、ER デザインが CWST による hemodynamic response の測定に適していることが明らかとなった。研究課題 2-2 では CWST の ITI は 12 秒が適切であり、課題を表示するタイミングを決定することが出来た。そこで研究課題 2-3 では fNIRS の測定データからノイズを除去するための解析方法を開発する。

fNIRS が開発されてから (Koizumi et al., 2003)用いられてきた実験デザインは BL デザインが多かった。BL デザインとは一定の時間（ブロック）を設けてその間に課題を連続的に行うということを繰り返す実験デザインである。測定したデータはブロックごとにまとめて加算平均することで信号の精度を上げることが出来る。このように測定した一連のデータを加算平均することで、S/N 比を向上させることが可能となるが、加算平均ではデータが安定しない場合が多い。そこで近年用いられているのが ER デザインである。ER デザインでは課題表示前 (Base) を基準として、課題による血流増加を hemodynamic response と呼ぶ。このデザインは測定データが安定的で BL デザインほどばらつかないため、ノイズや体動などの影響を受けにくく正確に測定をすること

が出来る可能性が高い。

しかし、ER デザインの測定では Base が大きくマイナスになっている場合 hemodynamic response が極端に大きくなることや、逆に Base が大きくプラスになっている場合は hemodynamic response が極端に小さくなるという結果になる。そこで研究課題 2-3 では fNIRS の測定データで hemodynamic response が最も大きくなる解析方法を確立することを目的として特定の条件で RAW データとの比較検討を行った。

2. 方法

2-1. 被験者

被験者は健常な成人男子 4 名 (年齢 21.0 ± 1.9 歳)。被験者は色覚異常や言語判断能力に異常がなく、かつて神経性の病気や精神的な病歴がないことを確認した。また、被験者は右腕を利き腕とし母国語は日本語である者とした。実験はすべて筑波大学体育科倫理委員会規定に基づいて行われた。

2-2. 実験手順

まず、RAW データをそのまま単に加算平均したデータと以下の 4 つの処理を行ったデータで hemodynamic response の値を比較する。行う処理として 1) Baseline fitting, 2) Local fitting, 3) Motion check, 4) Band pass filter である。これらの処理は Schroeter et al. (2002)らの用いた手法を採用した。1) Baseline fitting は、加算平均した測定データの課題表示前 2 秒を「0」として補正する。2) Local fitting:全データのプロットに一次関数で直線をひいて補正した。3) Motion check: 0.1 秒間に 0.1 mm/mol 以上増加したものを削除する。4) Band pass filter: High pass filter: 0.7 Hz, Low pass filter: 0.04 Hz に設定する (Fig. 26)。

2-3. CWST

CWST のプロトコルは実験課題 1 - 2 と同様の方法で行った。また、本実験でも Stroop 干渉による rCBF だけに焦点を当てるため Congruent は表示しなかった。問題数と ITI は実験課題 2 - 1 と同様の方法で行った。

2-4. fNIRS の装着

Stroop 干渉による血流を測定するため、fNIRS のプローブは両半球の DLPFC を覆うように装着した。装着は実験課題 1 - 2 と同様に行った。

2-5. 統計解析

CWST 中の rCBF を ER デザインで行い hemodynamic response を算出した。測定データは ETG-7000 で RAW データ (continuous mode) をテキストで output した後、POTATO (日立メディコ, Japan) を用いて各統計処理を行った。また、Stroop 干渉による血流増加を統計的に処理する際は、Neutral 課題の Peak と Base の差と Incongruent 課題の Peak と Base の差から算出した値を用いた。なお、すべての RAW データは 1.0 秒の移動平均で加工して用いた。

今回は oxy-Hb と deoxy-Hb から算出される total-Hb を解析に用いた。各チャンネルの rCBF は課題表示前 2 秒間を Base、課題表示後 3 ~ 9 秒を Peak として Stroop 干渉による血流増加を Peak - (minus) Base で算出した。その後、算出したデータを 1 sample t-test で比較した後 FDR 補正法で多重比較補正を行った (Singh et al., 2005)。統計処理には SPSS for Windows (SPSS Inc., ver.11.0) を用いて、データはすべて平均値と標準偏差で示した。なお、有意水準は 5% とした。

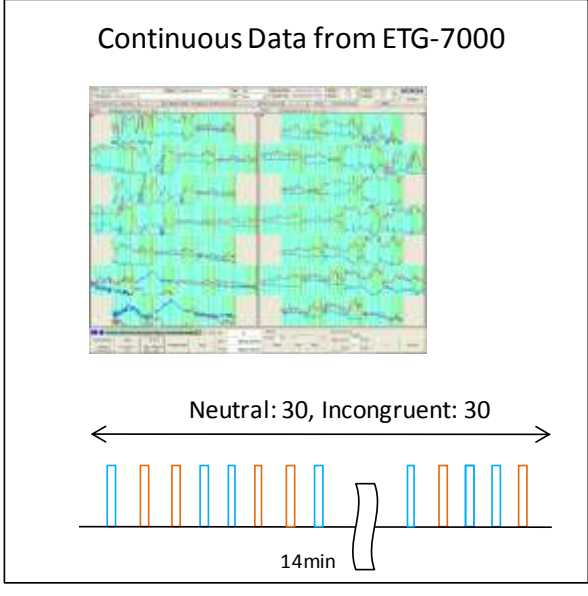
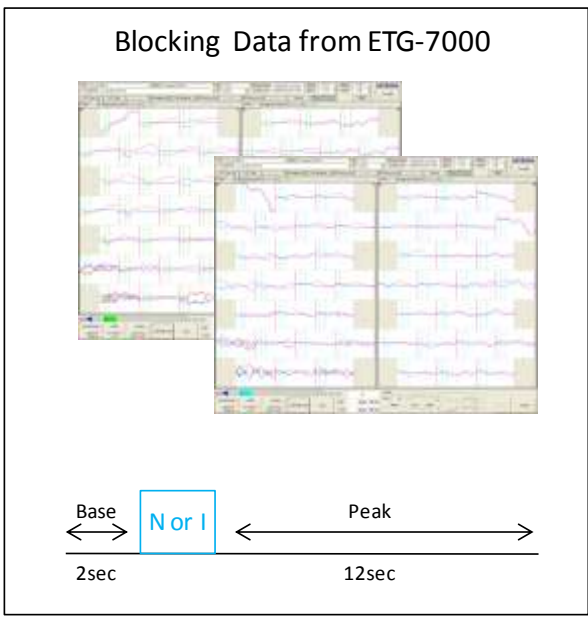


Fig. 26 Blocked data and continuous data

We output the measurement data at blocked and continuous mode. No filterd at blocked design. Continuous for the Δ total-Hb of each channel were preprocessed with a bandpass filter using cut-off frequencies of 0.04 Hz to remove baseline drift and 0.7 Hz to filter out heartbeat pulsations.

3. 結果

課題表示前の2秒間をBaseとして課題ごとの血流変化を単純に加算平均した結果はBaseから右肩上がりになる傾向であることが明らかとなった (Fig. 27). 一方、フィルタリングしたデータでは課題表示による hemodynamic response がプラスの反応としてグラフに表れていた. この2つの解析方法で Stroop 干渉による血流増加が有意に違いがあるかを確認するために 1 sample t-test で統計解析した. その結果 normal では ch37 (平均 \pm S.D. : 0.013 ± 0.006 , $p < 0.01$), ch38 (0.012 ± 0.003 , $p < 0.05$) となり右半球でのみ有意な増加が確認された (Table 11). 一方、フィルタリングしたデータでは ch17 (0.019 ± 0.010 , $p < 0.05$), ch37 (0.013 ± 0.004 , $p < 0.05$), ch 38 (0.012 ± 0.003 , $p < 0.01$), ch41 (0.012 ± 0.004 , $p < 0.05$) となり前頭前野の両側で血流増加が有意となった.

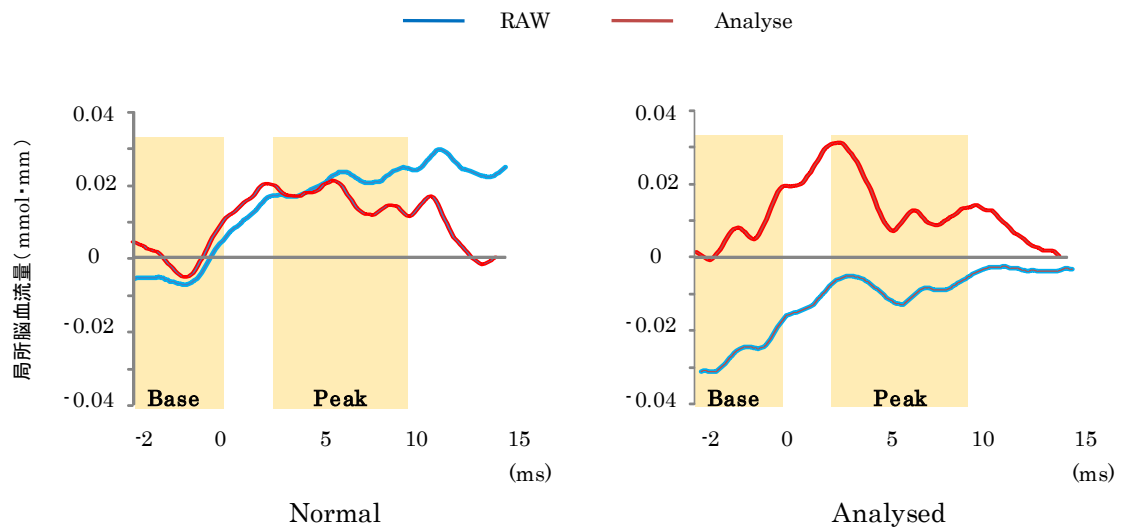


Fig. 27 Hemodynamic response during color-word Stroop task

The graph shows the grand average of $\Delta_{\text{total-Hb}}$ (incongruent - neutral) time courses from a representative channel (CH16). Normal: no-analysed, Analysis: analysed several parameter.

Table 11. Summary results of spatial and functional analysis

1 sample t-test						
	Average \pm S.D.		Significance	Average \pm S.D.		Significance
Normal						
13ch	0.003	\pm 0.005		37ch	0.013 \pm 0.006	‡
14ch	0.004	\pm 0.006		38ch	0.012 \pm 0.003	*
15ch	0.006	\pm 0.005		39ch	0.005 \pm 0.004	
16ch	0.004	\pm 0.007		40ch	0.000 \pm 0.006	
17ch	0.019	\pm 0.015		41ch	0.012 \pm 0.006	
Analysed						
13ch	0.003	\pm 0.003		37ch	0.013 \pm 0.004	*
14ch	0.004	\pm 0.004		38ch	0.012 \pm 0.002	**
15ch	0.006	\pm 0.003		39ch	0.005 \pm 0.003	
16ch	0.004	\pm 0.004		40ch	0.000 \pm 0.004	
17ch	0.019	\pm 0.010	‡	41ch	0.012 \pm 0.004	*

Δ oxy-Hb values from (incongruent - congruent) contrast are shown.

Contrasts that were above the significance level are shown with asterisks

(‡ $p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, two-tailed.). All data are shown as

mean \pm S.D. in units of mmol \cdot mm.

4. 考察

今回の実験では、同一被験者内のデータでも解析の手法を変えることによって ER デザインの rCBF が異なるかどうか検討した。仮説としては、フィルタリングを行わない場合は Base がばらつき Stroop 干渉による hemodynamic response の大きさが異なると予想した。一方、local fitting を行わない場合は血流の増加（ドリフト現象）のため Peak の値が異なると予想していた。今回の結果をみると normal 群と analyzed 群のグラフは明らかに Base の値が違った。この違いは analyze 群のデータを local fitting により補正しているためグラフの最初と最後が“0”に補正されているからである。しかしこのような違いが見られるにも関わらず Stroop 干渉による血流増加 (incongruent - neutral) では normal 群と analyze 群で差は無かった。唯一、異なる点として analyze 群はばらつきが抑えられるということが分かった。その結果 Stroop 干渉による hemodynamic response を Base と比較したとき、増加が有意となるチャンネルは analyze 群で多くなった (Table 11)。

多チャンネル式 fNIRS の測定では対象領域を予め決めてからプローブを配置する。この対象領域を ROI (region of interesting) と呼び、fMRI や PET などの先行研究をもとに決められる。今回 ROI は Stroop 干渉で活性化する両側の DLPFC とした。この領域は正中線から腹側に 5 ~ 10 cm ほど下ろしたところで頭蓋骨が湾曲している。そのためプローブが浮いてしまったり、体動によるノイズが混在し易くデータがばらついてしまう可能性が高い。今回の結果は、normal 群と analysed 群で Stroop 干渉による血流増加には差がなかったが、バラつきを抑えるという点でフィルタリングの重要性を示唆させるものとなった。一連の実験結果に照らし合わせると、ER デザインで rCBF を解析するにはフィルタリングをすることでばらつきが抑えられ Stroop 干渉による血流増加を抽出することが可能となると言える。一方、normal 群の解析方法では有用な検出を逃してしまう機会損失が懸念される。以上のことから ER デザインによる rCBF

の解析には今回用いたフィルタリングを適用して解析をすることが望ましいと言える。

5. 要約

ER デザインの rCBF を算出するための解析方法の妥当性を normal 群と analysed 群との比較により検討した結果、以下の知見を得た。

今回、解析に用いたフィルタリングデータと RAW を比較したところ、

1. normal 群と analyze 群では見かけのグラフは大きく変わるが、Stroop 干渉による hemodynamic response の増加には影響しない。
2. Analyze 群のフィルタリングを適用することで測定データのばらつきが小さくなり、Stroop 干渉による血流増加を正確に評価することが可能となる。

これらの条件は CWST による rCBF を正確に解析するための条件として重要と思われる。

第8章 CWST の課題成績と前頭前野局所脳血流応答に対する習熟レベルの関与（研究課題 2 - 4）

1. 目的

CWST の Stroop 干渉では DLPFC の活動が亢進することが fMRI、PET、fNIRS の報告で明らかにされている (MacLeod, 1991, Carter *et al.*, 1995, Leung *et al.*, 2000, Carter *et al.*, 2000, Banich *et al.*, 2000, Zysset *et al.*, 2001, Milham *et al.*, 2001, Banich *et al.*, 2001, Schroeter *et al.*, 2002, Norris *et al.*, 2002, Milham *et al.*, 2002, Mead *et al.*, 2002, Milham *et al.*, 2003, Ehliis *et al.*, 2005, Derrfuss *et al.*, 2005). 一過性の中強度運動が実行機能を向上するという報告があるが、その神経基盤については未だ明らかにされていない (Kamijo *et al.*, 2007, Hillman *et al.*, 2009). この神経基盤について解明するために、我々は特定領域における神経活動を明確にすることを目的として実験を進めてきた。本研究ではここまで CWST による hemodynamic response を測定するための実験デザインの選択、実験プロトコルの作成、解析方法の確立について検討してきた。これらの結果から中強度運動による認知機能の向上評価するための方法論が確立することが出来た。しかし、脳神経活動を反映する rCBF は極めて小さな変化であるため被験者の体調や心理的な安定度によって変動しやすい。特に課題に対する習熟度の違いは rCBF に影響を与える可能性が高い。習熟度が低い被験者では、課題が表示された時に驚いてしまうこと、ボタンを押すときに力んでしまうこと、緊張のため常に画面を注視し続けることが考えられる。このような場合 Stroop 干渉による血流増加の他に極度の集中で血流が増加してしまう可能性が示唆される。さらに緊張は実験を重ねるたびに軽減されるため、実験の初期と後期では一定の条件下における比較とすることが出来ない。もし習熟により CWST 中の rCBF に変化があるとしたら、本研究で目的とする研究課題 1 - 2 で作成した実験プロトコルでは習熟の影響を受けてしまうため一過性の中強

度運動の効果を評価できない。

そこで研究課題 2 - 3 では CWST を複数回行って習熟にともなう hemodynamic response を fNIRS で測定し、変化が表れるかどうか明らかにすることを目的とした。仮説として実験初期では hemodynamic response は小さな変化しかせず、Neutral と Incongruent の差が小さいことが予想される。一方、実験後期では習熟に伴い Neutral と Incongruent の hemodynamic response が大きくなることが予想される。

2. 方法

2-1. 被験者

健常な一般成人で男性 2 名，女性 8 名（ 31.2 ± 10.9 歳）とし，色盲や脳疾患の遍歴が無いことを確認した上で実験に参加してもらった。なお，今回の実験では CWST の習熟に伴う rCBF について検討するため，今まで一回も CWST をやったことが無く，CWST について何の知識も無い者を被験者とした。被験者は右腕を利き腕とし母国語は日本語である者とした。実験はすべて筑波大学体育科倫理委員会規定に基づいて行われた。

2-2. 実験手順

被験者に CWST の説明を行い，同様のプロトコルで練習をさせた。練習の方法は，neutral を 10 問練習してもらった後，incongruent を 10 問練習してもらう。その後，ランダムで neutral を 10 問と incongruent を 10 問表示して十分な理解をしていることを確認した上で本実験を行った。本実験では，2 週間で合計 10 回の CWST を行った。実験ごとの間隔は 2 日として，1 日 2 回の CWST を実施した (Fig. 28)。

2-3. CWST

CWST のプロトコルは実験課題 1 - 2 と同様の方法で行った。また、本実験でも Stroop 干渉による rCBF だけに焦点を当てるため Congruent は表示しなかった。問題数と ITI は実験課題 2 - 1 と同様に行った。

2-4. fNIRS の装着

fNIRS のプローブ配置は実験課題 1 - 2 と同様の方法で DLPFC を覆うように配置した。また、チャンネルごとの測定領域を明確にするために、デジタイザーを用いてチャンネル座標を取得して被験者間で測定領域を統計的に処理した (Tsuzuki et al., 2007)。チャンネルごとの測定位置は実験課題 2 - 1 と同様である。

2-5. 統計解析

CWST による hemodynamic response は total - Hb を用いて解析を行った。total-Hb は oxy-Hb と deoxy-Hb から算出されるため両方の変化を反映するパラメーターである。今回は CWST による hemodynamic response を測定するため、ROI は DLPFC の直上であるチャンネルのみを解析した。ER デザインでは課題表示前の 2 秒間を Base、課題表示後 4 ~ 11 秒を Peak としてその差を算出した後 1sample t-test を用いて hemodynamic response による血流増加をみた。BL デザイン、ER デザインともに多重比較補正には FDR を用いた。本実験では 5 日間で合計 10 回の CWST を行った。解析の際には 1 回目の CWST のときの rCBF を代表値として用いた。

統計処理には SPSS for Windows (SPSS Inc., ver.11.0) を用いて、データはすべて平均値と標準偏差で示した。なお、有意水準は 5%とした。



Fig. 28 Experimental design

Subject conducted 2 trial each day. All experiment finish within 14 days.

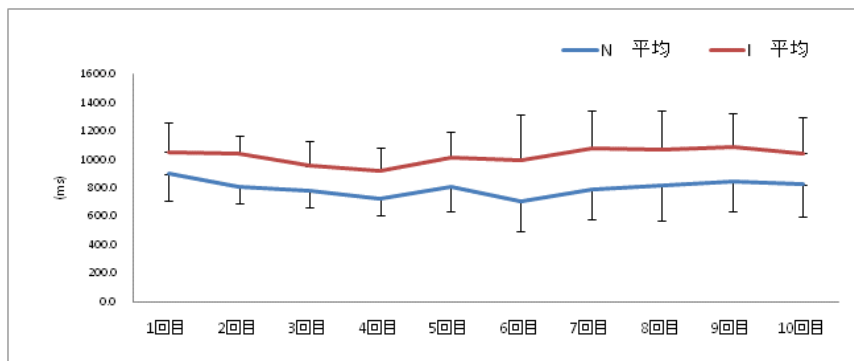


Fig. 29 Reaction time

The reaction time through all experiment. Neutral is quicker response than incongruent.

3. 結果

3-1. CWST の RT

反応時間は neutral 課題より incongruent 課題のほうが反応時間が有意に遅いことが確認された。習熟に伴う反応時間の短縮やエラー数の変化は無かった (Fig. 29)。

3-2. CWST の rCBF

実験初期において両半球の DLPFC において Stroop 干渉による血流増加 ($N < I$) が有意であることが確認された (Table 12)。実験初期における DLPFC の rCBF は (16 ch)、では neutral 課題、incongruent 課題とも課題が表示されてから、減少した後に大きく増加した (Fig. 30)。実験後期では課題が表示されるとすぐ増加した。

習熟に伴う neutral と incongruent の変化を ANOVA で解析した結果、回数 (1 日目 ~ 5 日目) と課題 (neutral, incongruent) の主効果では有意な差が無かった。交互作用では ch 16, 25, 36 で有意差があった。

Table 12. Summary results of spatial and functional analysed

1sample t-test						
	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	
ch2	0.10	0.02	0.26	0.17	0.61	
ch3	0.92	0.07	0.73	0.72	0.33	
ch6	0.43	0.11	0.35	0.33	0.11	
ch7	0.57	0.09	0.96	0.62	0.13	
ch9	0.97	0.51	0.80	0.32	0.14	
ch10	0.71	0.05 *	0.40	0.53 *	0.02 *	*
ch12	0.74 *	0.75	0.96	0.75	0.80	
ch13	0.62	0.11	0.15	0.74	0.12	
ch14	0.70	0.08	0.65	0.49 *	0.07	
ch16	0.91 *	0.08	0.17 *	0.92 *	0.05 *	*
ch17	0.82	0.15 *	0.48	0.63	0.08	
ch19	0.17	0.64	0.87	0.60	0.28	
ch20	0.50	0.09	0.24	0.77	0.02 *	*
ch21	0.70	0.32	0.24	0.38	0.03	
ch25	0.97	0.04	0.05	0.93	0.11	
ch26	0.10	0.15 *	0.87 *	0.55	0.21	
ch28	0.78	0.08	0.36	0.94	0.15	
ch29	0.21 *	0.46	0.09	0.78	0.74	
ch32	0.91	0.16	0.46	0.61	0.08	
ch33	0.52	0.67	0.62	0.36 *	0.22	
ch35	0.93	0.04 *	0.38	0.72	0.08 *	*
ch36	0.68	0.10	0.29	0.77	0.21	
ch37	0.92	0.86	0.89	0.72	0.34	
ch39	0.73	0.14	0.23	0.42	0.81	
ch40	0.34	0.81	0.53	0.92	0.16	
ch42	0.18	0.07	0.92	0.28	0.40	
ch43	0.69	0.01	0.62	0.98	0.26	
ch44	0.27	0.82	0.37	0.37	0.06	

Hemodynamic response increase that were above the significance level are shown with asterisks (* $p < 0.05$, two-tailed.). All data are shown as mean \pm S.D. in units of mmol \cdot mm.

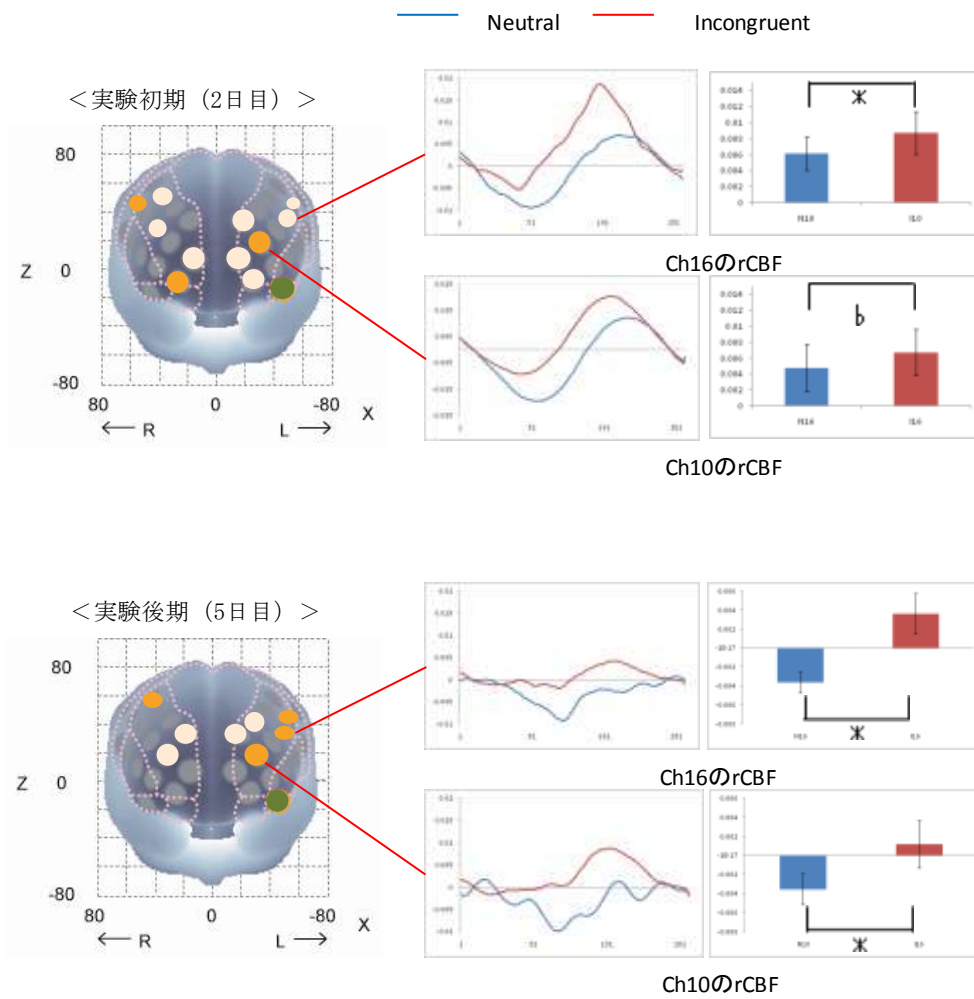


Fig. 30 Hemodynamic response during CWST

The reaction time through all experiment. Estimated fNIRS channel locations are exhibited in MNI space. The center of the circle represents the most likely estimate for a given fNIRS channel. T-values are shown according to the color bar. The channels that did not reach the significance level ($p < \text{FDR } 0.05$) are gray. The channels excluded from the analysis due to low signal-to-noise ratio are not shown.

Table 13. Summary results of spatial and functional analysis

被験者内効果の検定								
	ソース	自由度	平均平方	F 値	偏イタ2乗	非心度パラメータ	観測検定力(φ)	有意差(FDR)
3ch	回数	4.00	0.00	1.48	0.20	5.92	0.39	0.38
6ch	回数	4.00	0.00	1.96	0.25	7.83	0.50	0.27
9ch	回数	4.00	0.00	2.23	0.27	8.92	0.56	0.17
10ch	回数	4.00	0.00	2.90	0.33	11.61	0.69	0.69
12ch	回数	4.00	0.00	2.96	0.33	11.84	0.70	0.06
13ch	回数	4.00	0.00	1.21	0.17	4.83	0.32	0.45
14ch	回数	4.00	0.00	2.32	0.28	9.28	0.58	0.28
16ch	回数	4.00	0.00	1.73	0.22	6.92	0.45	0.20
25ch	回数	4.00	0.00	1.05	0.15	4.19	0.28	2.16
29ch	回数	4.00	0.00	1.51	0.20	6.02	0.39	1.86
32ch	回数	4.00	0.00	0.78	0.12	3.12	0.21	1.25
33ch	回数	4.00	0.00	1.61	0.21	6.43	0.42	0.55
35ch	回数	4.00	0.00	1.68	0.22	6.72	0.44	0.75
36ch	回数	4.00	0.00	0.98	0.14	3.93	0.26	0.54
37ch	回数	4.00	0.00	0.22	0.03	0.87	0.09	0.99
40ch	回数	4.00	0.00	0.10	0.02	0.40	0.07	0.98
3ch	課題	1.00	0.00	0.32	0.05	0.32	0.08	0.86
6ch	課題	1.00	0.00	2.14	0.26	2.14	0.24	1.55
9ch	課題	1.00	0.00	0.61	0.09	0.61	0.10	0.62
10ch	課題	1.00	0.00	1.06	0.15	1.06	0.14	0.92
12ch	課題	1.00	0.00	0.41	0.06	0.41	0.08	0.58
13ch	課題	1.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.05	0.89
14ch	課題	1.00	0.00	1.01	0.14	1.01	0.14	1.13
16ch	課題	1.00	0.00	1.73	0.22	1.73	0.20	0.54
25ch	課題	1.00	0.00	1.49	0.20	1.49	0.18	1.07
29ch	課題	1.00	0.00	3.28	0.35	3.28	0.33	0.64
32ch	課題	1.00	0.00	0.20	0.03	0.20	0.07	0.83
33ch	課題	1.00	0.00	1.49	0.20	1.49	0.18	0.53
35ch	課題	1.00	0.00	0.67	0.10	0.67	0.11	0.79
36ch	課題	1.00	0.00	0.19	0.03	0.19	0.07	0.77
37ch	課題	1.00	0.00	0.25	0.04	0.25	0.07	1.02
40ch	課題	1.00	0.00	4.01	0.40	4.01	0.39	1.47
3ch	回数 x 課題	4.00	0.00	2.67	0.31	10.69	0.65	0.08
6ch	回数 x 課題	4.00	0.00	1.97	0.25	7.88	0.51	0.21
9ch	回数 x 課題	4.00	0.00	1.67	0.22	6.68	0.43	0.25
10ch	回数 x 課題	4.00	0.00	2.49	0.29	9.96	0.62	0.28
12ch	回数 x 課題	4.00	0.00	0.49	0.08	1.96	0.15	0.74
13ch	回数 x 課題	4.00	0.00	3.48	0.37	13.93	0.78	0.07
14ch	回数 x 課題	4.00	0.00	1.69	0.22	6.76	0.44	0.21
16ch	回数 x 課題	4.00	0.00	3.59	0.37	14.36	0.79	0.04
25ch	回数 x 課題	4.00	0.00	5.97	0.50	23.88	0.96	0.03
29ch	回数 x 課題	4.00	0.00	2.69	0.31	10.74	0.65	0.30
32ch	回数 x 課題	4.00	0.00	2.34	0.28	9.37	0.59	0.22
33ch	回数 x 課題	4.00	0.00	1.00	0.14	4.00	0.27	0.53
35ch	回数 x 課題	4.00	0.00	0.67	0.10	2.69	0.19	0.66
36ch	回数 x 課題	4.00	0.00	3.64	0.38	14.56	0.80	0.04
37ch	回数 x 課題	4.00	0.00	1.91	0.24	7.65	0.49	0.32
40ch	回数 x 課題	4.00	0.00	3.81	0.39	15.25	0.82	0.12

The rCBF data were analysed with a repeated measure 2way-ANOVA including condition (Ex vs. CTL) as a within-subjects factor and session (pre vs post) as a within - subjects factor. Significant interaction effect occurred at CH16, 25, 36.

4. 考察

実験初期で Neutral 課題と Incongruent 課題の hemodynamic response を比較したところプラスの血流応答を示したチャンネルは両半球の DLPFC およびその周辺のチャンネルで確認された。Schroeter et al. (2002)が報告している DLPFC の血流増加は ch 16 のみで確認され、右半球では無かった。しかし、その周辺チャンネルで増加傾向にあることが確認された。Schroeter et al. (2002)の報告にある両半球の血流増加と異なる結果となった原因として考えられるのは、緊張や課題表示による驚きが Stroop 干渉による血流増加をマスクしてしまった可能性が示唆される。

実験後期では Neutral 課題と Incongruent 課題の hemodynamic response を比較したところプラスの血流応答を示したのは左 DLPFC を中心とする領域であった。実験前期と異なるのは ch 10, 16 において neutral 課題に対する Incongruent 課題の血流増加が有意となった点である。有意差は無かったが両側の DLPFC を中心とする領域で Stroop 干渉による血流増加があったと言える。

2way ANOVA を用いて課題 (Neutral, Incongruent) と 日数 (5 日間) の検定をしたところ、実験初期から実験後期にかけて習熟の影響が見られなかった (Table 13)。この結果から、Stroop 干渉による hemodynamic response はばらつきがあるが DLPFC を中心にプラスの血流応答が起こり習熟の影響を受けないということが出来る。2way ANOVA では交互作用が確認されたが、この理由として 5 日間の実験 (計 10 回) で Neutral が大きく変化した被験者がいたことが考えられる。

CWST の成績と hemodynamic response は練習による若干の習熟効果はあるものの、Stroop 干渉による血流増加は短期間で変化することは無いことが報告されている (MacLeod, 1991, Menz et al., 2006)。反応時間に関しても実験初期から後期にかけて安定的であることが確認された (Menz et al., 2006)。また、CWST などを繰り返し行っても認知機能が向上するという報告は無い (Nature Neuroscience, 2007)。今回の実験では被

験者の hemodynamic response は習熟にともなって変化しないという仮説とは異なる結果となった。この結果は MacLeod et al. (1991)の報告にあるとおり CWST は初心者であっても安定的に認知機能を測定することが出来る課題であることを支持するものである。この結果から CWST を実施する際には、被験者が課題を十分に理解していること確認することで実験条件を統一することが出来ると考えられる。

5. 要約

CWST の習熟に伴い RT と rCBF の変容を想定して 10 回の実験を行う中で習熟にもなう変化が見られるか検証したところ、以下の知見を得た。

今回行った習熟に伴う CWST の成績と rCBF 動態の変化は、

1. 実験初期から実験後期にかけて CWST の Stroop 干渉による血流応答は変化しない。
2. Stroop 干渉によって血流応答が増加する領域は DLPFC とその周辺のチャンネルである。
3. 実験初期から実験後期にかけて CWST の Stroop 干渉による RT は変化しない。

これにより CWST の習熟が hemodynamic response に影響を与える可能性は極めて低いと言える。

第9章 中強度運動後の認知課題パフォーマンスは、前頭前野の局所脳血流応答の増大が関与するか？（研究課題3）

1. 目的

これまでに fMRI や PET を用いて CWST による Stroop 干渉が DLPFC の神経活動を高めることが報告されている (MacLeod, 1991, Carter *et al.*, 1995, MacDonald *et al.*, 2000, Leung *et al.*, 2000, Carter *et al.*, 2000, Banich *et al.*, 2000, Zysset *et al.*, 2001, Milham *et al.*, 2001, Banich *et al.*, 2001, Milham *et al.*, 2002, Milham *et al.*, 2003, Derrfuss *et al.*, 2005, Menz *et al.*, 2006). 同様の結果が fNIRS を用いた研究でも報告されている (Zysset *et al.*, 2001, Schroeter *et al.*, 2002, Schroeter *et al.*, 2003, Schroeter *et al.*, 2004a, Schroeter *et al.*, 2004b, Ehliis *et al.*, 2005, Schroeter *et al.*, 2007). これらの報告から CWST で評価することのできる実行機能は DLPFC における神経活動の向上が関与している可能性が高い。運動により認知機能が向上するという報告は数多くあるが、本研究の目的である一過性運動と認知機能を神経基盤から明らかにした報告は現在のところ1つも無い。実行機能と一過性運動の関連について報告している唯一のものとして Hillman *et al.* (2009) の報告がある。この報告では課題成績の向上には ERP の P3 成分の振幅が関与していると報告しているが特定脳領域を明らかにするには至っていない (Hillman *et al.*, 2009). ただし、この報告では我々が用いている CWST ではなく Flanker 課題を用いているが実行機能を評価する課題と言う点では共通している。

そこで、研究課題3では研究課題1、2で確立した実験モデルを用いて一過性運動による認知機能の向上に関与する特定脳領域を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

2-1. 被験者

実験では健常な被験者 20 名とした。年齢は 21.5 ± 4.8 歳（年齢: 19 – 24 歳, 男性 17 名, 女性 3 名; 体重 62.2 ± 7.8 kg, 身長 170.1 ± 5.1 cm）。すべての被験者は色覚に異常がなく, 日本語を母国語とする者とした。また, 過去に神経系の怪我や病歴がなく, 精神的にも健康でうつ病などの症状が無いものとした。

2-2. 実験手順

中強度運動による認知機能の向上を評価するために, 運動前後に CWST 中の局所血応答を測定した。運動はサイクル方エルゴメーターで $50\% \dot{V}O_{2max}$ 強度の運動を 10 分間行う運動群と、安静を維持するコントロール群を設けた (Fig. 31)。

2-3. fNIRS の装着

局所脳血流の測定には fNIRS (ETG - 7000, Hitachi Medico, Japan) を用いた。測定する領域およびプローブの装着位置は実験課題 1 - 2 と同様の方法で行った (Fig. 32)。

2-4. バーチャルレジストレーション法

fNIRS のチャンネルごとの測定位置を同定するためにバーチャルレジストレーション法を用い (Tsuzuki et al., 2007)。fNIRS で装着の際に用いた FT7 と FT8 を基準点として, チャンネルごとの座標を MNI に投射した (Brett et al., 2002)。MNI に投射した座標をもとに fMRI のデータベースと照合してチャンネルごとの測定位置を確率論的に推定した (Okamoto et al., 2004, Okamoto and Dan, 2005)。これらの測定位置の結果は Table 14 の通りである。

2-5. 統計解析

RT とエラー数の解析は、課題ごと (neutral, incongruent) に集計して、運動の有無 (Ex - , CTL - group) と運動の前後 (Pre - , Post - trial) で比較した。統計は二元配置の分散分析を用いた。Post- hoc には Turkey's HSD を用いた。

fNIRS のデータは 2 種類のバンドパスフィルタを適用した。ベースラインからのドリフトを除去するために Low pass filter (0.04 Hz) と心拍数による変動を除去するために High pass filter (0.7 Hz) を適用した (Schroeter *et al.*, 2002)。その後、各チャンネルの Δ oxy-Hb データを被験者ごとに Matlab 上の OSP によって課題表示前 2 秒, Peak を 4 - 11 秒に設定して課題ごとに加算平均(ブロッキング)した。Peak を 4 - 11 秒に設定した理由として、この区間に hemodynamic response のピークが集中していたためである。

今回の実験では Stroop 干渉による rCBF を測定するために Neutral (Peak - Base) と Incongruent (Peak - Base) の差を算出した。そして、Stroop 干渉による血流増加が有意だったチャンネルだけを選び ($p < \text{FDR } 0.1$) 二元配置の分散分析を行った。この時、Stroop 干渉による血流増加が有意だったチャンネルは解剖ラベルに基づいて 4 つのエリアに分けた。(L2, 6, 9, IFC area; L3, 7, 10, PFC area; L13, 14, 16, 17, DLPFC area; R37, DLPFC area)。

二元配置の分散分析はコンディション (neutral, incongruent) とセッション (pre, post) に分けて行い、多重比較補正には FDR 法を用いた (Singh and Dan, 2006)。また、シンプソンズパラドックスにより ANOVA で検出できない可能性があるため Post (incongruent - neutral) - Pre (incongruent - neutral) で算出した値を 1 sample t-test で検定した。統計処理には SPSS for Windows (SPSS Inc., ver.11.0) を用いて有意水準は 5% とした。

	Pre-session		Post-session	
EX experiment	Stroop	Exercise (10min)	Rest (15min)	Stroop
CTL experiment	Stroop	Rest (25min)		Stroop

Fig. 31 Experimental design

All subjects attended exercise (EX) and control (CTL) experiments with the order being counterbalanced across subjects. In the EX experiment, subjects performed a Stroop task before and 15 min after the exercise. In the CTL experiment, subjects rested instead of performing exercise.

Table 14. Estimated fNIRS channel locations

1 sample t-test Pre - session						1 sample t-test Post - session					
	平均值 ± SD			statistic			平均值 ± SD			statistic	
2ch	0.03	±	0.04	0.02	*	2ch	0.05	±	0.05	0.00	**
3ch	0.03	±	0.04	0.04	*	3ch	0.06	±	0.05	0.00	**
6ch	0.04	±	0.05	0.08		6ch	0.05	±	0.04	0.00	**
7ch	0.03	±	0.04	0.03	*	7ch	0.04	±	0.04	0.00	**
9ch	0.03	±	0.04	0.04	*	9ch	0.03	±	0.03	0.00	**
10ch	0.03	±	0.04	0.03	*	10ch	0.03	±	0.03	0.00	**
12ch	0.00	±	0.03	0.62		12ch	0.03	±	0.04	0.01	**
13ch	0.02	±	0.03	0.02	*	13ch	0.04	±	0.04	0.00	**
14ch	0.02	±	0.02	0.04	*	14ch	0.03	±	0.03	0.00	**
15ch	0.01	±	0.05	0.80			0.02	±	0.03	0.05	*
16ch	0.01	±	0.02	0.03	*	16ch	0.04	±	0.05	0.00	**
17ch	0.02	±	0.03	0.05	*	17ch	0.03	±	0.02	0.00	**
19ch	0.01	±	0.02	0.06		19ch	0.03	±	0.03	0.00	**
20ch	0.01	±	0.03	0.15		20ch	0.04	±	0.06	0.02	*
22ch	0.01	±	0.04	0.30		22ch	0.05	±	0.03	0.00	**
23ch	0.01	±	0.04	0.35		23ch	0.01	±	0.05	0.31	
26ch	0.01	±	0.04	0.27		26ch	0.04	±	0.05	0.00	**
27ch	0.00	±	0.03	0.81		27ch	0.05	±	0.05	0.00	**
30ch	0.02	±	0.04	0.12		30ch	0.04	±	0.05	0.00	**
31ch	0.00	±	0.02	0.61		31ch	0.04	±	0.04	0.00	**
33ch	0.01	±	0.04	0.26		33ch	0.03	±	0.04	0.00	**
34ch	0.01	±	0.03	0.14		34ch	0.04	±	0.04	0.00	**
36ch	-0.01	±	0.05	0.60		36ch	0.02	±	0.04	0.04	**
37ch	0.02	±	0.03	0.03	*	37ch	0.03	±	0.04	0.00	**
38ch	0.00	±	0.03	0.86		38ch	0.02	±	0.04	0.04	*
39ch	0.00	±	0.05	0.94		39ch	0.03	±	0.04	0.00	**
40ch	-0.01	±	0.03	0.42		40ch	0.03	±	0.04	0.00	**
41ch	0.00	±	0.03	0.96		41ch	0.02	±	0.04	0.04	*
43ch	0.00	±	0.03	0.86		43ch	0.02	±	0.03	0.01	**
44ch	0.00	±	0.02	1.14		44ch	0.03	±	0.03	0.00	**
46ch	0.00	±	0.04	0.77		46ch	0.02	±	0.04	0.04	*
47ch	0.01	±	0.03	0.59		47ch	0.02	±	0.03	0.00	**

Hemodynamic response during color-word Stroop task. All data are shown mean ±S.D. *: $P < 0.05$

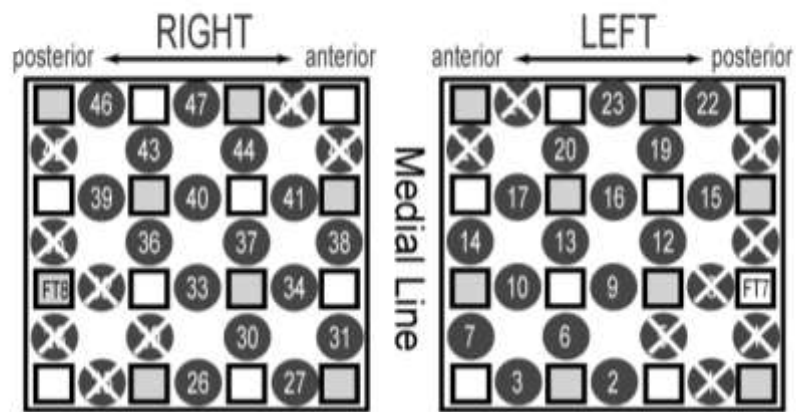


Fig. 32 fNIRS measurements

Brain activity was measured while subjects performed the Stroop task. (C) Front view of the probe arrangements. (D) fNIRS channel orientation. Detectors are shown as gray squares, illuminators as white squares, and channels as circles. The international 10-10 standard positions and other positional information is indicated. One holder with 24 fNIRS channels was set on the left side of a subject's head so that the optode between channels 4 and 11 fit FT7 of the international 10-10 system, and the medial edge of the optode column was parallel to the medial line. Channels that were not used in the analysis due to low signal-to-noise ratio are marked with an X.

3. 結果

3-1. CWST の RT

運動実験の反応時間において ANOVA の結果からコンディション (neutral / incongruent) ($F_{(1,19)} = 20.48, p < 0.001$)とセッション (pre / post) ($F_{(1,19)} = 61.86, p < 0.001$)で主効果があった。また、これら2つの間に交互作用があることが確認された($F_{(1,19)} = 27.89, p < 0.001$)。Post hoc に Turkey's HSD tests を用いたところ運動前において Neutral と incongruent の反応時間を比較したところ incongruent 課題の反応時間が有意に長くなっていた (873.7 ± 99.3 vs. $728.0 \pm 214.1, p < 0.05$)。運動後では neutral と incongruent の差は有意ではなかった (651.6 ± 122.2 vs. $575.5 \pm 106.8, N.S.$)。この結果から、全体を通じて neutral よりも incongruent の反応時間が有意に長いことが確認された (Table 15)。一方、セッションによる比較では運動後には neutral と incongruent ともに反応時間が有意に短縮することが確認された (Incongruent: $p < 0.001$, Neutral: $p < 0.05$, respectively) (Fig. 33)。コンディションとセッションの交互作用と検定するために、neutral と incongruent の差を算出して比較した。その結果、運動群では運動後に neutral と incongruent の差が有意に小さくなっていることが確認された($T_{(19)} = 5.28, p < 0.001$: two-tailed Student's t-test) (Fig. 33)。これらの結果は一過性の中強度運動が neutral と incongruent の反応時間を有意に短縮させ、これは Stroop 干渉を反映しているものと言うことができる。

これに対して、運動後の反応時間の短縮は課題に対する慣れの影響が考慮されることから、コントロール群 (安静) でも ANOVA による解析を行った。その結果、コンディション ($F_{(1,19)} = 54.63, p < 0.001$)において主効果が確認され、neutral よりも incongruent の反応時間が長いことが明らかとなった。しかし、セッションでは主効果が確認されなかった ($F_{(1,19)} = 0.24, N.S.$)。また、これら2つの主効果に対して交互作用が無いことから ($F_{(1,19)} = 2.86, N.S.$) 運動群の Post における反応時間の短縮は順応によるものではないと言える。

3-2. CWST のエラー

運動群のエラー数はコンディション (incongruent / neutral) factor ($F_{(1,19)} = 27.60, p < 0.001$)と、セッション (pre / post) factor ($F_{(1,19)} = 1.31, N.S.$), において主効果が確認された。また、交互作用に有意差は無かった ($F_{(1,19)} = 0.14, N.S.$) (Table 15) .

一方、コントロール群のエラー数はコンディション (incongruent / neutral) factor ($F_{(1,19)} = 57.00, p < 0.001$)と、セッション (pre / post) factor ($F_{(1,19)} = 0.00, N.S.$) において主効果が確認された。交互作用に有意差は無かった ($F_{(1,19)} = 0.00, N.S.$).

コンディションごとのエラー数では Incongruent のエラー数が有意に多い結果となった (Ex : $p < 0.01$; CTL : $p < 0.01$ two-tailed pared t-test).

Table 15. Stroop performance

	Reaction time				Error rate			
	Pre		Post		Pre		Post	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
EX experiment								
Neutral	728.0	± 214.1	575.5	± 106.8	0.5	± 2.2	0.0	± 0.0
Incongruent	873.7	± 199.3	651.6	± 122.2	8.0	± 7.7	7.0	± 6.6
CTL experiment								
Neutral	713.7	± 147.3	687.5	± 154.0	0.5	± 2.2	0.5	± 2.2
Incongruent	841.3	± 189.7	842.8	± 209.5	8.0	± 7.0	8.0	± 6.2

Inter-subject mean and standard deviations of reaction times (ms), error rates (%) are shown for each session of each experiment (mean ± S.D.).

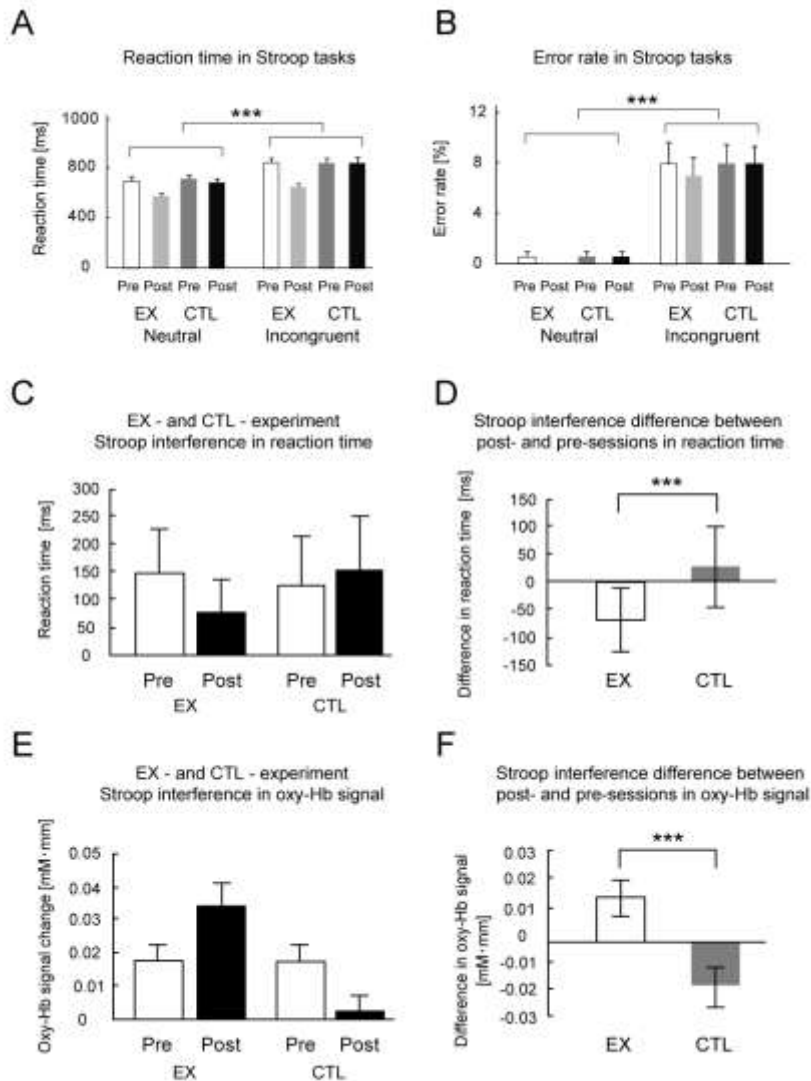


Fig. 33 Stroop task performance.

Comparisons between incongruent and neutral conditions for reaction time (RT) (A) and for error rate (B). The mean difference of reaction times in incongruent and neutral conditions indicating the Stroop interference for exercise (EX) and control (CTL) conditions are shown in (C). Stroop interference difference between post- and pre-sessions in reaction time (i.e., $[[\text{incongruent} - \text{neutral}] \text{ of pre-session} - [\text{incongruent} - \text{neutral}] \text{ of post-session}]$) contrast is shown for the EX and CTL conditions in (D). The mean difference of oxy-Hb signals in the left DLPFC in incongruent and neutral conditions indicating the Stroop interference for EX and CTL

conditions are shown in (E). Stroop interference difference between post- and pre-sessions in oxy-Hb signal (i.e., [[incongruent - neutral] of pre-session - [incongruent - neutral] of post-session]) contrast is shown for EX and CTL conditions in (F). Error bars indicate standard deviation. Statistically significant effects are indicated with asterisks (***) $p < 0.001$.

3-3. fNIRS の結果

Fig. 34 に CWST 中の Δ oxy-Hb のデータを示した。今回の実験ではほとんどすべてのチャンネルで CWST によって oxy-Hb が増加した。上記の反応時間の結果から、Stroop 干渉が神経原生であることを確認するために hemodynamic response に着目して neutral と incongruent の際の増加量を算出した (Peak - Base)。

まず、各チャンネルで Stroop 干渉があったチャンネルを同定するために Peak-Base を 1 sample t-test で有意な増加を示したチャンネルは 11 チャンネルとなった (1 sample t-test, $p < \text{FDR } 0.05$) (Laird et al., 2005, Derrfuss et al., 2005)。その後、これらのチャンネルを解剖ラベルに基づいてエリアに分けて ANOVA を行った。その結果、コンディションによる主効果があったチャンネルは ch 2, 6, 9 area ($F_{(1,19)} = 7.6, p < \text{FDR } 0.05$), Ch 3, 7, 10area, condition ($F_{(1,19)} = 6.9, p < \text{FDR } 0.05$), Ch 13, 14, 16, 17, condition ($F_{(1,19)} = 6.8, p < \text{FDR } 0.05$), Ch 37 condition ($F_{(1,19)} = 5.0, p < \text{FDR } 0.05$)となった。セッションによる主効果では ch 2, 6, 9 session ($F_{(1,19)} = 0.2, \text{N.S.}$), Ch 3,7,10 area ($F_{(1,19)} = 0.4, \text{N.S.}$), Ch 13, 14, 16, 17 session ($F_{(1,19)} = 0.0, \text{N.S.}$), Ch 37 ($F_{(1,19)} = 0.1, \text{N.S.}$) となった。また、コンディションとセッションの交互作用は ch 2, 6, 9 ($F_{(1,19)} = 2.9, \text{N.S.}$), Ch 3, 7, 10area ($F_{(1,19)} = 7.2, p < \text{FDR } 0.05$), Ch 13, 14, 16, 17 ($F_{(1,19)} = 14.78, p < \text{FDR } 0.001$), Ch 37 ($F_{(1,19)} = 3.2, \text{N.S.}$)であった。交互作用があった Ch 3, 7, 10 と Ch 13, 14, 16, 17 領域に対して Post hoc として 1 sample t-test (Post (I - N) - Pre (I - N)) を行ったところ, ch 13, 14, 16, 17 ($t = 2.9, \text{df} = 19, p < \text{FDR } 0.05, 1 \text{ sample t-test}$) において有意差が確認された。これらの結果だけでは Simpson's paradox によって活性が有意でないと判定されたチャンネルがあるため、チャンネルごとに 1 sample t-test を行い活性の変化をみた。

1 sample t-test を行ったところ, pre - EX では左半球の中前頭回 (Ch 2, 3, 7, 9, 10, 13, 14, 16, 17: two-tailed t-test $p < \text{FDR } 0.05$) の広い範囲と右の一部 (Ch 37)で増加が有意となった。これらの活性は Stroop 干渉による増加であると言える。post - EX ではほぼす

すべてのチャンネルで有意な増加となった (two - tailed, one-sample t-test $p < \text{FDR } 0.05$, Fig. 34). 運動による効果を見るために pre - Ex と post - Ex の差を 1 sample t-test で検定したところ左半球の外側部 (Ch 12, 16, 22) と右半球の前頭極, 外側部(Ch 27, 31, 40, 43) を中心にした活性が確認された (FDR: $p < 0.05$, two-tailed, one-sample t-test, Fig. 34). コントロール群では pre - CTL では左の外側部で活性が見られたが, post - CTL では Stroop 干渉による増加は無くなった. pre - CTL と post - CTL を比較したところ Ch 7 と Ch 14 で有意な減少が確認された.

3-4. RT と rCBF の相関

RT と rCBF の相関について Spearman の相関係数を用いて解析したところ, 有意な相関を確認することはできなかった. そこで, データの動きをみるため McNemar 検定を用いて RT と rCBF の関係をみた. その結果, Ex - Ch2, 6, 9 ($\chi^2_{\text{mc}} = 7.69$: $df = 1$, $p < 0.01$), Ex - Ch 3, 7, 10 ($\chi^2_{\text{mc}} = 8.07$: $df = 1$, $p < 0.001$), Ex - Ch13, 14, 16, 17 ($\chi^2_{\text{mc}} = 10.89$: $df = 1$, $p < 0.001$), Ex - Ch 37 ($\chi^2_{\text{mc}} = 9.09$: $df = 1$, $p < 0.01$) となり, RT と rCBF は同じ方向へ推移していることが明らかになった. これは互いに相関関係があるということもできる. 一方, コントロール群では CTL - Ch 2, 6, 9 ($\chi^2_{\text{mc}} = 0$: $df = 1$, N.S.), CTL - Ch 3, 7, 10 ($\chi^2_{\text{mc}} = 0.36$: $df = 1$, N.S.), CTL - Ch 13, 14, 16, 17 ($\chi^2_{\text{mc}} = 1.78$: $df = 1$, N.S.), CTL - Ch 37 ($\chi^2_{\text{mc}} = 0$: $df = 1$, N.S.) となり相関は確認されなかった.

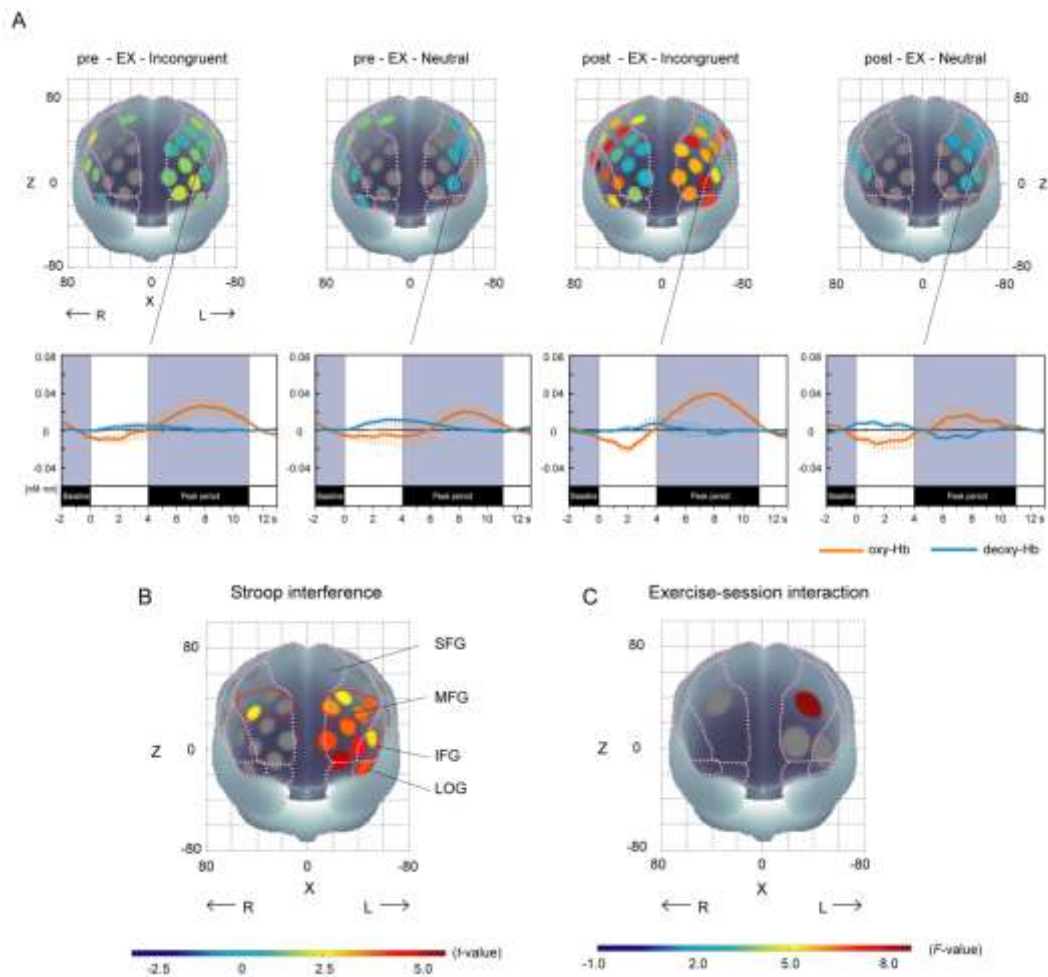


Fig. 34 Results of functional analysis.

(A) Cortical activation pattern during Stroop test at pre-EX and post-EX sessions. T-maps of oxy-Hb signal change for [peak period - base line] contrasts are shown in the upper row. T-values are shown according to the color bar. The channels that did not reach the significance level ($p < \text{FDR } 0.05$) are gray. The graphs on the lower row show the time lines of oxy-Hb and deoxy-Hb signals from a representative channel (CH16), which had the highest t-value for Stroop-interference contrast in pre-Ex/pre-Ctl conditions in the left DLPFC ROI (refer to B). Error bars indicate standard deviation at given time points. Each time line is adjusted to the average value of the baseline period. Oxy-Hb and deoxy-Hb signals are shown in arbitrary units ($\text{mM} \cdot \text{mm}$). (B) T-map of oxy-Hb showing Stroop interference effect (incongruent-neutral) at pre-EX and pre-CTL session average. Red solid

lines indicate the ROIs based on the anatomical labeling. Other descriptions are as in (A). (C) F-map of oxy-Hb signal change showing the interaction between exercise (EX and CTL) and session (pre and post) conditions. Locations and activations for the four ROIs (left and right DLPFC, left FPA, and left aVLPFC) are shown. The center of a circle represents the centroid of the channels consisting the ROI. Other descriptions are as in (A).

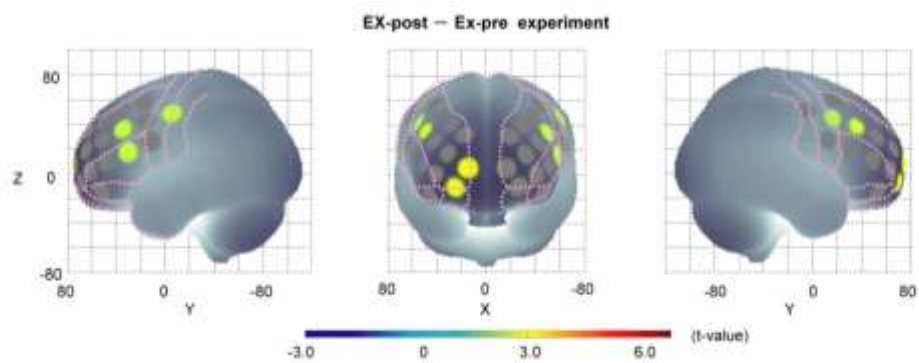


Fig. 35 T-map of oxy-Hb signal change

T-map of oxy-Hb signal change showing the effect of exercise on Stroop interference (post (incongruent- neutral) - pre (incongruent-neutral)). Left lateral, frontal, and right lateral views are shown. The color codes are as in bottom color-bar.

4. 考察

今回の実験では、一過性の中強度運動後に左 DLPFC の神経活動が向上したことにより RT が有意に短縮したことが明らかになった。左 DLPFC が Stroop 干渉に関与することは、近年多くの fNIRS の研究で同様の報告がされている (Schroeter et al., 2002, Schroeter et al., 2004b, Menz et al., 2006)。本来、Stroop 干渉で活動する場所は ACC (anterior cingulate cortex) を中心にするとされているが (Carter et al., 2000) fNIRS では機械の特性によって測定することが不可能である (Villringer et al., 1993)。しかし、fMRI でも DLPFC が Stroop 干渉に関与することから (Leung et al., 2000, Banich et al., 2000, Milham et al., 2002)、今回の結果は前頭前野の認知機能を反映する rCBF であることに間違いはない (Fig. 35)。

今回の実験では運動後に Stroop 干渉 (incongruent-neutral) による反応時間が短縮した。Davranche and Audiffren et al. (2004) は 50% $\dot{V}O_{2max}$ 強度の運動が最も反応時間を短縮させることを報告している。CWST を用いて運動の効果を見たものでは Hogervorst (1996) によるものがある。これらの報告では一貫して運動後に反応時間が短縮することから、我々の実験結果を肯定するものである。しかし、これらの報告では RT だけで神経活動にまで言及したものは無い。また、エラー数では運動による変化が見られなかった点に関して、pre-EX から正答率がきわめて高かったことが原因だと思われる。これは、他の報告でも同様に RT は短縮するが、エラー数は変化しない (Schroeter et al., 2002)。

次に、rCBF は運動群、コントロール群ともに Stroop 干渉で左半球中心に血流応答が増加した。これは先行研究に一致する結果である (Schroeter et al., 2002, Schroeter et al., 2003, Schroeter et al., 2004b)。運動群の post-session では Ch 13, 14, 16, 17 が最も強く活性化された。これらの領域は CWST で活動が亢進する DLPFC である (Ehlis et al., 2005)。RT が短縮した結果を踏まえてこの DLPFC (Ch13, 14, 16, 17) において血流応答が増加

したことが Stroop 干渉を効率よく解決させるようになったと考えられる。今回、spearman の相関係数を用いて RT と rCBF の関係をみたが有意な相関は無かった。(Schroeter et al., 2002)らは反応時間と rCBF に有意な相関関係を出しているが、実験の被験者数が 2 倍近く違う。これが Spearman の相関係数で有意とならなかった原因だと考えられる。また、今回の post - EX ではバラつきが小さく Restricted range が原因であるという考え方もできる。これは運動による効果は各人とも同じ、一定すぎたためバラつきが小さくなり rCBF の増加量に対する順位が前後してしまったことが原因だと考えられる。この点を考慮して McNemar 検定で RT と rCBF を検定したところ全体は同一方向に動いていることが確認できた。つまり、運動による RT の短縮と rCBF は同じ方向性を持って変化しているということから、この 2 つのパラメーターは相関関係があるのと同様の結果であると言える。Stroop 干渉に関連した DLPFC の活性は、課題を解決する際のプロセスの現れであるということが出来る (Banich et al., 2000, Banich et al., 2001)。

以上の結果から運動後に RT が短縮したのは DLPFC を中心とする領域の活性が向上したことによるものと考えられる。運動が神経活動に与える影響として考えられるものとして、被験者の覚せいレベルの変化がある。運動をすることによって神経活動に促進効果をもたらされ覚醒度が向上したことが干渉を解決するスピードを速めた結果、反応時間が短縮した可能性が高い (Hogervorst et al., 1996)。また、先行研究では運動によるカテコラミンの変化が影響しているとの報告がある (Peyrin et al., 1987)。しかし、今回の結果からこれらがどの程度影響を与えているのかを明確にすることは出来ないが、今後の課題として検討する意義があると言える。

5. 要約

中強度運動が前頭前野のテスト課題に対する成績を高める効果に着目し、その効果の背景として関連部位の血行動態の促進を伴うかどうかを検証した結果、以下の知見を得た。

一過性の 50% $\dot{V}O_2\max$ 強度によるペダリング運動を行ったところ、

1. 中強度運動後に RT が有意に短縮する。このとき Stroop 干渉を反映する **Incongruent** と **Neutral** の差も有意に変化する。
2. 中強度運動による反応時間の短縮は、左 DLPFC の活動が増加することによるものである

これにより、一過性の中強度運動により向上する CWST の課題成績は左 DLPFC の活動が亢進することによる可能性が高いことが示唆される。

第 10 章 認知課題成績と rCBF 応答増加の連関を促す運動時間の検討 (研究課題 4)

1. 目的

運動と認知機能の関係について、運動の強度は高強度のものよりも低・中強度の有酸素運動の方が認知課題の成績を改善したという報告が多い (McMorris and Keen, 1994, Brisswalter et al., 1997, Kashihara and Nakahara, 2005, Davranche et al., 2006). また、どの程度の運動継続時間が最も認知機能の向上に適しているかは一致した見解は得られておらず、3 分間の $60\% \dot{V}o_{2max}$ ペダリング運動によって選択反応時間が安静時に比べ改善された報告 (Arcelin et al., 1997) や 45 分間のトレッドミル走が ST 課題の RT を短縮させた報告がある (Lichtman et al., 1983). しかしながら Arcelin(1997) らは 3 分間のペダリング運動によって選択反応時間が向上したことを報告していることから、最低でも 3 分以上の運動であれば認知機能が向上すると考えられる.

すでに研究課題 3 では 10 分間の中強度運動が認知課題成績と rCBF を向上させることを確認している. それを踏まえて、研究課題 4 では運動継続時間が異なる場合でも中強度運動の効果が認知課題成績と rCBF にあるか検討することを目的とした.

2. 方法

2-1. 被験者

被験者は健常な成人男子 8 名 (22.0 ± 1.4 歳) とした. 被験者には予め研究の目的, 方法を十分に説明し, 書面によって被験者になることの同意を得た. 実験はすべて筑波大学体育科倫理委員会規定に基づいて行った.

2-2. 実験手順

各被験者は時系列に漸増負荷運動実験で $\dot{V}o_{2max}$ を測定した. また, CWST になれるた

めに練習問題を 7 セット行い，反応時間が安定することを確認して本実験を行った。

実験の当日，被験者は 2 時間前までに食事を完了させ，前日からカフェイン及びアルコールの摂取を禁止した。

実験条件は運動継続時間が 1 分，5 分，10 分と運動を行わないコントロールの 4 種類とした。各被験者は実験に使用する装置およびプロトコルに十分に慣れたあと本実験を行った。運動は自転車エルゴメーターを用いて各被験者の $\dot{V}O_{2max}$ から算出した 50% $\dot{V}O_{2max}$ の固定負荷にセットした。実験プロトコルは Fig.36 に示した。被験者は 4 種類の実験を 1 日ずつ計 4 日に分けて行った。順序効果を考慮して被験者ごと行う実験条件はランダムにした。

2-3. fNIRS の装着

fNIRS の装着は研究課題 3 と同様の方法で装着した。

2-4. 統計処理

rCBF の解析には oxy-Hb を用いて，研究課題 3 と同様の方法で解析を行った。

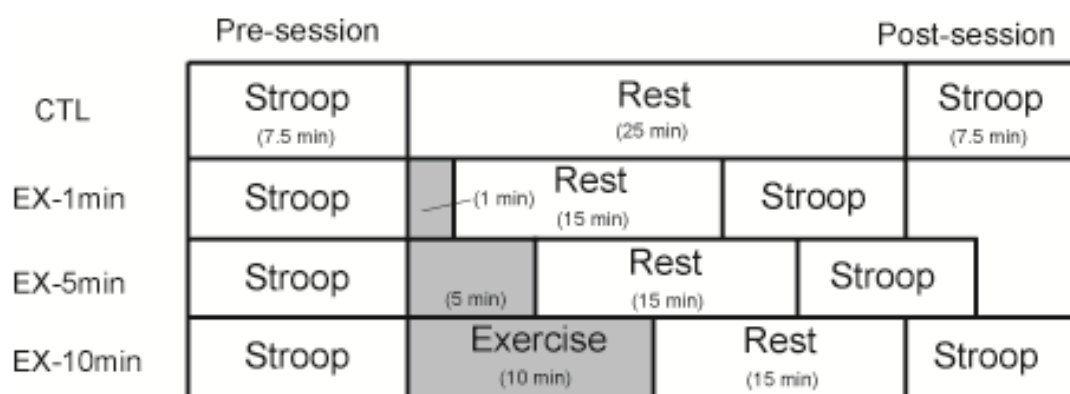


Fig. 36 Experimental design

All subjects attended exercise (EX) and control (CTL) experiments with the order being counterbalanced across subjects. In the EX experiment, subjects performed a Stroop task before and 15 min after the exercise. In the CTL experiment, subjects rested instead of performing exercise. Brain activity was monitored with fNIRS while subjects performed the Stroop task.

3. 結果

3-1. CWST の RT

CWST の結果は Fig. 37 と Table 16 に示した. 運動前後の反応時間を運動継続時間の違いで比較すると, control に対して EX - 1 min では反応時間に有意な差は見られなかった. しかし EX - 5min と EX - 10min では Incongruent の反応時間が短縮傾向にあった. 実験条件ごとに Post - Pre で RT のコントラストを算出した値を比較したところ, control に対して EX - 5min と EX - 10min は RT の短縮が有意であった.

3-2. CWST の rCBF

運動前後の rCBF の結果は Table 17 に示した. まず pre において incongruent 課題で hemodynamic response の増加が有意となったチャンネルはほとんどすべてのチャンネルとなった. この結果から, 脳の機能領域別にチャンネルを分け ANOVA を行ったところ図 38 に示すように EX - 5min と EX - 10min で t 値が大きくなった. 運動時間による影響を見るため活性領域別で F - map を作成したところ両側の DLPFC、FPA と左 aVLPFC が有意に高い値を示した (Fig. 39). この結果を多重比較検定したところ CTL と比較して EX - 10 でのみ血流増加が有意であることが確認された (Fig. 40).

4. 考察

CWST の RT は EX - 5 min と EX - 10 min において短縮することが確認された. また, EX - 1min に関しては control と比較して有意な短縮は無かった. 多くの先行研究から有酸素運動が認知課題の成績を向上させるとしているが (Brisswalter et al., 1997), 一般的に有酸素運動としての定義は 3 分前後であるため, 今回の実験の EX - 1 min では有酸素運動としての効果を得るに至らなかったと考えられる. 今回の実験結果は 3 ~ 5 分の運動によって選択反応時間を短縮させた Arcelin et al. (1997) の報告を指示するも

のである。本実験は $50\% \dot{V}O_{2max}$ でのペダリング運動であり、Delignieres (1994) らの提唱する最適運動強度は心拍数 120 回 / 分であるというものに一致する。また、40 ~ $60\% \dot{V}O_{2max}$ の間が最も認知機能に良い影響を与えるという報告とも一致する (Davranche et al., 2006)。

これまで CWST と rCBF に関する報告では中前頭回や下前頭溝、下前頭回において fMRI (Leung et al., 2000, Zysset et al., 2001) や PET (Carter et al., 1995), fNIRS (Schroeter et al., 2002, Schroeter et al., 2007) を用いて有意な rCBF の増大が確認されている。これらの報告で確認されている部位は IFJ を中心とする DLPFC である。今回我々が確認した ch2,6,9 の aVLPFC の活性はこれより前の部位である。この結果は Ehlis et al. (2005) の報告と一致する。一般的に左右の脳半球を比較した際、左半球が言語記憶や言語理解に関わることから左半球の活性が有意になることがある (Thirion et al., 2005)。そのため、今回用いた CWST は言語に関係した言語処理を中心とするため左半球の活性が強かく出たと考えられる。しかし、aVLPFC 以外の領域でも活性が高くなっており、ANOVA による effect size も大きい。よって、今回は被験者が少ないため顕著に活動が高まった aVLPFC だけ増加が有意になったが他の領域も 10 分間の運動の効果を享受している可能性が高い。今後は被験者数を増やす必要があるだろう。

Table 16. Stroop performance

	Pre			Post			
	Ave	±	S.D	Ave	±	S.D	
CTL	831.0	±	30.8	847.5	±	27.0	
EX-1	824.5	±	64.1	814.9	±	70.8	
EX-5	863.1	±	93.5	696.1	±	49.3	b
EX-10	924.8	±	76.9	746.1	±	47.0	b

Inter-subject mean and standard deviations of reaction times (ms) are shown for each session of each experiment (mean ± S.D.). b: marginally compared to control, $p < 0.1$

Table 17. Summary results of spatial and functional analysis

	CTL			EX-1			EX-5			EX-10					
	Ave	±	S.D	Ave	±	S.D	Ave	±	S.D	Ave	±	S.D			
Left															
aVLPFC	-0.03	±	0.01	-0.01	±	0.01	0.00	±	0.01	**	0.03	±	0.01	**	
FPA	-0.04	±	0.02	0.00	±	0.00	-0.01	±	0.01		0.03	±	0.01	**	
DLPFC	-0.02	±	0.01	0.00	±	0.00	**	0.00	±	0.00		0.02	±	0.01	**
Right															
aVLPFC	-0.02	±	0.01	0.01	±	0.01	0.00	±	0.01		0.02	±	0.01	**	
FPA	-0.04	±	0.02	0.01	±	0.01	**	-0.01	±	0.01		0.03	±	0.01	**
DLPFC	-0.01	±	0.01	0.01	±	0.00		0.00	±	0.01		0.03	±	0.01	**

Under Pre and Post columns, Δ oxy-Hb values from (incongruent-congruent) contrast are shown. Contrasts that were above the significance level are shown with asterisks ($p < 0.1$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, two-tailed.). All data are shown as mean \pm S.D. in units of mmol \cdot mm.

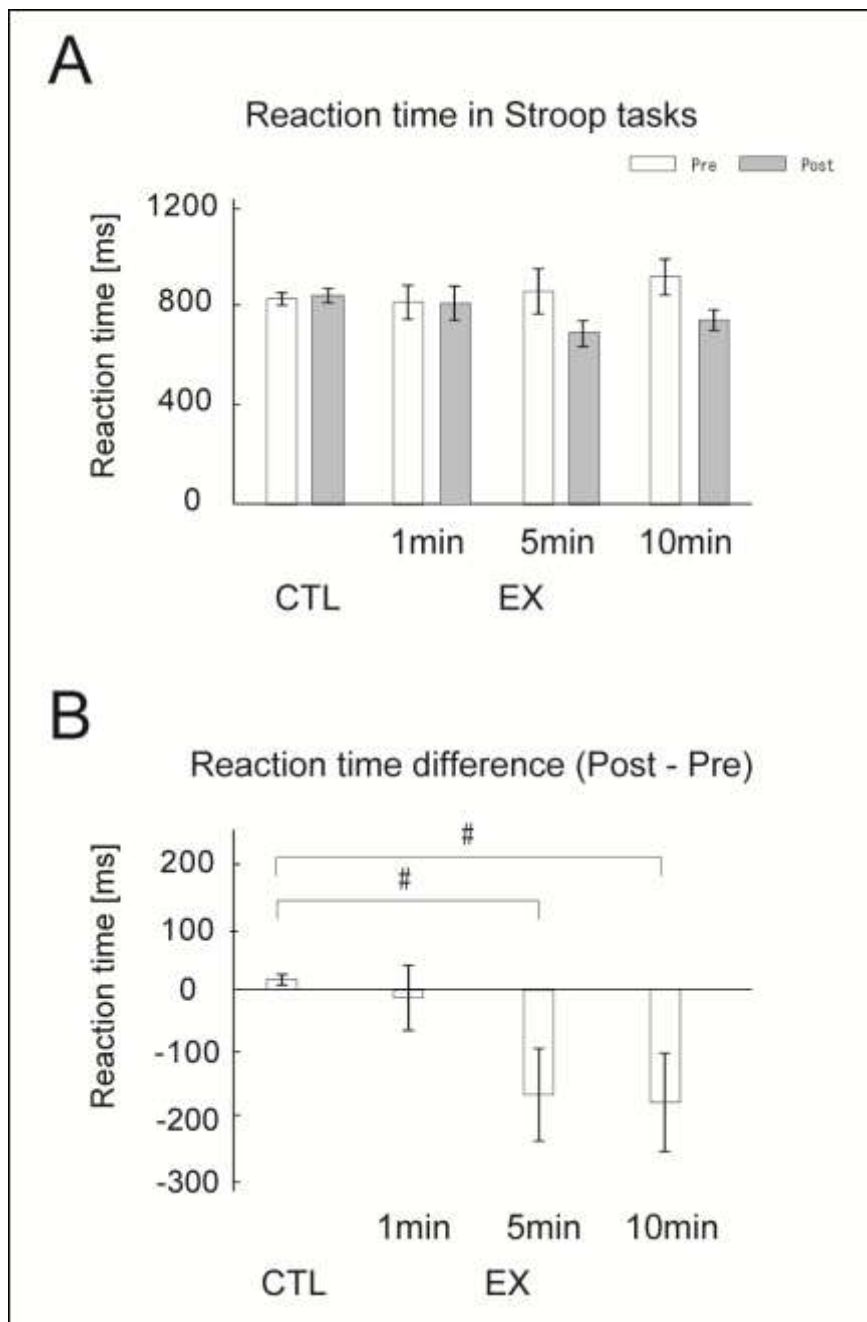


Fig. 37 Stroop task performance for each experiments

The left graph shows the mean reaction times (mean \pm standard deviation) for the different Stroop conditions. The right graph shows the mean difference of reaction times in incongruent and neutral conditions (mean \pm standard deviation) indicating the Stroop interference effect. Sessions and conditions that exhibited significantly different reaction times are indicated with asterisks (** $p < 0.01$).

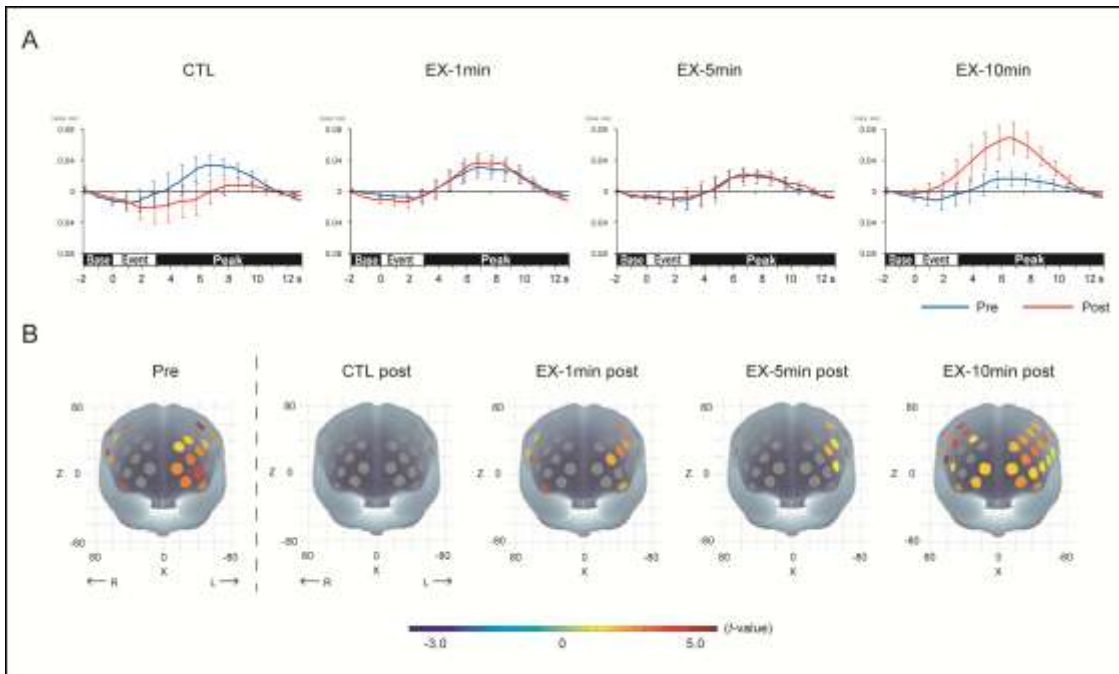


Fig. 38 Results of spatial and functional analysis.

(A) Baseline and peak periods are indicated. Time line is adjusted to the onset of the Stroop task. Oxy-Hb signal change is shown in arbitrary units (mM·mm).

(B) T-map of oxy-Hb signal change showing Stroop task effect. Functional results are based on oxy-Hb signal change. Estimated fNIRS channel locations are exhibited in MNI space. The center of the circle represents the most likely estimate for a given fNIRS channel. T-values are shown according to the color bar. The channels that did not reach the significance level ($p < \text{FDR } 0.05$) are gray. The channels excluded from the analysis due to low signal-to-noise ratio are not shown.

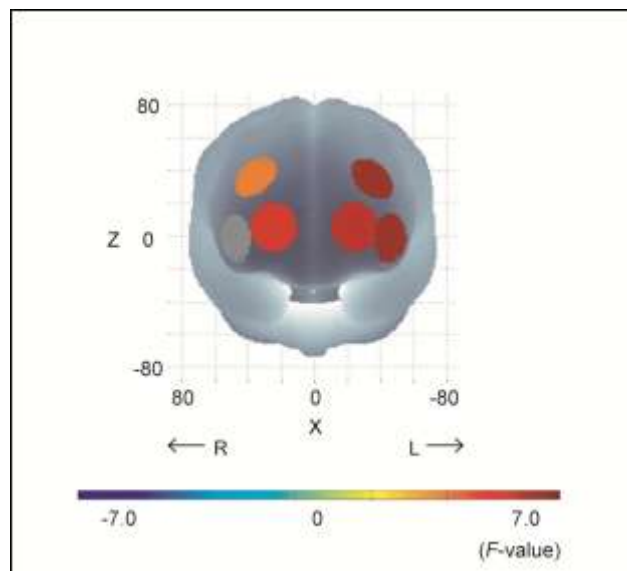


Fig. 39 Effects of exercise duration assessed by fNIRS.

F-map of oxy-Hb signal change showing the effects of exercise duration. Locations and activations for the five ROIs (left and right DLPFC, left and right FPA, and left aVLPFC) are shown. The center of a circle represents the centroid of the channels consisting the ROI. ROIs that were not analysed or that failed to reach statistical significance are gray.

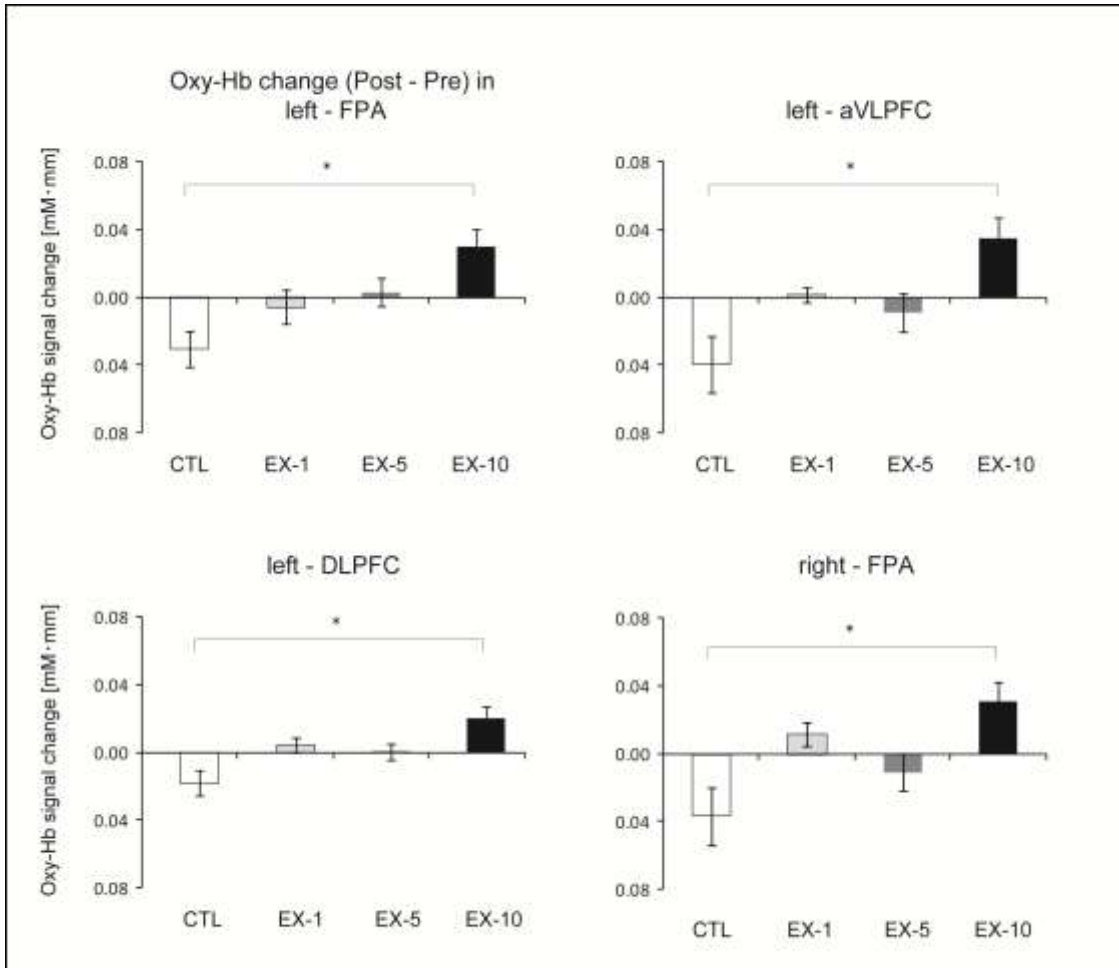


Fig. 40 Effects of exercise duration on incongruent Stroop task performance.

The mean difference of oxy-Hb signal increase during inongruent task between pre- and post-exercise conditions are shown for five ROIs. Error bars indicate standard deviations. Statistical significance for planned comparison against CTL condition are indicated with asterisks (* $p < 0.05$, Bonferroni-corrected).

5. 要約

本研究では運動継続時間の違いが認知機能にどのような影響を及ぼすか、またその変化の原因を局所脳血流動態から明らかにすることを目的として行った。その結果、以下の知見が得られた。

一過性の中強度運動を1分、5分、10分と行い、その効果を検証したところ、

1. 5分、10分の中強度運動でCWSTのRTはcontrolに比べて有意に短縮する
2. 10分間の中強度運動で前頭前野のaVLPFCにおける血流が有意に増加する

以上のことから、10分間のペダリング運動が血管の反応性を向上させ認知機能を改善させる可能性が示唆された。

第 1 1 章 総合討論

本論文では、一過性の中強度運動による認知機能の向上には特定の前頭前野における神経活動の亢進が伴うという仮説を検証することで、その課題関連部位を特定することを目的とした（研究課題 3）。これに先立ち、まず中強度運動による前額部皮膚血流と中大脳動脈血流速度の亢進と回復過程（研究課題 1 - 1）、中強度運動で高まる認知課題パフォーマンスは前頭前野局所脳血流応答を増加させるか？（研究課題 1 - 2）について検討した。この結果から、運動後に fNIRS を測定するための実験プロトコルを作成することが出来た。次に、ST 課題による rCBF の変化は Block デザインと ER デザインのどちらが正確に測定することができるか？（研究課題 2 - 1）、ER デザインにおける試行間間隔が前頭前野局所脳応答の増大に関与するか？試行間間隔の違いからの検討（研究課題 2 - 2）、CWST 時の事象関連応答としての rCBF 評価法の開発（研究課題 2 - 3）、CWST の課題成績と前頭前野局所脳血流応答に対する習熟レベルの関与（研究課題 2 - 4）について検討した。この結果から課題表示のタイミングと fNIRS の測定データの解析方法を確立することが出来た。これらの結果を踏まえて研究課題 3 では、中強度運動後の認知課題パフォーマンスは前頭前野の局所脳血流応答の増大に関与するか？について検討した。その結果、一過性の中強度運動による認知機能の向上は DLPFC の活動が更新することによることが示唆された。

一過性の運動で認知機能が向上することは古くから報告されており、中強度が至適運動強度である可能性が高いことが示唆されてきた (Tomporowski, 2003)。この理由として運動による覚醒度の向上が示唆されているが、強度ごとに非特異的な反応を示すことから、詳細は明らかにされていない。また、その際の神経基盤については明らかにされていなかった。そこで本論文では一過性の運動の効果を検証するために有用な fNIRS を用いて、この神経基盤を解明することとした。しかし fNIRS を用いてこのような報告は未だされていなかったため、fNIRS を用いるための方法論を確立すること

から行う必要があった。

fNIRS は頭皮上から近赤外線光を照射して大脳皮質の局所脳血流動態を測定する脳機能イメージングの 1 つである。簡便で非侵襲的であるというメリットを持つが加温による皮膚血流上昇が fNIRS 信号に影響を与える (Davis et al., 2006) という問題もある。そのため運動中の fNIRS 測定には SBF の変化が測定データに影響を与える可能性は高い (Buono et al., 2005)。Ide et al. (2000) は fNIRS を用いて運動中の rCBF に関する報告をしているが皮膚血流の増加や体動が伴う実験はノイズが混在してしまう。また運動による血管径の拡大や血圧の上昇も fNIRS データに影響を与えることから、神経活動により増加する vascular response とその他の要因による血流増加を区別する必要がある。これらの問題点を考慮することで初めて一過性の中強度運動による認知機能と神経活動の関連について明らかにすることが出来るのである。これらの報告を受けて今回の研究では 10 分間の中強度運動 ($50\% \dot{V}O_{2max}$) であれば運動終了後 15 分で SBF と MCA V_{mean} は安静時の値に戻ることが確認されたため fNIRS を運動後に測定する妥当性を証明することが出来たと考える (研究課題 1)。

研究課題 1 では測定した fNIRS にノイズが多いなどの課題が明確になったため、研究課題 2 では測定したデータの信頼性を向上させるために実験デザインとその解析方法などについて検証した。Ehllis et al. (2005) は BL デザインによる CWST の血流応答を測定しているが、Schroeter et al. (2002) らは初めて ER デザインで CWST による血流応答を報告した。fNIRS による実験デザインは BL デザインで行われることが多かったが、より正確な評価をするためには fMRI で用いられている ER デザインによる測定が望ましい。これらの先行研究から、我々は一過性の中強度運動を評価する実験デザインと解析法の検討を行った。その結果、BL デザインは被験者ごとのばらつきが大きいことため ER デザインのほうが CWST の rCBF を測定するのに適していることが分かった。次に ER デザインを用いるにあたり課題表示の間隔を決定する必要があった。血流応

答は神経活動による酸素需要を満たすために遅れて起こることが知られており (Schroeter et al., 2004a) fNIRS で測定した rCBF は 4 ~ 8 秒ほど遅れてピーク値になる。そのため異なる ITI で血流増加を比較したところ ITI 12 秒が ER デザインで rCBF を測定することが望ましいことを確認した。更に、解析方法についても RAW データにフィルタリングなどの処理をすることで事象関連の血流応答を抽出することが可能であることが明らかになった。これらの実験デザインや課題表示のタイミングの選定と、解析方法を確立したことが fNIRS のシグナルの弱さを克服することが可能となった。

一過性の運動における強度と認知機能の向上には逆 U 字の関係が示されており強度によって認知機能が低下することもある (Chmura et al., 1994)。認知機能の向上に効率のよい運動強度は心拍数 120 / 分が最適であり、 $\dot{V}O_{2max}$ の 40% から 60% において認知機能を向上させることが報告されている (Davranche et al., 2006)。しかし、超高強度運動時には認知機能が低下すると言った報告もある (Brisswalter et al., 1997)。これらの報告を受け、一過性の中強度運動による CWST の成績向上に伴い、課題に関連した脳部位の血流応答パターンが異なる”という仮説について検討した(研究課題 3)。その結果、安静時と運動後の CWST と課題中の hemodynamic response を比較したところ、運動後は RT が有意に短縮して DLPFC を中心に活性が増加した。RT の短縮と rCBF の増加から相関関係が確認されたことから運動による DLPFC の活性が増加したことにより神経活動が円滑になり反応時間が短縮したと考えられる。さらにこの中強度運動の効果が短時間でも再現することが出来るか検討したところ反応時間は 5 分以上で短縮し、10 分が最も短縮が大きいことが明らかになった。また CWST の rCBF は 10 分の運動で両側の DLPFC, FPA, aVLPFC を中心に増加することが明らかとなった。この結果は CWST で特異的に活動が亢進する領域と一致していることから (Banich et al., 2000, Zysset et al., 2001, Ruff et al., 2001, Milham et al., 2001, Banich et al., 2001, Norris et al., 2002, Milham et al., 2002, Mead et al., 2002, Milham et al., 2003), 5 分以上の運動が神経活

動に促通的な効果をもたらす認知機能を向上させると示唆される。

DLPFC は他領域の投射を受けそれらの情報を最終的に処理している領域であるという先行研究から、DLPFC の活動性の向上は他連合野の情報処理を円滑にするまたは正常化させることにつながる。このとき神経レベルの変化として考えられるものにシナプスにおける促通効果が挙げられる。DLPFC は運動遂行時に活性化される体性感覚野や扁桃核と繊維連絡があり、これらの領域から投射を受けて活性化される可能性は高い。この場合、運動中に直接もしくは間接的に DLPFC の神経活動が亢進することでシナプスの伝達効率が変化し、ST 課題の解決に必要な情報の伝達効率が向上した可能性が示唆される。この他に ST 課題の成績向上として考えられるものとして DLPFC が担う注意分配機能の向上が挙げられる。ST 課題などの干渉を有する認知課題では主に前帯状回が課題を解決し、そのとき注意力の分配をコントロールしているのが DLPFC であるという報告がある。課題を円滑に遂行するためには常に情報をアップデートする必要があるため注意力の分配が最適にコントロールされることで課題成績の向上につながる可能性は十分に考えられる。しかし、この機構を解明するためにはミリ秒単位の時間分解能を必要とするため本実験では言及することは出来ない。以上のことから一過性の中強度運動が ST 課題の反応時間を短縮させ、同時に DLPFC における血流応答が向上することを突き止めたことは運動と認知機能の関連について解明していくために有用な発見であると考えられる。これらの知見は、中強度運動後に向上する認知課題成績が前頭前野の課題関連部位である DLPFC を中心とする神経活動と関与することを示唆している。近年 DLPFC は快情動に関わり、喜びと左 DLPFC の活動が関連しているということが報告されている (Ueda *et al.*, 2003)。本研究で行った中強度運動では CWST 時の DLPFC の活動性を向上させることが明らかになったが、運動による DLPFC の活性化によって課題に集中できる心理状態を作り出した可能性も示唆される。今回の結果ならびに fNIRS を用いた本実験モデルは、今後異なる被験者群において運動に

よる認知機能向上を促す条件やその神経基盤を明らかにする上で有用となりうることから、アルツハイマー、うつ病、注意欠陥多動性障害などへの運動処方に応用することが出来るだろう。

本研究において、一過性の中強度運動が認知機能の向上は前頭前野の局所血流増加によるものであることが明らかとなった。今回の実験では運動終了後 15 分で認知課題を行ったがその効果がどの程度持続するかは分からない。今回の一過性の認知機能の積み重ねが日常的な運動習慣によって認知機能が向上させると考えられるが (Kramer et al., 2006), その直接的な関係について明らかにすることが今後の検討課題である。また運動直後では認知機能が向上したものの、その後どのような変化を示すのかも検討していく必要がある。今回の一連の実験は認知機能を向上させる中強度運動に特化してその神経基盤を解明した。運動の効果についてさらに追及するのであれば先行研究で認知機能が低下すると言われていた高強度による運動についても検討する必要がある (Brisswalter et al., 1997)。

第 1 2 章 総括

一過性の中強度運動による認知機能の向上には特定の前頭前野における神経活動の亢進が伴っているとする仮説を検証することで課題関連部位を特定することを目的とした（研究課題 3）。今日まで一過性の中強度運動が ST 課題に代表される実行機能を向上させるという報告は数多くあったが、前頭前野の課題関連部位を特定した上で神経活動の変化について報告したものは無かった。ST 課題は前頭前野外側部の IFJ (inferior frontal junction) を中心に神経活動が亢進することが報告されているため、今回はこの領域に ROI を絞り運動の効果を検証した。fNIRS は光路長に起因する定量性の問題が残されており脳機能研究に用いる際ひとつの障害となっていた。そのため本研究では fNIRS の定量性の問題に留意しつつ、計測されたデータを最大限に活用するために研究課題 1、2 で実験デザインや解析方法の工夫によるアプローチを行いながら実験を進めた。

【研究課題 1】中強度運動により増加する前額部皮膚血流と中大脳動脈血流速度の増加と回復過程

fNIRS は皮膚血流と中大脳動脈の影響を受けやすく測定データを歪める可能性が高い。そこで、中強度運動で亢進する前額部皮膚血流と中大脳動脈血流速度が安静時の値に回復するまでに要する時間を検討した結果 15 分で回復することが明らかになった。

【研究課題 2】CWST の ST 干渉に伴う前頭前野局所脳血流応答の測定と解析方法の確立

認知課題成績の向上は、前頭前野における情報処理過程の向上もしくはそれらが円滑に機能するようになった結果である。そこで、課題成績との神経基盤を明らかにする実験デザインは ER デザインであることが明らかとなった。ER デザインでは ITI を

12 秒に設定する必要がある。また実験に参加する被験者は習熟による影響を受けないことも確認できた。

【研究課題 3】中強度運動後の認知課題パフォーマンスは、前頭前野の局所脳血流応答の増大が関与するか？

ST 課題パフォーマンスが前頭前野の局所脳血流動態に関与するか検証した結果、CWST で特異的に活動が亢進する DLPFC をはじめ FPA, aVLPFC の血流応答が増大することが反応時間の短縮につながる事が明らかとなった。

【研究課題 4】認知課題成績と rCBF 応答増加の連関を促す運動時間の検討

一過性の中強度運動で高まる認知課題パフォーマンスは短時間でも再現出来るか検討したところ、反応時間は 5 分、10 分で短縮傾向にあることが分かった。また、反応時間の短縮が大きかった 10 分では両側の DLPFC, FPA, aVLPFC の活性増加が有意となった。

これら一連の実験から脳機能に由来する情報を抽出する実験モデルを確立して一過性の中強度運動による ST 課題の反応時間の短縮は前頭前野外側部と右前頭極の局所血流応答の増加と密接な関係にあることが明らかとなった。

第 1 3 章 結論

本研究では、fNIRS の限界を踏まえたうえで、運動による認知機能向上の背景にある前頭前野の課題関連部位の特定を試みた。研究課題 1 で実験の妥当性を検証するために 2 つの小課題を設定して実験のプロトコルの作成を行った。研究課題 1 では測定した fNIRS にノイズが多いなどの課題が明確になったため、研究課題 2 では測定したデータの信頼性を向上させるために 4 つの小課題を設定した。各実験では実験デザイン (研究課題 2-1)、課題表示のタイミング (研究課題 2-2)、解析方法 (研究課題 2-3)、被験者コントロール (研究課題 2-4) について検証した。

研究課題 1、2 の結果から最適な条件を設定して 50% $\dot{V}O_2\max$ で 10 分間のペダリング運動効果のみをみたところ、運動群においてのみ ST 課題の反応時間に有意な短縮を認めた (研究課題 3)。同時に両半球の前頭前野外側部と右前頭極の局所脳血流応答に有意な増大を確認した。これら反応時間の短縮と局所血流応答の増加は有意な相関関係があることから、一過性の中強度運動は前頭前野の背外側部の特定領域における促通効果を介して課題の成績 (反応時間) を高める可能性が初めて明らかとなった。また、中強度であっても異なる運動継続時間では同様の効果が得られない (研究課題 4)。

本論文で得られた結論を以下に示す。

1. 一過性の中強度運動は前頭前野の背外側部の特定領域における促通効果を介して課題の成績 (反応時間) を高める可能性が高い
2. 血流応答と認知課題を共に高めるには最低 10 分間の運動継続時間を必要とする。
3. 10 分間の中強度運動後に fNIRS を測定する際は 10 分間の安静を維持することで正確な測定が可能となる。
4. fNIRS の測定データのノイズは実験デザインや解析方法によって軽減することが出来る

謝辞

本論文の作成にあたり、終始ご懇篤なるご指導を賜りました指導教官 征矢英昭教授に心から感謝いたします。

筑波大学体育科学系 西平賀昭教授，大森肇准教授からも多くのご助言，ご協力を賜りました。（独）農業食品産業技術総合研究機構食品総合研究所食品機能研究領域食認知科学ユニット研究員である檀一平太氏，同研究所同ユニット特別研究員の岡本雅子氏をはじめ関連スタッフの方々には，大変貴重なご意見と叱咤激励をいただきましたことをここに深く感謝いたします。また験者及び被験者として実験に協力していただきました征矢研究室の大学院生，ならびに学群生の諸兄に対して改めて感謝いたします。

最後に、経済的なサポートをしてくれた両親、精神的に支えてくれた妻に心から感謝します。

引用文献

Aaslid R, Lindegaard KF, Sorteberg W, and Nornes H. Cerebral autoregulation dynamics in humans. *Stroke* 20: 45-52, 1989.

Alexander GE and Crutcher MD. Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci* 13: 266-271, 1990.

Arcelin R, Brisswalter J, and Delignieres D. EFFECT OF PHYSICAL EXERCISE DURATION ON DECISIONAL PERFORMANCE *Journal of Human Movement Studies* 32: 123-140, 1997.

Banich MT, Milham MP, Atchley R, Cohen NJ, Webb A, Wszalek T, Kramer AF, Liang ZP, Wright A, Shenker J, and Magin R. fMRI studies of Stroop tasks reveal unique roles of anterior and posterior brain systems in attentional selection. *J Cogn Neurosci* 12: 988-1000, 2000.

Banich MT, Milham MP, Jacobson BL, Webb A, Wszalek T, Cohen NJ, and Kramer AF. Attentional selection and the processing of task-irrelevant information: insights from fMRI examinations of the Stroop task. *Prog Brain Res* 134: 459-470, 2001.

Barbas H and Pandya DN. Architecture and frontal cortical connections of the premotor cortex (area 6) in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 256: 211-228, 1987.

Barkley RA. Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: A Handbook for Diagnosis and Treatment. *Guilford Pr*, 1998.

Brett M, Johnsrude IS, and Owen AM. The problem of functional localization in the human brain. *Nat Rev Neurosci* 3: 243-249, 2002.

Brisswalter J, Arcelin R, Audiffren M, and Delignieres D. Influence of physical exercise on simple reaction time: effect of physical fitness. *Percept Mot Skills* 85: 1019-1027, 1997.

Brys M, Brown CM, Marthol H, Franta R, and Hilz MJ. Dynamic cerebral autoregulation

remains stable during physical challenge in healthy persons. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285: H1048-1054, 2003.

Buono MJ, Miller PW, Hom C, Pozos RS, and Kolkhorst FW. Skin blood flow affects in vivo near-infrared spectroscopy measurements in human skeletal muscle. *Jpn J Physiol* 55: 241-244, 2005.

Carter CS, Macdonald AM, Botvinick M, Ross LL, Stenger VA, Noll D, and Cohen JD. Parsing executive processes: strategic vs. evaluative functions of the anterior cingulate cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 1944-1948, 2000.

Carter CS, Mintun M, and Cohen JD. Interference and facilitation effects during selective attention: an H215O PET study of Stroop task performance. *Neuroimage* 2: 264-272, 1995.

Chmura J, Nazar K, and Kaciuba-Uscilko H. Choice reaction time during graded exercise in relation to blood lactate and plasma catecholamine thresholds. *Int J Sports Med* 15: 172-176, 1994.

Cian C, Barraud PA, Melin B, and Raphel C. Effects of fluid ingestion on cognitive function after heat stress or exercise-induced dehydration. *Int J Psychophysiol* 42: 243-251, 2001.

Colcombe S and Kramer AF. Fitness effects on the cognitive function of older adults: a meta-analytic study. *Psychol Sci* 14: 125-130, 2003.

Colcombe SJ, Erickson KI, Scalf PE, Kim JS, Prakash R, McAuley E, Elavsky S, Marquez DX, Hu L, and Kramer AF. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 61: 1166-1170, 2006.

Colcombe SJ, Kramer AF, McAuley E, Erickson KI, and Scalf P. Neurocognitive aging and cardiovascular fitness: recent findings and future directions. *J Mol Neurosci* 24: 9-14, 2004.

Collins DL, Neelin P, Peters TM, and Evans AC. Automatic 3D intersubject registration of MR volumetric data in standardized Talairach space. *J Comput Assist Tomogr* 18: 192-205,

1994.

Courtney SM, Petit L, Maisog JM, Ungerleider LG, and Haxby JV. An Area Specialized for Spatial Working Memory in Human Frontal Cortex *Science* 279: 1347 - 1351, 1998.

Davis SL, Fadel PJ, Cui J, Thomas GD, and Crandall CG. Skin blood flow influences near-infrared spectroscopy-derived measurements of tissue oxygenation during heat stress. *J Appl Physiol* 100: 221-224, 2006.

Davranche K, Audiffren M, and Denjean A. A distributional analysis of the effect of physical exercise on a choice reaction time task. *J Sports Sci* 24: 323-329, 2006.

Delignières. D, Brisswalter. J, and Legros. P. INFLUENCE OF PHYSICAL EXERCISE ON CHOICE REACTION TIME IN SPORTS EXPERTS: THE MEDIATING ROLE OF RESOURCE ALLOCATION. *Journal of Human Movement Studies* 27 173-188 1994.

Derrfuss J, Brass M, Neumann J, and von Cramon DY. Involvement of the inferior frontal junction in cognitive control: meta-analyses of switching and Stroop studies. *Hum Brain Mapp* 25: 22-34, 2005.

Dickerson BC and Sperling RA. Large-scale functional brain network abnormalities in Alzheimer's disease: insights from functional neuroimaging. *Behav Neurol* 21: 63-75, 2009.

Ebmeier K, Rose E, and Steele D. Cognitive impairment and fMRI in major depression. *Neurotox Res* 10: 87-92, 2006.

Ehlis AC, Herrmann MJ, Wagener A, and Fallgatter AJ. Multi-channel near-infrared spectroscopy detects specific inferior-frontal activation during incongruent Stroop trials. *Biol Psychol* 69: 315-331, 2005.

Eriksen B and Eriksen C. Effects of noise letters in the identification of target letters in a non-search task. *Percept Psychophys* 16: 143-149, 1974.

Fallgatter AJ, Roesler M, Sitzmann L, Heidrich A, Mueller TJ, and Strik WK. Loss of

functional hemispheric asymmetry in Alzheimer's dementia assessed with near-infrared spectroscopy. *Brain Res Cogn Brain Res* 6: 67-72, 1997.

Friedland RP, Fritsch T, Smyth KA, Koss E, Lerner AJ, Chen CH, Petot GJ, and Debanne SM. Patients with Alzheimer's disease have reduced activities in midlife compared with healthy control-group members. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 3440-3445, 2001.

Harada T, Okagawa S, and Kubota K. Jogging improved performance of a behavioral branching task: implications for prefrontal activation. *Neurosci Res* 49: 325-337, 2004.

Haydon PG and Carmignoto G. Astrocyte control of synaptic transmission and neurovascular coupling. *Physiol Rev* 86: 1009-1031, 2006.

Hellstrom G and Wahlgren NG. Physical exercise increases middle cerebral artery blood flow velocity. *Neurosurg Rev* 16: 151-156, 1993.

Hillman CH, Erickson KI, and Kramer AF. Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nat Rev Neurosci* 9: 58-65, 2008.

Hillman CH, Pontifex MB, Raine LB, Castelli DM, Hall EE, and Kramer AF. The effect of acute treadmill walking on cognitive control and academic achievement in preadolescent children. *Neuroscience* 159: 1044-1054, 2009.

Hock C, Muller-Spahn F, Schuh-Hofer S, Hofmann M, Dirnagl U, and Villringer A. Age dependency of changes in cerebral hemoglobin oxygenation during brain activation: a near-infrared spectroscopy study. *J Cereb Blood Flow Metab* 15: 1103-1108, 1995.

Hock C, Villringer K, Muller-Spahn F, Wenzel R, Heekeren H, Schuh-Hofer S, Hofmann M, Minoshima S, Schwaiger M, Dirnagl U, and Villringer A. Decrease in parietal cerebral hemoglobin oxygenation during performance of a verbal fluency task in patients with Alzheimer's disease monitored by means of near-infrared spectroscopy (NIRS)--correlation with simultaneous rCBF-PET measurements. *Brain Res* 755: 293-303, 1997.

Hogervorst E, Riedel W, Jeukendrup A, and Jolles J. Cognitive performance after strenuous physical exercise. *Percept Mot Skills* 83: 479-488, 1996.

Hund-Georgiadis M, Zysset S, Naganawa S, Norris DG, and Von Cramon DY. Determination of cerebrovascular reactivity by means of FMRI signal changes in cerebral microangiopathy: a correlation with morphological abnormalities. *Cerebrovasc Dis* 16: 158-165, 2003.

Ide K, Pott F, Van Lieshout JJ, and Secher NH. Middle cerebral artery blood velocity depends on cardiac output during exercise with a large muscle mass. *Acta Physiol Scand* 162: 13-20, 1998.

Ide K and Secher NH. Cerebral blood flow and metabolism during exercise. *Prog Neurobiol* 61: 397-414, 2000.

Indefrey P and Levelt WJM. The neural correlates of language production. *Cambridge, Mass : MIT Press:* 845-865, 2000

Ito Y, Kennan RP, Watanabe E, and Koizumi H. Assessment of heating effects in skin during continuous wave near infrared spectroscopy. *J Biomed Opt* 5: 383-390, 2000.

James V H, Elizabeth A, M Ha, and Gobbinia I. Human neural systems for face recognition and social communication. *Biological Psychiatry* 51: 59-67, 2001.

Jorgensen LG, Perko M, Hanel B, Schroeder TV, and Secher NH. Middle cerebral artery flow velocity and blood flow during exercise and muscle ischemia in humans. *J Appl Physiol* 72: 1123-1132, 1992.

Jourdan Moser S, Cutini S, Weber P, and Schroeter ML. Right prefrontal brain activation due to Stroop interference is altered in attention-deficit hyperactivity disorder - A functional near-infrared spectroscopy study. *Psychiatry Res* 173: 190-195, 2009.

Kamijo K, Nishihira Y, Hatta A, Kaneda T, Wasaka T, Kida T, and Kuroiwa K. Differential

influences of exercise intensity on information processing in the central nervous system.

Eur J Appl Physiol 92: 305-311, 2004.

Kamijo K, Nishihira Y, Higashiura T, and Kuroiwa K. The interactive effect of exercise intensity and task difficulty on human cognitive processing. *Int J Psychophysiol* 65: 114-121, 2007.

Kashihara K and Nakahara Y. Short-term effect of physical exercise at lactate threshold on choice reaction time. *Percept Mot Skills* 100: 275-291, 2005.

Kato T, Kamei A, Takashima S, and Ozaki T. Human visual cortical function during photic stimulation monitoring by means of near-infrared spectroscopy. *J Cereb Blood Flow Metab* 13: 516-520, 1993.

Keith A. Anatomy and freehand examination techniques. "Transcranial Doppler". *Raven Press, New York*: 9-31, 1992.

Kempermann G, Kuhn HG, and Gage FH. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386: 493-495, 1997.

Kleinschmidt A, Obrig H, Requardt M, Merboldt KD, Dirnagl U, Villringer A, and Frahm J. Simultaneous recording of cerebral blood oxygenation changes during human brain activation by magnetic resonance imaging and near-infrared spectroscopy. *J Cereb Blood Flow Metab* 16: 817-826, 1996.

Koizumi H, Yamamoto T, Maki A, Yamashita Y, Sato H, Kawaguchi H, and Ichikawa N. Optical topography: practical problems and new applications. *Appl Opt* 42: 3054-3062, 2003.

Koizumi H, Yamashita Y, Maki A, Yamamoto T, Ito Y, Itagaki H, and Kennan R. Higher-Order Brain Function Analysis by Trans-Cranial Dynamic Near-Infrared Spectroscopy Imaging. *J Biomed* 4, 1999.

- Kramer AF, Erickson KI, and Colcombe SJ.** Exercise, cognition, and the aging brain. *J Appl Physiol* 101: 1237-1242, 2006.
- Kramer AF, Hahn S, Cohen NJ, Banich MT, McAuley E, Harrison CR, Chason J, Vakil E, Bardell L, Boileau RA, and Colcombe A.** Ageing, fitness and neurocognitive function. *Nature* 400: 418-419, 1999.
- Kwee IL and Nakada T.** Dorsolateral prefrontal lobe activation declines significantly with age--functional NIRS study. *J Neurol* 250: 525-529, 2003.
- Laird AR, McMillan KM, Lancaster JL, Kochunov P, Turkeltaub PE, Pardo JV, and Fox PT.** A comparison of label-based review and ALE meta-analysis in the Stroop task. *Hum Brain Mapp* 25: 6-21, 2005.
- Lauritzen M.** Relationship of spikes, synaptic activity, and local changes of cerebral blood flow. *J Cereb Blood Flow Metab* 21: 1367-1383, 2001.
- Leung HC, Skudlarski P, Gatenby JC, Peterson BS, and Gore JC.** An event-related functional MRI study of the stroop color word interference task. *Cereb Cortex* 10: 552-560, 2000.
- Lichtman, Sharla, Poser, and Ernest G.** The effects of exercise on mood and cognitive functioning. *Journal of Psychosomatic Research* 27: 43-52, 1983.
- Luppino G, Matelli M, Camarda R, and Rizzolatti G.** Corticocortical connections of area F3 (SMA-proper) and area F6 (pre-SMA) in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 338: 114-140, 1993.
- MacDonald AW, 3rd, Cohen JD, Stenger VA, and Carter CS.** Dissociating the role of the dorsolateral prefrontal and anterior cingulate cortex in cognitive control. *Science* 288: 1835-1838, 2000.
- MacLeod CM.** Half a century of research on the Stroop effect: an integrative review.

Psychol Bull 109: 163-203, 1991.

Maess B, Friederici AD, Damian M, Meyer AS, and Levelt WJ. Semantic category interference in overt picture naming: sharpening current density localization by PCA. *J Cogn Neurosci* 14: 455-462, 2002.

Matsuda G and Hiraki K. Sustained decrease in oxygenated hemoglobin during video games in the dorsal prefrontal cortex: a NIRS study of children. *Neuroimage* 29: 706-711, 2006.

McMorris T and Keen P. Effect of exercise on simple reaction times of recreational athletes. *Percept Mot Skills* 78: 123-130, 1994.

Mead LA, Mayer AR, Bobholz JA, Woodley SJ, Cunningham JM, Hammeke TA, and Rao SM. Neural basis of the Stroop interference task: response competition or selective attention? *J Int Neuropsychol Soc* 8: 735-742, 2002.

Melchior H and Hildebrandt G. [Cutaneous blood flow in various body regions during work]. *Int Z Angew Physiol* 24: 68-80, 1967.

Menz MM, Neumann J, Muller K, and Zysset S. Variability of the BOLD response over time: an examination of within-session differences. *Neuroimage* 32: 1185-1194, 2006.

Milham MP, Banich MT, and Barad V. Competition for priority in processing increases prefrontal cortex's involvement in top-down control: an event-related fMRI study of the stroop task. *Brain Res Cogn Brain Res* 17: 212-222, 2003.

Milham MP, Banich MT, Webb A, Barad V, Cohen NJ, Wszalek T, and Kramer AF. The relative involvement of anterior cingulate and prefrontal cortex in attentional control depends on nature of conflict. *Brain Res Cogn Brain Res* 12: 467-473, 2001.

Milham MP, Erickson KI, Banich MT, Kramer AF, Webb A, Wszalek T, and Cohen NJ. Attentional control in the aging brain: insights from an fMRI study of the stroop task.

Brain Cogn 49: 277-296, 2002.

Miyai I, Tanabe HC, Sase I, Eda H, Oda I, Konishi I, Tsunazawa Y, Suzuki T, Yanagida T, and Kubota K. Cortical mapping of gait in humans: a near-infrared spectroscopic topography study. *Neuroimage* 14: 1186-1192, 2001.

Molinari F, Liboni W, Grippi G, and Negri E. Relationship between oxygen supply and cerebral blood flow assessed by transcranial Doppler and near-infrared spectroscopy in healthy subjects during breath-holding. *J Neuroeng Rehabil* 3: 16, 2006.

Moraine JJ, Lamotte M, Berre J, Niset G, Leduc A, and Naeije R. Relationship of middle cerebral artery blood flow velocity to intensity during dynamic exercise in normal subjects. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 67: 35-38, 1993.

Neeper SA, Gomez-Pinilla F, Choi J, and Cotman CW. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res* 726: 49-56, 1996.

Norris DG, Zysset S, Mildner T, and Wiggins CJ. An investigation of the value of spin-echo-based fMRI using a Stroop color-word matching task and EPI at 3 T. *Neuroimage* 15: 719-726, 2002.

Obrig H and Villringer A. Beyond the visible--imaging the human brain with light. *J Cereb Blood Flow Metab* 23: 1-18, 2003.

Ogoh S, Fadel PJ, Zhang R, Selmer C, Jans O, Secher NH, and Raven PB. Middle cerebral artery flow velocity and pulse pressure during dynamic exercise in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288: H1526-1531, 2005.

Okamoto M, Dan H, Sakamoto K, Takeo K, Shimizu K, Kohno S, Oda I, Isobe S, Suzuki T, Kohyama K, and Dan I. Three-dimensional probabilistic anatomical cranio-cerebral correlation via the international 10-20 system oriented for transcranial functional brain

mapping. *Neuroimage* 21: 99-111, 2004.

Okamoto M and Dan I. Automated cortical projection of head-surface locations for transcranial functional brain mapping. *Neuroimage* 26: 18-28, 2005.

Pardo JV, Pardo PJ, Janer KW, and Raichle ME. The anterior cingulate cortex mediates processing selection in the Stroop attentional conflict paradigm. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87: 256-259, 1990.

Parekh PI, Blumenthal JA, Babyak MA, LaCaille R, Rowe S, Dancel L, Carney RM, Davis RD, and Palmer S. Gas exchange and exercise capacity affect neurocognitive performance in patients with lung disease. *Psychosom Med* 67: 425-432, 2005.

Peyrin L, Pequignot JM, Lacour JR, and Fourcade J. Relationships between catecholamine or 3-methoxy 4-hydroxy phenylglycol changes and the mental performance under submaximal exercise in man. *Psychopharmacology (Berl)* 93: 188-192, 1987.

Pott F, Ray CA, Olesen HL, Ide K, and Secher NH. Middle cerebral artery blood velocity, arterial diameter and muscle sympathetic nerve activity during post-exercise muscle ischaemia. *Acta Physiol Scand* 160: 43-47, 1997.

Prakash RS, Erickson KI, Colcombe SJ, Kim JS, Voss MW, and Kramer AF. Age-related differences in the involvement of the prefrontal cortex in attentional control. *Brain Cogn*, 2009.

Prins ND, van Dijk EJ, den Heijer T, Vermeer SE, Jolles J, Koudstaal PJ, Hofman A, and Breteler MM. Cerebral small-vessel disease and decline in information processing speed, executive function and memory. *Brain* 128: 2034-2041, 2005.

Roy C and Sherrington C. On the regulation of the blood supply of the brain. *J Physiol(London)* 11: 85-108, 1890.

Ruff CC, Woodward TS, Laurens KR, and Liddle PF. The role of the anterior cingulate

cortex in conflict processing: evidence from reverse stroop interference. *Neuroimage* 14: 1150-1158, 2001.

Sakai M and Suga N. Plasticity of the cochleotopic (frequency) map in specialized and nonspecialized auditory cortices. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 3507-3512, 2001.

Schreiber SJ, Gottschalk S, Weih M, Villringer A, and Valdueza JM. Assessment of blood flow velocity and diameter of the middle cerebral artery during the acetazolamide provocation test by use of transcranial Doppler sonography and MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 21: 1207-1211, 2000.

Schroeter ML, Cutini S, Wahl MM, Scheid R, and Yves von Cramon D. Neurovascular coupling is impaired in cerebral microangiopathy--An event-related Stroop study. *Neuroimage* 34: 26-34, 2007.

Schroeter ML, Zysset S, Kruggel F, and von Cramon DY. Age dependency of the hemodynamic response as measured by functional near-infrared spectroscopy. *Neuroimage* 19: 555-564, 2003.

Schroeter ML, Zysset S, Kupka T, Kruggel F, and Yves von Cramon D. Near-infrared spectroscopy can detect brain activity during a color-word matching Stroop task in an event-related design. *Hum Brain Mapp* 17: 61-71, 2002.

Schroeter ML, Zysset S, and von Cramon DY. Shortening intertrial intervals in event-related cognitive studies with near-infrared spectroscopy. *Neuroimage* 22: 341-346, 2004a.

Schroeter ML, Zysset S, and von Cramon DY. Shortening intertrial intervals in event-related cognitive studies with near-infrared spectroscopy. *Neuroimage* 22: 341-346, 2004a.

Schroeter ML, Zysset S, Wahl M, and von Cramon DY. Prefrontal activation due to Stroop

interference increases during development--an event-related fNIRS study. *Neuroimage* 23: 1317-1325, 2004b.

Schroeter ML, Zysset S, Wahl M, and von Cramon DY. Prefrontal activation due to Stroop interference increases during development--an event-related fNIRS study. *Neuroimage* 23: 1317-1325, 2004b.

Serrador JM, Picot PA, Rutt BK, Shoemaker JK, and Bondar RL. MRI measures of middle cerebral artery diameter in conscious humans during simulated orthostasis. *Stroke* 31: 1672-1678, 2000.

Shigeto Y. Current topics of neuroscience research on depression. 第129回日本医学会シンポジウム, 2005.

Singh AK and Dan I. Exploring the false discovery rate in multichannel NIRS. *Neuroimage* 33: 542-549, 2006.

Singh AK, Okamoto M, Dan H, Jurcak V, and Dan I. Spatial registration of multichannel multi-subject fNIRS data to MNI space without MRI. *Neuroimage* 27: 842-851, 2005.

Stroop J. Studies of interference in serial verbal reactions. *J Exp Psychol* 18: 643-662, 1935.

Stuss DT, Levine B, Alexander MP, Hong J, Palumbo C, Hamer L, Murphy KJ, and Izukawa D. Wisconsin Card Sorting Test performance in patients with focal frontal and posterior brain damage: effects of lesion location and test structure on separable cognitive processes. *Neuropsychologia* 38: 388-402, 2000.

Suzuki M, Miyai I, Ono T, Oda I, Konishi I, Kochiyama T, and Kubota K. Prefrontal and premotor cortices are involved in adapting walking and running speed on the treadmill: an optical imaging study. *Neuroimage* 23: 1020-1026, 2004.

Talairach J and Tournoux P. Co-planar Stereotactic Atlas of the Human Brain. 3-Dimensional Proportional System: An Approach to Cerebral Imaging. *Georg Thieme,*

Stuttgart, 1988.

Thirion B, Pinel P, and Poline JB. Finding landmarks in the functional brain: detection and use for group characterization. *Med Image Comput Comput Assist Interv Int Conf Med Image Comput Comput Assist Interv* 8: 476-483, 2005.

Tomporowski PD. Effects of acute bouts of exercise on cognition. *Acta Psychol (Amst)* 112: 297-324, 2003.

Tsuzuki D, Jurcak V, Singh AK, Okamoto M, Watanabe E, and Dan I. Virtual spatial registration of stand-alone fNIRS data to MNI space. *Neuroimage* 34: 1506-1518, 2007.

Ueda K, Okamoto Y, Okada G, Yamashita H, Hori T, and Yamawaki S. Brain activity during expectancy of emotional stimuli: an fMRI study. *Neuroreport* 14: 51-55, 2003.

van Praag H, Christie BR, Sejnowski TJ, and Gage FH. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 13427-13431, 1999.

Villringer A, Planck J, Hock C, Schleinkofer L, and Dirnagl U. Near infrared spectroscopy (NIRS): a new tool to study hemodynamic changes during activation of brain function in human adults. *Neurosci Lett* 154: 101-104, 1993.

Williamson JW, McColl R, Mathews D, Ginsburg M, and Mitchell JH. Activation of the insular cortex is affected by the intensity of exercise. *J Appl Physiol* 87: 1213-1219, 1999.

Yamamoto T and Yamashita Y. Noninvasive measurement of language function by using optical topography. *Proceedings of SPIE* 3597, 1999.

Yoshitake T, Kiyohara Y, Kato I, Ohmura T, Iwamoto H, Nakayama K, Ohmori S, Nomiya K, Kawano H, Ueda K, and et al. Incidence and risk factors of vascular dementia and Alzheimer's disease in a defined elderly Japanese population: the Hisayama Study. *Neurology* 45: 1161-1168, 1995.

Zysset S, Muller K, Lohmann G, and von Cramon DY. Color-word matching stroop task: separating interference and response conflict. *Neuroimage* 13: 29-36, 2001.