论著

文章编号:1000-5404(2008)20-1878-05

电针刺激内关穴 fMRI 可重复性的初步研究

胡建平[1],李银官[1],曹代荣[1],龚顺波[2] (福建医科大学附属第一医院:[1]影像科,[2]针灸科,福州 350000)

摘 要:目的 评估电针刺激内关穴 fMRI 脑区激活的可重复性。**方法** 健康成人志愿者 6 例,在不同时间行 3 次 fMRI 检查,每次每人分别接受右手简单对指(以下简称对指组)和电针刺激右侧内关穴(以下简称电针组)两项任务。通过计算 3 个不同时间 3 次 fMRI 检查激活脑区体积的重叠率($R_{overlap}$)和兴趣区(ROIs)内脑区激活强度的组内相关系数(ICC),对 2 项任务 fMRI 的可重复性进行评估。**结果** 对指组激活脑区体积的 $R_{overlap}$(34.24±9.49)显著高于电针组的 $R_{overlap}$(13.23±14.21);对指组 ROIs 内信号强度 ICC(0.69~0.80)显著高于电针组 ROIs 内信号强度 ICC(0.18~0.68);说明对指组脑区激活的可靠性较电针组高。对指组 ROIs 内激活信号强度显著高于电针组,说明对指组 fMRI 脑区激活的信噪比较电针组高。**结论** 相对于简单对指任务较为稳定的脑区激活,电针内关穴 fMRI 激活脑区和激活强度变异较大。电针内关穴 fMRI 激活脑区相对低的信噪比和低的敏感性是引起电针刺激重复性差的主要可能原因。将个体的功能数据进行组化研究,有助于提高电针内关穴 fMRI 的敏感性,提高激活脑区的可重复性。

关键词: 电针;功能磁共振成像;可重复性;内关穴,脑
中图法分类号: R245.97;R445.2;R816.1 **文献标识码:** A

Reproducibility of functional MR imaging during electroacupuncture stimulation at PC6 (neiguan)

HU Jian-ping[1], LI Yin-guan[1], CAO Dai-rong[1], GONG Shun-bo[2] ([1]Department of Medical Imaging, [2]Department of Acupuncture, The First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350108, China)

Abstract: Objective To assess the reproducibility of brain activation by functional MR imaging during electroacupuncture stimulation at PC6 (neiguan). **Methods** Six healthy adult volunteers participated in three identical scan sessions during different interval time. Each scan session consists of two functional tasks, an electroacupuncture stimulation (2 Hz) at PC6 and a control task of simple finger tapping. The reproducibility of brain responses was analyzed in terms of the overlap ratio of active volume within sessions and the ICC of active signal intensity in ROIs. **Results** The $R_{overlap}$ of the simple finger tapping task (34.24±9.49) was significantly higher than that of the electroacupuncture stimulation task (13.23±14.21). The range of ICC of ROIs in the simple finger tapping task (0.69–0.80) was significantly higher than that of the electroacupuncture stimulation task (0.18–0.68). The results above showed that the reliability of brain activation in the finger tapping task group was higher than that in the electroacupuncture stimulation task group. The active intensity of ROIs in the simple finger tapping task was significantly higher than that in the electroacupuncture stimulation task, indicating the signal to noise ratio of brain activation in the finger tapping task group was higher than that in the electroacupuncture stimulation task group. **Conclusion** In contrast to the relatively reliable activation evoked by the simple finger tapping task, the activation evoked by electroacupuncture stimulation task was much more variable. The main possible reason is that the relatively low signal to noise ratio of brain activation on fMRI and low sensitivity caused the lower reproducibility of electroacupuncture stimulation task. The group analysis in combination with the individual functional data may be utilized to improve the reproducibility of fMRI evoked by electroacupuncture stimulation at PC6 (neiguan).

Key words: electroacupuncture; fMRI; reproducibility; neiguan (PC6); brain

近年来,脑磁共振功能成像(functional MR imaging, fMRI)作为一种实时、无创的脑功能活动检查手段;已经应用于针刺穴位的研究。然而,作为一种新兴的技术,我们必须证实这些脑功能激活区的合理性和

作者简介:胡建平,男,福建省霞浦县人,硕士,主治医师,主要从事脑功能磁共振成像方面的研究。电话:(0591)87982309, E-mail: hujianping08@sohu.com
通信作者:李银官,电话:(0591)87982309, E-mail: lygyax@163.com
收稿日期:2008-08-06;修回日期:2008-08-27

可靠性。以往许多研究者[1]一直使用视觉观察评估 fMRI 的重复性。然而,这种方法是非定量研究,fMRI 不仅提供激活部位大小的信息,也提供了激活强度的信息。因此,定量的研究是必要的。本试验旨在探讨个体内电针刺激内关穴 fMRI 成像的可重复性。

1　资料与方法

1.1　实验对象

6 例健康成人志愿者,男性 3 例,女性 3 例,年龄 21 ~ 23 岁,平均年龄 22 岁,皆为右利手,无神经病及精神病史,近期内无服用镇静药史,女性避开月经期。受试者事先被告知要进行 3 次简单对指任务和电针刺激内关穴 fMRI 检查,并签署知情同意书。每次实验间隔时间为 5 ~ 7 d。

1.2　试验方案和刺激方案

每个受试者接受 3 次完全一样的 fMRI 扫描。每次扫描包括 2 个功能序列:首先进行对指任务 fMRI 扫描,然后嘱受试者在扫描床上头部不动静息 3 min 后进行电针任务 fMRI 扫描。简单对指运动任务以右手拇指依顺序轻轻触摸无名指、中指及食指;速度控制在 2 次/s。针刺由一位有经验针灸师执行,行基本手法产生“得气”感后。将电针仪的一极与针灸针相连,另一极接在外包湿纱布的薄铜板并平放在离针刺点稍远的皮肤上。每次每人均采用同一台电针仪,采用相同刺激频率(2 Hz),以受试者最大耐受为刺激强度,并且使受试者每次针刺的针感尽量相似。

对指运动和电针刺激实验采用组块设计(block design)。整个扫描过程中 5 次刺激任务(对指或电针刺激)组块为 5 个静息组块分隔。每个组块的时间长度为 30 s。

1.3　fMRI 数据的采集

使用 GE SIGNA INFINITY TWINSPEED1.5T 双梯度磁共振系统进行功能扫描。先用 BOLD-gradient EPI 序列以 AC-PC 线进行对指运动和电针刺激内关穴全脑功能成像扫描,扫描参数:层数:20 层;TR:3 000 ms,TE:60 ms,NEX:1,FA:90°,FOV:22 × 22 cm,矩阵 64 × 64,层厚为 5 mm,间隔 1 mm,扫描时间 5 min 15 s,其中前 15 s 为基线扫描,不进行数据采集。然后,应用 3D-FSPGR-IR-Prep 序列,采集 192 层头颅轴位 T_1WI 解剖图,用于脑激活区的空间定位,扫描参数为:TR:10 ms,TE:4.2 ms,FOV:22 cm × 22 cm,扫描层厚为 1.6 mm,矩阵为 512 × 512。

1.4　图像后处理

将采集的 fMRI 数据使用 SPM2 软件进行处理,对于运动校正过程中检测到头部三维平移超过 1.0 mm、三维旋转超过 1 ℃ 的志愿者数据予以舍弃。然后,使用通用线性模式对每个像素上的 fMRI 时间序列进行处理。采用单侧 t 检验,得出个体的脑功能激活图。

在个体研究中,对简单对指运动任务,我们设定激活统计阈值为 $P<0.05$(FEW correction),激活范围阈值为 10 个像素。对电针刺激任务,由于电针刺激引起的 fMRI 信号改变不如对指运动的信号改变敏感,我们设定相对不保守的激活统计阈值 $P<0.000\ 1$(uncorrected),激活范围阈值为 10 个像素。

在组分析上,我们将同一受试者不同时间,同一时间不同受试者的功能数据联接进行固定效应组分析(fixed-effects group analysis),以得出其平均组激活图。另外,我们对单个任务(对指或针刺)所有受试者不同时间的 18 个(6 × 3)功能对比图联接,按照随机效应模式(random effects model)进行单侧 t 检验,得出单个任务总的功能激活图。设定统计阈值为 $P<0.05$(FEW corrected),激活范围阈值为 10 个像素。

1.5　统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。fMRI 可靠性的测量指标为激活区重叠率(overlap ratio, $R_{overlap}$)和共同激活区激活强度的组内相关系数(intraclass correlation coefficient, ICC)。

重叠率($R_{overlap}$)的概念由 Rombouts 等[2]首先提出。它常用来评价个体间及组水平间脑激活区测试-再测试(test-retest)的可靠性。根据 Rombouts 和 Patrick[3]重叠率计算公式如下。

$$R_{overlap} = 3 \times V_{overlap} / (V_1 + V_2 + V_3)$$

$V_{overlap}$指的是通过统计学阈值的前后 3 次脑功能激活图间重叠部分脑区体积的大小;而 V_1、V_2和 V_3则指的是前后 3 次脑激活区的体积。$R_{overlap}$范围从 0 ~ 1,重叠率越高说明重复性越强。

另外,我们根据单个任务的总功能激活图,以总功能激活图上的各个激活区峰值坐标建立直径为 3mm 球形感兴趣区(region of interesting, ROI)。利用 ICC 对 ROIs 内激活信号强度(用 t 检验的 t 值表示,t 值越大信号强度越高)的内部一致性进行评价。ICC 是衡量和评价观察者间信度和复测信度的信度系数指标。其值介于 0 ~ 1,一般认为信度系数低于 0.45 表示信度较差,大于 0.75 表示信度良好[4]。

2　结果

2.1　实验数据

6 例受试者 3 次实验的数据,头部三维平移及三维旋转均未超过标准,达到实验要求。

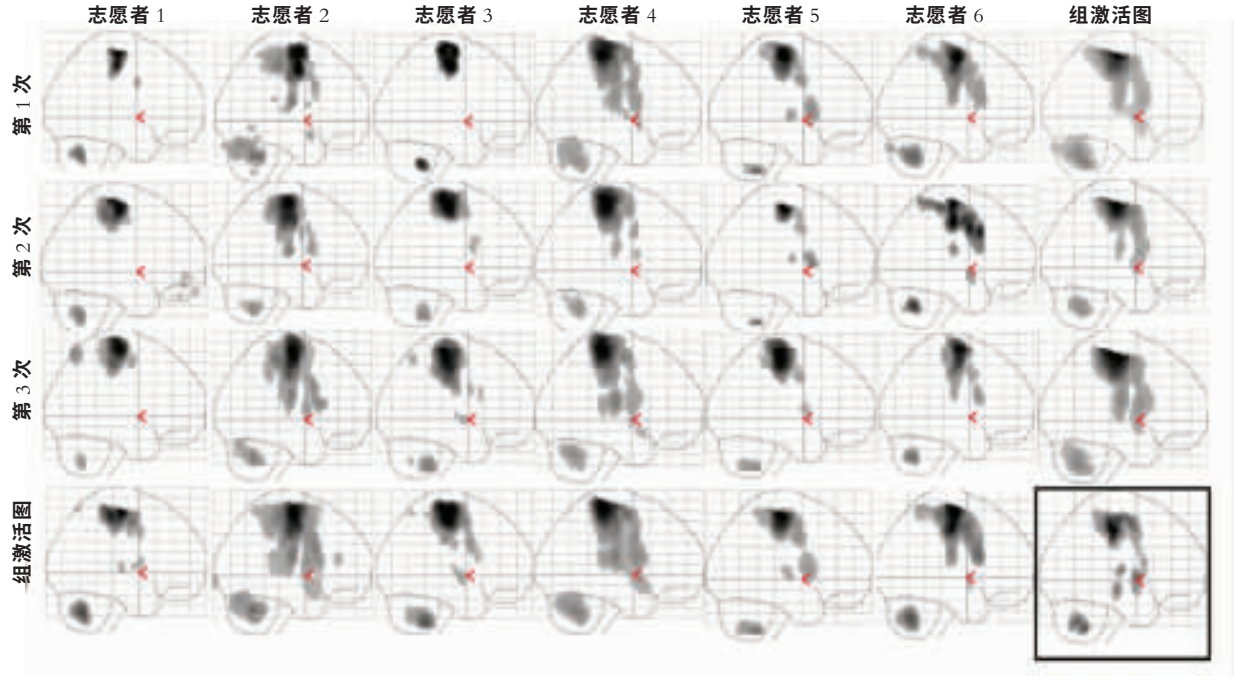
2.2　fMRI 结果

2.2.1　简单对指任务　6 例受试者单次脑区激活图、同一受试者不同时间、同一时间不同受试者的组功能激活图以及对指任务的总平均脑区激活如图 1 所示。从总功能激活图中,看到简单对指运动任务主要激活脑区为左侧中央前回(BA4)、左侧中央后回(BA1、2、3)、左辅助运动区(SMA)、右侧小脑半球、右侧中央前回(BA6),其峰值坐标及信号强度如表 1 所示。从个体脑区激活图中,我们观察到个体不同时间、同一时间不同个体的功能激活图均较为相似;而且个体内不同时间的功能激活图较同一时间个体间的脑功能激活图更为相似。

表 1　对指运动任务总平均脑激活表 ICC

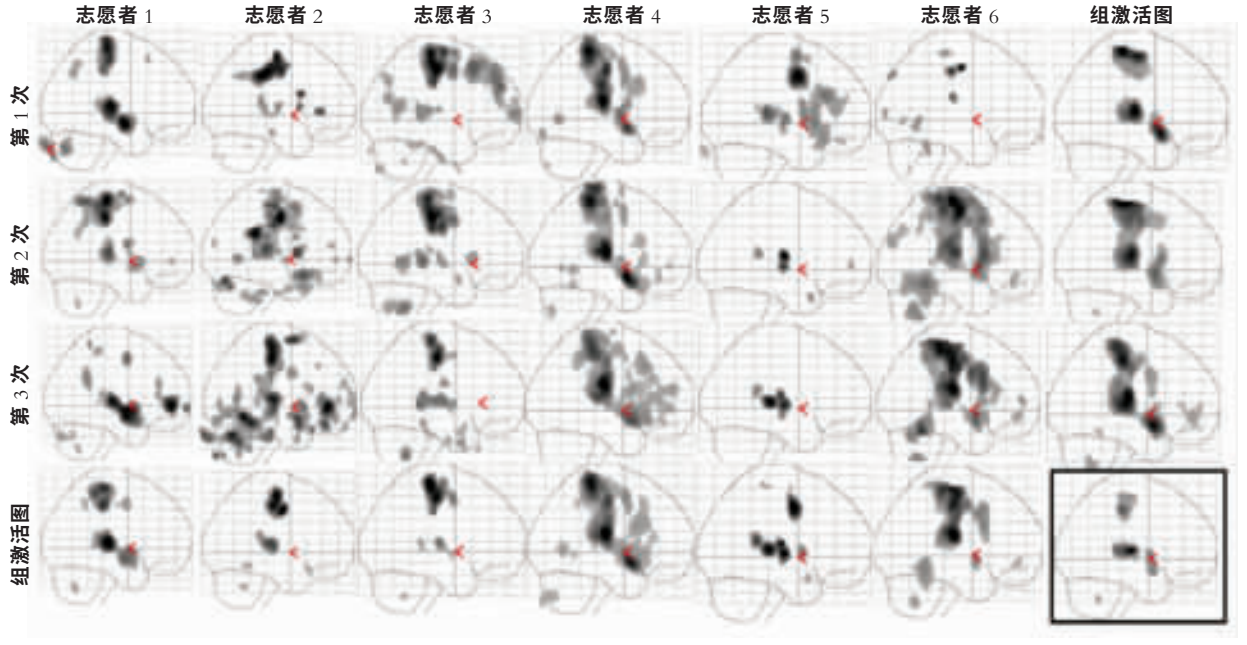
脑区(Brodman 区)	峰值坐标			Z 值	P 值	激活像素(ROI)	ROI 强度(t 值) $\bar{x} \pm s$	ICC
	X	Y	Z					
左中央前回(BA4)	-42	-16	58	inf	0.000	19	17.59 ± 3.76	0.75
左中央后回(BA 2、3)	-48	-24	46	inf	0.000	19	17.51 ± 3.97	0.80
右小脑	24	-54	-44	7.02	0.000	19	6.60 ± 1.20	0.69
左辅助运动区(SMA)	-14	-8	54	6.77	0.000	19	5.07 ± 1.88	0.73
右中央前回(BA6)	-36	-10	58	5.35	0.000	19	4.37 ± 1.85	0.79

峰值坐标、Z 值、P 值、为总平均组功能激活图峰值数据;激活像素(ROI)为总平均组功能激活图 ROI 内超过激活阈值的像素;ROI 强度为个体 ROI 内平均激活强度的均数和标准差;ICC 为个体 ROI 内信号强度组内相关系数,inf = inference 即推断该脑区激活



加黑框者为总平均激活图

图 1　简单对指任务受试者个体和组平均激活图在 SPM 玻璃脑上矢状面的最大密度投影(MIP)



加黑框者为总平均激活图

图 2　电针内关穴任务受试者个体和组平均激活图在 SPM 玻璃脑上矢状面的最大密度投影(MIP)

2.2.2　电针刺激内关任务　　6 例受试者单次脑区激活图、同一受试者不同时间、同一时间不同受试者的组功能激活图以及电针任务的总平均脑区激活如图 2 所示。从总平均功能激活图中,我们观察到电针内关穴主要激活的脑区为左颞横回、左颞上回、左中央后回(BA2、3)、左岛叶(BA13)、左中央前回(BA4)、右小脑、右颞上回,其峰值坐标及信号强度如表 2 所示。与简单对指任务个体脑区激活相对稳定明显不同的是,电针内关任务的个体内和个体间激活的脑区差异均比较大。

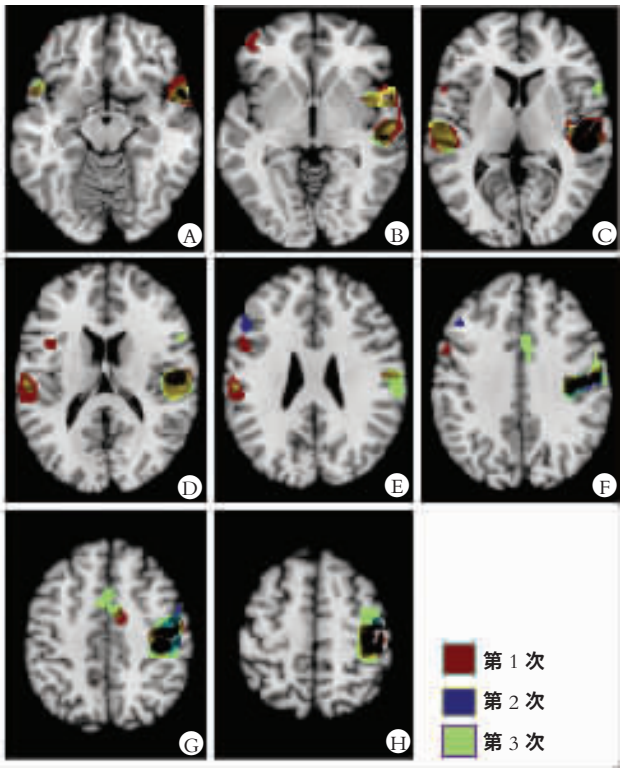
2.3　重叠率的结果

电针内关任务的重叠率显著低于简单对指任务[(13.23% ±14.21%) *vs* (34.24% ±9.49%), $t=5.22$, $P<0.01$];电针内关任务重叠率的变异程度($CV=1.07$)明显高于简单对指任务($CV=0.28$)。结果显示简单对指任务较电针任务激活体积的重复性好。另外,我们注意到电针组同一时间不同受试者的 3 次组功能图的相似性明显提高,其重叠率亦明显提高($R_{overlap}=0.40$,图 3)。

表 2　电针刺激任务任务总平均脑激活表 ICC

脑区(Brodman 区)	峰值坐标			Z 值	P 值	激活像素(ROI)	ROI 强度(t 值) $\bar{x} \pm s$	ICC
	X	Y	Z					
左颞横回	-50	-18	8	6.99	0.000	19	4.69±1.50	0.64
左颞上回	-58	-32	8	6.15	0.000	19	3.50±1.18	0.23
左中央后回(BA2/3)	-40	-28	46	6.04	0.000	19	4.46±1.62	0.42
左岛叶(BA13)	-42	4	-12	5.56	0.001	19	2.50±1.85	0.40
左中央前回(BA4)	-45	-18	50	5.35	0.003	18	4.78±2.82	0.48
右小脑	18	-54	-48	5.16	0.007	19	2.29±1.49	0.18
右颞上回	60	-20	5	4.88	0.023	19	3.22±1.95	0.68

峰值坐标、Z 值、P 值为总平均组功能激活图峰值数据;激活像素(ROI)为总平均组功能激活图 ROI 内超过激活阈值的像素;ROI 强度为个体 ROI 内平均激活强度的均数和标准差;ICC 为个体 ROI 内信号强度组内相关系数



A:Z = -10; B:Z = 0; C:Z = 10; D:Z = 30; E:Z = 40; F:Z = 50; G:Z = 60; H:Z = 70　其重叠率 $R^{1\text{-}2\text{-}3}_{overlap}$ 为 0.40,明显较个体内重叠率提高,Z = MNI 空间上 Z 轴的坐标

图 3　同一时间 6 例受试者的 3 次组功能数据重叠图

2.4　组内相关系数(ICC)结果

以单个任务总功能激活图上的各个激活区峰值坐标作直径为 3 mm 球形感兴趣区(ROI)激活强度的组内相关系数如表 1、2 所示。从表中我们可以看出对指组的 ICC 范围为 0.69 ~ 0.80,大部分接近或超过 0.75。电针组的 ICC 范围为 0.18 ~ 0.68,大部分都低于或接近 0.45。对指组的 ICC 显著高于电针组(Kolmogorov-Smirnov Z 检验,$Z = 1.71$,$P < 0.01$)。结果说明对指组较电针组激活强度的复测信度高,可重复性好。

将对指和电针任务个体 ROIs 内在相应激活阈值水平激活的信号强度进行对比,发现对指组 ROIs 激活信号强度显著高于电针组(Kolmogorov-Smirnov Z 检验,$Z = 3.17$,$P < 0.001$)。说明对指组的整体激活信号强度明显较电针组高。

3　讨论

3.1　试验设计思路

本试验的主要目的是评估电针刺激内关穴 fMRI 脑区激活的可靠性及探讨可能变异来源。影响 fMRI 的因素来源众多,除了 MRI 扫描机的硬件设备、扫描序列、后处理使用软件外,受试者的生理、心理状态均可能对实验的结果产生很大的影响[5]。甚至不同针刺手法的轻微不同也可能产生不同脑区的激活。

在试验中,我们引入简单对指任务作为控制组的主要目的是对针刺 fMRI 的可能变异来源(MRI 设备、扫描序列、后处理软件等)进行初步判断。其理由是:作为 fMRI 研究中最为广泛使用的刺激任务之一,许多学者对简单对指运动 fMRI 成像的可重复性进行了研究。结果显示,尽管在这些研究中其使用的分析方法不尽相同,但都得出相似的结论:简单对指运动任务能够引起相对可靠的初级运动皮层、辅助运动区以及小脑功能区的 fMRI 信号增加。在许多重复性试验中它经常被用来作为控制组[6,7]。

3.2　简单对指任务结果分析

在简单右手对指任务中,我们观察到了稳定的左中央前回(BA4)、左中央后回(BA1、2、3)、辅助运动区(SMA)以及右小脑的激活,这与以往的文献报道相似[6,7]。本组的各脑激活区的信号强度重复性较好,但与 Patrick 等[3]报道比较,激活脑区的重叠率较其略低。我们考虑主要原因可能有:①激活脑区的数量与优势半球、运动的复杂程度和熟练程度有很大的关系[8]。我们在实验前对受试者的对指运动进行训练,任务执行较为熟练。②重叠率的大小与激活阈值设置有较大关系,阈值设置的不同会引起重叠率的改变[6,7]。③文献[9]指出脑区的激活强度比激活的面积更为稳定,我们的资料显示简单对指任务的脑区激活强度复测信度高也与这一观点较为符合。总之,我们认为本组资料简单对指运动任务的重复较好,可靠性比较高,这说明我们检查设备稳定性较好。

3.3　电针内关任务结果分析及解决方法

在电针刺激右侧内关穴任务中我们观察到激活个体间和个体内 MRI 激活脑区变异程度较大。我们认为电针刺激内关穴的重复性较差,有其内在的必然性。首先,中医针灸的理论认为针刺某些腧穴,对机体的不同状态有双向良性调整的作用[10]。这理论意味着针刺同一穴位可能根据受试者的不同基础状态可能增强或者抑制同一或不同脑区的功能活动,从而可能造成

fMRI 脑区激活的多样性。

其次,有研究者[11,12]指出心理因素可能是 fMRI 多样性的主要来源。在试验中,我们考虑到所有的受试者均为初次体验 fMRI 检查和针刺刺激,磁共振室的噪声环境和对针刺的焦虑、恐惧等心理因素可能对 fMRI 重复性产生干扰,因此,我们在实验前对实验进行了预演,让受试者熟悉磁共振室环境和体验针刺,尽量减少心理噪声。任务执行的一致性也是影响 fMRI 重复性的重要因素,在实验中,所有的针刺任务均由同一位有多年经验的针灸师执行,尽量使每次受试者的针感相似,但是,针刺的"得气"感是一种主观感觉,即使对同一受试者来说,每次针刺感觉难免有轻微差别。

在对指组和电组 ROIs 内激活像素信号强度对比中,我们发现电针任务引起的信号强度变化显著较简单对指任务低。这可能与任务的性质有很大关系。相对于简单对指任务主动执行,电针刺激任务是一个被动接受刺激的过程。与认知等被动刺激任务一样,其激活的信号强度较对指任务明显低且信号的稳定性差[13]。Raemaekers 等[14]指出这种个体测量信噪比的差异很大程度可以解释个体复测信度的差异。如果测量的信噪比足够高的话,可能会获得较好的个体信度。在针刺内关的任务中,我们尽量减少了可能影响 BOLD-fMRI 的一些物理、心理、生理等方面因素;针刺内关穴 fMRI 变异较大的原因无法完全用这些因素解释。因此,我们赞同 Raemaekers[14]的观点,电针刺激内关 fMRI 脑激活区相对低的信噪比和低的敏感性可能是影响其复测信度的主要原因。

解决这一问题的方法之一是将个体的功能数据空间标准化后合并进行组化研究。组研究的最主要优点是增加统计效能。将多个个体的数据集中在一起后,一些由于信号太弱以致在个体水平难以探测的效应可被探测到。fMRI 常见的组研究有固定效应研究和随机效应研究,根据研究性质的不同可以选择不同的研究[15]。我们将同一受试者不同时间,同一时间不同受试者的功能图像数据联接,进行固定效应组分析和将所有的功能对比图联结进行了随机效应的组研究。从对指组和电针组功能激活图(图 1、2)中,我们可以看出各个组功能激活图较为相似,并且电针组同一时间不同受试者的组功能图重叠率明显提高($R = 0.4$,图 3)。需要指出的是组研究以牺牲统计学效率为代价[15]。组激活图可以有更高可重复信度,但效率可能比较低。但是,笔者认为这是统计学上敏感性和特异性之间的一种权衡。

本试验的局限之处是研究的样本量太少。但是,我们的主要目的是针刺穴位 fMRI 的可重复性和可能的变异来源进行探讨,并提出可能的解决方法。如果要对针刺内关 fMRI 的脑功能活动进行研究需要更大的样本量。

参考文献:

[1] Huckins S C, Turner C W, Doherty K A, *et al*. Functional magnetic resonance imaging measures of blood flow patterns in the human auditory cortex in response to sound[J]. J Speech Lang Hear Res, 1998, 41(3): 538 - 548.

[2] Rombouts S A, Barkhof F, Hoogenraad F G, *et al*. Test-retest analysis with functional MR of the activated area in the human visual cortex [J]. AJNR Am J Neuroradiol, 1997, 18(7): 1317 - 1322.

[3] Havel P, Braun B, Rau S, *et al*. Reproducibility of activation in four motor paradigms. An fMRI study[J]. J Neurol. 2006, 253(4): 471 - 476.

[4] 潘晓平,倪宗瓒. 组内相关系数在信度评价中的应用[J]. 华西医科大学学报, 1999, 30(1): 62 - 63, 67.

[5] Smith S M, Beckmann C F, Ramnani N, *et al*. Variability in fMRI: a re-examination of inter-session differences [J]. Hum Brain Mapp, 2005, 24(3): 248 - 257.

[6] Yoo S S, Wei X, Dickey C C, *et al*. Long-term reproducibility analysis of fMRI using hand motor task[J]. Int J Neurosci, 2005, 115(1): 55 - 77.

[7] Kong J, Gollub R L, Webb J M, *et al*. Test-retest study of fMRI signal change evoked by electroacupuncture stimulation [J]. Neuroimage, 2007, 34(3): 1171 - 1181.

[8] Singh L N, Higano S, Takahashi S, *et al*. Functional MR imaging of cortical activation of the cerebral hemispheres during motor tasks[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 1998, 19(2): 275 - 280.

[9] Miki A, Liu G T, Englander S A, *et al*. ReproducibiLity of visual activation during checkerboard stimulation in functional magnetic resonance imaging at 4 Tesla[J]. Jpn J Ophthalmol, 2001, 45(2): 151 - 155.

[10] 孙国杰. 针灸学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000: 24 - 25.

[11] Wagner K, Frings L, Quiske A, *et al*. The reliability of fMRI activations in the medial temporal lobes in a verbal episodic memory task [J]. Neuroimage, 2005, 28(1): 122 - 131.

[12] Loubinoux I, Carel C, Alary F, *et al*. Within-session and between-session reproducibility of cerebral sensorimotor activation: a test-retest effect evidenced with functional magnetic resonance imaging[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2005, 21(5): 592 - 607.

[13] Miki A, Raz J, van-Erp T G, *et al*. Reproducibility of visual activation in functional MR imaging and effects of postprocessing[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2000, 21(5): 910 - 915.

[14] Raemaekers M, Vink M, Zandbelt B, *et al*. Test-retest reliability of fMRI activation during prosaccades and antisaccades[J]. Neuroimage, 2007, 36(3): 532 - 542.

[15] Penny W, Holmes A. Random effects analysis[M]// Frackowiak R S J, Ashburner J T, Penny W D, *et al*. Human Brain Function. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 2004: 843 - 850.

(编辑 王 红)