

# 科技部補助

## 大專學生研究計畫研究成果報告

\* \*\*\*\*\* \*  
\* 計畫名稱：檳榔成癮者之靜息態大腦功能及網路變化與抑制控制及內隱態度之關聯 \*  
\* \*\*\*\*\* \*

執行計畫學生：周郁玓  
學生計畫編號：MOST 105-2815-C-040-052-E  
研究期間：105年07月01日至106年02月28日止，計8個月  
指導教授：翁駿程

處理方式：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢

執行單位：中山醫學大學醫學影像暨放射科學系(所)

中華民國 106年03月01日

## 前言

根據國際癌症研究中心(IARC)發表公告,檳榔子本身即是第一類致癌物,亦即檳榔不加入任何添加物,也會導致癌症發生。因此本研究的目的是在於找出嚼食檳榔的微成癮性與腦區功能之間的關聯性,希望能藉由此研究發展出幫助長期嚼食檳榔的人戒除嚼食檳榔的習慣,降低口腔癌發生的機率。

在學術上,利用靜息態功能性磁振造影(resting-state functional magnetic resonance imaging, rs-fMRI)來研究檳榔嚼食者大腦的研究占少數,因此本研究希望利用 rs-fMRI 的研究方法,去分析檳榔嚼食者與健康正常人腦區之間活化的關聯性,並透過心理量表分數 stop-signal reaction time (SSRT)和 single category implicit association test (SC-IAT, D-score)分別與 amplitude of low frequency fluctuations (ALFF)和 regional homogeneity (ReHo)去做相關性的研究。

rs-fMRI 的原理是藉由觀察腦區在靜息狀態下的活化狀態。腦區的活化與否與該腦區附近的血管(小動脈、微血管)其含氧血紅素和去氧血紅素的含量來決定,當神經元活化時,腦區周圍血管的氧氣濃度會改變,剛開始活化時,氧氣濃度下降(能量  $C_6H_{12}O_6$  與氧氣的消耗約 2~3 秒),接著附近的微血管和小動脈會帶來大量的血液,使血流速度、血流體積及血氧濃度均增加,此為 BOLD 之原理,氧氣濃度提高不會使訊號變亮,但氧氣濃度的下降會使訊號變暗,藉此可用來觀察大腦腦區之間的神經元活化,比較兩組受測者間腦區活化的差異性。靜息態功能性磁振造影中受測者被要求處於休息狀態並保持清醒的條件下進行造影,能夠探討受測者大腦的自發神經元活動,以及自發的功能性神經網路。

## 目錄

前言.....	1
目錄.....	2
第一章、研究方法與步驟.....	3
(一) 材料與方法.....	3
第二章、結果與討論.....	5
(一) 結果.....	5
(二) 影像.....	7
(三) 討論.....	10
參考文獻.....	11

# 第一章、研究方法與步驟

## (一)材料與方法

### 1-1 影像取得

本實驗中，16 位檳榔嚼食者(以下簡稱 BQ)及 17 位正常人(以下簡稱 HC)在 3 Tesla 的 MRI 下分別取得 30 張影像以及 33 張 resting-state 的影像，掃描的參數如下：使用 gradient echo EPI，TR/TE = 2000/30 ms, flip angle = 90°, in-plane resolution = 2.7x2.7 mm<sup>2</sup>, thickness = 4 mm, number of repetition = 240, and 28 axial slices aligned along AC-PC lines。

### 1-2 影像處理

使用 SPM8 軟體進行影像前處理，包含切面對時間軸的校正、頭部移動的校正、影像與標準腦的校正以及平滑化，將前處理完的影像利用 REST 軟體中分別進行 functional connectivity, ALFF 及 ReHo 的生理雜訊消除，得到不同的後續分析檔案。

### 1-3 影像分析

經影像處理後可以得到後續分析的檔案，包括 FC (functional connectivity), amplitude of low frequency fluctuations (ALFF), regional homogeneity (ReHo)，分別分析進行計算，以及探討 ALFF/ReHo 與認知量表 stop-signal reaction time (SSRT) 和 single category implicit association test (SC-IAT, D-score)之間的相關性。

### 1-4 認知量表

1. SSRT (stop-signal reaction time): 大多用來量測受測者的抑制控制能力，抑制控制能力用來要求個人快速壓抑某行為舉止並行有效之反應，實驗中，給予受測者一停止訊號直到受測者依照指示按下停止鍵的反應時間即為 SSRT，當 SSRT 的數值愈大時，則代表受測者的抑制能力愈差。
2. D-score (SC-IAT, single category implicit association test): 單一類內隱聯想測試，內隱態度為以過去的經驗為基礎，不自覺對某一事物所產生積極或消極的態度，但無法準確識別過去的經驗，並負責調節對社會上事物的喜歡和不喜歡的情感、思想以及行為。當分數為正值且愈高時，代表受測者對檳榔的正向內隱態度愈強，當分數為負值且愈低時，代表受測者對檳榔的負向內隱態度愈強。

## 1-5 統計方法

使用 SPM8 分別計算 ALFF 及 ReHo two-sample t-test 的結果，而 functional connectivity 使用的是 seed-based FC：用來探討選定 ROI 其對側相對應腦區的結構完整性，再利用 graph theoretical analysis, NBS 去分析兩組受測者之間的差異。而 ALFF, ReHo 和量表作相關性的研究則是利用 SPM8 軟體中的 multiple regression 將兩組受測者合併為一組，只單純探討影像和量表分數之間的相關性，找出和量表相關的作用腦區。

## 第二章、結果與討論

### (一)結果

#### 1-1 FC (Functional Connectivity) :

在 functional connectivity 的結果,我們發現在 BQ 的左右側楔前葉(precuneus)的活性相較於正常人來的高,在右側的腦島(insula)的活性相較於正常人來的低,且具有統計意義( $p\text{-value} < 0.05$ )。(Fig. 1)

#### 1-2 mfALFF (mean fractional amplitude of low frequency fluctuations) :

在 mfALFF two-sample  $t$ -test 的分析當中(Fig. 2-a 檳榔嚼食者 > 正常人),我們發現在檳榔嚼食者的左側的楔形葉(cuneus)與楔前葉(precuneus)的 mfALFF 活性相較於正常人來的高(Fig. 2-b cluster size=6,  $p\text{-value} < 0.001$ )。

#### 1-3 mReHo (mean regional homogeneity) :

在 mReHo two-sample  $t$ -test 的分析當中(Fig. 3-a 檳榔嚼食者 > 正常人),我們發現在檳榔嚼食者的左側的楔形葉(cuneus)與楔前葉(precuneus)( Fig. 3-b cluster size=25,  $p\text{-value} < 0.001$ ),以及右側尾狀核(caudate)、右側前扣帶回(anterior cingulate gyrus) (Fig. 3-c cluster size=25,  $p\text{-value} < 0.001$ ),左側額上回(superior frontal gyrus) (Fig. 3-d cluster size=22,  $p\text{-value} < 0.001$ ),右側楔形葉(cuneus)、右側枕上回(superior occipital gyrus) (Fig. 3-e cluster size=22,  $p\text{-value} < 0.001$ )的 mReHo 活性相較於正常人來的高。

#### 1-4 圖論分析

在圖論分析我們發現在檳榔嚼食者的分析結果有較低的 clustering coefficient(C), local efficiency(E<sub>local</sub>), characteristic path length(L)以及較高的 global efficiency(E<sub>global</sub>),  $\sigma$ 。(Fig. 4、5、6)

在 NBS 的分析當中,我們發現正常人腦區之間的連結數大於檳榔嚼食者腦區之間的連結數,從不同的角度觀察,得到兩個具有統計意義的結果( $p\text{-value} < 0.05$ )。第一個結果(Fig. 7-a)發現正常人在右側額上回(superior frontal gyrus)與右側額中回(middle frontal gyrus)、右側眶部額上回(superior orbital frontal gyrus)與右側眶部額中回(middle orbital frontal gyrus)、右側額中回與右側眶部額中回、右側額上回與右側三角部額下回(inferior triangularis frontal gyrus)、右側額上回與右側前扣帶回(anterior cingulate gyrus)、右側眶部額上回與右側前扣帶回、右側眶部額中回與右側前扣帶回、右側三角部額下回與左側距狀裂(calcarine)、左側腦島(insula)與左側距狀裂、右側三角部額下回與左側舌回(lingual gyrus)以及左側腦島與右側舌回,這些腦區之間的連結數多於檳榔嚼食者。第二個結果(Fig. 7-b)發現

在左側中央溝(rolandic operculum)與左側後扣帶回(posterior cingulate gyrus)、左側中央溝與右側後扣帶回、右側中央溝與右側後扣帶回、左側中扣帶回與左側楔前葉(precuneus)、左側楔前葉與左側豆狀核(putamen)、左側楔前葉與右側豆狀核、右側楔前葉與右側豆狀核、左側後扣帶回與左側顳橫回(heschl's gyrus)、右側後扣帶回與左側顳橫回、左側後扣帶回與左側顳上回(superior temporal gyrus)、右側後扣帶回與左側顳上回、左側楔前葉與左側顳上回，這些腦區之間的連結數多於檳榔嚼食者。

### 1-5 量表相關性

在量表相關性的分析結果(Fig. 8)，我們可以看到 SSRT 與 mfALFF 的分析中，在右側運動輔助區(supplementary motor area)呈現正相關(Fig. 8-a)。D-score 與 mfALFF 的分析中，在左側額上回(superior frontal gyrus)呈現正相關(Fig. 8-b)。SSRT 與 mReHo 的分析中，在左側額上回(superior frontal gyrus)與左側額中回(middle frontal gyrus)呈現負相關(Fig. 8-c)。

## (二) 影像

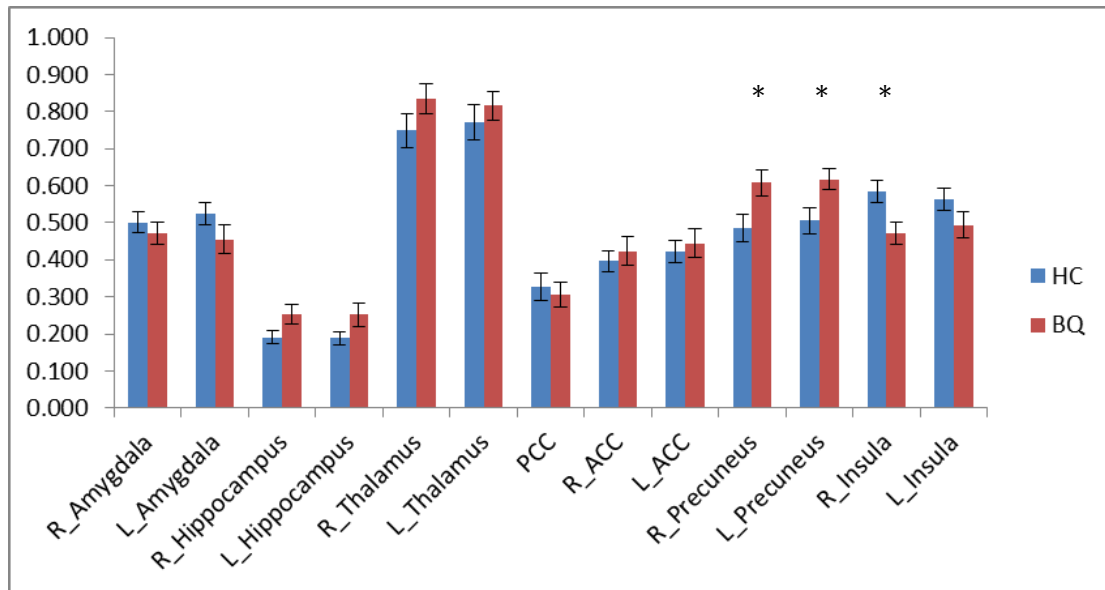


Fig. 1 Functional connectivity 分析：BQ 的左右側楔前葉(precuneus)的活性相較於 HC 來的高，在右側的腦島(insula)的活性相較於 HC 來的低，p-value < 0.05。

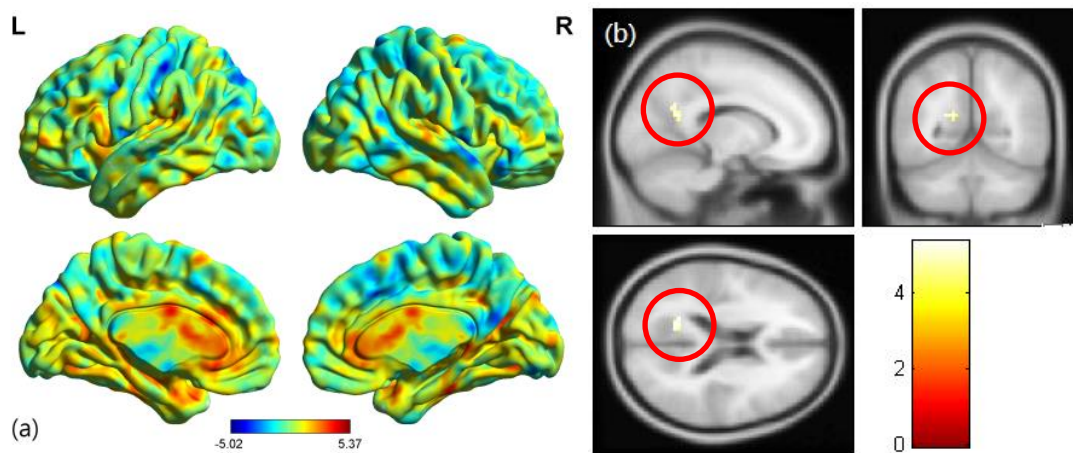
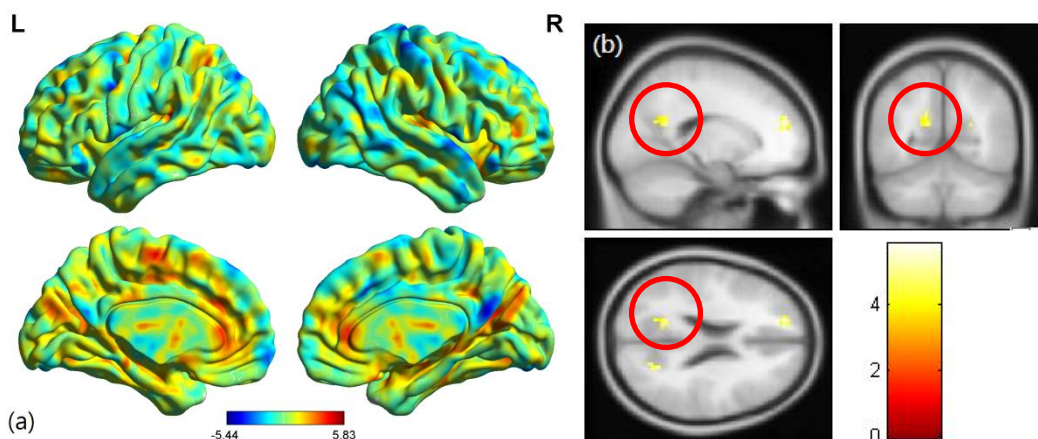


Fig. 2 mfALFF two-sample t-test 分析。(a) BQ > HC (color bar: t-score)。(b) 左側的楔形葉(cuneus)與楔前葉(precuneus) (BQ > HC, cluster size=6, p-value<0.001)。





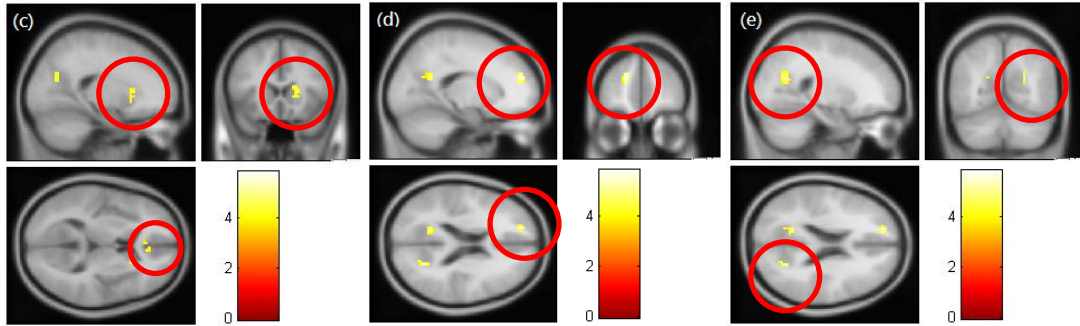


Fig. 3 mReHo two-sample  $t$ -test 分析。(a) BQ > HC (color bar:  $t$ -score)。(b) 左側的楔形葉(cuneus)與楔前葉(precuneus) (BQ > HC, cluster size=25,  $p$ -value<0.001)。(c) 右側尾狀核(caudate)、右側前扣帶回(anterior cingulate gyrus) (BQ > HC, cluster size=25,  $p$ -value<0.001)。(d) 左側額上回(superior frontal gyrus) (BQ > HC, cluster size=22,  $p$ -value<0.001)。(e) 右側楔形葉(cuneus)、右側枕上回(superior occipital gyrus) (BQ > HC, cluster size=22,  $p$ -value<0.001)。

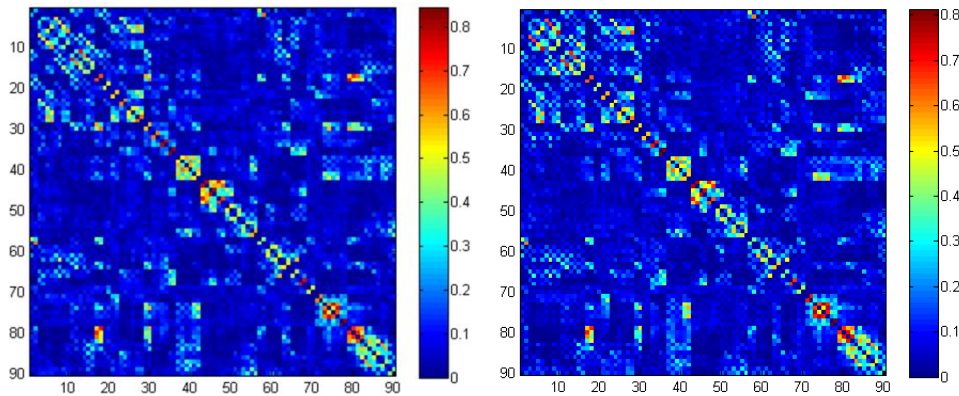


Fig. 4 Connectivity matrix (左 : BQ、右 : HC)

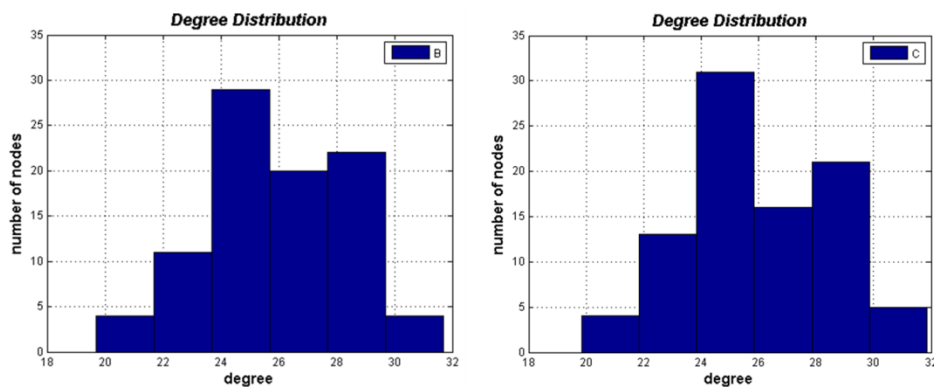


Fig. 5 Degree distribution (左 : BQ、右 : HC)

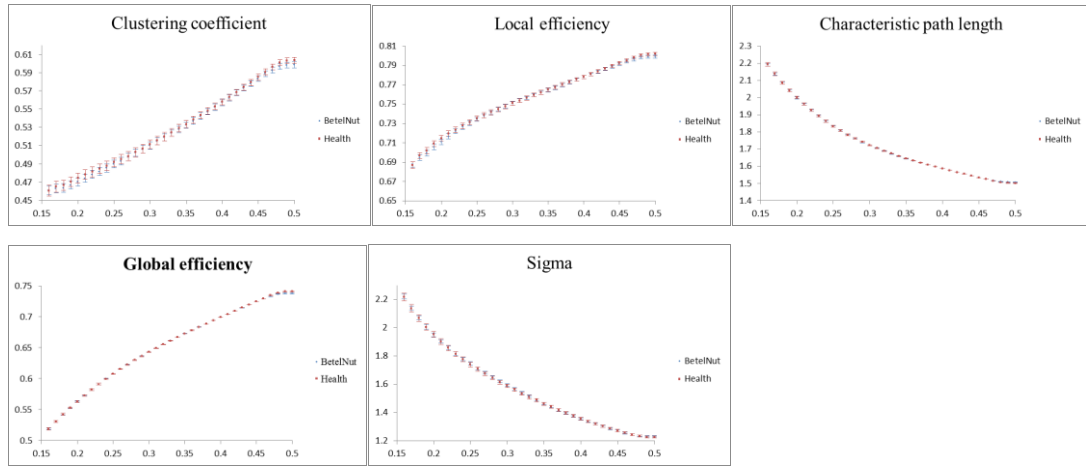


Fig. 6 Topological parameters 拓模參數：BQ 有較低的  $C$ 、 $E_{local}$ 、 $L$ ，以及較高的  $E_{global}$ 、 $\gamma$ 、 $\lambda$ 、 $\sigma$ 。

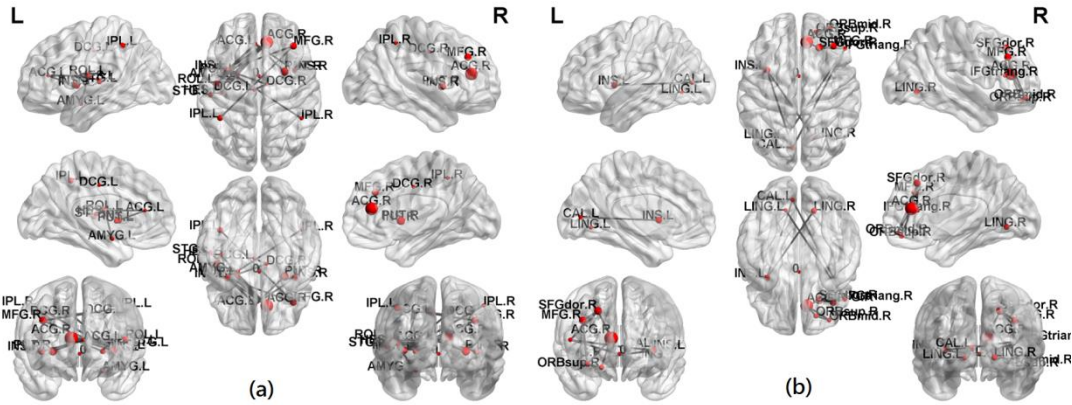


Fig. 7 NBS 分析結果(HC > BQ)。 (a)、(b) p-value < 0.05。

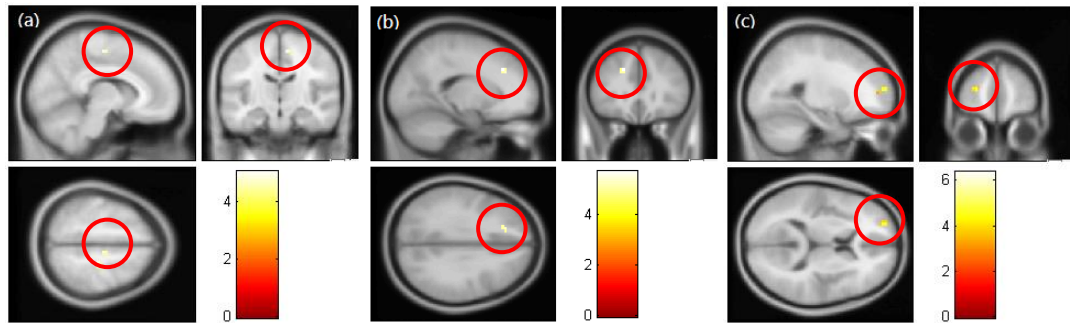


Fig. 8 Multiple regression 分析結果。 (a) SSRT 與 mfALFF 的分析：右側運動輔助區 (supplementary motor area) 呈現正相關。 (b) D-score 與 mfALFF 的分析：左側額上回 (superior frontal gyrus) 呈現正相關。 (c) SSRT 與 mReHo 的分析：左側額上回 (superior frontal gyrus) 與左側額中回 (middle frontal gyrus) 呈現負相關。

### (三)討論

#### 3-1 FC (Functional Connectivity)

在左右側楔前葉(precuneus)BQ 的活性相較於 HC 來的高，楔前葉涉及情節記憶、視覺空間能力以及運動活動的協調能力，此外它的功能還包括自我感知、知覺意識以及工作記憶的處理。在右側的腦島(insula)的活性相較於正常人來的低，腦島(insula)則是當成癮者暴露於渴望物質時，容易使腦島活性增加。

#### 3-2 mfALFF (mean fractional amplitude of low frequency fluctuations)

在 BQ 的左側的楔形葉(cuneus)與楔前葉(precuneus)的 mfALFF 活性相較於 HC 來的高，楔前葉的功能在上述內容有提過，而楔形葉則負責處理視覺訊息。

#### 3-3 mReHo (mean regional homogeneity)

在 BQ 的左側的楔形葉(cuneus)、楔前葉(precuneus)、右側尾狀核(caudate)、右側前扣帶回(anterior cingulate gyrus)、左側額上回(superior frontal gyrus)、右側楔形葉(cuneus)以及右側枕上回(superior occipital gyrus)有較高的 mReHo 活性，在額上回的部分涉及感覺處理以及工作記憶處理等。在先前的研究有提到前扣帶回與獎勵迴路的腦區(包括：腹側背蓋區、橋腦、尾狀核以及視丘)之間連接在 BQ 的大腦有增加的趨勢。

#### 3-4 圖論分析

在 BQ 的分析結果有較低的 clustering coefficient(C), local efficiency( $E_{local}$ ), characteristic path length(L)以及較高的 global efficiency( $E_{global}$ ), sigma( $\sigma$ )。C：量化局部網路之間互連的狀況，其值愈大代表大腦分割能力愈好。 $E_{Local}$ ：量化次級網路交換訊息的能力，其值愈大代表大腦分割能力愈好。由這兩個拓撲參數可以推論 BQ 大腦網路分割能力略差。L：量化腦區之間轉換訊息的能力，其值愈小代表大腦整合能力愈好。 $E_{Global}$ ：測量腦區平行訊息轉換時的狀況，其值愈大代表大腦整合能力愈好。由這兩個拓撲參數可以推論 BQ 其大腦網路整合能力略佳。網路的區分可藉由兩節點之間的隨機連線的機率分為三種，當連線機率趨近於 0 時為規則網路、連線機率趨近於 1 時為隨機網路，其餘為小世界網路，一般正常人的大腦網路微小世界網路，由上述四個拓撲參數的結果，我們推論檳榔嚼食者的大腦網路較正常人的大腦網路趨近於隨機網路。

#### 3-5 量表相關性

在 SSRT 與 mfALFF 的分析中，在右側運動輔助區(supplementary motor area)呈現正相關。D-score 與 mfALFF 的分析中，在左側額上回(superior frontal gyrus)呈現正相關。SSRT 與 mReHo 的分析中，在左側額上回(superior frontal gyrus)與左側額中回(middle frontal gyrus)呈現負相關。運動輔助區涉及自我生成以及運動控制等，運動輔助區與抑制控制也有關係，前運動輔助區與神經網路得停止信息有關。

## 參考文獻

- [1] Wen-Tsai Ji (2014). Areca nut extracts exert different effects in oral cancer cells depending on serum concentration: A clue to the various oral alterations in betel quid chewers. *Toxicology Reports*, 1, 1087-1095.
- [2] Su-Chen Wang (2003). Betel nut chewing and related factors in adolescent students in Taiwan. *Public Health*, 117, 339-345.
- [3] Saeed Akhtar (2012). Chewing areca nut, betel quid, oral snuff, cigarette smoking and the risk of oesophageal squamous-cell carcinoma in South Asians: A multicentre case-control study. *EUROPEAN JOURNAL OF CANCER*, 48, 655-661.
- [4] Chiang-Ming Chen (2013). Health risk perception and betel chewing behavior — The evidence from Taiwan. *Addictive Behaviors*, 38, 2714-2717.
- [5] Karen D. Ersche (2012). Abnormal Brain Structure Implicated in Stimulant Drug Addiction. *Science*, 335, 601-604.
- [6] Matthew Edward Hughes (2013). Stop-signal task difficulty and the right inferior frontal gyrus. *Behavioural Brain Research*, 256, 205-213.
- [7] Karpinski A (2006). The single category implicit association test as a measure of implicit social cognition. *J Pers Soc Psychol*, 91(1), 16-32.
- [8] Stefan Stieger (2010). Personalizing the IAT and the SC-IAT: Impact of idiographic stimulus selection in the measurement of implicit anxiety. *Personality and Individual Differences*, 48, 940-944.
- [9] Qi-Hong Zou (2008). An improved approach to detection of amplitude of low-frequency fluctuation (ALFF) for resting-state fMRI: Fractional ALFF. *Journal of Neuroscience Methods*, 172, 137-141.
- [10] Haidi Yang (2014). Regional homogeneity on resting state fMRI in patients with tinnitus. *Journal of Otology*, 9, 173-178.
- [11] Andrew Zalesky (2010). Network-based statistic: Identifying differences in brain networks. *NeuroImage*, 53, 1197-1207.
- [12] Anthony G. Greenwald and Mahzarin R. Banaji (1995). Implicit Social Cognition:

Attitudes, Self-Esteem, and Stereotypes. *Psychological Review*, 102(1), 4-27.

[13] Tao Liu. (2016), 'Betel quid dependence is associated with functional connectivity changes of the anterior cingulate cortex: a resting-state fMRI study', *Journal of Translational Medicine*, DOI 10.1186/s12967-016-0784-1

[14] Karen D. Ersche. (2012), 'Abnormal Brain Structure Implicated in Stimulant Drug Addiction', *Science*, 335, 601–604.

[15] Matthew Edward Hughes. (2013) 'Stop-signal task difficulty and the right inferior frontal gyrus', *Behavioural Brain Research*, 256, 205– 213.

[16] F Chen, Yuan Zhong, Zhiqiang Zhang. (2015), 'Gray matter abnormalities associated with betel quid dependence: a voxel-based morphometry study', *Am J Transl Res*, 7(2), 364–374.