

厚生省科学研究費補助金
脳科学研究事業

心身症と神経症におけるヒスタミン神経系の
異常に関する研究

(課題番号：H11-脳003)

平成11年度研究成果報告書

平成11年3月

主任研究者 福土 審

東北大学大学院医学系研究科人間行動学・教授

目 次

I. 総括研究報告書

心身症と神経症におけるヒスタミン神経系の異常に関する研究

主任研究者 福土 審

II. 分担研究報告書

過敏性腸症候群におけるヒスタミン神経系の関与

主任研究者 福土 審

ヒスタミン神経系の病態生理研究：ノックアウトマウス研究からヒトPET研究

分担研究者 谷内 一彦

更年期女性の自律神経異常の局所脳血流変化に関するPETによる研究

分担研究者 伊藤正敏

抑鬱とインスリン抵抗性に関する研究

分担研究者 本郷道夫

III. 関連業績

関連業績

IV. 研究組織名簿

1. 総括研究報告書

心身症と神経症におけるヒスタミン神経系の
異常に関する研究

主任研究者

福土 審

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
総括研究報告書

心身症と神経症におけるヒスタミン神経系の異常に関する研究

主任研究者 福土 審

東北大学大学院医学系研究科人間行動学・教授

研究要旨

21世紀の先進国においては、心身症・神経症を代表とするストレス関連疾患が国民の健康と経済に重大な影響を及ぼすと考えられる。その克服に向けての取り組みは、わが国の厚生行政上重要である。ストレス関連疾患の病態の中核をなす脳内神経伝達には不明な点が多い。われわれは、ストレスにより脳の特定部位でヒスタミンを中心とする神経伝達物質が放出され、局所脳活動を賦活化する、そして、ストレス関連疾患（過敏性腸症候群、摂食障害、うつ状態、更年期障害）、さらには動脈硬化症、悪性腫瘍に関連する特定の行動パターン（高敵意タイプA行動、抑うつ親和性行動）において特定の局所脳が賦活化されるパターンがある、と仮説づけた。本研究は、この仮説をpositron emission tomography (PET)をはじめとする脳機能画像によって検証することを主目的とし、動物実験によりストレスにおけるヒスタミンその他の物質の役割を明確にする。平成11年度厚生科学研究費により、ヒトにおける新しい脳内神経伝達評価法が開発され、消化管へのストレスにより視床と辺縁系で脳血流量が増加し、特に辺縁系では内因性ヒスタミンが遊離し、大脳誘発電位が変化する結果を得た。また、うつ病におけるインスリン抵抗性、更年期障害における局所脳血流減少、ノックアウトマウスによる疼痛の神経伝達におけるヒスタミンH₁受容体の役割が明らかにされた。これらの方法を平成11年度に確立したことにより、ヒスタミン神経系を中心とするストレス関連疾患の病態を明らかにする基盤を作ることができた。

分担研究者

谷内一彦 東北大学大学院医学系研究科
病態薬理学・教授

伊藤正敏 東北大学サイクロトロンラジ
オアイソトープセンター・
核医学研究部・教授

本郷道夫 東北大学医学部附属病院
総合診療部・教授

A. 研究目的

21世紀の先進国においては、心身症・神経症を代表とするストレス関連疾患が国民の健康と経済に重大な影響を及ぼすと考えられる。その克服に向けての取り組みは、わが国の厚生行政上重要である。ストレス関連疾患の病態の中核をなす脳内神経伝達には不明な点が多い。われわれは、ストレスにより脳の特定部位でヒスタミンを中心とする神経伝達物質が放出され、局所脳活動を賦活化する、そして、ストレス関連疾患（過敏性腸症候群、摂食障害、うつ病、更年期障害）、さらには動脈硬化症、悪性腫瘍に関連する特定の行動パターン

(高敵意タイプA行動、抑うつ親和性行動)において特定の局所脳が賦活化されるパターンがある、と仮説づけた。本研究の主目的は、この仮説をpositron emission tomography (PET)をはじめとする脳機能画像によって検証することである。更に、動物実験によりストレスにおけるヒスタミンその他の物質の役割を明確にする。平成11年度は、仮説検証のための方法の確立と健常状態における中枢ヒスタミン神経系機能に主眼を置いて検討した。

B. 方法

1) IBSの病態と脳腸相関におけるヒスタミン神経系 (福土)

過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome: IBS) の中心病態と考えられる脳腸相関の客観的評価法を、心理ストレス負荷時の脳波及び消化管運動測定、消化管刺激下の脳誘発電位とPETによる脳画像を得る方法を開発し、確立した。また、IBSのストレス下の脳内の分子変化の基礎を解明するため、ストレス蛋白mRNAの心理身体ストレスによる発現を指標とする動物実験を行った。

2) ノックアウトマウスからヒトPETによるヒスタミン神経系 (谷内)

神経性食欲不振症のラットモデルの作成と評価、ヒスタミンH1受容体ノックアウトマウスを用いた痛みと痙攣におけるH1受容体の役割、ガス相法による新しい¹¹Cヨウ化メチル合成の確立と受容体測定法への応用 (特にリガンド賦活法)、PETを用いたアルツハイマー病におけるH1受容体量の変化、PETを用いた抗ヒスタミン薬による眠気と認知機能発生メカニズム、情動を測定するための新しいタスクの開発と評価を行った。

3) 更年期障害患者のPETによる局所脳血流 (伊藤)

PETを用いて更年期障害患者の脳機能の変化を描出した。東北大学更年期外来患者

の中等度から重度の更年期障害患者を対象とし、健常者対照と比較した。PETで測定した脳血流画像を統計画像処理ソフトウェアStatistical Parametric Mapping 96を用いてTalairachの標準脳に形態的に合致させた後、画素毎のt-検定により有意な変化部位を抽出した。

4) 抑うつとインスリン抵抗性 (本郷)

糖尿病を伴わず、Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders - IVによりうつ病性障害と診断された内科領域のうつ状態患者を対象とし、うつ状態の治療前後でミニマルモデル解析を行った。ミニマルモデル解析は経静脈糖負荷試験開始後20分に速効型インスリン1単位を加えるBergman変法に依った。抑うつ程度は構造化面接によるハミルトン抑うつ尺度を用いて評価した。

(倫理面での配慮)

以上の検討は、ヘルシンキ宣言に基づき、東北大学倫理委員会、PET課題採択委員会等で承認され、十分な説明と文書によるインフォームド・コンセントを被験者から得て施行された。また、動物実験についても、本学動物実験施設倫理規定を遵守して行った。

C. 結果

1) IBSの病態と脳腸相関におけるヒスタミン神経系 (福土)

まず、IBSに心理ストレスとcholinesterase阻害薬neostigmineを投与し、高率な軽微脳波異常、βパワー増大、大腸運動係数増加を認めた。次に、IBS近縁疾患のfunctional dyspepsia患者の食道に電極catheterを挿入して通電し、大脳誘発電位を導出し、dyspepsia患者の後期成分短潜時と悪心発現を認めた。更に、健常者の直腸に電極catheterを挿入して通電し、陰性N1、陽性P1、陰性N2の順に出現する三相波の特徴的大脳誘発電位を記録した。大脳誘発電位波形と平行し、電流強度依存的に腹痛と不安感が誘発された。大腸伸展刺激時の脳血流

の変化をPETで測定し、前帯状回、前頭前野、視床で脳血流増加が認められた。これらの脳血流増加は、内臓知覚に平行し、選択的ヒスタミン-H₁受容体拮抗薬*d*-chlorpheniramine投与により抑制された。大腸伸展刺激時の選択的H₁受容体リガンド¹¹C-doxepin-H₁受容体結合阻害脳部位(内因性ヒスタミン放出部位)は前帯状回、前頭前野、海馬、頭頂連合野であり、その変化は内臓知覚に有意に相関した。ラット脳内におけるストレス下のストレス蛋白の遺伝子発現は海馬と視床下部で顕著に見られた。

2) ノックアウトマウスからヒトPETによるヒスタミン神経系(谷内)

食餌制限下にラットを回転ケージ内に拘束し、次第に回転運動亢進、体重減少を認め、神経性食欲不振症のダイエット・ハイと呼ばれる状況に近いモデルを作成することができた。この時、脳内ヒスタミン含量は増加し、H₁、H₃受容体量は低下した。H₃受容体拮抗薬を投与すると回転運動の増加が有意に抑制された。次に、ノックアウトマウスを用いて神経性食欲不振症モデル作成を試みた結果、2時間のみの食餌時間ではほとんどのマウスが死亡することが判明した。痛みの受容とキンドリング形成におけるH₁受容体の役割は、4種類の刺激すべてにおいて、H₁受容体ノックアウトマウスの痛み反応は野生型に比較して低下し、痙攣を起こしやすかった。ガス相法のヨウ化メチル合成法を用いて¹¹C]ドキシペンを合成し、3次元PETと1日2回のC-11標識合成法により神経伝達物質遊離測定(リガンド賦活法)を現在開発中である。アルツハイマー病においてH₁受容体結合量は正常老人と比較して顕著に減少し、H₁受容体結合量減少はMini-Mental State Examination Scoreと相関した。視覚刺激弁別課題負荷時に賦活される脳部位をPETにより観察し、抗ヒスタミン薬投与により脳幹網様体のある中脳やそのリレー回路のある視床、様々な物体を認知するとき関係のある中側頭回(プロ

ードマン野^{21,22})の活動が低下した。少量のアルコール投与による表情認知の笑顔の認知増大の結果が得られ、更に、H₂¹⁵O-PETにより、表情認知の脳機能画像化に成功した。

3) 更年期障害患者のPETによる局所脳血流(伊藤)

患者群において内側下前頭前野領域の局所脳血流の減少が確認された。また、Kuppersmannによる更年期重症度判定の中の一つの度合いの程度と強く相関した。

4) 抑うつとインスリン抵抗性(本郷)

多くのうつ状態患者はインスリン感受性の低下(すなわちインスリン抵抗性)を示した。これは抑うつ症候が寛解すると比較的短期間(約80日間)で上昇した。寛解後のインスリン感受性は、およそ半数が健常成人の範囲まで回復した。これに対して、インスリンが関与しないGlucose Effectivenessは抑うつの寛解前後で変化せず、また健常成人のそれとの間にも差を認めなかった。

D. 考察

IBSのストレス下の脳腸機能異常を認め、消化管電気刺激による大脳誘発電位の多極導出に成功し、これに平行して内臓知覚と情動が変化した。大腸伸展刺激により視床と辺縁系で脳血流量が増加し、特に辺縁系では内因性ヒスタミンが遊離するが、このようなストレス下では脳内で分子変化が生じていると考えられる。消化管に対応する脳機能moduleとそれに関連する物質を明らかにするこれらの方法により、IBSの脳腸相関の病態が客観的に評価できると考えられる。

神経性食欲不振症ラットモデルにおいて、ダイエット・ハイの時のヒスタミン神経系の機能低下、ヒスタミン神経系を介した治療の有用性が示唆された。また、H₁受容体は、痛み受容に末梢、脊髄、上位中枢レベルにおいて促進的に、また、痙攣抑止

的に作用していると考えられた。ガス相法のヨウ化メチル合成法を用い、連続して高比放射能のリガンドを合成できた。また、H₁受容体がアルツハイマー病患者や正常老人の認知機能低下に関係していること、ならびに、H₁受容体拮抗薬による眠気や認知機能障害発生時において脳血流が増加する部位と減少する部位がモザイク状に点在することが示唆された。

更年期障害患者における脳機能画像より、内側下前頭前野が更年期患者のホルモンが関係したうつ症状の発現に重要な役割を果たしていると考えられる。

うつ状態においては、神経内分泌系の異常、特に視床下部-下垂体-副腎皮質系の機能昂進が指摘され、その病態形成に与るところ大と考えられている。視床下部-下垂体-副腎皮質系の機能昂進が内科領域のうつ状態のインスリン抵抗性に少なくとも部分的には寄与していると考えられる。

中枢ヒスタミン神経系はcorticotropin-releasing hormone (CRH) 放出作用を有する。CRHはストレス反応のcommon mediatorであり、視床下部-下垂体-副腎皮質系のみならず、消化管運動、消化管知覚、摂食、情動に大きく影響することが近年明らかにされた。本研究課題にて病態追及中のストレス関連疾患、すなわち、IBS、神経性食欲不振症、うつ状態、これら全てにおいてCRHが病態の中心として関与するevidenceが集積しつつある。中枢ヒスタミンがCRHを駆動し、その上位に位置する神経伝達物質であることより、ストレス関連疾患におけるヒスタミンの役割は、これまで想定されていたものよりも遥かに大きいことを今後明らかにし得ると予想する。

E. 結論

平成11年度厚生科学研究費により、以下の成果を得た。

1) ヒトにおけるPETによる新しい脳内神経伝達評価法がヒスタミン神経系を中心とし

て開発された。

2) 消化管へのストレスにより視床と辺縁系で脳血流量が増加し、特に辺縁系で内因性ヒスタミンが遊離し、大脳誘発電位が変化することが明らかになった。

3) ノックアウトマウスとストレスのモデルラットにより、疼痛・痙攣・摂食の神経伝達におけるヒスタミンH₁受容体の役割が明らかになった。

4) 更年期障害における脳機能画像より、内側下前頭前野における局所脳血流減少が描出された。

5) うつ状態におけるインスリン抵抗性の存在が示された。

以上の成果に基づき、ヒスタミン神経系を中心とするストレス関連疾患の病態を明らかにする研究をさらに推進することは、深刻度を増しつつあるストレス関連疾患の克服、ひいては国民の福利厚生に繋がるものである。

II. 分担研究報告書

過敏性腸症候群におけるヒスタミン神経系の関与

主任研究者

福土 審

ヒスタミン神経系の病態生理研究：

ノックアウトマウス研究からヒトPET研究

分担研究者

谷内 一彦

更年期女性の自律神経異常の局所脳血流変化

に関するPETによる研究

分担研究者

伊藤正敏

抑鬱とインスリン抵抗性に関する研究

分担研究者

本郷道夫

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
研究報告書

過敏性腸症候群におけるヒスタミン神経系の関与

主任研究者 福土 審 東北大学大学院医学系研究科人間行動学・教授
研究協力者 鹿野理子 東北大学大学院医学系研究科病態薬理学
濱口豊太 東北大学大学院医学系研究科人間行動学
小竹千枝子 東北大学大学院医学系研究科人間行動学
野村泰輔 東北大学医学部附属病院心療内科・講師
金澤 素 東北大学大学院医学系研究科人間行動学・助手

研究要旨

過敏性腸症候群(irritable bowel syndrome; IBS)は消化器病の中で最も高頻度な心身症であり、その病態の追求は消化器症状形成の原理に直結する重要なストレス関連疾患である。IBSの中心病態と考えられる脳腸相関の客観的評価法を、心理ストレス負荷時の脳波及び消化管運動測定、消化管刺激下の大脳誘発電位とpositron emission tomography (PET)による脳画像を得る方法を開発して確立し、IBSの病態解明上有用な知見を得た。また、IBSのストレス下の脳内の分子変化の基礎を解明するため、動物実験を行った。まず、IBSに心理ストレスとcholinesterase阻害薬neostigmineを投与し、高率な軽微脳波異常、 β パワー増大、大腸運動係数増加を認めた。次に、IBS近縁疾患のfunctional dyspepsia患者の食道に電極catheterを挿入して通電し、大脳誘発電位を導出し、dyspepsia患者の後期成分短潜時と悪心発現を認めた。更に、健常者の直腸に電極catheterを挿入して通電し、陰性N1、陽性P1、陰性N2の順に出現する三相波の特徴的大脳誘発電位を記録した。大脳誘発電位波形と平行し、電流強度依存的に腹痛と不安感が誘発された。また、大腸伸展刺激時の脳血流の変化をPETで測定し、前帯状回、前頭前野、視床で脳血流増加が認められた。これらの脳血流増加は、内臓知覚に平行し、選択的ヒスタミン- H_1 受容体拮抗薬*d*-chlorpheniramine投与により抑制された。大腸伸展刺激時の選択的 H_1 受容体リガンド ^{11}C -doxepin- H_1 受容体結合阻害脳部位(内因性ヒスタミン放出部位)は前帯状回、前頭前野、海馬、頭頂連合野であり、その変化は内臓知覚に有意に関連した。ラット脳内におけるストレス下のストレス蛋白の遺伝子発現は海馬と視床下部で顕著に見られた。IBSのストレス下の脳腸機能異常を認め、消化管電気刺激による大脳誘発電位の多極導出に成功し、これに平行して内臓知覚と情動が変化した。大腸伸展刺激により視床と辺縁系で脳血流量が増加し、特に辺縁系では内因性ヒスタミンが遊離するが、このようなストレス下では脳内で分子変化が生じていると考えられる。消化管に対応する脳機能moduleとそれに関連する物質を明らかにするこれらの方法により、IBSの脳腸相関の病態が客観的に評価できると考えられる。

A. 研究目的

過敏性腸症候群(irritable bowel syndrome; IBS)は消化器病の中で最も高頻度であり、その病態の追求は消化器症状形成の原理に直結する重要な疾患である¹⁾。IBSは、腹痛あるいは腹部不快感と便秘・下痢などの便通異常が関連しながら一定期間持続する下部消化管の機能異常症である。IBSは、高頻度である上に増加しつつあり、わが国を含む先進諸国で膨大な医療費が費やされ、罹患者の quality of life (QOL)を大きく障害している。IBSではストレス負荷とストレス関連物質のcorticotropin-releasing hormone (CRH)投与で消化管運動とACTH分泌が亢進し、脳腸関連の病態を呈する。IBSの中心病態は脳腸関連と考えられ、その中に消化管運動異常と内臓知覚過敏が包含される²⁾。しかし、脳腸関連の客観的評価法、脳腸関連の鍵物質は明らかにされていない。一方、アミン系神経伝達物質のヒスタミンは動物の睡眠-覚醒サイクル、食欲、記憶、学習、攻撃行動、情動に関与することが次々に解明されつつある。ヒスタミンはCRH放出作用を有し、そのストレス関連疾患における役割が注目される。

われわれは、ストレスにより脳の特定の部位でヒスタミンが放出され、局所的に脳活動を賦活化する、特に、IBSにおいて特定の局所脳が賦活化されるパター

ンがある、と仮説づけた。本研究は、この仮説をpositron emission tomography (PET)を中心とする脳機能画像を用いて検証することを主目的とする。更に、その裏付けとして、動物実験によりストレスにおける脳内アミンの役割を明確にする。本年度は、心理ストレス負荷時の脳波及び消化管運動測定、消化管刺激下の脳誘発電位とpositron emission tomography (PET)による脳画像を得る方法を開発して確立した。また、IBSのストレス下の脳内の分子変化の基礎を解明するため、動物実験を行い、IBSの病態解明上有用な知見を得た。

B. 方法

1) IBSの脳腸機能同時測定

IBS患者24人を対象とし、健常者24人を対照とした。colonoscopeにて下行結腸にtransducerを挿入し、大腸内圧と同時に脳波を測定し、安静時、心理ストレス負荷時、cholinesterase阻害薬neostigmine投与下の脳腸機能を同時に評価した。

2) IBS近縁疾患・functional dyspepsiaにおける食道刺激脳誘発電位

IBS近縁疾患のfunctional dyspepsia 14人を対象とし、健常者14人を対照とした。食道に電極catheterを挿入して通電し、電流値を変化させて脳誘発電位波形の変化、自覚症状の変化を定量化した。

3) 直腸刺激大脳誘発電位

大脳誘発電位は健常者14人を対象とした。脳波測定下に、電極catheterを直腸に挿入し、電気刺激装置にて頻度1.0Hzかつ矩形持続200msの電流(mA)をrandomに通電し、感覚閾値と痛覚閾値を測定した。安静後、通電しないsham刺激を行い、2mA、10mA、20mA、30mA、感覚閾値、痛覚閾値の刺激をrandomな順番で加えた。電気刺激装置からの刺激信号は脳波計に入力し、刺激信号から始まる脳波をsignal processorにて100回加算し、大脳誘発電位を導出した。

4) 大腸伸展刺激PET

PETは健常者17人を対象とした。10例にcolonoscopeにて下行結腸にbarostat bagを挿入し、barostat装置でsham刺激、20mHg、40mHgの刺激をrandomな順番で加え、同時にcyclotronで合成したH₂¹⁵O生理食塩水を静注し、SET2400W型三次元PETを用いて脳血流を測定した。更に、選択的ヒスタミンH₁受容体拮抗薬d-chlorpheniramine投与下の脳画像を比較した。一方、7例にcolonoscopeにて下行結腸にballoonを挿入し、刺激装置で大腸拡張刺激を加えた。cyclotronで合成した選択的ヒスタミンH₁受容体拮抗薬¹¹C-doxepinを静注し、脳PET撮影を行い、受容体結合画像を得た。同様の操作で無刺激の対照と刺激下の2条件を比較した。各刺激直後に11 (0-10)段階のordinate scale

にて内臓知覚と情動を計測した。

5) 動物実験によるストレス下脳内のストレス蛋白遺伝子発現

ラットを用い、対照、水浸拘束ストレス6時間、水浸拘束ストレス12時間、水浸拘束ストレス6時間後6時間回復の4群のheat shock cognate protein (HSC) 70 mRNAの脳局在をin situ hybridizationにて分析した。

C. 結果

1) IBSの脳腸機能同時測定

安静時、健常者の軽微脳波異常率(4.2%)に比較して、IBSでは有意に高率な軽微脳波異常(29.2%)を認めた(p < 0.02)。また、脳波パワー・スペクトラムにおいて有意なβパワー高値(p < 0.02)、neostigmine高用量投与後の有意な大腸運動係数高値(p < 0.05)を認めた¹⁾。

2) IBS近縁疾患・functional dyspepsiaにおける食道刺激大脳誘発電位

IBS近縁疾患のfunctional dyspepsia患者の食道に電極catheterを挿入して通電し、大脳誘発電位を導出し、dyspepsia患者の後期成分短潜時と悪心発現を認めた²⁾。

3) 直腸刺激大脳誘発電位

大腸電気刺激によって、陰性N1、陽性P1、陰性N2の順に出現する三相波の特徴的大脳誘発電位を記録した⁴⁾。感覚閾値は15.6 ± 2.1mA、痛覚閾値は24.3 ± 2.2mA

であった。三相波形は30mAのCzで最も大きく、平均潜時(msec)はN1 152、P1 239、N2 322、平均振幅 (mV)はN1P1間 5.0、P1N2間 3.5であった。大脳誘発電位波形と平行し、電流強度依存的に腹痛と不安感が誘発された ($p < 0.0001$, ANOVA)⁵⁾。

4) 大腸伸展刺激PET

大腸伸展刺激PETの有意な脳血流増加部位は前帯状回、前頭前野、視床であった($p < 0.00001$, SPM)。これらの脳血流増加は、ordinate scaleによる内臓知覚に平行し、*d*-chlorpheniramine投与により抑制された⁶⁾。大腸伸展刺激PETの有意な選択的H₁受容体結合阻害部位(内因性histamine放出部位)は前帯状回、前頭前野、海馬、頭頂連合野であり($p < 0.01$, SPM)、その変化は内臓知覚に有意に関連した($r=0.92$, $p < 0.005$)⁷⁾。

5) 動物実験によるストレス下脳内のストレス蛋白遺伝子発現

水浸拘束ストレス 6 時間、水浸拘束ストレス12時間、水浸拘束ストレス 6 時間後6時間回復の3群のHSC70 mRNAの脳における発現は海馬CA₃領域で有意に増加し ($p < 0.05$)、ストレス負荷が12時間に及べば視床下部においても発現が増加した ($p < 0.05$)⁸⁾。

D. 考察

大腸運動と脳波の同時測定により、心理ストレス負荷時のIBSの中枢ならびに消化管の反応異常を明らかにし得た。IBSの高率な軽微脳波異常と脳波パワー・スペクトラムのβパワー高値りは、IBSにおける神経伝達異常を示唆している。われわれはCRHを内因性に増加させる心理ストレス負荷によるIBSの大腸運動亢進、CRHの外因性投与によるIBSの大腸運動亢進とACTH分泌亢進を報告した。ヒスタミンはCRH放出作用を有するため、IBSの中枢における神経伝達異常に関連している可能性がある有力な候補物質である。

IBS近縁疾患のfunctional dyspepsia患者の食道電気刺激による大脳誘発電位の後期成分潜時短縮と悪心発現を認めた³⁾。これは、消化管機能異常症において、大脳誘発電位の臨床的有用性を明示した初めての報告である。本法が、消化管から脳に伝達されるシグナルの中枢内過程を電気生理学的に明らかにし、無愁訴の健常者とストレスに対する過敏性を示すdyspepsia患者の中枢内過程の相違を認め、臨床場面において簡便に利用できることを示した点で意義は大きい³⁾。この方法をもとに、大腸電気刺激による大脳誘発電位法を確立しえた^{4,5)}。これにより、IBSにおいて消化管から脳に伝達されるシグナルの中枢内過程にヒスタミンがどのように関与するかについての電気

生理学的基盤を形成しえたことになる。

消化管へのストレスにより視床と辺縁系で脳血流量が増加し⁶⁾、特に辺縁系では内因性ヒスタミンが遊離することが示された^{6,7)}。PETの結果からは、ヒスタミン遊離は内臓知覚の情動成分に最も関与していると考えられる⁷⁾。消化管に対応する脳機能moduleとそれに関連する神経伝達物質を同定するこれらの方法を平成11年度内に確立しえたことにより、IBSの脳腸関連の病態に対するヒスタミンの関与を検討する基盤が作られた。

動物実験の結果、水浸拘束ストレスという心理身体ストレスによって、HSC70 mRNAの脳における発現を認めた⁸⁾。HSC70は細胞保護作用を持つストレス蛋白の1種である。HSC70 mRNAの発現が、記憶と情動を司る海馬、特にCA3領域で著しいことより、心理身体ストレスによる海馬細胞障害に対するストレス蛋白の保護作用が考えられる。ヒスタミンをはじめとするストレス下の脳内の分子変化の詳細を今後明らかにする必要がある。

E. 結論

消化管に対応する脳機能moduleとそれに関連する物質を明らかにする方法により、IBSの脳腸関連の病態を客観的に評価できると考えられる。これらの方法を平成11年度内に確立しえたことにより、IBSの脳腸関連の病態に対するヒスタミ

ンの関与を検討する基盤が作られた。

F. 業績

- 1) Nomura T, Fukudo T, Matsuoka H, Hongo M. Abnormal electroencephalogram in irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* **34**: 478-484, 1999
- 2) Kano M, Fukudo S, Hongo M. Changes in gastrointestinal motility, visceral perception and minor mucosal inflammation by fasting therapy in a patient with irritable bowel syndrome. *Psychosom Med* **61**: 99, 1999
- 3) Kanazawa M, Nomura T, Fukudo S, Hongo M. Abnormal visceral perception in patients with functional dyspepsia: Use of cerebral potentials evoked by electrical stimulation of the esophagus. *Neurogastroenterol Motil* **12**: 87-94, 2000
- 4) Fukudo S, Higuchi M, Nomura T, Hongo M, Ito M, Watanabe T, Yanai K. Positron emission tomography proved histamine release in the human brain in visceral perception and emotion. *Psychosom Med* **61**: 120-121, 1999
- 5) Fukudo S, Kano M, Hamaguchi T, Nomura T, Hongo M, Watanabe T, Ito M, Yanai K. Role of histamine in visceral perception and emotion: changes in cerebral blood flow detected with positron emission tomography. *Psychosom Med* **62**: 138, 2000
- 6) Fukudo S, Kano M, Hamaguchi T, Kotake C, Nomura T, Hongo M, Watanabe T, Ito M, Yanai K. Functional module and neurotransmission of the human brain in visceral perception. *Proceedings of Brain-Gut 2000 Symposium*, in press.

- 7) Fukudo S, Kano M, Hamaguchi T, Kotake C, Nomura T, Hongo M, Watanabe T, Ito M, Yanai K. Visceral perception, emotion, and neurotransmission in the human brain: Use of positron emission tomography and cerebral evoked potential. *Proceedings of Sixth International Congress of Behavioral Medicine*, in press.
- 8) Fukudo S, Abe K, Itoyama Y, Mochizuki S, Sawai T, Hongo M. Psychophysiological stress induces heat shock cognate protein (HSC)70 mRNA in the hippocampus of rats. *Neuroscience* **91**: 1205-1208, 1999

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

ヒスタミン神経系の病態生理研究：ノックアウトマウス研究からヒト PET 研究

分担研究者 谷内一彦 東北大学大学院医学系研究科病態薬理学研究分野 教授

研究要旨

平成 11 年度脳科学研究事業「心身症と神経症におけるヒスタミン神経系の異常に関する研究」に分担者として参加させていただき、我々のヒスタミン神経系の病態生理研究を進行させることができた。我々はノックアウトマウスを含む小動物を用いた研究からヒト被験者研究までデータを外挿することにより研究を進めた。我々がこの 1 年間取り組んできた研究テーマは以下の通りである。1) 神経性食欲不振症 (anorexia nervosa) のラットモデルの作成とその評価、2) ヒスタミン H₁ 受容体ノックアウトマウスを用いた痛みと痙攣における H₁ 受容体の役割、3) ガス相法による新しい [¹¹C] ヨウ化メチル合成の確立と受容体測定法への応用（特にリガンド賦活法）、4) PET を用いたアルツハイマー病における H₁ 受容体量の変化、5) PET を用いた抗ヒスタミン薬による眠気と認知機能発生メカニズム研究、6) 情動を測定するための新しいタスクの開発と評価である。本研究報告書ではそれぞれの研究項目についてヒスタミン神経系の病態生理研究を中心にノックアウトマウス研究からヒト PET 研究まで新しく得られた知見を記述する。

A. 研究目的

ヒスタミン神経系は後部視床下部にその細胞体を持ち、上位・下位方向にその線維を投射している。ヒスタミン神経はラットにおいて約 3000 個、ヒトにおいて約 3 万個存在している。ヒスタミン・ニューロンはその存在が同定されたのが 1984 年と遅かったために、その病態生理研究は最近まで十分になされていなかった。最近、様々なヒスタミンシステムのノックアウトマウスが開発され小動物における病態生理研究の新たな進展が生じた。我々のヒスタミン H₁ 受容体ノックアウトマウス研究から、H₁ 受容体は、覚醒・日内リズム、情動、攻撃性、痛みの

受容、けいれんなどに関与していることがわかってきた。このような観点からヒスタミン神経系はうつ病、神経症、心身症に関係していると思われる。我々の第一の目的はノックアウトマウスを含む小動物モデルにおいて、うつ病、神経症、心身症におけるヒスタミン神経系の役割を明らかにすることである。今年度は神経性食欲不振症のラットモデルを作成してヒスタミン神経系にどのように変化が生じているか明らかにすることである。またヒスタミン H₁ 受容体ノックアウトマウスを用いて、痛みの受容とけいれんキンドリングにおける H₁ 受容体の役割を明らかにすることを目的とした。

ノックアウトマウスなどの小動物における研究をヒトに外挿するために、PET（ポジトロン・エミッション・トモグラフィ）を用いたヒト被験者研究の方法論的開発を行った。PET 研究には高比放射能の標識リガンドを頻回に合成する必要がある。そのために頻回に合成できるガス相法による ^{14}C -ヨウ化メチル合成法を確立することを目的とした。さらにこの標識合成システムを用いて ^{14}C -ドキセピン（強力な H1 アンタゴニスト）を合成しアルツハイマー病において H1 受容体量がどう変化しているか明らかにすることを試みた。また 3 次元データ収集 PET と H_2^{15}O を用いた脳血流量測定法により、抗ヒスタミン薬を例に眠気という感情のイメージングが可能か検討した。主観的感情をイメージングできれば、心身症や神経症に応用できるからである。このような感情をイメージングする目的で情動を測定するタスク、特に顔の表情認知課題を開発してその評価を行った。

B. 研究方法

1) 神経性食欲不振症 (anorexia nervosa) のラットモデルの作成

ラットを回転ケージに拘束してその運動量を計測した。ラットの食餌時間は 1 日 2 時間のみでそれ以外は回転ケージに拘束した。10-14 日後に脳と血液を取りだして、ヒスタミン含量を測定した。さらに H3 受容体アンタゴニスト（神経性ヒスタミン遊離促進作用）の自発運動量に対する効果を調べた。

2) ヒスタミン H1 受容体ノックアウトマウス研究

痛みの受容と痙攣における H1 受容体の役割を明らかにするために、H1 受容体ノックアウトマウスを用いて、行動薬理実験を行った。用いた痛み試験は、hot-plate test, tail-flick test, tail-pressure test, formalin test である。またキンドリング形成にはペンチレンテトラゾール (PTZ) を 25 日間腹腔内連続投与により作成した。

3) ガス相法による ^{14}C ヨウ化メチル合成

$^{14}\text{CO}_2$ をトトラブしたあと $^{14}\text{CH}_4$ に還元し、ヨウ素 (I_2) と反応させることにより ^{14}C -ヨウ化メチルを合成する。Lithium aluminum hydride を還元剤として用いる従来の方法と、比放射能などを比較しながら自動合成法を確立することをおこなった。

4) PET を用いたアルツハイマー病における H1 受容体量

10 人のアルツハイマー病 (AD) 患者と 5 人の正常老人、および 6 人の若年男子において PET と ^{14}C ドキセピンを用いて H1 受容体を測定した。10-15mCi の ^{14}C ドキセピンを静脈内に one-shot で投与して 90 分間脳の放射能を PET カメラにて測定した。動脈ラインを確保し、動脈血漿中の放射能と代謝物を HPLC にて計測し、正確なインプット関数を測定しモデル解析をおこなった。

5) 眠気と認知機能障害のイメージング

主観的感情である眠気をイメージングするために、脳賦活試験遂行時（視覚弁別課題）の脳機能イメージングを H_2^{15}O 静注法により行い、さらに特異的に H1 受容体の神経伝達を遮断する薬 (d-クロ

ルフェニラミン)を投与することにより、抗ヒスタミン薬の認知能力低下や眠気に関与する脳の特異的作用点を描出することを試みた。視覚弁別課題の文字刺激の呈示時間を 5msec に設定し、それぞれの脳血流画像を得た。d-クロルフェニラミン 2mg を静注して 15 分後に同じく課題遂行中の脳血流画像を得た。

6) 情動を測定するタスクの開発

様々なイメージを PICT ファイルとして登録しておき、マッキントシュ (G3) コンピュータ上において PsyScope (free soft, <http://psyscope.psy.cmu.edu/>) を用いてモニターに呈示した。マッキントシュにボタンボックスを接続して反応時間と正答率を正確に測定した。今回用いた刺激は、様々な表情を持った顔 (幸福、悲しみ、驚き、怒り) とそれぞれを Neutral との間で 4 段階変化させた画像である。アルコールを飲用させることにより反応時間に変化を調べた。

C. 研究結果と考察

1) 神経性食欲不振症 (anorexia nervosa) のラットモデル

食餌制限下にラットに回転ケージ内に拘束すると、拘束後 1 週間あたりから次第に回転運動が亢進し体重が減少した。いわゆるストレス・ハイ (ダイエット・ハイ) と呼ばれる状況に近いモデルを作成することができた。この時、脳内ヒスタミン含量は増加し、H₁、H₃ 受容体量は低下した。ストレス・ハイの時にヒスタミン神経系の機能低下がおきていることが示唆された。

低下したヒスタミン神経系の機能を増

大させるために、H₃ 受容体アンタゴニストを投与すると回転運動の増加を有意に抑制することができた。ヒスタミン神経系を介して神経性食欲不振症の治療が可能であることが示唆された。

2) ヒスタミン H₁ 受容体ノックアウトマウス研究

ノックアウトマウスを用いてラットと同様に神経性食欲不振症のモデルの作成を試みたが、マウスでは 2 時間のみの食餌時間ではほとんどのマウスが死亡することがわかった。次年度以降にマウスにおいてもストレス・ハイのモデルを作成し、ノックアウトマウスへ応用したい。今年度は痛みの受容とキンドリング形成における H₁ 受容体の役割を調べた。4 種類の刺激 (hot-plate test, tail-flick test, tail-pressure test, formalin test) すべてにおいて、H₁ 受容体ノックアウトマウス (H₁KO) の痛み反応は野生型に比較して低下していた。末梢、脊髄、上位中枢レベルにおいて H₁ 受容体が痛み受容に促進的に作用していることが示唆された。ペンチレンテトラゾール (PTZ) を用いたキンドリング形成において、H₁KO マウスは野生型より有意に痙攣を起こしやすかった。このことから、H₁ 受容体は痙攣抑制的に作用していることが判明した。

3) ガス相法による [¹⁴C]ヨウ化メチル合成

ガス相法のヨウ化メチル合成法を用いて [¹⁴C]ドキセピンを合成した。比放射能は供給時点 (EOS) にて 2000 μ Ci/nmol 以上であり、連続して高比放射能のリガンドを合成できた。Lithium aluminum hydride in THF を毎回調整する必要がない

ために準備が簡略になり、1日2回標識合成することも可能になった。3次元PETと1日2回のC-11標識合成法により神経伝達物質遊離測定（リガンド賦活法）を現在計画中である。

4) アルツハイマー病とH1受容体

アルツハイマー病においてH1受容体結合量は正常老人と比較して顕著に減少した。脳血流量の指標である血液と脳コンパートメントの速度定数のK1もADにおいて減少する傾向はあるが、H1受容体結合量の減少と比較して軽度であった。ADにおけるH1受容体結合量減少はMini-Mental State Examination (MMSE) Scoreと相関していた。本研究によりH1受容体がAD患者や正常老人の認知機能低下に関係していることが示唆された。アルツハイマー病における神経伝達の異常は、多くの神経伝達物質に異常が生じることが知られている。本PET研究からヒスタミン神経系の機能低下が様々な老人やアルツハイマー病の中枢機能の低下に関係している可能性が考えられた。

5) 眠気と認知機能障害のイメージング

視覚刺激弁別課題のようにattentionを必要とするタスク遂行時には脳幹網様体や視床が賦活されることがPET研究から明らかになっており、抗ヒスタミン薬によりどのように影響を受けるか調べた。タスク負荷時に多くの部位が賦活されるが、抗ヒスタミン薬投与により減少する部位は予想されたように脳幹網様体のある中脳やそのリレー回路のある視床、様々な物体を認知するとき関係のある中側頭回（ブロードマン野21,22）などが、抗ヒ

スタミン薬投与による認知機能に関して活動が低下した。また抗ヒスタミン薬によりかえって、活動が増加する部位がattentionに関係する部位（帯状回など）で認められた。他の神経系が代償性に作用して活動が増加している可能性が考えられた。このように眠くなったときに無理やりタスクを行うために注意に関係する部位が賦活すると考えられる。眠気や認知機能障害発生時において脳血流が増加する部位と減少する部位がモザイク状に点在することが眠気・認知機能障害のイメージングである。

6) 情動を測定するタスクの開発

ヒトは多くの表情のなかで笑顔に早く反応することが知られている（笑顔の優位性）。被験者に少量のアルコールを負荷することにより笑顔の優位性が増大することが分かった。現在表情認知課題とH₂¹⁵O静注法により、感情のイメージングを行っている。

D. 結論

今年が1年目ということで心身症と神経症におけるヒスタミン神経系の研究について様々な面から方法論的な開発を行った。ノックアウトマウス研究からヒトPET研究まで3年計画研究の順調な一歩を踏み出せた。心身症・神経症にヒスタミン神経系が関係しているデータおよびヒスタミン神経系を介する新しい治療法の開発の可能性について方向性を見出せたと考えている。

E. 研究発表（論文発表）

1) **K. Yanai**, L. Z. Son, J. I. Mobarakeh, A.

Kuramasu, Z. Y. Li, E. Sakurai, Y. Hashimoto, T. Watanabe and T. Watanabe. Histamine H1 receptor-mediated inhibition of potassium-evoked release of 5-hydroxytryptamine from mice forebrains. Behav. Brain Res. In press

2) J. I. Mobarakeh, S. Sakurada, S. Katsuyama, M. Kutsuwa, A. Kuramasu, Z. Y. Li, T. Watanabe, Y. Hashimoto, T. Watanabe and **K. Yanai**. Role of histamine H1 receptor in pain perception: A study of the receptor gene knockout mice. Eur. J. Pharmacol. 391: 81-89 (2000)

3) N. Okamura, **K. Yanai**, M. Higuchi, J. Sakai, R. Iwata, T. Ido, H. Sasaki, T. Watanabe, M. Itoh. Functional neuroimaging of cognition impaired by a classical antihistamine, d-chlorpheniramine. Brit. J. Pharmacol. 129: 115-123 (2000)

4) R. Iwata, C. Pascali, A. Bonghi, G. Horvath, Z. Kovacs, **K. Yanai** and T. Ido. A new, convenient method for the preparation of 4-[¹⁸F]fluorobenzyl halides. Appl. Radiat. Isot. 52: 87-92 (2000)

5) T. Morimoto, Y. Yamamoto, J. I. Mobarakeh, **K. Yanai**, T. Watanabe, T. Watanabe, T. Watanabe and A. Yamatodani. Involvement of the histaminergic system in leptin-induced suppression of food intake. Physiol. Behav. Vol. 67(5): 679-683 (1999)

6) H. Toyota, C. Ito, **K. Yanai**, M. Sato, T. Watanabe. Histamine H1 receptor binding capacities in the amygdaloid kindled rat. J. Neurochem. 72: 2177-2180 (1999)

7) **K. Yanai**, N. Okamura, M. Tagawa, M. Itoh, and T. Watanabe. New findings in pharmacological effects induced by

antihistamines: From PET studies to knockout mice. Clinical and Experimental Allergy: 29 (Suppl 3): 29-36 (1999)

8) 谷内一彦、田川正秋。ポジトロンCTによる脳神経薬理解析研究。日本臨床印刷中

9) 谷内一彦、田川正秋、岡村信行。ポジトロン・エミッション・トモグラフィー(PET)による抗ヒスタミン薬の脳内移行と認知機能障害のイメージング。医学のあゆみ印刷中

10) 谷内一彦。痴呆症の治療と予防。セロトニン、ヒスタミン系薬剤。特集「アルツハイマー病と異常蛋白沈着による痴呆症をめぐる最近の話題」Pharma Medica 18: 73-79 (2000)

11) 谷内一彦、田川正秋、岡村信行。PETによる眠気と認知機能障害発生メカニズム研究：抗ヒスタミン薬を例に。月刊薬事 42: 587-591 (2000)

12) 谷内一彦。PETを用いたヒト脳の神経薬理学的研究。日本薬理学会雑誌、114: 169-178 (1999)

13) 谷内一彦、渡辺武、渡邊建彦。ヒスタミン受容体欠損マウス。日本遺伝子治療学会編「遺伝子治療開発研究ハンドブック」。916-919, 1999

F. 共同研究者：渡邊建彦¹⁾、櫻井映子¹⁾、田川正秋¹⁾、鹿野理子¹⁾、加藤元久¹⁾、遠藤雅俊²⁾、岩田錬²⁾、岡村信行¹⁾、櫻田忍³⁾、Jalal Izadi MobarakeH1¹⁾、柴智子¹⁾、李争艶¹⁾、望月秀紀¹⁾

¹⁾ 東北大学大学院医学系院薬理、老人科

²⁾ 東北大学サイクロトンRIセンター

³⁾ 東北薬科大学機能形態

分担研究報告書

更年期女性の自律神経異常の局所脳血流変化に関する PET による研究

分担研究者 伊藤 正敏 東北大学サイクロトロン RI センター核医学研究部 教授

研究要旨

更年期女性には、ほてり、のぼせ (hot flush)、発汗、動悸等の自律神経調節障害、不眠、うつなどの精神症状が出現することが多く、閉経前後の女性の QOL に大きく影響を与えている。本研究では、脳の機能画像法であるポジトロン断層法 (PET) を用いて更年期症状を患った患者の脳機能の変化の描出を試みた。東北大学更年期外来を訪れた患者の中で検査を同意した中等度から重度の更年期症状の 12 人の患者を対象とし、コントロールとしての 6 人の健常ボランティアと対比した。PET で測定した脳血流 (rCBF) 画像を統計画像処理ソフトウェア (SPM96) を用いて Talairach の標準脳に形態的に合致させた後、画素毎の t 検定により有意な変化部位を抽出した。結果として、患者群において内側下前頭前野領域の rCBF の減少が確認された。この領域は既に双極性/単極性うつ病でその部の活動の減少が報告されている領域に近く、部分的に重なっている。また、Kuppermann による更年期重症度判定の中のうつの度合いの程度と強く相関するものであった。本結果は、内側下前頭前野が更年期患者のホルモンが関係したうつ症状の発現に重要な役割を果たしている可能性を示唆するものである。

A. 研究目的

更年期女性には、ほてり、のぼせ (hot flush)、発汗、動悸等の自律神経調節障害、不眠、うつなどの精神症状が出現することが多く、これを更年期障害と総称している。通常 5 年程度で消失することが多いが、その間、閉経前後の女性の QOL に大きく影響を与えている。更年期障害の病因は、減少した卵巣機能とそれに続くホルモン不足、そして社会文化・心理的要素と認識されているが、その神経学的基盤はまだ明らかではない。更年期症状は、神経生化学的異常と、自律神経的異常が重乗した機能的疾患

の可能性が考えられる。本研究は、脳の機能画像法であるポジトロン断層法 (PET) を用いて更年期症状を患った患者の脳機能の変化の描出を目的とした。

B. 研究方法

器質的疾患を持たず、かつ、精神神経作動薬や血流やホルモンに影響する薬物を少なくとも 6 ヶ月間用いていない 18 人の閉経期女性を対象とした。12 人 (47.8±6.1 歳、平均±SD) は、中等度の更年期症状をもつ患者で東北大学の更年期障害外来受診患者の中から同意した人である。また、