

厚生科学研究費補助金
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12年度研究成果報告書

平成12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 …… 1

II. 分担研究報告書

過敏性腸症候群と関連心身症におけるヒスタミン神経系の関与

主任研究者 福土 審 …… 7

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 …… 13

手背電気刺激による局所脳血流変化と条件付け効果

分担研究者 伊藤正敏 …… 22

神経性食思不振症におけるHPA axisとレプチンの関連性に関する研究

分担研究者 本郷道夫 …… 26

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 …… 35

IV. 関連業績

論文 …… 41

V. 研究組織名簿 …… 313

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12年度厚生科学研究費により、新しい脳内神経伝達評価法の過敏性腸症候群への応用が開始された。消化管への物理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し、その電位の振幅は過敏性腸症候群で大きい。ノックアウトマウスによる疼痛の神経伝達にはヒスタミンH₁受容体が関与する。摂食障害において、ヒスタミン神経系・レプチン・視床下部-下垂体-副腎軸の役割、条件付け不安反応における脳血流変化部位が明らかにされた。これらの知見を平成12年度に明らかにしたことにより、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が明らかになりつつある。

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ならびにその関連物質の役割を明確にする。平成12年度は、病的状態における中枢ヒスタミン神経系機能の役割に主眼を置いて検討した。

B. 方法

1) IBSと関連心身症におけるヒスタミン神経系の関与（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関連の客観的評価法を開発し、確立した。消化管刺激下の脳誘発電位をIBS患者と健常者で比較した。消化管刺激下のPET画像におけるヒスタミン神経系の役割を検討した。また、IBSのストレス下の脳内神経伝達の変化を解明するため、大腸伸展刺激時の脳内アミンの放出動態を分析した。さらに、IBSに多い睡眠障害の自律神経動態を分析するための基礎的検討を行った。

2) 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（谷内）

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、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、ガス相法とメチルトリプレート法による新しい¹¹C]ヨウ化メチル合成の確立と受容体測定法への応用、うつ病とアルツハイマー病におけるPETを用いたH1受容体量の測定、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、情動を測定するための新しいタスクの開発とアレキシサイミアへの応用を行った。

3) 手背電気刺激による局所脳血流変化と条件付け効果（伊藤）

不安条件付け反応は、心身症・神経症が形成されるのに重要な病態と考えられる。しかし、それに関与する脳機能部位には不明な点が多い。不安条件付け反応へのヒスタミン神経系の関与を探る前段階として、脳機能部位の解明を試みた。健常成人に transcutaneous electric nerve stimulation (TENS)を用いた痛み刺激を負荷し、その時およびその後の局所脳血流の時間変化をポジトロン断層法 (PET) を用いて測定した。同時に、条件刺激としてブザー音を与えた時の条件付け効果を見た。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(SPM99)を用いてTalairachの標準脳に形態的に合致させた後、画素毎の共分散構造分析により有意な変化部位を抽出した。

4) 神経性食思不振症におけるHPA axisとレプチンの関連性に関する研究（本郷）

神経性食思不振症においては、中枢ヒスタミン神経系・レプチン・視床下部-下垂

体-副腎軸の異常が想定されるが、未だ明らかではない。神経性食思不振症10例（全例女子、20±3歳）を対象、20歳の健常女子10例を対照とし、dexamethazone投与下のcorticotropin-releasing hormone (CRH)負荷試験を実施し、同時にレプチンを測定した。

（倫理面での配慮）

ヒトを対象とする研究は、ヘルシンキ宣言に沿い、東北大学医学部倫理委員会の承認の下に行った。全ての被験者に十分に説明し、文書によるinformed consentを得た。動物実験については東北大学動物実験倫理委員会の承認を得た。

C. 結果

1) IBSと関連心身症におけるヒスタミン神経系の関与（福土）

健常者と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、健常者とIBS患者の直腸に電極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。IBSのP1N2間の振幅は刺激依存性に増大し、有意に健常者より大きかった。両群で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、内臓知覚に相関し、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。大腸進展刺激に対し、ラット海馬におけるnoradrenaline放出が顕著に見られた。夜間強制覚醒により、副交感神経機能が亢進し、陰性感情が高まった。

2) 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（谷内）

食餌制限下にラットを回転ケージ内に拘束し、徐々に運動が亢進し体重が減少するストレス・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。ヒスチジンやH₃受容体アンタゴニストを投与すると回転運動の増加が有意に抑制された。痛み刺激において、H₁受容体ノックアウトマウス（H₁KO）のモルヒネ鎮痛反応は野生型に比較して増大していた。ガス相法とメチルトリフレート法を用いて¹¹C]ドキシペンを合成した。比放射能は供給時点（EOS）にて2000 μCi/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。アルツハイマー病（AD）患者においてH₁受容体結合量は正常老人と比較して顕著に減少した。軽症うつ病患者でPETを用い、H₁受容体を測定し、H₁受容体の減少が観察された。Choice reaction time課題施行時の局所脳血流は、右帯状回（BA24）、右頭頂葉（BA40）、左小脳が賦活さ

れるが、d-クロルフェニラミン投与により活動が低下した。表情認知課題と $H_2^{15}O$ 静注法PETにより、感情のイメージングを行い、アレキシサイミアと正常反応者において表情認知の脳内メカニズムが判明しつつある。

3) 手背電気刺激による局所脳血流変化と条件付け効果 (伊藤)

TENS刺激中は視床、帯状回、網様体、前頭葉眼窩回、中心後回が賦活された。TENS 1分後には帯状回、中心後回、小脳半球外側部が、3分後には小脳半球外側部のみが賦活された。

また、ブザーによる条件付けにより賦活されたと考えられる部位は帯状回、網様体、前頭葉眼窩回、小脳半球外側部であった。

4) 神経性食思不振症におけるHPA axisとレプチンの関連性に関する研究 (本郷)

ACTH反応性は治療後に低下傾向を示すが、神経性食思不振症の治療前、治療後、健常者のいずれにおいても頂値が基礎値の2倍程度に保たれている。area under the curve (AUC) で評価すると、神経性食思不振症の治療前後と健常者との間に差を認めなかった。cortisol反応量は治療前が一番高く、次いで、治療後、健常者、の順になった。基礎レプチン値とACTHのAUC/cortisolのAUC比は強い正の相関を認めた。

D. 考察

IBSならびに近縁疾患における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、異常を認めた。また、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とノルアドレナリンが遊離するが、このような神経伝達の変化が内臓知覚とそれに附随する情動に関与するものと考えられる。IBSに見られる夜間睡眠障害時の副交感神経機能亢進と陰性感情の高まりが示唆される。ヒスタミンは睡眠-覚醒サイクルに関与するため、IBSでは、ヒスタミンを軸とした中枢機能の病態生理が想定される。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手法により、IBSの脳腸相関の病態の客観的評価が期待される。

神経性食思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。 H_1 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、痙攣抑制的に作用していると考えられた。ガス相法とメチルトリプレート法を用い、連続して高比放射能の H_1 受容体リガンドを合成できたことは、今後のヒスタミン神経系研究にとり極めて重要である。 H_1 受容体がアルツハイマー病患者やうつ病患者の認知機能低下に関係していること、ならびに、 H_1 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量が増加する部位と減少する部位が存在することが示唆された。アレキシサイミアは、心身症患者の代表的心理機制である。アレキシサイミア尺度の高い被験者で表情認知による脳賦活様式が異なることから、心身症のリスクとなる脳賦活

様式を明らかにできよう。

痛み刺激による不安条件付け実験では、痛み刺激によって、痛みの経路（視床）、情動系（帯状回）、覚醒系（網様体）、および感覚系（中心後回）が賦活された。しかし、刺激終了後、次第に痛みによって直接賦活される視床や網様体の血流増加は消失し、最後には小脳半球外側部のみの活性のみが描出される。また、条件付けがなされると、条件刺激によって、小脳半球外側部の血流が増加する。小脳半球は随意運動の学習や、電気刺激による反射運動の条件付けに関与するという報告がある。今回の実験で、条件付けに小脳半球外側部の賦活が起こり、その関与はおそらくは運動系以外に及ぶことが示唆された。

神経性食欲不振症において、末梢レプチン低下が、少なくとも、視床下部と副腎皮質のふたつのレベルで、HPA系機能亢進に関与している可能性が示唆された。神経性食欲不振症は代表的な心身症であり、その発症には、性格、遺伝および体質的素因、養育歴、ストレス耐性が深く関わっている。この障害の臨床像の特徴は、背景因子としての性格や環境因子はさまざまなものがあり、必ずしも一定の傾向を示さないにも関わらず、いったん病像が完成してしまうと、主要な臨床症状が共通したパターンに収束してくる。この病態の固定に、レプチン・レベルの低下と、それによってもたらされるHPA系機能亢進が関与しているものと推測される。

中枢ヒスタミン神経系は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、うつ病、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12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。この反応は過敏性腸症候群で顕著な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) 不安条件付け反応における脳機能画像より、小脳半球外側部における局所脳血流増加が描出された。
 - 5) 神経性食欲不振症において、末梢レプチン低下が、少なくとも、視床下部と副腎皮質のふたつのレベルで、HPA系機能亢進に関与している可能性が示唆された。
- 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。

F. 健康危機管理情報

本研究に関し、健康危機管理を要する問題は生じていない。

II. 分担研究報告書

過敏性腸症候群と関連心身症における
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

手背電気刺激による局所脳血流変化と条件付け効果

分担研究者

伊藤正敏

神経性食思不振症におけるHPA axisと
レプチンの関連性に関する研究

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

過敏性腸症候群と関連心身症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 濱口豊太、小竹千枝子、斉藤久美、斉藤由紀、市井聡子、
金澤 素：東北大学大学院医学系研究科人間行動学
鹿野理子：東北大学大学院医学系研究科病態薬理学
宗像正徳：東北労災病院循環器科
野村泰輔：東北大学医学部附属病院心療内科

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、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、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、健常者と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、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、健常者とIBS患者の直腸に電極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脳誘発電位を記録した。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。IBSのP1N2間の振幅は刺激依存性に増大し、有意に健常者より大きかった。両群で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、内臓知覚に相関し、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。大腸進展刺激に対し、ラット海馬におけるnoradrenaline放出が顕著に見られた。IBSの消化管電気刺激による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生体アミンに関連する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つつある。

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。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。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、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確立した後、IBSに対する臨床応用を開始した。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。また、IBSに多い睡眠障害の自律神経動態を分析するための基礎的検討を行った。

B. 方法

1) 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。

2) 直腸刺激脳誘発電位

脳誘発電位はIBS患者10人を対象とし、健常者10人を対照とした。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。同時に脳波を測定した。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を脳波計に入力し、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。

3) 大腸伸展刺激PET

PETは健常者27人を対象とした。20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 $H_2^{15}O$ 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 H_1 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 H_1 受容体拮抗薬 ^{11}C -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。

4) 動物実験による大腸伸展刺激誘発性脳内noradrenaline放出

ラットを用い、pentobarbital麻酔下に右海馬にguide canulaを挿入した後、microdialysis probeを挿入し、脳内microdialysisを行った。自由運動をさせる対照、拘束ストレス、拘束ストレス下にポリエチレンバッグで大腸に

80mmHgの圧力を加える伸展刺激の3状態を作り、高速液体クロマトグラフィーで脳noradrenaline放出を分析した。

5) 覚醒レベルの日中・夜間周期変動による自律神経活動の変化

健常者18人を対象とした。24時間血圧・心電計を用い、覚醒レベルの日中・夜間周期変動を起こした時の血圧ならびに心電図RR間隔による自律神経活動と気分の変化をProfile of Mood States (POMS)にて測定した。

倫理的配慮：ヒトを対象とする研究は、ヘルシンキ宣言に沿い、東北大学医学部倫理委員会の承認の下に行った。全ての被験者に十分に説明し、文書によるinformed consentを得た。動物実験については東北大学動物実験倫理委員会の承認を得た。

C. 結果

1) 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¹⁾。

2) 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^{2,3)}。感覚閾値はIBS群 8.4 ± 4.7 mA (対照群 15.1 ± 8.4 mA、 $p < 0.05$)、痛覚閾値はIBS群 16.6 ± 7.5 mA (対照群 23.9 ± 6.9 mA、 $p <$

0.05) で、ともにIBS群が有意な低値を示した4)。P1とN2の潜時は30mA刺激時に有意な潜時短縮が見られたが、IBS群と対照群との間に有意差は見られなかった。N1/P1間およびP1/N2間の振幅は有意に電流強度依存的に増加し、30mA刺激時に最大値を示した。IBS群の30mA刺激時のP1/N2間の振幅は、対照群の値に比較して有意に大きかった ($p < 0.05$) 4)。大脳誘発電位波形と平行し、両群において電流強度依存的に腹痛と不安感が誘発された ($p < 0.0001$, ANOVA)2-4)。

3) 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)2,3)。これらの脳血流増加は、ordinate scaleによる内臓知覚に有意に相関し5)、*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相関した($r=0.92$, $p < 0.005$)2,3)。

4) 動物実験による大腸伸展刺激誘発性脳内noradrenaline放出

自由運動中のラット海馬noradrenalineは有意な変動を示さなかった(基線値の $108 \pm 24\%$)。これに対し、拘束ストレスにより、noradrenalineは有意に上昇し、かつ、対照よりも高値であった($402 \pm$

32% , $p < 0.05$)。大腸伸展刺激は、基線値の $833 \pm 100\%$ と有意な上昇を示し、対照($p < 0.05$)ならびに拘束ストレス($p < 0.01$)よりも有意に高値であった。

5) 覚醒レベルの日中・夜間周期変動による自律神経活動の変化

夜間に覚醒を強いられると、収縮期血圧低下、心拍数減少、心拍変動の高周波(high frequency: HF)成分上昇が生じる7)。同時に、POMSの抑うつ気分、怒りと敵意、疲労感、不安・緊張、混乱が有意に高まった7)。

D. 考察

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1)。消化管機能異常症における大脳誘発電位の臨床的有用性が明示された。大脳誘発電位検査法が、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1)。

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2-4)。大腸の電気刺激によって特徴的な三相波の誘発波形が得られ、刺激強度依存的に振幅が増大し、中心部で最も大きく描出された。また、誘発波形に平行して刺激強度依存的に内臓知覚と情動が誘発された。これらは内臓知覚では

疼痛経路の内側系が優位で、消化器症状と情動が連動する脳機能モジュールを形成していることを示唆している。IBS患者は健常者に比較して大脳誘発電位後期成分の振幅増大が顕著であった4)。このことより、IBSでは内臓刺激に対して大脳皮質レベルの反応性増大、神経伝達異常があることが示唆される。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。以上の研究により、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2,3)。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5)。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12年度内に臨床応用しえた。これより、IBSの脳腸相関の病態に対するヒスタミンならびにその関連物質を検討する基盤が作られた。

動物実験の結果、大腸伸展刺激によって、海馬からのnoradrenalineの顕著

な上昇を認めた。海馬は辺縁系を構成しており、noradrenalineはヒスタミンと同じ覚醒レベルを上げる脳内アミンである。noradrenalineの放出が、記憶と情動を司る海馬で著しいことより、消化管刺激に対して惹起される情動にnoradrenalineが関与することが示唆される。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さらに明らかにする必要がある。

IBSの睡眠・覚醒サイクル異常が報告されている。夜間に覚醒を強いられると、収縮期血圧低下、副交感神経機能亢進、陰性感情と疲労感が高まることが明らかになり7)、IBSにおける睡眠障害、自律神経異常、陰性感情とヒスタミンとの関連が今後注目される。

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の脳腸相関の病態の客観的評価が開始された。これらの評価を平成12年度内に開始したことにより、IBSの脳腸相関の病態に対するヒスタミンならびにその関連物質を検討する基盤が作られた。

F. 健康危機管理情報

本研究に関し、健康危機管理を要する問題は生じていない。

G. 業績

1) 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

2) 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. *Neurogastroenterol Motil* **12**: 386, 2000.

3) 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. *Internat J Behav Med* **7** (Suppl 1): 116-117, 2000.

4) Fukudo S, Kotake C, Kanazawa M, Sagami Y, Nomura T, Hongo M. Exaggerated viscerosensory evoked potentials in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* **120**: A4032, 2001.

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, 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. *Gastroenterology* **118**: A630, 2000

7) Munakata M, Ichii S, Nunokawa T, Saito Y, Ito N, Fukudo S, Yoshinaga K. Influence of night shift work on psychologic state and cardiovascular and neuroendocrine responses in healthy nurses. *Hypertens Res* **24**: 25-31,

2001

8) 福土審. 過敏性腸症候群の疫学. 臨床消化器内科 **15**: 1697-1702, 2000

9) 福土審. 過敏性腸症候群(IBS)の最近の話題. 消化管運動 **2**: 3-9, 2000

10) 福土審. ストレスと消化器系. 医学のあゆみ **195**: 134-135, 2000

11) 福土審. 胃粘膜傷害と情動ストレス・身体的ストレス. 日本医師会雑誌 **125**: MI7-MI9, 2000

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・教授

研究要旨

平成12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、ヒスタミン神経系がどのように心身症の病態生理に関係しているか研究した。今年度はノックアウトマウスを含む小動物を用いた研究とヒト被験者研究を併行しておこなうことにより得られたデータを外挿することを試みた。我々の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) ガス相法とメチルトリプレート法による新しい[¹¹C]ヨウ化メチル合成の確立と受容体測定法への応用、4) うつ病とアルツハイマー病におけるPETを用いたH₁受容体量の測定、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アレキシサイミアへの応用である。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

多くの治療薬が開発されてきているセロトニン神経系やノルアドレナリン神経系と比較してヒスタミン神経系に作用する薬はほとんどないのが現状である。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。最近、ヒスタミン受容体として、H₁、H₂、H₃、H₄受容体が同定された。ヒスタミン受容体の性質としてintrinsic activityが存在し、そのアンタゴニストにはneutral antagonistsとinverse agonistsがあることが最近わかってきた。H₃受容体アンタゴ

ニストの多くはinverse agonistsとしてヒスタミン神経系を賦活することからその臨床応用が期待されている。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。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、薬物依存に関係し、その作用薬は臨床的に有

用であることが期待される。本研究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、うつ病や神経性食欲低下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。さらに、その成果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と応用を行った。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。そのため頻回に合成できるガス相法とメチルトリフレート法による ^{11}C -標識薬剤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 ^{11}C -ロードキセピン（強力な H_1 アンタゴニスト）を合成しアルツハイマー病とうつ病において H_1 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、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、さらにアレキシサイミアに応用することを試みている。

B. 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。さらにヒスチジン、ヒスタミン合成酵素阻害剤である α -fluoromethylhistidine (FMH)、 H_3 受容体アンタゴニスト（神経性ヒスタミン遊離促進作用）、イミプラミン、メタアンフェタミンの自発運動量に対する効果を調べた。

2) ヒスタミン H_1 受容体ノックアウトマウス研究とモルヒネの鎮痛効果

痛みの受容における H_1 受容体の役割を明らかにするために、 H_1 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、formalintestである。またモルヒネの鎮痛効果におけるヒスタミンの役割を調べた。

3) ガス相法による [^{11}C]ヨウ化メチル合成と [^{11}C]メチルトリフレート法による標識薬剤合成法の確立

$^{11}\text{CO}_2$ をトラップしたあと $^{11}\text{CH}_4$ に還元し、ヨウ素 (I_2) と反応させることにより ^{11}C -ヨウ化メチルを合成する（図1）。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。さらに反応収率を上げるために ^{11}C -メチルトリフレートを前駆体として合成法の開発をおこなった（図2）。

4) PETを用いたアルツハイマー病とうつ病における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[¹¹C]ドキセピンを用いてH₁受容体を測定した。10-15mCiの[¹¹C]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。さらにアルツハイマーと同じように数人のうつ病と年齢相応の対照においてH₁受容体を測定した。

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H₂¹⁵O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設定し、それぞれの脳血流画像を得た。dd-クロルフェニラミン6mgを経口投与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と応用

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/](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)とそれぞれの情動レベルをNeutralとの間で4段階変化させた画像である。アルコール飲用による反応時間の変化を調べた。さらに心理学的アンケートにより選出されたアレキシサイミア群で、その脳内表情認知メカニズムをH₂¹⁵O静注法PETにより調べた。

倫理的配慮: 動物実験については東北大学動物実験倫理委員会の承認を得て行った。またヒト研究においては、ヘルシンキ宣言(エディンバラ修正)にそって研究計画を作り、それぞれのプロトコールごとに東北大学医学部倫理委員会の承認後研究を行った。

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る。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、ヒスチジンや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低下症の治療が可能であることが示唆された。また逆にFMHにより脳内ヒスタミンを減少させるとストレス・ハイは増悪して死亡率が亢進した。

2) ヒスタミンH₁受容体ノックアウトマウス研究

痛みの受容におけるH₁受容体の役割をモルヒネ鎮痛との関連において調べた。4種類の刺激 (hot-plate test, tail-flick test, tail-pressure test, formalin test) すべての痛み刺激において、H₁受容体ノックアウトマウス (H₁KO) のモルヒネ鎮痛反応は野生型に比較して増大していた。モルヒネを末梢、脊髄、上位中枢レベルにおいて投与した場合すべてにおいて、H₁KOは強い痛み反応を示した。このことからモルヒネ投与により肥満細胞やニューロンからヒスタミンが遊離されてH₁受容体を刺激して鎮痛反応が低下する可能性が判明した。抗ヒスタミン薬投与によってもH₁KOノックアウトマウスのデータを検証できた。このことは臨床的にモルヒネと抗ヒスタミン薬を併用することの理論的な裏付けを与える。

3) ガス相法とメチルトリフレート法による [¹¹C]標識薬剤合成

ガス相法とメチルトリフレート法を用いて[¹¹C]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うつ病におけるH₁受容体

アルツハイマー病 (AD) 患者あるいは家族からインフォームドコンセントを取得した。AD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 (図3)。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 (図3)。同様に軽症うつ病患者からインフォームドコンセントを取りPETを用いてH₁受容体を測定した。予測したようにH₁受容体の減少が観察された (図4)。多数例における検討が必要である。本研究によりH₁受容体がAD患者や正常老人、うつ病患者の認知機能低下に関係していることが示唆された。アルツハイマー病やうつ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うつ病