

厚生科学研究費補助金
分担研究報告書

ヒスタミン神経機能の男女差および神経性食欲不振症の病態解析への応用
—PET 脳画像を用いた神経伝達機能の評価—

分担研究者: 田代 学 東北大学サイクロン・ラジオアイソトープセンター 准教授

研究協力者 吉沢正彦、唐橋昌子、内海 厚:

東北大学大学院医学系研究科心療内科

研究要旨

中枢ヒスタミン作動性神経系は種々の脳機能を調整しているが、摂食行動の調節はヒスタミン作動性神経系が関与する代表的機能の一つである。我々は、女性の脳が男性よりも高いヒスタミンH1受容体(H1R)密度を持ち、かつ中枢H1Rが神経性食欲不振症患者で増加しているのではないかという仮説を検証した。

本研究の対象者は、神経性食欲不振症患者12名(女性)、健常女性11名、健常男性12名であった。ポジトロン放出断層法(PET)は、放射性リガンドである ^{11}C ドキセピンの経静脈投与ののち施行された。関心領域(ROI)に基づいたH1Rに対する ^{11}C ドキセピンの受容体結合能(BP)の測定を行なった。被験者の異常な摂食行動、抑うつ、状態不安を、それぞれEAT-26、SDS、STAI等のスケールを用いて評価した。

女性における ^{11}C ドキセピンのBPは、多くの脳部位において、男性よりも高い傾向が認められ、とくに扁桃体、海馬、内側前頭前野、眼窩前頭皮質と側頭葉皮質において有意に高かった。また、AN患者では、扁桃体とレンズ核で健常女性よりも有意に高い ^{11}C ドキセピンのBPが観察された。また、AN患者において、扁桃体と視床の ^{11}C ドキセピンのBPは、EAT-26スコアと負の相関を示した。また、扁桃体、前帯状回と眼窩前頭皮質において ^{11}C ドキセピンのBPとSDSまたはSTAIスコア間の有意な負の相関が観察された。

以上の所見は、女性が主として大脳辺縁系において男性よりも高いH1R密度を持つという第1の仮説を支持し、AN患者が扁桃体を中心とする大脳辺縁系においてより高いH1Rを発現している可能性があることを示唆した。

A. 研究目的

神経性食欲不振症(AN)は、肥満状態への不安から、正常な体重を維持

することに対しても拒絶感をもつことを特徴とする摂食行動の異常である。ANは主に青年期で発生するが、

圧倒的に若い成人女性に多く発症する。ある種の生物学的脆弱性がANの原因と進行に関係しているのではないかと考えられてはいるが、その詳細はまだ不明である。中枢神経(CNS)機能不全はおそらく最も重要なAN発症因子の1つであると考えられる。

ANの病因との関係が議論されてきた因子として、モノアミン(セロトニン、ヒスタミン、ドパミンとノルエピネフリン)と神経ペプチド(副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン、神経ペプチドY、コレシストキニン、 β エンドルフィン、レプチン)などが含まれる(Kaye WH, et al. Arch Gen Psychiatry 1991; Brewerton TD. Psycho-neuro-endocrinology 1995; Gendall KA, et al. Biol Psychiatry 1999; Baranowska B, et al. Diabetes Obes Metab 2000)。これらの神経伝達物質と神経ペプチドは、ANの病態において、若干の役割を果たしている可能性がある。

AN患者の機能画像研究については複数の報告がある。単一光子放出断層法(SPECT)による局所脳血流(rCBF)測定の結果、AN患者における内側前頭前野と前帯状回の血流低下が明らかにされた(Takano A, et al. Psychiatry Res 2001)。

また、ポジトロン断層法(PET)による脳糖代謝測定の結果、全脳における糖消費量の低下が観察され、腹側前頭前野と脳幹部で相対的亢進が観察された(Delvenne V, et al. Int J Eat Disord. 1999)。

機能的磁気共鳴イメージング

(fMRI)の測定によると、AN患者の前頭前野、前帯状回、扁桃体-海馬傍回において不快刺激により賦活が観察された(Ellison Z, et al. Lancet. 1998)。また、AN患者における脳ブドウ糖代謝の低下は、体重が増加した改善時には正常化したとも報告されている(Delvenne V, et al. Biol Psychiatry 1996)。

最近のPET検査は、AN患者におけるセロトニン受容体およびドパミン受容体の結合能について研究を行った(Bailer UF, et al. Arch Gen Psychiatry. 2005; Frank GK, et al. Biol Psychiatry 2005)。しかし、摂食行動の調整に重要な役割を担っているヒスタミン受容体の特徴は研究されたことがなかった。

中枢ヒスタミン作動性神経系は視床下部の結節乳頭核のみに存在しており、ヒスタミンを輸送する神経線維は大脳辺縁系と新皮質(Watanabe T, et al. Brain Res. 1984)の広範な領域に投射線維を送っている。中枢神経系におけるヒスタミン作動性ニューロンの役割は、覚醒状態の維持、睡眠-覚醒リズムの調節、体液平衡、体温、心血管制御、食欲制御、ストレス関連のホルモン放出、学習と記憶、攻撃行動と感情など非常に多岐にわたる。ヒスタミンは、視床下部腹内側部と視床下部(室傍核)のヒスタミンH1受容体(H1R)を経て脳に作用し、食物摂取量を減少させる。

H1Rは主にシナプス後部に分布しており、大脳皮質と視床下部、扁桃体-海馬を含む辺縁系の領域に特に高密

度に存在する。ヒト脳における HIR は、PET と ^{11}C ドキセピン (HIR のための放射リガンド) を使用して視覚化することができる (Yanai K, et al. Neurosci Lett. 1992)。 ^{11}C ドキセピン PET 検査によって、多くの HIR がヒト脳で前頭前野、側頭葉、帯状回に分布していることが確認されており、本研究の仮説を検証するには ^{11}C ドキセピン PET 検査が理想的な方法論と考えられる。

B. 方法

本研究の対象者は、AN 患者 12 名 (女性: 平均年齢 23.4 ± 2.8 歳; BMI 14.7 ± 1.7)、健常女性 11 名 (平均年齢 22.3 ± 2.5 歳; BMI 20.3 ± 1.1)、健常男性 12 名 (平均年齢 21.8 ± 1.3 歳; BMI 20.4 ± 1.3) であった。彼ら全員は右利きであった。患者は、東北大学病院において DSM-IV-TR 基準に従って診断された。全ての患者は処方薬を服用しておらず、高カロリー輸液も行っていない者とした。健常対照被験者は広告等を通して募集され、臨床面接 (DSM-IV-TR と一般診察を含む) において、身体的および神経学的に摂食行動および他の精神障害を呈していないことを確認した。摂食行動、抑うつと不安を数量化する目的で、Eating Attitude Test 26 [EAT-26]、自己評価式抑うつスケール [SDS] と状態-特性不安スケール [STAI] による心理評価を行なった。

本研究は東北大学医学部倫理委員会の承認を得た上で、ヘルシンキ宣言

に従って実行され、全ての被験者は検査前に書面に基づいた説明を聞いた上で書面による同意をして実施された。PET 測定は東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター (CYRIC) で実施された。

全ての被験者は、PET 検査前 4 時間は絶食とした。また、月経周期を統一するために、健常女性 PET 検査は、卵胞期 (最終月経から 1 週以内) で行われた。PET 検査は仰臥位の安静状態で行われ、閉眼覚醒状態で行なわれた。

被験者は ^{11}C ドキセピン水溶液を肘正中皮静脈から投与され、脳内から放出される高エネルギー光子 (511 keV) を PET で検出した。ダイナミック撮影により、90 分間 22 フレームの撮影を行ない、再構成された PET 画像は、同一人物の MRI-T1 画像と重ね合わせて解析が行なわれた。小脳の値を基準として脳内各部位における受容体結合能を算出し、AN 患者、健常女性、健常男性の間で比較した。測定を行なった脳部位は以下のとおりである: 内側前頭前野 (MPC; Brodmann 野 [BA] 9,10)、外側前頭前野 (LPC; BA 44,45,46,47)、眼窩皮質 (Orb; BA 11)、側頭葉皮質 (TC; BA 21,22/41,42)、頭頂葉皮質 (PC; BA 1,2,3/39,40)、後頭葉皮質 (OC; BA 17,18,19)、前帯状回 (ACC; BA 24/32)、後帯状回 (PCC; BA 23/31)、島皮質 (Ins)、視床 (Th)、尾状核 (CN)、レンズ核 (LN)、扁桃体 (Am)、海馬 (Hi)。

C. 結果

健常女性における ^{11}C ドキセピンのBPは、健常男性に比べて有意に高かった脳部位は以下であった(左:L; 右:R): L-MPC ($p<0.05$)、R-Orb ($p<0.05$)、L-Orb ($p<0.05$)、RTC ($p<0.01$)、R-Am ($p<0.05$)、L-Am ($p<0.05$)、R-Hi ($p<0.01$)とL-Hi ($p<0.01$)。一方、 ^{11}C ドキセピンのBPが男性より女性で有意に低かった領域は認められなかった。

健常女性よりもAN患者において ^{11}C ドキセピンのBPが高かった部位は、L-LN ($p<0.05$)とR-Am ($p<0.01$)であった。一方、 ^{11}C ドキセピンのBPが制御雌でよりAN患者で有意に低かった領域は認められなかった。

D. 考察

本研究は、PETによる性差の検討とあわせて、ANにおけるヒスタミン作動性神経系の関連を調べた最初の研究である。ヒスタミンは同じほ乳類でも、種によって分布様式にかなりの差がみられることがわかっており、ヒトを対象とした研究は非常に重要である。

本研究における最大の所見は、ヒト脳のヒスタミン作動性神経系が性差を持っている可能性が高い点である。この所見は、抑うつや不安障害の遷延が女性で起こりやすいことに関連がある可能性がある。ANの機能画像研究の結果、特異的な脳領域で健常女性と差があることがわかった。SPECTを用いた安静状態の測定では、rCBFは前頭前野と前帯状回で血流低下を示し

た、視床および扁桃体-海馬複合体の血流亢進が観察された(Takano A, et al. *Psychiatry Res* 2001)。脳糖代謝を測定した研究では、全脳において低下が示され、腹側前頭前野と脳幹部で観察されることが報告されている(Delvenne V, et al. *Int J Eat Disord*. 1999)。

E. 結論

以上の結果から、これらの一連の所見は、神経伝達物質/神経修飾物質の調節不全にともなう大脳辺縁系の機能不全が少なくとも部分的にはANの病態生理学的な役割をつとめている可能性があることを示唆する。

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。

G. 研究発表 (論文発表)

1. Tashiro M, Sakurada Y, Mochizuki H, Horikawa E, Maruyama M, Okamura N, Watanuki S, Arai H, Itoh M, Yanai K.

Effects of a sedative antihistamine, d-chlorpheniramine, on regional cerebral perfusion and performance during simulated car-driving. *Human Psychopharmacology*. 2008 Mar;23(2):139-50.

2. Tashiro M, Duan X, Kato M, Miyake M, Watanuki S, Ishikawa Y, Funaki Y, Iwata R, Itoh M, Yanai K. Brain histamine H1 receptor occupancy of

orally administered antihistamines, bepotastine and diphenhydramine, measured by PET with [11C]doxepin. *British Journal of Clinical Pharmacology*. (in press)

3. Khondkar S, Fujimoto T, Tashiro M, Itoh M. Imaging Assessment of Local Brain Metabolic Response to Changing Load during Exercise in Humans. *Current Medical Imaging Review*. (in press)

4. Tashiro M, Fukuda H, Itoh M, Matsuzawa T, Yanai K. Molecular Imaging at Tohoku University: From Cancer to Neuroreceptors. *Current Medical Imaging Review*. (in press)

5. Tashiro M, Itoh M, Kubota K, Juengling F, Reinhardt M, Nitzsche N, Moser E. Neuroimaging of cancer patients for psychosocial support and patient care. *Current Medical Imaging Review*. (in press)

6. Okamura N, Funaki Y, Tashiro M, Kato M, Ishikawa Y, Maruyama M, Ishikawa H, Meguro K, Iwata R, Yanai K. In vivo visualization of donepezil binding in the brain of patients with Alzheimer's disease. *Br J Clin Pharmacol*. (in press).

7. Suzuki M, Okamura N, Kawachi Y, Tashiro M, Arao H, Hoshishiba T, Gyoba J, and Yanai K. A PET study of brain activities during listening to major and

minor musical chords. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*. (in press)

8. Mochizuki H, Tashiro M, Gyoba J, Suzuki M, Okamura N, Itoh M, Yanai K. Brain activity associated with the dual task management differ depending on the combinations of response modalities. *Brain Research. Brain Res*. 2007;1172:82-92.

9. Yanai K and Tashiro M. The physiological and pathophysiological roles of neuronal histamine: An insight from human positron emission tomography studies. *Pharmacology & Therapeutics* 113, (2007), 1-15

10. Kudo Y, Okamura N, Furumoto S, Tashiro M, Furukawa K, Maruyama M, Itoh M, Iwata R, Yanai K, Arai H. 2-(2-[2-Dimethylaminothiazol-5-yl]ethenyl)-6-(2-[fluoro]ethoxy)benzoxazole: a novel PET agent for in vivo detection of dense amyloid plaques in Alzheimer's disease patients. *J Nucl Med*. 2007 Apr;48(4):553-61.

11. Duan X, Tashiro M, Yambe T, Wang Q, Sasaki T, Kumagai K, Luo Y, Nitta S, Itoh M. Autonomic Nervous Function and Localization of Cerebral Activity during Lavender Aromatic Immersion. *Technology and Health Care*. 2007;15:69-78.

12. Mochizuki H, Sadato N, Saito DN, Toyoda H, Tashiro M, Okamura N, Yanai K. Neural correlates of perceptual difference between itching and pain: A human fMRI study. *Neuroimage*. 2007;36:706-717.

13. Ueno A, Abe N, Suzuki M, Hirayama K, Mori E, Tashiro M, Itoh M, Fujii T. Reactivation of medial temporal lobe and occipital lobe during the retrieval of color information: A positron emission tomography study. *NeuroImage* 34, (2007), 1292-1298.

14. 田代 学、谷内一彦. ヒスタミン受容体の分子イメージング. 脳と神経. [Brain & Nerve]59,(2007), 221-231.

厚生科学研究費補助金
分担研究報告書

認知柔軟性の男女差:fMRI 研究

分担研究者 本郷道夫: 東北大学大学院総合診療部 同心療内科
研究協力者 佐藤康弘: 東北大学病院心療内科
相澤恵美子: 東北大学大学院医学系研究科行動医学分野

研究要旨

認知柔軟性は、環境の変化に適応する行動選択をする上で重要である。ほとんどの脳画像研究は、認知柔軟性に性差はないとの前提で報告されているが、これまでに明確な evidence はない。本研究では、認知柔軟性の脳内神経処理過程において性差があるという仮説を検証する。

対象は、精神的疾患既往のない健常男性20名、女性 20 名。Wisconsin Card Sorting Test (WCST)を施行し、総正解数、保続エラー数、カテゴリ達成数を比較した。また、事象関連 Functional magnetic resonance imaging (fMRI)を用いて、Set Shift 時の脳活動を分析した。

WCST の成績に差はなかった。Set Shift 時の脳活動については、男性が女性より、運動前野 (BA6)、女性が男性より眼窩前頭前野 (BA11, BA47)で強い賦活が認められた。

WCST の成績に性差はなかったが、脳内神経処理過程においては性差の存在が確認され、仮説を支持した。

A. 研究目的

認知柔軟性は、予期せぬ変化に直面した時の set-shift、適切な行動反応能力を測定する神経心理学的検査で、認知柔軟性とも表現され、前頭葉機能の障害によって成績不良になると報告されている (Milner B, et al. Arch Neurol 1963)。

これまでの neuroimaging study では、set shift に賦活した area は、両側の背外側前頭前野、頭頂葉、腹外側前頭前野、運動前野、腹側帯状回、の賦活が

報告されているが、いずれも対象者の性別は、混合または何れか一方で、認知柔軟性に性差はないとの前提の報告がほとんどである (Konishi S, et al. Nature Neurosci 1998)。

本研究の目的は、認知柔軟性の脳内神経処理過程において性差があるという仮説を検証する。

B. 方法

対象者は、精神的疾患既往のない健常男性20名女性 20。本研究は東北大

学医学部倫理委員会の承認を得ており、その規定に基づき、すべての被験者に文書と口頭で説明を行ない、同意を得ている。

WCST は、MRI スキャナー内に投影された画面の四隅に4枚の選択カードを固定し、画面中央に課題カードを順次提示、128 回施行され、総正解数、保続エラー数、カテゴリー達成数を算出した。事象関連 fMRI の手法を用いて WCST 施行時の脳活動を計測した。

統計解析には SPSS、mann-whitney の U 検定 ROI 解析に 2way ANOVA、fMRI 解析には statistical parametric mapping software: SPM5 を用いた。

C. 結果

WCST の成績の総合では、正解数、カテゴリー達成数、保続エラーのいずれも男女有意差はなかった (Tabl. 1)。Set Shift 時の脳活動の男女差は、女性と比較し男性有意の賦活部位は、頭頂外側部、運動前野 (BA6) であった (uncorrected, $p < 0.001$, Fig. 1)。両群間で最も有意差を生じた部位、運動前野 (BA6) に関心領域 ROI を設定し、各賦活パターンを確認した。男性の正解 1~5 の performance と比較して、Set Shift 時に最も強い賦活部位であることが認められ、男女比においては、変化パターンに有意差はなかったが、有意な交互作用が認められた (group \times period interaction $p < 0.05$, Fig. 2)。女性が有意に賦活した部位は、背外側前頭前野 (BA9, BA10), 眼窩前等前野 (BA11, BA47) であった (uncorrected, $p <$

0.001, Fig. 3)。ROI 解析をおこない、Set Shift 時に女性で最も有意に賦活している部位であり、この部位は男性の活動がかなり低いことが確認できた。性差については、変化パターンに有意差はなかったが、交互作用が認められた (group \times period interaction $p < 0.05$, Fig. 4)。

	Score			
	Total correct	Categories completed	Perseverative Error Milner	Nelson
Male	102.7 \pm 11.0	8.7 \pm 3.5	12.3 \pm 11.6	8.25 \pm 7.5
Female	100 \pm 11.5	7.7 \pm 2.4	7.7 \pm 2.4	6.8 \pm 5.7

N.S.

Table1

M>F

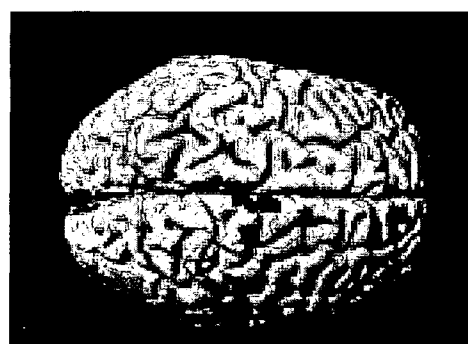


Fig1

D. 考察

Set shift の際、女性で特に賦活した眼窩前頭前野 (BA11, 47) は、risk

assessment と関係している。男性が有意に賦活した運動前野 (BA6) は、行動決定に関与していることが示唆されている。男性は、情動を伴わずに行動の準備に取り掛かり、女性は情動的色彩をとめないながら、自身の行動の報酬、リスクアセスメントに関心が向いていることが示唆された。

E. 結論

WCST の成績に性差はなかったが、脳内神経処理過程においては性差の存在が確認され、仮説を支持した。

参考文献

- Milner, B. (1963) Effects of different brain lesions on card sorting. Arch Neurol., 9, 90-100.
- Konishi, S., Nakajima, K., Uchida, I., Kameyama, M., Nakahara, K., Sekihara, K., Miyashita, Y. (1998) Transient activation of inferior prefrontal cortex during cognitive set shifting. Nature Neurosci., 1, 80-84.

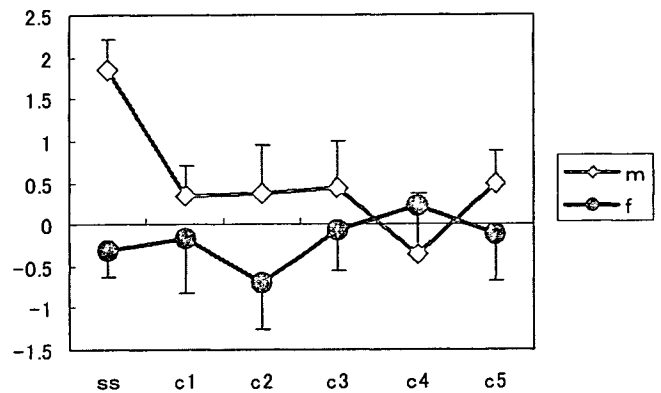


Fig2

F>M

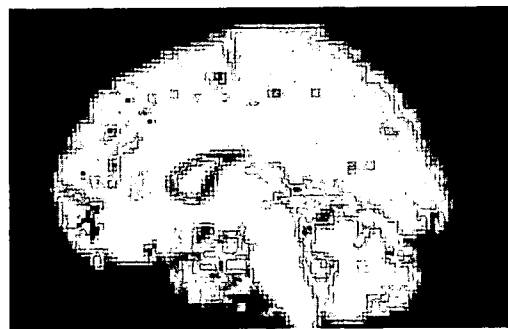


Fig3.

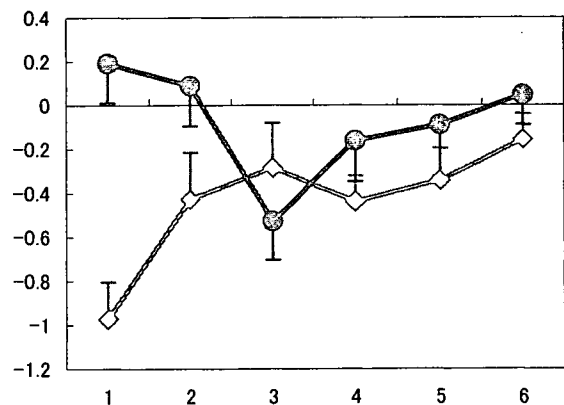


Fig4.

厚生労働科学研究費補助金(こころの健康科学研究事業)
分担研究報告書

セロトントランスポーターの遺伝子多型と
ストレス感受性に関する研究

分担研究者:青木正志 東北大学大学院医学系研究科神経内科講師

研究協力者:小室葉月 東北大学大学院医学系研究科行動医学

福土 審 東北大学大学院医学系研究科行動医学教授

鈴木直輝 東北大学大学院医学系研究科神経内科

糸山泰人 東北大学大学院医学系研究科神経内科教授

研究要旨

21世紀の先進国においては、ストレス関連疾患が国民の健康と経済に重大な悪影響を及ぼすと予想されており、これらストレス関連疾患の治療法を確立することが急務となっている。ストレス反応を規定する可能性のある遺伝子の一つにセロトントランスポーター遺伝子があり、注目を集めている。5-HTTLPRには“l”アリル、“s”アリルの二種類が存在し、セロトントランスポーター蛋白の発現量と機能に関与している。この機能差が不安感受性や不安反応の個体差へ結びつくと考えられている。そこで我々は、セロトントランスポーターの遺伝子多型とストレス感受性に関連があるということを仮説として立て検証した。末梢血 10ml から DNA を抽出し、PCR法で標的部位を増幅し、電気泳動によって多型を分析した。また、16種類の質問紙を用いて、被験者それぞれに心理検査を行った。解析済みの検体の遺伝子型の内訳は、s/s型が55例、l/s型が26例、l/l型が4例であった。今後の研究では、セロトントランスポーター遺伝子多型と内臓刺激による脳の活動部位の関連の検証や、5-HTTLPRにおけるlアリルのSNPs解析など、様々な方向へ研究の成果を生かしていくことができるものと考えている。

A.研究目的

21世紀の先進国においては、ストレス関連疾患が国民の健康と経済に重大な悪影響を及ぼすと予想されている。これらストレス関連疾患は重症化すれば、治療はしばしば困難である。理由として、ストレス関連疾患の病態の中核をなす脳内神経伝達に不明な点が多く、また、ある個体の遺伝子

型と生下時から加えられた刺激様式の詳細も不明であることが挙げられる。

ストレス反応を規定する可能性のある遺伝子の一つにセロトントランスポーター(5-HTT)遺伝子(5-HTTLPR)がある。5-HTTはシナプス間隙のセロトニン(5-HT)再取り込みを行う膜蛋白であり、シナプス間隙のセロトニン量

の調整を行う。よって 5-HTT が 5-HT 神経系の調節に重要な役割を持つと考えられる。5-HTTLPR には 44 塩基対の insertion がある“l”アリル、insertion のない“s”アリルの二種類が存在し、5-HTT の蛋白発現量と機能に関与する。具体的には、セロトントランスポーター蛋白機能として、l アリルは s アリルの2倍プロモーター活性が高く、またセロトニン再取り込み効率は、l アリルは s アリルの1.4倍高いことがわかっている。この機能差が不安感受性や不安反応の個体差へ結びつくと考えられている。また5-HTTLPR は、様々な疾患との関連をもつことが報告されている。具体的には、気分障害や、摂食障害、ADHD、過敏性腸症候群、自閉症などがある。よって5-HTTLPR は今後心身障害の謎を解明する過程において、とても重要な鍵を握る遺伝子であるといえる。

そこで我々は、セロトントランスポーターの遺伝子多型とストレス感受性に関連があるということを仮説として立てた。本研究の主目的は、この仮説を検証することである。

B. 方法

(1) 対象

対象は、現在調査終了しているものが 152 名である。全て成人である。今後も対処数を漸次増やしていく予定である。検査内容については十分な説明を行い、書面による同意を得た。検査は東北大学倫理委員会の承認を受けて行われた。

被験者の平均年齢は 22.8(20-49) 歳であった。男女比は、男性 77 例、女性 75 例であった。

(2) 5-HTTLPR 多型分析

被験者の血液は、凝血防止にヘパリンを加えた採血管で、前腕静脈から採取した。DNA は、遠心分離を行っ

て集めた白血球から抽出を行った。DNA 抽出の方法は、標準的なフェノールクロロホルム抽出法、エタノール沈殿法のプロトコールを用いた。5-HTTLPR の遺伝子多型の分析は、PCR(Polymerase Chain Reaction)法により行われた。PCR における伸張反応は、Lesch ほかによって報告されている一対のプライマー(5' -GGC GTT GCC GCT CTG AAT GC-3' と 5' -GAG GGA CTG AGC TGG ACA ACC AC-3')によって行われた。計 25 μ l で作る PCR の反応溶液は、0.2 μ M の F 側、R 側それぞれのプライマー、1.5 mM の MgSO₄、0.2 mM の deoxynucleotide triphosphate、1 \times PCR amplification バッファー、2.5 U platinum Taq DNA ポリメラーゼ、1 \times PCR Enhancer Solution (インビトロジェン)で構成されている。PCR の温度条件は、95° C 2 分の変性の後、95° C 30 秒、60° C 30 秒 (annealing)、68° C 1 分を 35 サイクル行い、最後の伸張を 68° C で 3 分行った。増幅した断片は、2%アガロースにエチジウムブロマイドを加えたゲルで電気泳動を行い、l アリルか s アリルかが分析された。

(3) 心理検査

STAI (State Trait Anxiety Inventory)、SDS (Self-rating Depression Scale)、MMPI (Minnesota Multiphasic Personality Inventory)、JAS (Jenkins Activity Survey)、SF36 (Short-Form 36-Item Health Survey)、ROME II ()、CMI (Cornell Medical Index)、MAS (Manifest Anxiety Scale)、SRQ-D (Self-Rating Questionnaire For Depression)、GSRs (Gastrointestinal Symptom Rating Scale)、TAS (Toronto Alexithymia Scale)、PGWB (Psychological

General Well-Being)、JCQ (Job Content Questionnaire)、YG 性格検査票、自覚ストレス調査票、HOスケールの16種類の質問紙を用いて、被験者それぞれに心理検査を行った。

C. 結果

2008.2.27 現在、遺伝子型の解析が終了している検体数は、152 検体中 85 検体である。残りの 67 検体については未解析である。解析済みの検体の遺伝子型の内訳は、s/s 型が 55 例、l/s 型が 26 例、l/l 型が 4 例であった。

D. 考察

この研究に関しては、現在進行中であり、結果として報告ができる内容は多型分析の途中経過に止まる。しかしながら、これらの結果を生かし、以下のような研究に発展させていくことが出来ると考えている。

(1) セロトニントランスポーター遺伝子多型と内臓刺激による脳の活動部位の関連の検証近年の脳機能イメージング研究の進展により、ストレスに関連した脳部位が報告されつつある。加えて、5-HTTLPR 多型と脳活動の関連が報告されている。先行研究においては、機能的核磁気共鳴画像 (functional MRI) を用いた研究では、恐怖及び怒りの表情認知課題において、右扁桃体の賦活が 5-HTTLPR 遺伝子の l/l 型に比べて s アリルを持つ個体で強いことが報告されている。また、fMRI を導入し、電気刺激を用いて恐怖条件付けを行った研究では、画像解析の結果、刺激時の脳賦活部位、血流量などに、l アリル群と s アリル群の間で有意な差が見られた。これらの結果から、ストレス負荷時の脳活動様態は遺伝子多型間で異なることが明らかになった。それにより、セロト

ニントランスポーター遺伝子多型がストレス感受性の個人差やストレス関連疾患の病態、情動処理などに深く関与していることが示唆されている。

また、近年では、バロスタット法を用いた内臓刺激に対する反応性を見る研究が多く行われている。バロスタット法とは、ポリエチレンでできた薄い袋 (バロスタット・バッグ) を大腸に挿入してバッグの容積、圧力、コンプライアンスをコンピューター制御下で観察し、腸の収縮運動や大腸壁緊張の変化を観察する方法である。この方法により行われた研究では、健常者が弱い腹痛を感じる刺激圧を IBS 患者にかけると、患者にはより強い腹痛として感じられることがわかっている。

そこで、今後の研究では、セロトニントランスポーター遺伝子多型と内臓刺激による脳の活動部位との関連を調べることに非常に意味があると考ええる。IBS 患者群とコントロール群において、positron emission tomography (PET) を用いて、内臓刺激を加えた場合の脳賦活部位を調べ、それと両群の多型分布の差異を比較する。それによって、患者それぞれの遺伝子多型による IBS に対する反応性や感じ方の違いなどを明らかにすることができると思われる。

(2) 5-HTTLPR における l アリルの SNPs 解析

5-HTTLPR の遺伝子多型に関しては、現在分析しているのは s アリルと l アリルについてであるが、近年の報告により、5-HTTLPR の l アリルにおいて、SNPs が存在することが明らかになっている。l アリルでは 44 ベースペアの挿入があるが、その挿入部の比較的前方に存在する一部の塩基において、アデニンかグアニンかのどちらかを持っているという違いがある。この 2 種類の SNPs は La、Lg と呼ばれる。また、

この2種類のうち Lg は、s アリルと同じセロトニントランスポーター蛋白機能、プロモーター活性しかもたない。つまり、Lg をもつ人は、s アリルをもつ人と同じ表現型を示す可能性がある。これにより、以前の多型分析結果が変わってくる事が考えられる。

よって、これまで分析した検体のダイレクトシーケンスを行い、改めて SNPs 解析を行うことが必要であると思われる。

E. 結論

セロトニントランスポーター遺伝子多型が分析された。これまで分析した検体のダイレクトシーケンスを行い、SNPs 解析を行う方向性が示唆された。

F. 健康危機管理情報

なし

厚生科学研究費補助金
分担研究報告書

健常者における直腸と下行結腸における内臓知覚の相違
—消化管侵害刺激時の PET 脳画像と自覚症状の評価—

分担研究者 金澤 素： 東北大学大学院医学系研究科行動医学分野・助教
研究協力者 濱口豊太、渡辺論史、照井隆広、三根浩敬、鹿野理子：
東北大学大学院医学系研究科行動医学分野

研究要旨

内臓刺激と体性刺激に対する脳内プロセッシングに違いがあることが報告されている。しかし、消化管の異なる部位における内臓刺激に対する脳内プロセッシングを比較した研究はほとんどない。本研究の目的は、ヒトにおいて直腸と下行結腸における消化管伸展刺激中に賦活される脳領域が異なるという仮説を検証した。

健常男性 32 例を直腸刺激群 (R 群) 16 例と下行結腸刺激群 (DC 群) 16 例の 2 群に無作為に振り分けた。直腸あるいは下行結腸に 700ml 容量のポリエチレン・バッグを留置し、バロスタット装置を用いてバッグ内圧 40mmHg で 80 秒間の大腸伸展刺激した時の脳血流を positron emission tomography (PET) を用いて測定した。消化器症状を 0-10 点の ordinate scale で評価した。

大腸伸展刺激によって、R 群は DC 群と比較して中帯状回(BA24)、両側島、左 1 次体性感覚野(BA2)が、DC 群は R 群と比較して両側腹内側前頭前野(BA9/10)、前帯状回(BA32)が有意に賦活化した($p < 0.001$, uncorrected)。R 群は DC 群と比較して、大腸伸展刺激中の腹痛($p < 0.05$)、便意($p < 0.001$)スコアが有意に高値を示した。

ヒトにおいて、下行結腸と直腸における伸展刺激中の異なる脳賦活化領域が示され、刺激部位によって認知、情動、痛覚に関する脳内ネットワークの違いが存在する可能性が示唆された。

A. 研究目的

近年、脳科学、消化管生理学の進歩によって過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome: IBS) を中心とした機能性消化管障害患者では内臓知覚過敏が主要な病態生理であると考えら

れるようになった。IBS 患者における消化管刺激に対する内臓知覚の脳内プロセッシングの異常が positron emission tomography (PET)、functional MRI (fMRI)、大脳誘発電位などの脳画像で評価されてきた。IBS 患者では、

直腸伸展刺激時の認知・情動・疼痛制御に関する脳領域の賦活化の異常が示唆されている (Mayer EA, et al. *Gastroenterology* 2006)。

一方、慢性の体性痛を主症状とする線維筋痛症患者でも皮膚刺激時の脳賦活化領域が健常者と異なっているという報告がある。これまで下部食道と咽頭、あるいは直腸と肛門に対する伸展刺激時の脳賦活領域を比較した結果、内臓刺激と体性刺激に対する脳内プロセッシングが異なることが示されている (Dunckley P, et al. *J Neurosci* 2005)。しかし、消化管の異なる部位における内臓刺激に対する脳内プロセッシングを比較した研究はほとんどない。本研究の目的は、直腸と下行結腸における消化管伸展刺激中に賦活される脳領域が異なるという仮説を検証することである。これにより、IBSの病態生理を解明するための基盤とすることを試みた。

B. 方法

健常右利き男性 32 例 (平均 24 ± 1 才) を直腸刺激群 (R 群) 16 例と下行結腸刺激群 (DC 群) 16 例の 2 群に無作為に振り分けた。全ての被験者は消化器症状を含めた身体・精神症状を認めず、未治療であった。本研究計画は東北大学医学部倫理委員会の承認を得ており、全員の被験者から文書にてインフォームド・コンセントを得た。

既報 (Hamaguchi T, et al. *Neurogastroenterol Motil* 2004) に従ってバロスタット装置 (Synectics Medical,

Stockholm, Sweden) を用いて大腸伸展刺激を行った。すなわち、バロスタット・カテーテルに装着された容量 700ml のポリエチレン・バッグの中心が肛門より 10cm (R 群) あるいは X 線透視下に大腸内視鏡を用いて下行結腸 (DC 群) に留置した (Fig.1)。コンピューターで制御されたバロスタットによって、両群ともバッグ内圧 40mmHg で 80 秒間大腸伸展刺激を行った。

刺激前の安静時と消化管刺激時の脳血流 (regional cerebral blood flow: rCBF) 測定は、 $H_2^{15}O$ によるラジオアイソトープを右肘静脈から注射し、東北大学サイクロトロンラジオアイソトープセンターに設置されている PET 装置 (HEADTOME V SET-2400W; Shimadzu, Kyoto, Japan) を用いて 70 秒間撮像した。脳血流測定中に生じた自覚症状 (消化器症状ならびに不安感) 強度を 0-10 点の ordinate scale で評価した。

脳血流賦活化領域を求めるために、脳画像解析ソフト (statistical parametric mapping software: SPM02, Wellcome, Department of Cognitive Neurology, London, UK) を用いて刺激時から安静時の脳血流の増加分を Talairach 座標に変換し、両群の PET 画像を比較した。

C. 結果

R 群は DC 群に比較して大腸伸展刺激中に中帯状回 (BA24)、両側島、左 1 次体性感覚野 (BA2) が有意な賦活化を認めた ($p < 0.001$, uncorrected, Fig.2)。DC

群は R 群と比較して両側腹内側前頭前野(BA9/10)、前帯状回(BA32)が有意に賦活化した ($p < 0.001$, uncorrected, Fig.2)。背外側前頭前野、視床、橋、小脳はどちらの刺激時にも脳血流増加が認められた。

R 群は CD 群と比較して、大腸伸展刺激中の腹痛 (6 [0-9] vs. 4 [0-7], median with range, $p < 0.05$)、便意 (9.5 [7-10] vs. 3.5 [0-10], $p < 0.001$) スコアが有意に高値を示したが、腹部膨満感 (6.5 [0-10] vs. 5 [1-10])、不安感 (5 [0-8] vs. 2 [0-10]) は両群で有意な違いは認められなかった。

被験者においてこれらの検査による有害事象は何も生じなかった。

D. 結論

ヒトにおいて、下行結腸と直腸における伸展刺激中の脳賦活部位が異なることがはじめて示された。すなわち、消化器症状を認めない健常者では、下行結腸と直腸における伸展刺激中の自覚症状あるいは脳活動は若干異なっていた。

侵害受容ならびにその制御に関連すると考えられる脳領域ならびに認知・情動に関連すると考えられる脳領域が、下行結腸と直腸どちらの刺激によっても賦活化した。しかし、その賦活化の程度あるいは部位の相違が両群間で示された。これは、直腸の方が一部の症状 (腹痛・便意) において感じやすいだけでなく、各身体部位の体性知覚に対応する感覚野の投影図 (Penfield's homunculus) が決定されてい

るように、内臓知覚でもこのような投影領域の分布が存在しうることを示唆している結果かもしれない。今後、複数の部位刺激における脳賦活化領域を比較して詳細な分析を行うとともに、内臓知覚過敏の病態生理を示すと考えられている IBS 患者などの疾患特性を評価していく必要がある。

E. 結論

以上の結果から、広範な消化管部位における内臓知覚異常を示す患者では、中枢に投影される刺激伝達過程が健常者と異なっているかもしれない。本研究モデルは、内臓知覚異常を示す IBS 患者における中枢に投影される刺激伝達過程を評価する有用な手段となりうるであろう。

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。

Fig.1 Colonic distension using a barostat device

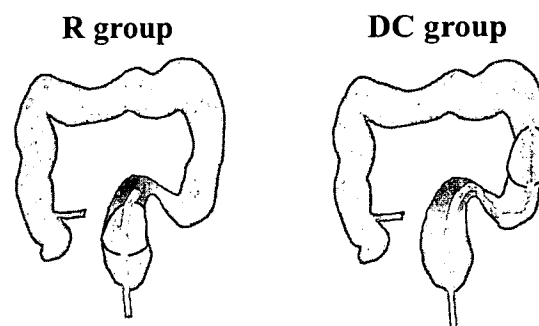
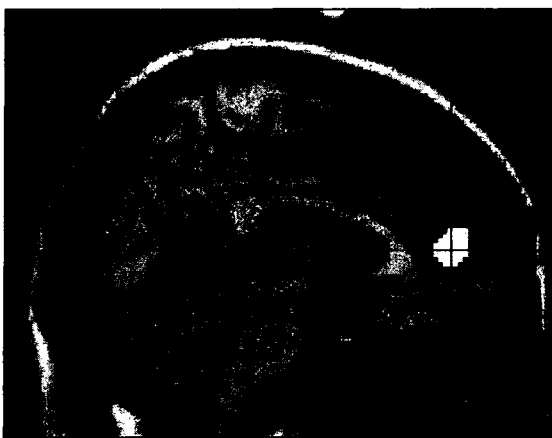


Fig.2 Comparisons of activated cerebral regions during the stimulus

R>DC group



DC>R group



G. 研究発表（論文発表）

1. Kanazawa M, Drossman DA, Shinozaki M, Sagami Y, Endo Y, Palsson OS, Hongo M, Whitehead WE, Fukudo S. Translation and validation of a Japanese version of the irritable bowel syndrome-quality of life measure (IBS-QOL-J). *BioPsychoSoc Med* 1:6

[epub], 2007

2. Dorn SD, Palsson OS, Thiwan SI, Clark WC, Kanazawa M, van Tilburg MA, Drossman DA, Scarlett Y, Levy RL, Ringel Y, Crowell MD, Olden KW, Whitehead WE. Increased colonic pain sensitivity in irritable bowel syndrome is the result of an increased tendency to report pain rather than increased neurosensory sensitivity. *Gut* 56: 1202-1209, 2007

3. Watanabe S, Hattori T, Kanazawa M, Kano M, Fukudo S. Role of histaminergic neurons in hypnotic modulation of brain processing of visceral perception. *Neurogastroenterol Motil* 19: 831-838, 2007.

4. Kanazawa M, Hamaguchi T, Watanabe S, Terui T, Mine H, Kano M, Itoh M, Fukudo S. Site-specific differences in central processing of visceral stimuli from the descending colon and the rectum in humans. *Gastroenterology* 132: A600, 2007.

5. Kanazawa M, Palsson OS, Thiwan SIM, Turner MJ, van Tilburg MAL, Fukudo S, Drossman DA, Whitehead WE. Differences in visceral hypersensitivity and hypercontractivity to intraluminal distention between subtypes of bowel movement in irritable bowel syndrome (IBS). *Gastroenterology* 132: A458,

2007.

6. Kanazawa M, Palsson OS, Shinozaki M, Sagami Y, Endo Y, Shoji T, Hongo M, Whitehead WE, Fukudo S. Comparison of comorbidity in Japanese and U.S. patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 132: A680, 2007.

7. Fukudo S, Mizuno T, Hamaguchi T, Kano M, Watanabe S, Sagami Y, Shoji T, Endo Y, Aoki M, Itoyama Y, Ito M, Yanai K, Hongo M, Kanazawa M. Impact of serotonin transporter gene polymorphism on brain activation by colorectal distention in healthy subjects and patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 132: A83, 2007.

8. Terui T, Watanabe S, Kanazawa M, Hamaguchi T, Mine H, Yanai K, Itoh M, Fukudo S. Differential modulation of the regional brain by hypnotic suggestion between patients with irritable bowel syndrome and healthy subjects. *Gastroenterology* 132: A134, 2007.

9. Aibiki L, Mizuno T, Ozaki N, Ishihara R, Aoki M, Itoyama Y, Kanazawa M, Fukudo S. Impact of serotonin receptor-3 gene polymorphism on irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 132: A134, 2007.

10. Whitehead WE, Palsson OS, Kanazawa M, Gangarosa LM, Thiwan

SIM, Drossman DA, van Tilburg MAL, Chitkara DK, Dorn SD, Ringel Y, Turner MJ. Cluster analysis evidence that irritable bowel syndrome is not a single disorder but a collection of distinct syndromes. *Gastroenterology* 132: A148, 2007.

11. Endo Y, Fukudo S, Shoji T, Sagami Y, Morishita J, Machida T, Machida T, Kanazawa M, Hongo M. The characteristics of high school students with irritable bowel syndrome and functional bowel disorder. *Gastroenterology* 132: A674, 2007.

12. Palsson OS, van Tilburg MAL, Levy RL, Turner MJ, Chitkara DK, Gangarosa LM, Kanazawa M, Whitehead WE. Excess medical diagnosis in families of irritable bowel syndrome (IBS) patients. *Gastroenterology* 132: A520, 2007.

13. Palsson OS, Ringel Y, van Tilburg MAL, Gangarosa LM, Turner MJ, Kanazawa M, Thiwan SIM, Drossman DA, Whitehead WE. Impact of fecal incontinence on irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 132: A678, 2007.

14. Palsson OS, Kanazawa M, van Tilburg MAL, Thiwan SIM, Ringel Y, Dorn SD, Gangarosa LM, Turner MJ, Drossman DA, Whitehead WE. Determinants of irritable bowel syndrome severity. *Gastroenterology* 132: A677,

2007.

15. Watanabe S, Kanazawa M, Lane RD, Hamaguchi T, Terui T, Mine H, Yanai K, Itoh M, Fukudo S. Hypnotic suggestion of regional brain activity to rectal stimulation using positron emission tomography. *Gastroenterology* 132: A726, 2007.

16. 金澤素, 福土審. 機能性便秘と機能性腹部膨満. *治療学* 41: 63-66, 2007.

17. 金澤素, 福土審. CRH (Corticotropin-releasing hormone) — 過敏性腸症候群の病態生理に関する役割を中心として. *医学のあゆみ* 223: 563-572, 2007.

18. 金澤素, 福土審. 機能性便秘. *消化管運動* 一目に見えない消化器疾患を追う 9: 8-13, 2007.

19. 福土審, 濱口豊太, 鹿野理子, 田山淳, 金澤素, 相模泰宏, 庄司知隆, 遠藤由香, 伊藤正敏, 谷内一彦, 本郷道夫. 身体感覚から情動形成に至る脳内過程とその異常. *心身医* 47: 691-4, 2007

20. 濱口豊太, 金澤素, 福土審. 過敏性腸症候群の発生機序: 消化管知覚過敏に関与する炎症と脊髄神経興奮. *心身医* 47: 13-18, 2007.

21. 濱口豊太, 金澤素, 福土審. 過敏性腸症候群の発生機序: 消化管刺激順序による急性感作現象. *心身医* 47: 19-24, 2007.

22. 濱口豊太, 金澤素, 福土審. 過敏性腸症候群の背景: 心理と遺伝要因. *行動医学研究* 13:1-5, 2007.

23. 渡辺論史, 金澤素, 福土審. 過敏性腸症候群における心理療法と脳機能イメージング. *消心身医* 14: 6-11, 2007.

24. 渡辺論史, 金澤素, 福土審. 労働ストレス要因と脳内ストレス処理過程への影響. *心療内科* 11:438-442, 2007.

25. 渡辺論史, 金澤素, 濱口豊太, 照井隆広, 三根浩敬, 谷内一彦, 伊藤正敏, 福土審. 消化管知覚の催眠変容における脳領域間functional connectivityの検証. *消化管運動* 9: 29-30, 2007.

26. 磯崎祥子, 古口高志, 瀧本美佳, 赤嶺志輔子, 金澤素, 福土審. 思春期・青年期における過敏性腸症候群有症状者の coping style の特徴. *心療内科* 11: 210-217, 2007.

III. 關連業績