

表 1、一次実験のアリル頻度

name	registration		Allele	Allele Frequency		p-value SC vs. Control
	JSNP	DbSNP		MS	Sc	
P1-1	174011	3813814	G>A	0.578	0.631	0.094
E3-1		6433382	A>G	0.540	0.571	0.490
I9-1			C>T	0.826	0.789	0.457
I9-3			G>A	0.986	0.979	0.568
I16-1	042318	2290374	A>G	0.737	0.753	0.861
I17-4	076341	3214814	del>T	0.805	0.894	0.075*
I22-1	014164	2242079	A>G	0.820	0.902	0.084*
I22-2			G>C	0.966	0.983	0.288
I23-1			A>G	0.885	0.898	0.887
I23-2			T>C	0.936	0.925	0.770
I23-3			C>T	0.935	0.952	0.600
I23-4			T>del	0.945	0.946	0.518
I25-1	123977	729486	G>C	0.840	0.819	0.212
I29-1			A>T	0.641	0.665	0.850
I29-2			A>T	0.816	0.841	0.752
I29-3	042322	2290378	G>A	0.654	0.672	0.923
I29-4			G>C	0.995	0.989	0.496
I29-5			C>T	1.000	0.989	0.133

(\* = P<0.09)

表 2、二次実験のゲノタイプ頻度

name	genotype&allele type	dbSNP	Control	Schizophrenia	P-value
I17-01	11 bp/11 bp	n.r	0.775	0.806	0.497
	11 bp/Del		0.196	0.183	
	Del/Del		0.029	0.011	
I17-02	C/C	rs11687902	0.768	0.811	0.644
	C/T		0.217	0.177	
	T/T		0.014	0.011	
I17-03-01	G/G	rs11687990	0.775	0.811	0.634
	G/A		0.203	0.177	
	A/A		0.022	0.011	
I17-03-02	C/C	rs13026645	0.703	0.794	0.172
	C/T		0.261	0.177	
	T/T		0.036	0.029	
I17-04	Del/Del	rs3214814	0.739	0.794	0.516
	Del/T		0.246	0.194	
	T/T		0.014	0.011	
I22-01	A/A	rs2242079	0.775	0.800	0.080
	A/G		0.181	0.194	
	G/G		0.043	0.006	
I22-02	C/C	n.r	1.000	0.977	0.202
	G/G		0.000	0.017	
	G/G		0.000	0.006	

表3、二次実験のアリル頻度

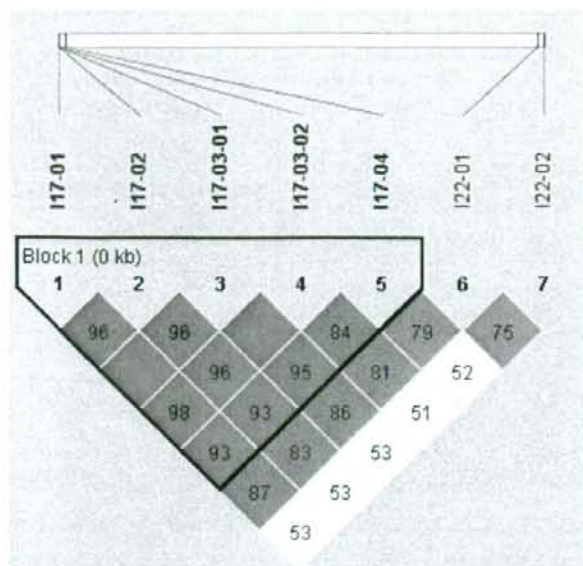
name	alleletype	Control	Schizophrenia	P-value
I17-01	11 bp	0.873	0.897	0.348
	Del	0.127	0.103	
I17-02	C	0.877	0.900	0.358
	T	0.123	0.100	
I17-03-01	G	0.877	0.900	0.358
	A	0.123	0.100	
I17-03-02	C	0.833	0.883	0.075
	T	0.167	0.117	
I17-04	Del	0.862	0.891	0.268
	T	0.138	0.109	
I22-01	A	0.866	0.897	0.227
	G	0.134	0.103	
I22-02	C	1.000	0.986	0.046 *
	G	0.000	0.014	

(\* = P<0.05)

表4、ハプロタイプ頻度

haplotype	Control	Schizophrenia	P-value
+CGC-AC	0.793	0.843	0.150
-TAT+GC	0.105	0.071	
+CGT-AC	0.040	0.017	
+CGC+AC	0.018	0.014	
+CGC-GC	0.014	0.017	
-TAT+AC	0.007	0.014	
-TAT+GG	0.000	0.009	
-CAT+GC	0.007	0.000	
-TAT-GC	0.004	0.003	
+TGC-AC	0.007	0.000	
+CGC-AG	0.000	0.006	
-CGT-GC	0.004	0.000	
-TAT-AC	0.000	0.003	
-CGC-GC	0.000	0.003	

図2、LDブロック



厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

（総括・分担）研究報告書

5-HT トランスポーター遺伝子の多型

研究分担者 川崎弘昭 九州大学大学院医学研究院精神病態医学 准教授

（協力者）織部直弥、光安博志  
九州大学大学院医学研究院精神病態医学

**研究要旨：**

我々は前年、セロトニントランスポーター遺伝子に見られる SERTPR (serotonin transporter linked polymorphic region) と SERTin2 (Serotonin Transporter Variable Number of Tandem Repeats in Second Intron) と呼ばれる 2 つの多型について、双極性障害患者群と健常対照者群で比較を行った。このうち、SERTPR について、二群間のゲノタイプ頻度及びアリル頻度で有意差を認めた。これは、セロトニントランスポーター遺伝子の機能変化が、気分障害の病態に関連している可能性を示唆する結果であると思われる。

本年はこの結果に気質についての心理検査であるTCIテストの結果を加え、双極性障害の発症に関与する性格傾向についての調査を行った。

TCIテストの7つの心理傾向の、SERTPR および SERTin2 各多型ごとの平均を算出し、遺伝子多型の与える影響を評価したが今回の我々の研究では有意な差は見られなかった。

しかし、本研究に用いられたサンプルはまだ少なく、今後もTCIテストを実施したサンプルの収集を行い、より詳細な研究を行う必要がある。

**A. 研究目的**

セロトニン (5-HT) は、動植物界に広く存在する生体活性アミンであり、中枢神経系においては、神経伝達物質として、摂食行動、睡眠、体温調節、性行動、痛覚、神経内分泌、認知、記憶などの調節に関わっている。5-HT の細胞内への取り込みに働くポンプ機能をもつセロトニントランスポーター (5-HTT) は、5-HT の神経伝達を終了させ、シナプス間隙における 5-HT 濃度を調節する役割をもつ。5-HTT は、抗うつ薬の作用部位の一つであり、気分障害の発

病機序との関係が示唆されている。遺伝子の多型による 5-HTT の機能の変化は、様々な精神疾患に関連している。ヒトの 5-HTT 遺伝子は、31kb の長さを持ち、第 17 染色体長腕 q11.1-q12 に存在し、14 のエクソンからなる。ヒト 5-HTT 遺伝子の 5' 上流の転写調節部位中には機能性多型が存在し、SERTPR と呼ばれている。これは、44bp の配列の挿入の有無による insertion/deletion 多型であり、挿入がある場合は l 型 (long type、16 回繰り返し型)、挿入のない場合は s 型 (short type、

14 回繰り返し型) と呼ばれる。S 型のプロモーターは 1 型のプロモーターに比較し、*in vitro* での基礎転写活性が約 50% 低いことが示されている。また、血小板の 5-HT 取り込み活性も s 型で低く、1 型で高いことが報告されている。5-HTT 遺伝子の第 2 イントロンには 16 ないし 17bp のエレメントが 9 回、10 回、ないし 12 回繰り返す VNTR (Variable Number of Tandem Repeat) 多型が存在し、SERTin2 と呼ばれている。この多型も *in vitro* での転写活性の違いや血小板の 5-HT の取り込み、5-HTT 発現数の違いに関連していることが報告されている。上記 2 多型は、気分障害との関連が示唆されている。特に、SERTPR 多型との関連では、大うつ病性障害や、双極性障害においては s アリルの頻度が高いという報告や、s アリルを持つ群では、抗うつ薬による躁転のリスクが高いという報告、さらには多型の種類によって、抗うつ薬である SSRI (Selective Serotonin Reuptake Inhibitor) の効果に差があるという報告などがされており、非常に注目されている。今回、我々は対照群 77 名、双極性障害患者 23 名について、上記 2 多型の解析を行った。

## B. 研究方法

精神疾患の分類と診断の手引き第 4 版 (DSM-IV) の双極性障害の診断基準を満たすものを、構造化面接 (structured clinical interview for DSM: SCID) により集めた。双極性障害患者群は、計 23 名であり (男性: 11 名、女性: 12 名、平均 42.61 才)、いずれも九州大学病院で入院中及び外来通院中の患者である。健常対照群は、計 77 人であり (男性: 43 名、女性: 34 名、平均 35.39 才)、久山町住民、九大病院職員及び学生から集めた。対照群は、社会経済状態、身体的状態、精神的状態などを質問紙票により収集した情報に基づいて選

択された。これらの質問紙票は気質性格質問票 (Cloninger, Svrakic, & Przybeck, 1993)、(Kijima et al., 1996)、ベック抑うつ質問票 (Beck, Ward, & Mendelson, 1961)、状態特性不安検査 (Spielberger, Gorsuch, & Lushene, 1970)、モーズレイ強迫症状評価尺度 (Hodgson & Rachman, 1977) などの心理検査バッテリーの情報を含む。対照者の選択基準を、(1) 精神疾患の既往歴がないこと、(2) 就業して社会適応が良好であること、および (3) 知的問題がないこととした。精神疾患の除外は、SCID のスクリーニングモジュールを用いた。

TCI 心理試験は採血時に質問紙を配布し後日郵送により回収し採点と集計を行った。対象者全員には説明と同意を得た。この研究は九州大学大学院倫理委員会の承認を得て、そのガイドラインに従い実施された。

### ゲノム DNA 抽出:

ゲノム DNA は Lahiri and Nurnberger の方法およびキアゲンカラム (Qiagen columns (Qiagen, GmbH)) を用い、末梢静脈血の白血球から抽出した。

### PCR:

上記の方法により得られたゲノム DNA をテンプレートにし、PCR 法により、ゲノタイプングを行うそれぞれの領域を増幅した。増幅に用いたプライマーのペアは Table 1 に記載した。我々は日本人サンプルの SNP データベースである JSNP に登録されている ADORA1 遺伝子上の 29 個の SNP を解析の対象とした。遺伝子上の SNP とエクソンの位置を図 1 として示した。

PCR の反応溶液の総量は 10  $\mu$ l とし、その溶液中にゲノム DNA 50ng、各プライマー 10pmol、dimethylsulfoxide 10%、AmpliTaq polymerase (Roche) 0.25unit、dNTP 各 2mmol、10xPCR Buffer II (Roche) 1  $\mu$ l を混入し、反応させた。

温度条件は、初めに 94°C 1 分間、次に 94°C 30 秒 (denaturation)、56°C または 62°C 30 秒 (primer annealing)、72°C 1 分 (extension) を 40 サイクル繰り返した後、最後に 72°C 5 分間 (final extension) とした。

#### 遺伝子型の決定:

Agilent2100 Labchip を用いた電気泳動法により SERTPR, SERTin2 の遺伝子多型を決定した。

#### 統計解析:

前年の研究においては 2 つの多型について、双極性障害群と健常対照者群の二群間でのカイ二乗検定による統計解析を行った ( $\alpha=0.05$ )。

本年度は疾患の有無と各遺伝子型の間で TCI テストの各指標の平均点の差を比較しカイ二乗検定による統計解析を行った。

有意差の水準を  $p=0.05$  とした。ソフトウェアは StatView-J ver4.11 (SAS Institute Inc., U.S.A.) を使用した。

#### (倫理面への配慮)

血液採取に際しては、文書および口頭にてインフォームド・コンセントを本人および家族 (代諾者) から取得した。この研究は九州大学大学院医学研究院・ゲノム・遺伝子解析倫理委員会の承認を得て、3 省庁合同のガイドラインに従い実施された。

### C. 研究結果

結果を Table1 及び Table2 に示す。

双極性障害罹患群と健常対照群との比較において SERTPR, SERTin2 の両遺伝子多型において、各ゲノタイプごとの TCI テストの平均点のばらつき方に違いは見られたが、カイ二乗検定による統計解析を行った結果、有意差は見られなかった。

### D. 考察

前年の我々のデータにおいては、双極性

障害患者の SERTPR では、S アリルに対する L アリルの頻度が対照群に比べて高いという結果になったが、今回の我々の研究では SERTPR, SERTin2 とともに TCI テストの結果とは相関が見られず、セロトニン遺伝子多型と性格傾向の間には相関があるという報告や、双極性障害を罹患しやすい性格傾向についての報告があるが、今回の我々の研究はそれを認めることができなかった。

前年の結果においても我々の研究においては欧米での報告とは異なる結果が得られており日本では、双極性障害患者の L アリルの頻度は、健常群よりも高い可能性があり、このことは、日本における双極性障害の病態生理や、抗うつ薬の効果などが欧米と異なる可能性が示唆された。

このように邦人での研究は欧米での先行研究とは異なる結果が得られる可能性がある。しかし、我々の用いたサンプルは有意な研究を行うためにはまだ十分ではなく、今後の研究が必須である。

### E. 結論

我々はセロトニントランスポーター遺伝子に存在する SERTPR, SERTin2 という 2 つの遺伝子多型について、双極性障害患者群と健常対照者群でゲノタイピングを行い、ゲノタイプ頻度ごとの TCI テストの結果の平均値の比較を行った。その結果、疾患の有無によって、各ゲノタイプの TCI テストの平均値にばらつきは見られたが、有意な結果は得られなかった。

このことは、欧米を中心とした先行研究を支持するものではないが、双極性障害の発症機序や治療反応性が、日本では異なっている可能性も示唆された。サンプル数を増加し、更なる解析が必要と考えられる。

### F. 健康保険情報

### G. 研究発表

1. 論文発表

投稿予定

2. 学会発表

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

Table1 : 5HTT 遺伝子多型の各遺伝子型における、TCI テストの平均点の分布

	総計	BD				NC				
		EE	SL	SS	小計	LL	SL	SS	小計	
		SeRTPR (5HTT LPR)	NS値	19.1	21.0	16.7	13.9	15.5	16.7	25.0
HA値	19.1	30.0	19.8	15.5	18.2	21.7	12.0	19.5	19.5	
RD値	14.3	20.0	13.0	11.9	12.9	17.0	19.0	14.5	14.8	
P値	4.1	7.0	4.2	3.9	4.2	5.3	5.0	3.9	4.0	
SD値	26.5	17.0	21.5	22.8	21.9	31.0	26.0	28.0	28.2	
C値	25.1	28.0	24.8	19.4	22.1	31.3	35.0	25.5	26.2	
ST値	8.5	12.0	6.0	8.8	7.9	6.7	14.0	8.7	8.7	
総計(人)	56	1	6	8	15	3	1	37	41	
	総計	BD				NC				
		LL	SL	SS	小計	LL	SL	SS	小計	
		SeRTIn2 (5HTT VNTR)	NS値	19.1	13.5	19.7	24.0	15.5	20.8	16.5
HA値	19.1	16.0	24.7	23.0	18.2	19.2	20.5	27.0	19.5	
RD値	14.3	11.3	17.0	18.0	12.9	14.5	15.5	20.0	14.8	
P値	4.1	3.8	5.7	4.0	4.2	3.9	4.5	6.0	4.0	
SD値	26.5	20.5	26.7	23.0	21.9	28.3	26.5	29.0	28.2	
C値	25.1	19.3	29.3	32.0	22.1	25.9	27.3	31.0	26.2	
ST値	8.5	7.6	9.7	5.0	7.9	9.1	6.0	6.0	8.7	
総計(人)	56	11	3	1	15	36	4	1	41	

Table2 : 5HTT 遺伝子多型の各遺伝子型と TCI テストの平均点の間の相関解析の結果

	各指標における相関解析のP値						
	NS	HA	RD	P	SD	C	ST
SeRTPR *Affect	0.518	0.496	0.433	0.637	0.648	0.182	0.427
SeRTIn2 *Affect	0.444	0.668	0.493	0.756	0.899	0.877	0.799



以下、参考として前年のデータを再掲する。

<b>SERTPR</b>		<b>NC</b>	<b>BP</b>	<b>P</b>
Major Homo	SS	68	14	Chi Square P-Value 0.0002
Hetero	SL	3	8	
Minor Homo	LL	6	1	
<b>SERTin2</b>		<b>NC</b>	<b>BP</b>	<b>P</b>
Major Homo	LL	67	18	Chi Square P-Value 0.2040
Hetero	LS	5	4	
Minor Homo	SS	1	1	

<b>SERTPR</b>		<b>NC</b>	<b>BP</b>	<b>P</b>
Major Allele	S	139	36	Chi Square P-Value 0.0308
Minor Allele	L	15	10	
<b>SERTin2</b>		<b>NC</b>	<b>BP</b>	<b>P</b>
Major Allele	L	139	40	Chi Square P-Value 0.0522
Minor Allele	S	7	6	

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

（総括・分担）研究報告書

聴覚刺激を用いた双極性障害における神経同期活動に関する研究

研究分担者 鬼塚俊明 九州大学病院精神科神経科 講師

（協力者）平野昭吾、織部直弥、大林長二、土本利架子、福島倫子、前川敏彦、  
上野雄文 九州大学大学院医学研究院精神病態医学

#### 【研究要旨】

近年、種々の精神疾患において神経の同期活動(neural oscillation)の異常が報告されている。neural oscillation は、認知の過程において重要な役割を果たしていると考えられており、認知機能に影響の現れやすい双極性障害においても、何らかの異常が認められると予想される。我々は、双極性障害患者に対し聴覚刺激を与えた際に引き起こされる反応を脳磁図を用いて測定し、その同期活動を解析した結果と、同様の測定を行った健常群で得られた結果との比較を行っている。

#### A 【研究目的】

近年では精神疾患における脳機能の異常が精神疾患の遺伝子研究における中間表現型となると考えられている。神経生理学的研究では、聴覚誘発同期活動の指標の1つである Auditory steady state response (ASSR) について、健常者群と統合失調症患者群や双極性障害患者群との比較研究が行われている。ASSR は大きさおよび位相が一定の不連続な聴覚刺激を、各刺激の持続時間よりも十分に長い時間で提示することにより得られる刺激に対する安定した反応(Regan 1989)であり、正常者では聴覚刺激の頻度を 40Hz で提示した際に最大の ASSR を認めることが

知られている(Galambos 1981)。近年の研究において、双極 I 型障害患者において 20Hz、30Hz、40Hz および 50Hz クリック音に対する ASSR の減弱が報告されている(O'donnell et al., 2004)。また、初発の統合失調症および精神病症状を伴う感情障害の 40Hz ASSR も減弱している(Spencer et al., 2008)。先行研究の結果から、ASSR を指標とすることにより、双極性障害の病態生理を検討することが可能になると考えられる。しかし、これらの研究は全て脳波を用いて ASSR を測定したものであり、より高い空間分解能を有する脳磁図を用いて双極性障害の ASSR を検討した研究は我々の知る限り行われていない。本

研究では、高密度脳磁図を用いて ASSR の測定を行い、双極性障害の ASSR に障害が見られるか否かを検索した。

## B 【研究方法】

### < 研究対象者 >

- ・ 双極性障害患者 20 人
- ・ 正常対象者 40 人

### < 適格条件 >

正常者：

- ① 20-55 歳の男女 ② 右利き

患者群：

- ① 20-55 歳の男女
- ② 右利き
- ③ 双極性障害患者
- ④ 診断は構造化面接を行い、DSM-I に基づき診断をする
- ⑤ 本人且つ主治医の同意が得られたもの

### < 除外条件 >

- ① 対照者のうち構造化面接 (SCID non-patient edition) にて、Axis-I の精神疾患ある場合または本人の情報に基づき第一親等家族に Axis-I の精神疾患があった場合には正常対照者から除外する。
- ② 患者のうち、本人または主治医の承諾が得られない患者は対象から除外する。
- ③ 脳波異常をきたすような頭部外傷・他の神経疾患を併発している者、電気けいれん療法を受けたことがある者、アルコール・薬物依存の既往が過去 5 年以内にある者、言語性 IQ が 75 未満の者を除外する。

< 実験条件・聴覚刺激の提示方法、脳磁図計測およびデータ解析 >

実験は九州大学病院ブレインセンターの磁

気シールドルーム内にて行った。患者は、九大病院精神科神経科にて入院または外来治療中の統合失調症患者及び双極性障害患者とした。診断は構造化面接を行い、DSM-IV に基づき診断を行った。聴覚刺激による誘発反応記録には 306 チャンネル脳磁計 (エレクトラ社、ニューロマグ) を用いた。被験者には覚醒、安静開眼の状態での座位を保持してもらった。聴覚刺激として 80dB SPL、持続 1 ミリ秒のクリック音を使用した。聴覚刺激はトリガー信号に同期させ、シールドルーム内へイヤホンを通じて、両耳へ 500 ミリ秒間断続的に呈示した。クリック音断続呈示の頻度は 20Hz、30Hz、40Hz、80Hz とし、刺激間隔は 500 ミリ秒とした。誘発反応が脳磁計のワークステーション上のソフトにより 200 回加算されるまで断続呈示を行った。得られた誘発磁場波形に対して、ASSR のパワーを、数値解析ソフトである MATLAB 上で動作するプログラムにより計算した。ASSR パワーの刺激後 30 ミリ秒から 530 ミリ秒における平均値を、群を被験者間要因、半球 (左・右) を被験者内要因とし、刺激周波数毎に repeated measures ANOVA を行った。有意水準は全ての検定において  $p < 0.05$  とした。

### (倫理面への配慮)

#### 1 患者の保護

本研究に関係するすべての研究者はヘルシンキ宣言に従って実施する。

#### 2 インフォームドコンセント

本研究の開始にあたっては、対象となる患

者に対し、研究の内容について十分説明した上で、本研究への参加について、自由意思による同意を文書で得る。

### 3 プライバシーの保護と患者の識別

登録患者の同定や照会は、登録時に発行される症例登録番号、患者イニシャル、生年月日を用いて行われ、患者名など第三者が直接患者を識別できる情報が本試験のデータベースに登録されることはない。

### 4 プロトコールの遵守

本研究に参加する研究者は、患者の安全と人権を損なわない限りにおいて本研究実施計画書を遵守する。

### 5 施設の倫理審査委員会の承認

本研究の実施に際しては、本研究実施計画書および患者への説明文書が施設の倫理審査委員会もしくは IRB で承認されている。

## C 【研究結果】

現時点での経過報告(2009年1月30日現在)正常者22人および双極性障害10人について検査およびデータ解析が終了している。

表1 被験者背景データ

	Patients with Bipolar Disorder	Normal Controls	t-test	F
	N = 10	N = 22		
Sex (M/F)	3/7	7/15	0.01	0.92
Age	37.9 ± 13.8	34.3 ± 14.4	01.5	0.46
Handedness	95.5 ± 11.1	97.0 ± 2.6	102.1	0.92
SLS	2.3 ± 0.9	2.1 ± 0.8	84.0	0.39
Parental SLS	3.0 ± 0.7	2.5 ± 0.7	59.0	0.07
Education years	13.7 ± 2.7	15.4 ± 2.4	72.0	0.11
Sleeping score	2.9 ± 0.8	2.2 ± 0.2	70.5	0.15
Bipolar Disorder Type (I/II)	5/5			

表に正常対照者22名と双極性障害患者10名の背景データを示す。

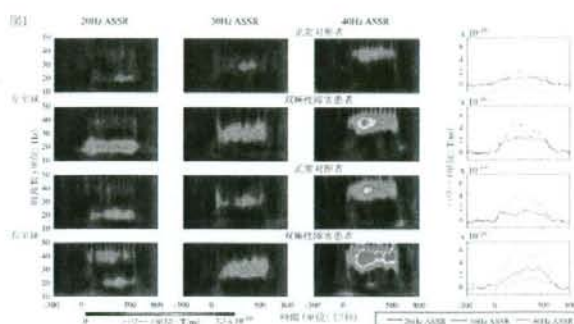
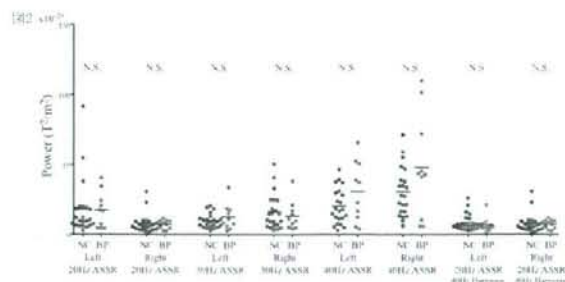


図1は正常対照者、双極性障害者の各刺激周波数に対する平均 ASSR パワーを示している。図に示すように、20、30、40Hz に対する ASSR パワーの上昇が両群ともに認められた。図2は各刺激周波数に対する ASSR パワーの刺激後30ミリ秒から530ミリ秒における平均値の散布図を示している。Repeated measures ANOVAにより各刺激周波数において有意な群の主効果および群×半球の交互作用を認めなかった(0.001 ≤ F[1, 30] ≤ 4.0, 0.06 ≤ p ≤ 0.98)。双極性障害と正常対照者との間に ASSR パワーに違いはなかった。



#### D 【考察】 および E 【結論】

今回の所見では双極性障害に40Hzに対するASSRパワーの減弱はないことが示唆された。今後は、①それぞれの被験者群において、ASSRの電流源推定を行い、ASSR電流源のパラメータについて比較検討を行う、②症状評価尺度とASSRとの関連を検索する。

4. Spencer KM, Salisbury DF, Shenton ME, McCarley RW (2008):  $\gamma$ -band auditory steady-state responses are impaired in first episode psychosis. *Biol Psychiatry* 64: 369-375.

#### F 【健康危険情報】

特記事項なし

#### G 【研究発表】

【1. 論文発表】

【2. 学会発表】

【3. 書籍】

#### H 【知的財産権の出願・登録状況】

特記事項なし

1. Regan D (1989): *Human brain electrophysiology: evoked potentials and evoked magnetic fields in science and medicine*. Amsterdam: Elsevier.

2. Galambos R, Makeig S, Talmachoff PJ (1981): A 40Hz auditory potential recorded from the human scalp. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 2643-2647.

3. O'Donnell BF, Hetrick WP, Vohs JL, Krishnan GP, Carroll CA, Shekhar A (2004): Neural synchronization deficits to auditory stimulation in bipolar disorder. *NeuroReport* 15: 1369-1372.

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

（総括・分担）研究報告書

言語刺激を用いた双極性障害における神経同期活動に関する研究

研究分担者 鬼塚俊明 九州大学病院精神科神経科 講師

（協力者）織部直弥、平野昭吾、平野羊嗣、大林長二  
九州大学大学院医学研究院精神病態医学

#### 【研究要旨】

近年、種々の精神疾患において神経の同期活動の異常が報告されている。中でもガンマ帯域（20～45Hz）における同期活動は、対象を認識したり、言語を処理する過程において重要な役割を果たしていると考えられており、認知機能や言語活動に影響の現れやすい双極性障害においても、何らかの異常が認められると予想される。我々は、双極性障害患者に対し言語音及び非言語音による聴覚刺激を与えた際に引き起こされる反応を脳磁図を用いて測定し、そのガンマ帯域での同期活動を解析した結果と、同様の測定を行った健常群で得られた結果との比較を行っている。

#### A 【研究目的】

脳波や脳磁図の波形を時間周波数解析することにより、特定の時間帯に特定の周波数帯域の oscillation が検出できることが知られ、その oscillation と認知との関連を示した研究が数多く見られるようになってきている [1]。特に、ガンマ帯域（20～45Hz）の周波数で振動する神経の同期的活動は、脳内の離れた部位と情報をやりとりすることで、知覚を他の感覚や記憶などと統合し、対象に対する認識を形作るという課程の中で、非常に重要な役割を果たしていると考えられている。近年ではヒトにおいても、oscillation の研究は行われており、特に視覚や聴覚の認

知課題において、刺激によって誘発される evoked oscillation や induced oscillation と呼ばれる oscillation についての知見が集積されつつある [1]。このうち、evoked oscillation はその出現のタイミングが刺激提示時刻と locking しているものである。Herrmann ら（2004）は視覚刺激によって刺激提示後早期（150 ミリ秒以内）に生じる 40Hz 前後の evoked oscillation が刺激の大きさや刺激への注意、被験者の記憶との合致の有無により変化することから、40Hz 前後の evoked oscillation は被験者の記憶内容と入力された刺激内容との "matching" を反映しているという仮説を提唱している [2]。

双極性障害と並ぶ代表的な精神疾患である統合失調症に関しては、こういったガンマ帯域の evoked oscillation を指標として認知の異常を検索する研究が多くなされてきている。Kwon ら (1999) は、40Hz の頻度でクリック音を断続的に提示した際の脳波を測定し、統合失調症患者群では、正常対照者群と比較して有意に 40Hz での evoked oscillation のパワーが減弱していることを報告した [3]。Hong ら (2004) は、上述の Kwon ら (1999) らと同じ実験課題を、統合失調症患者の第 1 親等者を対象者として行い、彼らの 40Hz evoked oscillation のパワーが、正常対照者群と比較して有意に減弱していることを報告した [4]。Spencer ら (2003, 2004) は視覚認知課題を行い、統合失調症患者の脳波を測定した。彼らの報告によれば、主観的輪郭線により正方形が知覚される条件では、統合失調症患者の後頭部の電極で測定された 40Hz 前後の evoked oscillation の位相同期性が正常対照者群と比較して有意に低下していた [5, 6]。Uhlhaas ら (2006) は、Mooney face (白と黒のみで描かれた絵であり、正立では男性の顔面の正面像が知覚されるが、倒立では知覚されない) を用いた視覚認知課題を行ったときの統合失調症患者の脳波を測定した。彼らの報告では、統合失調症患者群では顔を知覚する条件では  $\beta$  帯域 (20~30Hz) の evoked oscillation の位相同期性が正常対照者と比較して有意に低下していた [1]。一方、双極性障害に関しては、Brian らが、20、30、40、50Hz の頻度でクリック音を双極性障害患者群に提示し、その際の脳波を記録した研究を報告しており、その結果では、すべての周波数において、evoked oscillation のパワーが低下していた [7]。

しかし、それ以外の双極性障害に関する evoked oscillation を指標とした報告は、ほとんど見られない。

脳磁図検査法は聴覚刺激に対する神経活動を、ミリ秒単位の時間解像度をもって測定することが可能である。Palva ら (2002) は、言語音および非言語音を提示した際の脳磁図を測定し、得られた磁場波形に対して時間周波数解析を行った。彼らの報告によると、言語音により誘発されるガンマ帯域の evoked oscillation のパワーが最大となる潜時が、左半球においては右半球より有意に早くなっていた。またガンマ帯域の evoked oscillation のパワーの最大値が非言語音を提示した際には左半球より右半球で有意に大きくなっていたが、言語音を提示した際はこのような左右差が見られなかった。このパワーの最大値は 45~75Hz evoked oscillation では刺激の種類に関係なく左半球より右半球で有意に大きくなっていた。彼らはこれらの所見から、ガンマ帯域 (20~45Hz) での evoked oscillation が左半球の言語特異的な処理システムの早期段階の活動を反映しているものと推論している [8]。統合失調症については、Hirano らが患者群と健常群を対象に言語音および非言語音を提示した際の脳磁図を測定し、時間周波数解析を行った研究を発表しており、統合失調症患者群は、左半球で言語音に対して、また右半球で非言語音に対して、20~45Hz evoked oscillation が最大となる潜時が正常対照者群と比較して有意に遅れているとしている [9]。

双極性障害は、高揚と抑鬱を繰り返す不安定な気分症状で特徴付けられる疾患であるが、同時に言語機能の異常や、認知・注意障



害、遂行機能の低下などが起こることもよく知られている。従って、双極性障害患者においても、早期の言語処理活動を反映しているとされるガンマ帯域 evoked oscillation に異常が見られると予想出来るが、我々の知る限りでは、言語音を提示した際に起こるガンマ帯域 evoked oscillation を検討した研究はない。今回我々は、双極性障害患者群と健常群に対して言語音及び非言語音の提示を行った際の脳磁図を測定し、その時間周波数解析を行うこととした。この研究により、双極性障害群における言語処理機能を推定できるとともに、将来的には、診断の補助や、治療方針の決定、予後の判定などに応用できる可能性がある。

## B 【研究方法】

研究対象者：

< 研究対象者選択基準 >

- ・ 双極性障害患者 11 人
- ・ 正常対象者 29 人

< 適格条件 >

正常者：

- ① 20-55 歳の男女 ② 右利き

患者群：

- ① 20-55 歳の男女
- ② 右利き
- ③ 双極性障害患者
- ④ 診断は構造化面接を行い、DSM-I に基づき診断をする
- ⑤ 本人且つ主治医の同意が得られたもの

< 除外条件 >

- ① 対照者のうち構造化面接 (SCID non-patient edition) にて、Axis-I の精神疾患ある場合または本人の情報に基づき第一親等家族に Axis-I の精神疾患があ

った場合には正常対照者から除外する。

- ② 患者のうち、本人または主治医の承諾が得られない患者は対象から除外する。
- ③ 脳波異常をきたすような頭部外傷・他の神経疾患を併発している者、電気けいれん療法を受けたことがある者、アルコール・薬物依存の既往が過去 5 年以内にある者、言語性 IQ が 75 未満の者を除外する。

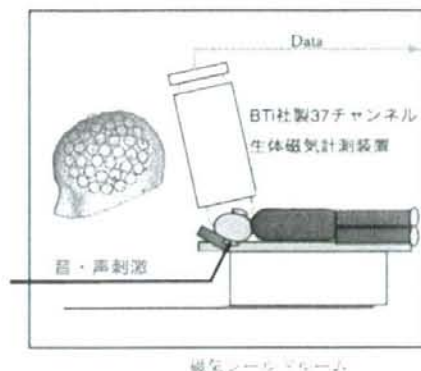
患者の症状の重症度評価のためにヤング躁病評価尺度日本語版 (Young Mania Rating Scale (YMRS)) および、構造化面接版ハミルトンうつ病評価尺度 (Structured Interview Guide for the Hamilton Depression Rating Scale, (SIGH-D)) を用いた。被験者および被験者の親の社会的および経済的な状況

(Socioeconomic status (SES)) を評価するため Hollingshead two-factor index を用いた。

< 実験条件・聴覚刺激の提示方法 >

実験は九州大学病院神経磁気検査室の磁気シールドルーム内にて行った。被験者には実験中、磁気シールドルームのベッド上で側臥位をとり、開眼したままで眠らないように、また聴覚刺激については無視するよう指示した。聴覚刺激は、音源から 2.3m のプラスチックチューブとチューブの先端に装着したイヤピースを通じて、磁場測定側と反対側の外耳道へ提示される。磁場測定は左右両側で行ったが、左右の測定順は被験者毎に変更した。聴覚刺激は、非言語音として 2000Hz の純音を使用し、言語音として母音「あ」を使用した。母音「あ」は日本語を母国語とする男性俳優が発音したものである。母音「あ」の第 1 フォルマントは 760Hz、第 2 フォルマントは 1250Hz であった。どちらの音も持続は 200 ミリ秒で立ち上がりりと立ち下がりは 10 ミリ秒ずつに、またイヤピース先端での

聴覚刺激音の強度は 60 dB SPL となるよう編集および設定を行った。聴覚刺激は言語音と非言語音それぞれの出現頻度が約 1 対 1 になるよう提示しているが、提示順は各被験者にて全て異なっている。聴覚刺激は左右ともに言語音と非言語音が合計 440 回提示されるまで行った。刺激間隔は 1 秒から 2 秒の間をランダムにとるものとした。



#### <脳磁図の測定、磁場波形の解析>

【脳磁計】37 チャンネル脳磁計 (BTi 製) を用いて誘発磁場の測定を行った。サンプリング周波数は 4167Hz とした。1 試行当たりの磁場計測時間は 300 ミリ秒 (刺激前 50 ミリ秒から刺激後 250 ミリ秒まで) とした。4pT/cm 以上の磁場を含む試行は粗大なアーチファクトを含むものと考え、以後の解析には使用していない。

【ウェーブレット変換】Evoked oscillation を検討するためには、波形の時間周波数解析を行う必要がある。我々は時間周波数解析の手段としてウェーブレット変換を行うこととした。ウェーブレット変換は市販の数学およびプログラミングソフトウェア MATLAB の

オプションである Wavelet Toolbo x を用いて計算を行った。マザーウェーブレットとして複素 Morlet ウェーブレットを使用した。複素 Morlet ウェーブレットは数学的に以下のように記される。

$$W(t) = (\pi f_b)^{-0.5} \times \exp(-t^2/f_b) \times \exp(2i \pi f_c t) : f_b = f_c = 1$$

(上式の内、 $t$  は時間、 $i$  は虚数単位、 $f_b$  は周波数帯域パラメータ、 $f_c$  は中心周波数パラメータ)

【evoked oscillation のパワー、パワー値の正規化、信号雑音比の向上】ウェーブレット変換により得られた任意の周波数および時間における計算結果、すなわちウェーブレット係数は複素数として与えられる。数学的にはこのウェーブレット係数の絶対値の 2 乗値をパワーと呼ぶことと定義づけられている。Kiebel ら (2005) はこのパワー値の平方根をとる、または刺激前の任意の時間帯における特定の周波数の平均パワーをベースラインとし、その周波数パワーの特定の周波数のすべての時間における値それぞれからベースライン値を減じることにより、パワー値を正規化できることを報告しており [10]、Palva ら (2002) はパワー値の平方根をとった上で、刺激前の一定の時間帯をベースラインとし、パワー値の正規化を行っている [8]。我々も同様にパワー値の平方根をとる、刺激前 50 ミリ秒から刺激直前をベースラインとし、正規化を行った。以後、パワー値はすべてこの正規化を行った上で解析を行っている。信号雑音比を向上させるため、Palva ら (2002) の報告に倣い、各被験者においてそれぞれの条件毎に刺激直後から刺激後 150 ミリ秒の時間帯における、20~45Hz

evoked oscillation の平均パワーが最大となる 10 チャンネルを決定し、以後の解析にはこの 10 チャンネルのデータを使用することとした。ここまでの段階で evoked oscillation のパワー値は周波数、時間、チャンネル、条件（被験者、半球（右か左）、刺激の種類（言語か非言語）の組み合わせ）の関数である。ここで周波数およびチャンネルにおいて平均をとることにより、20~45Hz evoked oscillation のパワー値を時間、条件の関数(\*)とした。我々はこの関数から、各条件において、刺激直後から刺激後 150 ミリ秒の時間帯で 20~45Hz evoked oscillation のパワー値が最大となる時間およびその最大値を求めた。以後前者の時間を各条件における 20~45Hz evoked oscillation パワー最大時、後者の最大値を 20~45Hz evoked oscillation パワー最大値と呼ぶ。さらに、最大値を検討するだけでは evoked oscillation の時間による変化の様子を検討できないため、我々は、各条件において、刺激直後から刺激後 50 ミリ秒までの区間、刺激後 50 ミリ秒から刺激後 100 ミリ秒までの区間、そして刺激後 100 ミリ秒から刺激後 150 ミリ秒までの区間のそれぞれで時間において、上記において\*で示した関数より 20~45Hz evoked oscillation のパワー値の平均を求めた。以後、各条件における、これらの各区間での平均パワー値を 20~45Hz evoked oscillation 平均パワー値と呼ぶ。

【evoked oscillation の位相同期性】我々は evoked oscillation のパワーだけでなく、その位相同期性 (phase-locking) についても検討した。上述の方法で決定した各条件の 10 チャンネルにおける全試行に対しウェー

レット変換を行った。

特定の周波数の振動の任意の時間における位相同期性は、下記のように表現される[11]。  
Phase-locking factor (t) =  $|1/N \times \sum_n (z(t)/|z(t)|)|$

(上式の内、t は時間、N は試行数、z(t) は特定の周波数におけるウェーブレット係数を時間の関数として表現したもの、値は複素数となる。)

位相同期性もパワー値と同様に刺激前 50 ミリ秒から刺激直前をベースラインとし、正規化を行った。その後パワー値と同様に周波数およびチャンネルにおいて平均をとることにより、20~45Hz evoked oscillation の位相同期性を時間、条件の関数とした。この関数より、各条件において、刺激直後から刺激後 150 ミリ秒の時間帯で 20~45Hz evoked oscillation の位相同期性が最大となる時間およびその最大値を求めた。以後前者の時間を各条件における 20~45Hz evoked oscillation 位相同期性最大時、後者の最大値を 20~45Hz evoked oscillation 位相同期性最大値と呼ぶ。

【誘発磁場波形成分: P50m および N100m】聴覚刺激により生じる誘発電位成分の内、刺激後 50 ミリ秒前後に出現する陽性の電位は P50 と呼ばれ、刺激後 100 ミリ秒前後に出現する陰性の電位は N100 と呼ばれる。P50m、N100m はそれぞれ、聴覚誘発磁場波形において P50、N100 と同意義の成分と考えられている。我々は 20~45Hz evoked oscillation を検討する際に用いた、各条件において決定された 10 チャンネルの加算平均波形において、P50m および N100m の振幅および潜時を検討するため、以下の波形処理を行った。まず

10チャンネルの加算平均波形へ通過帯域が1Hzから20Hzであるデジタルバンドパスフィルタ(減衰傾度12dB/octave)を適用した。各チャンネルにおいて、刺激前50ミリ秒から刺激直前の平均磁場をベースラインとした。10チャンネル全てのMEGデータを基にしたRoot Mean Square (RMS) 値を用いて磁場の評価を行った。RMSは次の式によって定義される。

$$RMS(t) = (\sum x(i, t)^2/n)^{0.5}$$

(上式の内、 $t$ は時間、 $x(i, t)$ は任意のチャンネルにおける経時的な磁場データである。 $n$ はチャンネル数で $n=10$ となる。)

刺激提示後20~70ミリ秒の間で、RMS値が最大となる時間をP50m潜時とし、RMS最大値をP50m振幅とした。また、刺激提示後80~120ミリ秒の間でRMS値が最大となる時間をN100m潜時とし、RMS最大値をP100m振幅とした。

【Laterality Index】Kircherらの方法に倣い、以下の評価項目

- 20~45Hz evoked oscillation パワー最大時
- 20~45Hz evoked oscillation パワー最大値
- 20~45Hz evoked oscillation 平均パワー値
- 20~45Hz evoked oscillation 位相同期性最大時
- 20~45Hz evoked oscillation 位相同期性最大値
- P50m 潜時
- P50m 振幅
- N100m 潜時
- P100m 振幅

それぞれにおいて laterality Index (LI) を次の式にて定義し、それぞれの評価項目における半球差を検討することとした。

$$LI = (L - R) / (|L| + |R|)$$

(L, Rはそれぞれ各項目の左半球、右半球のデータ)

統計解析:

年齢、利き手、被験者のSES、被験者の親のSESの各項目の両群間比較は $t$ 検定にて行った。両群における男女の人数の比較は $\chi^2$ 検定にて行った。20~45Hz evoked oscillation パワー最大時、20~45Hz evoked oscillation パワー最大値、20~45Hz evoked oscillation 位相同期性最大時、20~45Hz evoked oscillation 位相同期性最大値、P50m 潜時、P50m 振幅、N100m 潜時、P100m 振幅については群(統合失調症患者・正常対照者)を被験者間要因、半球(左・右)および刺激(言語音・非言語音)を被験者内要因として反復測定分散分析を行った。20~45Hz evoked oscillation 平均パワー値については群(双極性障害患者・正常対照者)を被験者間要因、区間(刺激直後~刺激後50ミリ秒、刺激後50ミリ秒~刺激後100ミリ秒、刺激後100ミリ秒~刺激後150ミリ秒)および半球(左・右)および刺激(言語音・非言語音)を被験者内要因として反復測定分散分析を行った。各項目のLIについては半球を除いた要因にて反復測定分散分析を行った。有意水準は全ての検定において $p < 0.05$ とした。

(倫理面への配慮)

1 患者の保護