

動とそれに伴う身体内臓反応を駆動する神経基盤と考えられている。先行研究において、認知ストレス刺激誘発の昇圧反応の個体差と膝周囲前帯状回領域における rCBF 活性とが強い関連を示すことが報告されている。これらより、社会的ストレス負荷の個体差が情動の根幹をなす内臓知覚の脳内処理に大きな影響を及ぼす可能性が生じてきたと言える。

さらに労働負荷等の慢性ストレス要因は、成人における慢性ストレス、特に外傷的な回避不可能なストレス刺激は、脳内に永続的な変化をもたらす。動物の慢性ストレスモデルでは、共通して海馬機能の欠損および恐怖関連行動の増加などを引き起こす。これらの脳内ストレス処理回路は、海馬、扁桃体および前頭前野からなり、これらの部位における形態学的変化、加えてモノアミン (monoamine) 系や CRH (corticotropin-releasing hormone) 系の長期的変化が確認されている。ヒトにおいても社会経済的な地位の低さと海馬および膝周囲前帯状回における灰白質体積の減少との関連が報告されている。本研究では、労働負荷の多さと膝下部前帯状回における灰白質体積の減少との関連が示された。社会的ストレスの多寡が膝下部前帯状回領域の成人後の成熟過程に影響を及ぼす可能性が

示された。

今後さらに腸→脳信号および脳→腸信号が内臓知覚の情動成分を規定する膝下部前帯状回の成熟差に及ぼす影響を社会脳科学的な手法を用いて検証することは、過敏性腸症候群を代表とするストレス関連疾患の早期治療および予防プログラムの開発に結びつけることが期待される。

#### E. 結論

バロスタットを用いた消化管刺激と PET および MRI を用いたニューロイメージングにより、慢性ストレス負荷の多寡と、膝下部前帯状回(BA25)における rCBF 活性ならびに灰白質の減少傾向との関連が示唆された。これらの知見は過敏性腸症候群を代表とするストレス関連疾患の早期治療および予防プログラムの開発の一助になることが予想される。

#### F. 健康危険情報

本研究による健康危険情報は無い。

#### G. 研究発表

1. Suzuki H, Watanabe S, Hamaguchi T, Kanazawa M, Ohisa N, Maruyama M, Yanbe T, Fukudo S. Brain activation correlated with changes in heart rate and autonomic functions during rectal distention.

*Psychosomatic Medicine* (in press).

2. Watanabe S, Kanazawa M, Terui T, Mine H, Hamaguchi T, Yanai K, Itoh M, Fukudo S. Individual differences in work overload predict the response of the rostral anterior cingulate cortex to acute interoceptive stressor.

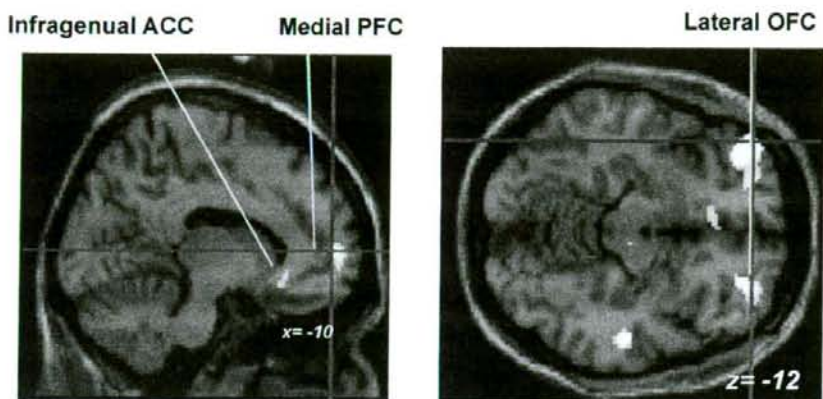
*Psychosomatic Medicine* (2008)

70suppl:A60.

H. 知的財産権の出願・登録情報

現時点では、知的財産権の出願・登録は行っていない。

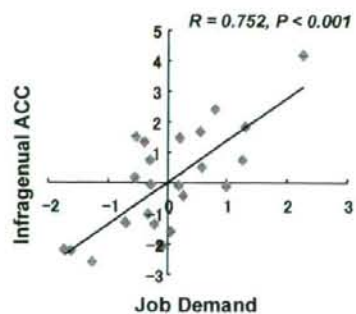
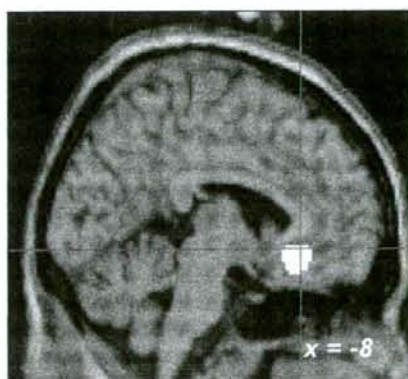
High Strain (Distension-Base) > Low Strain (Distension-Base)



$T \geq 3.50$ ,  $k = 20$  voxels  
 $p < 0.001$  (uncorrected)

图1

Job Demand (+)  $\propto$  rCBF活性化 (Distension > Base)



$T \geq 3.50$ ,  $k = 20$  voxels  
 $p < 0.001$  (uncorrected)

图2

Job Strain (+)  $\propto$  脳灰白質体積 (- )



$T \geq 2.50$ ,  $k = 20$  voxels  
 $p < 0.01$  (uncorrected)

図3

## ヒスタミン神経系の脳機能画像

分担研究者：谷内一彦 東北大学大学院医学系研究科機能薬理学 教授  
研究協力者：岡村 信行 東北大学大学院医学系研究科機能薬理学 講師  
岩田 練 東北大学サイクロトン RI センター 教授

### 研究要旨

ヒスタミン H1 受容体は、覚醒・日内リズム、情動、攻撃性、痛みの受容、けいれんなど多くの神経機能に関与している。このような観点から、ヒスタミン神経系はうつ病、神経症、心身症などのストレス関連疾患に関係している可能性が高い。しかし、それを証明するためには、ヒト脳のヒスタミン神経系の状態を正確に測定できなければならない。本研究の目的は、PET（ポジトロン・エミッション・トモグラフィー）を用いたヒト被験者研究の方法論的開発・改善を行うことである。PET 研究には高比放射能の標識リガンドを安定した状態で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 $[^{11}\text{C}]$ -ヨウ化メチル合成法を行った。 $[^{11}\text{C}]\text{O}_2$  をトランプしたあと $[^{11}\text{C}]\text{H}_4$  に還元し、ヨウ素(I<sub>2</sub>)と反応させることにより $[^{11}\text{C}]$ -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 $[^{11}\text{C}]$ ドキセピン自動合成を行うとともに、PET とを用いてヒト脳の H1 受容体を測定した。大腸伸展刺激の有無で選択的 H1 受容体リガンド $[^{11}\text{C}]$ -ドキセピン-H1 受容体結合阻害脳部位（内因性ヒスタミン放出部位）を比較すると、頭頂連合野、海馬、前帯状回、前頭前野などがその変化部位であり、変化量が内臓知覚に有意に相関した。PET を用いたヒト被験者研究の方法論的開発・改善を行い、ストレスにヒスタミン神経系が関係しているデータを得て、研究第2年度の方向性を見出せたと考えている。

### A. 目的

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。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 H1 受容体ノックアウトマウスの研究から、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

症などのストレス関連疾患に関係していると思われる。しかし、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は、ヒトの脳のヒスタミン神経系の状態を正確に測定できなければならない。

本研究の目的は、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・改善ならびに主任研究者への方法論的支援を行うことである。

## B. 方法

### 1) ガス相法による $[^{11}\text{C}]$ ヨウ化メチル合成

PET 研究には高比放射能の標識リガンドを安定して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  $[^{11}\text{C}]$ -ヨウ化メチル合成法を行った。 $[^{11}\text{C}]\text{O}_2$  をトトラップしたあと  $[^{11}\text{C}]\text{H}_4$  に還元し、ヨウ素 ( $\text{I}_2$ ) と反応させることにより  $^{11}\text{C}$ -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した。

### 2) PET によるヒト脳の H1 受容体画像化

成人において PET と  $[^{11}\text{C}]$ ドキシセピンを用いて H1 受容体を測定した。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データを前提とし、5-15mCi の  $[^{11}\text{C}]$ ドキシセピンを静脈内に one-shot で投与し、90 分間脳の放

射能を PET カメラで測定した。下行結腸に挿入したバルーンに刺激装置で大腸拡張刺激を加えた。サイクロトロンで合成した選択的ヒスタミン H1 受容体拮抗薬  $[^{11}\text{C}]$ ドキシセピンを静注し、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。各刺激後に 0-10 段階の感覚スケールで内臓知覚と情動を計測した。

## C. 結果

### 1) ガス相法による $[^{11}\text{C}]$ 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  $[^{11}\text{C}]$ ドキシセピンを合成した。比放射能は供給時点 (EOS) にて 2000  $\mu\text{Ci}/\text{nmol}$  以上であり、連続して高比放射能のリガンドを合成かつ供給している。Lithium aluminum hydride in THF を毎回調整する必要がないために、準備は簡略化され、1日2回標識合成することを可能とした。

### 2) PET を用いたヒト脳の H1 受容体画像化

大腸伸展刺激がない条件から大腸伸展刺激がある条件を比較し、有意に選択的 H1 受容体結合が阻害された部位を求めた結果、頭頂連合野、海馬、前帯状回、前頭前野が抽出された ( $p < 0.01$ , SPM)。その変化は内臓知覚に有意に相関した ( $r=0.92$ ,  $p < 0.005$ )。即ち、内因性 histamine 放出部位は H1 受容体結合量の変化は内臓感覚の変化量と関連していた。

#### D. 考察

ヒト脳のH1受容体画像化によりH1受容体が認知あるいは行動の男女差や摂食障害、アルツハイマー病などの病態に関係していることが示唆されている。これらの神経伝達は、多くの神経伝達物質を介することが知られているが、ヒスタミン神経系に関する検討は必ずしも多くない。

刺激がない条件から刺激がある条件を比較し、有意に選択的H1受容体結合が阻害された部位を求めるリガンドアクチベーション法は、生体下での局所脳の神経伝達を測定する方法として優れている。PETの結果からは、頭頂連合野と辺縁系で内因性ヒスタミンが遊離することが示された。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。

今後、健常者とストレス関連疾患などの病的状態を比較し、基礎値の変化だけでなく、リガンドアクチベーション量を動的に比較することも可能である。その量に差異があることが判明すれば、本方法から、ヒスタミン神経系の機能が様々な病態や個体差に関係していることを実証できると考えられる。

以上、PETを用いたヒト被験者研究の方法論的開発・改善を行い、ストレス関連疾患にヒスタミン神経系が関係しているデータを得て、本研究全体を支援する方向性が見出せたと考えている。

#### E. 結論

今年は2年目ということでPETを用いたヒト被験者研究のさらなる方法論的開発・改善を行った。

#### 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。

## 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

### 研究要旨

摂食障害(eating disorder: ED)、過敏性腸症候群(irritable bowel syndrome: IBS)、不安障害、うつ病性障害などのストレス関連疾患は、女性に多く発症することが知られている。これらのストレス関連疾患においては、認知柔軟性の低下が発病前から共通していると考えられる。そこで、認知柔軟性を左右する脳機能モジュールとその性差を明らかにすることにより、ストレス関連疾患の病態生理を更に明らかにできると考える。本研究では、認知柔軟性の神経処理過程は前頭前野を中心になされ、その過程には性差がある、という仮説を検証する。

対象は、健康な男女各 30 名である。認知柔軟性を、代表的な神経心理学的課題である Wisconsin Card Sorting Test (WCST)にて評価する。その最中に functional magnetic resonance imaging (fMRI)で脳機能イメージングを行う。statistical parametric mapping (SPM5)の画像解析ソフトを用い、課題に関連して活動する脳部位を明らかにするとともに、性差のある部位を明らかにする。また、WAIS-R、EAT-26、FFPQ、TAS-20、POMS、エゴグラム、Rome-II Modular Questionnaireを実施し、心理特性、性格特性、脳画像との性差の関係を分析する。さらに、賦活脳領域間の connectivityを探索し、神経基盤における性差を追及する。

conjunction analysisにおいて正解が切り替わる set shift時に男女共通して最も活性化していた領域は、背外側前頭前野と線条体であった。WCST成績の性差はなかった。また、心理検査、WAIS-R 下位尺度、verbal comprehension、perceptual organization、working memory、social cognition 4つのカテゴリー分類においても性差はなかった。しかし、working memoryと画像 dataとの重回帰分析において、working memory 得点が高い人ほど男性では、左 cuneus、女性では、左前帯状回が活性化していた。

認知柔軟性の神経処理過程に前頭前野が活性化する仮説が支持されたが、線条体も関与していた。認知柔軟性の成績には性差はないが、その過程に性差がある、という仮説は支持された。set shiftの処理過程においては、working memoryを駆動するのに、男性が頭頂連合野、女性が辺縁系を、それぞれ、より用いていることが示唆された。

### A. 研究目的

Wisconsin Card Sorting Testは、

予期せぬ変化に直面した時の、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いわれている(Milner B, et al. Arch Neurol 1963)。女性に多く発症することが知られている摂食障害 (eating disorder: ED)、過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome: IBS)、不安障害、うつ病性障害などのストレス関連疾患は、発病前から共通してみられる認知柔軟性の低下があり、罹患以前の脳機能モジュールを明らかにすることにより、ストレス関連疾患の病態生理を更に明らかにできると考える。本研究では、認知柔軟性の神経処理過程に性差があり、特に女性は、男性と比較し辺縁系の影響が強いという仮説を検証する。

## B. 研究方法

### (1) 対象

対象は、精神的疾患既往のない健常男性 30 名女性 30 名である。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、同意を得た。

### (2) 心理検査

WAIS-R、EAT-26、FFPQ、TAS-20、POMS、エゴグラム、Rome-II MQ を実施し、心理特性、性格特性を調査した。

### (3) WCST

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。

### (4) fMRI

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。

### (5) 統計分析

fMRI 解析は SPM5、統計解析には SPSS15.0J、Mann-Whitney U-test を用いた。

## C. 研究結果

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の有意差はなかった。知能検査 WAIS-R 下位積度、verbal comprehension, perceptual organization, working memory

(WM), social cognition の 4 つのカテゴリー分類において有意差はなかった(Fig.1.)。WM と画像 data との Multiple Regression Analysis において、WM 得点が高い人ほど男性では、左 cuneus、女性では、左 cingulate が activate していた (Fig.2.)。conjunction analysis において set shift 時に男女共に最も activate していた area は、dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC)、striatum であった (Fig.3.)。

## D. 考察

executive function に含まれる set shift の際 WM は、短時間情報を維持し必要に応じて注意を分配しながら新しい情報と照らし合わせる役割を持ち、適切な判断をする上で最も重要である。WAIS-R で把握した WM 得点と fMRI での脳賦活部位が男女異なっていたことは、神経回路に性差があることを示唆しているのかも知れない。先行文献では、prefrontal の WM

作用に dopamine D<sub>1</sub> レセプターの関与 (Goldman R et al., 2000)、striatum での WM と executive function の D<sub>2</sub> レセプターの関与を報告している (Volkow et al., 1998; Reeves et al., 2005; Kellendonk C et al., 2006)。dopamin の脳内作用には、estrogen が深く関与し、活性度合に影響を与えるとの報告がある (Markus et al., 2006)。

今後は、conjunction analysis で確認された両群の賦活部位が、executive function circuit に関与していることが確認されたことから、connectivity に関する性差について dynamic causal modeling の手法を用いてさらに分析を進めていく予定である。

#### E. 結論

WCST の成績に性差はなかったが、Set Shift の際に必要な WM の神経処理過程には性差の可能性が示唆された。

#### F. 参考文献

1) Kellendonk, C., Simpson, E. H., Polan, H.G., Malleret, G., Vronskaya, S., Winiger, V., Moore, H., Kandel, E.R. (2006) Transient and selective overexpression of dopamine D2 receptors in the striatum causes persistent abnormalities in prefrontal cortex functioning. *Neuron* 49, 603-615.

2) Goldman, R., Mully III, E., Williams, G.. (2000) D<sub>1</sub>

receptors in prefrontal cells and circuits. *Brain Res Rev* 31, 295-301.

3) Milner, B. (1963) Effects of different brain lesions on card sorting. *Arch Neurol* 9, 90-100.

4) Reeves, S.J., Grasby, P.R., Howard, R.J., Bantick, R.A., Asselin, M.C., Mehta, M.A. (2005) A positron emission tomography (PET) investigation of the role of striatal dopamine (D2) receptor availability in spatial cognition. *NeuroImage* 28, 216-226.

5) Volkow, N.D., Gur, R.C., Wang, G.J., Fowler, J.S., Moberg, P.J., Ding, Y.S., Hitzemann, R., Smith, G., Logan, J. (1998) Association between decline in brain dopamine activity with age and cognitive and motor impairment in healthy individuals. *Am J Psychiat* 155, 344-349.

#### F. 健康危険情報

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. The Wechsler Adult Intelligence-Revised( WAIS-R)

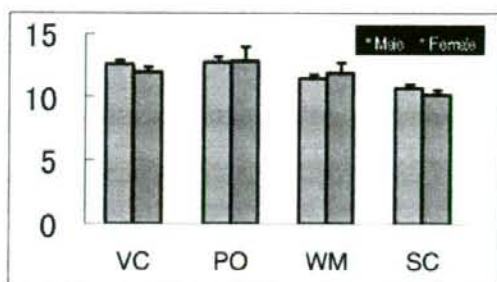
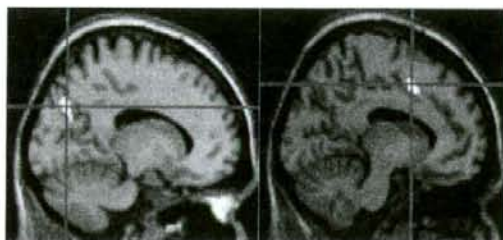
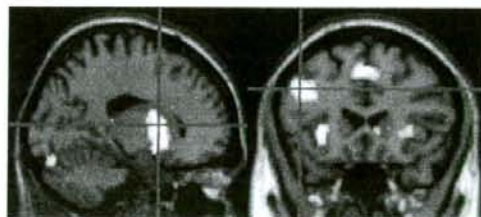


Fig.2. Multiple Regression Analysis of Working Memory Test



Cuneus [-16, 8, 8] Cingulate [-10, 8, 46]  
(uncorrected,  $p < 0.001$ , 10 voxels)

Fig.3. The Conjunction Analysis during Set Shifting



## ポジトロン断層法(PET)を用いたヒトにおける ヒスタミン神経機能測定のための定量法確立

分担研究者：田代 学 東北大学サイクロトロン・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 東北大学病院心療内科  
内海 厚 東北大学病院心療内科  
谷内一彦 東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野

### 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H<sub>1</sub>受容体(H<sub>1</sub>R)密度を持ち、かつ中枢H<sub>1</sub>R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。その目的のために、放射性リガンドである[<sup>11</sup>C]ドキセピンおよびポジトロン断層法(PET)を用いてヒト脳におけるヒスタミン神経機能評価のための定量法を確立することが要求されていた。従来、定量計算のためには動脈からの連続採血データが必要と考えられているが、我々の検討の結果、採血をせずに脳内ヒスタミンH<sub>1</sub>受容体(H<sub>1</sub>R)密度を信頼性高く推定する解析法が適用できることを確認した。

### A. 研究目的

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。中枢ヒスタミン作動性神経の機能をヒト脳で観察するためには、ポジトロン断層法(PET)を用いることが理想的な方法論と思われる。一方、そのための定量法を確立することが要求される。我々はこれまで、ヒスタミン

H<sub>1</sub>受容体のリガンドである[<sup>11</sup>C]ドキセピンを用いて、ヒト脳における機能評価を進めてきた。ヒスタミン受容体の分子イメージング研究において、PETを用いて生体内でリガンドと結合しているH<sub>1</sub>受容体量を定量することは重要な研究テーマである。

現在までにもいくつかの定量法が紹介されている。コンパートメントモデルに基づいた解析は、トレーサーの分布(K<sub>1</sub>, k<sub>2</sub>)やトレーサーの受容体

結合 ( $k_3$ ,  $k_4$ , BP) に関する速度定数を推定するのに理想的な方法と考えられる。しかし、計算に長時間を要することが多いため、常に適当とは限らず、Logan 法などのグラフィック解析法が用いられることも少なくない。これまでに報告されているヒスタミン H1 受容体の PET 研究では、グラフィック解析法が多用されている。いずれにしても、その両者の計算法において、連続採血データが必要である。一方、ヒスタミン神経は痛み刺激によっても強く賦活してしまう可能性があり、できる限り被検者への侵襲を軽減して測定を行いたい背景がある。

本研究では、上記の背景を踏まえた上で、無採血で患者および健常人における脳内ヒスタミン H1 受容体密度を定量する方法の確立を目的とした。

## B. 方法

5 人の健常者 (21~27 歳) において撮影されたデータを解析に使用した。脳組織における平均化された tissue time activity curve (tTAC) を抽出するために、前頭皮質、側頭皮質、後頭皮質、頭頂皮質、帯状皮質、視床、尾状核、被核、中脳、小脳に Region of interest (ROI) を設定した。PET データから得られた tTAC から、数学的解析モデルに基づいて BP の推定を行った。

本研究は東北大学医学部倫理委員会の承認を得た上で実行され、全ての被検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。

解析においては、血液時間放射能曲線を入力関数とする Logan 法 (Logan graphical analysis: LGA) および参照領域である小脳の時間放射能曲線を入力関数とする Logan 法 (Logan graphical analysis with reference: LGAR) を用いて binding potential (BP) の値を求めて比較した。またコンパートメントモデルについても検討した。

## C. 結果

LGA および LGAR の二つの計算法で求めた BP の値を比較した。その結果、脳内各部位における BP の値は両者で大きく変化しないことが示され、しかも LGAR の計算結果は LGA の計算結果とよく相関することが示された。結果、LGAR によって計算された値も信頼性が高いことが示された。また、コンパートメントモデルの検討においては、2 コンパートメントモデルのほうが 3 コンパートメントモデルよりも生体内の薬物動態を忠実に表現できていることが示された。

## D. 考察

本研究プロジェクトでは、PET による性差の検討とあわせて、神経性食欲不振症 (AN) におけるヒスタミン作動性神経系機能の関連を調べることを目標としていた。性差については、動物実験による報告は散見されるが、ヒスタミンは同じほ乳類でも種差が大きく、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。一方、正確な定量には動脈採血データが必要と一般的には考えられているが、被検者への侵襲を避けることができ、かつ信頼性高く測定できる方法の確立が期待されていた。その意味において、今回の LGAR 法の適用可能性が確認されたことで、患者検査時の採血が省略でき、本研究プロジェクト推進上は非常に有意義であったといえる。本研究プロジェクトでは、 $[^{11}\text{C}]$ ドキシペリンを用いた PET 研究に初めて本格的に LGAR 法を取り入れて測定を実施し、①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、②神経性食欲不振症患者では健常女性よりも BP が亢進していることを世界で初めて示すことに成功した。その結果、評価の高い国際雑誌 *Biological Psychiatry* に論文を掲載することができた。

#### E. 結論

一般的には、PET データの定量計算のためには動脈からの連続採血データが必要と考えられているが、我々の検討の結果、無採血定量計算法である LGAR を適用して脳内ヒスタミン H1 受容体密度を信頼性高く推定できることが確認された。また、同方法を用いて健常人における性差と AN 患者における脳内ヒスタミン H1 受容体密度の測定に成功した。

#### 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. 研究発表 (論文発表)

1. Yoshizawa M, Tashiro M, Fukudo S, Yanai K, Utsumi A, Kano M, Karahasi M, Endo Y, Morisita J, Sato Y, Adachi M, Itoh M, Hongo M. Increased brain histamine H1 receptor binding in patients with anorexia nervosa. *Biol Psychiatry* 2009; 65: 329-35.
2. 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. *Hum Psychopharmacol* 2008; 23: 139-50.
3. 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  $[^{11}\text{C}]$ doxepin. *Br J Clin Pharmacol* 2008; 65: 811-21.
4. 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* 2008; 65: 472-9.

5. 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. *Cogn Affect Behav Neurosci* 2008; 8: 126-31.

6. Tashiro M, Itoh M, Fujimoto T, Masud MM, Watanuki S, Yanai K. Application of positron emission tomography to neuroimaging in sports sciences. *Methods* 2008; 45: 300-6.

## セロトニントランスポーター遺伝子多型と 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

セロトニンは長期に渡る気分や痛みの知覚に関与する神経伝達物質である。セロトニントランスポーター転写調節領域(5-HTTLPR)遺伝子多型は、不安感受性や抑うつ、過敏性腸症候群に関連する。特に、恐怖刺激に対する脳の賦活部位が5-HTTLPR多型依存的に異なるとされている。われわれは、内臓刺激下の脳の活性もまた5-HTTLPR遺伝子多型に関連することを見出した(Fukudo S et al. Gastroenterology 132: A83, 2007)が、刺激部位が複数箇所であった。本研究ではより純化した内臓刺激に対する脳の反応が5-HTTLPRの多型によって差異があるという仮説を検証した。対象は器質的疾患のない成人39名である。被験者には内容を十分に説明し、文書による同意を得た。末梢血10mlからDNAを抽出、PCR法で標的部位を増幅し、電気泳動で多型分析を行い、s/s型17例、l/s型17例、l/l型5例を分離した。パロスタット法を用いて直腸に0 mmHgもしくは40 mmHgの圧刺激を加え、その時の脳活動の変化をPET (Positron Emission Tomography)によって測定した。結果、直腸伸展刺激により、統計学的に有意にs/s型>l/s型を示した脳賦活部位として、右後部帯状回(Brodmann's area: BA31)、左前帯状回(BA32)、左一次体性感覚野(BA3)、右体性感覚連合野BA5、左運動前野(BA6)が描出された。s/s型>l/l型を示した脳賦活部位は、右後部帯状回(BA31)、左体性感覚連合野(BA5)、右運動前野(BA6)、左運動前野(BA6)、小脳扁桃であった。結論として、内臓刺激が加わった時、陰性情動の処理、あるいは身体感覚に関与する脳領域が活性化するが、5-HTTLPR遺伝子多型のs/s型ではその程度が大きいことが示唆された。この差異が、内臓刺激や恐怖刺激に対する反応性個体差の源流の一つである可能性がある。

### 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ニ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たんぱくであり、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 のたんぱく発現量と機能に關与する。具体的には、セロトニ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。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。

一方、過敏性腸症候群 (以下 IBS) は、腹痛と便秘異常を主体とする症状が持続する、機能的消化管障害である。心理社会的な負荷がかかることによって症状の増悪が見られることから、ストレス関連疾患に分類され、脳腸相関に異常があることが指摘されている。

また、最近の研究では、脳活動と遺伝子型の相関を調べるものも多く発表されている。われわれは、内臓刺激下の脳の活性もまた 5-HTTLPR 遺伝子多型に關連することを見出した (Fukudo S et al. Gastroenterology 132: A83, 2007) が、刺激部位が複数箇所であった。

そこで本研究では、刺激部位を直腸のみとし、より純化した内臓刺激を加えたとき、5-HTTLPR が脳の賦活パターンに影響を及ぼすという仮説を立て、これを検証した。

## B. 研究方法

### (1) 対象

対象はボランティア 39 名で、男性 28 人、女性 11 人、平均年齢は  $22.7 \pm 2.8$  歳であった。39 名の中には IBS 患者が 10 名含まれた。IBS は、ROME II 診断基準によって診断された。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。実験は東北大学倫理委員会の承認を受けて行われた。

### (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注射器で、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  $\mu$ l で作る PCR の反応溶液は、0.2  $\mu$ M の F 側、R 側それぞれのプライマー、1.5 mM の MgSO<sub>4</sub>、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 (インビトロジェン社) で構成されている。PCR の温度条件は、95 $^{\circ}$  C 2 分の変性の後、95 $^{\circ}$  C 30 秒、60 $^{\circ}$  C 30 秒 (annealing)、68 $^{\circ}$  C 1 分を 35 サイクル行い、最後の伸張を 68 $^{\circ}$  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、1 アリルか s アリルかが分析された。各多型の分布は s/s 型 17 例、l/s 型 17 例、l/l 型 5 例であった。

### (3) バロスタット検査

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。このバロスタット法を用いたディステーションのプロトコルを示す。まず被験者の直腸にバロスタットバッグを挿入し、ベースラインを測定する。その後、0、20、40 mmHg の刺激をランダムに加える。その時の脳活動の変化は、PET (Positron Emission Tomography) によって測定した。今回の実験では、40 mmHg の刺激によって誘発された刺激部位を、多型ごとに比較、分析した。

### (4) 統計分析

PET 画像は SPM2 によって分析された。また、有意に賦活した脳領域は Talairach coordinates を用いて特定された。

### C. 研究結果

0 $\rightarrow$ 40mmHg 内臓刺激時に有意に賦活の起きた領域を多型別に比較した。S/S > L/S : 右中心後回 (Brodmann's area (BA)5,  $z=3.54$ )、左前帯状回 (BA32,  $z=3.45$ )、左中心前回 (BA6,  $z=3.44$ )、中心後回 (BA3,  $z=3.41$ )、右後帯状回 (BA31,  $z=3.36$ )。S/S < L/S : 右下側頭回 (BA20,  $z=4.12$ )、左上頭頂小葉 (BA7,  $z=3.96$ )、左下頭頂小葉 (BA40,  $z=3.52$ )、小脳後葉 ( $z=3.42$ )。S/S > L/L : 右後帯状回 (BA31,  $z=4.26$ )、左中心後回 (BA5,  $z=3.43$ )、左中前頭回 (BA6,  $z=3.42$ )、左中心前回 (BA6,  $z=3.40$ )、右中心前回 (BA6,  $z=3.33$ )、小脳扁桃 ( $z=3.57$ )。L/S > L/L : 中心前回 (BA6,  $z=3.49$ )、中前頭回 (BA6,  $z=3.26$ )。S/S > L/S、S/S > L/L に共通していた領域は、右後帯状回、中心前回であった。

### D. 考察

今回の研究の結果、s/s 群が l allele をもつ群よりも強い後帯状回の賦活を示した。また、s/s と l/s との比較において、s/s 型は前帯状回の賦活がより強く見られた。前帯状回は認知や情動のプロセスに関連していると言われている。また後帯状回は、記憶や空間認識に関連している領域であり、とくに負の情動を記憶するプロセスとの関連があるといわれている。

5-HTTLPR 遺伝子多型において、s allele は l allele に比べて低い転写活性やセロトニン再取り込み率であることが報告されている。セロトニンは縫線核から放出されて、脳の様々な部位へ投射されているため、セロトニンを regulate している遺伝子の間で脳賦活パターンの違いを発見することは合理的である。またそれにより、s/s 型において体内により多く放出されているセロトニンが内臓刺激に応じて前・後帯状回の賦活を引き起こしている可能性があると思われる。

#### E. 結論

内臓刺激を加えることで、体性感覚の認知や負の情動の処理に関与するとされる脳領域の活動に 5-HTTLPR 遺伝子多型による差異が認められた。この差異が脳内セロトニン神経活動の差異を介し、負の情動が引き起こされた時の痛み刺激や恐怖刺激に対する個体差を生む事が示唆された。

#### F. 健康危険情報

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。

## 過敏性腸症候群患者のアウトカム評価に影響する

### 心身医学的要因の検討

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：篠崎雅江 東北大学大学院医学系研究科行動医学分野  
相模泰宏 東北大学病院心療内科・助教  
庄司知隆 東北大学病院心療内科・助教  
遠藤由香 東北大学病院心療内科・助教  
本郷道夫 東北大学病院総合診療部・教授  
福土 審 東北大学大学院医学系研究科行動医学分野・教授

#### 研究要旨

目的：治療満足度 (Satisfactory Relief: SR) は、過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome: IBS) をはじめ多くの疾患に関する臨床研究の primary outcome 評価として用いられている。しかし、どのような要因が IBS 患者の治療アウトカムに影響されるかについては詳細に検討されていない。我々は、IBS 患者の SR は治療前の症状重症度、医師患者関係、心理的因子によって影響されるという仮説を検証した。

方法：IBS あるいは機能的消化管障害と診断された患者 60 例（女性 56%、平均年齢 45 才）を対象とした。調査開始時に、IBS Severity Index (IBSSI) によって症状重症度を、Brief Symptom Index 18 (BSI-18) によって精神症状を、主治医からの症状に対する保証度（それぞれ 0-100 点）を評価した。IBSSI スコアによって、軽症 (<175)、中等症 (175-300)、重症 (300<) に分類した。さらに、調査 6 ヶ月後に IBSSI、BSI-18、SR、全般改善度を評価した。最近 7 日間の腹部症状が「満身に改善した」かまたは「症状がなかった」例を SR の、7 段階スコアの「非常によくなった」かまたは「幾分かよくなった」例を全般改善の、responder と判定した。

結果：6 ヶ月後に SR を認めた患者は、25 例 (42%) であった。調査開始時に症状が重症であった例では、最も重症度スコアの改善が大きかった（軽症  $-31 \pm 17$  点、中等症  $71 \pm 21$  点、重症  $117 \pm 24$  点）にも関わらず、最も SR が認められにくかった（軽症 55%、中等症 42%、重症 25%）。保証度が 50 点未満の