

realignment, coregistration, segmentation, normalize, smoothing) をおこなった。機能画像撮像時の被験者の体動によるアーチファクトの除去、補正も実施した。その後、個人レベルおよび集団レベルの解析を行った。

個人レベルの解析では、各被験者において、Go 条件、Nogo 条件の成功時に対応する脳活動を特定した。各反応に応じた脳活動の特定のために、血流反応動態関数 (hemodynamic response function: HRF) を利用した。その後、個人レベルの解析結果をもとに、集団レベルの解析を実施した。

睡眠負債の影響を調べるために、睡眠充足条件 (Control 条件)、睡眠負債条件 (SD) で同様の課題を行い、行動データおよび脳活動データの比較を行った。

C(2). 結果

C(2).1 行動データ

Control 条件における参加者 14 名の Go 条件平均成功試行数は 156.6 試行、平均反応時間は 313.61ms (± 38.75 ms) であった。一方 Nogo 条件における平均成功試行数は 26.2 試行、コミッションエラー試行数は 13.8 試行であった。すなわち、平均コミッションエラー率は 0.35 であった。また、コミッションエラー時の平均反応時間は 288.32ms (± 44.34 ms) ms であった。

SD 条件時の Go 条件-平均成功試行数は 158.9 試行、平均反応時間は 330.07ms (± 29.01 ms) であった。一方 Nogo 条件における平均成功試行数は 27.7 試行、コミッションエラー試行数は 12.3 試行であった。すなわち、平均コミッションエラー率は 0.30 であった。また、コミッションエラー時の平均反応時間は 302.12ms (± 27.18 ms) ms であった。

睡眠負債が Go/Nogo 課題の実行に及ぼす影響を検討するために、睡眠条件 (Control・SD)

を要因とする、コミッションエラー反応率に対する 1 要因分散分析を実施した。この結果、Control 群と SD 条件の間に有意な違いは見られなかった ($F(1, 13)=.88$ $p=.36$ *n.s.*)。 (図 8 参照)

一方、平均反応時間に対して、睡眠条件 (Control・SD) と試行条件 (GoNogo) を要因とした 2 要因分散分析を実施したところ、睡眠条件 ($F(1, 13)=5.13$ $p<.05$)、試行条件 ($F=31.61$ $p<.0001$) とともに主効果が認められた。下位検定の結果、SD 条件における反応時間は Control 条件よりも長く、また Go 条件の反応時間は Nogo 条件の反応時間 (コミッションエラー時) よりも長かった。 (図 9 参照)

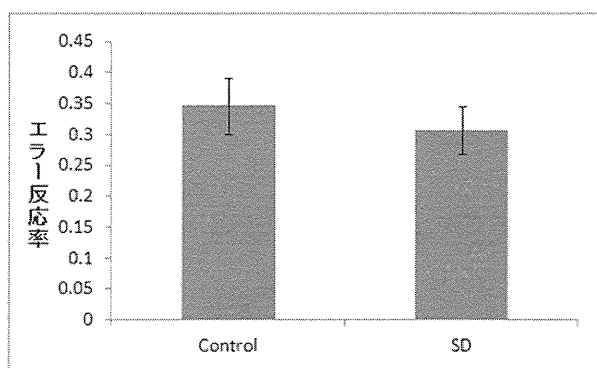


図8 睡眠条件ごとのコミッションエラー率

注: 図中のバーは標準誤差を示す

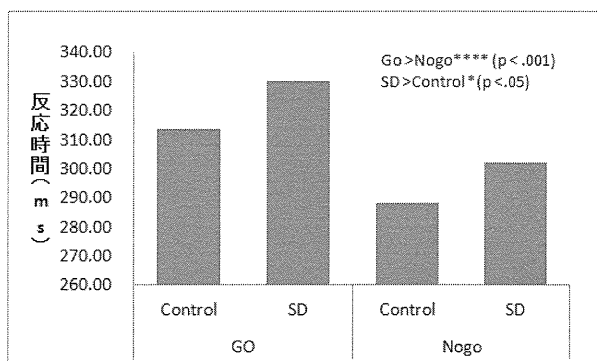


図9 睡眠条件・試行条件ごとの平均反応時間

C(2).2 脳機能画像データ

—反応抑制に関与する部位—

(Go 条件 Nogo 条件成功時の脳活動)

反応抑制に関与する脳活動として、Control・SD 条件に共通して Go 条件、Nogo 条件の成功試行に対応する脳活動を特定した。Go 条件では、左運動野周辺領域、右小脳といったボタン反応の表出に関わる脳部位と同時に、帯状回前部、右中前頭回など運動制御に関わる脳部位の活動が特定された。

一方、Nogo 条件の成功時には、両側前頭弁蓋部/前部島皮質、両側補足運動野、前部帯状皮質の活動が観察された。先行研究では、これらの部位が文脈に応じた反応の選択と遂行のために重要な役割を担っていることが示されており、本研究の結果も一致性の高いものであったと言えるだろう。

Go 条件 Nogo 条件ともに活動が特定された脳活動は、昨年度の研究でも特定されたものであり、課題の妥当性・頑健性は確認された。

—睡眠条件による Go 条件時の脳活動の違い—

睡眠負債が反応制御に及ぼす影響を検討するために、Go 条件・Nogo 条件時における睡眠条件の違いを確認した。

まず、Go 条件時における Control 条件時と SD 条件時の違いを検討したところ、Control 時の方が大きな活動が見られた領域はなかった。一方、SD 条件では、Control 条件よりも右上部/下部頭頂葉、右下頭頂葉領域の活動が増大していた ($p < .001$, $k > 10$, *uncorrected*)。

(表 1: 参照)

—睡眠条件による Nogo 条件時の脳活動の違い—

つぎに Nogo 条件時における Control 条件時と SD 条件時の違いを検討した。図 10 に示す

通り、Control 時よりも SD 時に両側前頭弁蓋部/前部島皮質、両側補足運動野、前部帯状皮質が広範囲にわたる強い活動がみられた。これらの領域はすべて、Nogo 条件時に反応を適切に抑制することに関与が認められた領域である。

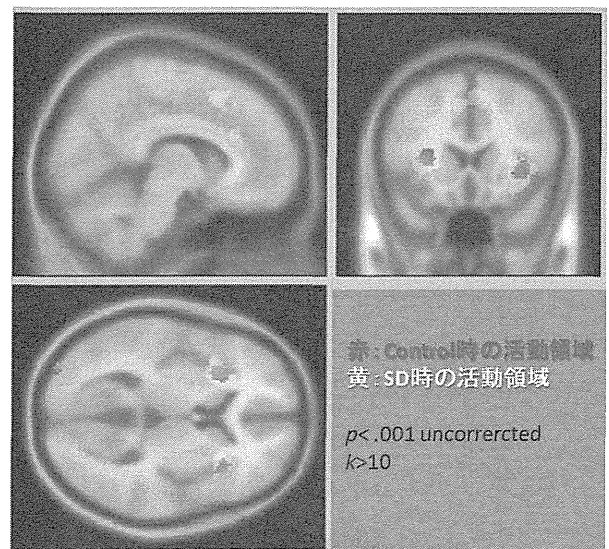


図 10 Nogo 条件時の Control 条件と SD 条件の活動領域の比較 (x=8, y=17, z=6)

D(2). 考察

本年度は、不眠症患者にみられる慢性的な睡眠負債が認知処理の制御や流暢性に及ぼす影響を検討するために、彼らのモデルとなる睡眠統制条件下の健常者を対象に、Go/Nogo 課題を実施した。

本研究において、睡眠負債時 (SD 条件) では、充足時 (Control 条件) に比べて、課題で要求された反応までに要する時間が延長するが、エラー反応率は増加しなかった。加えて、この際の脳機能画像に注目すると、SD 条件では、Control 条件よりも、Go 試行・Nogo 試行ともに正反応の表出に関わる脳活動が大きいたことが明らかになった (表 1・図 10)。

本研究で得られた結果を総合すると、睡眠負債時に、睡眠充足時と同様のパフォーマンス

表 1: GO 条件時に SD 条件で Control 条件よりも活動が増大した部位

Region of activation	L/R	BA	Number of voxels in cluster	z	MNI		
					x	y	z
Superior/inferior parietal lobule	R	7/40	110	3.91	50	-60	52
Inferior frontal gyrus	R	47	20	3.42	46	46	-6
Putamen	R	-	22	3.39	22	18	-8
Pallidum	L	2	11	3.37	-16	2	-2

($p < .001$, $k > 10$, uncorrected)

スをおさめるためには、注意・反応制御といった処理に必要となる認知的資源がより多く求められ、当該処理に関わる脳領域の活動増大がこの過程を支えている、と理解できる。

Nogo 条件（反応の抑制を要する時）で観察された睡眠負債時の右外側下前頭前野、帯状回前部/内側前頭皮質、両側島皮質の活動増大に注目すると以下のような考察が可能であろう。右外側下前頭前野は、能動的な注意の切り替えへの関与が認められている。同様の課題を実施した先行研究 (Chuah et al., 2006) では、Nogo 反応の成功とその活動量に関連が認められる部位である。昨年度に本研究班が実施した実験では、この部位の個人の活動量と Nogo 試行成功率に正の相関が認められた。すなわち、この部位は課題遂行に必要となる注意のコントロールを担い、反応するべき Go 刺激への反応表出、および、反応を必要としない Nogo 刺激に対する反応を抑制することに必要であると考えられる (Chuah et al., 2006)。

前部帯状回/内側前頭皮質は、自身の反応のモニタリング(それぞれの刺激に対してすべき反応ができていないか)を支え、反応時の葛藤の検出や、表出する反応を調整する役割も担っていると指摘されている。本研究で使用した課題では、ほとんどの試行が Go 試行なので、反応の実施がデフォルトになり、Nogo 試行ではこのデフォルト反応を抑制することが求められる。このため、反応をしたいけれども抑えなければいけない、という葛藤が生じる。この葛藤を検出し、反応抑制を実現するといった一連の過程が、睡眠負債時にはより負荷の高いものになっている、ということができよう。

島皮質については様々な議論が考えられるが、前部帯状回と同時に活動し、身体の緊張状態を高めることによって、検出された葛藤にもとづき、反応の抑制を可能にしている、と理解することが出来る。ある程度の緊張状態は認知処理に促進的な効果を及ぼすことが指摘されており、このような背景的な役割を果たしているとも考えられる。

ここでもう一度、行動データに立ちかえると、脳機能画像データには睡眠負債時・充足時で顕著な差があるにもかかわらず、エラー反応率の上昇は認められない。その代わりに、反応時間の遅延が生じている。脳活動の増大および反応時間の遅延は、睡眠負債によって低下した認知的処理の流暢性に対する補償作用であることが示唆される。

本実験の参加者は、比較的若く(平均 24 歳)実際に不眠症を罹患する患者群の年齢よりも若いことに注意するべきであろう。若年者は高齢者に比べて、自身の認知処理の特性を俯瞰的に捉えるメタ認知能力・モニタリング能力に優れており、睡眠負債によって生じた認知処理の流暢性の低下を鋭敏に察知していたと仮定できる。しかし、恒常的にメタ認知能力の低下が見られる高齢者や、精神疾患の罹患患者では、自身の処理の流暢性低下への気付きも悪いことが予測できる。このような特性を持つ個人が不眠症状に陥った場合は、メタ認知による補償作用が機能せず、認知処理の不具合がそのまま行動として表出される可能性が考えられる。注意の制御をより強く求められる場面においては、この傾向がさらに顕著に見られるであろう。具体的な事象として、運転、料理や仕事といった

複数の処理の同時遂行が求められる場面における誤操作や誤反応が想定できる。このような機能低下は、結果として彼らの日常生活の質(QOL)を著しく低下させることに直結するだろう。今後このような若年以外の対象者に同様の実験を行った上で、その機能不全を描出できるかも知れない。

上記を踏まえ、今後検討すべき課題としては以下のようなものがあげられる。①より高齢の健常者を対象とした睡眠負債条件下における課題の実施、検討、②メタ認知能力の高低が、睡眠負債時のパフォーマンス維持あるいはエラーの増加に及ぼす影響の検討、③実際に不眠症を罹患している患者を対象とした課題の実施、検討、④睡眠負債への脆弱性を規定する要因の解明、⑤より難易度が高く(並行課題など)日常生活場面を模した課題を用いた検討。このうち、③については今年度、予備的な調査の実施に着手しているが、来年度はより重点を置く必要がある。また、②および④、⑤についても、不眠症、あるいは睡眠負債への脆弱性が高い個人におけるQOL上昇の糸口を見出すために、次年度以降、推進の必要性が高いと考えている。

E(2). 結語

本研究では、反応抑制およびこの機能を支える脳活動に睡眠が及ぼす影響を明らかにするために、課題のパフォーマンスが、健常者における睡眠負債によってどのような影響を受けるかを検討した。この結果、睡眠負債時に、睡眠充足時と同様のパフォーマンスをおさめるためには、注意・反応制御といった処理に必要となる認知的資源がより多く求められ、当該処理に関わる脳領域の活動増大がこの過程を支えている、と考えられた。本実験の参加者は、比較的若く、メタ認知能力の低下が想定されないために、このような補償作用が観察されたと考えられる。しかし、実際に不眠

症を罹患する患者群の年齢がより高齢であること、また日常生活ではより複雑な認知処理が想定されることから補償作用が機能しない事態が想定される。

上記を踏まえ、今後以下の課題についての研究、検討の実施を推進していく必要がある。①より高齢の健常者を対象とした睡眠負債条件下における課題の実施、検討、②メタ認知能力の高低が、睡眠負債時のパフォーマンス維持あるいはエラーの増加に及ぼす影響の検討、③実際に不眠症を罹患している患者を対象とした課題の実施、検討、④睡眠負債への脆弱性を規定する要因の解明、⑤より難易度が高く(並行課題など)日常生活場面を模した課題を用いた検討。これらの研究成果は睡眠負債によって生じ得る反応抑制への影響を精緻に理解し、症例への助言や治療プログラムの開発のために有用なものになるであろう。

引用文献

- Breimhorst, M., M. Falkenstein, et al. (2008). "The relationship between poor sleep and inhibitory functions indicated by event-related potentials." Exp Brain Res 187(4): 631-9.
- Chuah, Y. M., V. Venkatraman, et al. (2006). "The neural basis of interindividual variability in inhibitory efficiency after sleep deprivation." J Neurosci 26(27): 7156-62.
- Hester, R., C. Fassbender, et al. (2004). "Individual differences in error processing: a review and reanalysis of three event-related fMRI studies using the GO/NOGO task." Cereb Cortex 14(9): 986-94.
- Jones, K. and Y. Harrison (2001). "Frontal lobe function, sleep loss and fragmented sleep." Sleep Med Rev 5(6): 463-475.

Menon, V., N. E. Adleman, et al. (2001).
"Error-related brain activation during a
Go/NoGo response inhibition task." Hum
Brain Mapp 12(3): 131-43.

Muzur, A., E. F. Pace-Schott, et al. (2002).
"The prefrontal cortex in sleep." Trends
Cogn Sci 6(11): 475-481.

Simmonds, D. J., Pekar, J. J. et al. (2008).
"Meta-analysis of Go/No-go tasks
demonstrating that fMRI activation
associated with response inhibition is
task-dependent." Neuropsychologia 46(1):
224-32.

研究課題 3

慢性不眠症における情動刺激の観察時の脳活動の測定

A(3). 目的

近年行われたいくつかの大規模調査によって、成人の約4分の1が自らの睡眠に不満を持っており、10-15%が不眠による日中の不調(機能障害)を訴えていることが示されている。さらに一般人口の6-10%が慢性不眠症の臨床的な診断基準に当てはまることが示されている[1]。不眠症は罹患率が高く、抑うつ、精神運動機能低下、易疲労性など種々の精神身体症状を惹起するため、公衆衛生学上も看過できない Common disease の一つとして注目されている。不眠はうつ病をはじめとして多くの精神疾患にも付随してみられる症状の一つであり、うつ病患者に対して不眠治療を行うと不眠とともにうつ症状も軽減することが示されていることから[2, 3]不眠と情動機能の間には強い結びつきがあることが予想される。

逆に慢性化した不眠はうつ病のリスクファクターとなることが指摘されている。一般住民7,954名を対象に行った Ford らによる調査研究によれば、調査開始時点と1年後の追跡調査時の両方で不眠を有していた群(持続不眠群)では良眠群に比較してうつ病への罹患リスクが40倍ほども高かった[4]。日本人を対象とした大規模調査においても、十分な睡眠がとれていないと感じている人ほどうつ病の発症リスクが高いことが報告されている。これらの結果はうつ病の前駆症状としての不眠によるものではないかと疑われたが、Breslau, らの3.5年という長期のコホート調査において、2週間にわたる不眠があった場合、うつ病リスクが約4倍、不安障害リスクが約2倍となることが示された[5]ことから、不眠そのものが情動機能障害の発症リスクを高める要因となる可能性が示唆されている。また不眠はうつ病だけではなく、不安障害のリスクファクターでもあるこ

とから、不眠は情動機能全般へ強い悪影響を与えることが予想される。

不眠症が情動制御へ及ぼす影響の検証も行われている。Kales らの研究[6]において、不眠症患者124名に対してMMPIを用いてパーソナリティを調査した研究では、もっとも高いスコアは抑うつ、精神衰弱、転換ヒステリーであった。ここから不眠症患者は内面型の問題を抱えているといえる。この発見に基づき、Kales らは不眠の内面型葛藤モデルを提唱した[7]。このモデルによると、内面的な葛藤が、高いレベルの情動的覚醒を起こし、生理的過覚醒、個人の不眠特性と関連するという。さらにKoffel と Watson の研究[8]において、不眠と抑うつ、不安などの情動機能障害との関連に関わる興味深い研究結果が示されている。この研究においては、349名の健常若年者、213名の高齢者、213名の患者を対象に、不眠における夜間の問題(入眠潜時の延長、睡眠維持の困難)と日中の問題(疲労感、眠気)のそれぞれについて、抑うつ、不安との関連を調査した。その結果、日中・夜間の両方の問題が不安、抑うつ、PTSD、社会恐怖症などと関連していたが、不安、抑うつとより強く関連していたのは日中の問題の方であった。さらに、日中の問題は、PANAS によって調査したネガティブな情動反応性の高さ、ポジティブな情動反応性の低さと関連した。したがって、不眠の日中症状がより強くうつ病リスク増大と関連していることが示唆された。

これらの知見を踏まえると、慢性不眠症の日中の情動機能低下メカニズムについて詳細に検討する必要があると考えられるが、慢性不眠症での情動機能に関わる脳機能画像研究は非常に少なく、その詳細は明らかになっていない。そこで本研究では、前年度までに作成した表情呈示課題を用いて、不眠症患者における情動機能について検討することを目的とする。

B(3). 1 被験者

国立精神・神経医療研究センター病院睡眠外来を受診し、Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, (DSM-IV)の原発性不眠症 primary insomnia と診断された患者 13 名、さらに age-gender matched の健常者 13 名をリクルートした。

B(3). 2 実験プロトコル

不眠症患者: 病院外来において実験の内容を説明し、書面での同意を取得した。担当医師の管理下での 3 日間の休薬後、MRI 実験を実施した。MRI 実験実施前の 3 日間はアクチグラフの装着により睡眠覚醒スケジュールを確認した。

健常者: 不眠症患者の実験が終了後、リクルートを開始した。13 名それぞれの不眠症患者と同じ性別で、年齢が±5 歳の範囲にあるものを対象とした。MRI 実験の一週間前に一度来所し、実験の説明、同書面での同意を得た。その際 Web 上で質問紙に回答して頂くことによって睡眠障害がないことを確認した。不眠症: ピッツバーグ睡眠質問票 (PSQI), アテネ不眠尺度 (AIS)、過眠症: エプワース眠気尺度 (ESS), 睡眠時無呼吸: stop-bang、睡眠時随伴症: IRLS、睡眠時行動障害: ミュンヘンパラソムニアスクリーニング (MUPS), レム睡眠行動障害スクリーニング尺度 (RBDSQ) その後一週間、アクチグラフによる睡眠覚醒スケジュールの調査と、在宅初夜にはパルスオキシメータを用いた睡眠時無呼吸、睡眠脈拍の検査を在宅で実施した。

健常被験者の除外基準は以下に該当する者であった: 不眠症、過眠症、睡眠時無呼吸、睡眠時随伴症、睡眠時行動障害、概日リズム睡眠障害のいずれかの睡眠障害に罹患している者、重篤な身体合併症に罹患している者、研究の結果に影響を及ぼす治療薬もしくは物質 (睡眠薬、抗ヒスタミン薬などの眠気のでる薬剤、ステロイド剤等) を摂取している者、精神疾患に罹患

している者、心臓ペースメーカーなど、体内に金属製の埋め込み物がある者、色覚異常を含めた眼疾患が認められる者、交代勤務に従事している者、試験開始前 3 か月以内に 6 時間以上の時差のある海外へ旅行した者。

B(3). 3 質問紙

眠気、気分を測る質問紙として、以下を MRI 撮像直前に実施した。Stanford Sleep Scale (SSS)、State Trait Anxiety Inventory (STAI-S)、Profile of Mood States (POMS)、Positive and Negative Affect Schedule (PANAS)

B(3). 4 MRI 課題

fMRI の課題として、以下の様な表情呈示課題を作成した。画像刺激は標準化された 2 つの画像セット ([9, 10]) から、男性 8 名、女性 8 名の人物の画像について、楕円形のマスクで髪と背景を隠した刺激を作成、Fear, Happy, Neutral の 3 つの情動カテゴリの画像を準備した。よって各人物に各 3 情動ずつ、計 48 枚の表情画像を用いた。注視点を 1000ms 呈示した後、Fear, Happy, Neutral のいずれかの表情を 200ms 提示した。画像呈示は 8 トライアルを 1 ブロックとし、画像への注意を促し、また課題中の居眠りを防ぐため、1 ブロック中に 1 回ランダムにターゲット刺激を呈示してボタン押し反応を行わせた。顔呈示のブロック終了後には Rest のブロックを挟み、Rest のブロックでは注視点画像を 15s 呈示した。3 つの情動カテゴリ (Fear, Happy, Neutral) のそれぞれ 2 ブロックずつ、6 ブロックを 1 セッションとし、1~2 分の休憩をはさんで 2 セッションを行った。セッション間では各ブロックの順番はカウンターバランスされた。各セッション終了後、口頭で眠気の調査を行なった。被験者はマイクを通して、0 = 全く眠くなかった 1 = 少し眠かった 2 = 眠かった 3 = とても眠かった 4 = 寝てしまった の五段階で回答した。

B(3).5 データの解析と処理

Behavioral data analysis

質問紙スコア、PSG データの統計解析には SC, SD 条件間に対応のある t 検定(両側検定)を用いた。すべての被験者間解析にはピアソンの積率相関係数の算出による相関解析を行った。統計解析ソフトには SPSS PASW statistics 18 を用いた。

B(3).6 fMRI データの取得・解析:

MR 画像の撮像には Siemens 社の 3T MRI Verio を使用した。まず、解析用リファレンス画像取得のために、構造画像 (T1 強調 MPRAGE) TR/TE=1900ms/2.52ms, voxel size=1mm×1mm×1mm, flip angle 9°, Field of View=256mm×192mm, を撮像した。

課題遂行中の機能画像は、Single shot echo-planar imaging (EPI) を使用した [TR/TE=2500ms/25ms, 30axial slices, voxel size=6mm×6mm×4mm, 1mm inter slice gap, flip angle 90°, matrix size=64×64, Field of View=384mm×384mm]。1セッションにつき、137 スキャンを撮像し、最初の 5 スキャンは検定に加えなかった

解析には SPM8 (Wellcome Department of Imaging Neuroscience

<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm8/>) を用いた。各機能画像に体動補正、スライスタイミング補正、MPRAGE 構造画像への

コレジストレーション、Montreal Neurological Institute template を用いた空間的標準化、8mm FWHM Gaussian Kernel を用いたスムージングを行った。各被験者の 3D の BOLD 信号を含む時系列データは、First-level Fixed model effect による一般線形モデル (GLM) を用いて解析された。血流動態関数として、SPM に装備されている canonical HRF を用い、各条件での刺激呈示に対応して HRF を畳み込み積分し、セッションの時系列で、各条件に対応すると仮定される血流動態モデルを作成

した。3つの情動カテゴリ (Happy, Fear と Neutral) に対応する時系列の血流モデルと、6つの体動に関わる変数の時系列データはリグレッサとしてデザインマトリクスに組み込まれた。実際の BOLD 信号を GLM によって voxel by voxel に解析し、各レグレッサに対応するベータ値を算出した。

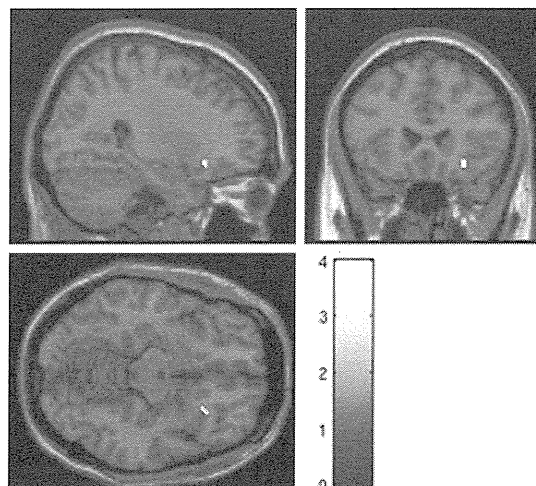
被験者間検定は、random-effect model により、検定された。各ボクセルにおいて、興味のある条件間で β の値を paired-test で検定し、t 値が算出された。

C(3). 結果

不眠症患者の情動機能について検討するために、各条件における情動関連領域の脳活動を健常者と比較した。

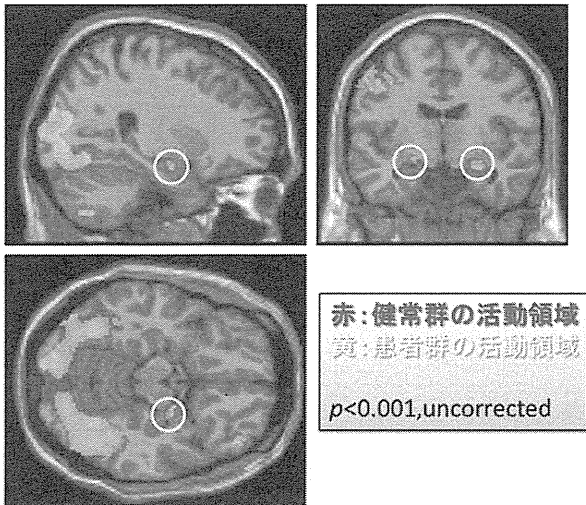
まず Fear 表情呈示時における健常群と患者群の違いを検討したところ、健常群において右島皮質で有意に大きな活動 ($p < .001$, uncorrected) がみられた。さらに t 検定の結果では、有意水準 ($p < .001$) に達しなかったが、下図に示す通り、患者群のみで両側扁桃体の有意な活動がみられた。これらの領域は過去の研究において恐怖表情呈示の情動処理を担う領域として報告されている [11]。

右島皮質 Fear 健常群 > 患者群



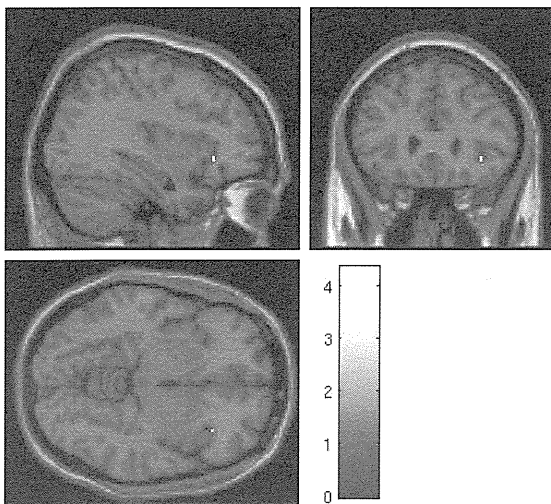
$p < .001$, uncorrected

両側扁桃体の活動



次に Happy 表情呈示時における健常群と患者群の比較を行ったところ、右島皮質において、患者群に比較して健常群で大きな活動が見られた。一方、患者群では、健常群よりも大きな活動を示す情動関連の部位はなかった。

右島皮質 Happy 健常群 > 患者群



$p < .001$, uncorrected

Neutral 表情呈示時には視覚野、視床、上丘など視覚処理に関する領域と、被殻、左島皮質において、患者群でより大きな活動 ($p < .001$, uncorrected) がみられた。

D-E(3). 考察および結語

本研究において、恐怖表情呈示時の情動処理において、患者群は扁桃体、健常群では右島皮

質と、大きく活動している部位が異なることが明らかになった。さらに幸せな表情に対する反応は健常群でより高く、ポジティブな情動刺激にたいする情動反応が不眠症患者において低下していることが示唆された。

扁桃体はネガティブな情動の発現に重要な役割を担っていると考えられており、情動に関連した身体反応（発汗、逃避、心拍数の増加など）を引き起こす[12, 13, 14]。また扁桃体は恐怖表情を呈示した際に賦活することが多くの研究で示されている[15, 16]。恐怖表情呈示時の扁桃体の反応性はうつ病患者や不安障害患者で高く、扁桃体はうつ病や不安障害などの精神疾患の神経基盤としても重要な役割を担っている可能性が指摘されている[17, 18]。先に述べたとおり、不眠はうつ病や不安障害のリスクファクターとなることが示されている。今回の結果は不眠が情動機能障害を誘発するメカニズムとして情動刺激に対する扁桃体反応の関与を示すものである。扁桃体に偏重した情動処理は精神状態に悪影響を与えるのかもしれない。

一方、右島皮質も情動処理に関連する部位といわれており、過去の脳機能画像研究によって、島皮質は痛みの体験や喜怒哀楽や不快感、恐怖などの基礎的な感情の体験に重要な役割を持つことが示されている[19]。島皮質は、その身体表象と主観的な感情の体験における役割が近年注目されている部位であり、アントニオ・ダマシオらは、この領域が、意識的な感情を生み出す情動の体験に関連する、直感的な状態をマップする役割を持つと述べており[20]、情動の発現というよりはむしろ情動状態のより主観的な認知に関わる部位であるといえる。先行研究においても安静時脳活動における扁桃体と島皮質の機能的結合の変容[21]が報告されていることから、これらの知見は扁桃体と島皮質の機能的変化が不眠症患者における情動機能障害に関連している事を示唆している。不眠症患者群においてネガティブ刺激とポジティ

ブ刺激のどちらに対しても島皮質の反応性が低下し、ネガティブ刺激においては扁桃体の活動が高まっていたことから、扁桃体活動と連動する身体的な情動反応性は高まっているにもかかわらず、情動を主観的に体験する能力が低下していることが、うつ病などの発症リスクを上げる要因となっているのかもしれない。

研究課題 4

慢性不眠症における安静時脳活動の測定

A(4). 目的

不眠症の病態生理学においては、不眠症患者は生理心理的に過剰な覚醒状態にあるという ‘hyperarousal’ theory [22, 23, 24]が、その病因や持続における心理的、生理学的要因の相互作用を説明するものとして注目されてきた。この文脈における覚醒とは、身体、認知、皮質の覚醒を指す。不眠は急性のストレスによる睡眠の質の低下と、それに対する不適切な行動反応（長くベッドにいる、アルコールの摂取、不眠への心配など）によって習慣化する、ということが言われてきた[25]。

急性の感情的なストレスは不眠を誘発するが、その脆弱性の根幹には中枢神経系における過覚醒にあることが実験的研究によって明らかにされている。同じストレスを与えられた時に、少しの変化しか示さない群と、大きな反応を示しすぐに眠れなくなる群があるのである。Bonnet らの研究[26]では、第一夜効果における不眠がみられた群とみられなかった群の比較が行われた。両群で気分、性格特性、他の demographical なデータに差異は認められなかった。しかし、不眠群において、ベースラインの心拍数、副交感神経活動の低下、睡眠相前進時の交感神経活動の増加などが認められた。カフェインを飲んだ時にも同様の過覚醒が認められた。過去の多くの研究では、不眠症患者を含む不眠群において、心拍数の増加、心拍変動における交感神経活動の増加、副交感神経活動の低下[27, 28, 29]、コルチゾール分泌の増加[30, 31, 32, 33, 34]、メラトニンの減少[35, 36]、ノルアドレナリンの増加[37]、脳内グルコース代謝[38, 39]の増加、EEG 速波で計測されるような皮質の過覚醒[40, 41, 42, 43, 44, 45]等、様々な生理心理的な過活動を支持する知見が報告されている。

その中でも皮質の覚醒は古典的条件づけ、高

いレベルの感覚、情報処理過程、長期記憶を引き起こすと仮定されている[46]。この現象は睡眠維持の困難と睡眠状態の誤認とも直接的にかかわっていると考えられる。特に、入眠時や睡眠中の感覚処理の高まりは環境刺激に対する睡眠維持の脆弱性として表れ、睡眠開始や睡眠の維持を妨げていると考えられる。一方情報処理プロセスの敏感化は睡眠状態と覚醒状態の区別を歪ませ、PSG 上の睡眠を覚醒と判断してしまう睡眠状態誤認と関わっていると考えられる。PSG の視認による睡眠判定では不眠症患者と健常者の睡眠構造に差がないとされてしまうことが少なくない。しかし、多くの研究で睡眠中の速波活動が増大している[41, 42, 43, 44, 45]ことが示されており、現状の PSG 判定の基準では不眠症患者の睡眠時過覚醒をとらえるには感度が不十分ではないかとの指摘もある[46]。

Cervena らの研究では、EEG 計測による β パワーの増加が認められたが、認知行動療法による治療によって減少したことが報告されており[40]、皮質の覚醒と不眠の病態との関連を示唆している。他の ERP 計測を用いた研究においては、覚醒時、入眠時、睡眠中において高い皮質の覚醒が認められた[47, 48, 49]。この知見は不眠症患者が 24 時間覚醒状態にあるという仮説[50]を支持するものであった。これらの知見によって示された不眠症患者における皮質の過覚醒は不眠症に多く散見される、認知的過覚醒と関わっていると推察される。入眠しようとする時、または昨晚の睡眠を思い返すとき、睡眠に関連した高いレベルの認知的な活動が起こる。不眠症患者において、入眠時における認知活動はしばしば眠りにつくのを妨げる侵入的な思考として体験される。それらは心配な、ネガティブな思考として報告される[51]が、実際にベッドタイムにおけるネガティブな思考は睡眠潜時の長さに関連することが示されている[52]。不眠における入眠時の思考は典型的に問題解決、睡眠についての思考、睡眠不足の、

3つの結末に分けられることが示されている[53]。

Carney[54]によれば、侵入思考は反芻(rumination)と心配(worry)の二つの要素を持っており、そのうち反芻は不快な気分と関連し、心配は不安や将来のストレスと関連する。不眠症患者を考えると、症状に関する反芻が良眠者より高い傾向にある。一方心配に関しての知見は少ない。

有力な不眠の病因として、自律神経系、大脳皮質、認知的、情動的な過覚醒がある。Perlisら[22]はトップダウンのアプローチ、つまりEEG速波で計測されるような皮質の過覚醒によって、不眠が引き起こされると考えている。これは認知的過覚醒として主観的に経験されることで、結果として自律神経系の過覚醒を引き起こす。またEspie[55]によれば、情動的な機能不全が認知的、自律神経系の過覚醒を介在しているという。さらにRieman[56]らは、不眠の病因にはボトムアップのプロセスも関与すると予想している。遺伝的に決定された睡眠覚醒の制御不全が、睡眠の不調のみならず、認知的、情動的過覚醒を引き起こしているのかもしれない。注目すべきは、トップダウンの仮説とボトムアップの仮説は矛盾しないということである。例えば、一時的な不眠は多くの人々が体験することであるが、遺伝的に生理心理的な過覚醒が持続しやすい個人においては、それが慢性不眠症に発展する可能性が高くなると考えられる。しかし不眠の病因の因果関係について最終的な結論が出ていないのが現状である。さらにこれらの心理的活動と神経生理学的なレベルの因果は不明であり、神経活動と主観申告の関連を見た研究が必要であるが、不眠症患者を対象としたfMRI研究は非常に少なく、その詳細な神経科学的基盤については明らかにされていない。

このような背景から、本研究では脳血流の絶対量を計測できるとされるArterial spin labeling(ASL)と、各脳領域の機能的接続を検

討するResting state functional connectivity(RSFC)という2つのMRI撮像法を用い、不眠症患者の安静時脳活動について検討した。

B(4).1 被験者

対象は原発性不眠症患者13名と、性別、年齢を揃えた対照健常者13名であった。

B(4).2 実験プロトコル

不眠症患者:病院外来において実験の内容を説明し、書面での同意を取得した。担当医師の管理のもとでの3日間の休薬後、MRI実験を実施した。MRI実験実施前の3日間はアクチグラフの装着により睡眠覚醒スケジュールを確認した。

健常者:不眠症患者の実験が終了後、リクルートを開始した。13名それぞれの不眠症患者と同じ性別で、年齢が±5歳の範囲にあるものを対象とした。MRI実験の一週間前に一度来所し、実験の説明、同書面での同意を得た。その際Web上で質問紙に回答して頂くことによって睡眠障害がないことを確認した。(不眠症:PSQI AIS、過眠症:ESS、睡眠時無呼吸:stop-bang、睡眠時随伴症:IRLS、睡眠時行動障害:MUPS RBDSQ)その後一週間、アクチグラフによる睡眠覚醒スケジュールの調査と、在宅初夜にはパルスオキシメータを用いた睡眠時無呼吸、睡眠脈拍の検査を在宅で実施した。

健常被験者の除外基準は以下に該当する者であった:不眠症、過眠症、睡眠時無呼吸、睡眠時随伴症、睡眠時行動障害、概日リズム睡眠障害のいずれかの睡眠障害に罹患している者、重篤な身体合併症に罹患している者、研究の結果に影響を及ぼす治療薬もしくは物質(睡眠薬、抗ヒスタミン薬などの眠気のでる薬剤、ステロイド剤等)を摂取している者、精神疾患に罹患している者、心臓ペースメーカーなど、体内に金属製の埋め込み物がある者、色覚異常を含め

た眼疾患が認められる者、交代勤務に従事している者、試験開始前3か月以内に6時間以上の時差のある海外へ旅行した者。

B(4). 3 質問紙

眠気、気分を測る質問紙として、以下を MRI 撮像直前に実施した。Stanford Sleep Scale (SSS)、State Trait Anxiety Inventory (STAI-S)、Profile of Mood States (POMS)、Positive and Negative Affect Schedule (PANAS)

B(4). 4 データの解析と処理

Behavioral data analysis

質問紙スコア、PSG データの統計解析には SC, SD 条件間に対応のある t 検定(両側検定)を用いた。すべての被験者間解析にはピアソンの積率相関係数の算出による相関解析を行った。統計解析ソフトには SPSS PASW statistics 18 を用いた。

B(4). 5 MRI 撮像

Arterial spin labeling (ASL)

MR 画像の撮像には Siemens 社の 3T MRI Verio を使用した。まず、解析用リファレンス画像取得のために、構造画像 (T1 強調 MPRAGE) TR/TE=1900ms/2.52ms, voxel size=1mm×1mm×1mm, flip angle 9°, Field of View=256mm×192mm, を撮像した。

全脳の灌流画像は continuous ASL と background suppression で準備される a stack of spiral fast-spin-echo-acquired images を用いて、量的に計測された。(repetition time: 2.8 s; echo spacing: 13 ms; postlabeling delay: 1.5 s; labeling duration: 0.5 s; 30 phase-encoded 8-mm-thick slices;; total scan time:4min 13s; units: ml/100g/min).

皮質の血流 (CBF) を定量化するために、タグをつけられなかった画像とタグを付けられた画

像の差を、以下の式によって算出した。

$$\Delta M = M0B * f * T11 - M0B(1 - 2\exp[-\frac{T12}{T1B}] * q) * f * T11$$

ΔM : コントロール画像-タグ画像

f : 局所脳血流量

T11 : 反転パルスから飽和パルス開始時間

T12 : 反転パルスからデータ収集開始までの時間

T1B : 動脈の T1 値

q : 補正係数

さらに CBF 値を以下のように算出した。

$$\text{relCBF} = f \left[\frac{\Delta M}{M0B} \exp\left(\frac{T12}{T1B}\right) / 2tq \right]$$

t : タグの持続時間

コントロール画像の部分的な飽和は、灰白質に特有の 1.2 s の T1 のために修正された。

解析には SPM8(Wellcome Department of Imaging Neuroscience <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm8/>)を用いた。各機能画像に体動補正、スライスタイミング補正、MPRAGE 構造画像へのコレジストレーション、Montreal Neurological Institute template を用いた空間的標準化、8mm FWHM Gaussian Kernel を用いたスムージングを行った。

B(4). 6 Resting state functional MRI

機能画像の撮像には、Single shot echo-planar imaging (EPI) を使用した [TR/TE=2500ms/25ms, 30 axial slices, voxel size = 6mm×6mm×4mm, 1mm inter slice gap, flip angle 90°, matrix size = 64×64, Field of View = 384mm×384mm]。1セッションにつき、137 スキャンを撮像し、最初の 5 スキャンは検定に加えなかった

解析には SPM8(Wellcome Department of Imaging Neuroscience <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software>

/spm8/)を用いて、ASL 画像と同様の準備処理を実施した。

B(4).7 Functional Connectivity 解析:

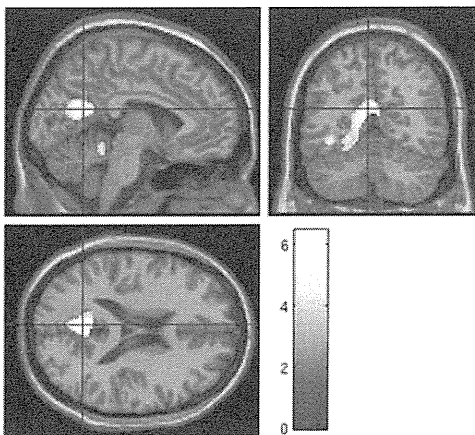
Functional Connectivity の解析は SPM8 のツールボックスの CONN (Alfonso Nieto-Castanon

<http://www.alfnie.com/software/conn>)を用いて行った。機能画像撮像中に seed 領域の BOLD 信号と相関して活動するボクセルを、一般線形モデルを用いて評価した。レグレサとして、体動、bandpass-filter (0.008Hz-0.09Hz)を使用した。最終的に作成されたコネクティビティのコントラストを用いて、second-level 解析を行った。

C(4). 結果

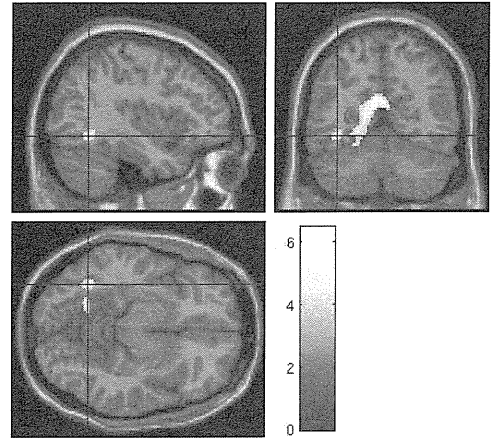
ASL の解析では、後帯状皮質(PCC)をピークとし紡錘状回・小脳を含む広い領域と、視床後部の血流量が患者群で有意に大きかった。

ASL
PCC・紡錘状回・小脳を含むクラスタ
健常群<患者群



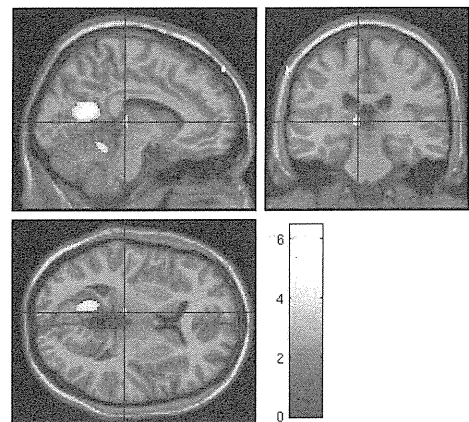
P<0.001, k>10voxel

ASL
紡錘状回
健常群<患者群



P<0.001, k>10voxel

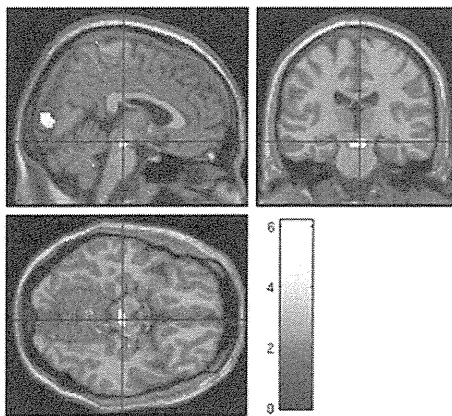
ASL
視床
健常群<患者群



P<0.001, k>10voxel

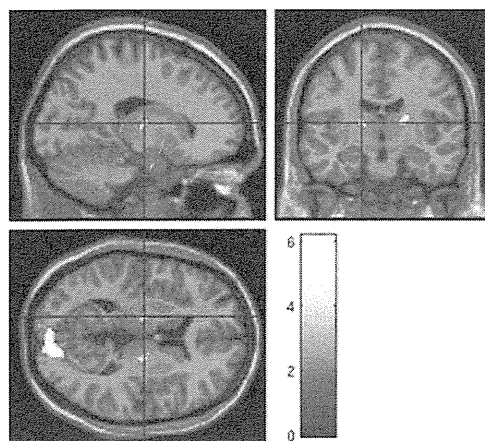
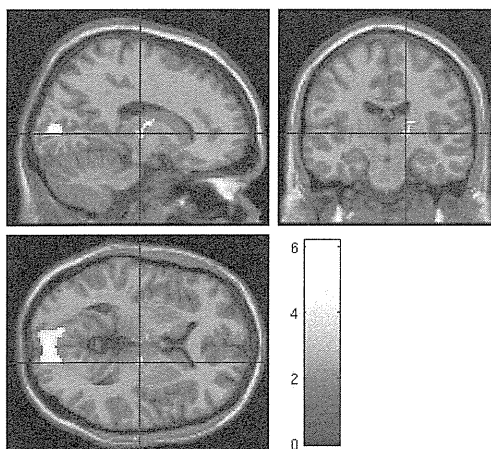
RSFC の解析においては、上述の患者群における脳血流の増加がみられた領域をシード領域とし、全脳との機能的接続の強さを両群で比較した。その結果、PCC を含むクラスタと視床・中脳・視覚野との機能的接続が患者群で有意に大きな値を示した。

RSFC with PCC
中脳
健常群<患者群



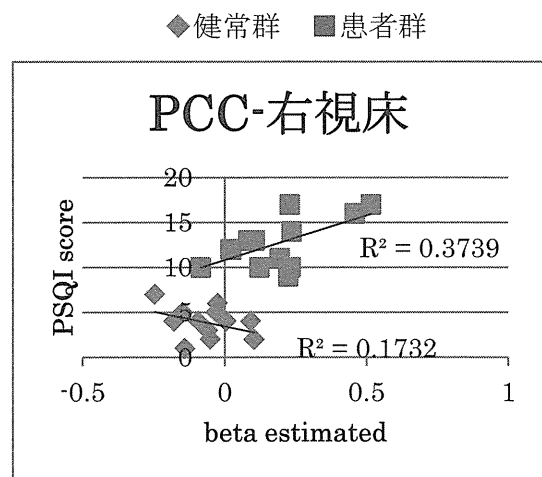
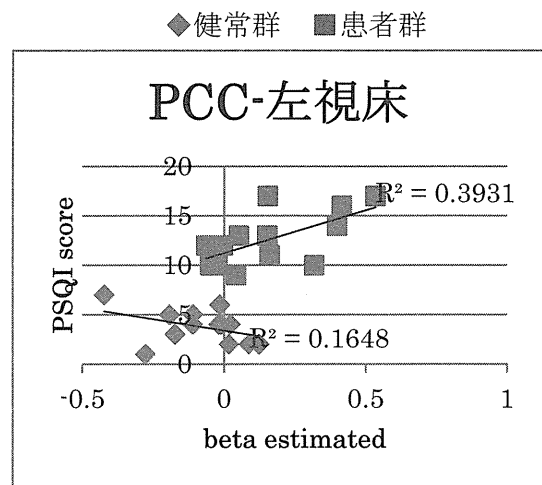
$P < 0.001$, $k > 10$ voxel

RSFC with PCC
左右視床
健常群 < 患者群



$P < 0.001$, $k > 10$ voxel

者群における不眠の重症度 (PSQI) と有意(右視床 $t(26)=3.78$ $p < 0.001$, 左視床 $t(26)=3.94$ $p < 0.001$)に相関した。



D(4). 考察

PCC は外的な注意を必要としないデフォルト状態の脳活動において大きな血流量を示す

さらに PCC と視床の機能的接続の強さは患

部位であり、その中心的な役割を果たす領域であると考えられている[57]。PCCの血流量増加が認められたことから、不眠症患者ではデフォルト状態での過剰な脳活動が起こっていることが示唆された。さらに患者群において大きなPCCとの機能的接続がみられた中脳・視床は、多くの脳領域に興奮性投射を持ち覚醒を促す上行性網様体賦活系と重なり、これらの覚醒促進領域とPCCが強い機能的接続を持つことが不眠症の病態と関連している可能性がある。

PCCの活動量は意識レベルと関連しているといわれており、過去のASL研究でデフォルト時に大きな血流量を示す部位の一つということが明らかにされている[57]。この部位の活動は昏睡患者や最少意識状態にある患者では著しく低下し、意識ははっきりしているが体が動かせない状態にあるlocked-in症候群では健常者と同じレベルの活動があることが示されていることから、意識水準との関連が示唆されている[58, 59]。さらにアルツハイマー症候群の患者[60]、うつ病患者[61]などにおいて健常者より低下していることが示されている。この部位が不眠症患者でより高い活動を示すことが示されたことは、不眠症患者は安静時においても高い意識レベルにあるという、不眠症患者の過覚醒仮説を支持する結果であるといえる。PCCはデフォルトモードネットワーク(DMN)と呼ばれる外的な注意を必要としない状態においてより強く活動する脳内ネットワークの中心となる領域であり、その活動は覚醒、想起、思考、未来の計画などと関連していることが示されている[62]。DMNをノンレム睡眠時に測定した研究では、眠りが深くなるにつれPCCと海馬傍回、MPFCが関わるDMNの機能的結合の低下が起こることが示されている[63]。今回の研究で認められたPCCの過活動は、不眠症患者に頻繁にみられる眠りを妨げる侵入的な思考と関連しているのかもしれない。

さらに本研究においては、PCCと視床、中脳との機能的結合が増加していることが示され

た。中脳、視床は脳の広い部位に興奮性の投射を持つ覚醒促進領域である上行性網様体賦活系の一部を構成している[64]ことから、PCCの過剰な活動は覚醒系との機能的結合の増加によるものと推察される。過去の研究においてPCCと上行性網様体賦活系の関連を示唆した研究は少ないが、鎮静剤(プロポフォル)投与時にPCCと視床、網様体賦活系との機能的結合が低下したという報告がある[65]。

過去のPETを用いた研究においても、不眠症患者では上行性網様体賦活系や視床のグルコース代謝が上昇していることが示されている[38, 66]。本研究において中脳や脳幹の血流量増加は認められなかったが、ASLでは標識して間もない血液を測定することになるため、方法的な問題で脳の下部の血流をとらえられなかった可能性が高い。

さらにPCCと視床の機能的結合の強さは不眠の重症度と相関した。上行性網様体賦活系の経路には複数あり、大脳皮質には視床を経由する経路が存在する[67]。経路としては脳幹→中脳→視床→PCCという道順が考えられ、直接PCCと神経接続を持つ視床における指標がより敏感に反応した可能性がある。この2領域間の機能的結合は、新たな不眠のバイオマーカーとして利用できるかもしれないことが示唆された。

E(4). 結語

本研究では、不眠症患者における過覚醒に関連する指標を探索するため、安静時脳活動を検討した。この結果、不眠症患者においては、PCC、視床の脳血流が有意に増加しており、さらに血流増加部位は覚醒促進領域である上行性網様体賦活系の一部を構成する中脳と視床とのfunctional connectivityが高いことが分かった。安静時脳活動で中心的な役割を果たすPCCと覚醒系の強いつながりが不眠症患者では起こっており、過覚醒の神経基盤の一部を構成していると考えられる。これによって、彼ら

の QOL の著しい低下に直結している可能性は高く、有効な介入が切望される。

上記を踏まえ、今後以下の課題についての研究、検討の実施を推進していく必要がある。①以上の神経活動の変化を起こす要因の検討②結果として生じる脳構造変化の検討③今回の知見を活かした新たな治療介入方法の検討。こうした研究を推進することは、睡眠負債によって生じ得る反応抑制への影響を精緻に理解し、症例への助言や治療プログラムの開発を進めるために有用なものになるであろう。

引用文献

1. Morin CM, Benca R (2012) Chronic insomnia. *Lancet* 379: 1129-1141.
2. Manber R, Edinger JD, Gress JL, San Pedro-Salcedo MG, Kuo TF, et al. (2008) Cognitive behavioral therapy for insomnia enhances depression outcome in patients with comorbid major depressive disorder and insomnia. *Sleep* 31: 489-495.
3. Edinger JD, Olsen MK, Stechuchak KM, Means MK, Lineberger MD, et al. (2009) Cognitive behavioral therapy for patients with primary insomnia or insomnia associated predominantly with mixed psychiatric disorders: a randomized clinical trial. *Sleep* 32: 499-510.
4. Ford DE, Kamerow DB (1989) Epidemiologic study of sleep disturbances and psychiatric disorders. An opportunity for prevention? *JAMA* 262: 1479-1484.
5. Breslau N, Roth T, Rosenthal L, Andreski P (1996) Sleep disturbance and psychiatric disorders: a longitudinal epidemiological study of young adults. *Biol Psychiatry* 39: 411-418.
6. Kales A, Caldwell AB, Preston TA, Healey S, Kales JD (1976) Personality patterns in insomnia. Theoretical implications. *Arch Gen Psychiatry* 33: 1128-1124.
7. Kales A, Caldwell AB, Soldatos CR, Bixler EO, Kales JD (1983) Biopsychobehavioral correlates of insomnia. II. Pattern specificity and consistency with the Minnesota Multiphasic Personality Inventory. *Psychosom Med* 45: 341-356.
8. Koffel E, Watson D (2009) The two-factor structure of sleep complaints and its relation to depression and anxiety. *J Abnorm Psychol* 118: 183-194.
9. Ogawa T, Oda M, Yoshikawa S, Akamatsu S (1997) Evaluation of Facial Expressions Differing in Face Angles : Constructing a Database of Facial Expressions. The Institute of Electronics, Information and Communication Engineers, technical report, HIP, *Human Information Processing* 97: 47-52.
10. Ekman P, Friesen WV (1971) Constants across cultures in the face and emotion. *J Pers Soc Psychol* 17: 124-129.
11. Liu X, Hairston J, Schrier M, Fan J (2011) Common and distinct networks underlying reward valence and processing stages: a meta-analysis of functional neuroimaging studies. *Neurosci Biobehav Rev* 35: 1219-1236.
12. Halgren E, Walter RD, Cherlow DG, Crandall PH (1978) Mental phenomena evoked by electrical

- stimulation of the human hippocampal formation and amygdala. *Brain* 101: 83-117.
13. Gloor P, Olivier A, Quesney LF, Andermann F, Horowitz S (1982) The role of the limbic system in experiential phenomena of temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 12: 129-144.
 14. Phelps EA (2006) Emotion and cognition: insights from studies of the human amygdala. *Annu Rev Psychol* 57: 27-53.
 15. Fusar-Poli P, Placentino A, Carletti F, Landi P, Allen P, et al. (2009) Functional atlas of emotional faces processing: a voxel-based meta-analysis of 105 functional magnetic resonance imaging studies. *Journal of Psychiatry & Neuroscience* 34: 418-432.
 16. Fitzgerald DA, Angstadt M, Jelsone LM, Nathan PJ, Phan KL (2006) Beyond threat: amygdala reactivity across multiple expressions of facial affect. *Neuroimage* 30: 1441-1448.
 17. Dannlowski U, Ohrmann P, Bauer J, Kugel H, Baune BT, et al. (2007) Serotonergic genes modulate amygdala activity in major depression. *Genes Brain Behav* 6: 672-676.
 18. McClure EB, Monk CS, Nelson EE, Parrish JM, Adler A, et al. (2007) Abnormal attention modulation of fear circuit function in pediatric generalized anxiety disorder. *Arch Gen Psychiatry* 64: 97-106.
 19. Craig AD (2009) How do you feel--now? The anterior insula and human awareness. *Nat Rev Neurosci* 10: 59-70.
 20. Bechara A, Damasio H, Damasio AR (2000) Emotion, decision making and the orbitofrontal cortex. *Cereb Cortex* 10: 295-307.
 21. Huang Z, Liang P, Jia X, Zhan S, Li N, et al. (2011) Abnormal amygdala connectivity in patients with primary insomnia: Evidence from resting state fMRI. *Eur J Radiol*.
 22. Perlis ML, Giles DE, Mendelson WB, Bootzin RR, Wyatt JK (1997) Psychophysiological insomnia: the behavioural model and a neurocognitive perspective. *J Sleep Res* 6: 179-188.
 23. Riemann D (2010) "Hyperarousal and insomnia: state of the science". *Sleep Med Rev* 14: 17.
 24. Bonnet MH, Arand DL (2010) Hyperarousal and insomnia: state of the science. *Sleep Med Rev* 14: 9-15.
 25. Spielman AJ, Caruso LS, Glovinsky PB (1987) A behavioral perspective on insomnia treatment. *Psychiatr Clin North Am* 10: 541-553.
 26. Bonnet M (2006) Etiology of insomnia. *Sleep Med* 7: 544.

27. Monroe LJ (1967) Psychological and physiological differences between good and poor sleepers. *J Abnorm Psychol* 72: 255-264.
28. Adam K, Tomeny M, Oswald I (1986) Physiological and psychological differences between good and poor sleepers. *J Psychiatr Res* 20: 301-316.
29. Bonnet MH, Arand DL (1998) Heart rate variability in insomniacs and matched normal sleepers. *Psychosom Med* 60: 610-615.
30. Johns MW, Gay TJ, Masterton JP, Bruce DW (1971) Relationship between sleep habits, adrenocortical activity and personality. *Psychosom Med* 33: 499-508.
31. Rodenbeck A, Hajak G (2001) Neuroendocrine dysregulation in primary insomnia. *Rev Neurol (Paris)* 157: S57-61.
32. Rodenbeck A, Huether G, Ruther E, Hajak G (2002) Interactions between evening and nocturnal cortisol secretion and sleep parameters in patients with severe chronic primary insomnia. *Neurosci Lett* 324: 159-163.
33. Riemann D, Klein T, Rodenbeck A, Feige B, Horny A, et al. (2002) Nocturnal cortisol and melatonin secretion in primary insomnia. *Psychiatry Res* 113: 17-27.
34. Vgontzas AN, Bixler EO, Lin HM, Prolo P, Mastorakos G, et al. (2001) Chronic insomnia is associated with nyctohemeral activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 3787-3794.
35. Rodenbeck A, Huether G, Ruther E, Hajak G (1999) Nocturnal melatonin secretion and its modification by treatment in patients with sleep disorders. *Adv Exp Med Biol* 467: 89-93.
36. Haimov I, Laudon M, Zisapel N, Souroujon M, Nof D, et al. (1994) Sleep disorders and melatonin rhythms in elderly people. *BMJ* 309: 167.
37. Irwin M, Clark C, Kennedy B, Christian Gillin J, Ziegler M (2003) Nocturnal catecholamines and immune function in insomniacs, depressed patients, and control subjects. *Brain Behav Immun* 17: 365-372.
38. Nofzinger EA, Buysse DJ, Germain A, Price JC, Miewald JM, et al. (2004) Functional neuroimaging evidence for hyperarousal in insomnia. *Am J Psychiatry* 161: 2126-2128.
39. Nofzinger EA, Nissen C, Germain A, Moul D, Hall M, et al. (2006) Regional cerebral metabolic correlates of WASO during NREM sleep in insomnia. *J Clin Sleep Med*