

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791085

研究課題名(和文) 遺伝子解析と脳機能イメージング解析を統合したADHDにおける脳機能解明

研究課題名(英文) Brain function elucidation which integrated brain function imaging analysis with genetic analysis in the ADHD

研究代表者

長嶋 雅子 (Nagashima, Masako)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：70438662

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ADHDの病態の抑制・注意機能障害の解明と、治療薬の塩酸メチルフェニデート(MPH)とアトモキセチン(ATX)の脳機能学的薬理効果をfNIRSを用いた無作為化二重盲検プラセボ対照試験で検討した。抑制機能課題では、ADHD児の薬服用前、プラセボ(PLA)服薬後は脳活性がなかったが、MPH、ATX服用後は右前頭前野に活性がみられた。注意機能課題では、ADHD児の薬服用前、PLA服薬後に脳活性がなかったが、MPH服用後は右前頭前野のみ、ATX服用後は右前頭前野と右頭頂葉に活性がみられた。右前頭前野の変化はADHDの客観的診断指標に、右頭頂葉の変化はMPHとATXの選択指標となりうる。

研究成果の概要(英文)：ADHD is characterized mainly by dysfunction in inhibition and attention. Methylphenidate (MPH) and Atomoxetine (ATX) have been recommended as a primary medication. We examined the pharmacological effects of MPH and ATX in ADHD children using fNIRS in a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover design during an inhibition and attention task. Firstly, our fNIRS-based measurements visualized both medications modulated hemodynamic responses in the right prefrontal cortex (rPFC) during an inhibition task while pre-medication and a placebo did not in ADHD. Secondly, we visualized MPH modulated hemodynamic responses in rPFC and ATX in rPFC and the right inferior parietal lobe (rIPL) during an attention task while pre-medication and a placebo did not in ADHD. Consequently, our studies reveal that the activation pattern in rIPL could serve as an objective neurobiological marker to differentiate the neuropharmacological effects of ATX and MPH on ADHD regarding attentional control.

研究分野：発達神経学

キーワード：fNIRS ADHD 抑制機能障害 注意機能障害 塩酸メチルフェニデート アトモキセチン

1. 研究開始当初の背景

注意欠陥多動障害(ADHD)は、不注意・多動性・衝動性を特徴とする神経発達障害に分類される脳機能障害である。中心病態は、行動抑制障害と注意障害、報酬系の障害であると考えられているが、脳機能学的病態は明らかになっていない。発症率は3-6%とも言われ高頻度である。表現型分類では、不注意優勢型、多動性・衝動性優勢型、混合型に分けられる。トラブルや自己実現の低下から、進行と共に反抗性挑戦性障害、行為障害やうつへ進展することも多い。近年、メチルフェニデート徐放剤(Methylphenidate;MPH)とアトモキセチン(Atomoxetine;ATX)とADHD治療薬が開発され、社会適応が改善した患者が多いが、より良き治療法の開発、長期予後等に関する問題は残っている。

ADHDは、病態の神経生物学的基盤にモノアミン神経系の機能低下による実行機能障害と報酬系の障害が考えられている。分子遺伝学的病因として、ドパミントランスポーター*DAT1(SLC6A3)*の3'UTRに存在する40bpリピート多型、ドパミン受容体*DRD1-4*、セロトニントランスポーター(serotonin transporter, *SLC6A4*)、ノルエピネフリントランスポーター、シナプス関連蛋白(synaptosomal associated protein, *SNAP-25*)遺伝子等の多型との関連が報告されている。また、染色体の微小欠失/重複(CNV)が検出された例も報告されている。ADHDの病態は複数の遺伝的要因および環境的な要因が関与した多因子遺伝性疾患と考えられ、病因・病態は複雑である。ADHDの病状毎の診断と重症度予測、適切な治療薬の選択、合併症の予防および対応等の治療法開発のためには、遺伝子多型とADHDの表現型および脳機能との関連を総合して解析し、病態をより深く理解することが必要であるが、そのような報告はない。

2. 研究の目的

以上の背景から、小児ADHD患者において、ADHDの脳機能の病態と表現型と病因遺伝子との関連を解析し、診断、予後判定および適切な治療法の選択基準を作ることを目的とした。脳機能イメージング装置に機能的近赤外線分光法(functional near-infrared spectroscopy;fNIRS)を選択した。fNIRSは拘束性が低く、屋内環境で計測が可能である。さらに、対面で認知課題の検査ができる。これらから、fNIRSを用いた脳機能解析、CNV解析による新たな病因遺伝子検索と上記既報告の遺伝子多型解析を行うことを計画し、まずから実施した。

3. 研究の方法

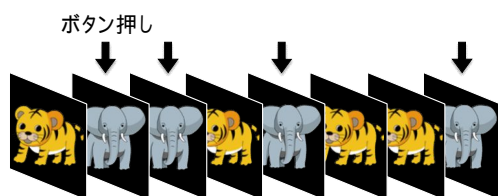
fNIRSを用いた脳機能解析

両親、本人からインフォームドコンセントが得られ、精神障害の診断と統計の手引き第6版修正版からADHDと診断され、知能指数が70以上の右利きである6歳から14歳のADHD児約50名を対象とした。対照群は、ADHD群と統計学的に年齢、性別が一致した50名の定型発達児とした。行動抑制課題(Go/nogo課題)(図1a)または、注意課題(Oddball課題)(図1b)を採用した。一回の計測は6分程度とした。計測にはETG-4000(日立メディコ、東京)を使用した。fNIRSを用いた脳神経細胞活性を反映する指標は、両側前頭葉から頭頂用をカバーする左右22チャンネル(CH)における酸素化ヘモグロビン(oxyHb)の変化を検出した。我々は44CH毎に課題開始10秒前をベースラインとし、ルール表示時の体動によるアーチファクトの影響を極力取り除くために、課題開始4秒後から25秒間のGo/NogoまたはOddballブロックとベースラインブロックのoxyHb平均濃度の差分をStudent's tとBonferroni Methodの多重比較を用いて統計解析を実施した(有意水準は、 $p<0.05$ とした)。ADHD群は、MPHまたはATX服用前、服用1.5時

間後の oxyHb 平均濃度の変化を解析した。さらに、別の日にプラセボ薬を服用した。対照群は薬の服用はせず、解析は1回のみとした。その結果、対照群有意差を示した場所を関心領域(Region of Interest; ROI)とし、ROIのoxyHb平均濃度の差分を、対照群とADHD群の服用前、プラセボ薬服用後、MPHまたはATX服用後で比較した。さらに、ADHD群内において、MPHまたはATX服用前後とプラセボ薬服用前後のROIのoxyHb平均濃度の差分を比較した。

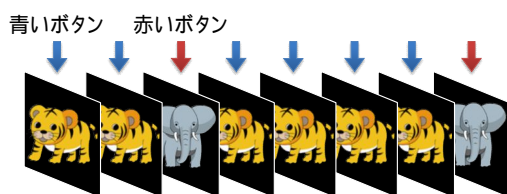
図1 fNIRS 検査中に行う課題

a. 行動抑制課題 (Go/Nogo 課題)



パソコン画面にゾウがでたらボタンを押し、トラがでたら押さないように教示した。課題の最中には、次々にトラかゾウのどちらかが1:1の割合で出現する。この課題では、抑制機能を評価することができる。

b. 注意機能課題 (Oddball 課題)



パソコン画面にゾウがでたら赤いボタン、トラがでたら青いボタンを押すように教示した。課題の最中には、次々にトラかゾウのどちらかがでてくる。トラとゾウは4:1の割合で出現する。この課題では、注意機能を評価することができる。

4. 研究成果

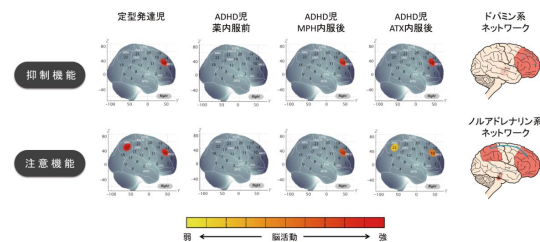
1) 行動抑制機能課題 (Go/Nogo 課題) 遂行時の fNIRS 計測

定型発達児で右前頭前野に有意な活性を認めた。一方、ADHD児では治療薬服用前、プラセボ服薬後に活性を認めなかった。MPH、ATX服用後は、両薬剤とも定型発達児と同様に右前頭前野の活性がみられた(図2)。この結果から、fNIRSを用いた解析系は、ADHDの行動抑制障害が関与する脳領域は右前頭前野であり、MPH、ATXにより右前頭前野の機能が回復することを実証した。

2) 注意機能課題 (Oddball 課題) 遂行時の fNIRS 計測

定型発達児において右前頭前野と右頭頂葉に有意な活性を示した。一方、ADHD児では治療薬服用前、プラセボ服薬後で活性を認めなかった。MPH、ATX服用後は、MPH服用後に右前頭前野、ATX服用後には右前頭前野と右頭頂葉の活性が上昇した(図2)。この結果から、fNIRSを用いた解析系は、ADHDの注意機能障害に右前頭前野と右頭頂葉の脳機能低下が関与し、MPHにより右前頭前野の機能が回復し、ATXにより右前頭前野と右頭頂葉の機能が回復することを実証した。

図2 fNIRS 計測結果



抑制機能と注意機能に関連する脳活動部位を赤で示す。fNIRSを用いて抑制課題と注意課題中に活動した脳活動部位を可視化した。脳機能の活動があった部位に活動の強弱を色分した。脳の図に「10」とラベルされた部位は右前頭前野、「22」と表記された部位は右頭頂葉を意味する。

MPHとATXは中枢神経のシナプス間隙におけるドパミン、ノルアドレナリン再取り込阻害薬である。MPHはドパミンに関与するネットワークに親和性が高く、ノルアドレナリンに関与するネットワークには低いとされ、一方、ATXはノルアドレナリンに関与するネットワークに選択的な親和性を有すると報告されている。脳内におけるドパミンネットワークには、腹側被蓋野から前頭前野、腹側被蓋野から側坐核、黒質から線条体を結ぶネットワークが存在する。また、ノルアドレナリンネットワークには、青班核、右前頭前野と頭頂葉を結ぶネットワークがあると考えられている。これらの報告と我々の研究結果から、MPH服用後に活性化した右前頭前野は、腹側被蓋野と前頭前野とを結ぶドパミンネットワークが活性化したと考えられ、一方で、活性化しなかった右頭頂葉は、ノルアドレナリンネットワークに対するMPHの親和性が低いことが原因であると考えられた。また、ATX服用後に右前頭前野と右頭頂葉の両方が活性化した理由は、ノルアドレナリンネットワークを活性化したと考えられた(図2)。両薬剤のドパミン・ノルアドレナリン選択性に関する検証は、数報告のヒト以外の動物実験報告にすぎない。したがって、申請者が行った、MPHとATXに関与するモノアミンネットワークを介した治療薬効果発現メカニズムの可視化は、ヒトでの貴重な実証報告である。さらに、脳内における治療薬の薬理作用機序の検証にfNIRSが有用である可能性が示唆された。

今後は上記研究成果を進展させ、モノアミントランスポーターに関連する遺伝子多型(catechol-O-methyltransferase geneと、the dopamine active transporter 1 gene、dopamine receptor D4)と、fNIRS検査で抽出した個人レベルの右前頭前野の脳活性変化の相関を解析し、ADHD児の表現型と病因遺伝子と脳機能の病態との関連を明らかにしていく

予定である。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 6 件)

【英文】全て査読あり

- 1) Nagashima M, Monden Y, Dan I, Dan H, et al, Neuropharmacological effect of atomoxetine on attention network in children with attention deficit/hyperactivity disorder during oddball paradigms as assessed using fNIRS, Neurophotonics, Vol. 1(2), 1-14, 2014 [doi: 10.1117/1.NPh.1.2.025007]
- 2) Nagashima M, Monden Y, Dan I, et al, Acute neuropharmacological effects of atomoxetine on inhibitory control in ADHD children: an fNIRS study; NeuroImage: Clinical, Vol. 6, 192-201, 2014 [doi:10.1016/j.nicl.2014.09.001]
- 3) Nagashima M, Monden Y, Dan I, et al, Neuropharmacological effect of methylphenidate on attention network in children with attention deficit/hyperactivity disorder during oddball paradigms as assessed using fNIRS; Neurophotonics, Vol. 1(1), 1-15, 2014 [doi: 10.1117/1.NPh.1.1.015001]
- 4) Monden Y, Dan H, Nagashima M, Dan I, et al, Right prefrontal activation as a neuro-functional biomarker for monitoring acute effects of methylphenidate in ADHD children: an fNIRS study. Neuroimage Clinical Vol. 1, 131-40, 2012 [doi: 10.1016/j.nicl.2012.10.001]
- 5) Monden Y, Dan H, Nagashima M, et al, Clinically-oriented monitoring of acute effects of methylphenidate on cerebral hemodynamics in ADHD children using fNIRS. Clinical neurophysiology Vol. 123, 1147-57, 2012 [doi:

10.1016/j.clinph.2011.10.006]

【和文】査読あり

6) **長嶋雅子**、門田行史、檀一平太ら、小児 ADHD の注意機能に関する脳機能障害部位と塩酸メチルフェニデートの効果 fNIRS を用いた検討、薬物脳波学会雑誌,2014,1,33-45 (Proceedings)

〔学会発表〕(計 9 件)

1) **Masako Nagashima**; Neuropharmacological effects of methylphenidate and atomoxetine on attention network in attention

deficit/hyperactivity disorder – an fNIRS study –

第 13 回自治医科大学シンポジウム・**優秀ポスター賞** (2014.09 栃木)

2) **Masako Nagashima**; FNIRS monitoring of methylphenidate effects for attention

deficit/hyperactivity disorder in children 20th

Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping (2014.6 ハンブルグ)

3) **長嶋雅子**; fNIRS を用いた注意欠陥多動障害児の抑制機能不全に対するアトモキセチンの効果判定 第 17 回日本薬物脳波学会学術集会 (2014.6 静岡)

4) **Masako Nagashima**; Differences in neurofunctional effects between atomoxetine and methylphenidate in ADHD 第 56 回 日本小児神経学会総会・**優秀口演賞** (2014.5 静岡)

5) **Masako Nagashima**; The effect of Atomoxetine in ADHD children using fNIRS monitoring during go/no-go tasks: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial The 2nd Asian Congress on ADHD (2014.3 東京) 3/8-9

6) **長嶋雅子**; 小児 ADHD の注意機能に関する脳機能障害部位と塩酸メチルフェニデートの効果 第 16 回日本薬物脳波学会学術集会 (2013.7 栃木) 7/12-13

7) **Masako Nagashima**; MPH-induced fNIRS monitoring to explore attention-related cortical hemodynamics in ADHD children in randomized,

double-blind, placebo-controlled, crossover trial 第 55 回 日本小児神経学会総会・**優秀口演賞 Dr Sunao Tawara Award** (2013.5 大分)

8) **長嶋雅子**; 小児 ADHD の注意機能不全を反映する脳機能領域の同定 - Target detection 課題遂行時の fNIRS 解析 - 第 4 回 日本 AD/HD 学会総会 (2013.3 東京) 3/17

9) **長嶋雅子**; fNIRS を用いた解析系による小児 ADHD の客観的評価の確立を目指して 第 42 回日本臨床神経生理学学会学術大会 (2012.11 東京)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 脳機能指標演算装置および脳機能指標演算方法

発明者: 佐藤大樹 (株式会社日立製作所)

牧敦 (株式会社日立製作所) 門田行史 (自治医科大学小児科学) 檀一平太 (自治医科大学脳外科学) 長嶋雅子 (自治医科大学小児科学) 渡辺英寿 (自治医科大学脳外科学) 山形崇倫 (自治医科大学小児科学)

権利者: 佐藤大樹 (株式会社日立製作所)

牧敦 (株式会社日立製作所) 門田行史 (自治医科大学小児科学) 檀一平太 (自治医科大学脳外科学) 長嶋雅子 (自治医科大学小児科学) 渡辺英寿 (自治医科大学脳外科学) 山形崇倫 (自治医科大学小児科学)

出願日: 平成 27 年 3 月 31 日

番号: 特願 2015-072264

国内外の別: 国内

取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

ホームページ : 門田研究室

<http://ped-brain-lab.xii.jp/wp/>

講演会(招待講演) : 栃木県小児保健学会 2014
年7月19日(栃木)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長嶋 雅子 (NAGASHIMA, Masako)

自治医科大学小児科・助教

研究番号:70438662

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :