

## 2. 疲労および疲労感の分子神経メカニズムの解明

### (1) 疲労感の脳担当部位とその役割の解明

#### 疲労状態における快情動の神経機構の解明

関西福祉科学大学・社会福祉学部・志水 彰（教授）

#### (1) 要約

健常被験者 12 名を対象としてコミックビデオ視聴中の局所脳血流を PET を用いて測定し、笑いの表情と補足運動野、左被殻の関連を報告した。次に健常被験者 6 名を対象として感情を伴わない作り笑いの最中の局所脳血流を  $H_2^{15}O$ -PET を用いて測定し、作り笑いと比較した結果、笑いでは内側前頭前野、前頭眼窩野、左前部側頭葉、左鉤、両側側頭後頭皮質、後頭葉皮質が賦活されることを示した。このうち内側前頭前野、前頭眼窩野は自覚的な情動体験に、左前部側頭葉、左鉤、両側側頭後頭皮質、後頭葉皮質の賦活はコミックビデオの視覚処理過程に関与すると考えられた。

男子健常被験者 21 名を対象として、80 分のコミックビデオ視聴により笑いの NK 活性上昇効果を示した。この際情動的要素のないコントロール刺激視聴では NK 活性上昇は見られず、NK 活性の上昇が笑いによるものであることが実証された。また同実験中の気分変化を質問紙を用いて測定した結果、笑いの疲労低減予防効果が示唆された。慢性疲労症候群の患者を対象にして、笑いの NK 活性上昇効果、疲労低減予防効果を検証中である。

ATMT(Advanced Trail Making Test)を使用し、精神作業中の作業記憶の変動に注目し、疲労の評価定量する方法の開発に着手した。

#### (2) 研究目的

疲労は身体の内部環境から発せられる神経性、液性（免疫系、内分泌系）の情報の個体に対する意味を認知し、自覚的な疲労感を生じ、個体を休息行動へと導くシステムと理解される。一方で情動は身体の外部環境に存在する刺激の個体に対する意味を認知し、自覚的な情動体験を生じ、個体を適応的行動へと導くシステムである。疲労状態では個体は情動的に不安定となり、また快情動は疲労感を減少させ、不快な情動は疲労感を増悪させることから疲労と情動は相互に影響しあっている。病的な疲労状態が長期間持続する慢性疲労症候群の患者でしばしば情動面での障害も観察されることや、代表的な情動障害であるうつ病の患者でしばしば疲労感が主訴となることも、両者の密接な関連を裏付けている。疲労と情動は共に生体アラームの一種であり、特有の自覚的な体験を生じ、個体を生命の維持に適切な行動に導くという点では共通しておりその

中枢神経回路に多くの共通点があると予測される。疲労は漠然として捉えがたい現象であるが、情動は外部の刺激に対する中枢神経系の反応という点で疲労に比べ生理学的に捉えやすい現象であり、疲労研究の出発点として情動研究を報告者らは選択した。

情動は認知、体験、表出の3つの過程に分けて考えられる(1)。まず第一に笑いの表情に関連している脳部位の同定のため笑いのPET studyを行い、ついで顔面の随意運動時のPET studyを行い笑い時と比較することにより、笑いにおける快の情動体験に關与する脳部位を同定することを目標とした。

近年、心身相関の観点から精神状態が身体に与える影響に関する研究が増加している。これらの研究は明るくポジティブな精神状態が身体疾患の予防や治療に有利に働くことを示している(2)。疲労に対し明るくポジティブな精神状態や笑いが有効かという大規模な研究は行われていないが、笑いが疲労の予防、治療に有効である可能性は高いと思われる。健常者においてコミックビデオ視聴前後での気分とNK活性の変化を測定し、笑いによる疲労感の予防低減の可能性を検証し、ついで健常者で見られた笑いの免疫賦活効果、疲労低減予防効果がCFS患者でも有効かどうか検討することを目標とした。

### (3) 研究方法

#### [方法1] 笑い、作り笑いのPET study

健常者12名(男性6名、女性6名)を対象に笑いのPET studyを行った。被験者より本研究の趣旨を十分に説明した上で文書にて本研究への参加の同意を得た。コミックビデオ視聴中に被験者に自由に笑うよう指示し、その間の局所脳血流量を $H_2^{15}O$  PETにより測定した。一被験者あたり12回スキャンを行い、スキャンごとに異なるビデオを放映した。ビデオの放映順は順序効果が生じないようにランダムに放映した。1本のビデオの放映時間は215秒であった。ビデオは被験者の眼前40cmの距離にモニターを設置して放映した。PETスキャンにより課題による局所脳血流量の変化を捉えるにはトレーサーが脳内に入り始めてからピークに達するまでの間に課題を行う必要があることが知られているため(3)、この期間に最もおかしいシーンが放映されるようコミックビデオを編集した。笑いによる顔面の運動により頭部が動くおそれがあるため、フェースマスクにより頭部を厳重に固定した。笑いの量の測定のため、左右の大頬骨筋、眼輪筋の表情筋筋電図を測定した(4)。頭部での放射活性が上昇している期間の笑いの量を大頬骨筋筋電図の面積積分により定量し、各個人内で正規化した(5)。この正規化した値を便宜上EMG scoreと呼び、後のSPM99による解析に使用した。各ビデオに対する快、悲しさ、嫌悪感の情動体験を各スキャン直後に10点満点で自己評価させた。SPM99による解析手順は以下のように行

った。まず、頭部の動きを補正するために最初の emission scan にすべての PET scan の realignment を行った。次に各スキャン画像を標準脳に変換し、8mm full-width at half maximum の isotropic Gaussian kernel でフィルターをかけた。全脳血流量による変動効果を除去するため、全脳血流量を 50 ml/100g/min となるよう正規化し、全脳血流量を共変量として、ANCOVA 解析を行った。局所脳血流量と EMG score との相関関係を voxel ごとに統計学的に検定した。統計学的推論には適切な design matrix を使用した。多重比較による検定で peak height が  $p < 0.05$  となるクラスターを統計学的に有意な相関と判断した。 $P < 0.001$ , uncorrected の有意水準を超えたクラスターを賦活傾向とした。

健常被験者 6 名が作り笑いの PET study に参加した。男性 3 名、女性 3 名、年齢 30 - 45 歳。被験者より本研究の趣旨を十分に説明した上で文書にて本研究への参加の同意を得た。無声の特におかしさを誘発しないビデオ視聴中に顔面の随意運動を被験者に行わせ、その間の局所脳血流量を  $H_2^{15}O$  PET により測定した。一被験者あたり 8 回スキャンを行い、スキャンごとに異なるビデオを放映した。ビデオの放映順は順序効果が生じないようにランダムに放映した。1本のビデオの放映時間は 215 秒であった。ビデオは被験者の眼前 40 cm の距離にモニターを設置して放映した。被験者はビデオ中に 4 秒間のキュー映像（車から人が降りるシーン）が放映されている間、顔面の随意運動を行うよう教示された。PET スキャンにより課題による局所脳血流量の変化を捉えるにはトレーサーが脳内に入り始めてからピークに達するまでの間に課題を行う必要があることが知られているため(3)、キュー映像は放射活性が頭部で上昇を始めてから頂点に達するまでの 30 秒間に 0 - 3 回提示された。顔面の運動により頭部が動くおそれがあるため、フェースマスクにより頭部を厳重に固定した。随意運動量の測定のため、左右の大頬骨筋、眼輪筋の表情筋筋電図を測定した(4)。頭部での放射活性が上昇している期間の随意運動量を大頬骨筋筋電図の面積積分により定量し、各個人内で正規化し EMG score を算出した(5)。この正規化した値を SPM99 による解析に使用した。各ビデオに対する快、悲しさ、嫌悪感の情動体験を各スキャン直後に 10 点満点で自己評価させた。SPM99 による解析手順は笑いの時と同様に行った。局所脳血流量と作り笑いの EMG score との相関関係を voxel ごとに統計学的に検定した。6 名の被験者において笑い時と随意運動時の局所脳血流量を比較した。統計学的推論には適切な design matrix を使用した。多重比較による検定で peak height が  $p < 0.05$  となるクラスターを統計学的に有意な相関と判断した。 $P < 0.001$ , uncorrected の有意水準を超えたクラスターを賦活傾向とした。

## [方法 2] 笑いによる NK 活性上昇効果、疲労低減予防作用の検討

対象は若年成人男性 21 名。被験者全員に紙面により研究内容と目的を説明し同意を得た。実験の前日から実験終了までの間、被験者には激しい運動を避け、睡眠を十分にとり、アルコール、喫煙、カフェイン、その他薬物を摂取しないように指示した。検査当日の朝食は取らないよう指示した。上記対象者には全員、笑いとコントロールのビデオをそれぞれ別の日に 4 週間を越えない間隔で視聴してもらった。笑いとコントロールのビデオを視聴する順序は被験者ごとにランダムに行い、ビデオ視聴の順序効果を除外した。ビデオの長さは共に約 75 分で、シールドルーム内に設置した 14 インチモニターで放映した。NK 活性は日内変動があるため、両条件共、採血の時間は視聴前の午前 7 時と、視聴後の午前 9 時に行った。検査項目は NK 活性、NK 細胞マーカー (CD16、CD56、CD57)、赤血球数、白血球数、血小板数であった。両条件とも視聴中に左大頰骨筋筋電図、左側拇指球筋と前腕の GSR、左第二指の指尖容積脈波、呼吸曲線、体動のポリグラフィー記録を行った。ビデオ視聴中の笑いは多用途デジタル脳波計を用いて計測し、光ディスクに記録した。オフラインで 75 分間の筋電図の面積積分値により笑いの量を定量した。また同時に、デジタルビデオカメラによる表情の記録も行った。心理学的な測定項目として、視聴したビデオの自覚的なおかしさの評価を Visual Analogue Scale (VAS) を用いて測定した。10cm の棒線の右端を「これまで体験した最高のおかしさのレベル」、左端を「全く面白さがないレベル」とした。ビデオ視聴前後の気分を Profiles of Mood State (POMS) を用いて評価した。被験者の性格傾向や日常生活ストレスを測定する目的で 16PF 性格検査と Holmes & Rahe の日常生活ストレス尺度を施行した。

## [方法 3] ATMT を用いた作業記憶の変動測定による疲労評価法の開発

梶本らの開発した ATMT を用いて、疲労による作業記憶の変動を定量評価する方法の確立を検討した。ATMT には指標の位置が変わらない B 課題と、毎回指標の位置がすべて変化する C 課題があるが、B 課題では作業記憶によりボタン押しの反応時間の短縮効果が見られる。この短縮効果の見られたボタン押しの割合を計算することにより課題遂行中の作業記憶を評価することが可能になる。少数の健常者における ATMT 長時間施行中のデータにおいて作業記憶の変動を検討した。

### (4) 研究成果

#### [結果 1] 笑い、作り笑いの PET study

笑いの際に、補足運動野と左被殻で笑いの量と局所脳血流量に有意な相関が見られ、これらの脳部位が笑いの表情の生成に関連すると考えられた。

随意運動時に局所脳血流量と EMG score の間に補足運動野、両側の一次運動野などで相関傾向を認めた。笑いとは随意運動との比較では、笑いにより後頭葉皮質 ( Brodmann's Area 18, 19; BA 18, 19 )、両側後頭側頭葉皮質 ( BA 37 )、左前部側頭葉皮質 ( BA 38 )、左鉤 ( BA 26 )、前頭眼窩野 ( BA 11 )、内側前頭前野 ( BA 9 )に賦活を認め (figure 2)、随意運動により左一次運動野顔面領域 ( BA 4 )、補足運動野 ( BA 6 )、precuneus ( BA 7 )、両側島皮質に賦活を認めた (figure 3)。

#### [結果 2] 笑いによる NK 活性上昇効果、疲労低減予防作用の検討

筋電図による笑いの量は笑い刺激においてコントロール刺激よりも有意に多かった。笑い刺激前後で POMS の抑うつ感、不安 - 緊張、怒り - 敵意、混乱の項目の改善が、コントロール刺激前後では怒り - 敵意、活気の項目の有意な低下と疲労感の有意な増加が認められた。しかし笑い刺激とコントロール刺激を比較した場合、気分の変化にもっとも有意な差が見られたのは疲労の項目であった。これらの結果は放映したビデオが被験者に対し期待される効果を示したためと考えられた。 (figure 4)。

笑い刺激前後で NK 活性の上昇が認められた ( 26.5% 29.4%,  $p < 0.05$ , paired-t test )。しかし同一被験者によるコントロール刺激前後では NK 活性に有意な変化はなかった (figure 5)。 ( 27.1% 24.8%, not significant, paired-t test )。CD16、CD56 陽性リンパ球 ( = NK 細胞 ) の数はコミックビデオ視聴前後で有意な変化は見られなかったが、コントロール刺激前後で有意な低下が見られた ( $p < 0.01$ , paired t-test)。笑い刺激前後の NK 活性上昇は、笑い前、後ともに抑うつ、敵意 - 怒りなどの negative な気分と有意な負の相関を示した。笑い前、後の NK 活性は Visual analogue scale によるコミックビデオのおかしさの自己評価点と相関傾向を示した。

#### [結果 3] ATMT を用いた作業記憶の変動測定による疲労評価法の開発

B 課題では作業記憶による、ボタン押し反応の反応時間短縮効果が認められ、少数例での検討では、こうした効果はボタン押し反応数全体の約 40% に認められることが判明した。この値は長時間の課題連続施行中に 30% 以下から 50% 以上の間で変動することも確認された。現在 ATMT 連続施行を行った、疲労の PET study における ATMT のデータを解析中である。

#### ( 5 ) 考察

前頭眼窩野は情動、報酬行動、判断、嗅覚、味覚などに関与するが、近年の研究では内側前頭眼窩野と報酬行動との関連が報告されており (6), (7)、本研究で見られた前頭眼窩野の賦活は笑いの快感情と関連していると推測された。内

側前頭前野は多くの情動の activation study で賦活の見られており(8), (9)、情動体験を担う可能性が示唆される部位である。前頭前野や前頭眼窩野が working memory を担っていることが近年の神経科学により実証されつつある(10)。Working memory は意識的体験の神経基盤であるという議論もあり(11)、本研究で見られた内側前頭前野、前頭眼窩野の賦活が笑いにおける情動体験を担っている可能性は十分に考えられる。本研究で得られた知見をもとに笑いにおける視覚情動情報処理のメカニズムを模式的に表したものが figure 5 である。コミックの視覚情報は腹側経路を通り最終的には扁桃体で情動的な判断が下される。ここまでが認知の過程である。扁桃体は情動的に重要な情報がきたと判断すると、back projection を介して視覚の初期過程をさらに活性化する。扁桃体の情動的な情報は前頭眼窩野、内側前頭前野に伝達され快の情動体験を生じる。これが体験の過程に相当すると思われる。笑いの表情は補足運動野、被殻を中心とした前頭基底ループで生成される。この回路で生成された笑いの表情表出の司令は脳幹の顔面神経核を経て表情筋に伝達され、笑顔が表出される。これが表出の過程になる。認知、体験、表出の過程に対応する脳部位はほぼ明らかにされたが、これらがどのように相互に情報を交換しているかについてはまだまだ不明な点が多く、今後の課題である。

笑いの神経回路から疲労の自覚的な体験に考察をすすめる際に重要なのは、笑いの情動体験の過程である。笑いの情動体験の過程に対応する脳部位は内側前頭前野と前頭眼窩野である。このうち特に脳内報酬系の一部である前頭眼窩野が快の情動体験と密接な関連があると思われる。田島らのおこなった疲労の PET study の結果(私信)もまた、前頭眼窩野と自覚的な疲労感との関連を示しており、ヒトの意識的体験と前頭眼窩野の関連、笑いとの密接な関連を示唆すると言える。

笑い条件単独では、POMS による疲労の得点は変化しなかったが、コントロール刺激と比較した場合、もっとも気分変化が顕著であったのは疲労の項目であり、笑い刺激が有意に疲労の増悪を予防したと考えられた(12)。これは実験環境の影響を除いた純粋な笑いの効果は、抑うつ、緊張不安、怒り敵意に対してでなく、疲労に対するものであることを示している。

NK 活性は笑い刺激前後で上昇が見られた。しかしコントロール刺激ではNK 活性の上昇は見られず、笑いによるNK 活性上昇が実証された。また、今回の実験では、コミックビデオの主観的な面白さと笑い前、後のNK 活性との間に相関傾向が見られ、笑い前、後のPOMS の negative な気分の得点と笑いによるNK 活性の上昇度との間に有意な相関が認められ、笑いのNK 活性上昇効果は、客観的な笑いの量ではなく、主観的なおかしさの情動体験と関連していることが示唆された(12)。

ATMT を用いた作業記憶の変動計測による疲労評価は、反応時間の短縮が作業記憶のみならず、次に押すべき指標が注意視野に入っていることにより反応時間が短縮される効果も含んでおり、こうした作業記憶以外の要素による反応時間の短縮を除外する方法論の確立が、疲労評価の上で重要であることが現時点では指摘されている。

#### ( 6 ) 引用文献

1. LeDoux, J.E. Emotion. In Handbook of Physiology. edited by Mountcastle, N.B., Plum, F., Geiger, S.R. American Physiological Society, Bethesda, 419-459, 1987
2. 志水 彰 「(笑い)の治癒力」 P H P 研究所、1998 年
3. Silbersweig DA, et al. Detection of thirty-second cognitive activations in single subjects with positron emission tomography: a new low-dose H<sub>2</sub>(15)O regional cerebral blood flow three-dimensional imaging technique. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1993 Jul;13(4):617-629.
4. Fridlund AJ. & Cacioppo JT. Guidelines for human electromyographic research. *Psychophysiology*, 23: 567-589, 1986
5. Iwase M. et al. Diminished facial expression despite the existence of pleasant emotional experience in schizophrenia. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 21: 189-194, 1999
6. O'Doherty J. et. al. Abstract reward and punishment representation in the human orbitofrontal cortex. *Nat. Neurosci.* 4, 95-102 (2001)
7. Goel, V. & Dolan, R. J. The functional anatomy of humor: segregating cognitive and affective components. *Nat. Neurosci.* 4, 237-238 (2001)
8. Reiman, E. M. et. al. Neuroanatomical correlates of externally and internally generated human emotion. *Am. J. Psychiat.* 154, 918-925 (1997)
9. Teasdale, J.D. et. al. Functional MRI study of the cognitive generation of affect. *Am. J. Psychiat.* 156, 209-215 (1999)
10. Goldman-Rakic, P. S. Regional and cellular fractionation of working memory. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93, 13473-13480 (1996)
11. LeDoux, J. E. Emotion circuits in the brain. *Annu. Rev. Neurosci.* 23, 155-184 (2000)
12. Takahashi, K. et. al. The elevation of natural killer cell activity induced by laughter in a crossover designed study. *Int. J. Mol. Med.* 8: 645-650 (2001)

#### ( 7 ) 成果の発表

##### 1 ) 原著論文による発表

ア) 国内誌 (国内英文誌を含む)

- (1) 梶本修身、太田妙子、柳本静子、杉中敏子、若年の慢性疲労症候群を対象とした精神疲労評価の試み Advanced-TMT 精神機能検査の開発、CAMPUS HEALTH、37: 195-198, 2001
- (2) 梶本修身、山下 仰、高橋清武、渡辺君人、松本和雄、志水 彰、高橋丈生、Trail-Making-Test を改良した「ATMT 脳年齢推測・痴呆判別ソフト」の臨床有用性 - タッチパネルを用いた精神作業能力テストの開発 - 、新薬と臨牀、49: 448-459, 2000

イ) 国外誌

- (1) K. Takahashi, M. Iwase, K. Yamashita, Y. Tatsumoto, H. Ue, H. Kuratsune, A. Shimizu and M. Takeda. The elevation of natural killer cell activity induced by laughter in a crossover designed study. *Int. J. Mol. Med.* 8: 645-650, 2001
- (2) M. Iwase, Y. Ouchi, H. Okada, C. Yokoyama, S. Nobesawa, E. Yoshikawa, H. Tsukada, M. Takeda, K. Yamashita, M. Takeda, K. Yamaguti, H. Kuratsune, A. Shimizu and Y. Watanabe. Neural substrates of human facial expression of pleasant emotion induced by comic films: a PET study. *NeuroImage* 17: 758-768, 2002
- (3) T. Shimizu, Shimizu A, Yamashita K, Iwase M, Kajimoto O, Kawasaki T, et al, Comparison of Eye-Movement Patterns in Schizophrenic and Normal Adults during Examination of Facial Affect Displays. *Perceptual and Motor Skills* 91: 1045-1056, 2000

2) 原著論文以外による発表 (レビュー等)

ア) 国内誌 (国内英文誌を含む)

- (1) 志水 彰、岩瀬真生:「笑いと疲労」、*疲労の科学*、井上正康・倉恒弘彦・渡辺恭良編、講談社サイエンティフィック、(2001)
- (2) A. Shimizu, Laughter---The perfect Prescription. *Japan Quarterly*, January-March, 50-57, 2001
- (3) M. Iwase, Y. Ouchi, H. Okada, C. Yokoyama, S. Nobesawa, E. Yoshikawa, H. Tsukada, M. Takeda, K. Yamashita, M. Takeda, K. Yamaguti, H. Kuratsune, A. Shimizu and Y. Watanabe. A H<sub>2</sub><sup>15</sup>O-PET study on the distinct neural substrates of laughter and voluntary facial movement. *Neurosci. Res. Suppl* 25, S153, 2001
- (4) S. Tajima, S. Yamamoto, M. Iwase, S. Kajimoto, E. Yoshikawa, H.



Onoe, C. Yokoyama, H. Okada, F. Nakamura, H. Tsukada, H. Kuratsune, A. Shimizu, T. Miike, Y. Ouchi and Y. Watanabe. Evaluation of fatigue during PET activation study. *Neurosci. Res. Suppl* 25, S153, 2001

- (5) M. Iwase, Y. Ouchi, H. Okada, C. Yokoyama, M. Takeda, H. Kuratsune, A. Shimizu and Y. Watanabe. Neural substrate of human laughter revealed by PET. *Neurosci. Res. Suppl* 24, S49, 2000

イ) 国外誌  
該当なし

3) 口頭発表

ア) 招待講演

- (1) 志水 彰:「笑いと脳と健康」、グランキューブ大阪、第97回日本精神神経学会総会、(2001年5月17日)  
(6) 志水 彰:「笑いと疲労回復」、大阪大学銀杏会館、第7回慢性疲労症候群研究会、(2002年2月14日)  
(3) 岩瀬真生:「科学が明かす笑いと健康、笑いと脳」、大阪市民学習センター、第29回日本笑い学会研究会、(2001年11月20日)

イ) 応募・主催講演等  
該当なし

4) 特許等出願等  
該当なし