

□ Stage III-1 物に名前や用途の理解はしているが、円の大小比較ができない段階
 状態像 各領域

認知・言語：単語や表現を覚える

コミュニケーション：言葉の使用は制限、会話は成立しない

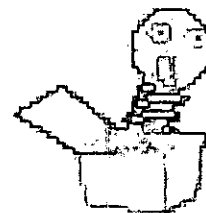
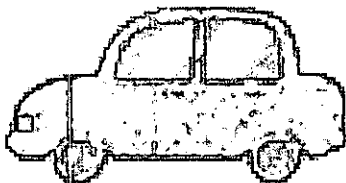
遊び：型通りの遊び、簡単なみたて遊び

対人：自分の興味本位、パターンの、一方的

異常行動：日課の流れのパターンへのこだわり、興味の範囲が狭い。
 パニック

* Stage III-1 の前期・後期の目安 複数指示が可・不可

Stage III-1	言語情緒対人					適応行動	
ねらい	①言葉の世界を豊かにする	②文字や数、比較など概念の基礎をつくる	③挨拶や簡単な2語文、やりとりができる	④事前の声かけで納得し、行動を調節できる	⑤対人関係を広げる	⑥自分のことは自立的にする	⑦初歩的な社会的スキルやマナーを教える
課題	物の名前をちゃんと聞いて聞かせる本人のわかる範囲で場面にあった言葉を教える	興味のあるトランプ、ひらがなカード、絵本や雑誌などで楽しみながら文字数の理解を促す 日常の中の興味のある物で数や盤、色などを教える 絵と単語のカードを合わせたり、壁に貼ったりして文字への興味と理解を促す	学校や外出から帰宅した時、具体的な質問をしてやりとりを促す 要求の時、2~3語文で表現できるようにする	明日の予定などを言い聞かせる	家族での団楽や外出の機会を持ち、社会的な経験を積む 友達と家族ぐるみで付き合い対人関係を広げる 地域の行事には積極的に参加する	身の回りのことは自分でできるようにする 着脱や食事のマナーを身につける	簡単な日常のあいさつをできるようにする 食事の手伝いがしっかりできる (例:調理・配膳・食器拭き・洗濯物干し・布団の上げ下ろし・カーテンの開閉・買い物補助等) スーパーでの買い物ができるようになる 公園や公共機関などで基本的なマナーを教えていく



Stage III-2 円の大小の相対比較ができるが空間関係は理解できない段階
 状態像 各領域

認知・言語：3語文以上の言葉 文字どおりに理解
 状況の文脈理解の不統合 部分的によい記憶力
 コミュニケーション：コトバでのコミュニケーション可能
 会話は発展しない
 遊び：象徴遊びは見られるが、ゴッコ遊びは難しい
 対人：対人関係の希薄さは減る 人との協調性のなさ。
 意思表示が可能
 異常行動：文字や数字などへの強い興味。 独特な質問癖

[前期] いろいろな比較に気づく

<意思表示が可能>

[後期] 頭の中での比較がわかる

<本人に選択させることが可能>

<対の構造の獲得—相対的比較が可>

Stage III-2	言語情緒対人				適応行動		
ねらい	①自分で考 えて表現し たり行動で きるように する	②数や言葉 を日常の中 で育て応用 できるように する	③体験した 事や情報を 言葉で伝え られる	④事前の言 葉かけて予 定を理解し て行動を調 節できる	⑤大人の介 助で子ども 同士でのや り取りが楽 しめる	⑥社会的な 自覚や家族 員としての 愛情をもつ	⑦意思や自 発性を育て る
課題	間接的な声 かけで考え させて行動 を促す(例) どんな約束 だった?次 は何する? の 本人が納得 できるまで 丁寧に説明 する 絵本の読み 聞かせ、テ レビやビデ オの時など 状況を説明 したり興味 を引く質問 をして理解 を促す 疑問詞の理 解を促すよ うに働きか ける	食事やおや つの時、教 や量、配分 などの理解 を促す	学校からの 連絡は口頭 で伝えられ るようにす る 学校の様子 や外出時の ことが質問 で答えられ る 学校の様子 や質問の答 えを文字で 書かせる 療育者が助 詞に気をつ けて簡潔に わかりやす く話す	今後の予定 を言葉や文 字で確認さ せる カレンダー や新聞のテ レビ欄で曜 日や予定を 理解させる 行事や新し い体験には 関係する言 葉や意味を 分かりやす く説明して おく	学校の友達 との交流を 多く持つよ うに親が配 慮する(例 日常やお誕 生日等に友 達を招く、 友達を誘っ て一緒に出 かける、家 族ぐるみで 出かける) 兄弟の友達 にできるだ け遊んでも らう 学童クラブ や地域の集 まりなどに 積極的に参 加する	家事の手伝 いが自立的 にできる (例 食器洗 い洗濯物干 しと整理・調 理の補助・電 気機器の確 認等) 一床 屋、買い物 乗り物での やり方やマ ナーを教え る 簡単な電話 の応対や留 守番ができ る 家族の中で 感謝したり されたりす る場面を多 くする	本人の意思 を聞いたり 選択できる 機会を多く する

薬物療法

《薬物療法開始にあたって》

家族、教師、指導員など自閉症のお子さんに関わる人すべてが、服薬の目的、標的とする症状、副作用を理解していただくことが大切です。

服薬は1回の服薬量、1日の服薬量など、いずれも医師の指示通りに行ってください。やむをえず、服薬が不規則になったら、医師に必ず報告してください。

施設内や、家庭内の行動や情緒の変化を観察して、医師に報告してください。より適切な薬物選択につながります。

○薬物療法の目標と実際

■脳機能障害

脳機能障害そのものに働きかける薬物は、研究段階にあるものばかりで、現段階では実用化には至っていません。

■異常行動や気分障害

パニックや自傷／他害／攻撃行動、睡眠障害などが著しい場合や、その他に精神医学的な状態が合併した場合に抗精神薬（リスペリドン、ハロペリドール、ピモシドなど）を使用することがあります。副作用として体が硬くなったり、震えたりすることがある（錐体外路症状）ため、抗コリン薬を副作用改善のために用いることがあります。

気分の変動が認められたり、多動と減動を繰り返す場合などに気分安定剤（バルプロ酸、カルバマゼピン、リチウムなど）や抗うつ剤（フルボキサミン、パロキセチン、クロミプラミンなど）を使用することがあります。

■てんかん

てんかん発作があれば、抗けいれん剤（バルプロ酸、カルバマゼピン、フェニトイン、フェノバルビタールなど）の使用が必要です。抗けいれん剤の使用はてんかんの種類にあわせて選びます。てんかんの種類は発作型と脳波の所見、その他の症状を合わせて総合的に診断します

もしてんかん発作がおこったら、次のことに心がけて下さい

(1)あわてずよく観察する。

持続時間は？

どちらの手足がけいれんしている？(左右差)

名前を呼んでみる（意識の有無）。

(2)救急受診する準備をしてください。

(3)服薬は医師の指示通りに行ってください。急な断薬は重積発作をおこす可能性があります。

■トゥレット障害

音声や言葉、運動が本人の意志に反して出てしまう症状をトゥレット障害と呼びます。これが合併した場合に抗精神薬（ハロペリドール、ピモシドなど）を使うことがあります。

こうした様々な方法を組み合わせ、自閉症のお子さんがよりよく生きてゆくための働きかけを行います。ひとりひとりに合うように工夫するため、皆さんが同じやり方になるとは限りません。例えていえば、山の頂上に登るには色々な道があってよいのです。



3. 自閉症の原因を明らかにするために

ここでは、自閉症と、その背景にある脳機能の障害の原因がどこにあるかを知る手がかりを説明し、その解明のために東京大学医学部精神科とその協力機関で実際にどのような研究を始めているのかご紹介したいと思います。

自閉症の原因は何ですか？

まず知っておいていただきたいのは、両親の性格や育て方などが自閉症の原因ではないということです。子供の自閉症発病は両親の責任であるかのように言われていた時代もかつてはありました。しかし、科学的な研究を通じてそれが間違いであることが明らかにされています。

では実際にどのようなことが自閉症の原因となっているのでしょうか？それを解き明かす1つのヒントは発病率にあります。自閉症の発病は、自閉症の患者さんの同胞（兄弟姉妹、主に兄弟）では2%程度と推定されています。同胞での発病率が2%にしか過ぎないことは

自閉症がいわゆる「遺伝病」とは異なる

ことを示しています。ただしこの2%も、一般人口での発病率（約0.1%と推定されています）と比較すると数十倍の高さとなります。また、ふたご（双生児）での自閉症の発病の一致率（一人が自閉症の場合に、もう一人も自閉症となる割合）は、二卵性双生児では数%にすぎないのに対して、一卵性双生児では40-90%に達します。このことを数学的に検討して得られる結論は

**健康な人ももち得る微妙な遺伝子の変化が
いくつか偶然に集まってしまったことが
自閉症の発病にかかわっている**

ということです。そのようなことが一人のお子さんに偶然起こっても、同じご両親の他のお子さんに起きることは比較的稀です。ですから、自閉症のお子さんの同胞にも自閉症の起こる確率も決して高くはないわけです。

もう1つ発病率で注目すべきことは、近年自閉症の発病が増加しているらしいということです。このことから次のようにも考えられます。

**自閉症の発病にわれわれの生活のまわりにある
何らかの環境的要素がからんでいる可能性もある**

まとめて言いますと、自閉症は健康な人にもあり得る些細な遺伝子の変化と生活のまわりの何らかの環境的要素とが複雑にからんで起きている可能性が高いと考えられます。

原因を探るにはどのような研究が役立ちますか？

次に具体的原因を考え、それを明らかにする研究方法についてご紹介いたします。①遺伝子に関係すること、②環境に関係すること、③脳の機能や形態を調べることの3つの視点から見ていきたいと思ひます。

①遺伝子に関係した研究

先にご説明したとおり、自閉症は「遺伝病ではありません」が、複数の遺伝子の微妙な変化が発症にからんでいると考えられます。それがどのような遺伝子かがわかれば、発病のメカニズムを明らかにし、治療や発病を防ぐ手がかりが得られる可能性があります。どのような遺伝子に関係するかを調べる手がかりのいくつかをご紹介したいと思ひます。

手がかりの1つは、自閉症の一部がこれまでに原因遺伝子が解明された病気と関わっておきることです。結節性硬化症、脆弱 X 症候群、神経線維腫症、フェニルケトン尿症などがそれらの病気です。これらの病気の原因遺伝子やその近くを調べることで、自閉症の発病に関わる一部の遺伝子が見つけれられるかも知れません。

自閉症の患者さんでは、神経間の信号伝達をになう「セロトニン」という物質の量が大きく変化しています。したがって、このセロトニンの合成や分解、神経での利用に影響する遺伝子に何らかの変化があるかも知れません。

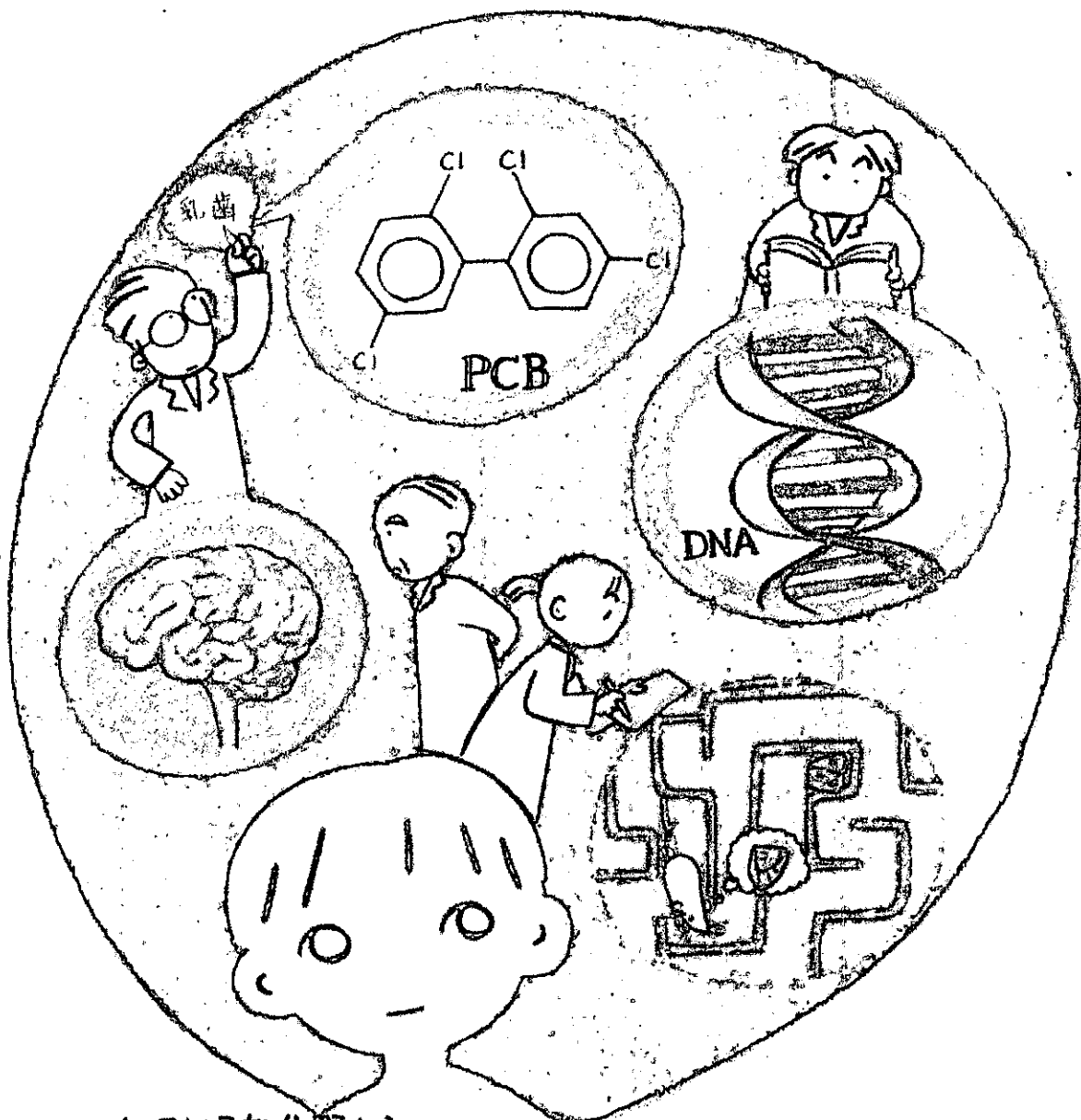
また、海外で兄弟2人以上が発病した家族を多数集めて DNA の解析を行った結果からは、第7番の染色体の一部など、いくつかの染色体の領域に、自閉症と関係する遺伝子が位置する可能性が示されました。もちろん、我が国の患者さんでもこの染色体領域に位置する遺伝子が自症と関係するかどうかは調べてみる必要があります。実際に自閉症の発病とはっきり関係する遺伝子を見つけるにはまだまだ時間はかかりそうですが、海外ではこのような観点から現在精力的に研究が進められています。また、そのために必要な血液サンプルの収集が、患者さんやそのご家族の協力のもとに進められています（遺伝子の研究では、血液からとりだした DNA (=遺伝子を作っている物質) を調べます)。私たち東京大学の精神科でも、他機関との協力のもとに本格的研究の準備を始められています。

②環境要因に関する研究

近年自閉症児の数が増えていることと、最近世間を騒がせている内分泌かく乱物質（環境ホルモン）とに何かかわりがあるのではないかとということで、これをヒトで調査し、動物実験で検証してみようという試みを東京大学精神科と協力研究機関で始めています。アメリカで、PCB に汚染されたミシガン湖の魚をたくさん食べたお母さんから生まれた子供の IQ が、そうでないお母さんから生まれた子供の IQ より低かったという報告があります。PCB は環境ホルモンの1種ですが、環境ホルモンはヒトの体内で性ホルモンのような働きをします。性ホルモンは、男性女性への分化をつかさどるだけではなく、内分泌

機能の発達、中枢神経の発達に重要な役割をはたします。また、水銀や鉛などの重金属もヒトの体内で環境ホルモンと同じ様に働くといわれています。これらの物質の自閉症に対する影響はへその緒や乳歯で調べることができます。

へその緒、乳歯の一部はお母さんの胎内にいる間に作られますが、その際に血液を介してさまざまな化学物質をとりこみます。つまり生まれる前の赤ちゃんが育った環境を記録しているのです。ですから、へその緒や乳歯に含まれる微量の有機化合物や重金属を測れば、それらの物質が自閉症に関係しないかどうかを調べることができます。



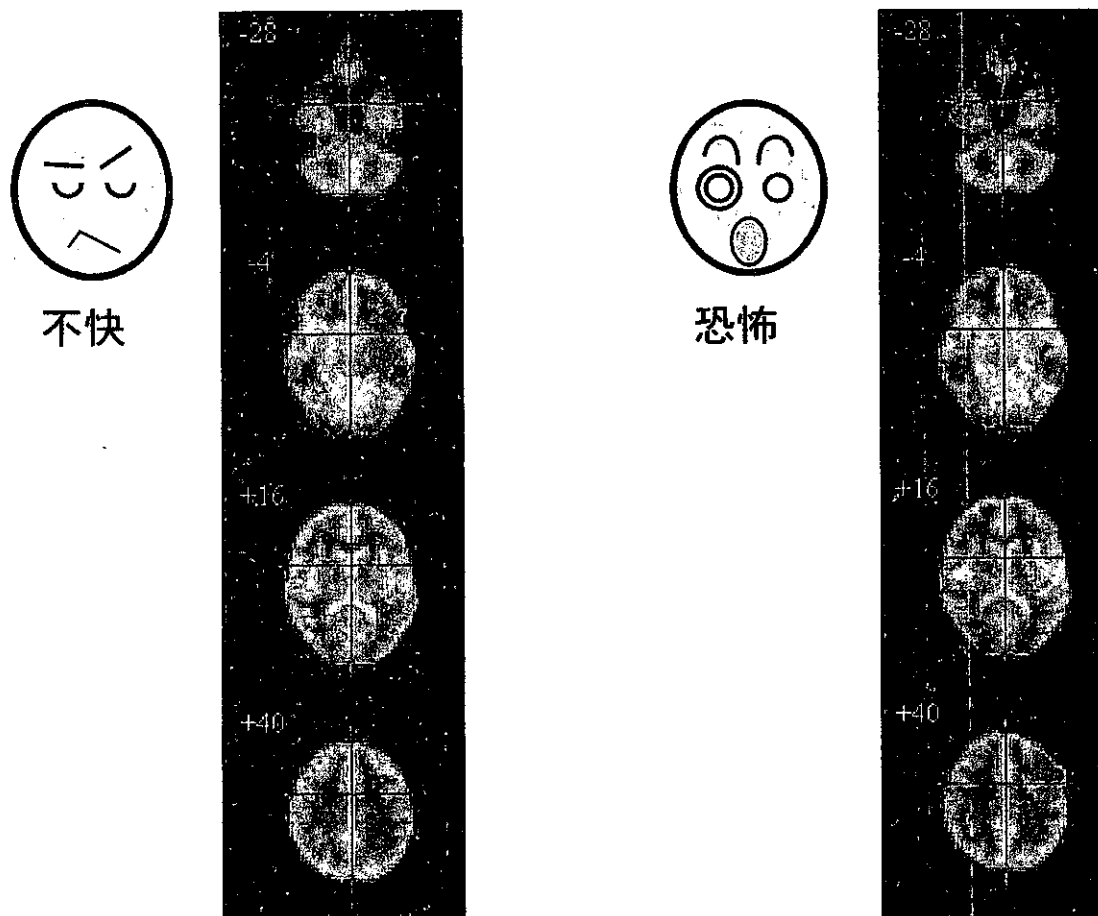
いろいろな分野から
アプローチをしています

また、甲状腺ホルモンも脳や神経の発達に重要な役割を持っています。甲状腺ホルモンはヨードから合成されますが、ヨードの不足する国では、妊娠中の母親のヨード摂取不足のためにクレチン症という病気を発症する子どもがたくさん生まれます。ただし生まれてすぐ治療を始めれば、これらのお子さんの発達の遅れを防ぐことができます。また、人工的に作られた甲状腺ホルモンの受容体（受け手）を持たない動物は、多動、学習障害、こだわりなど自閉症に似た症状を示します。甲状腺ホルモンは、性ホルモンと働き方が似ているため、環境ホルモンの影響を受ける可能性の高いホルモンです。微妙な甲状腺ホルモンの低下が自閉症の発病に影響しているのかもしれませんが。これを明らかにするため出生時の甲状腺ホルモンを調べて比較検討しようというのがもう一つの重要な試みです。

どちらの調査も非常に多くの患者さんからのデータが必要です。その他の環境ホルモンやさまざまな物質についても、脳や神経の発達にどのような影響を及ぼすかはまだまだ調べることが重要と考えられます。

③ 脳の機能と形態に関する研究（脳画像と発達心理学研究）

自閉症のお子さんたちは数字や図形などの認知、記憶に特殊な能力を持つ場合があります。カレンダーボーイという、何年も先の年月日が何曜日になるか瞬時に計算できたりするのもこの能力のひとつです。一方で、物事全体の流れを理解したり、相手の気持ちを汲んだりという社会的コミュニケーション能力が障害されています。

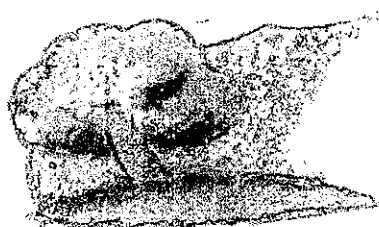


自閉症のお子さんの脳構造の異常については、これまで主に CT スキャンを用いて研究されてきましたが、運動を調整する小脳に異常があることが比較的共通した所見として明らかになっています。さらに最近の医療機器の進歩により、与えられた検査をしているとき、脳のどの部分が使われているのかが見えるようになりました。機能的核磁気共鳴画像(fMRI)というのがその検査です。この検査で、自閉症のお子さんは、表情の認知に問題があるという興味ある結果が認められました。笑いから怒りにいたるまでのいろんな表情を見せてそのときに脳のどの部分が活動しているか調べた結果、自閉症のないお子さんたちが表情を見たときに働かせる脳部位の活動が自閉症のお子さん方では低下していました。これはヒトの表情から情緒や思考を読み取る能力が不足していて、それで他人との関係が築きにくいのではないかという仮説につながります。このような脳の働きを調べる研究を進めています。

これまでご説明しましたように、東大病院精神神経科では遺伝子、環境物質、脳画像ならびに発達心理学の各分野で自閉症の原因やメカニズムを明らかにするための研究を始めています。これらの研究により原因がすぐさま解明されるわけではありません。十分な結果が得られるには長い年月が必要かと思えます。しかしいずれは、原因が明らかになり、治療改善や予防確立につながるものであり、できるだけ早く開始すべき研究であると考えています。

これらの研究を進めるには、スタッフの努力と熱意ともに多くの患者さんとご家族のご協力が必要不可欠です。もしご関心をお持ちいただけるようでしたら、ご質問なり何なり、ぜひとも担当医やスタッフまでお声をかけ下さい。

精神科医 渡辺慶一郎 石島路子 定松美幸 佐々木司 加藤進昌
心理士 染谷利一 関根洋子 養和 巖



連絡先

〒113-8655 東京都文京区本郷 7-3-1

東京大学医学部附属病院 精神神経科小児部門

☎:03-5800-9263/FAX:03-5800-6895

研究要旨：自閉症の発病に関連する遺伝子多型同定のため、GRPR遺伝子とNF-1遺伝子（各、染色体転座家系と、自閉症でのNF-1高頻度から検討示唆）の多型についてcase-control designで検討しNF-1遺伝子領域と自閉症発症との関連可能性が示唆された。なお今後の研究全体の発展のためには、対象者の理解に基づくより合理的な対象参加方法の確立が急務だが、その第一歩として患者・家族が治療と研究について詳しく正確に理解できるパンフレットを他の分担・主任研究者とともに作成した。

A. 研究目的

本研究の目的は、小児自閉症の発病に関わる遺伝子を分子遺伝学的手法を用いて同定することにある。今年度は自閉症との合併率の高いNeurofibromatosis-1 (NF-1)の遺伝子と、染色体転座の自閉症家系ならびに行動異常との関連から候補と考えられるX染色体上のガストリン放出ペプチド受容体 (GRPR) 遺伝子を解析して得られた結果について発表する。

B. 方法

Case-control designにより、自閉症患者と健常対照者とでそれぞれの遺伝子について多型の分布の比較を行った。対象は、自閉症患者74例および健常対照者130例である。DNAは、抹消血から通常の方法にて抽出したものをを用いた。NF-1遺伝子については、intron 27bとIntron 37の3つのmicrosatellite多型を、GRPR遺伝子については、exon 2の2つのSNPsについてその領域をPCR法にて増幅し、sequencerでfragment解析またはdirect sequenceを行って各多型のalleleを判定。患者群と対照群とで多型の分布を χ^2 二乗検定にて比較した。

全対象とも、東京大学医学部倫理委員会で承認後、文書と口頭で説明し書面による同意を受けた対象である。試料は全て匿名化した後使用した。

C. 結果

NF-1遺伝子で、3つのmicrosatelliteのうちintron27bに位置する2つで、患者-対照群間で多型の分布に有意な違いをみとめた ($p < 0.01$ と $p < 0.02$)。これに対して、GRPR遺伝子の2つのSNPsは、白人と異なり多型の頻度が日本人では低く(7%)、検出力不足から有意な検討ができなかった。

D. 考察と今後の検討

NF-1遺伝子の3多型中2つが相関したことは、この遺伝子領域が自閉症に何らかの関与をする可能性を示唆する。ただし、現段階では偶然の可能性も否定できず、同遺伝子領域の他の多型、特に転写効率や蛋白構造に関わる多型の検討が必要である。新たな日本人対象での検討も必須である。

今回のGRPR遺伝子多型 (SNPs) は、日本人では頻度が低く、他の多型の検討が必要である。転座の他端(8番染色体領域)の検討も必要である。

なお今後の課題として、新たな対象をリクルートしてさまざまな候補遺伝子領域について多くの多型について検討すること、また同胞罹患例が多数得られる場合には、日本人の自閉症患者ではこれまで全く行われていない連鎖解析について検討することが必要である。これらを可能とする前提は、患者・家族ならびに一般者の研究に対する十分な理解にもとづくより合理的な対象リクルート方法の確立である。このために今後、冊子、講演、ホームページなどを利用して、利用者の理解と協力を促進するための活動に力を入れる。その第一歩として今年度は、他の分担研究者・主任研究者とともに、自閉症の特徴・治療・原因解明のための研究についての詳細で分かりやすいパンフレットを作成した。

E. 研究発表 (論文)

1) Marui T, Nanba E(3/9), Kato N(8/9), Sasaki T(9/9). GRPR gene polymorphisms (C/450/T and C/661/T) in Japanese subjects with autistic disorder. Brain Dev (in press).

2) Marui T, Nanba E(3/8), Kato N(7/8), Sasak T(8/8).

An association between the NF1 locus and autism in the Japanese population. Am J Med Genet (revised & resubmitted).

厚生科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
分担研究報告

自閉症の原因解明と予防、治療法の開発
分子遺伝学的解析

分担研究者 難波栄二 鳥取大学遺伝子実験施設 助教授

研究要旨

自閉症の関連遺伝子として、HOXA1およびHOXB1遺伝子の解析を行った。その結果、HOXA1遺伝子では正常ではみられないヒスチジン繰り返し配列の短いアレルが自閉症患者において検出された。また、脳に関連するインプリンティング遺伝子が自閉症の候補遺伝子になるとの考え方から、脳に関連するインプリンティング遺伝子の研究を行った。本年は、この遺伝子単離のために、ヒト15番染色体を保持する神経細胞株の樹立を試みた。マウスF12、ラット B103 細胞のそれぞれに父方染色体、母方染色体を導入した細胞株を樹立することができたが、USA3A 遺伝子は脳特異的なインプリンティングを示さなかった。今後、脳特異的なインプリンティングが検出できるシステムの構築を目指す。

A. 研究目的

自閉症は認知、情緒、コミュニケーション能力全般にわたって障害される発達障害で1/500から1/1000の高頻度で発症する。本疾患は遺伝的な要因が強い多因子遺伝疾患と考えられている。本研究は、自閉症の遺伝的要因を明らかにすることを目的としている。そのために多くの遺伝的研究が行われているが、自閉症に関連した遺伝子は未だに明らかになっていない。

近年、脳の発生に関連する遺伝子が自閉症の候補遺伝子として注目されてきている。そこで、私はHOX, WNTなどに注目して研究を進めている。その中で、HOX遺伝子の解析において自閉症に特異的な変異を見出したので報告する。

さらに多くの自閉症患者に関連する遺伝子を単離するシステムを構築することが今後の研究のために必須である。最近、精神疾患とインプリンティング遺伝子の関連に注目が集まってきている。我々も、脳のインプ

プリンティング遺伝子が自閉症に重要な役割を果たすと考えている。しかしながら、脳のインプリンティング遺伝子は未だほとんど単離されていない。そこで、脳のインプリンティング遺伝子解析システムの構築を試みた。具体的には、アンジェルマン症候群の原因遺伝子であるUBE3A遺伝子をモデルとしたシステムの構築を目指した。

B. 研究方法

HOX 遺伝子の解析

HOX 遺伝子解析は自閉症の患者 57 例、正常対象 96 例の末梢血からDNAを分離して検討した。HOXA1 および HOXB1 のすべてのエクソンを PCR で増幅し直接シーケンス法で解析した。欠失のアレルをヘテロ接合体で持つ場合には、PCR 産物を pGEM T vector にサブクローニングし塩基配列を決定した。シーケンスは ABI PRISM3100 Genetic Analyzer (ABI) を用いた。また、長さの変異は Cy5 でラベルしたPCR産物を ALFred シーケンサー (Pharmacia) で解析

した。

脳特異的インプリンティング遺伝子単離

マウス A9 細胞にヒト遺伝子を一本のみ導入された細胞ライブラリー(約 700 クローン)の中から、ヒト 15 番染色体を保持するクローンを単離した。このライブラリーの構築の概略を図 1 に示す。さらに、多型マーカーにより母方由来染色体を保持するクローン、父方由来染色体を保持するクローンを選別して用いた。

神経細胞株としては、ラット B103 細胞、マウス F12 細胞を用いた。

微小核融合法を用いて、ヒト 15 番染色体をラット B103 細胞、マウス F12 細胞に導入した。導入後は、ヒト 15 番染色体にネオマイシン遺伝子が導入してあることを利用して、G418 添加培養液で培養して特異的細胞株を単離した(図 2)。

(倫理面での配慮)

本研究は鳥取大学医学部および東京大学医学部の倫理委員会の承認を得て行った。患者および対照の方から書面にてインフォームドコンセントをとったのち採血を行った。

C. 研究結果

HOX 遺伝子の解析

HOXA1 自閉症 57 例中 3 例において 9 塩基の欠失がみつかった(図 3)。この欠失は、ヒスチジンリピート中に位置し、9 塩基が欠失することでリピート数が 10 回から 7 回に減少していた。さらに、9 塩基の欠失を含む領域で Cy5 labeled primer を用いて PCR を行い、得られたフラグメントの長さを ALFred Automatic Sequencer で解析した。その結果 9 塩基の欠失をもつサンプル(TA5, TA27, TA38)ではピークが 2 つ、その他全てのサンプルではピークが 1 つとなり、9 塩基の欠失が再確認された(図 4)。この 9 塩基の欠失は、自閉症の 3 例のみに発見され、対象では見つからなかった。

また、Ingramらによって示された A218G 変異は、今回の検討では検出されなかった。

さらに HOXB1 遺伝子の解析も行った。HOXB1 遺伝子解析では、すでに報告のある 9 塩基の挿入多型が見つかったが、この多型は自閉症 57 例中 3 例、対象 129 例中 4 例と統計学的有為差はなかった($p=0.493$)。また、すでに報告のある T/A(at base 315, Glu→His)、A/G(at base 456, silent)の多型も検出されたが、これは 9 塩基挿入多型と連鎖しており、自閉症と対象での差はなかった。

脳特異的インプリンティング遺伝子単離

マウス F12 細胞へヒト 15 番染色体を導入した実験では、父方染色体を保持する細胞 5 株、母方染色体を保持する細胞 10 株を樹立することができた。

また、ラット B103 細胞へヒト 15 番染色体を導入した実験では、父方染色体を保持する細胞 1 株、母方染色体を保持する細胞 4 株を樹立することができた。

UBA3A の発現はマウス F12、ラット B103 細胞ともに、父方、母方の遺伝子を導入した細胞株の両方ともに発現を認めた。ATP10C の発現は、細胞ごとにばらつきがあった。

D. 考察

HOX 遺伝子の解析

近年、脳の形成に関わる遺伝子が自閉症の関連遺伝子の候補として注目されている。HOX 遺伝子は、サリドマイドと自閉症の関連などから注目を集めた遺伝子である。Ingramらは、HOX 遺伝子と自閉症との関連を研究し、HOXA1 遺伝子が自閉症と関連するとの報告を行った。しかし、その後この結果を否定する研究も出されている。今回の研究では、日本人自閉症においてヒスチジンリピートが短い独特の多型が見出された。このヒスチジン繰り返しはラットで 9 回、ヒトで 10 回、マウスで 11 回であるがショウジョウバ

エなどにはなく、哺乳類では重要な働きをもつと考えられる。今後さらに多くの患者での解析とともに、この繰り返し配列多型の機能を明らかにする必要がある。さらに、脳形成に関係する多くの遺伝子に注目して研究を進める必要があると考えられた。

脳特異的インプリンティング遺伝子単離

自閉症に関連する遺伝子に迫るには、脳特異的にインプリンティングを示す遺伝子を単離することが重要になる。父方と母方の遺伝子発現が異なるインプリンティング遺伝子を単離することは容易ではない。我々は鳥取大学医学部細胞工学教室（押村光雄教授）で開発された、ヒト染色体を1本のみ保持するマウス A9 細胞ライブラリーを用いて、インプリンティング遺伝子を単離してきた実績をもつ。脳特異的なインプリンティング遺伝子を単離するためには、さらに A9 細胞に導入されているヒト染色体を神経細胞に導入して研究を進める必要がある。そのために、今回はヒト15番染色体をラットとマウスの神経細胞株である B103 細胞と F12 細胞に導入した。今回の検討では、UBA3A 遺伝子の発現は、ヒトの神経細胞とは異なり母方特異的な発現は示さなかった。これは、マウス F12 やラット B103 細胞が、ヒトの神経細胞とは異なる発現を示す可能性がある。近年、UBA3A は神経細胞の中でも海馬など特定の領域の神経細胞にインプリンティングを示すことが報告され、さらに部位特異性があることも考えられる。

今後、導入する神経細胞を検討することにより、神経細胞特異的インプリンティングが解明できるシステムを目指す。

E. 結論

1. 脳形成に関連する HOXA1 遺伝子の解析から自閉症に特徴的なヒスチジン繰り返しの短いアレルが発見された。

2. 自閉症の候補遺伝子単離のために脳特異的なインプリンティング遺伝子単離のシステムの構築を試みた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 難波栄二. 自閉症の遺伝に関する研究: 最近の知見を中心に. 分子精神医学 2: 311-316, 2002
- 2) Marui T, Hashimoto O, Nanba E, Kato C, Tochigi M, Umekage T, Kato N, Sasaki T. Gastrin-Releasing Peptide Receptor (GRPR) gene polymorphisms (C/450/T and C/661/T) in Japanese subjects with autistic disorder: no evidence for an association. Brain Dev (in press)

2. 学会発表

- 1) 難波栄二、小枝達也、大野耕策、橋本大彦、佐々木司. 日本人自閉症におけるホメオティック遺伝子の解析 第44回日本小児神経学会総会(仙台) 2002年6月27日—29日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

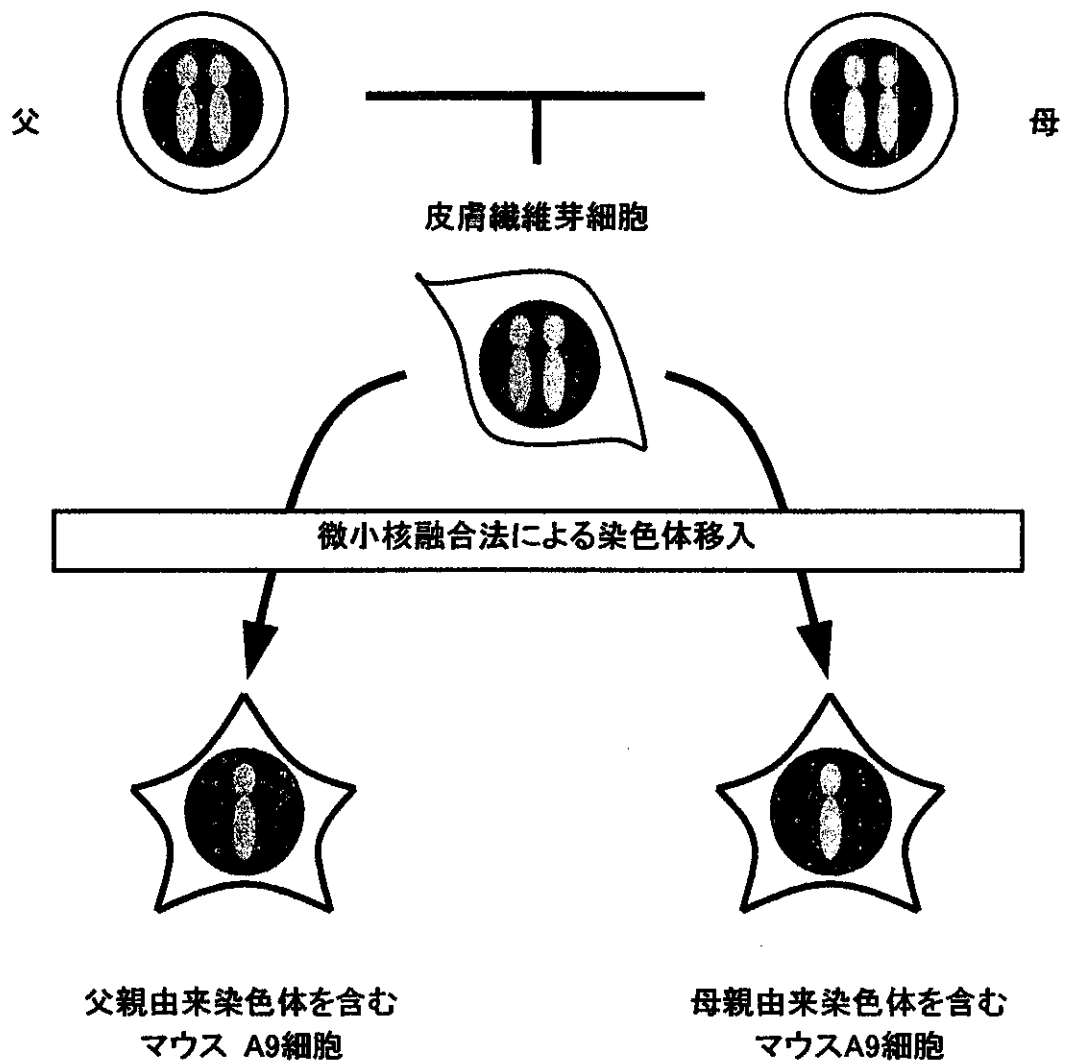


図1 ヒト染色体を1本のみ保持するA9細胞株の樹立

ヒト15番染色体導入マウスA9細胞

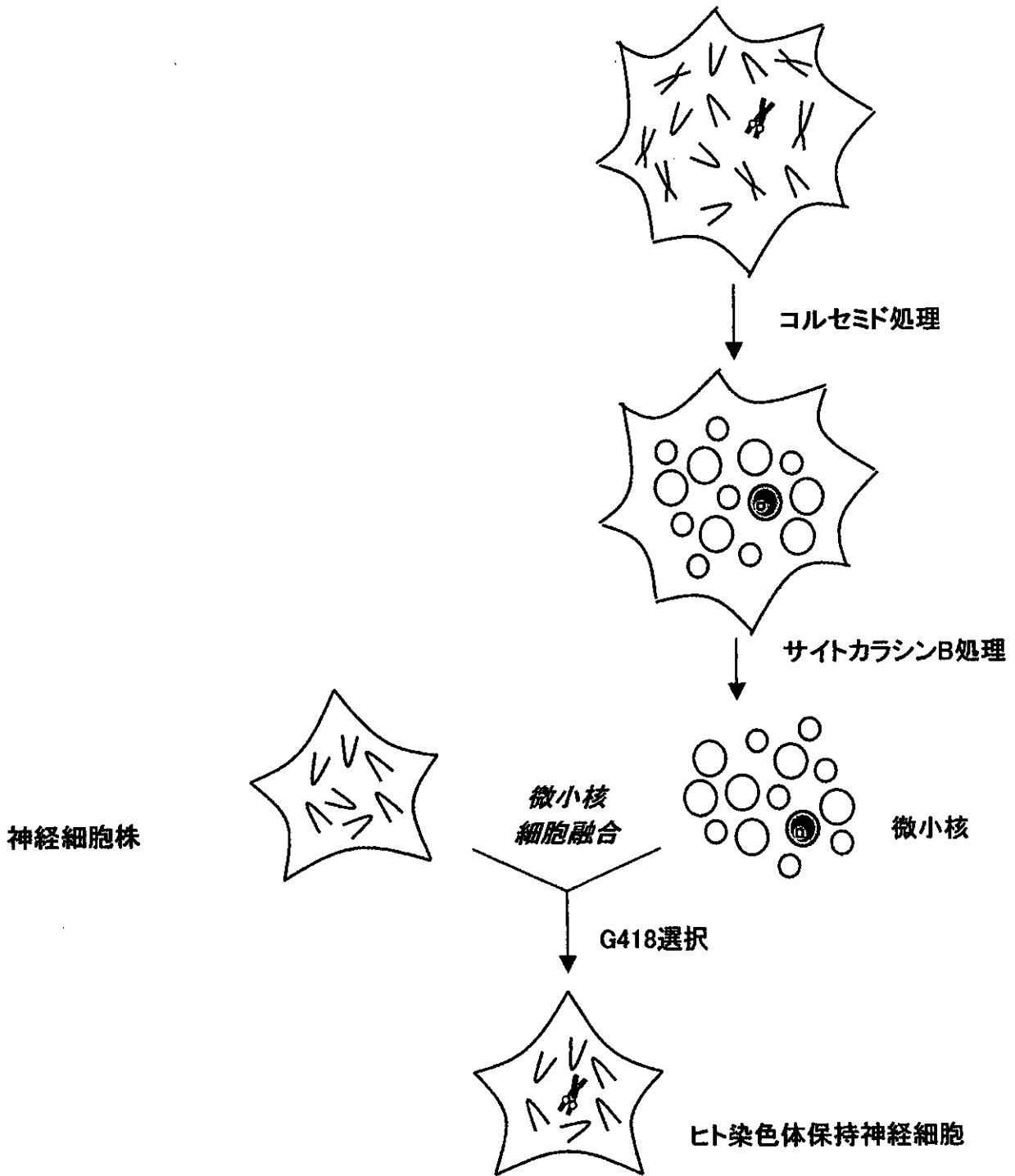


図2 ヒト15番染色体保持神経細胞の樹立

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
（分担）研究報告書

自閉症の原因解明と予防・治療法の開発
—分子遺伝・環境・機能画像からのアプローチ—

（分担）研究者 松本 英夫 東海大学医学部精神科学部門助教授

研究要旨

functional magnetic resonance imaging（以下fMRI）は脳機能を非侵襲的に測定することができる検査法である。自閉症者では健常者に比べて錯視（illusion）が生じにくいという報告がなされている（Happé 1994）が、PETやfMRIなど脳の機能との関連での報告はない。そこでまず5人の高機能自閉症者に健常者で錯視を生じやすい図形（今回使用するタスクとは異なる図形）を5枚見せたところ、健常者に比較して有意（ $p < 0.05$ ）に自閉症者でillusionが生じにくかった。そこでillusionを生じやすい図形を呈示するタスクを用いてfMRIを測定中である。現在、健常者6名に施行済みで順次測定予定である。高機能広汎性発達障害の患者では5名が検査に同意している状況である。

分担研究者氏名・所属機関名及び所属機関における職名

（分担研究報告書の場合は、省略）

A. 研究目的

現在までの自閉症に関するfMRI研究は高機能を対象にtheory of mindに基く表情認知などの研究が中心であった。一方、自閉症者では健常者に比べて錯視（illusion）が生じにくいという報告がなされている（Happé 1994）が、PETやfMRIなど脳の機能との関連での報告はない。今までは自閉症で欠陥のある機能と対応する脳内の活動を中心に研究が進められてきたが、図形の認知や記憶など自閉症で突出して優れている機能に焦点を当てることも自閉症の脳機能の解明に寄与すると考えられる。

B. 研究方法

予備実験として5人の高機能自閉症者に健常者で錯視を生じやすい図形（今回使用するタスクとは異なる図形）を5枚見せ錯視が生じる程度を健常者に比較する。

対象：① 18歳以上でWAIS-Rが85以上の高機能広汎性発達障害（高機能自閉症、アスペルガー障害、診断はDSM-IV）8名
② 性別、年齢、WAIS-R, socio-economic status (SES)（未成年、学生、無職の場合には親のSES）、educational levelをマッチングし、精神医学的な障害の存在や既往のない健常者16名
③ 全員右利きとする
④ 研究への参加の同意は文書にて頂く
方法：① 東海大学付属病院MRIセンターの1.5T Philips社製MRI装置を使用。② MRI装置内に横たわった被験者にタスクが映し出されるスクリーンを見て頂く。③ on/off box-car designにてタスクを呈示し、「左右のどちらが大きいか、あるいは同じに見えるか」を判定し手元のボタンを押して頂く（押す回数がそれぞれ1, 2, 0回）。④ offでは背景だけがスクリーン上に映し出される

（倫理面への配慮）

本研究は2003年11月に開催された東海大学医学部倫理委員会で承認を受けている。またデータは精神科内の鍵のかかる場所に管理し、結果を発表する時にはグループ間の比較の結果として提示されるため個人の同定はできない。

C. 研究結果

予備実験として5人の高機能自閉症者に健常者で錯視を生じやすい図形を5枚見せたところ健常者に比較して有意 ($p < 0.05$) に自閉症者でillusionが生じにくかった。そのような結果を踏まえて現在、fMRIを施行中であり、健常者6名に施行済みで順次測定予定である。高機能広汎性発達障害の患者では6名が検査に同意しており検査を施行する予定である。

D. 考察

高機能広汎性発達障害の患者では健常者に比較して錯視が生じにくいことは確かなようである。

E. 結論

fMRIを用いたわれわれの仮説は図形認知に際して自閉症者では健常者に比べて脳内の限局した部位を使用しているためillusionが生じにくいというものであるが、それは取りも直さず social dysfunctionなどの自閉症特有の障害にも同時に関与している可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし。

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）
（分担）研究報告書

自閉性障害に対する遺伝子解析研究

（分担）研究者 松本 英夫 東海大学医学部精神科学部門助教授

研究要旨

自閉性障害は多因子遺伝性疾患のひとつであり、その原因候補遺伝子（群）の同定は、自閉症性障害の原因や病態を明らかにしていく上で重要である。これらの原因候補遺伝子（群）の同定には大家系を用いた連鎖解析、罹患者とその同胞を用いた罹患者同胞対法、患者と健常対照者を比較する患者・対照相関解析、患者およびその両親を用いた連鎖不均衡伝達テストなどさまざまな方法がある。今回、われわれは本研究に対する同意の得られた自閉性障害患者およびその家族（n=104 trios）、健常対照者（n=95）のDNAサンプルを用い、原因候補遺伝子であるNotch 4遺伝子とSerotonin transporter遺伝子の遺伝子領域において患者・対照相関解析、連鎖不均衡伝達テストを行った。いずれの遺伝子領域においても有意な結果は得られず、どちらも自閉性障害との相関は否定された。今後はこれらの原因候補遺伝子（群）と自閉性障害の相関解析を進めていくと同時に、Single Nucleotide Polymorphism (SNP) やMicrosatelliteをgenome wideに解析し、自閉性障害の原因候補領域を同定していくことが重要と思われた。

分担研究者氏名・所属機関名及び所属機関における職名

（分担研究報告書の場合は、省略）

A. 研究目的

今日までに行われた自閉症性障害に対する家族研究や双生児研究の結果は、この障害に遺伝的な要因の関与があることや、それが多因子遺伝疾患であるということを示してきた。しかし、今日までの遺伝子解析研究は、その原因候補遺伝子を同定するまでに至っていない。

本研究の主要な目的は自閉症性障害の原因候補遺伝子（群）を明らかにすることである。今回はなかでも神経発達に関連する遺伝子として注目されているNotch 4遺伝子と、神経伝達物質として自閉性障害症例で高値を示すといわれているセロトニンのtransporter遺伝子に注目し、自閉症性障害との相関を検討する。

B. 研究方法

DNAサンプルの収集

1. 対象

1) 自閉性障害患者とその両親

東海大学病院精神科外来に通院中で、Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder, 4th edition（以下、DSM-IV, American Psychiatric Association）、International Classification of Disease（以下、ICD-10, World Health Organization）の2つの診断基準を用い、2名の児童精神科医により、自閉性障害と診断された患者およびその両親を対象にした。口頭および書面を用いて本研究に対するインフォームド・コンセントを行ったが、自閉性障害患者本人から同意が得られない場合にはその両親から同意を得た。

2) 健常対照者

DSM-IVのI軸、ICD-10で病名のつかない健常者に自閉性障害患者およびその両親に行ったものと同じインフォームド・コ