

Society for Neuroscience

- 2) Takei, N., Inamura, N., Hara, K., Yonezawa, K., Nawa, H (2003) mTOR-dependent local activation of translation machinery and protein synthesis in neuronal dendrites by BDNF. RNA 2003 Kyoto 24-27, Nov.
- 3) Inamura, N., Nawa, H., Takei, N. (2003) Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) activates translation elongation in cultured cortex neurons. RNA 2003 Kyoto 24-27, Nov.
- 4) 稲村直子、那波宏之、武井延之 (2003) BDNF により活性化される翻訳伸長過程の解析 第46回日本神経化学 新潟
- 5) 岩倉百合子、朴英善、武井延之、那波宏之 (2003) ラット線条体初代培養神経細胞における EGF ファミリー分子の放出調節 第46回日本神経化学 新潟
- 6) 宍戸裕二、田中隆之、岩倉百合子、東山繁樹、武井延之、那波宏之 (2003) 神経活動に依存した EGF family 分子のシェディング 第46回日本神経化学 新潟
- 7) 永野忠聖、難波寿明、武井延之、那波宏之 (2003) EGF の慢性投与は脳皮質 GABAergic ニューロンのシナプス機能を下方制御する 第46回日本神経化学 新潟
- 8) 横幕大作、Hussam Jourdi、永野忠聖、水野誠、武井延之、那波宏之 (2003) 上皮成長因子 (EGF)/ErbB シグナルはラット脳皮質においてシナ

プス関連蛋白質群の発現を調節する。

第46回日本神経化学 新潟

- 9) 荒木一明、川村名子、神辺太樹、石井京子、市川富夫、熊西敏郎、田中啓二、武井延之、那波宏之 神経細胞とグリア細胞で同定された新規 Zn フィンガー/RING フィンガー含有分子、Momo と Sakura 第46回日本神経化学 新潟

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 特許取得  
なし
- 2) 実用新案登録  
なし
- 3) その他  
なし

研究協力者

稲村直子 (長寿科学振興財団リサーチレジデント)

遺伝性精神遅滞症脆弱 X 症候群の分子機構解析とその治療への応用

分担研究者 難波栄二 鳥取大学生命機能研究支援センター 教授

研究要旨

正常日本人 761 名（男性 469 名、女性 292 名）の FMR1 遺伝子の CGG 繰り返し配列を検討した。CGG の長さは PCR の後に ALFred シークエンサーで解析するとともに、延長したアレルを検出するために非アイソトープハイブリダイゼーション法を用いた。解析の結果、60 繰り返しをもつ premutation と考えられるアレルが男性 1 名に検出された。また、41 以上の intermediate の繰り返しが 2 アレル検出された。これらの結果から、日本人での脆弱 X 症候群の保因者や患者頻度は欧米に比して決して少なくない可能性が示された。

また、脳に特異的なインプリンティング遺伝子を単離する為に differentially methylated region (DMR) に注目して研究を進めた。142 箇所 of DMR 候補領域から 41 箇所について脳の DNA で検討した結果 46%にあたる 19 箇所において DMR が確認された。それらの中で自閉症にも関連する可能性のある 22 番染色体の DMR 領域からインプリンティング候補遺伝子 2 つが単離された。これは脆弱 X 症候群の自閉症状の解明につながる重要な発見と  
考えられた。

A. 研究目的

本研究は脆弱 X 症候群の遺伝メカニズムの解明とその治療法の開発を目的としている。昨年度までに、脆弱 X 症候群の原因遺伝子である FMR1 遺伝子の CGG 繰り返し配列を解析する方法を確立した。本年度は、この方法を用いて正常日本人での CGG 繰り返し配列の頻度を検討し、保因者になりうるアレル (premutation) の有無を検討した。

また、脆弱 X 症候群で重要な自閉症状を解明するために、自閉症に関連する遺伝子の検討を続けている。自閉症は脳に関連するインプリンティング遺伝子が関連している可能性が高いことから、このインプリンティング遺伝子の解明が重要である。昨年度は脳特異的インプリンティング遺伝子を単離するためにヒト染色体を一本のみもつ神経細胞株の確立を目指した。しかしながら、ヒト 15 番染色

体に存在する脳特異的インプリンティングである UBA3A 遺伝子の発現を検討したが我々の作製した神経細胞株ではインプリンティングを示さず、この方法では限界があることが明らかになった。そこで、本年度は differentially methylated region (DMR) に注目して研究を進めた。DMR はアレル間で異なるメチル化状態を示すゲノム部分で、インプリンティングの分子機構として中心的な役割を果たすものと考えられている。今回は、すでに国立がんセンター研究所の白石らにより明らかにされている c。さらに、自閉症にも関連すると考えられるヒト染色体 22q におけるインプリンティング遺伝子の単離を行った。

B. 研究方法

1 CGG 繰り返し配列の解析

末梢血あるいはリンパ芽球から抽出した正常日本人 761 名 (男性 469 名、女性 292 名) の DNA を用いた。このゲノム DNA のほとんどはヒューマンサイエンス研究資源バンクからのものを用い、徳島大学ゲノム機能研究センター長、板倉光夫教授から供与を受けた。FMR1 遺伝子の CGG 繰り返し配列を PCR 法で検討するのは通常の方法では困難であるために、すでに確立している DMSO などの変性剤や 7'-deaza-dGTP を用いる特殊な PCR 法を用いた。プライマーは FM-

3(GCTCAGCTCCGTTTCGGTTTCACTTCGGT)、

FM-

6(AGCCCCGCACTTCCAGCTCCTCCA)

を用い、PCR 産物の正確なサイズは、ALFred シークエンサーで解析した。また、延長した CGG 繰り返しはこの方法では検出が困難なために、PCR 法と非アイソトープを利用したハイブリダイゼーション法で検出した。

#### ALFred シークエンサーによる解析

##### 1) PCR 条件の検討

PCR 溶液には、10 $\mu$ l 中にゲノム DNA 5-200ng、1 $\times$ PCR buffer、dATP、dCTP、dTTP、7'-deaza-dGTP 各 0.25mM、FM-3 プライマー(5pmol FM-3 & 3.98pmol Cy5-FM3、または 7.96pmol Cy5-FM-3)、10pmol FM-6 プライマー、10% DMSO、0.1U Ampli Taq Gold(Applied Biosystems) が含まれるように調整した。PCR は iCycler(BIO RAD)を用いて、94 $^{\circ}$ C で 3 分間初期酵素活性化を行い、変性 94 $^{\circ}$ C 1 分、アニーリング 63 $^{\circ}$ C 1 分、伸長 72 $^{\circ}$ C 1 分、のサイクルを 35 または 40 回繰り返し、最後に 72 $^{\circ}$ C 5min で加熱した。

##### 2) フラグメントサイズの解析

ゲルは 50ml 中に 6% HydroLink LongRanger、6M Urea、1.2 $\times$ TBE(1M Tris-HCl, 0.83M Boric Acid, 10mM EDTA Na2) が含まれるように調整し、厚さ 0.35mm のものを作成した。PCR 産物 2 $\mu$ l に変性剤 8 $\mu$ l を加え、95 $^{\circ}$ C で 5 分間熱変性した後氷中で急冷却し、その 5 $\mu$ l を電気泳動のサンプルとした。ALFred DNA Sequencer(Pharmacia)を用いて、0.6 $\times$ TBE で 1200V、26mA、45W、47 $^{\circ}$ C、480min の条件で電気泳動を行った。泳動後はソフトウェア AlleleLinks を用いて PCR 産物の長さの解析を行った。

#### 非アイソトープによるハイブリダイゼーション法

PCR 溶液には、10 $\mu$ l 中に DNA 20ng、1 $\times$ PCR buffer、dATP、dCTP、dTTP、7'-deaza-dGTP 各 0.25mM、FM-3、FM-6 各 10pmol、10% DMSO、0.1U Ampli Taq Gold(Applied Biosystems)が含まれるように調整した。PCR は iCycler(BIO RAD)を用いて、94 $^{\circ}$ C で 3 分間初期酵素活性化を行い、変性 94 $^{\circ}$ C 1 分、アニーリング 63 $^{\circ}$ C 1 分、伸長 72 $^{\circ}$ C 1 分、のサイクルを 40 回繰り返し、最後に 72 $^{\circ}$ C 5min で加熱する条件で行った。PCR 産物は 2% アガロースゲルで電気泳動を行った後、ナイロンメンブレン (Hybond N+) にブロッティングした。次に Perfect Hyb (Toyobo) 溶液にビオチンラベル (CGG)<sub>5</sub>オリゴヌクレオチドをプローブとして加え、42 $^{\circ}$ C で一晩ハイブリダイゼーションを行った。さらに Streptoavidine-alkaliphosphatase を反応させ、Lumiphos Plus による化学発光を行い LAS-1000plus(FUJIFILM)を用いて検出した。

#### 2 脳特異的インプリンティング遺伝子単離

## Bisulfite 処理を用いた塩基配列の決定 (図 1)

ヒト脳より抽出したゲノム DNA を用い、bisulfite 処理後に塩基配列を決定することによりメチル化の有無を検討した。これは、非メチル化のシトシン (C) は bisulfite 処理によりウラシル (U) (塩基配列解析ではチミン (T) として検出) に変化するが、メチル化を受けているシトシン (C) は変化しないという原理を用いている。

### 1) ゲノム DNA の bisulfite 処理

bisulfite 処理には CpGenome Modification kit (Serologicals Corporation) を用いた方法と、3.6M NaHSO<sub>3</sub>, 0.6mM HQ (4.04M NaHSO<sub>3</sub>, 10mM HQ, 6M NaOH pH 5.0) とゲノム DNA を反応させ、Wizard DNA Clean-Up System column (Promega) を用いて精製し、エタノール沈殿によって DNA を回収する方法を併用した。

### 2) DMR 候補領域の物理的地図および PCR プライマーの作成

NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) の BLAST を用い、DMR 候補領域の存在するゲノム領域を検索し各染色体上の位置を明らかにした。Bisulfite 処理によりメチル化を受ける CpG ジヌクレオチドのシトシン以外は全てチミンに変換されることを想定し BLAST データベースの情報に基づきプライマーを作成した。

### 3) PCR 法

PCR 反応容量が 10  $\mu$ l となるよう MQ 水を 4.65  $\mu$ l、dNTPs を 1.25  $\mu$ l、10 $\times$ buffer (各 2mM) を 1.0  $\mu$ l、プライマー (10  $\mu$ M) を各 1.0  $\mu$ l、Ampli Taq Gold (Roche) を 0.1  $\mu$ l にゲノム DNA (50ng/ $\mu$ l) 1.0  $\mu$ l を加えた。これを PCR 法 (95°C

で 10 分間 denature した後、95°C 30 秒、プライマーに応じたアニーリング温度で 30 秒、72°C 30 秒をそれぞれのプライマーに応じたサイクル、最後に 72°C で 5 分) によって増幅反応を行った。

### 4) 電気泳動および PCR 産物のダイレクトシーケンス解析

PCR 産物の電気泳動は 2% のアガロースゲルで行い、エチジウムブロマイドにより染色を行った。PCR 産物の精製には QIA quick Gel extraction kit (QIAGEN) または Multiscreen-PCR (Millipore) を用いた。シーケンス反応は BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Ver.3.0 (Applied Biosystems) を用いて 96°C 30 秒、50°C 10 秒、60°C 4 分 (25 サイクル) で行い、シーケンス解析は 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) で行った。

## 22 番染色体における DMR 候補領域の遺伝子解析

### 1) ヒト 22 番染色体を含むマウス A9 雑種細胞の選択

ヒト染色体を一本のみ保持するマウス A9 雑種細胞ライブラリー 700 株の中からヒト 22 番染色体上に存在する STS マーカー (D22S420、D22S1144、D22S272、D22S1170) を用いて細胞株を選択した。さらにこれらの STS マーカーは ALFred automatic sequencer を用いて解析した。

### 2) RT-PCR による発現解析

各遺伝子の塩基配列情報は National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) データベースより得て、既知の多型を含むように PCR プライマーを設計した。各細胞株からの total RNA 抽出には RNeasy Mini kit (QIAGEN) を用い、DNase

I (Takara) 処理を行った後、オリゴ dT プライマー、逆転写酵素を用いて cDNA を合成した。cDNA 合成の確認のため、glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を用いて PCR を行った。PCR 条件は 95°C 45 秒、58°C 30 秒、72°C 1 分 30 秒を 36 サイクル、最後に 72°C で 5 分とした。

(倫理面での配慮)

本研究は鳥取大学医学部倫理委員会、ならびに徳島大学医学部倫理委員会の承認を得て行った。

## C. 研究結果

### 日本人での FMR1 遺伝子の CGG 繰り返し配列の解析 (図 2、表 1)

正常日本人 761 名 (男性 469 名、女性 292 名、計 1053 アレル) について解析を行った。最初にすべての検体を ALFred シークエンサーで解析した。この結果、男性でピークが検出されなかった検体と女性で 1 つのピークしか検出できなかった検体 (合計 192 アレル) では、解析範囲を超えた長い CGG 繰り返しをもつ可能性を考え、さらに非アイソトープによるハイブリダイゼーション法で解析を進めた。この結果、非アイソトープによるハイブリダイゼーション法で一人の男性から 400bp のバンドが検出された。これは、60 リピートの premutation アレルと判断された。また、41 を超える intermediate のリピートをもつアレルも二つ (45 リピート、46 リピート) 検出された。

### 脳特異的インプリンティング遺伝子単離 (図 3、図 4、表 2)

全候補領域のうち、45 箇所の検索を行い、ヒト脳組織においてもメチル化状態に差異が認められる CpG アイランドを 19 箇所同定した (図 3、表 2)。具体

的解析例を図 4 に示す。脳組織においてヒト染色体 1、2、3、5、6、7、14、16、17、18、20、22 番上の 19 箇所がヘミメチル化状態で、インプリンティング領域の可能性を示した。それ以外の箇所においてはほぼ全ての CpG がそれぞれメチル化状態または非メチル化状態であった。

### 22 番染色体上のインプリンティング候補遺伝子の解析 (図 5、図 6、図 7、図 8)

22 番染色体の解析では、マウス A9 雑種細胞は全 700 株のうちヒト 22 番染色体を保持する 8 細胞株が得られた (図 5)。さらに、これらの親由来を同定するために 22p13 および 22q12.1 領域にある STS マーカー、D22S420 と D22S1144 を用いて多型解析を行ったが親起源の同定に有用な多型は見つからなかった。正確には 22 番染色体を保持するマウス A9 細胞株 13 株の親由来は同定できなかったが、D22S1144 の解析では父、母、子全ての検体において 190bp と 194bp のピークが認められるヘテロであったため、少なくとも父、母いずれかの染色体を保持する細胞株の選別が可能であった (図 6)。そのうち一つの遺伝子 X の上流に存在する DMR 候補領域 CpG22-02 にアレルを識別可能な SNP (A/G) が認められた。この部分を解析してみると G アレルは一部非メチル化であるのに対し、A アレルは高度にメチル化されていることが明らかになった。 (図 7)。

9 つのインプリンティング候補遺伝子の発現を解析したところ、遺伝子 X では 4 家系のうち 1 家系で父方優位な発現を、遺伝子 Y では 5 家系のうち 1 家系で母方発現を示した (図 8)。その他の遺伝子はすべて両アレル性発現を示した。

## D. 考察

### 日本人での FMR1 遺伝子の CGG 繰り返し

## し配列の解析

脆弱 X 症候群の頻度は欧米では約 3,500 人から 9,000 人の男性に一人と考えられている。これは、精神遅滞患者の解析のみならず正常の人の解析結果からも推定されている。正常人を対象にした欧米での大掛かりな研究によると、一般の女性が premutation (60 繰り返しから 200 繰り返し) アレルをもつ頻度は 1/250 から 1/470 と報告されている。また、一般の男性における premutation アレルをもつ頻度は 1/800 から 1/1000 程度とされている。一方、日本人での検討は 1993 年に有波らにより報告されているのみである。この中では 370 人に男性を対象に解析されたが、CGG 繰り返しは 18 から 44 の範囲で premutation は検出されなかった。1995 年には我々は男性精神遅滞患者約 230 例の解析結果を報告したが、その解析結果からは日本人男性における脆弱 X 症候群の頻度は約 1/10,000 と推測していた。しかしながら、日本人を対象にした population ベースの研究はその後進んでいなかった。

今回の検討は日本人では初めての population ベースの研究である。今回の検討で 761 名の検討で男性一人に 60 繰り返しの premutation アレルを検出した。これはさらに進んだ研究が必要とされるが、欧米のデータと比較しても決して少なくない頻度と考えられる。また、予備軍と考えられている intermediate リピート (41-60) も 2 アレル検出された。今後さらに解析の数を増やして行く予定である。また、今回検出されて premutation の塩基配列の特徴やハプロタイプの解析などを進める予定である。

## 脳特異的インプリンティング遺伝子単離

今回は国立がんセンターの白石らのヒト正常肺組織を用いた解析から得られた DMR の候補領域を解析した。脳組織においても 41 箇所のうち 46%にあたる 19

箇所において DMR が確認されたために、脳に特異的なインプリンティング遺伝子単離にも利用可能と考えられた。しかしながら、近年脳のみの特異的なインプリンティングを示す遺伝子も発見されてきており、ヒト脳組織からの直接的な研究が必要と考えられる。今回見つかった候補領域からはさらにインプリンティング遺伝子を単離する努力を続ける。

## 22 番染色体上のインプリンティング候補遺伝子の解析

DMR 候補領域の中で自閉症などの精神疾患に関連する領域のうちの一つである 22 番の解析を行ったところ、9 のうち 2 つの遺伝子がインプリンティング遺伝子である可能性が高まった。脆弱 X 症候群患者では精神遅滞以外に自閉的な症状を呈することも多く、自閉症との関連が注目されている。脆弱 X 症候群の原因である FMR1 遺伝子は他の多くの遺伝子を制御していると考えられている。そのために、今回明らかになった遺伝子と FMR1 遺伝子の関連を研究することが重要である。さらに、自閉症などの検体を用いて解析を進めることにより、自閉症などの研究にも貢献する予定である。

## E. 結論

1. 日本人で初めての一般人口での CGG 繰り返し配列の検討を行った。
2. 761 名 (男性 469 名、女性 292 名) の解析により 1 名に premutation が見付き、日本人での保因者の頻度が欧米に比して少なくない可能性が示唆された。
3. 142 箇所の differentially methylated region (DMR) の候補から 41 箇所を解析し、脳に関連するインプリンティング遺伝子が存在する可能性のある領域を 19 箇所同定した。
4. 22 番染色体上では脳に関連するイ

ンプリンティング遺伝子 2 個を同定した。これらは脆弱 X 症候群の自閉症状の研究に役立つのみならず、自閉症などの研究にも貢献すると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Marui T, Hashimoto O, Nanba E, Kato C, Tochigi M, Umekage T, Kohda K, Kato N, Sasaki T. An association between the neurofibromatosis-1 (NF1) locus and autism in the Japanese population. *Am J Med Genet* (in press).
2. Maegawa S, Itaba N, Otsuka S, Kamitani H, Watanabe T, Tahimic C. G. T., Nanba E, Oshimura M. Coordinate Downregulation of a Novel Imprinted Transcript *ITUP1* with *PEG3* in Glioma Cell Lines. *DNA Research* 11, 1-13 (2004)
3. Feng JH, Yamamoto T, Nanba E, Ninomiya H, Oka A, Ohno K. Novel TSC2 mutations and decreased expression of tuberin in cultured tumor cells with an insertion mutation. *Hum Mutat.* 2004 ;23:397.
4. Ueta E, Maekawa M, Morimoto I, Nanba E, Naruse I. Sonic hedgehog expression in Gli3 depressed mouse embryo, Pdn/Pdn. *Congenit Anom Kyoto.* 2004 ;44:27-32.
5. Marui T, Hashimoto O, Nanba E, Kato C, Tochigi M, Umekage T, Kato N, Sasaki T. Gastrin-releasing peptide receptor (GRPR) locus in Japanese subjects with autism. *Brain Dev.* 2004 ;26:5-7.
6. Saito M, Tominaga L, Nanba E,

Miyagawa I. Expression of heat shock protein 70 and its mRNAs during ischemia-reperfusion in the rat prostate. *Eur J Pharmacol.* 2004;487(1-3):199-203.

7. Ueta E, Tadokoro Y, Yamamoto T, Yamane C, Suzuki E, Nanba E, Otsuka Y, Kurata T. The effect of cigarette smoke exposure and ascorbic acid intake on gene expression of antioxidant enzymes and other related enzymes in the livers and lungs of Shionogi rats with osteogenic disorders. *Toxicol Sci.* 2003 ;73(2):339-47. 2003 Apr 15.

##### 2. 学会発表

1. 大塚晋、前川真治、白石昌彦、難波栄二、押村光雄 ヒト 19 番染色体上の新規インプリンティングドメインの同定とグリオーマ細胞株における DNA メチル化状態の解析 日本分子生物学会 第 3 回春季シンポジウム (米子) 2003 年 5 月 12 日-13 日 (火)
2. 大塚晋、前川真治、鷺野伸恵、板場則子、白石昌彦、難波栄二、押村光雄 DMR を指標としたヒト新規インプリンティングドメインの検索 日本人類遺伝学会第 48 回大会 (長崎) 2003 年 10 月 21 日-24 日
3. 鷺野伸恵、板場則子、大塚晋、前川真治、白石昌彦、難波栄二、押村光雄 アレル特異的メチル化を指標としたヒト新規インプリンティングドメインの検索 : 22 番染色体の解析 第 26 回日本分子生物学会年会 (神戸) 2003 年 12 月 10 日-13 日
4. 板場則子、鷺野伸恵、大塚晋、前川真治、白石昌彦、難波栄二、押村光雄 アレル特異的メチル化を指標としたヒト新規インプリンティングドメインの検索 : 2 番および 5 番染色

体の解析 第 26 回日本分子生物学  
会年会（神戸） 2003 年 12 月 10 日  
-13 日

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし



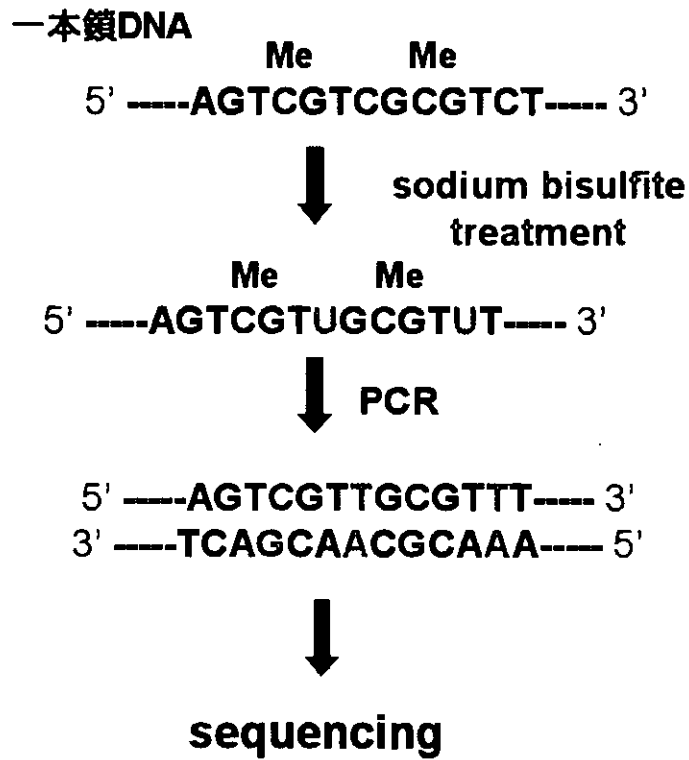


図 1 bisulfite sequencing 法によるDNAメチル化解析

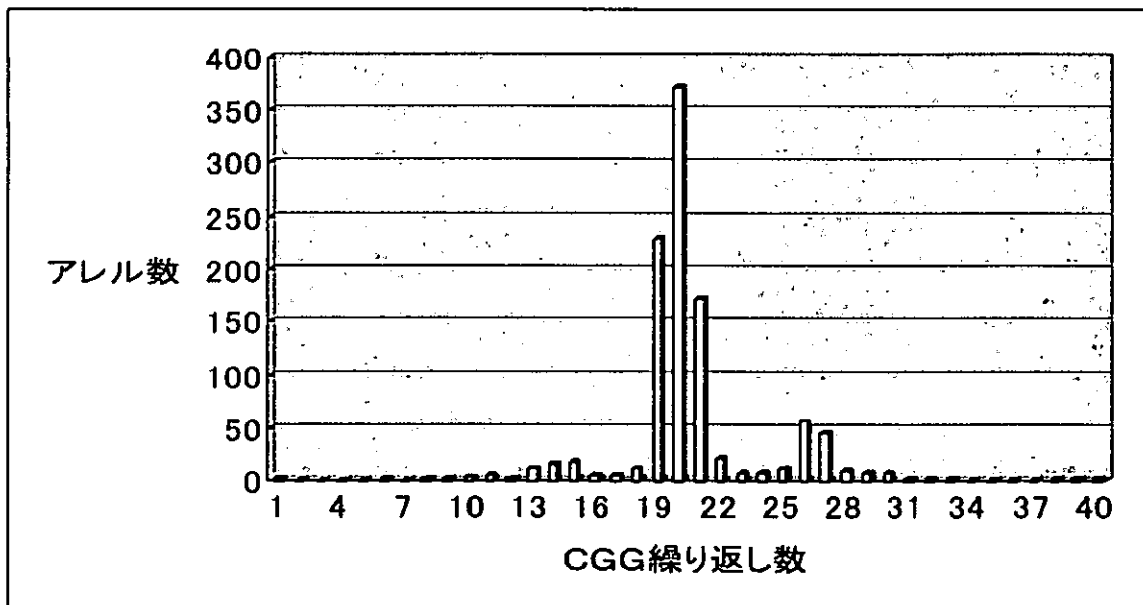


図2 日本人のFMR1遺伝子CGG繰り返し数

表 1 正常日本人での CGG 繰り返し配列数

CGG 繰り返し配列数	サンプル数	CGG 繰り返し配列数	サンプル数
8	1	29	22
9	0	30	7
10	0	31	8
11	0	32	11
12	0	33	56
13	1	34	46
14	0	35	9
15	1	36	8
16	2	37	7
17	3	38	1
18	6	39	1
19	2	40	1
20	11	41	0
21	16	42	0
22	17	43	0
23	5	44	0
24	6	45	1
25	12	46	1
26	229	60	1
27	370		
28	172		
		合計	1053

表 2 脳組織、線維芽細胞における DNA メチル化解析結果

Sample ID	Region	DMR Status	Sample ID	Region	DMR Status	Sample ID	Region	DMR Status
01-01 B3861	Transiting domain	DMR candidate	05-10 B349			15-04 B1543		
01-02 B6190		PCR condition	05-11 B6350	Autism candidate region	PCR condition	15-05 B2461		
01-03 B1138		condition	05-12 B3605	Autism candidate region	DMR candidate	15-06 B1997	Autism candidate region	unmethylated
01-04 B4311			05-13 B6468	Autism candidate region	DMR candidate	15-07 B4334	Autism candidate region	
01-05 B2616			05-02	Transiting candidate	DMR candidate	15-08 B6377	Autism candidate region	
01-06 B1243			06-01 B4114	Transiting candidate	DMR candidate	15-09 B3256	Autism candidate region	
01-07 B2251		unmethylated	07-01 B1946		unmethylated	15-10 B2162	Autism candidate region	
01-08 B2212			07-02 B4130		DMR candidate	15-11 B832	Autism candidate region	
01-09 B3006			07-03 B4643			15-12 B3574	Autism candidate region	
01-10 B380			07-04 B976			15-13 B2427	Autism candidate region	PCR condition
01-11 B1974			07-05 B783			15-14 B4094		unmethylated
01-12 B2727			07-06 B3022			15-15 B6451		unmethylated
01-13 B5034			08-01 B6509			15-16 B2006		
01-14 B5329			08-02 B687			15-17 B3201		
01-15 B370	Metastomase candidate region	DMR candidate	08-03 B2458			15-18 B1294		DMR candidate
02-01 B494	Transiting domain	DMR candidate	08-04 B3999			15-19 B1383		
02-02 B4007			08-05 B464			15-20 B420		DMR candidate
02-03 B5597		unmethylated	08-06 B1389			15-21 B1074		DMR candidate
02-04 B1373	Autism candidate region	unmethylated	08-07 B1343	Autism candidate region	methyated	15-22 B3114		DMR candidate
02-05 B2561	Autism candidate region	methyated	08-08 B4084	Autism candidate region	unmethylated	15-23 B4048	Autism candidate region	DMR candidate
02-06 B2729	Autism candidate region	DMR candidate	08-09 B2209	Autism candidate region		15-24 B344		
02-07	Neurexins candidate region		08-10 B3637	Autism candidate region		15-25 B4341	Transiting candidate	DMR candidate
02-08 B463			08-11 B476	Transiting domain		15-26 B2194		unmethylated
02-09 B4342			08-12 B3099	Transiting domain	unmethylated	15-27 B3781	at 11p15.5 (retardation)	methyated
02-10 B434			08-13 B6337			15-28 B1574		DMR candidate
02-11 B1892			08-14 B5927			15-29 B4807		methyated
02-12 B3819			08-15 B123	Autism candidate region		15-30 B688		DMR candidate
02-13 B3485	Autism candidate region	DMR candidate	08-16 B4074			15-31 B1883		methyated
02-14 B1206	Transiting domain	methyated	08-17 B2025			15-32 B2417		
02-15 B1495			08-18 B33			15-33 B3307		
02-16 B4375	Autism candidate region	DMR candidate	08-19 B3865	Metastomase candidate region	unmethylated	15-34 B1152		
02-17 B5718	Autism candidate region		08-20 B1337	Metastomase candidate region	unmethylated	15-35 B1203	Transiting domain	unmethylated
02-18 B824	Autism candidate region		08-21 B1065	Transiting domain		15-36 B1434	Transiting domain	DMR candidate
02-19 B1305	Transiting candidate	PCR condition	08-22 B2538	Transiting domain	PCR condition	15-37 B925	Transiting domain	
02-20 B325	Transiting candidate	DMR candidate	08-23 B831	Transiting domain		15-38 B950		
02-21 B3980		PCR condition	08-24 B4849		DMR candidate	15-39 B4354		
02-22 B3690		DMR candidate	08-25 B4657			15-40 B1494		methyated
02-23 B4799		PCR condition	08-26 B168			15-41 B2837		
02-24 B5151			08-27 B673	Transiting domain	unmethylated	15-42 B4090	Metastomase candidate region	DMR candidate
			08-28 B3442	Transiting domain		15-43 B127	Metastomase candidate region	unmethylated

DMR candidates: 19 / 41 (46%)

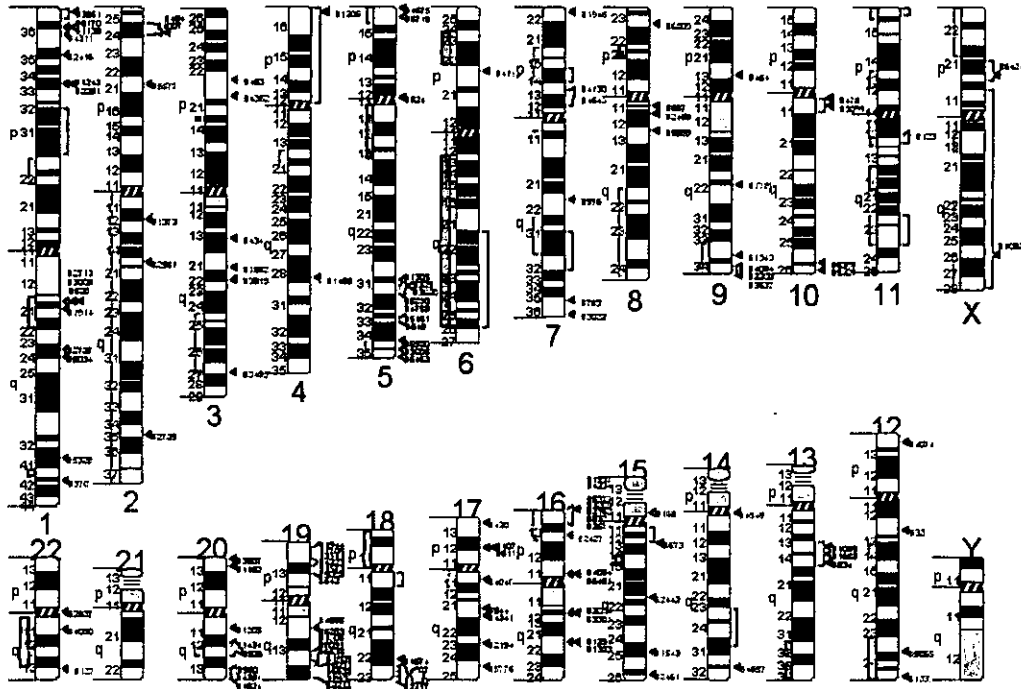
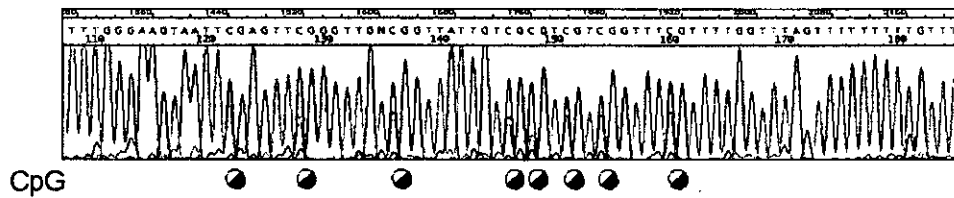


図 3. ヒト染色体上のDMR候補数の位置

▲ はDMR候補領域の位置、▬ は既知のインプリンティングドメイン  
 ▬ は自閉症感受性領域、▬ は統合失調症感受性領域を示す。

CpG22-02 (22q11) <DMR候補領域>



CpG22-01 (22p11) <両アレルメチル化領域>

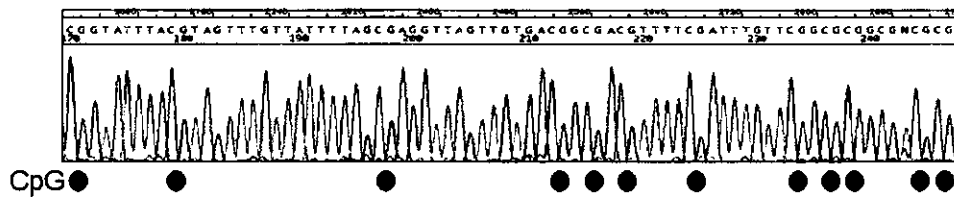


図 4 ヒト脳組織におけるDNAメチル化解析例

● はDNAメチル化を受けるCpG、○ はメチル化状態の異なるCpGを示す。

		45-1	46-2	46-3	51-5	51-6	51-8	51-9	51-10
D22S420	22p13	-	+	+	+	-	+	-	-
D22S1144	22q11.2	+	+	+	+	+	+	+	+
遺伝子A	22q11.2	+	+	+	+	-	+	+	+
遺伝子B	22q11.21	-	-	+	+	+	+	+	+
遺伝子C	22q11.21	+	+	+	+	+	+	+	+
遺伝子X	22q12.1	+	+	+	+	+	-	+	+
遺伝子D	22q12.1	+	-	+	+	+	+	+	+
D22S272	22q12	+	-	-	+	+	+	+	+
遺伝子E	22q13	-	-	+	+	-	+	+	+
遺伝子Y	22q13	+	+	+	+	+	+	+	+
遺伝子F	22q13.1	+	+	+	+	-	+	+	+
遺伝子G	22q13.2	+	+	+	+	+	+	+	+
遺伝子H	22q13.31	+	-	+	+	-	+	+	+
D22S1170	22qtel	+	-	-	-	-	+	-	+

図5 マウスA9細胞株におけるヒト22番染色体の保持領域

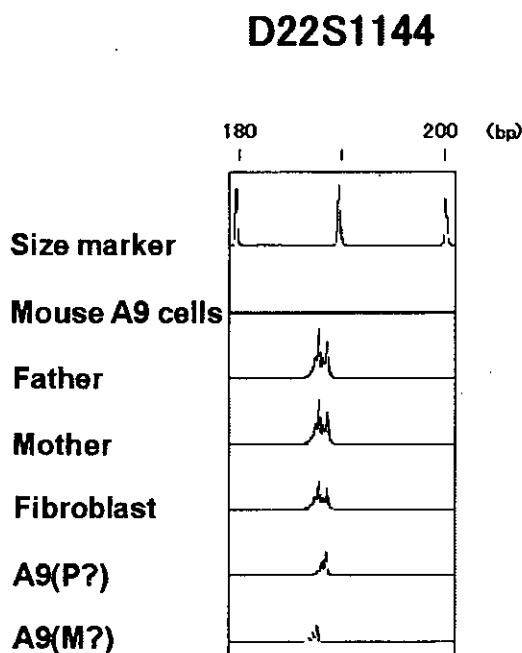


図6 マウス細胞に維持されているヒト染色体親起源の同定

### CpG22-02

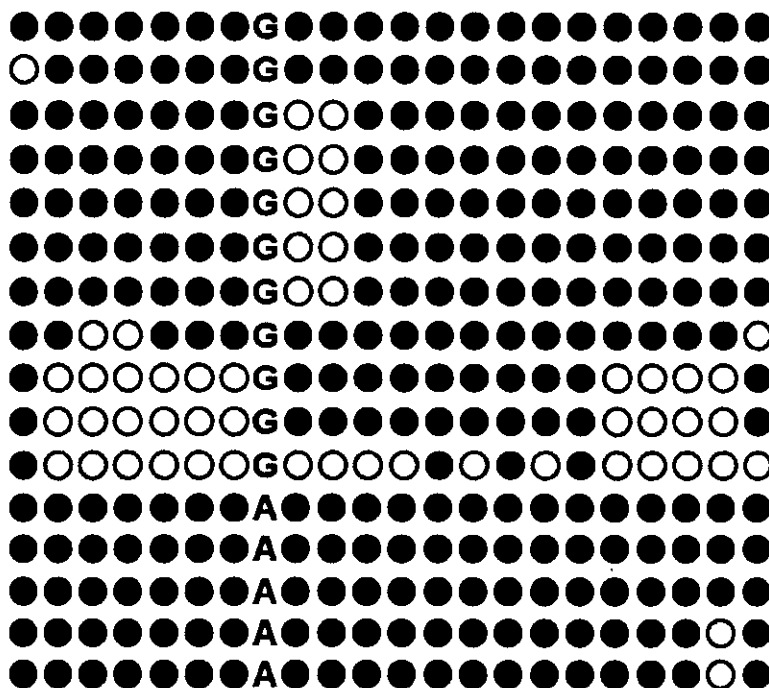


図7 遺伝子Xの脳組織におけるDNAメチル化状態

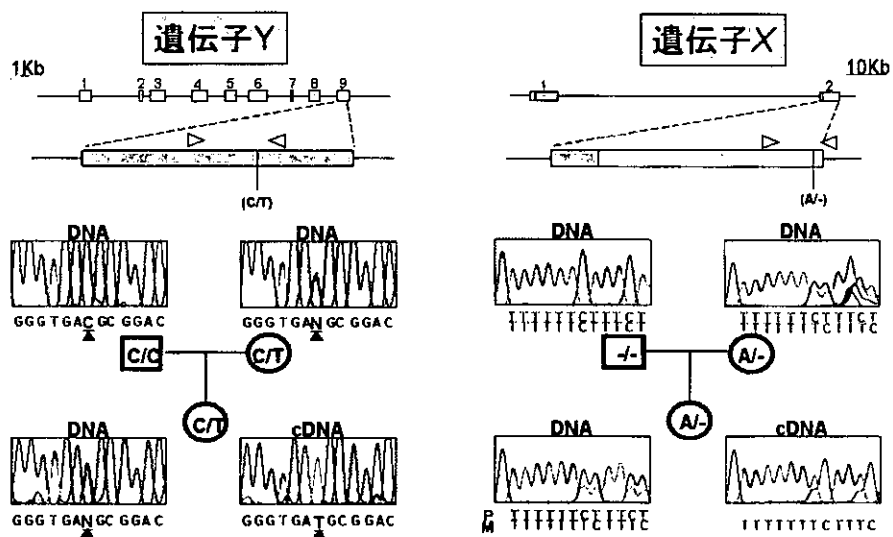


図8 正常ヒトリンパ芽球様細胞における発現解析

脆弱 X 症候群の神経心理学的研究

自閉性障害との比較を通して

分担研究者 加我牧子

国立精神・神経センター精神保健研究所 知的障害部 部長

研究要旨

脆弱 X 症候群と類似した心理的特徴を示す発達障害である自閉性障害児・者（2-26 歳）を対象として、発達・知能検査を主とする神経心理学的評価の結果を集積し、知能、言語能力、視覚認知に関する各指標の年齢および発達による変化と、各指標の関連について検討した。また、すでに得られている脆弱 X 症候群の症例による結果と比較した。その結果、自閉性障害においては言語能力が発達にしがたい低下する可能性が示され、全般的な知能指数（IQ）と人物描画能力が乖離した例が多かった。脆弱 X 症候群の例は言語能力が相対的に高く、視覚認知が保たれ、記憶能力に特異的なプロフィールを示していた。本症候群においては、言語能力の詳細な検査を中心とした評価を行なうことで、認知機能の特徴を明らかにし、療育や訓練に役立つ情報を得ることができると考えた。

A. 研究目的

われわれは本研究班の初年度に全国の小児神経科専門医や知的障害関連施設などを対象としたアンケート調査（回答数 504 件）により、これまでに脆弱 X 症候群の診断検査を利用したことのあるものは全体の 18.4%、検査による診断確定数はのべ 56 人であることを明らかにし、検査実施数に対する陽性率を 2.2%、全回答における施設利用者に対する陽性率を 0.13%と推定した<sup>10)</sup>。

また昨年度は同様の手法で再調査したところ<sup>11)</sup>、この一年間に全国で 9 例の本症候群例が新たに確定し、確定者の年齢は 4 例（44.4%）が 6 歳未満であった。これ

らの結果から、わが国における本症候群の有病者は全国で 600 人程度、年間発生数は出生男児数 60 万人に対して 0.3-1 人と推測した。

脆弱 X 症候群は X 染色体連鎖の遺伝性精神遅滞の多くを占め、男性例の 80%が軽度から重度の精神遅滞を示す<sup>19)</sup>とされるが、小児期において全体的な行動レベルは他の発達障害児よりも高く、発達に領域ごとのばらつきはないとされている<sup>1,13)</sup>。すなわち認知、行動、適応面での特異的な違いはないという<sup>5)</sup>。

その一方で、成人例を含めた検討では、性格・行動上の特徴として社会的な機能獲得の遅れ、社会的引きこもり、他者の

視線を嫌う、注意の障害や多動、不安や抑うつ、自閉的な行動が指摘され、神経心理学的な研究では言語機能、視空間認知機能、作業関連記憶の障害があげられている。自閉性障害者の 10-16%に脆弱 X 症候群が見出されたという報告<sup>5)</sup>や、FRAXE が非特異的な自閉性障害に多くみられるという報告もあり、本症候群が自閉症スペクトラム障害 (autism spectrum disorders: ASDs) に潜在するという考えもある<sup>1)</sup>。

なお自閉性障害は発達早期に診断される対人的コミュニケーションの質的および量的な発達の障害を示し、精神遅滞を伴うことが多い。発症原因が確定されておらず各国で遺伝子検索が進められ、これまでに常染色体 14, 20 番を除くすべての染色体で異常が報告されている<sup>20)</sup>が、そのなかには X 染色体長腕末端部 (Xq23) の遺伝子 DXS287 におけるアリル (RsaI allele) が健常児と異なるとし、脆弱 X 症候群と自閉性障害との遺伝的関連性を指摘するもの<sup>22)</sup>もある。

ところで近年、精神遅滞を含む発達障害の医療においては、ライフサイクルの視点から、それぞれの発達障害の自然歴や加齢による心身機能の変化を明らかにし、構造や機能の障害にとどまらず社会生活の制約といった視点で支援を検討する流れ<sup>6)</sup>が起きている。本症候群男性の発達経過の特徴としては、\_知能は小児期に有意な低下を示し<sup>17)</sup>、継次処理とよばれる step-by-step の処理能力は低く<sup>4)</sup>、\_思春期 (10-15 歳の間) には低下が天井効果を示し<sup>9)</sup>、\_知能指数 (IQ 値) は 18 歳以上では変化しない<sup>7)</sup>一方で、\_多動や衝動性は年齢とともに減少する<sup>2)</sup>ことなどが報告されている。また、家庭や学校といった

環境も本症候群児・者の性格や行動を変化させ得る因子とされる<sup>8)</sup>。

したがって自閉性障害や自閉性障害を伴わない精神遅滞の認知機能を明らかにし、本症候群の特徴と比較することは、鑑別診断だけではなく効果的な療育や訓練の計画と実施にも有効である。

そこで最終年度である本年度は、自閉性障害を有する例について、実施した心理学的検査の結果を検討し、自閉性障害の認知機能の特徴を明らかにし、すでに得られている脆弱 X 症候群児・者 2 人の結果と比較を試みた。

## B. 研究方法

データの収集方法はカルテ調査により行った。即ち、東京にある医療機関の発達障害専門外来を利用している、ICD-10 の自閉性障害の診断基準を満たしその他の神経学的疾患などを認めない例を検索し、結果的に 43 人のデータを抽出した。このうち男性は 31 人、女性は 12 人で、年齢は平均 ( $\pm$ SD) で 9.9 ( $\pm$ 4.4) 歳、範囲は 2 歳 6 月から 26 歳である。

各例のカルテを参照したところ、診療として経過観察の目的で心理検査を複数回実施した例があるため、のべ 80 人のデータを解析対象とした。

心理学的検査は、知能検査としてウェクスラー知能検査 (Wechsler Adult Intelligence Scale Revised WAIS-R, Wechsler Intelligent Scale for Children: WISC-R または III)、田中ビネー知能検査、新版 K 式発達検査、グッドイナフ人物画知能検査 (Draw a man DAM)、大脇式精薄児用知能検査、Kohs 立方体知能検査、レーヴン色彩マトリシス検査、津守・稲毛式発達検査、認知の処理過程をみる検査としてカウフマン心理教育ア

セスメントバッテリー (K-ABC), 言語発達の検査としてイリノイ心理言語発達検査 (ITPA), 視知覚の発達の検査としてフロスティグ視知覚発達検査を解析の対象とした。

これらの検査結果について, 複数回実施し得たウェクスラー知能検査については継時的な変化を検討し, また, 他のテストとの関連を検討した。

### C. 研究結果

#### 1. ウェクスラー知能検査 (WAIS-R または WISC) の結果について

言語性知能 (VIQ), 動作性知能 (PIQ), 全検査知能 (FIQ) の結果を図 1 から 3 に示した。図 1 と図 2 を比較すると, PIQ は VIQ に比べて 70 以上の人数が多かった。

また, 各下位検査の成績, WISC-III で算出される各群指数, その他の知能検査の平均および標準偏差を表 1 に示した。

各知能指数の継時的な変化を見ると, PIQ には有意な変化がないが, 一方 VIQ については上昇した例と下降した例が認められた (表 2)。

群指数の継時的な変化は, 群指数を算出できる WISC-III を実施し得た 5 人のデータについて検討した。図 4 に示すように, 言語理解指数は 2 人で, 知覚統合指数は 3 人で, 処理速度指数は 4 人でそれぞれ上昇していた。注意記憶指数は 1 人で上昇したのち下降していた。

また, 5 人の各群指数を個人内で見ると, 群指数のうち知覚統合指数がもっとも高いプロフィールを示したのは 3 人, 処理速度がもっとも高かったのは 2 人であった。

#### 2. ウェクスラー知能検査 (WISC) とその他の検査結果との関連について

#### 2.1. グッドイナフ人物画知能検査 (DAM) との関連について

WISC の全検査知能 (FIQ) と DAM の IQ, 二つの知能指数の関連を図 5 に示した。完全な相関を示す Pearson の相関係数  $r=1.0$  の直線をプロットすると, その直線に近似した分布を示す例, すなわち二つの IQ が類似している例と, 円で囲んだように一方の値が年齢平均から有意に低下 ( $-2SD$ ) し両者の値に乖離が見られる例が合計 7 例あった。また直線によって IQ の高低を区分すると, WISC の方が高い IQ 値を示す例 ( $WISC > DAM$ ) に比べて, DAM の方が高い IQ 値を示す例 ( $WISC < DAM$ ) が多かった。DAM の IQ と FIQ の相関は表 3 に示すとおり有意ではなかった。

#### 2.2. K-ABC との関連について

カウフマン心理教育アセスメントバッテリー (K-ABC) について, 二つの処理過程の標準得点と WISC の FIQ との関連を図 6, 7 に示した。

まず, 模様の構成課題など視覚呈示した刺激への応答を見る同時処理過程と, 視覚および聴覚による呈示刺激の記銘を要する継次処理過程からなる認知処理過程尺度については, ほぼ直線状の分布を示した。一方の値のみが有意に低かった例 (乖離例) は円で囲んだ 5 例であった。認知処理過程尺度と FIQ の相関は一次式:  $FIQ = 1.10 \times \text{認知処理過程尺度} - 21.65$  で表わされ, 決定係数  $R^2 = 0.75$  であった。

計算や読字といった学習機会の繰り返しによる習得能力を反映する習得度尺度については, FIQ との乖離例は 4 例であった。両指数の相関は  $FIQ = 0.96 \times \text{習得度尺度} - 4.32$  で表わされた ( $R^2 = 0.78$ )。

#### 2.3. イリノイ心理言語発達検査 (ITPA) との関連について



検査全体より求められる心理言語年齢 (Psycholinguistic age: PLA) を生活年齢で除した心理言語指数 (PLQ) と WISC の FIQ との関連を図 8 に示した。

PLQ, FIQ ともに 100 を超える例が 1 例あった。乖離例は PLQ のみが 70 未満を示した 2 例であった。

両指数の相関は  $FIQ=1.01\_PLQ+2.33$  で表わされた ( $R^2=0.88$ )。

#### 2.4. フロスティック視知覚発達検査との関連について

検査全体から算出し、知覚年齢と生活年齢の比で求められる知覚指数 (PQ) と WISC の FIQ との関連を図 9 に示した。

実施し得た例数が 10 と少なかったが、乖離例は PQ の低かった 1 例と、FIQ の低かった 1 例であった。

両指数の相関は  $FIQ=1.25\_PQ-19.99$  で表わされた ( $R^2=0.83$ )。

#### 2.5. 各検査の年齢との相関について

表 3 に示したとおり、各検査を代表する値と被検査者の生活年齢との相関は、ITPA の PLQ との間にのみ認められた ( $p=0.03$ )。図 10 のように年齢の高い例で PLQ 値が低い例がみられた。

#### 2.6. ウェクスラー知能検査全検査知能 (FIQ) と各検査との相関について

表 4 に示したとおり、DAM による IQ 以外の各指数は FIQ と相関していた。

#### 3. 脆弱 X 症候群の結果との比較について

本症候群男性 2 例についての心理検査結果をまとめて表 5 に示した。また、2 例のうち WISC と DAM が実施可能であった症例 A のデータを自閉性障害のデータ (図 5) に重ねたが、WISC では FIQ40 未満で測定不能域 (scale out) であった。症例 A では DAM の精神年齢は 7 歳 1 月相当であり IQ

は 51 となるため、WISC の FIQ と DAM の IQ に乖離はなかった。

#### D. 考察

脆弱 X 症候群の認知機能の特徴を評価するため、社会的な引きこもりやこだわりといった、本症候群と心理的な特徴に類似点のある自閉性障害において認知機能の特徴を検討した。わが国で主に用いられている心理検査の結果から、\_発達による成績の変化と、\_各心理検査の結果の関連性について調べた結果は次のとおりである。

##### 1. 発達的な変化について

今回、代表的な知能検査であるウェクスラー知能検査 (WAIS または WISC) の結果について年齢との関連をみたところ、各 IQ 値と年齢に相関はなかったが、同検査を複数回実施し得た例の個別の成績を見ると、動作性知能 (PIQ) に比べて言語性知能 (VIQ) では発達にしたがって IQ 値に変化の見られる例があった。WISC-III の群指数についても、知覚統合指数あるいは処理能力指数の高いプロフィールを示す例があったが、言語理解指数の高い例はなかった。

また、イリノイ心理言語発達検査 (ITPA) で生活年齢に対して言語発達の到達度を表わす PLQ の値は、年齢の高い群ほど PLQ が低く、両者の間には相関があった。

これらの結果は、とくに PLQ の値は生活年齢との比であることから、自閉性障害においては発達にしたがった言語能力の発達がみられない例のあることを示唆している。もっとも、WISC の言語性課題に分類される下位検査や ITPA によって測定し得る直接的な言語機能は聴覚性理解と自発言語が主であり、復唱 (数唱) や言語的類推に関する課題はあるものの、呼称、書字、

読字といったその他の能力は評価していない。さらに読字を含む K-ABC の習得度尺度は年齢との相関がないことから、自閉性障害における、発達に伴った言語能力の低下については今後例数を増やし慎重な検討をする必要がある。

## 2.各検査結果の関連性

同じ知能検査に分類される心理検査であっても、ウェクスラー知能検査は偏差知能、DAM は発達知能と呼ばれ、知能の概念や指数 (IQ) の算出方法が異なっている。また、WISC や田中ビネー知能検査などは言語性の課題が多く実施には検査者との言語を用いたコミュニケーションが必要であるが、DAM は検査の教示が最小限であり、実施時間も短く簡便である。したがって WISC と DAM など複数の検査を実施し結果を照合することが MR と自閉性障害との鑑別に役立つと考えられる。

さらに、自閉性障害ではこれまで WISC の二つの知能指数 VIQ と PIQ について、PIQ 優位であることが指摘されている<sup>15)</sup>。一般に両者の値が 13 以上異なる場合は結果の信頼性に欠けるとされ、さらに PIQ に比べた VIQ の低さが学習障害 (learning disorder: LD) など神経学的な機能障害を示唆するという考え<sup>3)</sup>もある。しかし VIQ と PIQ の差そのものには神経学的な意味はないとされており<sup>14)</sup>、発達障害の認知機能の評価にあたっては VIQ と PIQ の差にとらわれず、複数の検査の結果を複合的に用いることが肝要と思われる。

また通常、各検査のマニュアルに記載された数値によれば、今回実施した各検査の成績は相互に関連することが知られており、検査の信頼性 (内的整合性) と妥当性 (構成概念妥当性および基準関連妥当性) の指標となっている。したがって各検査間の相

関の特徴は、その対象疾患の認知機能の特徴を表わすと考えられる。たとえばこれまで、アスペルガー障害をのぞく広汎性発達障害児においては、DAM による IQ は田中ビネー検査による IQ より高いことが多く、精神遅滞 (mental retardation: MR) 児よりも描画能力が高い<sup>23)</sup>とされている。

今回 WISC と DAM によって求められる IQ 値の関連を検討したところ、自閉性障害において両者に相関はなく乖離の見られる例が多かった。また DAM をのぞいた心理検査の各指標は、WISC-III の FIQ と高い相関を示していた。自閉性障害を含む広汎性発達障害児においては、たとえば新版 K 式発達検査の発達指数 (DQ) のうち、全 DQ よりも下位指標の一つである認知適応 DQ のほうが IQ 水準の評価には適当<sup>15)</sup>とされている。これらの結果より、自閉性障害においては、人物描画に反映される身体図式の把握や推測される対人的な認知のあり方、対人関係の持ち方が、全般的な知的水準と乖離を示すものがあることを示唆している。

今回比較した脆弱 X 症候群の症例 A においては、DAM やレーヴン色彩マトリシスの成績は WAIS-R で示される全般的な知的水準から乖離していなかった。ただし WAIS-R では 40 未満で正確な値が評価できなかった IQ 値が、DAM では 51 と評価できていたことは、WISC に比べて DAM による IQ 値の方が高い自閉性障害に類似した所見である。

DAM の採点は描画された部位についてチェックリスト方式で得点を与えるため、精神年齢や IQ 値だけではなく、身体のうち「どの部位が描かれたのか」といった質的な検討をすることも可能である。また今回の結果は WISC と DAM など複数の検査

を実施し、結果を照合することが MR と自閉性障害との鑑別に役立つことを確認するものであると考える。したがって今後は、さまざまな対象児の人物画を集積し検討することで、MR と自閉性障害の鑑別だけでなく、脆弱 X 症候群の描画特徴を抽出することがのぞまれる。

### 3.脆弱 X 症候群の認知機能について

神経心理学的検査を実施し得た 2 例のうち、症例 A の成績では全般的な知的水準、言語能力に比べて視覚認知が標準域に保たれており、記憶の分類では手続き記憶のみが正常範囲であった。このことから、本症候群児・者にとっては、非言語的な働きかけによる療育や訓練が可能であると推測した。

今回、自閉性障害のデータと比較検討できたのは 1 例のみであり、もう一例は検査が実施できず評価が不能であった。脆弱 X 症候群の認知機能の特徴には個人差が大きいものと考えられる。また、症例 A のデータは一度のみの評価であり、本症候群の認知機能の発達のな変化を追跡することはできなかった。

これまで知的障害者の検討で、知能検査による IQ 値が年齢の上昇とともに低下すること、WAIS-R の下位検査ではとくに言語性課題である「算数」と「理解」課題が低下する<sup>18)</sup>ことが指摘されている。今回検討した自閉性障害のデータは対象年齢が 20 代後半までであり、加齢についての評価は充分ではないが、ウェクスラー知能検査で測定される機能のうち、視覚認知や運動機能は発達に伴って機能水準が向上するか保たれる一方で、言語機能の発達は速度が鈍化するあるいは退行を疑わせる変化をみせる例のあることを示している。

その一方で脆弱 X 症候群の一例 (症例 A)

では動作性知能に比べ言語性知能が高かった。この点、言語発達についての特徴が自閉性障害と本症候群との鑑別に役立つ可能性がある。したがって今後、自閉性障害、精神遅滞の神経心理学的評価においては、失語症検査など言語についてより詳細な検査を実施し言語機能の継時的な変化を記述することで、状態像を正しく鑑別し効果的な療育につなげる指標となるとも考えられる。また、自閉性障害と注意欠陥/多動障害 (AD/HD) との鑑別に、自閉性障害に観察される行動のチェックリストによる評価を用いた報告<sup>21)</sup>も出されている。今後は神経心理学、神経生理学的な検討に加えて、自閉性障害と類似した特徴を有するとされる脆弱 X 症候群の行動を対象とした詳細な検討や、新しい障害分類である国際生活機能分類 (International classification of functioning, disability and health: ICF)<sup>24)</sup>による社会参加や環境因子の評価も、本症候群児・者をはじめとして発達障害児・者の生活の質 (QOL) 向上のためには必要と考えられる<sup>12)</sup>。

### E. 結論

脆弱 X 症候群の認知機能の特徴を明らかにする目的で、類似した心理的状态を示す自閉性障害の神経心理学的検査について、発達のな変化と検査成績間の関連を検討し、脆弱 X 症候群の対象者による結果と比較したところ、つぎのような結果が得られた。

1. 自閉性障害においては、言語を介して習得される機能の低下が見られ、言語機能の詳細な評価が必要と考えられた。
2. 自閉性障害においては、全般的な知能検査と人物画の描画能力に乖離がみられた。

3. 脆弱 X 症候群においては、自閉性障害に比べて言語機能が保たれているようであった。また、視覚認知機能、特定のモダリティによる記憶機能には異常を認めず、本症候群児・者の療育や訓練に活用できる認知機能上の特徴であると考えられた。

研究協力者

堀口寿広, 稲垣真澄

国立精神・神経センター精神保健研究所

文献

- 1) Bailey DB Jr, Hatton DD, Mesibov G, Ament N, Skinner M. Early development, temperament, and functional impairment in autism and fragile X syndrome. *J Autism Dev Disord.* 2000; 30: 49-59.
- 2) Borghgraef M, Eryns JP, Dielkens A, Pyck K, van den Berghe H. Fragile (X) syndrome: a study of the psychological profile in 23 prepubertal patients. *Clin Genet.* 1987; 32: 179-186.
- 3) Calvert EJ, Crozier WR. An analysis of verbal-performance intelligence quotient discrepancies in the Wechsler Adult Intelligence Scale results of mentally subnormal hospital patients. *J Ment Defic Res.* 1978; 22: 147-153.
- 4) Dykens EM, Hodapp RM, Leckman JF. Strengths and weakness in the intellectual functioning of males with fragile X syndrome. *Am J Ment Defic.* 1987; 92: 234-236.
- 5) Dykens E, Leckman J, Paul R, Watson M. Cognitive, bahavioral, and adaptive functioning in fragile X and non-fragile X retarded men. *J Autism Dev Disord.* 1988; 18: 41-52.
- 6) Evenhuis H, Henderson CM, Beange H, Lennox N, Chicoine B. Healthy aging adults with intellectual disabilities: physical health issues. *Journal of Applied Research in Intellectual Disabilities.* 2001; 14: 175-194.
- 7) Fisch GS, Simensen R, Arinami T, Borghgraef M, Fryns JP. Longitudinal change in IQ among fragile X females: a preliminary multicenter analysis. *Am J Med Genet.* 1994; 51: 353-357.
- 8) Hessel D, Dyer-Friedman J, Glaser B, Wisbeck J, Barajas RG, Taylor A, Reiss AL. The influence of environmental and genetic factors on behavior problems and autistic symptoms in boys and girls with fragile X syndrome. *Pediatrics.* 2001; 108: E88.
- 9) Hodapp RM, Dykens EM, Ort SI, Zelinsky DG, Leckman JF. Changing patterns of intellectual strengths and weakness in males with fragile X syndrome. *J Autism Dev Disord.* 1991; 21: 503-516.
- 10) 堀口寿広, 加我牧子, 稲垣真澄. 脆弱 X 症候群に対する診断的検査の実態調査: わが国における患者数の推測. *脳と発達* 2003; 35: 297-303.
- 11) 堀口寿広, 加我牧子, 稲垣真澄. 脆弱 X 症候群に対する診断的検査指針と易学的調査の必要性. *脳と発達* (投稿中).
- 12) 稲垣真澄, 堀口寿広, 加我牧子. 発達障害児に対する医療・福祉資源の活用と連携の現状: 専門医師と施設・他職種間の連携について. *脳と*