

報も活用して研究を進めることが大切と思われる。

民族差などを考えて研究することも重要と考えられる。例えば、我々は5-HTT遺伝子多型のが、日本人と欧米人とは大きく異なっていることを見出した経験がある¹³⁾。近年、多くのDNA多型には民族的な差がありことが明らかになっており、このことも考慮しながら研究することが必要である。

エピジェネティクスは自閉症の研究においても、重要なキーワードと考えられる。しかし、脳に関連するゲノム刷り込み遺伝子ですら、その大部分は未だ解明されておらず、今後の課題は多い。今後、エピジェネティクスに関連する遺伝子を効率的に解析する方法を確立し、自閉症の候補遺伝子を絞ってゆく努力も求められる。

ゲノム研究の手法も飛躍的に進歩している。全ゲノムに存在する多数の一塩基多型 (SNP) の網羅的な解析など、新たな方法の導入も必要と考えられる。DNAチップ (DNAマイクロアレイ) を用いた研究も盛んになってきている¹⁴⁾。自閉症患者の脳検体を用いたDNAチップ解析の報告もあり、グルタミン酸などの神経伝達物質の異常を示唆する報告がなされている。脆弱X症候群など自閉症と深く関連する疾患の遺伝病態の解析などにもDNAチップは応用されており、今後の研究が期待される。最近報告された、発症不一致の双子児の検体を用いたDNAチップ研究は、新しい解析方法として特に注目される。さらに本総説では述べることができなかったが、動物モデルを開発して研究を進めることも大切である。

自閉症の関連遺伝子は民族ごとに異なっている可能性があり、今後日本人での研究を積極的に推進することが必要である。

文 献

- 1) Veenstra-VanderWeele J, Cook Jr, EH (2004) Molecular genetics of autism spectrum disorder. *Mol Psychiatr* 9 : 819-832.
- 2) Muhle R, Trentacoste SV, Rapin I (2004) The genetics of autism. *Pediatrics* 113 : 472-486.
- 3) 難波栄二 (2002) 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.
- 4) Skuse, D, James, R.S, Bishop, D.V, et al (1997) Evidence from Turner's syndrome of an imprinted X-linked locus affecting cognitive function. *Nature* 387 : 705-708.
- 5) Ingram JL, Stodgell CJ, Hyman SL, et al (2000) Discovery of allelic variants of HOX 1 A and HOX 1 B : Genetic susceptibility to autism spectrum disorders. *Teratology* 62 : 393-405.
- 6) Koishi S, Yamazaki K, Yamamoto K, et al (2004) Notch 4 gene polymorphisms are not associated with autism in Japanese population. *Am J Med Genet* 125 B : 61-62.
- 7) Cook, E.H.Jr, Courchesne, R, Lord, C, et al (1997) Evidence of linkage between the serotonin transporter and autistic disorder. *Mol Psychiatry* 2 : 247-50.
- 8) Marui T, Hashimoto O, Nanba E, et al (2004) Gastrin-releasing peptide receptor (GRPR) locus in Japanese subjects with autism. *Brain Dev* 26 : 5-7.
- 9) Marui T, Hashimoto O, Nanba E, et al (2004) An association between the neurofibromatosis-1 (NF 1) locus and autism in the Japanese population. *Am J Med Genet* 131 B : 43-47.
- 10) 難波栄二 (2002) 脆弱 X 症候群の分子遺伝学 *脳の科学* 24 : 1107-1114.
- 11) 難波栄二, 前川真治 (2004) 精神疾患に関するエピジェネティクス わかる実験医学シリーズ「注目のエピジェネティクスがわかる」 pp 122-126 押村光雄編, 羊土社.
- 12) Kakiuchi C, Iwamoto K, Ishiwata M (2003) Impaired feedback regulation of XBP 1 as a genetic risk factor for bipolar disorder. *Nat Genet* 36 : 171-175.
- 13) Murakami F, Shimomura T, Kotani K (1999) Anxiety traits associated with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region in the Japanese. *J Hum Genet* 44 : 15-17.

- 14) Geschwind DH (2003) DNA microarrays : translation of the genome from laboratory to clinic. *Lancet Neurol.* 2 : 275-282.

自閉症モデル動物研究の概要

定松 美幸*

Key words: autism, animal model, borna disease virus, thalidomide, amygdala, hypothyroidism

1. はじめに

近年、自閉症の発症率が増加しているという各国からの報告が相次いでいる⁸⁾¹¹⁾が、その要因については定かでない。自閉症あるいは広汎性発達障害という概念の普及に負うところは大きいと考えられているが、それだけではかつて5/10,000といわれた発症率が国によっては15/10,000となるにはいささか無理があるとも思われる。

1つの可能性として、環境ホルモンの影響が言われている。環境ホルモンの胎内暴露という仮説の根拠はJacobson¹⁰⁾らによる、PCB汚染されたミシガン湖の魚を摂取した母親から生まれた子どものIQが低下したという報告にある。環境ホルモンとしてはほかにビスフェノールA、ダイオキシンなども考えられるがこれら環境ホルモンと自閉症についてはほかに譲る。

また、アメリカで3種混合ワクチンに使われたチメロサル(有機水銀)が原因だとして製薬会社が訴えられた件は記憶に新しい。大規模調査の結果、因果関係はなかったという報告が出され

た¹³⁾が、この訴訟以後、ワクチンに含まれるチメロサルの量をできるだけ少なくするようにという勧告が出された。

これらのことから、自閉症が増加しているという事象に胎内環境が及ぼす影響が少なからず大きいということが導き出される。そのことはまた自閉症の原因そのものにも胎内環境が関与するという可能性を示唆する。自閉症の原因として、現在では遺伝子異常、胎内感染、代謝異常などさまざまな胎生期の要因が考えられているが、それを検証するためにはやはり動物モデルの存在が重要と思われる。最近では画像研究などからヒトでの詳しい検索が可能になりつつあるが、胎生期と出生後の発達について、組織学的検討を含めて詳細に行うことは動物モデルでなければ困難である。

最近の自閉症に対する関心の高まりとともに、いくつか新しい自閉症モデルが提唱されており、これらについて簡単に紹介する。

2. バルプロ酸投与モデル

胎生12.5日に子宮内でバルプロ酸に暴露され

An overview of animal for autism

*滋賀医科大学精神医学講座〔〒520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町〕Myuki Sadamatsu: Department of Psychiatry, Shiga University of Medical Science, Seta-tsukinowa-cho, Ohtsu, Shiga, 520-2192, Japan

【定松美幸 E-mail: ◎】

たラットが新たに自閉症モデルとして注目されるようになった¹⁹⁾。妊娠ラットに妊娠12.5日目、バルプロ酸600 mg/kgを腹腔内投与する。生まれた仔ラットは思春期に達するまでは発達の遅れがめだち、低体重、開眼時期の遅れ、運動能力の遅れなどを示す。成長してからは、痛覚異常と痛覚以外の刺激に対する過敏性、常同かつ決まりきった行動傾向と多動、探索行動の減少、社会的活動の減少などが認められる²¹⁾。組織学的には1) 動眼神経、三叉神経、外転神経、舌下神経など脳神経核における運動ニューロンの減少、2) 尾側から顔面神経核に及ぶ領域の縮小、3) 小脳虫部におけるプルキンエ細胞の減少と大脳体積の減少などが見られる²²⁾。これらはヒトの自閉症で報告されている所見と一致し、行動学的にも相同性が高い。ラットにおける胎生12.5日というのは、神経管閉鎖の時期に一致し、ヒトでは胎生20~24日の早期にあたり、運動神経核、脳神経が形成される重要な時期である。この時期よりあとにバルプロ酸を投与したラットでは上記のような異常は見られない。

3. サリドマイド投与モデル

サリドマイドは1950年代、西ドイツで毒性の低い鎮痛薬として開発され、日本でも1958年から発売された。しかし、1960年代になり重症の新生児奇形が報告されるようになり、1961年、有名なLenz警告が出された。西ドイツではただちに発売中止となったが、日本では対応が遅れ、1962年ようやく中止となった。使用が中止されるまでにヨーロッパ、カナダを中心に10,000例以上の奇形児が生まれた。短肢症(アザラシ肢症)、眼の異常、難聴がよく知られているが、疫学的調査の結果、胎児性サリドマイド症候群患者では自閉症の発症率が通常よりきわめて高いことが報告された²⁴⁾。自閉症を発症した患者は、四肢の異常はなく、耳の奇形が合併する程度であり、耳の形成と四肢の形成の時期を計算すると、胎生20~24日目までという胎生早期の狭いウィンドウの間に服用した妊婦から生まれた子どもに限られることが明らかになった。

ヒトの胎生20~24日はラットでは胎生9日前後にあたる。成田ら¹⁴⁾は胎生9日目に、妊娠ラットにサリドマイド500 mg/kgを経口投与し、出生した仔ラットを自閉症モデルラットとして報告した。サリドマイド投与仔ラットは、形態学的にはセロトニン起始核細胞の遊走異常が認められ、生化学的には海馬セロトニン濃度の上昇、前頭葉皮質でドーパミン濃度の上昇、血中セロトニン濃度の上昇が見られた。行動学的には空間学習能力の低下に加えて非探索的行動が認められた。非探索的行動はヒト自閉症にも見られる。今後、社会的相互作用についての報告が待たれるところである。

4. ボルナウイルス感染モデル

ボルナウイルスはnegative strand, nonsegmented RNAウイルスの1種で人間にも感染性を持つ。このウイルスに新生児期に感染させた動物は、脳組織もウイルス感染しているにもかかわらず、明らかなグリオーシスや脳炎などの免疫反応を示さない。外見上はサイズや身体各部位のバランスなどに大きな異常を認めないが、全体にやや小さくなる。ウイルスに感染したラット仔は麻痺などの中枢神経感染の明らかな兆候は見られない。しかしながらアストロサイト、オリゴデンドロサイト、末梢神経のシュワン細胞にはウイルスのマーカが発現し、感染の証拠が認められる。

詳細に検討すると、小脳の細胞構築が大きく障害されていることがわかった。生後24時間以内に感染した仔ラットの小脳では、生後14日のころには、小脳の成長が遅れており、特にサイズ、葉の減少、内側顆粒細胞層とmolecular layerが薄く不規則になることが観察されている。生後7ヶ月のラットでは、75%におよぶプルキンエ細胞が消失していた。小脳の障害に加えて、海馬の成長も阻害される。ウイルス感染ラットでは、海馬の歯状回のニューロンが脱落を起こし、生後45~55日目にはほとんど消えてしまい、活性化グリア細胞がその場所にとってかわることが観察された²⁵⁾¹⁵⁾。新生児期のウイルス感染は皮質のシュリンケージにも影響する。生後45日目の感

染ラットでは、皮質ニューロンのおよそ30%が失われていた。感染ラットの脳では、活性化アストロサイトの出現を認めた。ウイルス体は、生後7日目から、プルキンエ細胞に認められたが、Bergmannグリアを含むアストロサイトには生後30日を経過しても見られなかった。成長した感染ラットでは、小脳の顆粒細胞とプルキンエ細胞の消失、海馬歯状回顆粒細胞の異常が認められた⁷⁾。

これらの解剖学的異常は行動にも影響を及ぼす可能性が高い。ポルナウイルス感染ラットは、行動上は多動、空間学習の障害、社会的相互作用の異常が報告されている²⁵⁾。またオープンフィールドテストではfreezingの減少が認められている。Social interactionの障害は、'intruder-resident'パラダイムで検出された。感染ラットはコントロールに比べてplay behaviourが少なく、intruderに対する反応も少なかった¹⁷⁾。また、acoustic startle responseの障害も認められている。仔ラットのときにはAcoustic startleに対する慣れが生じにくく、成長後は反応性に乏しいという。Plentikovらは感染ラットの多動やfreezing減少は、むしろ不安の高さを反映しているのではないかという仮説に基づき光を調整してopen field test, foot shock test, shock sensitization of the acoustic startle response (ASR)を行った¹⁶⁾。

5. 扁桃体傷害モデル

最近になり、画像研究の発展および死後脳の検討から、ヒト自閉症では内側側頭葉が大きく関与している可能性が示唆されている⁴⁾。死後脳による検討では、自閉症のヒトはそうでないヒトより扁桃体の体積が減少しているという報告がある。一方で、自閉症者では幼小児期には扁桃体、海馬ともに過形成の傾向があるが、成人後は健常者と比較して有意差がなくなるという報告²³⁾があり、これは自閉症では、生後1年間の頭囲の成長が異常に大きいという報告とあわせて興味深い。

実験的に内側側頭葉を傷害した動物モデルはこの部位が自閉症の症状に深く関与していることを

裏付ける。乳児期に内側側頭葉を傷つけたサルでは、成長後も続く症状を示す。新生児期にサルの扁桃体、海馬とその近傍の組織を両側ともに除去すると、無表情、アイコンタクトの減少、常同的な自発運動などヒトの自閉症に見られる症状を呈するが、成長後に同じ部位を傷害してもそのような社会相互作用の傷害や行動上の異常はみられない¹⁸⁾。

新生児期にイボテン酸を脳内に投与し扁桃体を傷害したラットもモデル動物として提唱されている⁵⁾⁶⁾¹²⁾²⁶⁾。扁桃体傷害ラットでは、自発運動が障害され、社会的相互作用が著明に減少する。生後7日目のラットの扁桃体を傷害すると、成長後そのラットは多動、探索行動の減少を示す。アポモルフィンテストで自発運動の増加を示し、これは中隔側座核においてドーパミンの感受性が低下していることを示唆する。また、身体的ストレスに対する感受性低下とともに社会的相互作用が減少している。これらの異常は、成長後に扁桃体を傷害しても現れない。

ラットの腹側海馬を傷害しても社会的相互作用やプレイ行動には影響しない⁵⁾。しかし、サルでは両側腹側海馬の傷害は情動行動には影響しないが、多動を示すようになる。

最近の研究からヒトでは前前頭皮質の傷害が協調運動や社会的相互作用、認知に傷害を引き起こすことが知られている。また、自閉症で前前頭皮質が病理に関与している可能性が示唆されており、この部位を傷害した動物モデルも報告されている。新生児期に前前頭皮質を傷害されたラットは、思春期前後になると半回転運動の増加を示す²⁰⁾。半回転運動は、ラットの場合成人後の行動と位置付けられているため、これは思春期のラットの行動がより成長後にシフトしたと報告者らは解釈している。また、身づくろい行動、社会的相互作用は対照群に比較して前前頭皮質傷害ラットでは減少していた。

小脳の中心線を傷害したラットは、多動を示し、周囲の状況に無関心であるように見えるという³⁾。小脳は以前に考えられていた以上に、運動のみならず空間学習や探索行動、情動などに深く関与していることが知られるようになった。

6. 低甲状腺ホルモンラット (PTU ラット)

甲状腺ホルモンは胎生期においては特に中枢神経系の発達に必須である。胎生期, 新生児期に甲状腺ホルモンが著しく不足するとクレチン症になり, 身体の成長障害に加え重篤な精神発達遅滞を引き起こす。これまで出生後早期に甲状腺ホルモンを補充することで, 周産期の低甲状腺ホルモン状態による障害は十分修復できると考えられてきたが, 母体, 胎児ともに甲状腺機能低下が起こっている場合はそれでは脳の発達障害を修復するには不足していることが明らかになってきた。甲状腺ホルモンの成長・発達に及ぼす影響について臨界期があることは古くから知られているが, このメカニズムについてはまだ不明な点が多い。このメカニズムを追うのにラットは適当なモデルになりうる。ラット, マウスは脳の発達パターンはヒトと変わらないが, 構造的に出生後10日目のラットがヒトの出生時の脳にあたり, 出生時のラット脳はヒトの胎生5~6ヶ月齢に相当する。これは出生後のラットの甲状腺ホルモン動態を変化させることにより, ヒト胎生後期の脳の発達モデルを観察できることを可能にする。

われわれは, 母ラットにプロピオチオウラシル (PTU) を混ぜた水を飲ませ, 母乳を通して仔ラットに投与し, 仔ラットを低甲状腺ホルモン状態においたラット (PTU ラット) を作成した。この仔ラットは授乳期から思春期にあたる6週齢くらいまでは対照群である正常仔ラットに比べ低体重を示すが, 成長後は脳重量, 体重ともに大きな違いはなくなり, 一見したところ正常に見える。しかし, 詳細に見ると, 組織学的にも行動学的にも特徴的な障害を認める。図1は, PTU ラットのオープンフィールドの結果であるが, PTU ラットは多動とともに新規環境に「慣れない」ということを示している¹⁾。8文字迷路テストでは一筆書きで通過しなければならないところを何度も同じ組み合わせのアームを通過するなど「こだわり」に似た行動を認めた。また, PTU ラットは成長後, 聴原性てんかんをほぼ100%の頻度で起こす²⁾。これは, ヒトの自閉症で聴覚過

敏がしばしば認められることを反映するものとも考えられる。現在, PTU ラットについて小脳の発達および神経栄養因子などについて検討を続けているところである。

7. おわりに

最近注目されている自閉症を含む広汎性発達障害の動物モデルについて概説した。自閉症のみならず精神疾患では常に議論的になるが, ヒトの高次脳機能がどこまで動物モデルで再現可能であるか, ということについてはこの稿では触れなかった。どのモデルについても自閉症で特に著名である「社会的相互作用」の障害の再現について, いろいろなパラダイムを用いて検証しようとしているが, どちらかというところ中枢神経系の発達, あるいは反応性の異常という点から自閉症の発症メカニズムに迫ろうという視点が強い。サリドマイド, バルプロ酸投与モデル動物はヒトではっきりとしたエビデンスが得られているだけに今後, 行動学的, 社会学的検討を加えれば更なる発展が期待されるのではないだろうか。また, われわれが注目している甲状腺ホルモン改変ラットについては, 環境ホルモンとの関わりから, 昨今自閉症発症率が増加しているという点について, 何らかの説明を加えられるのではないかと考えている。

文献

- 1) Akaike M, Kato N (1997) Abnormal behavior, spatial learning impairment and neuropeptides caused by temporary neonatal hypothyroidism., *Recent Res, Dev, Neuroendo.* 39-48.
- 2) Bautista J, Rubin SA, Moran TH, et al (1995) Developmental injury to the cerebellum following perinatal Borna disease virus infection., *Dev. Brain Res.*, 90: 45-53.
- 3) Bobee S, Mariette E, et al (2000) Effects of early midline cerebellar lesion on cognitive and emotional functions in the rat., *Behav. Brain Res.*, 112: 107-117.

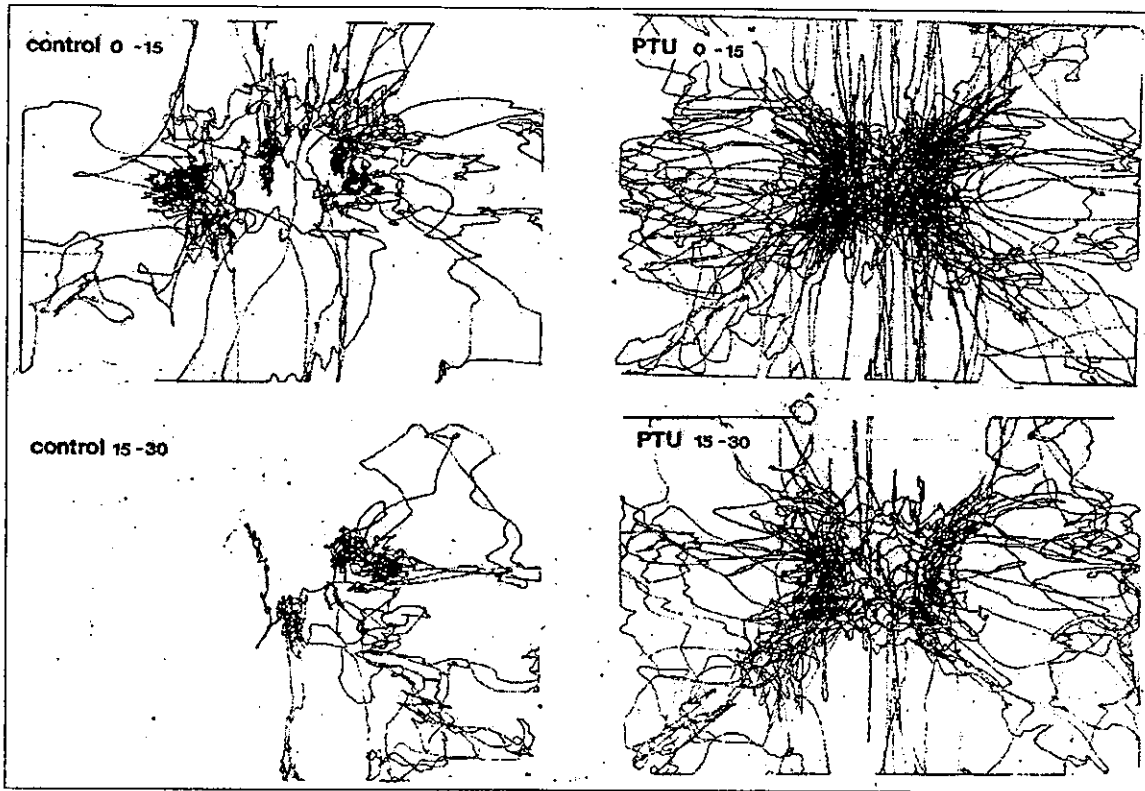


図1

PTUラットとコントロールラットのオープンフィールドの結果。3次元の動きを2次元に再現している。中心部が平面的な動きをあらわし、中心部から各辺に向かって伸びる軌跡は伸び上がる（レアリング）行動を示している。コントロールラットは、15分経過すると新規環境の探索を済ませ、落ち着いているが、PTUラットは変わらず多動と探索行動の増加を示している。（文献1より引用）

- 4) Brambilla P, Hardan A, di Nemi SU, et al (2003) Brain anatomy and development in autism: review of structural MRI studies., *Brain Res. Bull.*, 61 : 557-569.
- 5) Daenen E, Wolterink G, Gerrits MAFM, et al (2002) Amygdala or ventral hippocampal lesions at two early stages of life differentially affect open field behaviour later in life; an animal model of neurodevelopmental psychopathological disorders., *Behav. Brain Res.*, 131 : 67-78.
- 6) Diergaarde L, Gerrits MAFM, Stuy A, et al (2004) Neonatal amygdala lesions and juvenile isolation in the rat: differential effects on locomotor and social behavior later in life., *Behav. Neurosci.*, 118 : 298-305.
- 7) Dietz D, Pletnikov MV (2003) Postnatal weight gain inhibition does not account for neurobehavioral consequences of neonatal Borna disease virus infection., *Physiol. Behavior*, 80 : 359-366.
- 8) Hornig M, Lipkin WI (2001) Infectious and immune factors in the pathogenesis of neurodevelopmental disorders: epidemiology, hypotheses, and animal models., *MRDD research Reviews*, 7 : 200-210.
- 9) Hornig M, Weissenböck H, Horscroft N, et al (1999) An infection-based model of neurodevelopmental damage., *PNAS*, 96 : 12102-12107.
- 10) Jacobson J, Jacobson SW (1996) Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls., *Environ. Health Perspect.*, 104 : 113-118.

- lorinated biphenyls in utero., *N. Engl. J. Med.*, 335 : 783-789.
- 11) London E, Etzel RA (2000) The environment as an etiologic factor in autism : a new direction for research., *Environ. Health Perspect.*, 108 : 401-404.
 - 12) Machado C, Bachevalier J (2003) Non-human primate models of childhood psychopathology : the promise and the limitations., *J. Child Psychol. Psychiat.*, 44 : 64-87.
 - 13) Madsen K, Lauritsen MB, Pedersen CB, et al (2003) Thimerosal and the occurrence of autism : negative ecological evidence from Danish population-based data., *Pediatrics*, 112 : 604-606.
 - 14) Narita N, Kato M, Tazoe M, et al (2002) Increased monoamine concentration in the brain and blood of fetal thalidomide- and valproic acid-exposed rat : putative animal models for autism., *Pediatr. Res.*, 52 : 576-579.
 - 15) Pletnikov M, Rubin SA, Carbone KM, et al (2001) Neonatal Borna disease virus infection (BDV)-induced damage to the cerebellum is associated with sensorimotor deficits in developing Lewis rats., *Dev. Brain Res.*, 126 : 1-12.
 - 16) Pletnikov M, Rubin SA, Moran TH, et al (2003) Exploring the cerebellum with a new tool : neonatal Borna disease virus (BDV) infection of the rat's brain., *Cerebellum*, 2 : 62-70.
 - 17) Pletnikov M, Rubin SA, Vasudevan K, et al (1999) Developmental brain injury associated with abnormal play behavior in neonatally Borna disease virus-infected Lewis rats : a model of autism., *Behav. Brain Res.*, 100 : 43-50.
 - 18) Prather M, Lavenex P, Mauldin-Jourdain ML, et al (2001) Increased social fear and decreased fear of objects in monkeys with neonatal amygdala lesions., *Neurosci.*, 106 : 653-658.
 - 19) Rodier P, Ingram JL, Tisdale B, et al (1997) Linking etiologies in humans and animal models : studies of autism., *Reprod. Toxicol.*, 11 : 417-422.
 - 20) Schneider M, Koch M (2004) Deficient social and play behavior in juvenile and adult rats after neonatal cortical lesion : effects of chronic pubertal cannabinoid treatment., *Neuropsychopharmacology* 1-14.
 - 21) Schneider T, Labuz D, Przewtocki R (2001) Nociceptive changes in rats after prenatal exposure to valproic acid., *Pol. J. Pharmacol.*, 53 : 531-534.
 - 22) Schneider T, Przewtocki R (2004) Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid : animal model of autism., *Neuropsychopharmacology*, 30 : 80-89.
 - 23) Schumann C, Hamstra J, Goodlin-Jones BL, et al (2004) The amygdala is enlarged in children but not adolescents with autism ; the hippocampus is enlarged at all ages., *J. Neurosci.*, 24 : 6392-6401.
 - 24) Stromland K, Nordin V, Miller M, et al (1994) Autism in thalidomide embryopathy : a population study., *Developmental Med. Child Neurol.*, 36 : 351-356.
 - 25) Vorhees C, Weisenburger WP, Minck DR (2001) Neurobehavioral teratogenic effects of thalidomide in rats., *NeuroToxicol. Terat.*, 23 : 255-264.
 - 26) Wolterink G, Daenen LEWPM, Dubbeldam S, et al (2001) Early amygdala damage in the rat as a model for neurodevelopmental psychopathological disorders., *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 11 : 51-59.
 - 27) Yasuda S, Ishida N, Higashiyama A, et al (2000) Characterization of audiogenic-like seizures in naive rats evoked by activation of AMPA and NMDA receptors in the inferior colliculus., *Exp. Neurol.*, 164 : 396-406.

世界における自閉症研究の動向

金生 由紀子*

Key words : autism, pervasive developmental disorders, autism spectrum disorders, Asperger syndrome, diagnosis, broad autism phenotype

1. はじめに

自閉症研究はきわめて多岐にわたっているが、本稿では生物学的研究に関連する臨床的な事柄について世界における最近の動向を述べた。前半では、最近の自閉症研究の隆盛に関連する状況を紹介していささか検討を加えた。後半では、最も基本となるはずだが最近になります議論の尽きない診断及び評価に関する研究について注目を集めている項目を中心に概説した。

2. 自閉症研究の活性化と
自閉症の頻度の増加

自閉症研究は近年とみに活性化しており、論文件数も増加の一途をたどっている。medlineでautismというキーワードで論文検索をすると、1995年には154件であったのが2004年には576件と4倍近くにまで達した。

また、2004年8月にベルリンで行われた16th World Congress of the International Association for Child and Adolescent Psychiatry and

Allied Professions (IACAPAP) では、133セッション中で自閉症を中心とする広汎性発達障害 (pervasive developmental disorders : PDD) に関するものは7 (5.3%) であった。注意欠陥/多動性障害 (attention-deficit/hyperactivity disorder : AD/HD) の13 (9.8%) の半分以上を越えており、頻度の割には多い数であった。演題数をみても、口演616題中で32 (5.2%)、ポスター428題中で54 (12.6%) であり、精力的に取り組まれていることが窺われた。

この活性化と表裏一体をなすのが、自閉症やPDDの頻度の著しい増加である⁶⁾⁸⁾。自閉症の頻度は1966年のイギリスにおける最初の調査では、10,000名中4.1名であった。主な報告を発表年別にみると、1970年代は10,000名中0.7~4.9名にとどまっていた。1980年代は10,000名中1.2~16.0名であったが、日本における4報告が10,000名中13.0~16.0名と突出して高く、残りはほとんど10,000名中2.3~6.1名であった。ところが、1990年代には10,000名中3.1~31.2名と高率となった。さらに2000年代には10,000名

International trend in research on autism

* 北里大学大学院医療系研究科発達精神医学〔〒228-8555 神奈川県相模原市北里1-15-1〕 Yukiko Kano : Department of Developmental Psychiatry, Graduate School of Medical Sciences, Kitasato University, 1-15-1, Kitasato, Sagami-hara, Kanagawa, 228-8555 Japan

【金生由紀子 E-mail : yukiko-k@kitasato-u.ac.jp】

表1 最近のPDDに関する疫学研究

報告者	Baird, et al. (2000)	Chakrabarti & Fombonne (2001)	Bertrand, et al. (2001)	Icasiano, et al. (2004)
地域	イギリス	イギリス	アメリカ	オーストラリア
母集団数	16,235名	15,500名	8,896名	54,013名
年齢	7歳	2.5-6.5歳	3-10歳	2-17歳
自閉症の頻度 (/10,000名)	30.8	16.8	40	19.9
それ以外のPDDの頻度 (/10,000名)	27.1	45.8	27	19.3
PDD全体の頻度 (/10,000名)	57.9	62.6	67	39.2
PDD全体での自閉症の割合	53.2%	26.8%	59.7%	50.8%
PDD全体でのIQ>70の割合	78%	74%	51%	54.5%

中5.6~40.0名となり、しかもほとんどが10,000名中約10名かそれ以上となった。

2000年代の報告では、自閉症の頻度の増加と同時にそれ以外のPDDの頻度の高さも注目される(表1)。主な4報告をみると、自閉症以外のPDDがPDD全体の約30~60%を占めていた^{2),3),7),9)}。さらに、知的な遅れを伴わない割合はPDD全体の約50~80%にまで及んでいた。

これらの変化に関連する要因としては、まず、自閉症の概念の広がり考えられる。ICD-10の小児自閉症の診断基準を満たす子どもの1/3~1/2しかKannerの診断基準を満たさないとの指摘もある³⁰⁾。また、PDD全体の概念の広がりも関連しているだろう。本稿ではPDDという用語を使用しているが、最近ではほぼ同じ対象を自閉症スペクトラム障害または自閉症圏障害 (autism spectrum disorders) と呼ぶことが増えてきている。これは自閉症との連続性を強調した名称であり、PDD全体の概念の広がりに対応していると思われる。自閉症状がより非定型な場合もPDDに含まれるようになっており、その中には知的な遅れを伴わない場合も多いと思われる。同時に、知的な遅れがある場合についてもPDDに取り込まれやすくなっている可能性がある。カリフォルニアでの調査では、1987年出生では自閉症が10,000名中5.8名、精神遅滞が10,000名中28.8名であったのが、1994年出生では自閉症が10,000名中14.9名、精神遅滞が10,000名中19.5名であったという¹¹⁾。両者を合わせると1987年出生でも1994年出生でも10,000名中約

34名であり、かつては精神遅滞に伴う対人関係の悪さとみなされていたものが知的に低い自閉症と診断されるようになってきているかもしれない。1980年代の日本における自閉症の頻度の高さには、当時の世界の標準と比べてやや広い自閉症の概念が使用されていたという可能性も否定しきれない気がする。

PDDの頻度の増加の要因としては、この他に、PDDの診断や評価のシステムや方法がより正確になったということも考えられる。逆に言えば、1980年代の日本における自閉症の頻度の高さには、既に乳幼児健診という優れたスクリーニングのシステムが存在していたことも関わっているように思われる。

さらに、PDDが一般に広く知られるようになり、医療機関を受診しやすくなったことも考えられる。いつの時代でもPDDと診断されるような症例以外に、知的に高かったり症状が非定型であったりして受診には至らず統計に含まれなかったPDDが以前からある程度存在していたと推察される。

これらを差し引いて自閉症やPDDの真の発生率が増加しているのか、もし増加しているとしたら何が関与しているのかは大変興味深い問題であり検討が進められている。

3. 自閉症研究をめぐる状況

2004年に出版されたautismをキーワードに持つ総説を概観すると、遺伝、脳画像、薬物療法な

どの生物学的な内容の論文がかなりの比重を占めていた。また、第16回 IACAPAP の PDD に関する演題の内容をみても、最も多かったのが診断で、次いで、脳画像、遺伝、神経心理の順となっており、やはり生物学的な側面への関心の高さが窺われた。

先述した自閉症や PDD の頻度の増加については、水銀や MMR (measles, mumps and rubella) ワクチンとの関連が一般の人々の間でも大きな話題となっているためか、これらに関する論文も少なくなかった。ワクチンについては、殺菌作用のある水銀化合物である thimerosal がその保存剤としてしばしば使用されてきたことから、水銀と関連して論じられていることもあれば自己免疫と関連して論じられていることもあった。MMR ワクチンに引き続く腸炎と退行から自閉症に発展していくとの指摘もあったが、少なくとも大多数の自閉症や PDD については原因であることは否定的と言えよう⁹⁾。

このように社会的な問題となったために検討が盛んなテーマもあったが、精力的に検討されているのは分子遺伝学や脳科学など関連する学問や技術の進歩に伴うものが多いと言えよう。そして、多施設で共同して多数例を対象にした研究が行われる傾向が最近では目立ってきている。例えば、遺伝研究では、自閉症の国際的分子遺伝研究組織 (International Molecular Genetic Study of Autism Consortium : IMGSAAC ; <http://www.well.ox.ac.uk/maestrin/iat.html>) がヨーロッパやアメリカの研究者や臨床家を中心に 1994 年に組織され、ゲノムワイドスクランを含めて研究の推進役となっている。また、自閉症遺伝資源交換 (Autism Genetic Resource Exchange : AGRE ; <http://www.agre.org/>) という自閉症児が一人以上いる家族の血液サンプルと臨床データを収集して研究者に供給する組織が Cure Autism Now という団体によって自閉症の遺伝研究の促進のために作られている。

アメリカでは政府主導でも多施設研究が進みつつある³²⁾。例えば、小児精神薬理学研究組織 (Research Units of Pediatric Psychopharmacology : RUPP) ネットワークが、国立精神

衛生研究所の助成で組織されて、自閉症については risperidone が攻撃行動に有効であるとの研究結果が得られており²⁶⁾、さらに、risperidone 単独と risperidone+親訓練とのどちらが有効かとの検討を進めている。また、自閉症解明及び治療推進研究 (Studies to Advance Autism Research and Treatment : STAART ; <http://www.nimh.nih.gov/autismiacc/staart.cfm>) ネットワークが、新しい自閉症研究のネットワークを構築するようにとの 2000 年の法律改正に応じて、国立衛生研究所自閉症調整委員会 (NIH Autism Coordinating Committee) によって組織された。8 大学のセンターが参加しており、自閉症の早期の特徴に関する研究、自閉症の反復行動に対する citalopram の効果の研究などが行われている。

研究者や臨床家の連携だけでなく、学問分野の連携も自閉症研究の発展のためには重要である³³⁾。神経心理学と脳画像、さらには分子遺伝学も含めて有機的な多分野の連携が目指されており、第 16 回 IACAPAP でもその方向性を示す発表が散見された。

自閉症や PDD の診断の広がりが進むと同時に研究上の連携がますます重要になっている現状では、診断と評価についての検討が改めて強く求められている。第 16 回 IACAPAP で PDD に関する演題の中で診断に関するものが最多であったのももっともと言えよう。早期からの発達の経過への関心も高まっており、出生時には頭囲が標準以下であるのに 6 ヶ月以降に増大して 2~3 歳には標準以上になることから¹⁰⁾この時期の神経生物学的基盤の探求にも重点が置かれてきている。生物学的研究を行う上で、発達に伴う変化も考慮しつつ自閉症や PDD の範囲を明確にすることは当然必要であるが、実は必ずしも容易ではない。

4. PDD の診断及び評価に関する研究

診断基準として DSM-IV または ICD-10 が主に使用されることに加えて、国際的な研究では標準化された診断手段として、半構造化面接である自閉症診断面接改訂版 (autism diagnostic inter-

view-revised: ADI-R)²¹⁾, 所定の用具を用いた行動観察である自閉症診断観察スケジュール (autism diagnostic observation schedule: ADOS)²²⁾が使用されることが多くなっている。我が国の臨床研究では小児自閉症評価尺度 (childhood autism rating scale: CARS) がしばしば使用されている。CARSについてはDSM-IVとの高い一致率が認められている²⁵⁾。ADI-R, ADOS, CARSなどを用いて定量化することによって基準がより明確になりデータが解析しやすくなるが、それらに基づく診断が完璧というわけではない。

1. 基本症状

自閉症の基本症状は、DSM-IVでは、(1)対人的相互反応における質的な障害、(2)コミュニケーションの質的な障害、(3)行動、興味、および活動の限定された反復的で常同的な様式の3つとなっているが、それについても議論がある。

自閉症に関するADIまたはADI-Rの98項目を主成分分析したところ、(1)話し言葉、(2)対人的意図、(3)強迫行為、(4)発達里程、(5)突出した技能、(6)感覚的嫌悪の6つのクラスターが得られて、これらは遺伝研究上も有意義であるとの報告もある²⁹⁾。一方、この研究で対人的意図とまとめられた対人的コミュニケーションが自閉症の基本症状という考え方もある³¹⁾。基本症状を対人的コミュニケーションとまとめてしまうとスペクトラム障害としての治療や支援の枠組みを考える上では有用かもしれないが、生物学的研究を進める上では適当ではないと思われる。

現時点ではADI-Rなどの主成分分析や因子分析による結果が報告間で必ずしも一致している訳ではないが、より均質な対象を得る上では有用な手法の1つと考えられる³³⁾。

2. 高機能PDD

知的な遅れを伴わない、すなわち高機能のPDDが多数認められるようになったことに伴ってその診断的位置づけについて検討が重ねられてきた。

特にAsperger症候群については高機能自閉症

とは別個の疾患かが議論になってきた。

DSM-IVにおけるAsperger障害の診断基準では、(1)対人的相互反応における質的な障害、(2)行動、興味、および活動の限定された反復的で常同的な様式の2つの行動症状は自閉症と全く同じになっている一方で、言語や認知発達の遅れの無いこと、自閉症を初めとする他のPDDの診断基準を満たさないことが求められている。一方、DSM-IVやICD-10とは別にWing (1981) や Gillberg (1991) などによるAsperger症候群の診断基準がいくつも存在して実際にかなり使用されている。また、Asperger自身の診断した74名を再検討したところICD-10のAsperger症候群の診断基準を満たす者は68%であり、25%は自閉症と診断されたとの報告もある¹⁸⁾。

現時点では、Asperger症候群の診断的位置づけが決定したとは言い切れないが、同胞の中にAsperger症候群と自閉症が存在する場合のあること、自閉症が成長に伴ってAsperger症候群と区別しがたいような臨床特徴を示すようになることなどから、Asperger症候群は自閉症とは全く別個の疾患ではなくて自閉症の変異のうちであるとの考え方が一般的とされる¹³⁾。

発達の経過からみると、Asperger症候群は言語能力が高いために幼児期に家族が気づきにくいとか成人期に安定した環境では問題になりにくいという診断の難しさが指摘されている。4~6歳の高機能PDDで10~13歳時の転帰をみると、対人関係及びコミュニケーションの転帰は幼児期の言語能力と関連しており、その傾向が自閉症ではAsperger症候群より強かったとの報告があり²⁸⁾、Asperger症候群では幼児期に言語能力が一定の高さに達しているのかえって転帰を予測しにくくしていると思われる。逆に言えば、言語能力が高いからといってAsperger症候群の障害が軽度であるとは言えないということであろう。

Asperger症候群はその魅力的な名前の効果もあり注目を集めてきたが、一方で、特別な命名がされず十分に検討されないうちに増加してきたものにDSM-IVの特定不能の広汎性発達障害 (pervasive developmental disorder-not otherwise specifies: PDD-NOS) やICD-10の非定

型自閉症 (atypical autism) がある。最近では自閉症や Asperger 症候群との比較が行われるようになっており、就学前後の高機能非定型自閉症は高機能自閉症よりも CARS の評価で情緒反応についてより軽度であり恐れや不安についてより重度であったとの報告がある²⁰⁾。また、4歳前後の主として高機能の PDD について親及び教師による行動評価をみると、PDD-NOS は自閉症よりも言語及び対人関係の障害が軽度でありより強迫性が低くよりチックが少なかったとされる¹⁴⁾。これらの研究では非定型自閉症や PDD-NOS はひとまとめにされているが、必ずしも均質ではないと推察されている。高機能の PDD-NOS には、Asperger 症候群に類似しているが一過性の言語発達遅滞または軽度の認知障害を有する群や常同的及び反復的行動が乏しいために自閉症の診断基準を満たさない群が認められたという¹⁴⁾。

Asperger 症候群に特徴的とされてきた運動機能の障害は PDD-NOS を含めた高機能 PDD でしばしば認められ²⁷⁾、不注意、多動性、衝動性と共に高機能 PDD で目立つ行動特徴と思われる。

3. 注意欠陥/多動性障害 (attention-deficit/hyperactivity disorder : AD/HD) との関係

先述したように PDD では不注意、多動性、衝動性がしばしば問題になるが、AD/HD の診断基準には PDD でないことが含まれている。しかし、平均10歳の高機能 PDD 53名で敢えて AD/HD の併発を診断したところ 68% と高率であったとの報告がある³⁷⁾。AD/HD の併発率は、Asperger 症候群または PDD-NOS で 85% と自閉症よりも高率であり、10歳以下で 79% と 11歳以上よりも高率であったという。AD/HD の亜型では不注意優勢型が最も多かったという。また、平均 8.5 歳の PDD または AD/HD について AD/HD に関連する評価尺度などを検討したところ PDD 27 名中 16 名が AD/HD の併発に相当して、その中でも不注意優勢型がやや多かったとの報告もある。これらの研究では日常生活への影響や治療への示唆などから PDD と独立に AD/HD を診断することの意義が強調されている¹⁷⁾。

一方、PDD、特に高機能 PDD と AD/HD と

の鑑別診断が可能かの検討も進められている。平均 9 歳前後の高機能自閉症、AD/HD 及び健常対照について小児コミュニケーションチェックリスト (children's communication checklist : CCC) を用いて評価すると、CCC の 9 カテゴリー得点及び総得点はおおむね高機能自閉症、AD/HD、健常対照の順となり、9 カテゴリーの中で不適切なコミュニケーションの開始及び対人関係の 2 つ以外では高機能自閉症と AD/HD に有意差を認めたという¹⁵⁾。

4. 広い自閉症表現型 (broad autism phenotype)

双生児研究や家族研究によって自閉症に遺伝的要因の関与が大きいことが明らかになると共に、自閉症の親族は自閉症に近似した特徴をいくらか有することがしばしばあると気づかれてきた。この特徴が広い自閉症表現型と呼ばれており、自閉症研究に分子遺伝学が活用されるにつれてますます注目されている。

広い自閉症表現型の定義は確固としたものとはまでは言えないが、自閉症の 3 つの行動症状に沿っておおよそ以下のように考えられている。すなわち、対人関係の障害としては、情緒の欠如、対人的機能不全、友情の障害、対人的遊びの障害、奇妙な行動、会話の障害があげられる。語用論的障害を中心とする言語に関連する認知障害、さらには、限定された興味、融通の無さ、強迫的で反復的な興味と活動も含まれる。

広い自閉症表現型の目安をより簡便かつ明確につけることを目指して、自閉症スペクトラム指数 (autism spectrum quotient : AQ) の活用が試みられている。AQ は 5 つの下位尺度からなる自己評価尺度であり、高機能自閉症または Asperger 症候群と健常者とを判別できるとされている。PDD 児の親は AQ の対人技能とコミュニケーションの 2 つの下位尺度で健常児の親よりも有意に高得点であり、この特徴は PDD 児の知能にかかわらず認められたという⁴⁾。

広い自閉症表現型を検討するにあたっては、特異的言語障害 (specific language impairment : SLI) との関係に注目した研究もある。自閉症の

中には、構音には問題がなく、語彙や無意味語の反復記憶に比べてより高次の統語論的及び意味論的課題で成績が不良な一群があり、SLIとは言語検査の所見で共通する面があるという³⁰⁾。そして、自閉症の少なくとも一部はSLIと共通する病因を有するのではないかと仮説もあり、SLIの分子遺伝学的検討が進むにつれて、SLIと共通する言語特徴が、広い自閉症表現型にあてはまるのではないかと注目されてきた。しかし、無意味語の反復記憶と無意味な句の読みによって音韻過程を測定したところ、言語性IQが正常範囲であるPDD児では健常児と大差がなく、また、PDD児の第一度親族では音韻過程に異常がなかったことから、少なくとも音韻過程の障害は広い自閉症表現型ではなからうとの報告もある⁵⁾。

広い自閉症表現型と関連しては言語障害だけでなく精神症状や精神障害も検討されている。5歳前後の主として高機能のPDD児の親とPDD以外の発達障害児親とを比べたところ、PDD児の母親ではうつと不安が有意に高く、しかもその傾向はPDD児の出生前より存在していたという²³⁾。

いずれにしても、広い自閉症表現型を検討する際には、自閉症は複雑でありふれた疾患であるとの前提が重要であると強調されている⁹⁾。すなわち、自閉症では、遺伝的要因と主として胎生期に作用する環境要因とが何らかの生物学的基盤となるネットワークの下で相互に作用し合っており、しかもその作用は階層性があると同時に突発的な発展がありうるということである。そして、しばしば起こるてんかんや精神遅滞の併発について、自閉症とは別個のものとは決めつけずに、同じ要因が関与していても突発的な発展が生じているのかもしれないとか、同じ生物学的基盤があっても代償が崩れたためかもしれないなどと検討することも大切という。

自閉症を複雑な疾患としてとらえると高機能PDDが“純粋な”PDDと単純には言えないというBaileyの指摘¹⁾は高機能に重点を置く最近の流れに逆行するようであるが、異質性のあるPDDにおける表現型を考える上で興味深い。複雑な疾患であるということを十分に念頭におい

て、行動表現型をさらに検討すると共に、神経心理や脳画像などを用いて生物学的基盤を反映して遺伝的要因に繋がりうるendophenotypeを探求することが重要であり、まさに、学問分野の連携や統合が強く求められている。

5. おわりに

本稿では、自閉症が最近ではどのように理解されているかを中心に述べて、治療に関する研究にはほとんど触れられなかった。治療についても学問分野の連携が進む方向にあり、例えば、分子遺伝学の知見を薬物療法に還元するようなpharmacogenomicsも自閉症で検討されつつある²⁴⁾。また、早期からの発達の経過への関心が高まると同時に、どのような早期介入が有効かの実証的検討が必要されているが、必ずしも容易ではない。生物学的研究の活性化が治療の進展に繋がるように一層の努力が求められている。

本稿をまとめるにあたっては、厚生労働科学研究費・こころの健康科学研究「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」から助成を受けた。

文 献

- 1) Bailey A, Parr J (2003) Implications of the broader phenotype for concepts of autism. *Novartis Found Symp* 251 : 26-35.
- 2) Baird G, Charman T, Baron-Cohen S, et al (2000) A screening instrument for autism at 18 months of age : a 6-year follow-up study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 39 : 694-702.
- 3) Bertrand J, Mars A, Boyle C, et al (2001) Prevalence of autism in a United States population : the Brick Township, New Jersey, investigation. *Pediatrics* 108 : 1155-1161.
- 4) Bishop DV, Maybery M, Maley A, et al (2004) Using self-report to identify the broad phenotype in parents of children with autistic spectrum disorders : a study using the Autism

- Spectrum Quotient. *J Child Psychol Psychiatry* 45 : 1431-1436.
- 5) Bishop DV, Maybery M, Wong D, et al (2004) Are phonological processing deficits part of the broad autism phenotype? *Am J Med Genet* 128 B : 54-60.
 - 6) Blaxill MF (2004) What's going on? The question of time trends in autism. *Public Health Rep* 119 : 536-551.
 - 7) Chakrabarti S, Fombonne E (2001) Pervasive developmental disorders in preschool children. *JAMA* 285 : 3093-3099.
 - 8) Charman T (2002) The prevalence of autism spectrum disorders. Recent evidence and future challenges. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 11 : 249-256.
 - 9) Chez MG, Chin K, Hung PC (2004) Immunizations, immunology, and autism. *Semin Pediatr Neurol* 11 : 214-217.
 - 10) Courchesne E, Redcay E, Kennedy DP (2004) The autistic brain: birth through adulthood. *Curr Opin Neurol* 17 : 489-496.
 - 11) Croen LA, Grether JK, Hoogstrate J, et al (2002) The changing prevalence of autism in California. *J Autism Dev Disord* 32 : 207-215.
 - 12) DeStefano F, Thompson WW (2004) MMR vaccine and autism: an update of the scientific evidence. *Expert Rev Vaccines*, 3 : 19-22.
 - 13) Frith U (2004) Emanuel Miller lecture: confusions and controversies about Asperger syndrome. *J Child Psychol Psychiatry* 45 : 672-686.
 - 14) Gadow KD, DeVincent CJ, Pomeroy J, et al (2004) Psychiatric symptoms in preschool children with PDD and clinic and comparison samples. *J Autism Dev Disord* 34 : 379-393.
 - 15) Geurts HM, Verte S, Oosterlaan J, et al (2004) Can the Children's Communication Checklist differentiate between children with autism, children with ADHD, and normal controls? *J Child Psychol Psychiatry* 45 : 1437-1453.
 - 16) Gillberg C (1991) Clinical and neurobiological aspects of Asperger syndrome in six family studies. In: *Autism and Asperger syndrome* (ed Frith U) Cambridge University Press, pp122-146.
 - 17) Goldstein S, Schwabach AJ (2004) The comorbidity of Pervasive Developmental Disorder and Attention Deficit Hyperactivity Disorder: results of a retrospective chart review. *J Autism Dev Disord* 34 : 329-339.
 - 19) Hippler K, Klicpera C (2003) A retrospective analysis of the clinical case records of 'autistic psychopaths' diagnosed by Hans Asperger and his team at the University Children's Hospital, Vienna. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358 : 291-301.
 - 19) Icasiano F, Hewson P, Machet P (2004) Childhood autism spectrum disorder in the Barwon region: a community based study. *J Paediatr Child Health* 40 : 696-701.
 - 20) Kanai C, Koyama T, Kato S, et al (2004) Comparison of high-functioning atypical autism and childhood autism by Childhood Autism Rating Scale-Tokyo version. *Psychiatry Clin Neurosci* 58 : 217-221.
 - 21) Le Courteur A, Lord C, Rutter M (2003) The Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R). Los Angeles, CA: Western Psychological Services.
 - 22) Lord C, Risi S, Lambrecht L, et al (2000) The autism diagnostic observation schedule-generic: a standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism. *J Autism Dev Disord* 30 : 205-223.
 - 23) Micali N, Chakrabarti S, Fombonne E (2004) The broad autism phenotype: findings from an epidemiological survey. *Autism* 8 : 21-37.
 - 24) Palermo MT, Curatolo P (2004) Pharmacologic treatment of autism. *J Child Neurol* 19 : 155-164.
 - 25) Rellini E, Tortolani D, Trillo S, et al (2004) Childhood Autism Rating Scale (CARS) and Autism Behavior Checklist (ABC) correspondence and conflicts with DSM-IV criteria in

- diagnosis of autism. *J Autism Dev Disord* 34 : 703-708.
- 26) Research Units on Pediatric Psychopharmacology Autism Network (2002) Risperidone in children with autism and serious behavioral problems. *N Engl J Med* 347 : 314-321.
- 27) Sturm H, Fernell E, Gillberg C (2004) Autism spectrum disorders in children with normal intellectual levels : associated impairments and subgroups. *Dev Med Child Neurol* 46 : 444-447.
- 28) Szatmari P, Bryson SE, Boyle MH (2003) Predictors of outcome among high functioning children with autism and Asperger syndrome. *J Child Psychol Psychiatry* 44 : 520-528.
- 29) Tadevosyan-Layfer O, Dowd M, Mankoski R, et al (2003) A principal component analysis of the Autism Interview-Revised. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 42 : 864-872.
- 30) Tager-Flusberg H (2004) Strategies for conducting research on language in autism. *J Autism Dev Disord* 34 : 75-79.
- 31) Tanguay PE (2004) Commentary : categorical versus spectrum approaches to classification in pervasive developmental disorders. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 43 : 181-182.
- 32) Vitiello B, Wagner A (2004) Government initiatives in autism clinical trials. *Cns Spectrums* 9 : 66-70.
- 33) Volkmar FR, Lord C, Bailey A, et al (2004) Autism and pervasive developmental disorders. *J Child Psychol Psychiatry* 45 : 135-170.
- 34) Walker DR, Thompson A, Zwaigenbaum L, et al (2004) Specifying PDD-NOS : a comparison of PDD-NOS, Asperger syndrome, and autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 43 : 172-180.
- 35) Wing L (1981) Asperger's syndrome : a clinical account. *Psychol Med* 11 : 115-129.
- 36) Wing L, Potter D (2002) The epidemiology of autistic spectrum disorders : is the prevalence rising? *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 8 : 151-161.
- 37) Yoshida Y, Uchiyama T (2004) The clinical necessity for assessing Attention Deficit/Hyperactivity Disorder (AD/HD) symptoms in children with high-functioning Pervasive Developmental Disorder (PDD). *Eur Child Adolesc Psychiatry* 13 : 307-314.

Submitted to the *Neuroscience Research* as a Rapid Communication.
The work has not been published and is not under review with another journal.

No association of FOXP2 and PTPRZ1 on 7q31 with autism from the Japanese population

**Tetsuya Marui,¹ Shinko Koishi,² Ikuko Funatogawa,³ Kenji Yamamoto,² Hideq
Matsumoto,² Ohiko Hashimoto,⁴ Eiji Nanba,⁵ Chiëko Kato,¹ Michiko Ishijima,¹
Keiichiro Watanabe,¹ Kiyoto Kasai,¹ Nobumasa Kato,¹ Tsukasa Sasaki,^{1,6}**

¹Department of Neuropsychiatry, Graduate School of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan

²Department of Psychiatry, Tokai University School of Medicine, Isehara, Japan

³Department of Biostatistics, School of Health Sciences and Nursing, University of Tokyo, Tokyo, Japan

⁴Department of Psychiatry, Graduate School of Medicine, University of Nagoya, Aichi, Japan

⁵Gene Research Center, Tottori University, Yonago, Japan

⁶Department of Psychiatry, Health Service Center, University of Tokyo, Tokyo, Japan
Tottori University, Yonago, Japan

Correspondence to:

Tsukasa Sasaki, MD, PhD

Health Service Center, University of Tokyo

7-3-1 Hongo, Bunkyo, Tokyo 113, Japan

Fax: +81-3-5841-2588

E-mail: psytokyo@yahoo.ac.jp

ABSTRACT

Autism is a child-onset pervasive developmental disorder, with a significant role of genetic factors in its development. Genome-wide linkage studies have suggested a 7q region as a susceptibility locus for autism. We investigated several SNPs of *FOXP2* and *PTPRZ1* at the 7q region in Japanese patients with autism and healthy controls. No significant difference was observed, after correction for the multiple testing, in allele, genotype or haplotype frequencies of the SNPs of *FOXP2* or *PTPRZ1* between patients and controls. No evidence was thus obtained for a major role of *FOXP2* or *PTPRZ1* in the development of autism.

Keywords: autism, chromosome 7q, *FOXP2*, *PTPRZ1*, genetic association

Autism is a neurodevelopmental disorder characterized by impairment in reciprocal social interaction and communication, restricted and stereotyped pattern of interest and activities, occurring within the first three years of life. A disrupted growth of the brain, with unknown mechanism, is suggested on the background of autism. Twin and family studies have indicated a robust role of genetic factors in the development of autism (Folstein and Rosen-Sheidley, 2001). A number of genome-wide linkage studies have been conducted in Caucasian families with autism and its spectrum disorders. Although the results of the linkage studies were controversial, several studies have provided evidence for a chromosomal 7q region (7q21-31.3) as a susceptibility locus (or loci) of autism (reviewed by Folstein and Rosen-Sheidley, 2001). Candidate genes of autism on this chromosomal region may include *FOXP2* (*Forkhead Box P2*) and *PTPRZ1* (*Protein-Tyrosine Phosphatase, Receptor-type, Zeta-1*), which are both located on 7q31.

FOXP2 encode a forkhead family protein, which plays diverse and important roles in embryogenesis (Kaufmann and Knochel, 1996). *FOXP2* is expressed in confined regions of the brain during embryogenesis, in contrast to its ubiquitous expression during adulthood, suggesting its role in the prenatal brain development (Lai et al., 2001). Interestingly, a point mutation of *FOXP2* is responsible for speech and language disorder in a unique three-generation pedigree and a translocation of *FOXP2* was found in an individual with severe language deficit (Lai et al., 2001). Language (or communication) dysfunction is a major symptom in autism. Thus far, a study found a weak support for association between *FOXP2* and autism (Gong et al., 2004), while another study observed no association (Wassink et al., 2002).

PTPRZ is also highly expressed in the brain during embryogenesis (Levy et al., 1993). *PTPRZ1* is a large receptor-type protein of tyrosine phosphatase. Phosphorylation of tyrosine-residues plays a key role in the signaling of cell growth and differentiation. *PTPRZ1* plays a role in recovery and survival of oligodendrocytes in demyelinating disease (Harroch et al., 2002). Glial cells including oligodendrocytes may be involved in neurodevelopmental disorders including autism (Dong and Greenough, 2004). Thus far, Bonora et al. (2004) observed no association between *PTPRZ1* and autism.

We here studied these two genes in 170 unrelated Japanese patients with autism (147 males and 23 females, mean age = 20.8 years with the range of three-41 years) and 214 unrelated healthy volunteers (145 males and 69 females, mean age = 34.6 years with the range of 21-65 years). All patients met the DSM-IV criteria for autistic disorder. The patients were recruited from the outpatient clinics of the departments of psychiatry, Tokyo University Hospital and Tokai University Hospital, and seven daycare facilities for subjects with developmental disorders. All the hospital and facilities were located around Tokyo. Apparent physical anomalies were not observed in the subjects. Controls were mainly recruited from the hospital and facility staff. All controls resided in the same area (Kanto District or around Tokyo) as the patients. All the patients and controls were ethnically Japanese, with no parents or grandparents of ethnicity other than Japanese.

Confirmation of the diagnosis was conducted as follows. Semi-structured behavior-observation of the patients and interview of them and their parents were conducted, for most of the cases, by two experienced child-psychiatrists independently. When one of the parents was not available, mothers were interviewed in most of the cases. At the interview of the parent(s), the Child Behavior Questionnaire Revised (Izutsu et al., 2001) was used to assist the evaluation of the autism-specific behaviors and symptoms. Diagnosis was made according to the DSM-IV criteria. After the initial observation and interview, the patients were followed up to examine the behaviors and symptoms for several months (for at least six months in most of the cases) and those who were not considered to meet the DSM-IV criteria during the follow-up were excluded from the sample.

The present study was approved by the Ethical Committees of the University of Tokyo and Tokai University. Informed consent was obtained from all subjects and healthy controls. Peripheral blood was obtained and genomic DNA was extracted using the standard phenol-chloroform method.

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the genes were analyzed, using ABI prism 7900HT sequence detective system (Applied Biosystems Foster City, CA, USA). Five SNPs and seven SNPs of the *FOXP2* and *PTPRZ1* genes, respectively, were selected from the list of Assays-on-Demand™ Products for ABI PRISM 7900HT for this association study. SNPs with putative high minor allele frequencies in Japanese, according to the database for the Applied Biosystems Assays-on-Demand™ SNP Genotyping Assays, were predominantly selected for the study. The db SNP IDs of the SNPs are shown in Tables 1 and 2. Primers and probes of the ABI Assays-on-Demand™ kit were used for the genotyping.

Statistical analyses were performed using the SAS/Genetics 9.1 software (SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA). D' and r^2 of the linkage disequilibrium between SNPs were estimated. Frequencies of haplotypes consisting of SNPs, which were at high linkage disequilibrium, were estimated. Exact p-values based on the likelihood ratio test with 10000 permutation were calculated for comparison of haplotype frequencies between patients and controls.

Allele frequencies of the SNPs of *FOXP2* and *PTPRZ1* are summarized in Table 1 and 2. The frequency of the minor allele of the SNPs was higher than 30%, except for the SNP 4 of *FOXP2* and the SNPs 4 and 6 of *PTPRZ1*. For the most of the SNPs, the allele frequencies were almost same between the patients and controls. No significant difference was observed in the allele frequencies of any of the SNPs between the groups. No significant difference was found in genotype frequencies between the groups, either (not shown in the Table). When analyzed by sex, a difference was observed in allele frequencies of the SNP 3 (rs1456029) of *FOXP2* at intron 7 between male patients and controls (chi-square = 5.06, $df = 1$, $p = 0.024$, uncorrected). The difference was not statistically significant after correction for the multiple testing. No other significant difference was observed. Hardy-Weinberg disequilibrium was not observed after correction for multiple comparisons.

Strength of linkage disequilibrium, denoted as D' , between pairs of the SNPs of *FOXP2* and *PTPRZ1* is summarized in Tables 3(a) and 3(b), respectively. The SNP 1 and 2 of *FOXP2* were at high LD and the SNPs 4-7 of *PTPRZ1* appear to form a LD block, both in controls and patients. Haplotype frequencies of the *FOXP2* SNPs1-2 and the *PTPRZ1* SNPs 4-7 were estimated and compared between patients and controls using permutation test. No significant difference was observed.

Genetic association between these genes and autism has been explored in a limited number of studies. *PTPRZ1* was previously investigated in a study, with other six genes on the 7q area. While the study provided suggestive evidence for the role of other genes, including *LAMB1* and *NRCAM*, no support was observed for the role of *PTPRZ1* in autism, (Bonora et al. 2004). This result on *PTPRZ1* may be consistent with the present study. Regarding *FOXP2*, a Chinese group found an association of one SNP (rs1456031) out of three with autism using transmission disequilibrium test (TDT) (Gong et al. 2004). The rs145603 is at intron 9 of *FOXP2* and relatively close to the SNP3 (rs1456029) of the present study (at 5kb distance). The level of the significance of rs1456031 was however marginal ($p = 0.049$), which does not reach statistical significance after correction for the multiple testing of the three SNPs. They also found the association of haplotypes formed by rs1456031 and two other SNPs with autism (Gong et al. 2004). Another study that investigated the role of *FOXP2* provided no evidence for the linkage or association of the gene with autism, which may be consistent with the present result (Wassink et al. 2002). Studies thus far to our knowledge, including the present one, may therefore yield no support for the genetic association between *PTPRZ1* with autism. However, the results on the association between *FOXP2* and the disease might be controversial.

A major limitation of the present study is the limited sample size. The present sample size might not be adequate to detect susceptibility genes of small effects. Another concern may be population stratification of the sample, which could affect studies in case-control design. This might not however significantly affect the present study in homogeneous Japanese population. No subjects in this study had parents or grandparents of ethnicity other than Japanese. Also acknowledged might be that the controls in this study were not age-matched to the patients. But this may not be likely to significantly affect the result, considering the homogeneity of the population and no major effect of environmental factors in autism (Folstein et al., 2001).

In conclusion, no evidence was provided for the association of *FOXP2* and *PTPRZ1* with autism. However, the SNPs which provided a weak support for the association of *FOXP2* in the Chinese study (Gong et al. 2004) and in male subjects of present study are relatively close. Further investigations are interesting.

References

- Bonora, E., Lamb, J.A., Barnby, G., Sykes, N., Moberly, T., Beyer, K.S., Klauck, S.M., Poustka, F., Bacchelli, E., Blasi, F., Maestrini, E., Battaglia, A., Haracopos, D., Pedersen, L., Isager, T., Eriksen, G., Viskum, B., Sorensen, E.U., Brondum-Nielsen, K., Cotterill, R., Engeland, H.V., Jonge, M.D., Kemner, C., Stegheuis, K., Scherpenisse, M., Rutter, M., Bolton, P.F., Parr, J.R., Poustka, A., Bailey, A.J., Monaco, A.P., 2004. Mutation screening and association analysis of six candidate genes for autism on chromosome 7q. *Eur. J. Hum. Genet.* ., Summary Brief Ab