

の評価が必要と考えられている。そこで、言語のカテゴリ化能力を反映する事象関連電位N400の記録をおこなったところ(加我ら, 2003), PDDでは聴覚入力に比べて視覚入力による情報処理の成熟が遅れている可能性を指摘した。

このように、自閉症の認知に関わる障害の種類や程度と、機能画像上で明らかになる脳の関連領域が、どのように対応するのかを調べることが、基礎および臨床研究の一つの流れとなって進められている。しかしながら、これまでの神経生理学的手法を用いた研究は主に上側頭回付近を由来とする機能について報告したものが多く、行動や言葉に関する認知や記憶、それらの判断や企画に重要に関わる前頭葉機能についての報告はほとんどない。

ワーキングメモリー利用時には、脳の広い領域が関連していることがこれまでに報告されており、特に、前頭領域の機能状態がその利用の程度に反映されると考えられている(Prabhakaran, et al., 2000; Rowe, et al, 2000; Habib, et al., 2003)。そこで本研究では、自閉症児・者における視空間ワーキングメモリー(Visuospatial Working Memory; VWM)の利用特性と脳活動との関連について解明するため、TMT(trail making test) 課題を実施している間の脳活動について検討することにした。TMTは、前頭葉機能の評価に有効な精神機能検査であり、

図1 検査の様子



脳の器質的障害のみならず知能指数や加齢までもがその結果に反映されると考えられている(Nielsen et al., 1984; 梶本ら, 2000)。従来は、紙上に描かれた数字を順に鉛筆等をつなぐ作業課題であったが、梶本ら (2000) によってコンピュータ支援型TMT (advanced trail making test: ATMT) が開発され、タッチパネルディスプレイ上での操作が可能となった。本研究ではこのATMTを利用することにした。

脳活動の記録には、近赤外分光法 (near infrared spectroscopy: NIRS) を用いた。NIRSは、生体組織に対して透過性が高い近赤外光を外側から照射し、その光の吸収量の変化から計測地点における血液中のオキシヘモグロビン (Oxy-Hb), デオキシヘモグロビン (Deoxy-Hb) 濃度を算出する。脳の活動と血流の増減が関連することから、ヒトがある特定の行動をしている時と安静にしている時との脳血流内変化を比較することによって、記録地点プローブの脳領域がその行動に関連しているかを観察することが可能である。また、機器設置や記録の容易さから、小児や発達障害児・者への適用が期待されている。

自閉症における脳の機能局在を明らかにする上で、健常者における行動と脳活動との対応を解明することが必須であるが、現時点では、NIRSによる健常成人の脳活動を検討したものは極めて少なく、とりわけワーキングメモリーの利用



を捉えた報告は稀少である。そこで本報告では、自閉症児・者との対比を試みるためにまず、健常成人を対象にワーキングメモリの利用が脳血流内変化へおよぼす影響について明らかにし、その発達および機能障害の評価へとつながる指標を作成することを目的とした。

B. 研究方法

右利きの健常成人9名（男性6名、女性3名、20-32歳）を対象とした。本研究の実施にあたっては被験者本人へ検査の意義と方法についての詳細な説明およびインフォームドコンセントを得て行われた。

本研究では従来のATMTを新たに小児用に改良した（以下、小児用ATMT）ものを使用した。課題は、性質の異なる三つの課題（A課題、B課題、C課題）で構成されている。いずれの課題も、15インチのタッチパネルディスプレイ（東京特殊電線、CV516PJ）に表示される数字をできるだけ早く順に触れるというもので、A課題では1から5までの数字が、BおよびC課題では、1から20までの数字が反応の対象とされた。このとき、AおよびB課題では画面上の数字配置に変化は無いが、C課題では数字を1つ触れる毎に全ての数字配置が変わる。したがって、課題遂行に関わる情報処理過程のほとんどが視空間の探索に費やされるC課題に対して、AおよびB課題の遂行には、VWMの利用が可能となる。なお、BおよびC課題では、正しく反応した数字は瞬時に画面から消えるが、その直後にランダムな位置に‘正しく反応した数字+20’の数字が出現するため、視覚刺激の物理量はいずれの反応時においてもほぼ一定であると考えられる。

タッチパネルディスプレイは被験者の前方およそ60cmの位置にリラックスした状態で腰掛け、利き手の示指にて反応するよう教示された。呈示された数字は、直径2.0cmの黒色の円に白色MSゴシック体にて描かれ、白色の背景上に呈示された。数字タッチに対する被験者へのフィード

バックについては、A課題では、被験者が正しい反応をした直後に数字の色変化（白色→黄色）にて、BおよびC課題では、色の変化はなくチャイムの呈示で知らせた。なお、誤反応に対してはいずれの課題においてもブザー音を呈示し、負の評価として被験者へフィードバックした。

行動データの評価にあたっては、各課題の平均遂行時間と下記の式によって算出されたワーキングメモリ利用率を用いた（岩瀬ら、2003）。

$$\text{ワーキングメモリ利用率 (\%)} = \frac{\text{B課題でワーキングメモリを利用した正反応数}}{\text{B課題での正反応総数}} \times 100$$

まず、C課題での正反応に対する反応時間の分布（ヒストグラム）から上位5%の閾値④を決定し、B課題においてその閾値④よりも早い反応時間を示したのものについて、ワーキングメモリを利用したと定義した。そこから、B課題での正反応総数に対する、ワーキングメモリを利用した正反応数の割合を算出したものを今後は、VWM利用率として記載する。

NIRSの記録にはETG-100（日立メディコ社製）を用い、ch23が国際10-20法におけるCz上になるように4×4プローブホルダを前頭部へ設置して計24部位から計測した（図1, 2）。解析として、課題開始前10.0秒から課題終了後10.0秒までのOxy-HbおよびDeoxy-Hb濃度について各課題の5回分の積算値を求めた。さらに、前頭領域

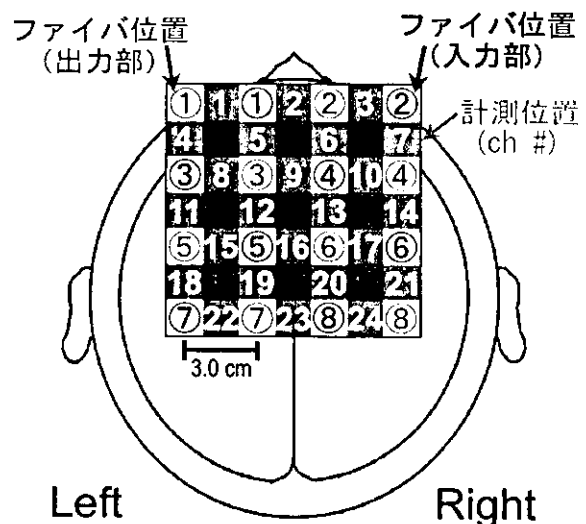


図2 計測位置

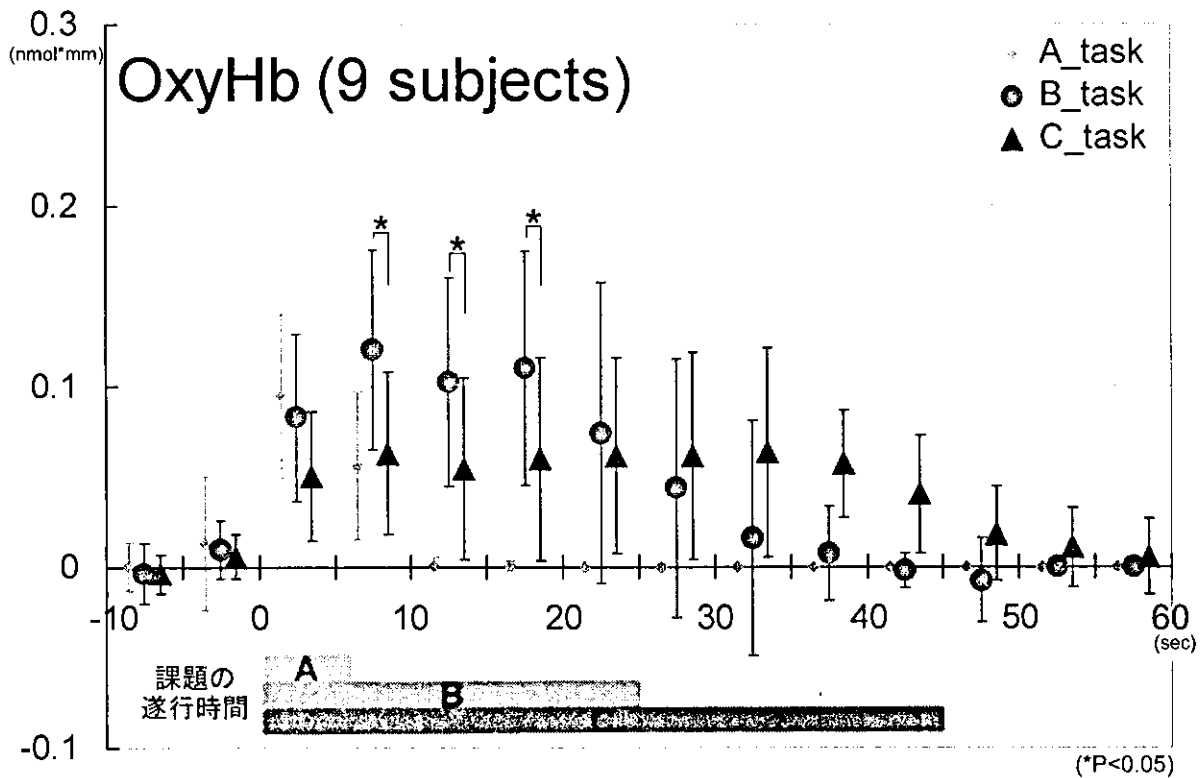


図3 全被験者に対する5秒毎の平均オキシヘモグロビン濃度の変化

(ch1-10) で最大振幅を示す部位のOxy-HbおよびDeoxy-Hb濃度積算値について、5秒毎の平均値を課題間で比較し、課題開始後0~5秒の区間ではA, B, Cの三課題間で、5~20秒の区間ではA課題が終了しているため、BおよびCの二課題間で、Oxy-Hb, Deoxy-Hb濃度各々に対するANOVA (analysis of variance) 検定を適用した。

(倫理面への配慮) 本研究の実施にあたってはあらかじめ対象者にその意義と方法について充分説明を行い、書面にて同意を得た上で行った。

C. 研究結果

各課題1回あたりの遂行時間は、A課題：4.4 ± 0.7 (mean ± SD) 秒, B課題：26.3 ± 4.8秒, C課題：45.6 ± 9.0秒であった。なお、ワーキングメモリー利用率は、51.3 ± 10.3%であった。

NIRSによる脳血流内変化の記録から、いずれの課題遂行中においてもOxy-Hb濃度が上昇し、課題終了にともなって減衰することが認められ

た。その様相は前頭領域と中心領域とで異なり、前頭領域のみで課題間で大きなHb濃度変化を示す被験者と、前頭領域および中心領域のそれぞれにHb濃度変化に課題間の相違を示す被験者がおり、また、その最大変化を示す部位が被験者間で異なっていた。したがって本報告では、前頭領域 (ch1-10) で最も大きなHb濃度変化を示す部位における、Oxy-Hb, Deoxy-Hb濃度に焦点をあてて解析した。

課題開始後5.0~10.0秒, 10.0~15.0秒, 15.0~20.0秒間での前頭領域における平均Oxy-Hb濃度は各々、C課題よりもB課題実施時に有意に ($p < 0.05$) 上昇した (図3)。一方、Deoxy-Hb濃度にはほとんど変化が認められず、5秒毎の平均値も課題間に有意差は無かった。なお、0~5.0秒間での平均Oxy-HbおよびDeoxy-Hb濃度には、いずれも課題間の有意差は認められなかった (図4)。

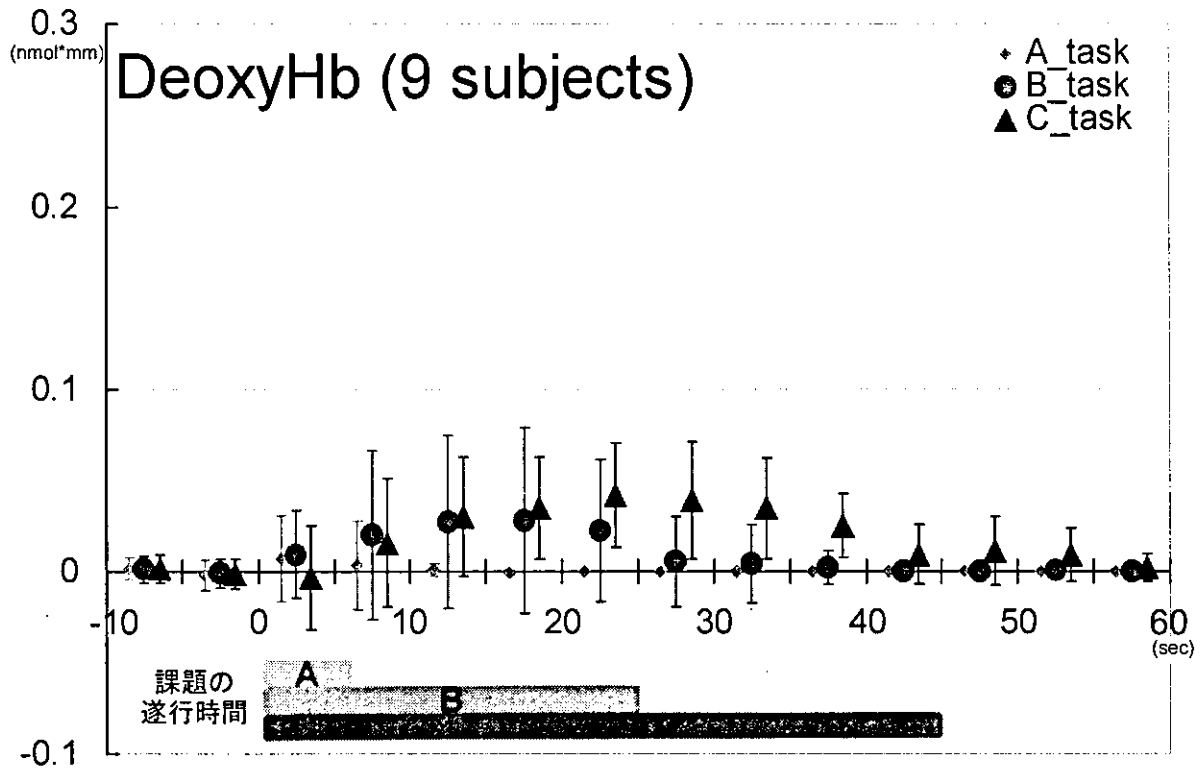


図4 全被験者に対する5秒毎の平均デオキシヘモグロビン濃度の変化

D. 考察

ヒトの活動と対応する脳血流動態を明らかにするNIRS研究は、これまで、成人と新生児を対象に視覚や聴覚刺激に対する知覚・認知に関わる反応の有無やその程度について検討されている。刺激に対応する脳領域での血流量増大は、健常の成人では通常オキシヘモグロビンとデオキシヘモグロビン濃度の上昇を導き出すという(Wyatt, et al., 1986; Onishi, et al., 1997). 新生児における感覚刺激に対する一次反応検出という点でもNIRSの適用が期待されているものの、新生児や幼児における脳血流内変化は、必ずしも成人で認められるヘモグロビン濃度変化と線形な軌跡をたどる訳ではない(Sakatani, et al., 1999; Zaramella, et al., 2001)ことから、脳の酸素代謝と発達との関係を明らかにし、非侵襲的な脳活動測定法によって可視化することが、現在、求められている。

前頭葉領域の中で特に上前頭回、下前頭回の脳活動が、ワーキングメモリーの利用に大きく

関与することがfMRIによる検討から報告されている(Prabhakaran, et al., 2000; Rowe, et al. 2000; Habib, et al., 2003). fMRIは、脳の神経活動亢進時に起こる血液酸素化のバランス変化について、数ミリメートル程度の空間的解像度と秒単位の時間解像度で計測することが可能であり、臨床応用をめざして様々なモダリティに対応する脳血流内変化が検証されつつある(Sadato, et al., 1996, 2002; Saito, et al., 2005). しかしながら、使用機器が高額であり、その稼動には特別な検査室が必要となるなど容易には利用できない。一方、NIRSは、空間解像度こそfMRIに及ばないものの、脳表の脳血流内変化を秒単位の時間解像度で捉えることが可能で、かつ比較的低価格であり、検査中の行動が比較的制限されないことから、今後、新生児や小児への適用や学習効果等を調べるための連続適用が可能であり、臨床の場での適用が大いに期待されている。近年、NIRSを用いて、集中力や注意の継続を必要とする課題に対する脳血流

内変化についていくつか報告されるようになり、精神機能の評価へと結びつく特に前頭葉における脳血流動態とその変化についての解明が注目されている (Fallgatter and Strik, 1997).

本研究は、発達障害、特に自閉症の診断およびその発達変化の評価に役立てるため、ワーキングメモリーと脳血流内酸素代謝との関係を非侵襲的に可視化することによって、ワーキングメモリーの利用程度を客観的に評価することを目指すものである。したがって本報告では、まず健常の成人における標準的な血流動態を確認した。

本検査では、体動や頭部位の傾斜などによるアーチファクトを防ぐため、課題実施に必要な余計な活動を避けるように被験者へ教示したが、彼らの内省から、教示によって特別な緊張感を引き起こすことはなく、落ち着いて検査に臨むことができたと思われる。

反応時間の解析から、ワーキングメモリー利用率は $51.3 \pm 10.3\%$ と算出された。健常の成人を対象とした岩瀬ら (2003) の研究では、同様に算出されたワーキングメモリー利用率が $42.9 \pm 11.5\%$ であり、本研究で得られたワーキングメモリー利用率よりもやや低い。しかし、このときの被験者の年齢が 34.8 ± 8.5 歳で本報告の被験者群よりもやや高いことから、被験者群の年齢による影響がワーキングメモリー利用率に反映されている可能性がある。

脳血流内変化については、今回行ったいずれの課題でも課題遂行中の $0xy-Hb$ 濃度の上昇が認められ、この傾向は、先行研究で報告された結果と一致する (Weber, et al., 2004)。Weberらは、子ども (9.6-12.9歳) を対象にTMT課題をおこなっている際の脳血流内変化についてNIRSを用いて計測し、課題中の $0xy-Hb$ 濃度の上昇を認めた。したがって、この現象は、視空間的な探索や記憶を要するATMT課題の遂行に関連して変化するものであり、成人も11歳前後の子どもと

似た血流内動態を示すと考えられた。しかしながら、その記録部位は左右半球の下前頭回における2部位であり、広い脳領域が関与すると考えられている前頭葉機能をより適切に解釈するには情報量が少ない。本研究では、上前頭回から中心前回にかけての広い領域から記録を行うことにより、そのような問題を避けることができた。その結果、多くの記録部位 (ch1~ch10) で大きな $0xy-Hb$ 濃度変化が認められた。このような広い領域で認められる脳活動が年齢発達にもなつてどのように変化するのは、今後、たいへん興味深い課題となるであろう。

また、B課題実施時に、課題開始後5.0~20.0秒間での前頭領域における $0xy-Hb$ 濃度の顕著な上昇は、課題を遂行するにあたっての方略の相違が影響したと思われる。B課題では、タッチパネルディスプレイに示された数字配置が固定されるため、ターゲット数字以外の数字に対しても位置の探索や記憶など複雑な処理過程が生じている。したがって、これら視空間的な探索課題に対するワーキングメモリーの利用率は、前頭領域における $0xy-Hb$ 濃度の特異的な上昇として捉えられるのではないかと考えられた。しかし、Stroop課題遂行中に得られる脳活動も前頭葉内側面、帯状回付近に出現することから (Horacek, et al., 2005)、本研究で得られた $0xy-Hb$ 濃度変化は、ワーキングメモリーの処理過程に加えて、注意や集中力、課題遂行への順応性や実行機能など複数の処理過程が反映された可能性も否定できない。

なお、0~5.0秒での平均 $0xy-Hb$ 濃度には、課題間の有意差が認められず、これは、課題遂行の初期にはいずれの課題においても同様にワーキングメモリーへのアクセスが行われている過程を反映しているかもしれない。すなわち、初期の5秒間にワーキングメモリーを利用するか利用しないかの課題方略に対する判断が下されているとも考えられる。本報告では、この区間

における経時的な分析をおこなっていないため詳細は不明であるが、この閾値を確定することが今後、重要な課題となると思われる。それはNIRSの時間解像度によっても、ある程度可能である。

一方、Deoxy-Hb濃度にはほとんど変化が認められなかった。持続的な注意を必要とするCPT (continuous performance test) 課題など、前頭葉賦活課題を行っているときの右前頭部におけるDeoxy-Hb濃度は低下するといわれている (Okada et al., 1994; Fallgatter et al., 1997; 灰田, 2002)。本報告では、下前頭回における記録をおこなっていないため、低下するDeoxy-Hb濃度変化を捉えることができなかったのかもしれない。しかしながら、Deoxy-Hb濃度変化は感覚刺激に伴って上昇を示す例と低下を示す例とがあり (Sakatani, et al., 1999), Deoxy-Hb濃度に反映される脳機能の解釈には不明な点も多い。したがって、本研究の結果は、ATMT課題に対する脳活動を、NIRSの記録から、少なくとも前頭領域におけるOxy-Hb濃度上昇として捉えられるという可能性を見出したが、本研究で得られた非常に小さなDeoxy-Hb濃度からの判定は依然、困難であると考えられた。

E. 結論

前頭領域におけるOxy-Hb濃度に課題の遂行にともなう上昇が認められたことから、課題遂行に対する集中や探索に関連した変化と示唆された。また、課題開始後5.0~20.0秒におけるOxy-Hb濃度は、C課題よりもB課題実施時に有意に上昇したことから、このOxy-Hb濃度変化は、VWMの利用に特異的な脳活動の変化を反映したものと考えられる。

このような脳機能画像解析が描き出すワーキングメモリ関連脳部位と行動との対応を明確にすることは、ワーキングメモリの異常に対する個々の脳機能異常検出という点で、たいへ

ん有用な手法となるだろう。小児用ATMTは6歳以上から摘要可能であり、今後は発達に応じた脳活動の変化や学習効果の評価を通じて、標準的な指標となる値や特徴的な変化を分類し、自閉症児・者におけるワーキングメモリ利用特性の解明へとつなげていきたい。

謝辞

本研究に当たりましては、金吉晴先生、永岑光恵先生 (国立精神・神経センター精神保健研究所)、梶本修身先生 (大阪外国語大学) のご協力をいただきました。深謝いたします。

研究協力者

軍司敦子, 稲垣真澄, 小久保奈緒美

参考文献

- Baily, A.J. The biology of autism. *Psychological Medicine*. 1993. 23:7-11.
- Courchesne, E., Kilman, B.A., Galambos, R. and Lincoln, J. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology. 1987. 59:238-248.
- Fallgatter, A.J., and Strik, W.K. Right frontal activation during the continuous performance test assessed with near-infrared spectroscopy in healthy subjects. *Neuroscience Letters*. 1997. 223:89-92.
- Frith, U. Autism-Explaining the enigma-. Oxford, Basil Blackwell. 1989.
- Gage, N.M., Siegel, B., Callen, M. and Roberts, T.P. Cortical sound processing in children with autism disorder: an MEG investigation. *Neuroreport*. 2003. 14:2047-2051.
- Gervais, H., Belin, P., Boddaert, N., Leboyer, M., Coez, A., Sfaello, I., Barthelemy, C., Brunelle, F., Samson, Y. and Zilbovicius, M. Abnormal cortical voice processing in autism. *Nature Neuroscience*. 2004. 7:801-802.
- Habib, R., Nyberg, L. and Tulving, E. Increased prefrontal and parietal activity after training of working memory. *Nature Neuroscience*. 2003. 7:75-79.

- 灰田宗孝. 脳機能計測における光トポグラフィ信号の意味. *MEDIX*. 2002. 36: 17-21.
- 羽鳥誉之, 稲垣真澄, 白根聖子, 加我牧子. 広汎性発達障害における聴覚性P300の検討. 第106回日本小児科学学術集会プログラム・予稿集. 2003.
- Horacek, J., Zavesicka, L., Tintera, J., Dockery, C., Platilova, V., Kopecek, M., Spaniel, F., Bubenikova, V. and Hoschl, C. The effect of tryptophan depletion on brain activation measured by fMRI during the stroop test in healthy subjects. *Physiological Research*. 2005. Nov 15. [Epub ahead of print]
- 稲垣真澄, 白根聖子, 羽鳥誉之. 自閉症の臨床神経生理学的研究—誘発電位と事象関連電位を中心に—. *発達障害研究*. 2003. 25: 17-23.
- 岩瀬真生, 高橋秀俊, 中鉢貴行, 梶元修身, 志水彰, 武田雅敏. Advanced Trail Making Test (ATMT) によるVisuospatial Working Memoryの測定. *精神医学*. 2003. 45:1291-1296.
- 加我牧子. 認知発達障害に関する病態解明研究—意味カテゴリー—致判断課題施行時の発達障害児におけるN400等電位分布図—. *厚生労働省精神・神経疾患研究委託費「発達期における高次脳機能障害の病態解明に関する研究*. 2003. pp. 7-14.
- 梶本修身, 山下仰, 高橋清武, 渡辺君人, 松本和雄, 清水彰, 高橋文生. Trail-Making-Testを改良した「ATMT脳年齢推測・痴呆判別ソフト」の臨床的有用性—タッチパネルを用いた精神作業能力テストの開発—. *新薬と臨床*. 2000. 49: 104-115.
- Nielsen, H., Knudsen, L. and Daugbjerg, O. Normative data for eight neuropsychological tests based on Danish sample, *Scand. J. Psychol.* 1984. 30: 37-45.
- Ohnishi, M., Kusakawa, N., Masaki, S., Honda, K., Hayashi, N., Shimada, Y., Fujimoto, I. and Hirao, K. Measurement of hemodynamics of auditory cortex using magnetoencephalography and near-infrared spectroscopy. *Acta Otolaryngology Supplement*. 1997. 532:129-131.
- Okada, F., Tokumitsu, Y., Hoshi, Y. and Tamura, M. Impaired interhemispheric integration in brain oxygenation and hemodynamics in schizophrenia. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*. 1994. 244:17-25.
- Prabhakaran, V., Narayanan, K., Zhao, Z. and Gabrieli, J.D. Integration of diverse information in working memory within the frontal lobe. *Nature Neuroscience*. 2000. 3:85-90.
- Rowe, J.B., Toni, I., Josephs, O., Frackowiak, R.S. and Passingham, R.E. The prefrontal cortex: response selection or maintenance within working memory? *Science*. 2000. 288:1656-1660.
- Sadato, N., Pascual-Leone, A., Grafman, J., Ibanez, V., Deiber, M.-P., Dold, G., and Hallett, M. 1996. Activation of the primary visual cortex by Braille reading in blind subjects. *Nature*. 380:526-528.
- Sadato, N., Okada, T., Honda, M., and Yonekura, Y. 2002. Critical period for cross-modal plasticity in blind humans: a functional MRI study. *Neuroimage*. 16:389-400.
- Saito, D.N., Yoshimura, K., Kochiyama, T., Okada, T., Honda, M. and Sadato, N. Cross-modal binding and activated attentional networks during audio-visual speech integration: a functional MRI study. *Cerebral Cortex*. 2005. [Epub ahead of print]
- Sakatani, K., Chen, S., Lichty, W., Zuo, H. and Wuang, Y. Cerebral blood oxygenation changes induced by auditory stimulation in newborns infants measured by near infrared spectroscopy. *Early Human Development*. 1999. 55:229-236.
- Senju, A., Tojo, Y., Dairoku, H. and Hasegawa, T. Reflexive orienting in response to eye gaze and an arrow in children with and without autism. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. 2004. 45:445-458.
- Senju, A., Yaguchi, K., Tojo, Y. and Hasegawa, T. Eye contact does not facilitate detection in children with autism. *Cognition*. 2003. 89:B43-51.
- Volkmar, F.R. and Pauls, D. Autism. *Lancet*. 2003 362:1133-41. Erratum in: *Lancet*. 2004. 363:250.
- Weber, P, Lutschg, J. and Fahnenstich, H. Attention-induced frontal brain activation measured by near-infrared spectroscopy. *Pediatric Neurology*. 2004. 31:96-100.

Wyatt, J.S., Cope, M., Delpy, D.T., Wray, S. and Reynolds, E.O.R. Quantification of cerebral oxygenation and haemodynamics in sick newborn infants by near infrared spectrophotometry. Lancet. 1986. 2:1063-1066.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 羽鳥蒼之, 稲垣真澄, 白根聖子, 加我牧子:
言語音および非言語音 (tone burst) の認知機能に関する臨床神経生理学的研究 第1報: 刺激音別 P300 の健常発達. 脳と発達 36: 232-239, 2004.
- 2) 加我牧子, 堀本れい子, 稲垣真澄, 鈴木聖子:
読み書きの障害を呈する学習障害児の視・聴覚性 P300. 臨床脳波 46: 261-267, 2004

2. 学会発表

なし

G. 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

Ⅱ.分担研究報告

3.自閉症の早期診断に関する研究:高機能広汎性発達 障害児の早期行動異常について

橋本俊顕

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

自閉症の早期診断に関する研究：
高機能広汎性発達障害児の早期行動異常について

分担研究者 橋本俊顕 鳴門教育大学教授

研究要旨

IQ 70 以上の高機能広汎性発達障害児 60 名、IQ 70 未満の知的障害を伴う広汎性発達障害（以下 PDD とする）児 60 名、IQ 70 未満の PDD を伴わない知的障害児 12 名、正常発達児 60 名を対象に乳幼児期（新生児期～3 歳未満）行動に関する 25 項目からなるチェックリストを用いた聞き取り調査を行った。平均該当項目数は、高機能 PDD 児群は $9.5 \pm 4.2SD$ 、知的障害を伴う PDD 児群は $14.4 \pm 3.7SD$ 、PDD を伴わない知的障害児群は $6.0 \pm 2.8SD$ 、正常発達児群 $2.4 \pm 2.5SD$ であった。高機能 PDD 児群と正常発達児群との比較では、中核症状に関連した全ての項目で有意差を認めた。高機能 PDD 児群と知的障害を伴う PDD 児群との比較では、社会性に関する項目とこだわりに関する項目では有意差を認めず、コミュニケーションに関する項目で有意差を認めた。高機能 PDD 児群と PDD を伴わない知的障害児群との比較では、社会性に関する項目とコミュニケーションに関する項目で有意差を認めた。また、高機能 PDD 児群の IQ 別検討では、喃語、呼びかけに対する反応、表情、言葉の遅れ、模倣の問題などの項目が知的レベルに相関していることがわかった。PDD が疑われる児の乳幼児期異常行動歴を調べることは、早期診断やその後の知的発達、重症度を予測するのに有用であると考えられた。

A. 研究目的

広汎性発達障害（以下 PDD とする）の主な病因は、出生前に存在すると推定されているが、その診断は、個々の発達・認知レベルに依存し、3 歳以後になされるのが一般的である。しかし、養育者の多くは、それ以前から中核症状に関係した行動異常に気付いている。今回我々は、乳幼児期異常行動歴を後方視的に調査し、どのような行動が認められ易いか、またそれらの行動が、その後の診断、知的発達、重症度とどのような関係があるかを明らかにするために、25 項目からなるチェックリストを作成し、患児の両親（主に母親）に聞き取り調査を

行った。

B. 研究方法

対象

対象は、徳島大学病院小児科で DSM-IV の診断基準に基づいて PDD と診断され、かつ IQ70 以上の患児 60 名、（内訳は、高機能自閉性障害 38 名、アスペルガー障害 14 名、特定不能の広汎性発達障害 8 名）IQ 70 未満の患児 60 名、PDD を伴わない IQ 70 未満の知的障害児 12 名、正常発達児 60 名である。染色体異常、代謝性疾患、変性疾患などの明らかな基礎疾患を有する患児は除外した。

方法

DMS-IV、両親などの療育者の訴えを参考にして 25 項目からなるチェックリストを作成し、記載した内容の行動が認められたか否かを対象者の養育者（主に母親）にそれぞれ聞き取り調査した。チェックリスト 25 項目の内訳は、社会性に関する項目 11 項目、言語に関する項目 4 項目、聴覚に関する項目 2 項目、運動に関する項目 2 項目、気分、活動性に関する項目 2 項目、模倣に関する項目 1 項目、視覚刺激に関する項目 1 項目、こだわりに関する項目 1 項目、睡眠に関する項目 1 項目とした。

（倫理面への配慮）

聞き取り調査を行う前には、患児の両親にその目的と主旨を説明し、了承を得て行った。それぞれの項目において、高機能 PDD 児群と他者（知的障害を伴う PDD 児群、PDD を伴わない知的障害児群、正常発達児群）間に有意差がないかどうか、カイ 2 検定を用いて検定を行った。危険率は 5% とした。

C. 研究結果

1. 平均該当項目数

平均該当項目数が最も多かったのは、知的障害を伴う PDD 児群で 14.4 項目 \pm 3.7SD であった。以下、高機能 PDD 児群 9.5 項目 \pm 4.2SD、PDD を伴わない知的障害児群 6.0 項目 \pm 2.8SD、正常発達児群 2.4 項目 \pm 2.5SD の順であった。

2. 高機能 PDD 児群と正常発達児群との比較

有意差を認めなかった項目は、聴覚過敏、

聴覚鈍麻、はいはいをしない、有意語の消失、視覚刺激の 5 項目であった。

3. 高機能 PDD 児群と知的障害を伴う PDD 児群との比較

知的障害を伴う PDD 児群は、人見知りをしないという項目以外のすべての項目で、陽性者数が、高機能 PDD 児群を上回っていた。有意差は認められなかったが、人見知りをしないは、高機能 PDD 児群では該当者数が 60 名中 35 名 (58%) と他の項目に比して、比較的頻度が高かった。中核症状別に見ると、社会性に関する項目 11 項目中 7 項目で有意差を認めなかった。一人でも平気である、呼びかけても振り向かない、一人遊び、ごっこあそびをしないなどの 4 項目では有意差を認め、知的障害を伴う PDD 児群の陽性者数の方が高機能 PDD 児群より多かった。こだわりに関する項目では有意差を認めなかった。言葉に関する項目では 4 項目中 3 項目で有意差を認め、知的障害を伴う PDD 児群の陽性者数の方が高機能 PDD 児群より多かった。中でも有意語の消失は、高機能 PDD 児群全体では該当者が 4 名、IQ 105 以上 (20 名) でみると、該当者はなかった。その他の項目では、視覚刺激 (50%)、気分の過変動 (72%)、睡眠障害 (57%) など、有意差がより顕著であり、いずれも知的障害を伴う PDD 児群の陽性者数の方が高機能 PDD 児群より多かった。

4. 高機能 PDD 児群と PDD を伴わない知的障害児群との比較

社会性に関する項目 11 項目中 6 項目で有意差を認めた。いずれも、高機能 PDD 児群の陽性者数の方が PDD を伴わない知的障

害児群より多かった。また、言語に関する項目 4 項目中 1 項目で有意差を認めたが、これは、PDD を伴わない知的障害児群の陽性者数の方が高機能 PDD 児群より多かった。

5. 高機能 PDD 児群の IQ 別検討

高機能 PDD 児群を IQ 別に分類し、全項目に対して比較検討を行った。人見知りをしないという項目は、IQ が平均下域の患児に比して、比較的 IQ の高い患児に多く認められた。あやしても顔を見て笑わない、喃語が少ない、名前を呼んでも振り向かない、表情が乏しい、言葉の遅れ、模倣の問題などは、IQ の低下に伴い頻度が増加した。

D. 考察

比較的最近まで、PDD が 3 歳未満で見つかることは殆ど無かった。このことは、現在ほど PDD が知られていなかったこと、3 歳未満の徴候が微妙なこと、有効なスクリーニング手段がなく、一次医療の専門家たちは幼児期に自閉症を発見するトレーニングを殆ど受けていないことなどに由来すると考えられる。しかし、PDD 児の長期的なフォローアップの結果、早期発見、早期介入は家族のストレスを軽減し、予後を改善し、二次的な発達障害を防ぎうることがわかってきた。そのため、簡易で効率の高いスクリーニング手段を見つけることが重要であると考えられている。

幼児を対象とした PDD のチェックリストは、今までさまざまなものが報告されてきているが、中でも Baron-Cohen らが最初に用いた CHAT (Checklist for Autism in Toddlers) は、18 ヶ月で自閉症の可能性を

判定するスクリーニング法で、リスクグループの同定は十分可能といわれている。本検討で用いたチェックリストの項目は、新生児期から 2 歳 6 ヶ月までの時期に該当するものであり、実際に施行する時期は、2 歳 6 ヶ月から 3 歳未満が適当であると考えられる。チェックリスト平均該当項目数が一番多かったのが、知的障害を伴わない PDD 児群 (14.4 項目±3.7SD)、次いで高機能 PDD 児群 (9.5 項目±4.2SD)、精神遅滞群 (6.0 項目±2.8SD)、正常発達児群 (2.4 項目±2.5SD) の順であったが、これらの結果からもわかるように、本検討で用いたチェックリストもリスクグループの同定や診断のために有用であると考えられる。

今回、高機能 PDD 児群と知的障害を伴う PDD 児群との間に特異的な違いがあるかどうか注目して検討をおこなったが、人見知りをしないという項目以外のすべての項目で、知的障害を伴う PDD 児群は、高機能 PDD 児群を上回っていた。人見知りをしないという項目は、高機能 PDD 児群では該当者数が 60 名中 35 名 (58%) と他の陽性項目に比して、比較的頻度が高く、アスペルガー障害、特定不能の広汎性発達障害に絞って統計を取ると、22 名中 15 名 (68%) とさらに頻度が上がった。以上のことから、正常発達では 9 ヶ月頃から認められる愛着行動が、高機能 PDD 児群では欠如していることが比較的明確に認められると推測された。

高機能 PDD 児群では、60 名中 37 名 (62%) で言葉の遅れを認めた。その内容は 1. 1 歳すぎに単語を言うようになったがその後なかなか会話に発展しなかった、2. 最初の有意語が動詞やきちんとした固有名詞 (例：わんわんではなく、いぬなど) で

あったなど、2歳すぎても言葉がでないというのがほとんどであった知的障害を伴うPDD児群とは詳細が異なっていた。また、有意語の消失は、IQ 105以上(20名)で見ると該当者はなく、高機能PDD児群全体では該当者が4名と少なく、知的障害を伴うPDD児群に数%認められる折れ線型といわれるタイプに相当すると思われた。IQ別検討において、あやしても顔を見て笑わない、喃語が少ない、名前を呼んでも振り向かない、表情が乏しい、言葉の遅れ、模倣の問題は、IQの低下に伴い頻度が増加しており、先の有意語の消失と合わせて、知的レベルを予知する因子になり得ると考えられた。

また、このチェックリストは、乳幼児期に診断することが困難であるとされるIQの高いPDD、アスペルガー障害の診断にも有用である。保健機関などで、言語発達遅延児として経過観察されていた児が、3歳以降、言語表出や理解が急に改善し、症状が穏徐になる例は少なくない。診断を受けず、義務教育の後半になって、友人とのトラブル、学習の問題、二次的な情緒障害などが問題になり医療機関を再び訪れる場合がある。そういった場合、このチェックリストをルーチンに活用することにより、幼児期からの対人関係や行動上の特徴を詳しく調べることができる。正確な診断のためには必要不可欠である。

E. 結論

今回の調査は、両親からの聞き取りに基づいた後方視的研究であり、客観性に問題があるが、PDDが疑われる患児の乳幼児期異常行動歴を調べることは、早期診断やそ

の後の知的発達、重症度を予知するのに有用であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

橋本俊顕. アスペルガー症候群の診断—類似疾患との鑑別および治療. 小児科 45; 1126-1132, 2004

東田好弘, 森健治, 橋本俊顕, 宮崎雅仁, 黒田泰弘. 自閉症に対する secretin の有効性に関する研究. 脳と発達 36; 289-295, 2004.

北出修子, 森健治, 永廣信治, 橋本俊顕. 学習障害児の認知過程に関する神経心理学的および神経生理学的検討. 臨床脳波 46; 273-280, 2004.

など

2. 学会発表等

西村美緒, 橋本俊顕, 福本礼, 崎雅仁, 森健治, 黒田泰弘. 後方視的に見た高機能広汎性発達障害児の乳幼児期の行動異常: 重症度と関連はあるのか? 第46回日本小児神経学会(東京)

G. 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

Ⅱ.分担研究報告

4.自閉症スペクトラムを示す遺伝性疾患の頻度と 認知機能・脳機能の特異性 — 結節性硬化症の自閉症合併の背景 —

大野耕策

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

自閉症スペクトラムを示す遺伝性疾患の頻度と認知機能・脳機能の特異性
－結節性硬化症の自閉症合併の背景－

分担研究者 大野耕策 鳥取大学医学部脳神経小児科教授

研究要旨

自閉症および自閉性スペクトラムを来しやすい遺伝性疾患の解析を通して、自閉症の発症機構、自閉症の背景にある脳科学的異常を明らかにすることを目的とし、同時に日本で見出されていない自閉症を合併しやすい遺伝性疾患のスクリーニングによってそれらの頻度を推計することも課題とする。初年度は、優性遺伝性疾患で2つの原因遺伝子が知られ、自閉症の合併が高い結節性硬化症について、これまで遺伝子解析を行ってきた約140人の日本人患者をもとに、知的障害・自閉性障害の発生要因について検討した。2つの原因遺伝子のうちTSC2変異の方が知的障害の重症例が多いが、同じ変異でも知的障害のレベルは多様であり、遺伝子変異が知的障害や自閉症の重症度を決定するのではない可能性を示した。我々の過去の研究成果および最近の欧米での研究とあわせ、知的障害や自閉症の重症度は點頭てんかんの合併、てんかんの発症年齢と関連している可能性があると考えた。今後、この背景を明らかにするとともに、結節性硬化症では早期発症のてんかんの治療が知的予後や自閉性障害の出現の防止に重要であることを広く知らしめる必要があると考えた。

A. 研究目的

自閉症・自閉症スペクトラム障害発生の医学・脳科学的原因は明らかではなく、特定の行動を抑制する薬物治療を除いて医学的な治療法はない。自閉症の医学を樹立する1つのアプローチとして、自閉症を合併しやすい遺伝性疾患について、自閉性障害が起こりやすい遺伝学的背景およびエピゲネティックな背景を明らかにし、自閉症に特有な脳構造の変化＝神経回路網の増強（抑制）を明らかにし、将来的にそれらを抑制する方法の開発を旨とする方法が重要ではないかと考えている。

自閉性障害を合併しやすい疾患として、日本人ではまだ報告がない染色体15q11-13の重複、adenylosuccinase欠損症、クレアチニン代謝異常症などが知られ、また比較的多い疾患として脆弱X症候群、結節性硬化症、レット症候群などが知られている。本研究の目的は日本人の自閉性障害の中でまだ日本では報告のない疾患の頻度の推定、日本で比較的頻度の多い遺伝性疾患で、自閉性障害を合併する例としない例の遺伝子変異の違い、生後の合併症の違いなどから、自閉性障害の発病と関係する遺伝的要因とエピゲネティックな要因の解析

により、自閉症障害発生要因の解析を行い、自閉性障害を合併した例としなかった例の脳画像解析により、自閉性障害発生と関係する脳構造異常を明らかにすることを課題とする。

B. 研究方法および結果

1. 自閉症を合併しやすい遺伝性疾患のスクリーニングによる日本人での頻度の推計。

【クレアチン代謝異常症】

てんかん、自閉性障害、錐体外路症状を示すクレアチニン代謝異常症は3つの原因遺伝子からなり、一部は治療が可能である。欧米では数例の報告があるが、日本人での報告はない。自閉性障害を示す日本人集団での頻度を知り、この疾患の自閉性障害の特徴を知る目的でこの疾患のスクリーニングを行っている。自閉性障害があり、てんかん、表出性言語発達遅滞を示す症例をMRSにより脳内クレアチニンピークの減少を指標にスクリーニングしている。現在までの所、10例の患者のスクリーニングを行ったが、該当する患者は見出されていない。

【Adenylosuccinase 欠損症】

尿の Bratton-Marshall test により succinyl-aminoimidazole carboxamide riboside (SAICArboside)の検出によってこの疾患のスクリーニングを行う。イタリアでは自閉性障害 100 人に 1 人、チェコでは 2,000 人の尿をスクリーニングして 5 人、ドイツでは 1,000 人の尿をスクリーニングして 2 人、ベルギーでは約 40 人の患者が診断されている。現在までに約 50 人の尿スクリーニングを行ったが陽性の患者は見出されていない。

【染色体 15q11-13 の重複】

母方の染色体 15q11-13 の重複が自閉症の発症と関係していることが報告されている。この領域はプラダー・ウイリー症候群の原因領域で、プラダー・ウイリー症候群も母親染色体の片親性ダイソミーでは自閉傾向が強いことが明らかになっている。染色体 15q11-13x の重複を FISH 法によりスクリーニングしている。現在までの所、自閉性障害の約 10 例に行ったが該当症例は見出されていない。

2. 結節性硬化症患者の TSC1 遺伝子変異、TSC2 遺伝子変異と臨床症状の重症度。

結節性硬化症では知的障害が重症な例に自閉傾向が強い例が多い。結節性硬化症の2つの原因遺伝子 TSC1 と TSC2 とどちらの変異が知的障害が重度で自閉性障害の合併が多いかについて、TSC2 に変異を持つ例の方が知的障害の頻度が高く(Jones AD et al., 1997)、知的障害が重度(Langkau N, et al., 2002)、自閉性障害の合併が多い(Levis JC et al., 2004)と言われている。我々は日本人結節性硬化症 38 名の遺伝子解析で TSC1 と TSC2 変異を持つもので明らかな差は認めなかった(Zhang H, et al., 1999)。1999 年の時点でミスセンス変異について、正常人 100 人を調べて認められなかったものは多型ではないと考えてきた。一般には両親にその変異が見られない場合、そのミスセンス変異は疾患の原因変異を考えられてきた。これらの2つの場合とも厳密には疾患の原因変異と断定することは出来ない。そこで現在までに日本人 140 名の遺伝子変異の検索を行い、TSC1 で 20 のアミノ酸変化をおこす塩基変化、TSC2 で 49 のアミノ酸変化をおこす塩基変化を認めた。

このうち、疾患の原因と断定できないミスセンス変異、インフレームシフトをおこす挿入・欠失を除く TSC1 変異の 9 例、TSC2 変異の 12 例について知的障害の重症度と点頭てんかんの合併を調べた。

表 1 TSC1 変異と TSC2 変異の知的障害とてんかんの重症度

TSC1	Severe/Mild1)		West/CPS2)
Nonsense	4	2/2	1/3
Deletion	3	1/2	1/2
Insertion	2	0/2	0/2

	3/6(33.3%)		2/7(22.2%)
TSC2	Severe/Mild		West/CPS
Nonsense	5	4/1	3/2
Deletion	4	4/0	3/1
Insertion	2	2/1	2/1

	10/2(83.3%)		8/4(57.1%)

- 1) 知的障害 severe/mild
- 2) てんかん 点頭てんかん West/その他 CPS

表 1 に示すように TSC1 変異と TSC2 変異では重度の知的障害の合併が TSC1 の 33.3%、TSC2 の 83.3%と TSC2 に多く、点頭てんかんの合併も TSC1 の 22.2%、TSC2 の 57.1%と TSC2 に頻度が高かった。ナンセンス変異、欠失、挿入など明らかに異常な遺伝子産物を作る変異のみを比較した場合、明らかに TSC2 変異が重度の脳障害をおこすことが示唆された。またこれらの変異の頻度は TSC1 と TSC2 では、軽度 TSC2 に頻度が高い傾向にあったが、明らかに高いとは断定出来なかった。

3. 特定の遺伝子領域の変異と知的障害重症度との関連。

TSC2 遺伝子変異の方が知的障害が重度であり、自閉性障害の合併が多いことから、TSC2 遺伝子内または近傍に自閉症関連遺伝子領域があると考えられる立場(Lucarrelli P, et al. 2003)がある。一方で、一卵性双生児一組の比較では自閉性障害は一致せず、自閉症状の合併はエピゲネティックな因子による可能性も示唆されている。特定の遺伝子領域の変異が知的障害や自閉性障害と関連しているか明らかにする目的で、TSC1 と TSC2 遺伝子に同じナンセンス変異を持つ患者について臨床症状の比較をした。

TSC1 のエクソン 15 の R509X 変異を持つ例は 38 歳、27 歳、58 歳の 3 例あり、27 歳の例は家族例であった。38 歳の例は 2 か月で点頭てんかんを発病し、けいれんのコントロールは不完全で、現在寝たきりの重度知的障害である。しかし、27 歳の例はこれまでてんかんの発症はなく、知的にはボーダーラインであり、58 歳の例は学童期にてんかんを発症しているが知的障害はない。従って R509X 変異はてんかんの発症や知的障害について多様な表現型を示す。

TSC2 のエクソン 28 の Q1119X は 5 歳と 20 歳の 2 例に認めた。5 歳の例は 6 か月に点頭てんかんを発症し、コントロールは不完全で現在 DQ51 で自閉性障害を示すのに対し、20 歳の例は 1 歳 1 か月に部分発作で発症し、コントロールは良好で知的な遅れはない。従って Q1119X 変異もてんかん発症や知的障害に関して多様な表現型を示す。

TSC2 のエクソン 33 の R1459X 変異は 14 歳と 15 歳の例に認め、けいれんの発症は 3 歳 2 か月と 4 か月で、いずれも中等度

の知的障害であるが、14歳の例では自閉傾向が強く、自閉性障害については、一致を認めなかった。

以上から同一変異でも知的障害の重症度、てんかんの重症度にはバラツキがあり、特定の遺伝子領域の変異が知的障害の重症度と関係しているとは言い難いと考えた。

C. 考察

日本人でまだ確認されていない自閉性障害を来しやすい遺伝病については今後も継続してスクリーニングを行う。

結節性硬化症に合併する知的障害・自閉性障害の背景について以下の可能性を考えている。

1) TSC1 より TSC2 に変異を持つ例に知的障害（自閉症）の合併が多い理由について

TSC2の方が遺伝子が大きく、また大きい欠失がおこりやすいことが知られている。このことは体細胞の分裂過程で、TSC2の方が loss of heterozygosity をおこしやすい可能性が考えられる。脳の結節性病変は loss of heterozygosity によっておこると考えられ、TSC1 にくらべ TSC2 の方が脳の結節性病変を多く作りやすい可能性がある。

2) 同じ変異でも症状の一致が見られないことについて

知的障害やてんかんなどの症状を決定するのは、1)でも述べたように生殖細胞変異ではなく、loss of heterozygosity をおこす体細胞でのセカンドヒットと考えられる。従って、生殖細胞変異によって知的障害や自閉症が決定されるのではないと考えられる。

3) 自閉症合併と関係する脳の機能障害

について

知的障害が合併するかどうかについて、我々は點頭てんかんの合併、てんかんの発症年齢が早い例ほど知的障害が重度で、てんかんの合併が重要であると考えてきた（中野千鶴子、大野耕策、竹下研三 1983）。最近、自閉症の合併について側頭葉の形成障害が自閉症発生のリスクとなるとする報告がなされ（Bolton PF, Griffiths PD, 1999）、さらにこのような側頭葉の機能障害は、乳児早期のてんかんの発症と関係し、自閉症状と関係する可能性が報告されている（Asano E, Chigani DC, et al., 2001）。これらのことは乳児早期のてんかんの発症が側頭葉機能を障害し、自閉症状の出現と関係する可能性が高い。

D. 結論

結節性硬化症の知的障害（自閉症）の合併は TSC2 遺伝子変異を持つ例に多い。しかし同じ遺伝子変異でも知的障害のレベルは多様で、知的障害の重症度を決定するのは遺伝子ではない可能性を示している。TSC2 に知的障害の重症例が多いのは、TSC2 遺伝子の方が体細胞レベルで Loss of Heterozygosity をおこしやすく、その結果、脳の病変が多くなる可能性を示唆している。我々の過去の経験と最近の欧米の報告を合わせて考えると、結節性硬化症の知的障害（および自閉症）の合併は遺伝的に決定されるよりは、てんかんの発症時期などエピゲネティックな因子が強い可能性が示唆された。

E. 研究発表

論文発表

Feng J-H, 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 MUT. Mutation in Brief #696 (2004) Online

Ohara S, Ukita Y, Ninomiya H, and Ohno K. Axonal dystrophy of dorsal root ganglion sensory neurons in a mouse model of Niemann-Pick disease type C. Exp Neurol 187: 289-298, 2004

Ohsaki Y, Sugimoto Y, Kaidoh T, Shimada Y, Ohno-Iwashita Y, Joanna P. Davies, Yiannis A. Ioannou, Ohno K and Ninomiya H. Reduced sensitivity of Niemann-Pick C1-deficient cells to θ -toxin (perfringolysin O): sequestration of toxin to raft-enriched membrane vesicles. Histochem Cell Biol 121: 263-272, 2004

Yamamoto T, Feng J-H, Higaki K, Taniguchi M, Nanba E, Ninomiya H, Ohno K. Increased NPC1 mRNA in skin fibroblasts from Niemann-Pick disease type C patients. Brain Dev 26: 245-250, 2004

Ohara S, Ukita Y, Ninomiya H, Ohno K. Degeneration of cholecystokinin-immunoreactive afferents to the VPL thalamus in a mouse model of Niemann-Pick disease type C. Brain Res 1022: 244-246, 2004

学会発表

大野耕策. シンポジウム「先天性グリコシル化異常症」 第49回日本人類遺伝学会大

会(シェーンバッハ・サボー)平成16年10月14日

F. 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

Ⅱ.分担研究報告

5. 自閉徴候を示す症例における FMR-1 遺伝子発現の 量的評価について

杉江秀夫