

厚生労働科学研究費補助金
こころの健康科学研究事業

自閉症の病態診断・治療体制構築のための 総合的研究

課題番号 H16-こころ-001

平成 18 年度 総括・分担研究報告書

平成 19 (2007) 年 3 月

主任研究者 加我牧子

目 次

I. 総括研究報告

自閉症の病態診断・治療体制構築のための総合的研究 加我牧子	1
----------------------------------	---

II. 分担研究報告

1. 発達障害児の顔認知における事象関連電位の検討 加我牧子	11
2. 自閉症の早期診断に関する研究：広汎性発達障害の脳 GABA ニューロンに関する研究 橋本俊顕	27
3. 結節性硬化症の自閉症症候論と遺伝学：培養細胞での TSC1/TSC2 遺伝子機能の相違 大野耕策	41
4. FMR1 発現低値の症例に対する葉酸投与について 脆弱 X 症候群患者における遺伝子発現プロファイルの検討 杉江秀夫	53
5. 自閉症発症に関する関連遺伝子検索：HOXD 遺伝子の解析 杉江秀夫	57
6. Bronx Waltzer マウスにおける不安行動と GABA 作動性 interneuron の異常 稲垣真澄	61

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 71

IV. 研究成果の刊行物・別冊 75

I. 総括研究報告

自閉症の病態診断・治療体制構築のための
総合的研究

加我牧子

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

総括研究報告書

自閉症の病態診断・治療体制構築のための総合的研究

主任研究者 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：自閉症をヒト脳機能、臨床指標と分子遺伝学的比較検討、自閉症を呈する疾患と分子遺伝学、モデル動物による病態解明の側面から診断と治療法の確立をはかることを目的として研究を行った。自閉症におけるコミュニケーション障害の基礎となる顔の認知について事象関連電位(ERP)を用いて検討し、自閉症群では、健常群と異なり、自分、親しい人、見知らぬ人の顔課題に対して P300 振幅が近似した値であった。自他や既知性の識別に関係する脳の機能障害が考えられ、自閉症の社会性障害を理解するうえで重要な手がかりとなった。

自閉症の機能障害を画像診断から評価するため、¹²³I-IMZ-SPECT と ¹H-MR の記録を行った。SPECT では前頭部、ついで側頭部、小脳の集積低下例が多かった。MRS では前頭部の GABA 濃度が有意に低値であったが、発達レベルとは相関がみられなかった。いずれも GABA 神経系の機能異常が推測された。

FMR1 遺伝子発現低値の脆弱 X 症候群症例に葉酸を経口投与したところ易興奮性、多動のスコアの低下がみられた。自閉症の微小臨床徴候（2D/4D 長比）とゲノムスキャンからの候補部位を参考に、HOXD 遺伝子に注目し解析した。HOXD11、12、13 の遺伝子解析により自閉症では HOXD11 遺伝子のイントロンで、高頻度の多型が見られた。2D/4D 長比の短いサブグループ（SDG）の検討では HOXD11 遺伝子のプロモーター部位 GT の異常が 3 症例で自閉症のみに認められ、うち 2 例は SDG であった。SDG のみに限れば、この部位の異常は自閉症のマーカーとなる可能性が示唆された。

結節性硬化症では自閉症の合併が多く、TSC1（遺伝子産物：Hamartin）と TSC2（遺伝子産物：Tuberin）の 2 つの原因遺伝子が知られている。知的レベルやてんかんは、TSC2 遺伝子変異をもつ例が重症であるとされるが、変異による臨床症状の違いはみられない。PC12 細胞における Tuberin と Hamartin の発現と神経分化について検討したところ、2 つの蛋白質の機能が異なり、重症度に影響するものと考えられた。

遺伝性難聴マウスである Bronx waltzer mouse (bv) は‘自閉症児’の感覚・知覚異常の動物モデルとして有意義である。一時体性感覚野での PV の発現が低下しており、GABA 作動性の介在ニューロンが機能低下していて、介在ニューロンの異常をもつマウスは不安行動を呈する。本研究の結果、bv マウスは生後 6 週より不安行動の亢進を認め、成マウスではさらに強い不安行動を呈していた。GABA 作動性 interneuron の発現を Glutamic acid

decarboxylase (GAD) 67 を指標とした免疫組織化学的解析により検討したところ、頭頂葉、線条体、帯状回などで GAD67 免疫陽性細胞数が低下する傾向を認めた。不安行動の発達の变化と GAD67 陽性細胞の組織学的な異常との連関を検索する予定である。
自閉症の臨床症状を基盤とした研究がさらに必要である。

分担研究者

稲垣真澄：国立精神・神経センター
精神保健研究所 室長

大野耕策：鳥取大学医学部
脳神経小児科 教授

杉江秀夫：浜松市発達医療総合福祉センター 所長

橋本俊顕 鳴門教育大学教育学部 教授

A. 研究目的

自閉症スペクトラムにみられる臨床症状の背景に存在する脳機能と伝達物質の異常、自閉症症状を呈する疾患の分子遺伝学、自閉症症状を呈する児への薬剤による治療的試みを行うことで自閉症の病態を明らかにし、早期診断と治療への橋掛かりをつくることを目的として研究を行った。

B. 研究方法

上記の目的に従い、(1) 自閉症児の顔認知における事象関連電位の検討、(2) 自閉症の早期診断のための広汎性発達障害の脳 GABA ニューロンに関する研究、(3) 自閉徴候を示す症例における FMR1 ならびに HOXD 遺伝子発現と治療の試み、(4) 自閉症スペクトラムを示す遺伝性疾患の症候論と遺伝学、(5) 知覚過敏と不安を呈するモデル動物における病態解明の立場から研究を行った。

(1) 自閉症児の顔認知に関する事象関連電位の検討

対人的社会性の基礎となる自己・他者の弁別という認知機能につき、健常小児群 9 名 (11.3±2.3 歳)、高機能自閉症群 8 名 (10.8±2.9 歳、FIQ=86~115)、健常成人 11 名 (26.9±5.6 歳) に事象関連電位検査を行い、その特徴的变化を検討した。

被検者には、4 種類の顔画像 (非ターゲット刺激) すなわち自己顔、既知顔 (母親の顔)、既知顔と同年代の平均顔 (未知顔) の正面画像、自己顔の画像をランダムに配置したノイズ画像と 1 種類の物画像 (Target 刺激) の合計 6 種類の視覚刺激を与えて、物画像が見えたとき、すみやかにキイ押しをさせた。脳波を頭皮上の 19 部位から記録し、刺激画像ごとに加算平均処理し、ERP 成分 (N170、P350) の頂点潜時と振幅を検出した。

(2) 自閉症の早期診断のための広汎性発達障害の脳 GABA ニューロンに関する研究
非高機能自閉性障害 3 例 (4~6 歳、男児、IQ:57~68)、高機能自閉症 21 例 (4~21 歳、M:F=18:3、IQ:77~117、うち自閉性障害 7 例、アスペルガー障害 14 例) の計 24 例を対象として 123 I-IMZ SPECT を行った。さらに自閉症児が 52 名 (DQ または IQ50 以上 40 名、50 未満 12 名) と対照児 16 名の計 68 名に対し 1H-MRS を検討し、左前頭葉、左基底核にについて検討した。

(3) 自閉徴候を示す症例における FMR1 ならびに HOXD 遺伝子発現と治療の試み
FMR1 遺伝子発現低値の 18 歳症例に対する葉酸投与について：

知的に正常な男児で7歳9ヶ月受診時に自閉性障害の診断を受けた。この症例に葉酸を投与し、2ヶ月に一度 Aberrant Behavior Checklist (ABC) の日本語版(小野善郎先生による)を用い、5つのサブスケールについて検討した。

脆弱X症候群患者における遺伝子発現の検討では脆弱X症候群、健常対照児各3例の末梢血から Total RNA を行い、2倍以上の有意な発現の相違のあったものについて意義を検討した。

(4) 自閉症スペクトラムを示す遺伝性疾患の症候論と遺伝学

結節性硬化症をモデルとして研究を行った。ラット褐色細胞腫由来で Tuberin も Hamartin も発現している PC12 細胞を培養し、神経分化誘導をはかった。ラット TSC1 および TSC2 センスおよびアンチセンスオリゴヌクレオチドを遺伝子導入し、1次抗体、2次抗体で免疫染色を行い、一方で細胞を回収しウエスタン解析を行った。細胞は BrdU で標識して蛍光顕微鏡下で観察した。カバーガラス上でも細胞を増殖させ、少なくとも100細胞が存在する領域を10ヶ所観察して神経突起を定量した。

(5) 知覚過敏と不安を呈するモデル動物 (Bronx Waltzer、以下 bv マウス) を用いた自閉症の病態解明に関する研究

1. bv マウス (bv/bv : n=5) を使用した。対照群として、行動異常がみられない bv マウス hetero 型 (bv/+ : n=5)、および C57BL/6J マウス (+/+ : n=5) を用いた。

bv マウスの遺伝的診断は bv マーカー遺伝子領域の PCR で確認した。

2. オープンフィールド試験では自由行動中の行動をデジタルビデオカメラで記録し、

行動解析ソフトウェアを用いて行動量を測定・解析した。

3. 高架式十字迷路試験では二方は透明な壁で囲い、残り2つはオープンアームとした。十字迷路の中央にマウスを置いて行動を記録しオープンアームにおける移動距離を測定・解析した。Mirror chamber 試験ではケージ内の行動量、鏡の探索回数、鏡面中央部からの距離を算出した。

なお、統計学的解析は StatView for Windows ver5.0 を用いて行った。

4. 免疫組織化学的検討

GAD の 67kDa isoform である GAD67 に対する抗体を用いて GAD67 陽性細胞の分布を頭頂葉・帯状回・線条体で観察した。

(倫理面の配慮)

すべての検査・研究について各施設における倫理委員会の承認を得ることを原則とし、臨床例に対しては本人および保護者に十分な説明を行い、同意を得て行った。遺伝子検査に関しては、三省合意、関係法令・通知に従い、動物実験については動物愛護法と各施設における倫理規定を遵守して行った。

C. 結果

(1) 自閉症児の顔認知における事象関連電位の検討

自己顔、既知顔、未知顔、ノイズ画像、物画像に対する ERP には、刺激画像提示後 170ms の後側頭一後頭領域の陰性成分 (N170) と、350ms に頂点の頭頂領域の陽性成分 (P300) が認められた。

N170 は、いずれの対象群においても、ノイズ画像や物画像に比べて減衰したことが

ら、この時間帯に顔認知に特異的な活動が生じていると考えられた。しかし、N170の頂点潜時および振幅に顔の種類による相違がなかった。

一方、P300は、健常群において自分の顔や親しい人の顔を見ているときに振幅が増大した。健常小児群では、自己顔と既知顔の振幅に有意差はなかったものの、同時帯の右後側頭一後頭領域において、自己顔と既知顔のERP振幅に顕著な差が認められた。自閉症群では、自己顔、既知顔、未知顔に対するP300振幅が近似した値であった。

(2) 早期診断のためのGABAニューロンに関する研究

1. 123 I-IMZ SPECT

集積低下が前頭部19例、側頭部10例、頭頂部5例、後頭部1例、小脳7例であり、前頭部の集積低下例が多く、次いで側頭部、小脳であった。側性は前頭部、側頭部では左側において集積低下を示すものが多く、前頭部では $L>R:L<R=11:2$ 、側頭部では $L>R:L<R=9:4$ であった。頭頂部、小脳では逆に両者とも $L>R:L<R=1:4$ で右に多かった。

2. 1 H-MRS

N-アセチルアスパラギン酸、ミオイノシトール、クレアチン、コリン濃度は前頭部、基底核ともに対照と自閉症に差を認めなかった。GABA濃度は基底核では差がなかったが、前頭部では対照に比し有意に低値であった。この結果は発達レベルと相関がみられなかった。

(3) 自閉徴候を示す症例におけるFMR1ならびにHOXD遺伝子発現と治療の試み

葉酸投与によりABC-Jは4ヶ月間に易興

奮性、多動のスコアに低下がみられた。

GeneChip®による遺伝子の網羅的発現検索では有意に2倍以上upregulationがみられた遺伝子は133個、2倍以下のdownregulationがみられた遺伝子は78個であった。

(4) 自閉症スペクトラムを示す遺伝性疾患の症候論と遺伝学

結節性硬化症について神経成長因子(NGF)刺激後のPC12細胞のTuberinとHamartinの態度は異なっていた。TSC1ASを導入してNGFで刺激した場合、神経突起の形成促進がみられた。一方、TSC2ASを導入してNGF刺激をした場合神経突起の形成は抑制された。TSC1ASを導入しNGFで刺激した場合は細胞表層のアクチン繊維が増加していたのに対し、TSC2ASを導入しNGFで刺激した場合はアクチン繊維が減少していた。

(5) 知覚過敏と不安を呈するモデル動物を用いた自閉症の病態解明

1. オープンフィールド試験

“Strain”の主効果を認めなかった。

2. 高架式十字迷路試験

bvマウスはhetero型およびC57BL/6Jマウスよりも移動距離が有意に短縮していた。

3. Mirror Chamber試験

行動量自体はbvマウスで低下していたが、有意差には達しなかった。鏡を探索した回数は、有意に減少し、鏡の裏面を探索した回数は減少している傾向のみで有意差には達しなかった。鏡に対する平均距離は、bvマウスで有意に延長していた。

4. 免疫組織化学的検討

頭頂葉・帯状回・線条体ともに定性的観察からいずれの部位でもGAD67陽性細胞数

は bv マウスにおいて減少している傾向を認めた。

D. 考察

(1) 自閉症児の顔認知に関する事象関連電位の検討

課題の遂行状況は良好で、顔情報に対する個人の同定は正確に行われていた。

N170 成分は発達による影響があり、顔認知に特異的な活動は生じているものの、顔の既知性や自他識別の処理過程は N170 には反映されなかった。

自己顔と他者顔の識別過程は N170 成分より後の時間帯に反映していた。自己顔と未知顔に対する処理過程の相違を反映する脳領域は成人群では左右両半球に認められ、右半球のみに傾向を認めたのは小児群であった。自閉症群では、既知顔—未知顔差分と自己顔—既知顔差分との間に有意差はなく、自他、既知性の識別に特異的な認知過程が生じている可能性があった。

本研究の自閉症群には知的障害のある例は含まれておらず、この結果は、知的障害に直接、起因するものではない。

自閉症群では、顔画像の違いによって P300 成分の振幅に相違はなく自他識別の優位性は認められなかった。自閉症群では関連脳領域の活動低下が考えられる。これは自閉症におけるコミュニケーション障害の理解を深め、支援の手がかりへと結びつけていけるものである

(2) 自閉症の早期診断のための広汎性発達障害の脳 GABA ニューロンに関する研究 1. 123 I -IMZ SPECT

前頭部集積低下を示すものが大多数で、次いで側頭部が多かったことから、ECD

SPECTやPETの前頭葉や側頭葉に異常がみられる所見に一致し、これらの部位の GABA 神経系の異常を示唆するものと考えられる。

2. H-MRS について

今回の研究では自閉症脳の前頭葉 GABA 濃度の低下がみられたが、これは介在ニューロンの異常を示唆するものであり、123 I -IMZ SPECT による GABA 受容体の減少と合わせて、自閉症では GABA 神経系の異常が示唆される。GABA 濃度の低下は知的レベルとは関係なく低下していたことから、痙攣や脳波異常の有無、衝動性・多動性など他の症状との関連性を今後検討することが必要である。

(3) 脆弱 X 症候群は自閉性障害を随伴する。責任遺伝子は FMR1 でコードする蛋白 FMRP は mRNA に結合してさまざまな蛋白の発現を制御している。自閉症児で FMR1 遺伝子の極端に低値を取る群が存在することを報告した。

今回 18 歳高機能自閉症男性に葉酸を投与し、2 ヶ月ごとの評価で易興奮性、多動のスコアに低下がみられた。FMR1 遺伝子発現が低値を示す自閉症に対して、1つの治療的アプローチと考えられる。

また近年 transcriptome の解析が盛んになり、GeneChip を用い網羅的に遺伝子発現を検索することが試みられている。われわれは脆弱 X 症候群患者の末梢血から採取した total RNA を用いて遺伝子発現について検索した。統計学的に有意に 2 倍以上 upregulation がみられた遺伝子は 133 個、2 倍以下の downregulation がみられた遺伝子は 78 個であった。

FMR1 遺伝子の発現量が低く抑制されて

いる症例では、他の遺伝子の発現が亢進し、そのために行動特性に変化が見られている可能性があり、今後葉酸を含め、FMR1 の発現に関与する薬物の効果について検討する必要がある。

(4) 自閉症スペクトラムを示す遺伝性疾患の症候論と遺伝学

NGF 刺激後の PC12 細胞では Hamartin と Tuberin の発現レベルが異なっていること、AS オリゴヌクレオチドで TSC2 を抑制した場合、DNA 合成が促進され、神経突起の形成が抑制されることを見出した。このデータは Tuberin がなくなることで神経細胞の分化が抑制され、患者で見られる結節の神経細胞が分化の異常をきたした。今回の結果は、神経細胞の分化段階で、TSC1 と TSC2 の欠損による表現型が異なる可能性を示しており、結節性硬化症の自閉症発症機構を考える 1 つのヒントになると考えられた。

(5) 知覚過敏と不安を呈するモデル動物を用いた自閉症の病態解明に関する研究

bv マウスは条件付けされていない不安行動 unconditioned fear の亢進が生後 6 週以降で明らかとなっており、成マウスではより強い不安行動を呈していた。bv マウス Mirror Chamber 試験における恐怖行動の亢進は、鏡のうら面に対しては有意な亢進がないことから、鏡に映った自己像に対する恐怖反応と考えられる。マウスには鏡に映った自己像は他者として認識されると推測されるので、他者性によって惹き起こされた不安行動である可能性がある。よって、bv マウスの発達早期より認められた不安行動は、自閉症を中心とした発達障害と関連した不安行動の動物モデルになりうる。

免疫組織化学的検索によって、bv マウス

では複数の部位で GAD67 陽性細胞数が減少していた。bv マウスにおける不安行動に GABA 作動性の介在ニューロンの異常が関与している可能性が示唆された。今後 bv マウスの GAD67 の免疫組織化学的発達的变化を検索し、不安行動の発達的变化との関連についても検討する。

E. 結論

1. 自閉症児のコミュニケーション障害の基盤にある顔認知の特徴を明らかにした。

2. 自閉症脳の前頭部、側頭部では特に GABA 神経系の異常が示唆された。自閉症脳 GABA 濃度の減少が知的レベルと関係なく生じていたこと、GABA 受容体の変化が前頭～側頭部左側に顕著であり、今後症状との関係について検討する必要がある。

3. 自閉症研究における FMR1 遺伝子と HOXD 遺伝子の意義を解明しつつある。

FMR1 遺伝子の発現量が低く抑制されている症例では、他の遺伝子の発現が亢進し、そのために行動特性に変化がみられている可能性があり、今後葉酸を含め、FMR1 の発現に関与する薬物の効果について検討する必要がある。

4. 自閉症スペクトラムを示す遺伝性疾患の症候論と遺伝学

PC12 細胞で TSC1 遺伝子産物 Hamartin と TSC2 遺伝子産物 Tuberin の発現と NGF 刺激後の Hamartin と Tuberin の発現様式の検討を行い、差のあるところから自閉症発症メカニズムの違いの基礎になっている可能性がある。

5. 知覚過敏や常同的行動など自閉症の症状を動物モデルで明らかにしつつあり、これらのモデルを用いた治療のトライアルが可能になってきている。

F. 健康危機情報
なし

G. 研究発表

- 1) Fukuhara Y, Li XK, Kitazawa Y, Inagaki M, Matsuoka K, Kosuga M, Kosaki R, Shimazaki T, Endo H, Umezawa A, Okano H, Takahashi T, Okuyama T. Histopathological and behavioral improvement of murine Mucopolysaccharidosis type VII by intracerebral transplantation of neural stem cells. *Molecular Therapy* 2006; 13: 548-555.
- 2) Gunji A, Inagaki M, Inoue Y, Kokubo N, Ishiguro A, Kaga M. Event related potentials (ERPs) of self-face recognition in children with autism. *Clinical Neurophysiology* 2006; 117 (suppl.1) : S313.
- 3) 橋本俊顕. 思春期の行動の問題—軽度発達障害について—. *LD研究* 2006; 15: 52-56.
- 4) 橋本俊顕. 軽度発達障害の理解と特別支援教育: 高機能自閉症を中心に. *日児誌* 2006; 110: 1208-1213.
- 5) 橋本俊顕. てんかん診療 ABC 学校生活上の留意点, とくに学習・行動面の問題. *小児科診療* 2007; 70: 137-142.
- 6) Inagaki M, Kaga Y, Kaga M, Nihei K. Multimodal evoked potentials in patients with pediatric leukodystrophy. *Clin Neurophysiol* 2006; 59(suppl): 251-263.
- 7) 稲垣真澄, 羽鳥誉之, 井上祐紀, 加我牧子. 発達障害のモダリティ別事象関連電位: 自閉症スペクトラムにおける特徴. *臨床脳波* 2007; 49: 12-17.
- 8) 井上祐紀, 稲垣真澄, 軍司敦子, 小久保奈緒美, 加我牧子. 注意欠陥/多動性障害の反応抑制機能に関する研究 第1報 視覚性オドボール課題における非標的刺激性 P300 の検討. *脳と発達* 2007 (印刷中).
- 9) Ishiguro A, Inagaki M, Kaga M. Stereotypic circling behavior in mice with vestibular dysfunction: asymmetrical effects of intrastriatal microinjection of a dopamine agonist. *Int J Neurosci* (in press).
- 10) 石川貴充, 福家辰樹, 夏目博宗, 杉江秀夫, 大関武彦. 重度精神運動発達遅滞児に発症した慢性炎症性脱髄性多発根神経炎 (CIDP)・小児臨 2006; 59: 67-71.
- 11) Kamimura T, Tohyama J, Oishi M, Akasaka N, Kanazawa O, Sasagawa M, Kato M, Ohno K, Masuda H, Kameyama S, Uchiyama M. Magnetoencephalography in patients with tuberous sclerosis and localization-related epilepsy. *Epilepsia* 2006; 47: 991-997.
- 12) 小穴信吾, 稲垣真澄, 鈴木聖子, 堀本れい子, 加我牧子. 刺激モダリティ別事象関連電位 N400 の発達と読字障害における特徴: 意味カテゴリー一致判断課題による検討. *脳と発達* 2006; 38: 431-438.
- 13) Ohsaki Y, Sugimoto Y, Suzuki M, Hosokawa H, Yoshimori T, Davies JP,

- Ioannou YA, Vanier MT, Ohno K, Ninomiya H. Cholesterol depletion facilitates ubiquitylation of NPC1 and its association with SKD1/Vps4. *J Cell Sci* 2006; 119: 2643-2653.
- 14) Okamoto R, Fujii S, Inoue T, Lei K, Kondo A, Hirata T, Okada M, Suzaki I, Ogawa T, Maegaki Y, Ohno K. Biphasic Clinical Course and Early White Matter Abnormalities may be Indicators of Neurological Sequelae after Status Epilepticus in Children. *Neuropediatrics* 2006; 37: 32-41.
- 15) Saito Y, Yamamoto T, Mizuguchi M, Kobayashi M, Saito K, Ohno K, Osawa M. Altered glycosylation of alpha-dystroglycan in neurons of Fukuyama congenital muscular dystrophy brains. *Brain Research* 2006; 1075: 223-228.
- 16) 杉江秀夫, 杉江陽子. 主なミトコンドリア脳筋症: 電子伝達系異常症. *Clin Neurosci* 2006; 24: 674-677.
- 17) 杉江秀夫. 行政への対応と連携の実際. 加我牧子, 稲垣真澄, 編. 医師のための発達障害児・者診断治療ガイド—最新の知見と支援の実際—. 東京; 診断と治療社, 2006; 186-192.
- 18) 杉江秀夫. 先天代謝異常: 糖原病 II, V, VII. 大関武彦, 古川漸, 横田俊一郎, 編. 今日の小児治療指針(第14版). 東京: 医学書院, 2006; 160-161.
- 19) Sugie H, Sugie Y. A boy who is an amazing artist. *Brain Dev* 2006 (in press)
- 20) Toda Y, Mori K, Hashimoto T, Miyazaki M, Nozaki S, Watanabe Y, Kuroda Y, Kagami S. Administration of secretin alters dopamine metabolism in the central nervous system. *Brain Dev* 2006; 28: 99-103.
- 学会発表
- 1) 藤井笑子, 森 健治, 宮崎雅仁, 橋本俊顕, 原田雅史, 香美祥二. 自閉症児の in vivo 1H-MRS による検討—基底核の GABA 濃度について—. 第48回日本小児神経学会, 浦安, 2006年6月1~3日.
- 2) 藤井笑子, 森 健治, 宮崎雅仁, 西村美緒, 福本 礼, 津田芳見, 橋本俊顕. 自閉症における GABA 神経系の評価: 123I-iomazenil SPECT, 1H-MRS による検討. 第36回日本臨床神経生理学会, 横浜, 2006年11月29日~12月1日.
- 3) 軍司敦子, 稲垣真澄, 加我牧子. 発達障害児の顔認知における事象関連電位の検討 (シンポジウム4: 顔の認知と記憶の神経生理学的アプローチ). 第35回日本臨床神経生理学会・学術大会, 福岡, 2005年11月30日~12月2日.
- 4) 軍司敦子, 稲垣真澄, 井上祐紀, 小久保奈緒美, 石黒秋生, 加我牧子. 発達障害児の顔認知における事象関連電位の検討. 第48回日本小児神経学会総会, 浦安, 2006年6月1~3日.
- 5) 橋本俊顕, 津田芳見, 森 健治, 宮崎雅仁, 藤井笑子, 西村美緒, 福本 礼. 自閉症の GABA 受容体機能: 123I-IMZ SPECT による検討. 第48回日本小児神経学会, 浦安, 2006年6月1~3日.
- 6) 橋本俊顕. シンポジウム 小児科疾患への応用はどこまで進んだか (その2): 小児の発達障害とてんかんへの応用は

- どこまで進んだか「自閉症スペクトラムにみられるてんかんの病態解明アプローチ」. 第 36 回日本臨床神経生理学会, 横浜, 2006 年 11 月 29 日~12 月 1 日.
- 7) 橋本俊顕. 教育講演 軽度発達障害の理解と特別支援教育—高機能自閉症を中心に. 第 109 回日本小児科学会, 金沢, 2006 年 4 月 21~23 日.
- 8) 石黒秋生, 稲垣真澄, 加我牧子. Bronx Waltzer マウスにおける常同的回転行動と線条体機能不均衡との関連性の解明. 第 48 回日本小児神経学会, 浦安, 2006 年 6 月 2 日.
- 9) 宮本 健, 平野浩一, 杉江陽子, 大関武彦, 鈴木輝彦, 大澤純子, 杉江秀夫. 急性呼吸不全の発症に気管軟化症が関与した Menkes 病の 1 例~第 2 報; 病理学的検討. 第 48 回日本小児神経学会, 2006 年 6 月 1~3 日.
- 10) 宮崎雅仁, 藤井笑子, 森 健治, 橋本俊顕, 香美祥二. 軽度発達障害児の体性感覚誘発電位: 特に注意欠陥/多動性障害と高機能広汎性発達障害の比較. 第 48 回日本小児神経学会, 浦安, 2006 年 6 月 1~3 日.
- 11) 宮崎雅仁, 藤井笑子, 森 健治, 橋本俊顕, 香美祥二. 軽度発達障害児(注意欠陥多動性障害(ADHD)/高機能広汎性発達障害(HFPDD))の体性感覚機能. 第 36 回日本臨床神経生理学会横浜, 2006 年 11 月 29 日~12 月 1 日.
- 12) 村川和義, 平山菜穂, 井上雅彦, 橋本俊顕. 総合病院における応用行動分析による自閉症児・家族に対する個別指導(第 2 報). 第 48 回日本小児神経学会, 浦安, 2006 年 6 月 1~3 日.
- 13) 大野耕策. トリプレットリピート病—優性遺伝性小脳失調症の分類と小児例の診断 第 48 回日本小児神経学会総会, 浦安, 2006 年 6 月 2 日.
- 14) 大野耕策. 発達障害と分子遺伝学. シンポジウム「自閉症スペクトラムを理解し分子解明をめざそう」. 第 28 回日本生物学精神医学会 第 36 回日本神経精神薬理学会 第 49 回日本神経化学会大会合同年会, 名古屋, 2006 年 9 月 14 日.
- 15) Ohno K, Ke L, Luan Z, Inoue T, Ninomiya H, Nanba E and Suzuki Y. Activity of N-alkyl- β -valienamine as a Chemical Chaperone for β -glucosidase Mutants Associated with Gaucher Disease. 10th International Child Neurology Congress, Montreal, June 11-16, 2006.
- 17) 大澤純子, 杉江秀夫, 鈴木輝彦, 福田冬季子, 伊藤正孝, 杉江陽子. 発達障害における染色体検査に関する検討. 第 48 回日本小児神経学会, 2006.
- 18) 杉江秀夫. 地域と教育の連携による就学への移行支援. シンポジウム「乳幼児期から学齢期への発達を支えるネットワーク」徳島県, 鳴門教育大学, 2006 年 8 月.
- 19) 杉江陽子, 杉江秀夫, 福田冬季子, 大澤純子, 鈴木輝彦, 平野浩一, 宮本健. 広汎性発達障害の臨床症状とセロトニン 2A 受容体遺伝子多型との関係について. 第 48 回日本小児神経学会, 2006 年 6 月 1~3 日.
- 21) 津田芳見, 橋本俊顕, 森 健治, 藤井笑子, 西村美緒, 福本 礼. 高機能自閉症児における認知行動発達に関する検討. 第 48 回日本小児神経学会, 浦安,

2006年6月1～3日.

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

軍司敦子, 稲垣真澄, 井上祐紀, 小久保奈
緒美, 石黒秋生

津田芳見, 森 建治, 藤井笑子, 宮崎雅仁,
原田雅史

Florin Florice, 檜垣克美, 難波栄二

大澤純子, 杉江陽子, 福田冬季子

Ⅱ. 分担研究報告

1. 発達障害児の顔認知における事象関連電位の検討

加我牧子

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

発達障害児の顔認知における事象関連電位の検討

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：ヒトの顔、とくに‘自分自身の顔’や‘親しい人の顔’、‘見知らぬ人の顔’に対する事象関連電位(ERP)を記録し、自閉症の顔認知および他者理解に関わる特徴について検討した。

健常小児・成人と自閉症をもつ小児（高機能自閉症児）を対象に検討したところ、自己顔、既知顔、未知顔、ノイズ画像、物画像に対するERPには、刺激画像提示後170msに頂点を示す後側頭—後頭領域の陰性成分（N170）と、350msに頂点を示す頭頂領域の陽性成分（P300）が認められた。

顔画像を見ているときに記録されたN170は、いずれの対象群においても、ノイズ画像や物画像に比べて減衰したことから、この時間帯に顔認知に特異的な活動が生じていると考えられた。しかし、N170の頂点潜時および振幅に顔の種類による相違がなかったことから、自他や既知性の識別はこの成分に反映されないものと考えられた。

一方、P300は、健常群において自分の顔や親しい人の顔を見ているときに振幅が増大した、自他や既知性の識別を反映することが示唆された。健常小児群では、自己顔と既知顔の振幅に有意差はなかったものの、同時帯の右後側頭—後頭領域において、自己顔と既知顔のERP振幅に顕著な差が認められ、自他の識別に関わる脳機能には発達に影響すると思われた。一方、自閉症群では、自己顔、既知顔、未知顔に対するP300振幅が近似した値であることから、自他や既知性の識別に関係する脳の機能障害が考えられた。

以上の結果は、自閉症のコミュニケーション障害を理解するうえで重要な手がかりとなり、療育による変化を捉えるための神経生理学的な指標開発に利用することができると思われた。

A. 研究目的

自閉症・アスペルガー症候群は、対人関係、コミュニケーションに不器用さを示すことがあり、その基本障害として、「心の理論」の欠陥等に反映される認知障害およびそれらの情報の統合・処理過程の脆弱性をもたらす社会性障害が考えられている¹⁾。

彼らは、表情からの感情理解や言外の言葉の意味理解が困難であることが多く、このことは、認知に関わる障害や処理過程における脆弱性へとつながるであろう。

障害の発症には、生得的な脳の器質性障害のほか²⁻³⁾、遺伝的要素の可能性も考えられており、行動観察を主とした知見や生物

学的検査による研究がすすめられる一方、脳波 (electroencephalography: EEG) や機能的磁気共鳴映像法 (functional Magnetic Resonance Imaging: fMRI) などの非侵襲的なニューロイメージング手法を用いて、自閉症に特徴的な脳機能の特定が試みられている⁴⁻¹²⁾。

近年、自閉症における、顔認知にかかわる局所的な脳機能異常が報告されており¹³⁻¹⁷⁾、顔のパーツや向き、動きの処理過程に関係する脳領域での機能異常が捉えられつつある。McParland ら¹⁶⁾は、健常群では、正立顔を見ているときよりも倒立顔を見ているときの方が N170 成分の振幅が大きいものに対し、自閉症群では、顔の向きの違いによる効果が反映されにくいことを見出している。

また、顔認知には、顔の構成知覚のほか、対象の意味情報や個人の同定など様々な認知過程が相互に影響している¹⁸⁾ことから、これに関連して、自閉症児・者を対象に顔の既知性認知と脳機能との関係が言及されるようになった^{15,17)}。とくに Pierce ら¹⁷⁾は、posterior cingulate and precuneus や medial frontal での活動は、親しい顔を見ているときに健常群で認められるが、自閉症群ではその活動が減衰、あるいは消失したと述べている。したがって、自閉症においては、顔パタンの検出に関連する脳領域の活動は認められるものの、顔の向きや既知性などを反映する顔の認知システムでの障害が示唆される。

これらの報告は、自閉症における顔認知の特異性もたらす二次的障害の可能性を示しており、ひいては自閉症のコミュニケーション障害を理解するうえで重要なポイント

になると思われる。しかし、顔認知には他にも、自他や情動の認知など高度で複雑な要素が挙げられるが、そのような研究は依然として少ない。そこで、障害の種類や程度と対応した詳細な検討が現在求められていると言えよう。

これまで、自己認知の研究分野では、鏡に映った自分の顔が分かるかどうかを判断する手法がおもに用いられた¹⁹⁻²¹⁾。最近では、脳波や fMRI を用いた研究から自分の顔に対するヒト脳活動の特異性についての報告もなされ^{13,14,22-26)}、顔認知を指標として、既知性のみならず自己と他者の識別過程をも評価できるかもしれないと分担研究者は考えた。

そこで3年度目である本研究では、ヒトの顔、とくに‘自分自身の顔’や‘親しい人の顔’、‘知らない人の顔’を見ているときの ERP を記録し、これによって明らかになる関連脳領域活動の変化から、自閉症における顔認知の特徴について検討した。

B. 研究方法

対象は、高機能自閉症群 8 名 (男児 7 名、女児 1 名) であり 6 名が右利き。10.8±2.9 歳、FIQ=86-115)、健常小児群 9 名 (男児 4 名、女児 5 名) で 8 名が右利きであった。11.3±2.3 歳)、そして健常成人群 11 名 (男性 6 名、女性 5 名。9 名が右利き。26.9±5.6 歳) であった。

被検者には、コンピュータスクリーンに提示される 4 種類の顔画像 (非ターゲット刺激) と 1 種類の物画像 (ターゲット刺激) を見て、物画像が見えたらすみやかにキー押しをする課題に取り組んでもらい、このときの脳波を頭皮上の 19 部位から記録し

た (図 1)。

刺激画像は、被検者本人の顔(自己顔)、親しい友人、あるいは、母親の顔(既知顔)、既知顔と同年代の平均顔(未知顔)の正面画像、自己顔の画像をランダムに配置したノイズ画像と物画像の計 5 種類から構成される。自他の識別、既知性、顔認知といった要因に焦点を絞るため、このような条件が設定された(表 1)。刺激画像は、コンピュータスクリーンの中心に形作られた楕円形内にグレースケールで提示された。コンピュータスクリーンの背景色は灰色である。本研究では、各被検者に対応する刺激画像を用いたため、刺激画像間の厳密な統制は困難であった。したがって、楕円形内の平均輝度が刺激画像間で同一になるように統制した。くわえて、顔画像においては瞳孔部分がスクリーン上で同じ位置になるように設定した。

1 つの刺激画像における提示時間は 800ms であった。刺激画像は、1800-2500ms の刺激間隔 (stimulus-onset asynchrony: SOA) にて、各刺激 84 試行 (84 試行×5 種=計 420 試行) がランダムオーダで提示された。課題は、4 セッションに分けて実施され、セッション間には数分の休憩が設けられた。

脳波の記録には Alliance Works (Nicolet Biomedical 社製) を用いた。国際 10-20 法に基づく頭皮上の 19 部位 (Fp1、Fp2、F3、Fz、F4、T3、C3、Cz、C4、T4、T5、P3、Pz、P4、T6、O1、O2) から Cz を基準電極として脳波を導出した。あわせて、左眼裂下 1.0cm および左外眼角外方 1.0cm に付けた電極から眼球運動をモニタし、 $\pm 100 \mu V$ を超える振幅を含む試行をアーチファクト混入

とみなして分析から除外した。脳波は、0.1-50Hz のバンドパスフィルタを通し、サンプリング周波数 250Hz で A/D 変換された。計測データは averaged reference にて、刺激提示前 200ms から提示後 1,000ms の区間を、刺激の種類別に加算平均処理された。

解析にあたっては、各被検者の加算平均波形から ERP 成分 (N170、P300) の頂点潜時と振幅を検出し、被検対象群毎、刺激条件毎に平均値を算出した。このとき、非ターゲット刺激に関する ERP については、自己顔に対して出現した P300 頂点潜時の前後 200ms 間を P300 積分区間として被検者毎に設定し、各刺激条件に対する P300 の積分値を算出した。また、後側頭—後頭領域 (T5、T6) における N170 成分に続く ERP が、顔の種類によって様相が異なることから、顔条件間の差分波形 (自己顔—既知顔、あるいは、既知顔—未知顔) に出現した成分の頂点潜時およびその前後 200 ms 間の振幅積分値を算出した。

倫理面への配慮

本研究の実施にあたっては国立精神・神経センターの倫理委員会規定にしたがって、成人被検者では、被検者本人にあらかじめ研究の意義と方法について十分に説明をおこない、書面にて同意を得た。小児被検者には、被検者本人および保護者へあらかじめ研究の意義と方法について十分に説明をおこない、保護者と本人から書面にて同意を得た。

C. 結果

物画像に対するキイ押し行動から得られた結果では、健常群に比べて自閉症群で、

無反応(自閉症群:3.6%、健常小児群:1.2%、健常成人群:0.0%)、誤反応(自閉症群:1.1%、小児群:0.4%、成人群:0.1%)がやや多いものの、いずれの群においても正答率は高かった。また、キイ押しの反応時間は、小児群、自閉症群では成人群に比べて遅い傾向があった(自閉症群:508.5±63.8(mean±SD)ms、小児群:483.0±96.4ms、成人群:409.7±58.9ms) (p<0.05)。

画像を見ているときのERPでは、自己顔、既知顔、未知顔のいずれの顔画像に対しても、T5、T6において顕著な陰性成分、N170成分が出現した(図2)。一方、ノイズ画像や物画像に対してはほとんど認められなかった。T5、T6におけるN170成分の平均頂点潜時は、顔画像に対しては、成人群で152.4±12.3(mean±SD)ms、小児群で197.8±30.0ms、自閉群で176.9±15.5ms、顔以外の画像に対しては、成人群で164.4±18.6ms、小児群で215.5±45.6ms、自閉群で212.4±40.7msで、物を見ているときに比べて顔を見ているときの頂点潜時が短縮したが(p<0.0001)、顔画像の違いによる潜時差は認められなかった(表2)。T5およびT6におけるN170成分の平均頂点振幅は、顔画像では、成人群で-5.1±2.9μV、小児群で-2.2±3.9μV、自閉症群で-7.5±3.3μV、顔以外の画像では、成人群で-1.0±3.3μVで、小児群で1.1±4.8μV、自閉症群で-1.4±3.5μVで、物を見ているときに比べて顔を見ているときの頂点振幅が増大したが(p<0.0001)、顔画像の違いによる潜時差は認められなかった。

N170成分について対象群間で比較すると、成人群に比べて自閉症群、小児群の順で頂点潜時がやや遅れた(p<0.0001)。なお、

頂点振幅は、被検対象群間で有意差を示したが(p<0.0001)が、いずれの被検者群においても、N170成分の半球間優位性は認められなかった(表2)。また、N170成分は、成人群ではいずれの被検者も一峰性を示したのに対して、自閉症群では8例中6例が、小児群では9例中8例が二峰性を示した。

さらに、T5、T6では刺激提示後の300ms付近で、顔条件間の差分波形(自己顔—既知顔、あるいは、既知顔—未知顔)に成分が出現した(図2、3)。頂点潜時は、成人群で262±40ms、小児群で405±86ms、自閉症群で370±53msであった。頂点潜時の前後200ms間の振幅積分値は、成人群では、既知顔—未知顔差分よりも、自己顔—既知顔差分の振幅の方が、左右両半球で増大していた(p<0.01)。小児群では、同様の傾向が右半球においてのみ認められた(p=0.08)。一方、自閉症群では、既知顔—未知顔差分と自己顔—既知顔差分の振幅間に有意差は無かった。

次に、ターゲット刺激(物画像)に対して増大するP300成分は、いずれの被検者においてもPzで顕著に出現していた(図4)。小児群で認められたP300成分は、成人群に比べて頂点潜時が延長したが(p=0.08)、小児群、自閉症群間に有意差はなかった。P300振幅は、自閉症児群や成人群よりも、小児群で大きかった(p<0.05)。

一方、非ターゲットである画像(自己顔、既知顔、未知顔、ノイズ画像)に対しても、陽性成分(P300)が出現しており、成人群では、自己顔に対してとりわけ大きく出現し、次いで、既知顔、未知顔の順で振幅が減衰した(図4)。これに対し、小児群では、自己顔と既知顔に対する振幅は、未知顔よ

りも有意に大きいですが、自己顔と未知顔の振幅間に有意差は無かった。なお、自己顔に対する P300 頂点潜時は、小児群の方が成人群に比べて遅い傾向があった ($p=0.053$)。一方、自閉症群では、顔の種類による振幅の相違はなかった。

D. 考察

本検査の実施前には、各刺激画像を被検者へ提示して、正しい固体認識（知っている人か知らない人か、個人名など）ができるかどうかを確認し、その際、全員が正答した。また、キイ押しのパフォーマンスに関しては、健常小児群に比べて、自閉症群では反応時間がやや遅い傾向であるものの、いずれの群も正答率が高かったことから、課題の遂行状況は良好であり、顔情報に対する個人の同定という点では、対象群間に目立った相違はないと思われた。

顔を見たときに顕著に増大する N170 成分は、後側頭から後頭にかけての領域に出現し^{16, 27-29)}、fusiform gyrus や superior temporal sulcus (STS) 由来の成分と考えられている^{17, 30-39)}。本研究の結果もこれを支持しており、自分の顔や親しい人の顔、知らない人の顔を見ているときに出現した N170 成分は、ノイズ画像や物画像を見ているときよりも振幅が減衰あるいは消失した。しかしながら、顔の種類による相違は、本成分の振幅や潜時には認められなかった。また、刺激画像は、いずれも同じ輝度になるように統制されていたことも考慮すると、顔画像が提示されてからおよそ 170 ms の後側頭から後頭にかけての領域に生じる活動は、画像の物理要因ではなく、おもに顔のパターン認識にかかわる活動が大きく寄与し

たと考えられる。すなわち、顔認知に特異的な活動は生じているものの、顔の既知性や自他識別の処理過程は N170 には反映されないかもしれない。

関連して、N170 成分は、小児群では成人群に比べて遅い潜時、大きな振幅を示し、形状は二峰性を示した。この結果は、小児を対象とした先行研究の結果とも一致する²⁸⁾。これまで、成人を対象とした研究において、通常、N170 成分は一峰性で出現するといわれていることから、本研究の結果もまた発達による影響があることを示唆した。また、N170 成分は、小児群に比べて自閉症群では潜時がやや早く、振幅が大きかった。McParland ら¹⁶⁾は、成人 (15-42 歳) の自閉症群を対象に、顔に関連して出現する N170 成分を検討したところ、健常成人群に比べて自閉症成人群の方が頂点潜時に有意な遅延がみられると報告しており、本研究の結果とは矛盾した。本研究の被検対象である二群 (小児群、自閉症群) の暦年齢はほぼ一致しているため、発達による影響とは考えにくい。自閉症群における N170 成分の潜時短縮傾向は、発達の過渡期特有のものであり、暦年齢を無視した N170 成分の変動が生じているのかもしれない。今後、自閉症群における暦年齢を厳密に統制したうえで、再検討することが求められるであろう。

N170 成分の振幅や潜時には、いずれの群も、顔の種類による変動はなかったが、これに続く ERP の振幅は異なる傾向を示した。後側頭葉から後頭葉にかけての領域 (T5、T6) では、300ms くらいに陰性方向へのシフトが認められ、これは顔の種類によって偏向の大きさが異なっていた。差分成分では、成人群では、既知顔—未知顔差分より

も、自己顔—既知顔差分の方が、振幅が有意に大きかったことから ($p < 0.01$)、自己顔と他者顔の識別過程は N170 成分よりも後の時間帯に反映することが示唆された。先行研究では、ヒトにおいて他人の顔よりも自分の顔に対する検出の方が優れていることが報告されており、その関連脳領域として右半球の下前頭葉領域や下頭頂葉から下後頭葉にかけての領域が提案されている^{22, 23, 40-43})。本研究で得られた差分成分は、T5、T6 でのみ顕著であったことから、下頭頂葉—下後頭葉領域由来の成分かもしれない。しかし、Uddin ら²²) が健常な成人被検者を対象に検討した報告では、自己顔と未知顔に対する処理過程の相違を反映する脳領域は右半球のみが示されたのに対して、本研究では、成人群では左右両半球において認められ、右半球のみに傾向を認めたのは小児群であった。これらの先行研究は、fMRI を利用したニューロイメージング研究が多く、関連脳領域の活動時間帯の特定は難しい。一方、ERP はミリ秒単位で脳活動を捉えることが可能ではあるものの、活動源の推定には慎重を要する。加えて、本研究で用いた手法は加算平均法であるため、刺激提示に同期した脳活動の検出には優れているが、脳賦活にともなう律動変化や高周波の脳波を捉えることは難しい。このような手法による違いは、自己顔認知に密接に関連すると報告される下前頭葉（とりわけ右半球）の活動検出を変動させるかもしれない。加えて、下頭頂葉—下後頭葉領域の活動は、自他の識別、既知性のみならず情動にも連動して賦活される⁴⁴)。本研究では、既知顔刺激として、小児群の検査では母親の顔を、成人群の検査では親しい友人の顔を

を用いたため、このような既知性のレベルの違いが小児群と成人群の ERP 分布を分けたのかもしれない。また、自閉症群では、既知顔—未知顔差分と自己顔—既知顔差分との間に有意差はなく、自他、既知性の識別に特異的な認知過程が生じている可能性が考えられた。

一方、本研究では、ターゲット刺激（物画像）に対して弁別反応（キイ押し）をするように被検者へ教示したため、頭頂領域（Pz）において顕著に増大する P300 成分を捉えることができた。本成分は、特定の刺激（ターゲット画像や音）を検出したり、判断したりするときに出現すると考えられている。P300 成分の頂点潜時は、成人群よりも小児群で延長し ($p = 0.08$)、これまでの先行研究と一致した傾向を示した^{4, 5, 44, 45})。なお、振幅は成人群よりも小児群で有意に大きかった ($p < 0.05$)。P300 振幅には年齢相関はないという報告もあるが^{4, 46})、少なくとも、小児—成人間の振幅差を示す報告もあり、本結果と合わせて更なる検討が必要といえよう。また、自閉症群における P300 頂点潜時は、暦年齢の一致した小児群における値（潜時）と似ていたが、その振幅は大幅に減衰した。知的障害をもつ児における P300 の出現傾向が、暦年齢を合わせた健常小児群の P300 よりも、振幅が小さいと報告されているが、彼らは、たいてい、潜時の遅延も伴っており⁴⁷)、本研究の結果とは一致しない。また、本研究の自閉症群には知的障害を併せ持つ例は含まれておらず、したがって、この結果は、知的障害に直接、起因するものではないと思われた。

キイ押し反応や計数を要求されるオドボール課題遂行中には、注意を向けていない