

図 1

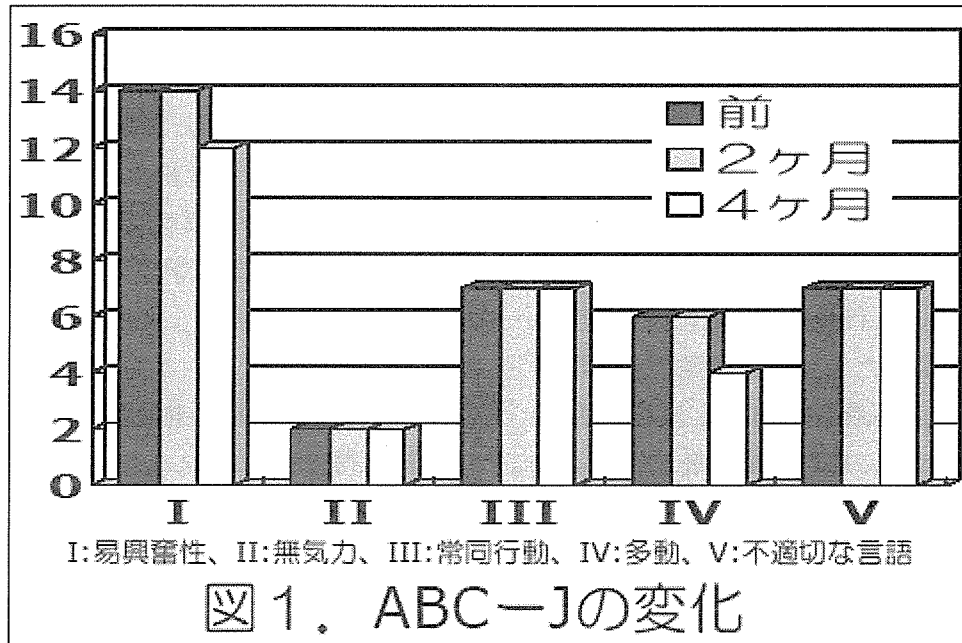


図 2

source	Spearman ρ
Globus pallidus	0.44
Subthalamic nucleus	0.46
Pons	0.47
Cingulate cortex	0.49
Cerebellum	0.49
Temporal lobe	0.49
Parietal lobe	0.50
Medulla oblongata	0.51
Whole brain	0.52
Cerebellum peduncles	0.52
Caudate nucleus	0.52
Occipital lobe	0.53
Fetal brain	0.54
Prefrontal cortex	0.54
Amygdala	0.55
Olfactory bulb	0.56
Spinal cord	0.56
Hypothalamus	0.56
Pituitary	0.58

図2. Pairwise Spearman Correlation of Gene Expression (whole blood vs CNS) Am J Med Genet, 2006

II. 分担研究報告

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

自閉症発症に関する関連遺伝子検索：HOXD 遺伝子の解析

分担研究者 杉江秀夫

浜松市発達医療総合福祉センター 所長

研究要旨：自閉症の発症に関与する遺伝子は複数あり、単一ではない。発症に関与する遺伝子をひとつでも究明することは自閉症の発症予防の観点から重要である。今回は昨年引き続き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を行った。HOXD11,12,13 の遺伝子の直接塩基配列を解析し、多型部位については、その頻度について正常対照と比較検討を行った。HOXD11 遺伝子のイントロンで、自閉症に有意に高頻度の遺伝子多型が見られたが、自閉症と関連する有力な部位となりうるか今後さらに検討する必要がある。さらに、2D/4D 長比の短いサブグループ（SDG）に注目して検討を行うと、HOXD11 遺伝子のプロモーター部位の SNP で、GT へテロの3症例は自閉症のみに認められ、うち2例は SDG であった（1例は 2D/4D 長比不明）。自閉症を SDG に絞って検討した場合、HOXD11 遺伝子のプロモーター部位の GT（HOXD11p-GT）へテロは自閉症のマーカーとなりうる可能性が示唆され、今後自閉症の HOXD11p-GT へテロの症例を集積し、遺伝学的に分析することにより、自閉症の原因遺伝子のひとつに迫る可能性が示唆された。

A. 研究目的

自閉症の発症には遺伝が関与している。しかし、単一ではなく複数の遺伝子が関与し、あるいは環境要因も関与している可能性があるため、原因究明のためには自閉症全体をひとつとして研究を行うことはむしろ解明を困難にしているように思われる。したがって、原因解明のためには自閉症をその特徴的所見ごとにサブグループ化することは重要であると思われる。

われわれは（1）自閉症に認められる微細な兆候として、自閉症では第2指（2D）と第4指（4D）の長さの比が短いとの報告があること、（2）胎生期における四肢骨形成

にはホメオボックスの中の HOXD 遺伝子群が関与しており、特に指の長さ HOXD11、12、13 遺伝子の発現量とは相関関係があると報告があること、さらに、（2）HOXD 遺伝子は、ゲノムスキャンで、自閉症の候補遺伝子部位のひとつとされる 2q の近傍に座していることの3点から、自閉症における HOXD 遺伝子との関連について昨年より引き続き解析を行い、特に 2D/4D 長比の短いグループ（Short Digit Group : SDG）との関連について検討を行った。

B. 研究方法

〔第1段階〕

代表的自閉症例における HOXD11、12、13 遺伝子の変異の有無、多型部位の検出：昨年引き続き、残りの部位の解析を完了させた。

対照は浜松市発達医療総合センター外来受診者で、DSM-IV に基づき自閉症と診断し、特に典型的である 11 症例（男 10、女 1）である。この 11 例には 2D/4D 長比が大澤らの報告による対照より短い症例が 8 例を含まれている。末梢血白血球より、genomic DNA を抽出し、PCR 法を用いて、直接シーケンス法により HOXD11、12、13 遺伝子の塩基配列を求めた。

〔第 2 段階〕

疾患対照比較研究：第 1 段階で検出された多型部位において、それぞれ、自閉症と正常対照とで多型頻度について比較を行った。これも昨年に引き続き、症例を増やすとともに、すべての多型部位の検索を完了させた。症例数は多型部位において異なり、自閉症で 21~88 例であり、正常対照は神経学的異常のない 17~89 例である。

〔第 3 段階〕

2D/4D 長比の判明している症例での検討：2D/4D 長比と遺伝子検索が可能であった症例は 21 例（男 18、女 3 例）であった。今回、SDG を大澤らの報告による自閉症の 2D/4D 長比の平均より短い症例と定義したところ、SDG は 10 例であった。

以上はいずれも本人または両親により承諾の得られた症例である。

C. 結果

〔第 1 段階〕

直接塩基配列解析結果からは、HOXD11、12、13 遺伝子のいずれにおいても変異のあ

る部位は認められなかった。HOXD11 遺伝子では 6 ヶ所の多型が検出された。プロモーター領域における多型部位 1、エクソン 1 における多型部位 0、イントロンにおける多型部位 3、エクソン 2 における多型部位 2 であった。うち 2 ヶ所は 2006 年 12 月の時点において GenBank に登録のない部位であった。HOXD12 遺伝子では 3 ヶ所の多型部位が検出された。プロモーター領域における多型部位 2、エクソン 1 における多型部位 1 であった。うち 2 ヶ所は登録のない部位であった。HOXD13 遺伝子では 6 ヶ所の多型部位が検出された。プロモーター領域における多型部位 2、エクソン 1 における多型部位 2、イントロンにおける多型部位 2 であった。うち 2 ヶ所は登録のない部位であった。

〔第 2 段階〕

GenBank に登録されている多型と今回の新規 2 ヶ所と合わせた HOXD11 の 9 ヶ所の多型（SNP8、反復 1）のうち、自閉症と対照との間で多型頻度に有意差が認められたのはイントロンの SNP1 ヶ所である。プロモーター部位の SNPp-GT では自閉症で GG ホモ 54 例、GT ヘテロ 3 例と対照では 56 例全例 GG ホモであり、有意差は認められなかったが、GT ヘテロの 3 症例は自閉症のみであった。

同様に、GenBank に登録されている多型と今回の新規 2 ヶ所と合わせた HOXD12 の 6 ヶ所の多型（SNP6）で、自閉症と対照とで、多型頻度に有意差が認められた部位はなかった。プロモーターとエクソン 1 の SNP 間にはほぼ完全な連鎖不平衡が認められた。同様に GenBank に登録されている多型と今回の新規 2 ヶ所と合わせた HOXD13 の 14

ヶ所の多型部位 (SNP12、反復 2) においても自閉症と対照との間で多型頻度に有意差のある多型部位は認められなかった。エクソン 1 にはアミノ酸の変化の可能性のある SNP が GenBank の多型として登録されていたが、今回の我々の対象では同一アミノ酸のみであった。2ヶ所のプロモーター部位の SNP の間にはほぼ完全な連鎖不平衡が認められた。

〔第 3 段階〕

21 症例について、多型部位の検索で SDG について特筆すべき結果の得られたのは、HOXD11 のプロモーター部位の GT 多型と HOXD11 のイントロンの AC 多型の 2ヶ所であった。HOXD11p-GT 多型は SDG10 例中 GT2 例、GG8 例で、SDG 以外の 10 例は全例 GG であった HOXD11i-AC 多型では、SDG10 例中短い方からの 5 例が AC ヘテロで、AA ホモが 5 例であり、SDG 以外の 3 例全例が AA ホモであった。ただし、対照でも 34 例中 13 例が AC ヘテロであった。

D. 考察

自閉症の原因は多様であり、自閉症の原因究明には、自閉症をその特徴的症状から、サブグループ化することの重要性が言われている。

自閉症に認められる微細症候のひとつとして、Manning らは自閉症では 2D/4D 長比が短いという報告をしている。我々の症例においても、大澤らが自閉症では対照と比較して有意に 2D/4D 長比が短いことを報告している。指の長さに影響を与える遺伝子として、アンドロゲンレセプターの CAG 反復回数と関係するとの報告があり、当センサーでも大澤らが 2D/4D 長比の短い症例で

は CAG 反復回数が少ない傾向のあることを報告している。

ホメオボックス遺伝子は胎生期に発現し、多くの遺伝子の転写調節遺伝子としての機能を持ち、神経系の発達を含む頭部から四肢の分化・発達に関与している。特に、HOXA1、HOXB1 遺伝子は神経系の発達に密接に関与していることから、多くの研究がなされ、HOXA1 遺伝子の A218G 変異が自閉症の発生に関与しているとの報告が見られたが、その後否定的な報告が続いた。しかし、Conciatori らはこの HOXA1 遺伝子の A218G 多型の G アレルが頭囲の拡大と関係があるとの報告をしている。HOXD 遺伝子は四肢骨形成に重要な役割を持ち、特に HOXD11、12、13 遺伝子の発現量と第 4 指長とは相関するとの報告がある。さらに、この HOXD 遺伝子は 2q31-32 に座している。これは大掛かりなゲノムスキャンの報告 (IMGSAC、Buxbaum ら) から、自閉症の候補部位とされた部位と一致している点も注目される。

今回の解析の結果、HOXD11 のイントロン部位の多型が自閉症と対照で有意差が認められたが、イントロンの多型は遺伝子発現量に影響を与える可能性があり、この点を含めてさらに検討が必要である。また、プロモーター部位での多型が自閉症のみで、しかも 2D/4D 長比の短い群で認められたことは興味深いことである。症例を SDG に絞って検討した場合、HOXD11 のこのプロモーター部位の多型 p-GT ヘテロは自閉症のマーカーとなりうる可能性が考えられた。

E. 結論

今後、自閉症の SDG においてこの

HOXD11p-GT 多型を持つ症例を集積し分析することで、自閉症の原因遺伝子の解明につながる可能性が示唆された。

F. 研究発表

論文発表

- 1) Sugie H, Sugie Y: A boy who is an amazing artist. *Brain Dev* 2006 (in press)
- 2) 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.

学会発表

- 1) 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
- 2) 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

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

研究協力者

杉江陽子、鈴木輝彦、大澤純子、福田冬季子

浜松市発達医療総合センター

II. 分担研究報告

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

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

Bronx Waltzer マウスにおける不安行動と GABA 作動性 interneuron の異常

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 知的障害部 診断研究室長

研究要旨：過去 3 年間に渡って遺伝性難聴マウスである Bronx waltzer mouse (bv) を対象として、電気刺激による条件付け不安行動の亢進、一次体性感覚野での parvalbumin (PV) 陽性ニューロンの免疫染色性低下といった行動学的・組織学的異常を明らかにし、bv マウスの行動・知覚特性が「自閉症児」にみられるような感覚・知覚異常の動物モデルとなりうる可能性を追求してきた。

bv マウスの一次体性感覚野における PV 発現の低下所見は、間接的に GABA 作動性の介在ニューロンの機能低下を示しており、介在ニューロンの異常を持つマウスはさまざまな不安行動を呈することが知られている。そこで本研究では、①bv マウスの不安行動の発達的变化（生後 3 週・6 週・3 ヶ月）を解析し、②GABA 作動性 interneuron の発現を GABA 合成酵素である Glutamic acid decarboxylase (GAD) 67 を指標とした免疫組織化学的な解析により検討した。

高架式十字迷路法を用いた不安行動の解析では、生後 6 週より不安行動の亢進を認めた。Mirror chamber 法では成マウスにおいて鏡を回避する傾向を認めた。組織化学的検討では、頭頂葉、線条体、帯状回などで GAD67 免疫陽性細胞数が低下している傾向を認めた。

bv マウスでは生後 6 週の群から異常な不安行動が認められ、成マウスではさらに強い不安行動を呈していた。マウスの GABA 作動性 interneuron 細胞数は生後に減少することが知られており、今後は不安行動の発達的变化が GAD67 陽性細胞の組織学的な異常とどのように関連しているのかを検索することが必要となる。

A. 研究目的

最近の疫学的研究では自閉症児が他の精神障害を高率に合併することが知られている。なかでも高機能自閉症児では不安障害や気分障害のリスクが高い¹⁾。Bradley らは重度の知的障害を伴う自閉症児においても不安症状のリスクが高いことを指摘し²⁾、Gadow らは就学前の自閉症児についても、全般性不安障害の症状を呈する児が多いこ

とを示唆³⁾している。

自閉症児におけるパニックや攻撃性などの行動障害の背景には予測不能な状況に対する極度の不安があり、自閉症児の不安に対する脆弱性は高いものと考えられる。したがって、不安行動の生物学的な機序を知ることは自閉症児に対するより良い療育の枠組みを作るためにも不可欠と考えられる。中でも、「不安行動の動物モデル」を確立す

ることは治療的介入の研究の上でも重要であると考えられる。

本研究は昨年度に、遺伝性難聴マウスである Bronx waltzer (bv) マウスが電気刺激をもちいた fear conditioning test では条件付けされた不安行動の亢進を呈していること、および免疫組織化学的検索では一次体性感覚野における parvalbumin (PV) 陽性ニューロンの染色性の低下が認められ、自閉症児の呈する感覚知覚異常の動物モデルとなる可能性があることを指摘してきた。

今回は、bv マウスで認められた知覚過敏行動や条件付けされた不安行動の亢進に伴って、条件付けされていない不安行動 unconditioned fear が亢進している可能性を想定し、不安行動の解析を行った。また、不安行動を発達段階ごとに解析し、不安行動の出現する週令の同定を目的とした。

Parvalbuminn の多くは GABA 作動性の介在ニューロンに存在する。bv マウスで parvalbumin 陽性ニューロンの染色性の低下が認められていることから、GABA 作動性の介在ニューロンの異常が存在する可能性を考え、GABA 合成酵素である GAD67 の免疫染色を行った。

B. 研究方法

1. 実験動物および飼育環境

実験には国立精神・神経センター神経研究所 小型実験動物研究施設にて飼育した Bronx waltzer マウス、以下 bv マウス (bv/bv : n=5、生後 3 週・生後 6 週・生後 3 ヶ月) 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、生後 3 週・生後 6 週・生後 3 ヶ月)、および C57BL/6J マウス (+/+ : n=5、生後

3 週・生後 6 週・生後 3 ヶ月) 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⁴⁾。マウスは 1 プラスチックケージ (182×260×128mm) あたり 3 匹以内で飼育され、恒温、恒湿条件下で食餌、水ともに自由摂取とした。照明条件は、暗期 : 20 時~8 時、明期 : 8 時~20 時の 12 時間ずつを 1 サイクルとしてコントロールされた。

2. オープンフィールド試験

50×50cm の activity arena の中央にマウスを置き、5 分間自由行動をさせた。行動をフィールド上方に設置したデジタルビデオカメラで記録した。その後オフラインで映像を PC に取り込み、行動解析ソフトウェア EthoVision (Noldus) を用いて 5 分間の移動距離 (cm/5min) を行動量として測定・解析した (図 1)。

3. 高架式十字迷路試験

十字迷路はメタクリル樹脂製で、アームの幅 10cm、長さ 50cm とし、2 つのアームは高さ 40cm の透明な壁で囲い、残り 2 つはオープンアームとした。実験では十字迷路を床から 50cm の高さに挙上し、十字迷路の中央にマウスを置いて 5 分間の行動をビデオカメラで記録する。上記行動解析ソフトウェアを用いて、5 分間のオープンアームにおける移動距離 (cm/5min) を測定・解析した (図 2)。

4. Mirror chamber 試験

新たな飼育用プラスチックケージ (182×260×128mm) を用意し、その壁面に 10×7cm の鏡を立てた。対象マウスを同ケージの中に入れて 5 分間行動させた。上記行動解析ソフトウェアを用いて、ケージ内の行動量 (cm/5min)、鏡を探索した回数

(接触回数/5min)、鏡面中央部からの平均距離 (cm) を算出した (図 3)。対照実験として、オブジェクトを入れないケージおよび、同じ鏡を裏返して立てたケージ内でのマウスの行動を解析した。なお、本実験は 3 ヶ月齢の bv マウスと C57BL/6J マウスを 5 匹ずつ用いた。

5. 不安行動実験の統計学的解析

マウス行動の統計学的解析は、StatView for Windows ver5.0 を用いて行った。全ての行動パラメーターについて age group 別に “Strain” (bv マウス群・hetero マウス群・C57BL/6J マウス群) を 1 要因とする ANOVA を行い、Fisher’s PLSD を用いて下位検定を行った。

Mirror Chamber 試験については、3 条件 (オブジェクトなし・鏡うら面・鏡面) 別に、t 検定によって bv マウスと C57BL/6J マウス間の行動パラメーターの比較を行った。

4. 免疫組織化学的検討

3 ヶ月齢の bv マウス (bv/bv: n=3) と ICR マウス (n=3) にケタラル・キシラジン麻酔カクテル (生理食塩水 2.3ml、塩酸ケタミン 0.9ml、xylazine 0.1ml) を 0.1ml/10g body weight ずつ経腹膜投与し、十分に麻酔されたことを確認して 4%PFA で灌流固定した。固定された脳は取り出され 4%PFA 中 4°C で 2 時間置き、30%スクロースで 2 日間かけて置換した。脳ブロックはクリオスタットを用いて 30 μ m の厚さでスライスされた。

Franklin and Paxinos によるマウス・ブレインアトラスを参照して Bregma より 0.0~ -0.1mm の位置に相当するスライスを 6 時間以上ドライヤーで風乾し、PBS で洗浄した (15 分×3 回)。5%ロバ血清 (in 1×PBS、

0.01%アジ化ナトリウム) を用いて 4°C で incubation し、一次抗体として GAD の 67kDa isoform である GAD67 に対する抗体 (mouse IgG: Chemicon) を用いて 1000 倍希釈にて、4°C で 72 時間反応させた。その後、PBS で洗浄し (15 分×3 回)、二次抗体として 200×Alexa Fluor488 donkey anti-mouse IgG (Molecular Probes) を用いて室温で 2 時間 incubation し、PBS で洗浄 (15 分×3 回) 後、Anti-fade Reagent (BioRad) で封入し検鏡した。

蛍光顕微鏡はオリンパス IX-71 システムを用いて FITC で励起した画像で 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

対象マウスの処置は注意深く行い、疼痛緩和や苦痛を与えないように、最大限配慮して実験を行った。

C. 結果

1. オープンフィールド試験

オープンフィールド内での 5 分間の行動量 (cm/5min) については生後 3 週および 3 ヶ月群の bv マウスで低下している傾向を認めたものの、統計学的な有意差はなく、ANOVA では、生後 3 週・生後 6 週・生後 3 ヶ月のいずれの発達段階においても “Strain” の主効果を認めなかった。

2. 高架式十字迷路試験

オープンアームにおける移動距離 (cm/5min) については、“Strain” の主効果を生後 6 週群 [F(2,12) = 11.854, p=0.0014] と 3 ヶ月群 [F(2,12) = 10.387, p=0.0017] で認めた。下位検定の結果、生後 6 週群および生後 3 か月

群では 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 (図 4、生後 6 週 ; $p < 0.05$, $p < 0.001$, 生後 3 ヶ月 ; $p < 0.01$, $p < 0.01$)。

3. Mirror Chamber 試験

ケージ内での行動量 (cm/5min) については、3 条件 (オブジェクトなし・鏡うら面・鏡面) のいずれにおいても bv マウスで低下している傾向を認めたが、有意差には達しなかった。鏡を探索した回数 (回/5min) については、bv マウスで有意に減少していた (図 5、 $p < 0.01$)。鏡の裏面を探索した回数については bv マウスで減少している傾向を認めたが、有意差には達しなかった。

鏡に対する平均距離 (cm) については、bv マウスで有意に延長していた (図 6、 $p < 0.05$)。鏡の裏面に対する平均距離は bv マウスで延長している傾向を認めたが、有意差には達しなかった。

4. 免疫組織化学的検討

頭頂葉・帯状回・線条体ともに、GAD67 免疫陽性細胞は細胞体の周囲を縁取るようにして染色されていた。また、近隣の細胞に投射してシナプスを形成していると思われる軸索終末が点状に染まっており、他の細胞体を取り囲むような染色像を呈していた。

蛍光顕微鏡を用いた定性的な観察からはいずれの部位においても 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 (図 7-9)。

D. 考察

bv マウスの不安行動の解析では、オープンフィールド試験では正常マウスと同等の行動量を呈していたが、高架式十字迷路試

験では生後 6 週以降の発達段階において不安行動が亢進していた。成マウスを用いた Mirror Chamber 試験では、bv マウスは鏡面を探索する回数が有意に少なく、鏡面からの平均距離も有意に延長していた。

これらの結果より、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ることがわかった。すなわち、bv マウスは条件付けされた不安行動 *conditioned fear* と条件付けのない不安行動の両方が亢進しているといえる。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、提示された鏡の新奇性 *novelty* によって惹起されたというよりは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可能性があると考えられる。

免疫組織化学的検索によって、bv マウスでは複数の部位において GAD67 陽性細胞数が減少している傾向を認めた。この所見については今後のさらに定量的な解析を行う必要がある。しかしながら、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とも思われる。Levitt らは、GABA 作動性 *interneuron* の遊走のコントロールにかかわっているとされる分子 *hepatocyte growth factor /scatter factor (HGF/SF)* の発現

を制御している urokinase plasminogen activator receptor (uPAR)を不活化したマウスが、大脳皮質における GABA 作動性 interneuron 数の減少・不安行動の亢進をきたすことを報告しており^{5,6)}、これらの研究結果は我々の結果と矛盾しない。

GAD67 陽性細胞は発達に伴って生理的な減少を呈することが知られており、この uPAR ノックアウトマウスにおいても同様の傾向が認められている。今後は bv マウスにおける GAD67 の免疫組織化学の発達の変化を検索し、不安行動の発達的变化との連関についても検討する必要がある。

E. 結論

本研究では、自閉症児の呈する感覚知覚異常および不安行動の動物行動モデルの候補を発見することができた点で画期的であると考えられる。今後は、bv マウスの GABA 作動性介在ニューロンの分布を定量的に検討し、自閉症の動物モデルの神経化学的な異常の解明を目指したい。

謝辞

本研究に当たりましては、国立精神・神経センター神経研究所 診断研究部 中村俊先生、小柴満美子先生のご協力を頂きました。深謝いたします。

参考文献

- 1) Baird G, Cass H, Slonims V: Diagnosis of Autism. *BMJ* 2006; 327: 488-493.
- 2) Gadow KD, DeVincent CJ, Pomeroy J, Azizian A: Psychiatric Symptoms in Preschool Children with PDD and Clinic and Comparison Samples. *J Autism Dev Disord* 2004; 34: 379-93.
- 3) Bradley EA, Summers JA, Wood HL, Bryson SE: Comparing rates of psychiatric and behavior disorders in adolescents and young adults with severe intellectual disability with and without autism. *J Autism Dev Disord* 2004; 34: 151-61.
- 4) Inagaki M, Kon K, Shirane S, Kobayashi N, Kaga M, Nanba E: Characteristic findings of auditory brainstem response and otoacoustic emission in the Bronx waltzer mouse. *Brain & Development* 2006; 28: 617-624.
- 5) Levitt P, Eagleson KL, Powell EM: Regulation of neocortical interneuron development and the implications for neurodevelopmental disorders. *Trends in Neuroscience* 2004; 27: 400-406.
- 6) Powell EM, Campbell DB, Stanwood GD, Davis C, Noebels JL, Levitt P: Genetic disruption of cortical interneuron Development causes region-and GABA cell type-specific deficits, epilepsy, and behavioral dysfunction. *J Neurosci* 2003; 23: 622-631.

F. 研究発表

論文発表

- 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: 548-55.
- 2) 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.

- 3) Inagaki M, Kaga Y, Kaga M, Nihei K: Multimodal evoked potentials in patients with pediatric leukodystrophy. *Clin Neurophysiol* 2006; 59 suppl: 251-263.
- 4) 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.
- 5) 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
- 6) Ishiguro A, Inagaki M, Kaga M: Stereotypic circling behavior in mice with vestibular dysfunction: asymmetrical effects of intrastriatal microinjection of a dopamine agonist. *International Journal of Neuroscience* in press.

学会発表

- 1) 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 平成18年6月2日

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

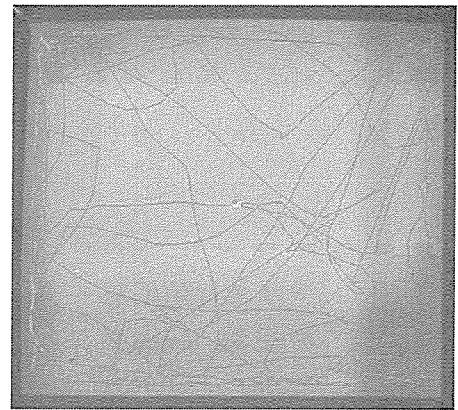
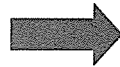
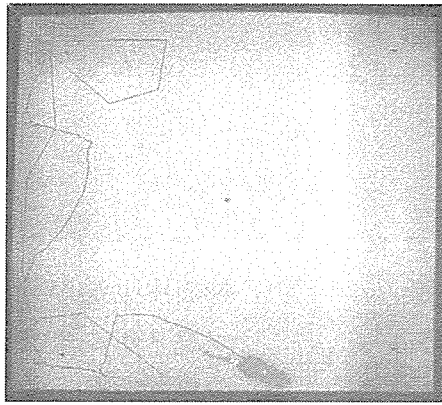
研究協力者

井上祐紀 加我牧子

国立精神・神経センター精神保健研究所

図 1

オープンフィールド試験

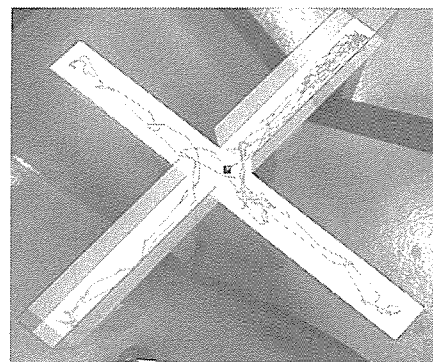
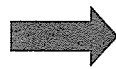
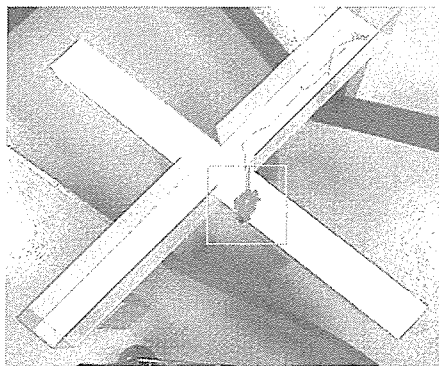


マウス行動のトラッキング

5 分間の軌跡 (cm/5min) を測定

図 2

高架式十字迷路試験

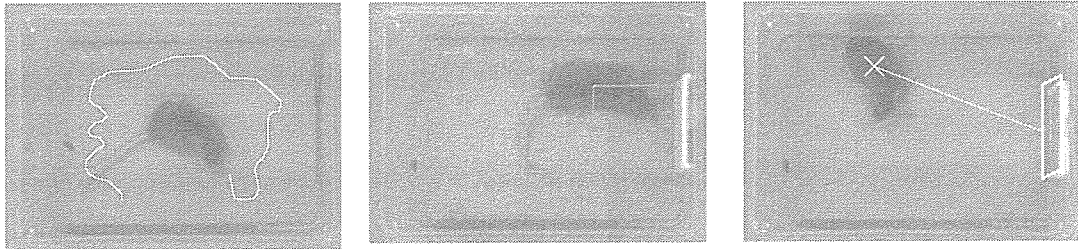


マウス行動のトラッキング

5 分間の軌跡 (cm/5min) を測定

図 3

Mirror Chamber 試験



マウス行動軌跡
の記録 (cm /
5min)

鏡面横幅を 1 辺
とする正方形を
設定し、マウスの
接触回数を探索
行動と評価した
(回 / 5min)

鏡面中央部から
マウス重心まで
の直線距離を鏡
面忌避度と評価
した (cm /
5min)

図 4

高架式十字迷路試験におけるオープンアーム上の移動距離

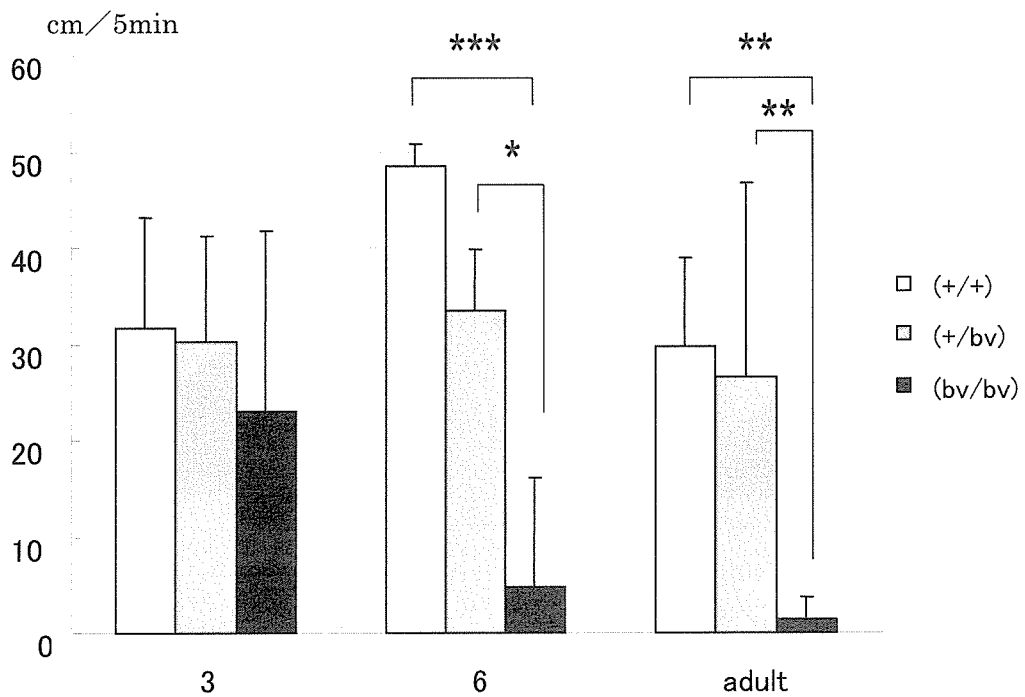


図 5

Mirror chamber 試験におけるオブジェクト（鏡）探索回数
(回/5min)

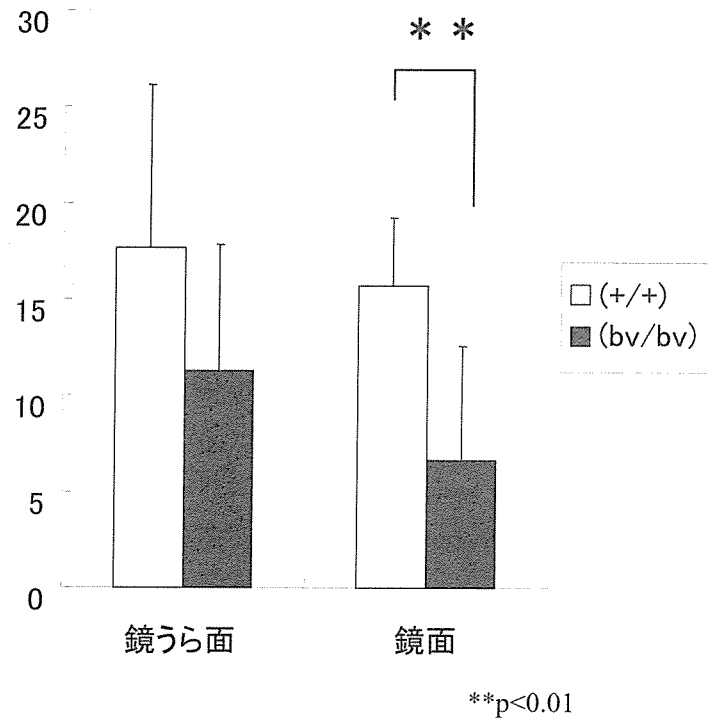


図 6

鏡面に対する平均距離
(cm)

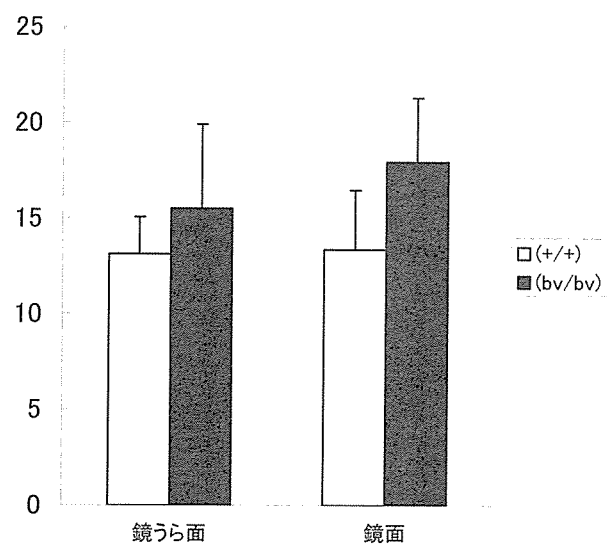
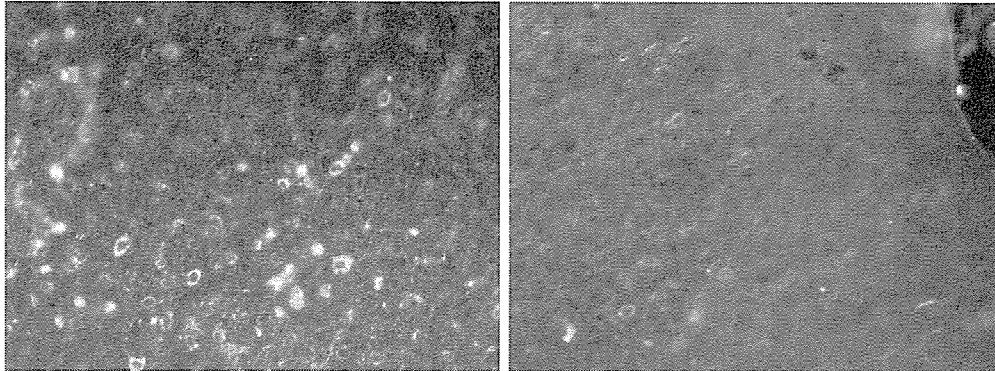


図 7

頭頂葉皮質における GAD67 発現 (100× : layer I~III)

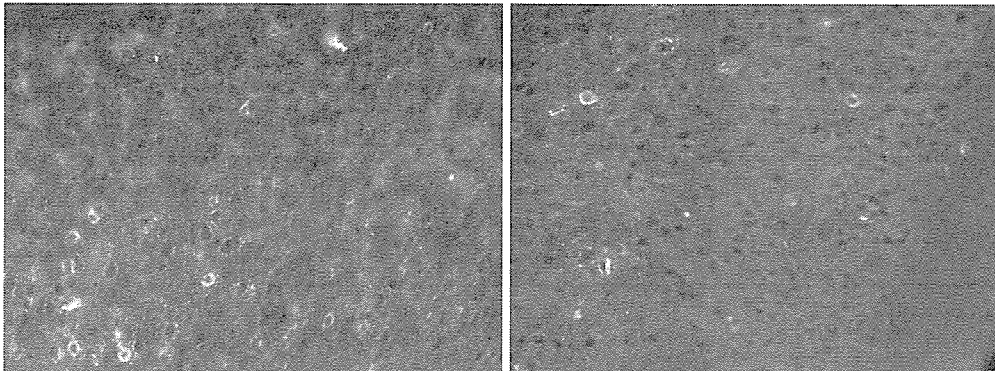


ICR マウス

Bronx Waltzer (bv/bv)

図 8

帯状回皮質における GAD67 発現 (100× : layer I~III)

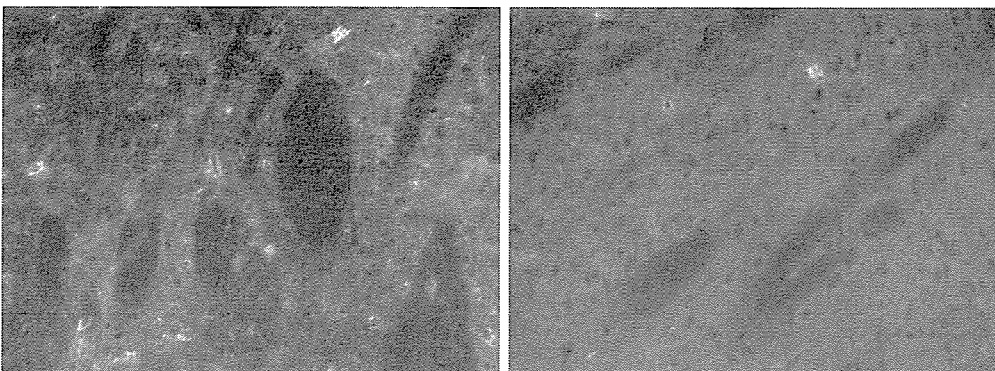


ICR マウス

Bronx Waltzer (bv/bv)

図 9

線条体背側部における GAD67 発現 (100×)



ICR マウス

Bronx Waltzer (bv/bv)

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文 タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社 名	出版 地	出版 年	ページ
井上祐紀, 加我牧子	AD/HDの診 断・評価	加我牧子, 稲垣真澄	発達障害児・ 者診断治療ガ イド	診断と 治療社	東京	2006	100-10 9
稲垣真澄	自閉症の顔 認知に関する研究最前 線	加我牧子, 稲垣真澄	発達障害児・ 者診断治療ガ イド	診断と 治療社	東京	2006	88-92
杉江秀夫	行政への対 応と連携の 実際	加我牧子, 稲垣真澄	発達障害児・ 者診断治療ガ イド	診断と 治療社	東京	2006	186-19 2
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	今日の小児治 療指針（第14 版）	診断と 治療社	東京	2006	160-1

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版 年
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	117	Supplement 1 pp.S313	2006
F 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	28	99-103	2006
橋本俊顕	思春期の行動の問題－軽	L D研究	15	52-56	2006

	度発達障害についてー				
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	110	1208-1213	2006
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	70	136-142	2007
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	37	32-41	2006
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	1075	223-8	2006
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	47	991-997	2006
Ohsaki Y, Sugimoto Y, Suzuki M, Hosokawa H, Yoshimori T, Davies JP,	Cholesterol depletion facilitates ubiquitylation of NPC1 and its association with SKD1/Vps4	J Cell Sci	119	2643-2653	2006