

Nakamura K, Yamada K, Iwayama-Shigeno Y, Toyota T, Furukawa A, Takimoto T, Terayama H, Iwahashi K, Takei N, Minabe Y, Sekine Y, Suzuki K, Iwata Y, Pillai A, Nakamoto Y, Ikeda K, Yoshii M, Fukunishi I, Yoshikawa T, Mori N. Evidence that variation in the peripheral benzodiazepine receptor (PBR) gene influences susceptibility to panic disorder.

Am J Med Genet B 141:222-226, 2006

Arai M, Yamada K, Toyota T, Obata N, Haga S, Yoshida Y, Nakamura K, Minabe Y, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Mori N, Yoshikawa T, Itokawa M

Association between polymorphisms in the promoter region of the sialyltransferase 8B (SIAT8B) gene and schizophrenia

Biol Psychiat 59:652-659, 2006

Nakajima M, Hattori E, Yamada K, Iwayama Y, Toyota T, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Hashimoto K, Watanabe H, Iyo M, Hoshika A, Yoshikawa T.

Association and synergistic interaction between promoter variants of the DRD4 gene in Japanese schizophrenics.

J Hum Genet 52:86-91, 2007

Sekine Y, Suzuki K, Ramachandran PV, Blackburn TP, Ashby CR Jr.

Acute and repeated administration of fluoxetine, citalopram, and paroxetine significantly alters the activity of midbrain dopamine neurons in rats: an in vivo electrophysiological study.

Synapse 61:72-77, 2007.

Tsuchiya KJ, Hashimoto K, Iwata Y, Tsujii M, Sekine Y, Sugihara G, Matsuzaki H, Suda S, Kawai M, Nakamura K, Minabe Y, Yagi A, Iyo M, Takei N, Mori N. Decreased serum levels of PECAM-1 in subjects with high-functioning autism: a negative correlation with head circumference at birth. Biol Psychiatry, 2007 in press.

杉山登志郎：

子ども虐待と発達障害：第4の発達障害としての子ども虐待。

小児の精神と神経, 46(1), 7-17, 2006.

並木典子、杉山登志郎、明翫光宣

高機能広汎性発達障害にみられる気分障害に関する臨床的研究

小児の精神と神経 46:257-263, 2006

海野千畝子、杉山登志郎、服部麻子、大河内修、並木典子、河邊真千子、小石誠二、東誠、浅井朋子、加藤明美

被虐待児童に対する集中アセスメント入院の試み。

小児の精神と神経, 46(2), 121-132, 2006.

杉山登志郎

発達障害としての子ども虐待。

子どもの虐待とネグレクト, 8(2), 202-212, 2006.

杉山登志郎

アスペルガー症候群の現状

日本臨床, 65, 401-406, 2007

- Endo, T., Sugiyama, T., Someya, T. :  
Attention-deficit/hyperactivity disorder and  
dissociative disorder among abused  
children. *Psychiatry and Clinical  
Neurosciences*, 60,434-438, 2006.
- 杉山登志郎  
虐待系の多動性障害とADHDの診断と治療.  
*臨床精神薬理*, 9 (5)、252-255、2006.
- 杉山登志郎  
ADHDと行為障害（非行）.  
*そだちの科学* 6号, 72-79, 2006
- 杉山登志郎、海野千畝子  
精神療法によって愛着の修復は可能か？  
*そだちの科学* 7号, 113-119, 2006
- 杉山登志郎  
発達障害の理解と対応.  
*精神科看護*, 33, 14-19, 2006
- 杉山登志郎  
<解説>RDI自閉症治療の新たな地平へ. ス  
ティーブン E. ガットステイン著：RDI対人  
関係発達指導法, クリエイツかもがわ, pp13  
-21, 2006.
- 杉山登志郎、海野千畝子  
虐待に関連するストレス障害とその治療. 桃  
井真理子編：小児虐待医学的対応マニュアル  
医療現場で子どもを守るために、真興交易  
(株)医書出版部、pp153-165.2006.
- 別府哲  
保育の場での高機能自閉症児の理解と指導、  
保育実践と発達研究が会うとき（清水民  
子・高橋登・西川由紀子・木下孝司編）、か  
もがわ出版、219-235、2006.
- 別府哲  
自閉症における他者理解の機能連関と形成プ  
ロセスの特異性、  
*障害者問題研究*、34(4)、19-26, 2007
- 別府哲  
自閉症児の他者理解の発達における機能連関  
の特異性～愛着、共同注意、誤った信念課題  
自閉症スペクトラム研究、5、1-8、2006.
- 別府哲  
高機能自閉症児の自他理解の発達と支援、発  
達、106、47-51、2006.
- 別府哲  
思春期の高機能自閉症の子どもの発達と理解、  
*日本の科学者*、41(2)、16-21、2006.
- 鷺見 聡  
自閉症スペクトラムの原因について 一多因  
子疾患説を中心に一。  
*小児科臨床*60(3), 127-134, 2007
- 野邑健二  
ダウン症候群。  
*精神科治療学*, 21（増）；399－401, 2006.
- 野邑健二  
虐待が子どものこころに残す影―世代間連鎖  
を絶つための子どものケアのために―。

保健の科学, 48, 874-850, 2006.

野邑健二

生徒のストレスマネジメント. 中学校, 17  
(8): 12-15, 2006.

Kaneko Hitoshi, Honjo Shuji, Murase Satomi,  
Nomura Kenji, Ogawa Shiori.A

psychotherapeutic approach to a case of  
syndrome of periodic ACTH?and ADH  
discharge. Japanese Journal of Child &  
Adolescent Psychiatry, 47(Supplement), 2006. (in  
press)

宮地泰士, 金山学, 石川道子.

発音不明瞭を主訴に受診した児における広汎  
性発達障害の検討.

小児の精神と神経. 2006; 46(4): 275-279

宮地泰士.

薬物療法について～薬が効くとはどのような  
状態の変化をいうのか～

アスペハート. 2006; 14: 30-35

宮地泰士, 金山学.

軽度発達障害に関して相談できる社会資源に  
はどのような施設がありますか.

小児内科. 2007; 39(2): 383-385

宮地泰士.

発達障害児臨床の実際～広汎性発達障害を中  
心に～.

明日の臨床. 2007; 18(2): 47-53

辻井正次、桜井伸二、佐竹創平

広汎性発達障害の3次元動作分析からみた  
投動作のバリエーション

中京大学社会学部紀要 第21巻 41-54 200  
7年

辻井正次、行廣隆次、安達 潤、市川宏伸、  
井上雅彦、内山登紀夫、神尾陽子、栗田広、  
杉山登志郎

日本自閉症協会広汎性発達障害評価尺度 (P  
ARS) 幼児期尺度の信頼性・妥当性の検討  
臨床精神医学35: 1119-1126, 2006

安達 潤、行廣隆次、井上雅彦、内山登紀夫、  
神尾陽子、栗田広、杉山登志郎、辻井正次、  
市川宏伸

日本自閉症協会広汎性発達障害評価尺度 (P  
ARS) 児童尺度の信頼性・妥当性の検討  
臨床精神医学35: 1591-1599, 2006

神尾陽子、行廣隆次、安達 潤、市川宏伸、  
井上雅彦、内山登紀夫、栗田広、杉山登志郎、  
辻井正次

思春期から成人期における広汎性発達障害の  
行動チェックリスト

日本自閉症協会広汎性発達障害評価尺度 (P  
ARS) の信頼性・妥当性についての検討  
精神医学48: 495-505, 2006

学会発表

Nakamura K, Anitha A, Yamada K, Iwayama  
Y, Hattori E, Tsujii M, Sekine Y, Tsuchiya K,  
et al. Genetic and expression analyses of Synt  
axin 1A (STX1A) in Autism. 17th World Cong  
ress of the International Association for Child

and Adolescent Psychiatry and Allied Professions, Melbourne, September 2006

Nakamura K, Anitha A, Yamada K, Iwayama Y, Hattori E, Tsujii M, Sekine Y, Tsuchiya K, Minabe Y, Takei N, Yoshikawa T, Mori N  
Genetic and expression analyses of Syntaxin 1A (STX1A) in Autism

4th Congress of Asian Society for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions (ASCAPAP), Manila, June, 2006

鷺見 聡、西山 毅、宮地泰士、谷合弘子：  
自閉症スペクトラムの遺伝性について－有病率と同胞一致率からの検討－、第51回日本人類遺伝学会、2006年10月17日～20日、米子

谷合弘子、西山 毅、宮地泰士、鷺見 聡：  
自閉症スペクトラムの双生児調査、第51回日本人類遺伝学会、2006年10月17日～20日、米子

西山 毅、鷺見 聡、宮地泰士、谷合弘子：  
自閉症スペクトラムの強迫行動に関する遺伝性基盤、第51回日本人類遺伝学会、2006年10月17日～20日、米子

今井康、尾崎紀夫、石井卓、野邑健二、本城秀次 2006 選択性緘黙を先行し、後に統合失調症を発病した症例について 第164回東海精神神経学会

野邑健二、辻井正次 2006 アスペルガー症候群児の母親の精神的健康状態について 第47回日本児童青年精神医学会総会

Kaneko Hitoshi, Honjo Shuji, Murase Satomi, Nomura Kenji, Ujiie Tatsuo. Longitudinal Study of Depression and Maternal Attachment in Japanese Women during and after Pregnancy. 2006 World Association for Infant Mental Health 10th World Congress, Paris, France.

宮地泰士、金山学、今枝正行、石川道子。広汎性発達障害に関する最近の知見と今後の展望。第109回日本小児科学会学術集会。2006年4月21-23日。金沢。

宮地泰士、金山学、石川道子。移動介護ヘルパーへの自閉症理解と対応の支援を必要とした一例。第95回日本小児精神神経学会。2006年6月16-17日。東京。

宮地泰士、神谷美里、永田雅子、吉橋由香、辻井正次。「怒りのコントロール」プログラム作成の試み<その1>～プログラム内容の検討～。第96回日本小児精神神経学会。2006年10月13-14日。宝塚。

吉橋由香・神谷美里・永田雅子・宮地泰士・辻井正次：「怒りのコントロール」プログラム作成の試み<その2>-事例によるプログラムの有効性の検討- 第96回小児精神神経学会、2006。

神谷美里・辻井正次・石川道子：高機能広汎性発達障害女子のグループ活動の試み。第96回日本小児精神神経学会。2006

H 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

出願番号：特願2006-204155号

発明の名称：「自閉症の診断薬」

出願人：国立大学法人 浜松医科大学

発明者：森 則夫、岩田泰秀、中村和彦、杉原  
玄一、橋本謙二、辻井正次

出願日：平成18年7月27日

厚生労働科学研究研究費補助金（こころの健康科学研究事業）  
分担研究報告書

自閉症の末梢生物学的マーカーの検索

分担研究者	中村 和彦	浜松医科大学	精神神経医学講座	講師
	三辺 義雄	浜松医科大学	精神神経医学講座	講師
	関根 吉統	浜松医科大学	精神神経医学講座	
	森 則夫	浜松医科大学	精神神経医学講座	教授
研究協力者	岩田 泰秀	浜松医科大学	精神神経医学講座	
	須田 史郎	浜松医科大学	精神神経医学講座	
	松崎 秀夫	大阪大学		
			子どものこころの分子統御機構研究センター	准教授
	橋本 謙二	千葉大学	社会精神保健教育研究センター	教授

研究要旨

自閉症の早期発見は、早期介入によって症状の予防することができる点で重要である。自閉症は通常3歳までに症状が明らかになることが多いが、知的障害が目立たない高機能自閉症は見落とされ療育的介入が遅れる可能性が高い。こうした症例の早期診断はトレーニングされた専門家による診察が必要である。そのため簡便で侵襲の少ないスクリーニング方法が求められている。われわれは早期スクリーニング方法の確立のための予備段階として、成人高機能自閉症の末梢血清を用いて候補分子の調査をおこなった。これまでに末梢血清 BDNF、EGF、TGF- $\beta$ 1、HGF、グルタミン酸、sPECAM-1、sP-Selectin において、成人高機能自閉症と対照群との間に有意な差が認められ、末梢生物学的マーカーとして有用である可能性が示された。今後さらに網羅的に候補分子を調査するとともに、年齢依存性、疾患特異性を調査する必要がある。

A.研究目的

自閉症は対人的相互作用やコミュニケーションの障害、行動・興味・活動の限定された、反復的常同的な行動様式によって特徴づけられる障害である。多くは3歳までに障害が明らかとなる。しかし知的な遅れが目立たず（高機能自閉症）、言葉の遅れがない（アスペル

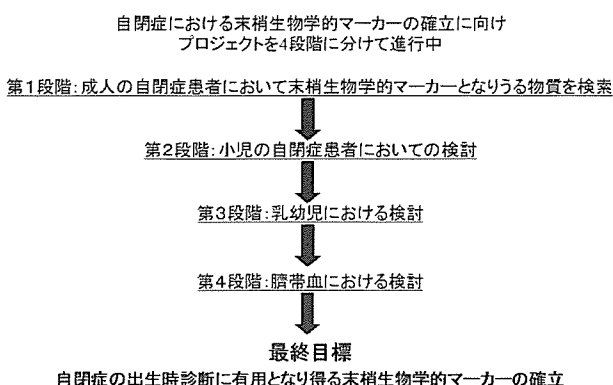
ガー障害）例では障害が見過ごされたまま成長し、後になって周囲との対人関係形成の困難さから社会適応上、問題が生じ、初めて障害が明らかとなることがある。自閉症の原因は不明で、現在のところ根治的な治療方法はないが、自閉症者自身への教育（療育的介入）によって、重篤な精神症状や問題行動に至ることを回避できる。すなわち自閉症に生じる

对人的問題や精神症状を予防・軽減するためには、早期発見と早期介入がきわめて重要である。しかしながら自閉症、特に高機能自閉症の早期診断には、詳細な診察が不可欠である。また、より簡便なスクリーニング法を確立し、援用することが強く求められる。しかし、そのスクリーニングに有用となる、自閉症（高機能例を含む）に特異的な末梢生物学的マーカーは未だに見出されていない。これらの現状を踏まえ、我々は自閉症に対する多方面からの生物学的アプローチの一環として、末梢生物学的マーカーの検索を行なった。

われわれの最終目標は臍帯血からの出生時スクリーニングである。その確立のために4段階のステップを計画している（図1）。第1段階は成人症例の末梢血を用いたケースコントロール研究である。候補となる末梢マーカーについて広く調査し、マーカーとして可能性の高いものを探索する。特に早期診断で見落とされやすい高機能自閉症を検出できるマーカーである必要があるために、この時点で知的障害のない高機能自閉症患者を対象として行なう。本計画で最も重要な点は正確な診断である。そのためにわれわれは自閉症診断面接改訂版（Autistic Diagnostic Interview-Revised: ADI-R）の日本語版を作

製し、トレーニングを受けた評価者によって確定診断をおこなっている。さらに成人の高機能症例を対象とする利点は、各種心理検査や脳画像検査などへの協力が得られることである。母子手帳から得られる発育発達の情報に加えて、各種マーカー値と、これらの検査結果との相関の有無についても検討可能である。第2段階では、第1段階で絞りこまれたマーカーについて、児童思春期の自閉症者約100名を対象に調査をおこなう。この段階ではそれぞれのマーカーの年齢依存性を調べ、さらに若年でも診断指標として機能するマーカーへと絞り込む作業をおこなう。この段階では軽度の知的障害をもつグループも加わるが、マーカーのレベルに知的水準が関与するか否かを同時に評価することになる。その結果をもとに第3段階では乳幼児患者の調査をおこない、マーカーを決定する。最終段階では、高リスク児（親、同胞に自閉症者がいる場合）と低リスク児（親、同胞とも定型発達者）から臍帯血を出生時に採取し、最終的に絞り込まれた血中分子マーカーを測定する。その後、臨床症状をビデオテープ記録などにより詳細に観察し、最終診断を行い、血中分子マーカーの診断上の有用性を吟味する。以上の計画により早期スクリーニングの可能性を証明し、将来的には他の先天性代謝性疾患と同様に、出生時診断から早期療育へとつながることを期待している。

図1. 自閉症の末梢生物学的マーカーの確立



## B.研究方法

自閉症における末梢血血清における生体分子の異常についてはこれまでもいくつかの報告がある。しかし、既報の多くは知的障害

の強い自閉症例を多く含んでおり、また年齢のばらつきも大きい点で対象の均一性が確保されていない。われわれは成人の高機能自閉症男性 17 人 (19~28 歳) と年齢を一致させた定型発達対象者 18 人 (19~27 歳) からの末梢静脈血からの血清を用いて、以下の生体分子について定量比較検討した。高機能自閉症患者は診断面接と心理学的評価をおこなった (表 1)。また、出生時からの発達については母子手帳から情報を得た。

表 1. 自閉症患者の心理学的特徴

評価尺度	mean±SD(range)
ADI-R	
Domain A score (social)	22.5±4.8(14-29)
Domain BV score (communication)	16.5±3.8(9-22)
Domain C score (stereotype)	5.3±1.8(3-10)
Domain D score (age of onset)	3.7±1.1(1-5)
Faux Pas test	23.4±8.8(3-34)
Y-BOCS (total score)	11.2±5.6(2-26)
Aggression Questionnaire	51.5±12.0(33-69)
WAIS-R (Full scale)	98.9±18.9(71-140)
ADI-R: Autistic Diagnostic Interview-Revised	
Y-BOCS: Yale-Brown Obsessive-Compulsive Scale	
WAIS-R: Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised	

## C. 研究結果

### 1. 神経発達にかかわる因子

グルタミン、グルタミン酸、グリシン、D-セリン、L-セリンの末梢血清中濃度を測定し、成人高機能自閉症では血清グルタミン酸濃度が定型発達者に比べて有意に増加していることを示した (図 1、図 2)。その増加は ADI-R の社会性スコアと正の相関を示し、4 歳時の対人的相互作用の障害が成人でのグルタミン酸濃度と相関していることが示された。しかしながら他のアミノ酸には定型発達者とのあいだに有意の差は見られなかった。成人高機能自閉症患者の血清中において、Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF)、上皮増殖因子 Epidermal Growth

Factor (EGF)、肝細胞増殖因子 Hepatocyte Growth Factor (HGF)、トランスフォーミング増殖因子 Transforming Growth Factor- $\beta$  1 (TGF- $\beta$  1) いずれの因子の濃度も定型発達者に比べて有意に減少していた (図 2)。

### 2. 免疫異常にかかわる因子

成人高機能自閉症では血清中 sVCAM-1、sPECAM-1、sL-Selectin、sP-Selectin が定型発達者に比べて有意に低下していた (図 3)。さらに sP-Selectin 値が低いほど対人的相互作用の障害が強かったことが示された。これに加え、高機能自閉症群の出生時頭囲が sP-selectin と正の相関を、sPECAM-1 とは負の相関を示した。

## D. 考察

### 1. 神経発達にかかわる因子

自閉症脳の重量は子供のときは同年代の定型発達児に比べて重い、大人になるにつれて差がなくなる。また自閉症児の出生時の頭囲は対照群に比しやや小さいか同じであるが、その後一時的に急速に大きくなる。また小脳皮質のプルキンエ細胞の減少や小脳虫部の萎縮が認められている。こういったことから、自閉症では脳の発達の異常が指摘されている。そこで脳の発達に重要な働きをしている分子に着目した。

グルタミン酸は中枢神経系において主要な興奮性神経伝達物質であるのみならず、ニューロンの増殖、分化、遊走、軸索発生やニューロンの生存において重要な役割を果たしている。自閉症の死後脳研究や遺伝子関連研究でも興奮性アミノ酸と自閉症のかかわりが示



唆されている。

ニューロトロフィンのひとつである Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) は、神経幹細胞からの分化や生存維持、神経可塑性にも重要な役割を果たしている因子である。上皮増殖因子 Epidermal Growth Factor (EGF) は発達期から成人の脳のほとんどの神経細胞や成熟アストロサイトで検出される。肝細胞増殖因子 Hepatocyte Growth Factor (HGF) もまた神経細胞の発達に重要な役割を演じており、皮質介在ニューロンの移動にもかかわる。トランスフォーミング増殖因子 Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) は発達期の神経系に発現し、中枢神経系の発達に重要な調節因子であることが分かっている。

## 2. 免疫異常にかかわる因子

自閉症の病態に免疫系の異常が関与していることを示す証拠は多い。そこで炎症関連物質として末梢のリンパ球が炎症部位に浸潤する際に必要な一連の接着因子に注目した。局所の炎症に際し、Intercellular Adhesion Molecules-1 (ICAM-1)、Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1)、Platelet-Endothelial Adhesion Molecule-1 (PECAM-1)、E-Selectin、L-Selectin、P-Selectin などの接着因子が順次共同して作用し、リンパ球は血管内皮に接着し、血管壁外の炎症部位へ移動する。その際にそれぞれの可溶性である sVCAM-1、sICAM-1、sPECAM-1、sE-Selectin、sL-Selectin、sP-Selectin を測定した。定型発達児と自閉症児の出生時から発達期の頭囲の変化での異常が指摘されている。成人での末梢血清の異常

がこの発達の異常と関連があるかについてはさらに検討が必要である。また、統合失調症では sL-Selectin は対象群に比べて有意に高く、sP-selectin は変化がみられなかった。統合失調症と自閉症のいずれにも免疫異常が関与するが、そのメカニズムは異なっていることを示しているのかもしれない。

## E. 結論

これまでに得られたデータは、高機能自閉症に末梢血血清での異常が存在することを示し、スクリーニングツールとしての有用性が示唆される。現時点でもっとも有効な自閉症の“治療”は療育的介入であり、それは早ければ早いほど効果が高い。出生時診断で得られる成果は、即座に応用可能であり、障害を持つ本人と家族、社会への貢献度が高い。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 論文発表 (欧文)

1. Sadakata T, Washida M, Iwayama Y, Shoji S, Sato Y, Ohkura T, Katoh-Semba R, Nakajima M, Sekine Y, Tanaka M, Nakamura K, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Mori N, Detera-Wadleigh SD, Ichikawa H, Itohara S, Yoshikawa T, Furuichi T. Autistic-like phenotypes in Cadps2-knockout mice and aberrant CADPS2 splicing in autistic patients. J Clin Invest. 2007 ;117:931-943.

2. Nishimura K, Nakamura K, Anitha A, Yamada K, Tsujii M, Iwayama Y, Hattori E, Toyota T, Takei N, Miyachi T, Iwata Y, Suzuki K, Matsuzaki H, Kawai M, Sekine Y, Tsuchiya K, Sugihara G, Suda S, Ouchi Y, Sugiyama T, Yoshikawa T, Mori N. Genetic analyses of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene in autism. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007 ;356:200-6.
3. Kakiuchi C, Ishiwata M, Nanko S, Kunugi H, Minabe Y, Nakamura K, Mori N, Fujii K, Yamada K, Yoshikawa T, Kato T. Association analysis of ATF4 and ATF5, genes for interacting-proteins of DISC1, in bipolar disorder. *Neurosci Lett.* 2007 in press
4. Sugihara G, Hashimoto K, Iwata Y, Nakamura K, Tsujii M, Tsuchiya KJ, Sekine Y, Suzuki K, Suda S, Matsuzaki H, Kawai M, Minabe Y, Yagi A, Takei N, Sugiyama T, Mori N. Decreased serum levels of hepatocyte growth factor in male adults with high-functioning autism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2007 ;31:412-5.
5. Okada K, Hashimoto K, Iwata Y, Nakamura K, Tsujii M, Tsuchiya KJ, Sekine Y, Suda S, Suzuki K, Sugihara GI, Matsuzaki H, Sugiyama T, Kawai M, Minabe Y, Takei N, Mori N. Decreased serum levels of transforming growth factor-beta1 in patients with autism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2007 ;31:187-90.
6. Iwata Y, Nakajima M, Yamada K, Nakamura K, Sekine Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Matsuzaki H, Suda S, Suzuki K, Takei N, Mori N, Iwayama Y, Takao H, Yoshikawa T, Riley B, Makoff A, Sham P, Chen R, Collier D. Linkage disequilibrium analysis of the CHR7A7 gene and its partially duplicated region in schizophrenia. *Neurosci Res.* 2007 ;57:194-202.
7. Iwata Y, Suzuki K, Nakamura K, Matsuzaki H, Sekine Y, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Kawai M, Minabe Y, Takei N, Mori N. Increased levels of serum soluble L-selectin in unmedicated patients with schizophrenia. *Schizophr Res.* 2007 ;89:154-60.
8. Yoshitsugu K, Yamada K, Toyota T, Aoki-Suzuki M, Minabe Y, Nakamura K, Sekine Y, Suzuki K, Takei N, Itokawa M, Mori N, Yoshikawa T. A novel scale including strabismus and 'cuspidal ear' for distinguishing schizophrenia patients from controls using minor physical anomalies. *Psychiatry Res.* 2006 ;145:249-58.
9. Suzuki K, Hashimoto K, Iwata Y,

- Nakamura K, Tsujii M, Tsuchiya K, Sekine Y, Suda S, Sugihara G, Matsuzaki H, Sugiyama T, Kawai M, Minabe Y, Takei N, Mori N. Decreased Serum Levels of Epidermal Growth Factor in Adult Subjects with High-Functioning Autism. *Biological Psychiatry*. 2006 in press
10. Hashimoto K, Iwata Y, Nakamura K, Tsujii M, Tsuchiya KJ, Sekine Y, Suzuki K, Minabe Y, Takei N, Iyo M, Mori N. Reduced serum levels of brain-derived neurotrophic factor in adult male patients with autism. *Prog Neuro-Psychoph*. 2006 in press.
11. Shinohe A, Hashimoto K, Nakamura K, Tsujii M, Iwata Y, Tsuchiya K, Sekine Y, Takai Y, Suzuki K, Sugihara G, Minabe Y, Ouchi Y, Sugiyama T, Iyo M, Takei N, Mori N. Increased serum levels of glutamate in adult patients with autism *Prog Neuro-psychoph*. 2006 in press
12. Nakamura K, Chen C-K, Sekine Y, Iwata Y, Anitha A, Loh E-W, Takei N, Suzuki A, Kawai M, Takebyashi K, Suzuki K, Minabe Y, Tsuchiya K, Yamada K, Iyo M, Ozaki N, Inada T, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Ball D, Yoshikawa T, Shih-Ku Lin S-K, Mori N. Association Analysis of SOD2 Variants with Methamphetamine Psychosis in Japanese and Taiwanese Populations *Hum Genet*,2006 ;120:243-52.
13. Suzuki A, Nakamura K, Sekine Y, Minabe Y, Takei N, Suzuki K, Iwata Y, Kawai M, Takebayashi K, Iyo M, Ozaki N, Inada T, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Mori N. An association study between COMT gene polymorphism and methamphetamine psychotic disorder *Pschiat Genet*,2006 ;16:133-8.
14. Sekine Y, Ouchi Y, Takei N, Yoshikawa E, Okada H, Minabe Y, Nakamura K, Suzuki K, Iwata Y, Tsuchiya K, Sugihara G, Nori M. Perospiron is a new generation antipsychotic: evidence from a PET study of 5-HT<sub>2</sub> and D<sub>2</sub> receptor occupancy in the living human brain *J Clin Psychiat* ;63:90-100, 2006
15. Nakamura K, Suzuki K, McCreary AC, Ashby CRJr. The acute and chronic administration of (7)-8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin significantly alters the activity of spontaneously active midbrain dopamine neurons in rats: An in vivo electrophysiological study *Synapse* 59:359-367, 2006
16. Shimizu H, Iwayama Y, Yamada K, Toyota T, Minabe Y, Nakamura K, Nakajima M, Hattori E, Mori N, Osumi N, Yoshikawa T. Genetic and expression analyses of the STOP

(MAP6) gene in schizophrenia  
Schizophr Res 84:244-252, 2006

17. Sekine Y, Ouchi Y, Takei N, Yoshikawa E,  
Nakamura K, Futatsubashi M, Okada H,  
Minabe Y, Suzuki K, Iwata Y, Tsuchiya K,  
Tsukada H, Iyo M, Mori N,  
Reduced Brain Serotonin Transporters  
Associated With Elevated Aggression in  
Abstinent Methamphetamine Abusers  
Arch Gen Psychiat 63: 90-100,2006

18. Nakamura K, Yamada K,  
Iwayama-Shigeno Y, Toyota T, Furukawa A,  
Takimoto T, Terayama H, Iwahashi K, Takei  
N, Minabe Y, Sekine Y, Suzuki K, Iwata Y,  
Pillai A, Nakamoto Y, Ikeda K, Yoshii M,  
Fukunishi I, Yoshikawa T, Mori N.  
Evidence that variation in the peripheral  
benzodiazepine receptor (PBR) gene  
influences susceptibility to panic disorder.  
Am J Med Genet B 141:222-226, 2006

19. Arai M, Yamada K, Toyota T, Obata N,  
Haga S, Yoshida Y, Nakamura K, Minabe Y,  
Ujike H, Sora I, Ikeda K, Mori N, Yoshikawa  
T, Itokawa M  
Association between polymorphisms in the  
promoter region of the sialyltransferase 8B  
(SIAT8B) gene and schizophrenia  
Biol Psychiat 59:652-659, 2006

#### 学会発表（海外）

1. Nakamura K, Anitha A , Yamada K,  
Iwayama Y, Hattori E, Tsujii M, Sekine Y,

Tsuchiya K, et al. Genetic and expression  
analyses of Syntaxin 1A (STX1A) in Autism.  
17th World Congress of the International  
Association for Child and Adolescent  
Psychiatry and Allied Professions,  
Melbourne, September 2006

2. Nakamura K, Anitha A , Yamada K,  
Iwayama Y, Hattori E, Tsujii M, Sekine Y,  
Tsuchiya K, Minabe Y, Takei N, Yoshikawa  
T, Mori N  
Genetic and expression analyses of Syntaxin  
1A (STX1A) in Autism  
4th Congress of Asian Society for Child and  
Adolescent Psychiatry and Allied  
Professions (ASCAPAP), Manila, June, 2006

#### H.知的財産権の出願・登録状況

出願番号：特願2006-204155号

発明の名称：「自閉症の診断薬」

出願人：国立大学法人 浜松医科大学

発明者：森 則夫、岩田泰秀、中村和彦、杉原  
玄一、橋本謙二、辻井正次

出願日：平成18年7月27日

図2.高機能自閉症と神経発達にかかわる因子

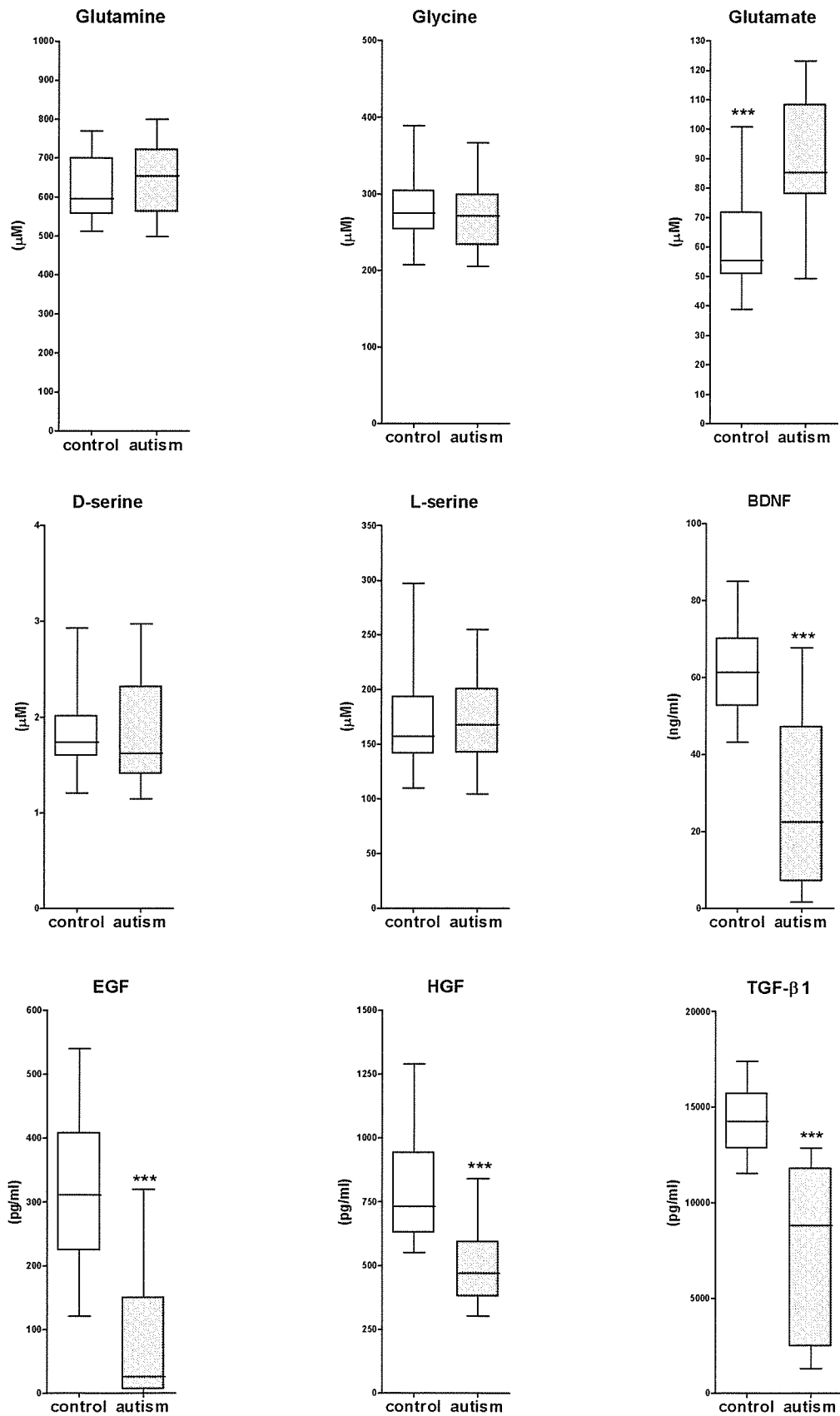
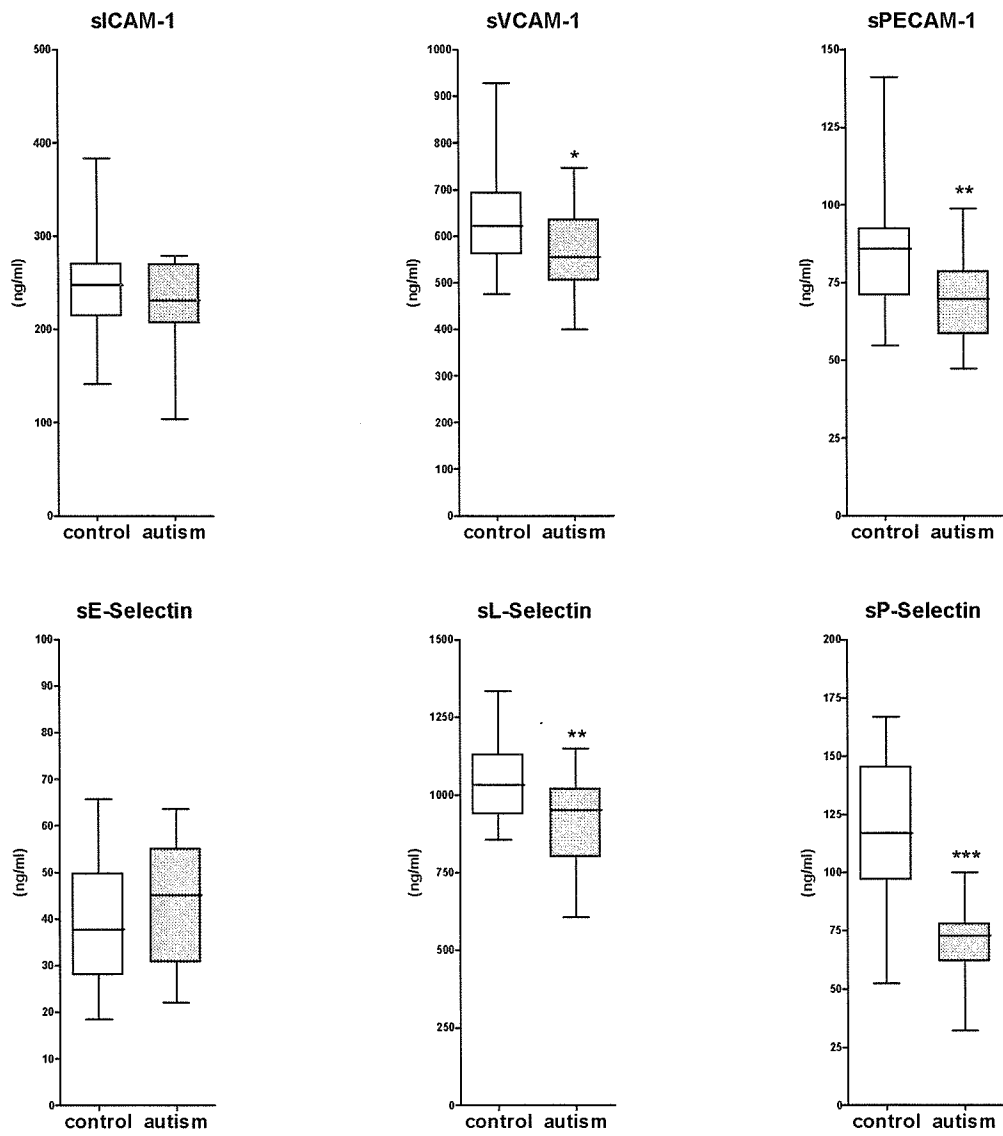


図3.高機能自閉症と免疫異常にかかわる因子



厚生労働科学研究研究費補助金（こころの健康科学研究事業）  
分担研究報告書

高機能自閉症スペクトラム障害と両親の年齢に関する epigenetic 研究  
—母子手帳を用いて—

分担研究者 武井 教使 浜松医科大学  
子どものこころの発達研究センター 教授  
辻井 正次 中京大学現代社会学部 教授  
土屋 賢治 浜松医科大学  
子どものこころの発達研究センター

## 研究要旨

出生時の父親の年齢が高いと発症のリスクが高まる疾患があり、自閉症もその一つである可能性が指摘されている。そこで、高機能自閉症スペクトラム障害（HFASD）罹患者および定型発達者の両親、特に父親の年齢に関するケースコントロール研究を行った。84名のHFASD罹患者および217名の定型発達者から、母子手帳を収集し、一部に面接を行った。その結果、出生時の父親の年齢が高いほど、その子どものHFASD発症リスクが高いことが明らかになった。この統計学的関連は、出生時の母親の年齢、対象者本人の年齢、性別、同胞順位を統制しても変わらなかった。また、父親の年齢と家族歴（家系における自閉症スペクトラム）には関連がみられなかった。以上から、出生時の父親が高年齢であることは、その子どもがHFASDを発症する危険因子となることが示された。これは既知のバイアスによっても説明されなかった。父親の年齢とHFASDの関連は胚細胞系列における突然変異の起こりやすさによって説明される可能性があり、epigeneticな観点から重要な知見であると考えられた。

### A.研究目的

近年、自閉症の発症の危険因子として、父親の高年齢が指摘されている（Lauritsen et al., 2005; Reichenberg et al., 2006; Croen et al., 2007）。これらの研究は、大規模レジスタを用いた疫学研究であり、そのいずれも一致して出生時の父親の年齢が高いほど自閉症発症のリスクが高いことを示している。結

果の解釈として、父親の年齢が高くなることにより胚細胞における de novo mutation の出現確率が高まることに起因することが推測されており、epigeneticな所見として注目されている。

ところが、これらの研究には方法論的問題があり、知見として確立していない。その理由は以下の通りである。①子どもの出生時の

年齢は結婚年齢とも関連する。結婚年齢は文化・社会的な影響を大きく受けるはずであるが、先行研究の行われた欧米圏(デンマーク、スウェーデン、イスラエル、米国)以外の文化圏からの報告がない。②自閉症が末子に多いという報告がある(Lord et al., 1991; Piven et al., 1993)。もし、自閉症が末子に多ければ、出生時の父親の年齢が自閉症で高いのは出生順位による交絡で説明されるはずである。しかし、先行研究の多くは同胞順位の統制を欠いているため、結果が交絡を反映しているか否かを判断できない。③自閉症と診断される小児のうち、およそ4分の3は精神遅滞(総IQ<75)を合併する(Fombonne 1999)。IQと出生時の父親の年齢および母親の年齢との間には、逆U字型の関連が指摘されている(Malaspina et al., 2005)。ところが、先行研究において自閉症と同定された症例に、IQの記載、もしくは精神遅滞の有無に関する記載はない。したがって、父親の年齢と自閉症発症リスクとの関連は見かけ上のものかも知れず、実際には自閉症に合併する精神遅滞によって説明されるかもしれない。

以上の問題点を解消しなければ、胚細胞における de novo mutation 仮説の検討に入ることができない。そこでわれわれは、先行研究の方法論上の問題点を克服した上で、父親の年齢とその子どもにおける自閉症リスクとの関連の有無を確認することを目指した。

## B.研究方法

疫学的ケース・コントロール研究を行った。

特定非営利法人、アスペ・エルデの会(名古屋市)の支援のもと、広汎性発達障害の臨床診断を有する97名、および精神障害を有し

ない定型発達者234名から研究参加への同意を得た。以下の条件を満たすものは、研究対象者から除外した。すなわち、①知的障害がある、②てんかん、熱性けいれん、その他神経疾患の診断の既往がある、③双胎、多胎出産である。

同意を得た者のうち、上記の条件を満たさない広汎性発達障害罹患患者84名(自閉症75名、アスペルガー症候群5名、特定不能の広汎性発達障害4名)を「高機能自閉症スペクトラム群【HFASD】」、定型発達者217名を「定型発達群【TD】」として、調査対象者とした。

HFASD群84名は男性70名(女性14名)から構成され、平均年齢 $16.2 \pm 5.9$ 歳であった。一方TD群217名は男性111名(女性106名)から構成され、平均年齢 $22.2 \pm 5.8$ 歳であった。

診断は、広汎性発達障害の診断に十分な経験を有する分担研究者、研究協力者が2名以上で行い、DSM-IVを用いて確定した。84名中36名については臨床診断に疑義が生じたため、自閉症診断インタビュー改訂版(ADI-R: Lord, Rutter, Le Couteur (1994))を診断確定目的で施行し、前記診断を確定した。また、全対象者から母子手帳を入手した。

収集した情報は以下の通りである。

- ① 母子手帳から 両親の生年月日と年齢、同胞順位。
- ② 面接から ADI-Rによる診断確定のための養育者の面接、および家族歴の有無を確認するための養育者の面接(HFASD群のみ)。ここでの家族歴とは、Piven et al (1997)の方法によって収集された、親族における「微小変化型(Lesser variant)」、すなわ



ち診断に至らないが広汎性発達障害の3徴のうち、症状とみなされない程度の1～2領域における自閉症スペクトラムを指す。

解析には Stata Special Edition version 8.2 を用いた。平均値の群間比較については、分散を仮定しない t 検定 (Welch の自由度補正つき) を行った。出現頻度の群間比較では  $\chi^2$  検定を用いた。次いで、ロジスティック回帰を用い、両親の年齢を連続変数または3分位に基づく離散変数として解析した。ここではまず、父親の年齢、母親の年齢を別個に、対象者の年齢と性別のみを投入したモデル (モデル1) で解析し、ついで同胞順位を投入したモデル (モデル2) を作り、最後にもう一方の両親の年齢を投入した (モデル3)。これらのプロセスを通じ、HFASD 群に分類されるリスク (すなわち高機能広汎性発達障害をもつリスク) をオッズ比 (以下 OR) および 95% 信頼区間 (95% CI) によって示した。なお、父親の年齢の解析に当たっては、TD 群において父親の年齢の情報のない9名をTD 群から除外して解析した。この9名は、他の TD 群の対象者と比較して年齢が高い傾向にあったが、性別、母親の年齢、同胞順位の頻度に有意な差は見られなかった。

[倫理面への配慮]

対象者本人より、また18歳以下の対象者においては事前に書面にてインフォームドコンセントを得た。本研究では個人情報管理に十分な配慮が必要と考えられたため、原票から氏名を抹消した。原票、電子データいずれにも、当該研究者以外がアクセスできないよう、情報セキュリティに十分な注意を払った。

C. 研究結果

1. 両親の年齢：単純群間比較

結果では、TD 群に比較して、HFASD 群の父親の年齢の平均値が有意に高かった ( $t=2.04$ ,  $df=161.6$ ,  $p=0.04$ )。母親の年齢には統計学的に有意な差は見られなかった (表1)。

表1. 対象者出生時の両親の年齢

	HFASD	TD
対象者数	84	217 *
父親の年齢 (sd & range)	31.9 ± 4.1歳 (24 - 45)	30.8 ± 4.3歳 * (22 - 52)
母親の年齢 (sd & range)	28.3 ± 3.4歳 (21 - 36)	28.3 ± 3.8歳 (19 - 39)

\* : うち9名において、父親の年齢の情報が欠損していた。

2. 同胞順位：単純群間比較

結果 (表2) では、TD 群に比較して、HFASD 群に第1子が有意に多かった ( $\chi^2=16.0$ ,  $df=1$ ,  $p<0.001$ )。

表2. 第1子として出生した対象者数とその割合

	HFASD	TD
対象者数	84	217 *
第1子	61 (73%)	102 (47%)

\* : うち9名において、父親の年齢の情報が欠損していた。

3. 両親の年齢：連続変数として扱った場合

結果 (表3) では、モデル3、すなわち対象者の年齢、性別、同胞順位、および出生時

の母親の年齢を統制したモデルにおいて、出生時の父親の年齢が1歳上がるごとにHFASD群に分類されるリスクが1.10倍上昇することが示された。これは、また、父親の年齢が10歳上がれば、 $(1.10)^{10}=2.54$ 倍リスクが上昇することを意味している。また、両親の年齢を連続変数として扱う解析において統計学的に有意な関連が得られたことから、両親の年齢とHFASDとの関連は直線的であることが示唆された。

表3. 父親、母親の年齢(連続変数)とHFASDの関連：ロジスティック回帰解析、ORと95%CI

	モデル1 **	モデル2 ***	モデル3 ****
父親の年齢*	1.03 (0.96-1.10)	1.06 (0.99-1.14)	1.10 (1.00-1.21)
母親の年齢	0.96 (0.88-1.05)	1.00 (0.91-1.09)	0.93 (0.83-1.05)

\*：TD群のうち9名において、父親の年齢の情報が欠損していたため、解析から除外した。

\*\*：対象者の年齢、性別のみを投入したモデル。

\*\*\*：モデル1に対象者の同胞順位を投入したモデル。

\*\*\*\*：モデル2にもう一方の両親の年齢を投入したモデル。

4. 両親の年齢：離散変数として扱った場合  
結果(表4)では、連続変数の解析と同様、出生時の父親の年齢が高いほどHFASDのリスクが高いことが分かった。すなわち、対象者の出生時に父親が33歳以上であると、28歳以下である場合に比べて約3倍HFASDと診断されるリスクが高いことが明らかになった。また、前節の結果と同様に、母親の年齢との関連はみられなかった。

表4. 父親、母親の年齢とHFASDの関連：ロジスティック回帰解析、ORと95%CI

	モデル1 **	モデル2 ***	モデル3 ****
父親の年齢*			
28歳以下	1 (referent)		
29-32歳	1.50 (0.72-3.09)	1.73 (0.82-3.66)	2.28 (1.02-5.11)
33歳以上	1.32 (0.61-2.87)	1.87 (0.82-4.24)	3.09 (1.17-8.16)
母親の年齢			
27歳以下	1 (referent)		
28-30歳	0.60 (0.28-1.30)	0.74 (0.33-1.64)	0.52 (0.21-1.25)
31歳以上	0.51 (0.22-1.15)	0.68 (0.29-1.62)	0.38 (0.14-1.06)

\*：TD群のうち9名において、父親の年齢の情報が欠損していたため、解析から除外した。

\*\*：対象者の年齢、性別のみを投入したモデル。

\*\*\*：モデル1に対象者の同胞順位を投入したモデル。

\*\*\*\*：モデル2にもう一方の両親の年齢を投入したモデル。

#### 5. 家族歴に関する解析

HFASD群84名について、広汎性発達障害の特徴(Lesser variant、前述)が家族歴にみとめられる10名とそうでない74名について表5のように比較した。

家族歴のあるHFASD群と家族歴のないHFASD群の父親の年齢の平均値には、統計学的に有意な差が見られなかった(p=0.47、表5参照)。

表5. 家族歴の有無と父親の年齢

	家族歴+	家族歴-
対象者数	10	74
父親の年齢	32.0±4.3歳	31.7±3.3歳

#### D. 考察

近年、出生時の両親の年齢と自閉症または自閉症スペクトラム障害の関連について、複数の大規模な研究が行われている。そのうち、3つの研究は出生時の父親が高年齢であることと自閉症のリスクに関連があるとしているが (Lauritsen et al., 2005; Reichenberg et al., 2006; Croen et al., 2007)、類似の4つの研究は関連がないことを示しており (Eaton et al., 2001; Hultman et al., 2002; Glasson et al., 2004; Larsson et al., 2005)、今回の研究は前者に与するものである。一方、出生時の母親が高年齢であることと自閉症のリスクに関連があるとした研究も3つあり、他の4つはこれを否定している。このうち、父親・母親の高年齢がいずれも自閉症の発症リスクに関連しているとした Croen ら (2007) は、「母親の高年齢の関連は、実際には父親の高年齢に影響を受けたアーチファクトであり、見かけのものである」と結論付けている。また、自閉症診断がより洗練されてきた近年の報告になるほど、父親の高年齢に関連があり、母親の高年齢に関連がない傾向にある。これら知見と、今回の報告をあわせると、両親の高年齢と自閉症発症リスクの関連においてより重要と考えられるのは父親の高年齢であることが推測される。

子どもの出生とそのときの両親の年齢との

関連には、多数の因子の関与が想定される。中でも、同胞順位は特に重要な因子と考えられる。従来の研究の中には、自閉症は末子に多いという研究があり、もしそうであれば父親の年齢が高いことはこの事実で説明される。しかし、今回の研究ではむしろ逆、すなわち HFASD 群で第1子が多くみられた。また、同胞順位の交絡を取り除いたロジスティック回帰分析においても関連が残った。このことから、3つの先行研究で示唆された父親の年齢と自閉症との関連は、同胞順位による交絡ではない可能性が高いと考えられる。

出生時の両親の年齢と関連する他の因子として、社会・文化的因子、人種の違いを考える必要もある。例えば、今回の TD 群における出生時の父親の年齢は 30.8 歳であった一方、Glasson ら (2004) のオーストラリアにおける研究の TD 群では 30.3 歳、Croen ら (2007) の米国における研究の TD 群では 31.5 歳と、大きく異なっている。この違いには各国の文化的背景の違い、人種の違いが反映されているばかりでなく、それぞれの対象者の社会・経済階層の構成の違いなども反映されていると考えられる。したがって、欧米の研究をそのままわれわれの知見として取り入れるのは、たとえ大規模な研究であっても困難がある。今回の研究では、対象者は全員日本人であり、結婚や出産などの社会活動に関して先行研究を送り出している欧米諸国とかなり異なる考え方をもっていることが想定される。それにもかかわらず、今回の結果は父親の高年齢が人種差・文化差を考慮に入れても残っていることを示唆しており、何らかの生物学的な因果関係が背後にあることを疑わせる。

なお、父親になった年齢が高いということ

は、例えば父親に自閉症スペクトラムの遺伝負因があり、その行動的特性によって結婚が遅れたという可能性もある。この可能性は最近の先行研究の中でも論じられてきたが、解析をされたことがなかった。今回、Pivenら（1997）の方法に則り、家族内の自閉症スペクトラムの負因の有無があることを調査した。10名の家族歴のあるHFASD群の平均の出生時父親の年齢は、残る74名と変わらないという結果が得られた。この結果は、残念ながら、TD群からこの情報を集めることはできなかったため、十分な情報として解釈することができない。しかし、両群で同胞順位の差や年齢、性別に差がみられなかったことは、出生時の父親の高年齢とHFASDが、家系内の遺伝負因によって説明される可能性が低いことを示唆している。

最近、父親の高年齢と子どもの精神遅滞のリスクに関連があることが報告された（Malaspina et al., 2005）。父親の高年齢と子どもの自閉症のリスクの関連を示唆した3つの研究では、精神遅滞を合併した自閉症と合併しない自閉症を区別しないで解析を行っている。精神遅滞の合併の有無を考慮しない自閉症患者のサンプルは、それが自閉症患者の代表的なサンプルであれば少なくとも50%に精神遅滞が合併することになる（Fombonne 1999, 2003）。われわれは、今回の研究で、精神遅滞を合併する研究対象の候補者をすべて除外し解析を行い、先行研究と同様の結果を得た。したがって、先行研究における父親の高年齢と子どもの自閉症の関連は、父親の高年齢と自閉症に合併した精神遅滞との関連を反映するものではなく、自閉症（スペクトラム）の本態をあらわしている

ものと考えられる。

なお、本研究は、大規模な先行研究と比較して対象者数が少なく、結果の単純な比較ができない。しかしながら、先行研究の対象者抽出はすべてレジスタ（医療・福祉・社会統計）によるものであり、診断の確かさ（信頼性、妥当性）に一貫性を期待しにくい。さらに、先行研究では診断面接をしていないため、合併する精神疾患（精神遅滞を含む）が見つかりにくい。翻って今回の研究は、たとえサンプル数が小さくともこの研究の結果は、先行研究の正しさを支持する大きな意義があるとともに、この結果をepigeneticな見地からどのように解釈するかという問題をわれわれに投げかけている。実際、Reichenbergら（2006）の指摘するように、男性は一般に年齢を減るほど、その胚細胞の系列において突然変異を生じやすくなることが知られている。また、imprintingなどの現象が関与している可能性もあるため、今後さらなる研究が必要と考えられる。

#### E. 結論

出生時における父親の高年齢は、その子どもの自閉症スペクトラム障害発生リスクを高めることが分かった。これは、既知の交絡因子や第三の因子によっても説明されなかった。今回の結果をepigeneticな見地からさらに掘り下げることが必要であると示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文発表（欧文）