

ル化状態であった。また、自閉症におけるメチル化状態の差は認められなかった。ゲノム刷り込みを示唆する領域は同定できなかったが、4遺伝子はメチル化状態に個体差が認められた。また、2 遺伝子は自閉症検体におけるメチル化の増加が示唆された。

D. 考察

HOXA1 遺伝子のヒスチジン長多型の検討

HOXA1 ポリヒスチジン伸長多型による核内凝集体形成と細胞死の促進は細胞質分解系オートファジーにより制御される。また、伸長多型では PBX1 結合転写活性が低下し、神経分化の抑制が見られた。これらはヒスチジン長伸長多型が HOXA1 遺伝子機能の欠損した多型であることを示す。今後、マウスモデルの作製することにより、個体に対する機能解析を行う必要がある。また、他 HOX 遺伝子に見られたポリアラニン長多型についても同様の解析を行っている。

レット症候群の検討

MECP2 遺伝子のアレル特異的な発現解析では、MBD 内に変異を有する検体の 8 割で変異 MECP2 アレルの発現が消失していた。これは X 賦活化の影響も考えられるが、今回と同一検体で検討されたアンドロジェン受容体の解析からは否定的である。むしろ Mecp2^{308/Y} マウス由来神経の初代培養や患者由来 T リンパ球のクローン化などの研究結果から示されるように、MBD 内の変異により細胞増殖が抑制されると考えられた。そのために、MBD 内に変異を有する検体では DLX5 遺伝子の刷り込み異常の検討が困難であった。一方、TRD 内に変異を有する検体では変異 MECP2 アレルの発現が強いほど DLX5 遺伝子の刷り込みに異常が生じる傾向が認められた。この結果は、TRD 内ではなく MBD 内の変異により DLX5 遺伝子の刷り込み異常が生じ

るとした既報告とは異なっていた。これは、培養条件の違いによって生じた可能性があり、今後リンパ球などの直接の患者検体などの検討も必要と考えられた。DLX5 遺伝子そのものの刷り込み異常を今後自閉症でも解析する意義があると考えられた。

メチル化の検討

今後さらに解析遺伝子、解析検体を増やし、DNA のメチル化状態が個体間、正常および自閉症の群間で差が認められる遺伝子が見つるか同定されている。また、DNA メチル化と遺伝子発現量に相関があるかどうかをリアルタイム PCR により明らかにする予定である。

E. 結論

HOXA1 遺伝子のヒスチジンリピートの多型は自閉症の原因にはならなかったが、神経細胞の分化異常を呈するなど興味深い影響をもたらした。レット症候群での DLX5 遺伝子解析は MECP2 の TRD 内の異常により刷り込み異常を呈する可能性が示された。さらに DNA メチル化の差がある自閉症検体が同定されつつあり、今後自閉症に関連するメチル化異常を解析する方針である。

G. 研究発表

1. 論文発表

Paraguison RC, Higaki K, Yamamoto K, Matsumoto H, Sasaki T, Kato N, Nanba E. Enhanced autophagic cell death in expanded polyhistidine variants of HOXA1 reduces PBX1-coupled transcriptional activity and inhibits neuronal differentiation. J Neurosci Res. 85:479-87,2007

Noriko Itaba-Matsumoto, Shinji Maegawa, Hidehisa Yamagata, Ikuko Kondo, Mitsuo

Oshimura, Eiji Nanba. Imprinting status of paternally imprinted *DLX5* gene in Japanese patients with Rett syndrome. *Brain Dev.* in press

2. 学会発表

大塚普、前川真治、板場則子、押村光雄、難波栄二 自閉症候補遺伝子近傍に存在する CpG アイランドメチル化状況の解析 第51回 日本人類異伝学会(米子)2006年10月17日～20日

Paraguison Rubigilda、檜垣克美、坂本裕美子、山本謙司、松本英夫、佐々木司、加藤進昌、難波栄二 HOXA1 遺伝子ポリヒスチジン多型と核内凝集体形成 第51回日本人類異伝学会(米子)2006年10月17日～20日

松本(板場)則子、前川真治、山縣英久、近藤郁子、押村光雄、難波栄二:レット症候群における *DLX5* 遺伝子の刷り込み異常の検討、第29回日本小児遺伝学会学術集会(鳥取)2006年10月21日

図 1

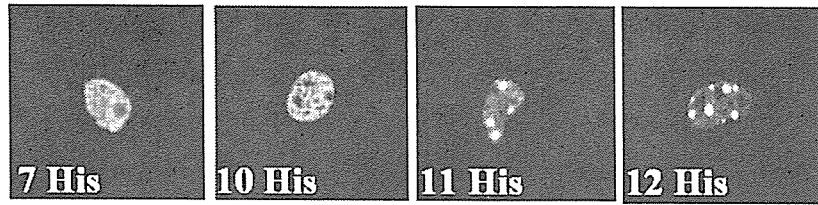


図 2

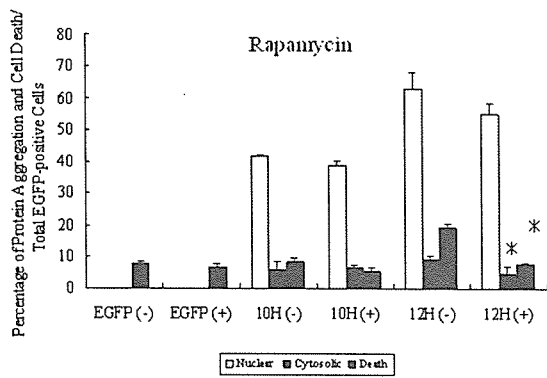


図 3

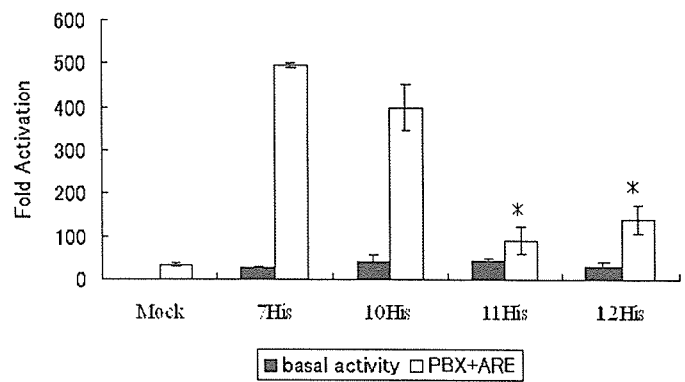
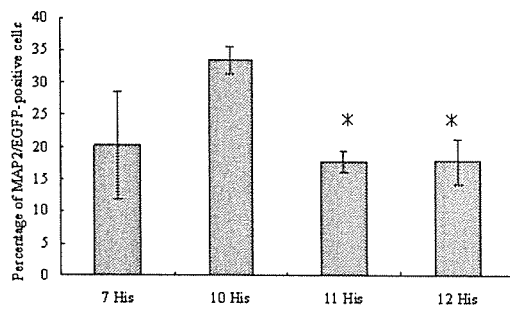


図 4



広汎性発達障害・ADHD の原因究明と効果的発達支援・治療法の開発 —分子遺伝・脳画像を中心とするアプローチ

分担研究者 松本 英夫 東海大学医学部精神科学部門 助教授
研究協力者 猪俣 誠司 東海大学医学部精神科学 医師/大学院生

はじめに

音などによる突然の強い感覚刺激の提示はヒト、ラットおよびマウスに驚愕反応を引き起こすことが知られている。しかしこの突然の強い感覚刺激によって引き起こされる驚愕反応が、刺激を与える直前に、それ自身では驚愕反応を引き起こさない程度の弱いプレパルス刺激 (prepulse) をあらかじめ負荷することにより低下する現象が確認されており prepulse inhibition (PPI) と呼ばれている (Hoffman & Ison, 1980)。この PPI はほとんどの健常者、正常なラットおよびマウスで認められる原始的な反応だが、統合失調症、強迫性障害、トウレット障害などで減弱する報告がされており、数少ない生理学的な異常を示す反応として繰り返し報告されている (Braff ら, 2001)。PPI の異常は、脳内情報処理回路の障害を反映すると考えられ、近年、統合失調症の動物モデルの評価法としても使用されるようになった。

自閉症と PPI に関しては McAlonan ら (2002) がアスペルガー障害で PPI が減弱し、前頭一線条体と小脳の灰白質量の有意な減少が認められることを報告しているのみである。そこで今回は自閉症者の知覚運動関門 (sensorimotor gating) に関する研究の一環として、日本人の高機能広汎性発達障害の患者を対象に眼輪筋反射にて PPI を健常者と比較する。

また、聴覚刺激に対する脳内の活性部位と PPI を fMRI を施行し比較する。これにより自閉症における原始的神経回路の働きを評価できると考える。

対象および方法 今回の対象は右利きで WAIS-R で TIQ=80 以上の高機能自閉症、およびアスペルガー障害者 7 人。年齢、性別、学歴、をマッチさせた精神医学的な障害の存在や既往のない右利きの健常者 9 名とした。本研究は東海大学医学部倫理委員会の承認を得ており、研究への参加の同意は文書にて取得した。

実験は以下の 2 段階で行った。

第 1 段階：ヘッドホンより聴覚刺激を提示し、驚愕反応を計測するために瞬目反射 (blink reflex: BR) と交感神経皮膚反応 (galvanic skin response: GSR) を使用する。
第 2 段階：MRI 装置内に横たわった被験者に、ヘッドホンより聴覚刺激を提示する。聴覚刺激に対する反応の確認として GSR を

使用する。MRI は東海大学附属病院 MRI センターの 1.5T Philips 社製 MRI 装置を使用する。

第 1 段階

①聴覚刺激は図 1 のように pulse: 100 dB、2000Hz、40msec prepulse: 70 dB、2000Hz、20msec の音を増幅器を介して、MRI 室で使用できるヘッドホンから提示した。prepulse と pulse の間隔は 30msec、60msec、120msec、240msec とする。聴覚刺激の間隔は 15 秒～60 秒間でランダムに提示する。
②瞬目反射 (blink reflex: BR) は左眼輪筋に電極を装着し筋電図を測定する。

③交感神経皮膚反応 (galvanic skin response: GSR) は左手第三指に装着する。

第2段階

標準脳に写像するために、まず全脳をT1強調画像で3mmスライスで撮像し、続いてevent-related functional MRI (fMRI) を施行した。撮像条件は小脳テントに平行に、スライス厚4mm, gap 1.7mm, 16 slices, FFE, single shot EPI, TR 3000 msec, TE 50 msec, flip angle 90°, FOV 230, Matrix size 64 x 64, 88回測定した。聴覚刺激はpulse, prepulse-pulse, pulse, prepulse-pulseの順で3、23、43、65スライス目にそれぞれ提示した。prepulse-pulseの間隔は120msで行った。fMRIで得られたデータについては3次元画像解析 (statistic parametric mapping: SPM) を用いて標準脳図譜上への写像による解剖学的標準化と各座標ごとの統計学的検討を施した。

結果

fMRI 施行時に聴覚刺激に対する反応をGSRで確認できなかった高機能自閉症者2名、健常者1名は対象から除外した。図2で示したように健常者ではprepulse-pulse間隔60msecからPPIを明確に認めたものの、自閉症では減弱する傾向にあった。

fMRIにおける統計学的解析では健常者、自閉症においてPPIは確認できなかった。しかし、健常者群では聴覚刺激に対する賦活部位が帯上回後部、上側頭回を含む後頭部に集中したが、自閉症群では賦活部位が前頭部に集中する傾向が示唆された (図3a, b)。

考察

高機能自閉症ではPPIの減弱が認められる可能性があることと、自閉症では単音の聴覚刺激に対する反応が健常者とことなる可能性があること、およびそれは自閉症者がSocial brain function (Baron Cohenら、2000)のみならず、ラットなどの哺乳類にまで共通する原始的神経回路に障害を持つことを示唆すると考える。今後、対象例を増やしながら検討していきたい。

参考文献

Braff, D.L., Geyer, M.A. & Swerdlow, N.R.: Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. *Psychopharmacology* (2001) 156; 234-258.

Hoffman, H.S., & Ison, J.R.: Reflex modification in the domain of startle. 1: Some empirical findings and their implications for how the nervous system processes sensory input. *Psycho. Rev.* (1980) 2; 175-189.

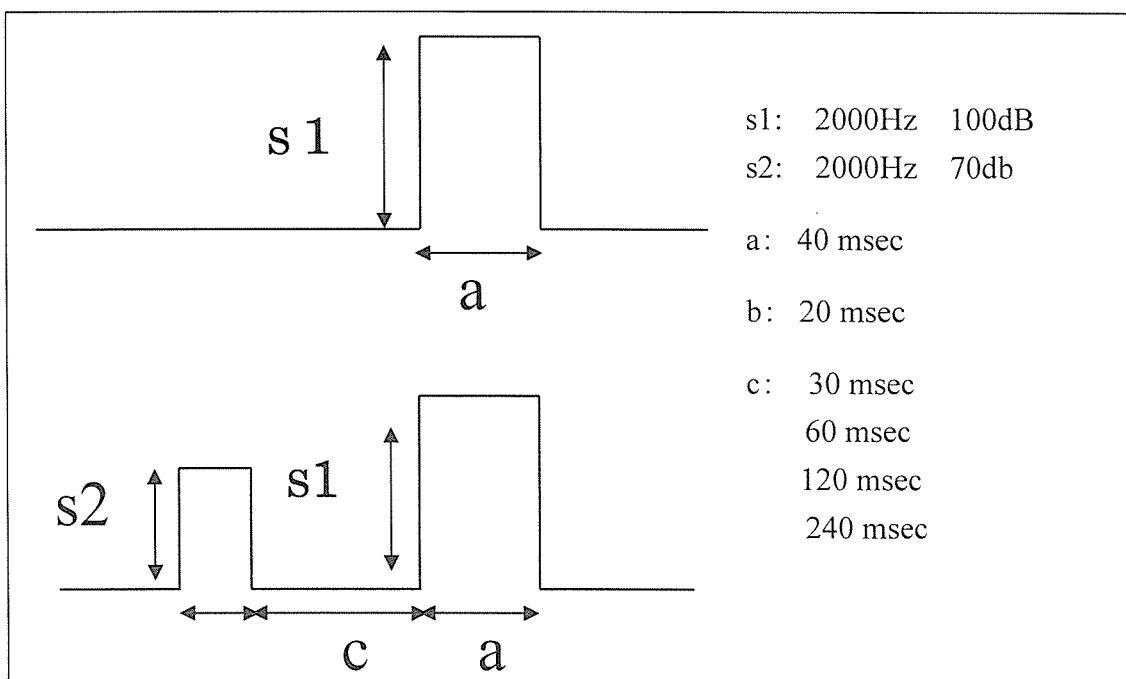
McAlonan, G.M., Daly, E., Kumari V., et al.: Brain anatomy and sensorimotor gating in Asperger's syndrome. *Brain* (2002) 125; 1594-1606.

Hugo D. Crischley, Eileen M. Daly., et al.: The functional neuroanatomy of social behavior changes in cerebral blood flow when people with autistic disorder process facial expressions, *BRAIN* 123: 2203-2212, 2000.

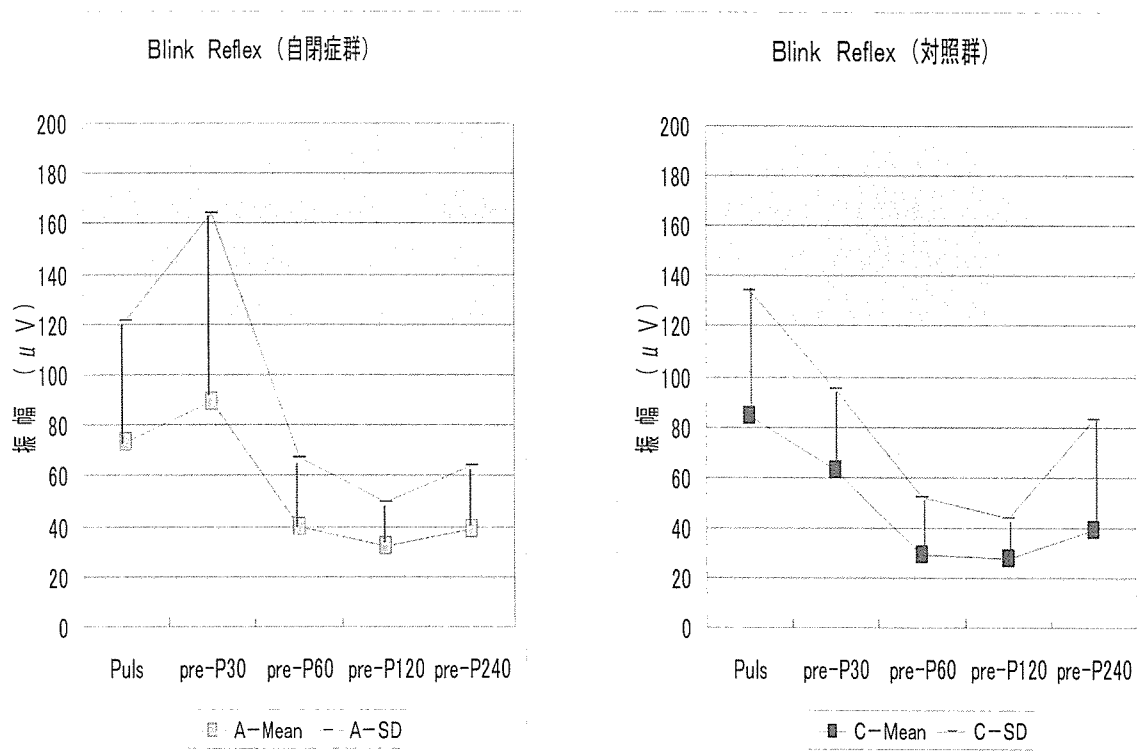
Kumari, et al.: Structural brain correlates of PPI of the acoustic startle response in healthy humans, *NEUROIMAGE* 26: 1052-1058, 2005

Ring HA, Baron-Cohen.: Cerebral correlates of preserved cognitive skills in Autism, *Brain* 122: 1305-1315, 1999

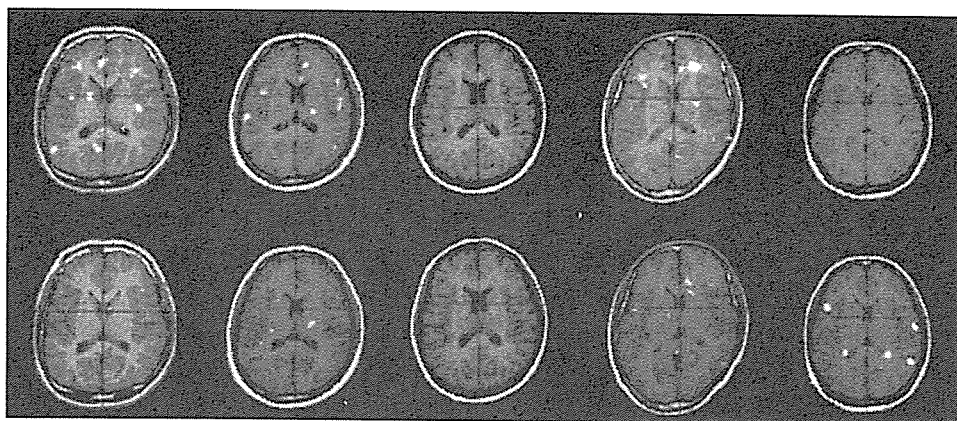
Baron Cohen, Ring HA.: The amygdale theory of autism, *Neurosci Biobehav Rev* 24(3):355-64, 2000



(図1) ヘッドフォンにて検者に提示した聴覚刺激。

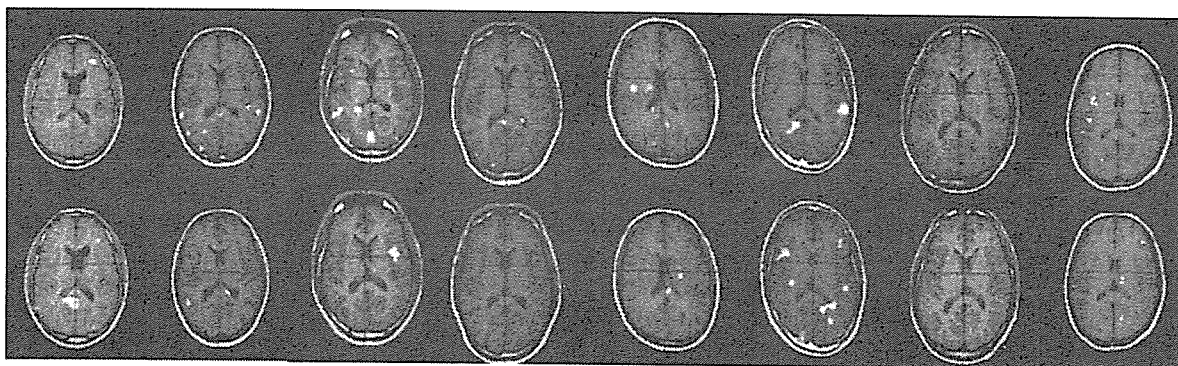


(図2) 眼輪筋反射によるPPI反応。健常対照群(右図)では prepulse-pulse 間隔 60msec から PPI が明らかだったのに対し、自閉症群(左図)では prepulse-pulse 間隔 60msec では PPI が明らかでは無く ($p < 0.005$)、PPI が減弱する傾向が示された。



(図 3a)

上段は single pulse, 下段は prepulse-pulse での自閉症群の fMRI 画像。統計解析上 PPI は明らかで無かった。自閉症群では聴覚刺激に対する賦活が前頭部におきる傾向が示唆された。



(図 3b)

上段は single pulse, 下段は prepulse-pulse での健常対照群の fMRI 画像。自閉症群同様に統計学上 PPI は明らかで無かった。健常対照群では聴覚刺激に対する賦活が後頭部におきる傾向が示唆された。

広汎性発達障害、注意欠陥多動性障害に対する遺伝子解析研究

分担研究者 山本 賢司 北里大学医学部精神科学 講師

研究要旨；

広汎性発達障害や注意欠陥多動性障害は多因子遺伝性疾患であり、その原因候補遺伝子（群）の同定は、障害の原因や病態を明らかにしていく上で重要である。今回、われわれは本研究に対する同意の得られた自閉性障害患者およびその家族（n=104 trios）の DNA サンプルを用い、自閉症の原因候補領域である 2q 領域の遺伝子の中で CACNB4（Calcium channel, voltage-dependent, beta 4 subunit）遺伝子について解析（連鎖不均衡伝達テスト、Transmission Disequilibrium Test）とてんかんなどに関係すると報告されている C104F の変異の解析を行った。結果として、この遺伝子と自閉症との間に有意な相関は認められなかったが、C104F の変異については自閉性障害患者の中にこの変異を有している症例が存在する可能性が示唆され、今後も解析を進めていく予定である。また、注意欠陥多動性障害についても遺伝子解析を進めていくために、マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行うプロトコルを策定した。今後はどちらの障害についても、サンプルの収集を行いつつ、解析を進めていく予定である。

A. 研究目的

小児期に明らかとなることが多い広汎性発達障害（Pervasive Developmental Disorder、以下 PDD）や注意欠陥多動性障害（Attention Deficit Hyperactivity Disorder、以下 AD/HD）について、今日までに様々な研究報告がなされている。その中でも、家族研究や双生児研究の結果は、これらの障害に遺伝的な要因の関与があることや、それらが多因子遺伝疾患であるということを明らかにしてきた。

近年行なわれた PDD に対する連鎖解析などの結果では、染色体の 2q, 7q, 15q, Xp 領域などが自閉性障害（Autistic Disorder、以下 AD）の原因候補領域として挙げられている。それ以外にもいくつかの領域が挙げられているが、人種間での結果の相違などもあり、未だ結論が得られていない。また、AD の生化学的な研究から各種神経伝達物

質と AD の病因・病態などが今日までに数多く報告されており、それら神経伝達物質の動態に関連する蛋白の遺伝子と AD との相関に関する報告も今日までに数多くなされているが、実際に原因となる蛋白・遺伝子の同定はなされていない。

一方、AD/HD については染色体上の 4p, 5p, 6q, 11p, 16p, 17p 領域などが原因候補領域として挙げられており、AD と同様に神経伝達物質の受容体蛋白質の遺伝的多型との相関などが報告されている。

われわれは今日までの知見を踏まえ、① AD の原因候補領域に位置し、AD の病態への関与が想定される遺伝子の解析、② AD の病態に関与する神経伝達物質の動態に関連する蛋白の遺伝子解析、③ 神経発達の観点から、胎生期・器官形成期に脳の発育に関与する遺伝子の解析などを行ってきた。近年は AD の原因候補領域のひとつである 2q 領

域を中心に解析を行っているが、未だ有意な結果は得られていない。今回もこの2q領域に存在する遺伝子の中でカルシウムチャンネル蛋白のベータ4サブユニット（Calcium channel, voltage-dependent, beta 4 subunit、以下CACNB4）とADとの関係を明らかにするために以下の研究を行った。また、AD/HDについてはマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析による原因候補遺伝子の絞込みを検討しており、そのプロトコルを策定した。

B. 研究方法

DNAサンプルの収集

1. 対象

東海大学病院精神科外来に通院中で、Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder, 4th edition（以下、DSM-IV, American Psychiatric Association）、International Classification of Disease（以下、ICD-10, World Health Organization）の2つの診断基準を用い、2名の児童精神科医により、ADと診断された患者（男性93名、女性12名。平均年齢17.4±10.5歳）およびその両親を対象にした。口頭および書面を用いて本研究に対するインフォームド・コンセントを行ったが、AD患者本人から同意が得られない場合にはその両親から同意を得た。

2. 血液採取

上述の自閉症性障害患者およびその両親、健常対照者から静脈血20ccを通常の方法で採血した。

3. DNAの抽出とセルライン化

得られた血液10ccから標準的な方法でDNAを抽出し、残りの10ccをEpstein-Barr virusによってリンパ球を形質転換し、セルライン化して保存した。

遺伝子解析

1. ADの原因候補領域である2q領域に存在する遺伝子の選定と解析方法

National Center of Biotechnology Informationのホームページ上にあるOnline Mendelian Inheritance in Man (OMIM)のOMIM gene map (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/getmap.cgi>)から2q31-33領域に存在する遺伝子を明らかにし、その遺伝子のプロフィールなどから、CACNB4を選定した。従来から報告されている方法で解析を行った。

2. AD/HDに対するマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析のプロトコル策定

疾患や障害の原因候補遺伝子を同定するために、近年はマイクロアレイを用いた研究が行われるようになってきている。今回、われわれはAffymetrix社のGenechipを用い、既知の遺伝子について発現量情報を得ることでAD/HDの原因候補遺伝子（群）の同定する方法について検討し、一卵性双生児のサンプルを用いたプロトコルの策定を試みた。

（倫理面への配慮）

本研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究であり、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成13年3月29日文科省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）を遵守することを前提として、東海大学・北里大学に設置されている両施設の倫理委員会の承認をすでに受けている。

C. 研究結果

1. AD に対する 2q 領域の遺伝子解析 CACNB4 遺伝子領域の TDT 解析結果

SNP ID	Location	Results
rs6433680	Intron 12	n. s.
rs3768655	Intron 10	n. s.
rs770609	Intron 5	n. s.

3つの intron に存在する SNP についての解析を行ったが、いずれも有意な相関を示唆する結果は得られなかった。

2. AD/HD に対するマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析のプロトコールの概要

対象：一卵性双生児の AD/HD 不一致例。

（可能なら患者はメチルフェニデートでの治療前後でも比較）

方法：

サンプリング

一卵性双生児それぞれから採決を行う。

⇒ 一部は DNA を抽出して遺伝子解析へ（Cell line 化を含む）

⇒ 一部は新鮮血から RNA 抽出し、microarray を用いた expression analysis (Cell line 化したものを用いる可能性も)

網羅的遺伝子発現解析

Affymetrix 社製の Genechip Probe Array (Human Genome U133A 2.0 array) を用いて Scanning を行い、解析を行う。

D. 考察

今回、AD に対する 2q 領域の原因候補遺伝子として CACNB4 についての解析を行った。CACNB4 は 2q22-31 領域に位置しており、13 exons から構成され、いくつかの alternative splicing forms の存在が知ら

れている。蛋白は 58 kDa, 520 A.A. で、基礎的な研究では、この蛋白が SynaptotagminI などと結合して、presynapse での神経伝達物質の分泌に関係していることが示唆されている (Vendel AC et al., J. Neuroscience, 26, 2635-2644, 2006)。また、マウスではこの遺伝子の第一ドメインに点突然変異変異が入ることで Absence epilepsy や Ataxia などを起こすことが知られており (McEnery MW et al., J Biol Chem, 273, 21435-21438, 1998)、ヒトでもミスセンス変異である C104F や R482X などの存在が Generalized epilepsy、Juvenile myoclonic epilepsy、Episodic ataxia、Migrainous vertigo の家系で報告されている (Escayg A et al., Am J Hum Genet, 66, 1531-1539, 2000; Brevern M et al., Headache, 46, 1136-1141, 2006)。今回、われわれは AD 患者の trios のサンプルを用いて TDT を行ったが、結果としては有意な相関を認めなかった。しかし、Generalized epilepsy、Episodic ataxia の多発家系で報告されている C104F の変異については AD 患者のサンプルを現在解析中であり、preliminary survey ではこの変異を有している患者がいる可能性が示唆された (data not shown)。AD 患者の約 1/3 は epilepsy を合併していることが知られており、この変異が存在しているとすれば興味深い。今後もこの変異については引き続き解析をしていく予定である。

ヒト染色体の 2q31-33 領域は AD との連鎖が確認されたという報告は今日までに数多くなされている。この領域には神経細胞の発達や分化に必要な転写因子 (TBR-1; T-box brain 1, DLX1, 2; Distal-less 1, 2 など) や、細胞の位置情報の担い手である HOX family の遺伝子 (HOXD1-13)、神経細胞内の signal transduction に関係する遺

伝子（cAMP-GEFII; cAMP guanine nucleotide exchange factor II, CHN1; Chmerin1など）が含まれており、発達障害としてのADの病因や病態を考える上で原因となりそうな遺伝子が数多く存在している。しかし、今のところ原因候補遺伝子として有意な結果を得ているものは少なく、原因遺伝子として同定されるには至っていない。その中で興味深い遺伝子としては、AD患者にてんかん合併率が高いことなどから、CACNB4以外のでんかんやてんかん発作に関連するといわれている遺伝子（SCN2A1; Sodium channel, voltage-gated, type II, alpha-1 polypeptide, SCN1A; Sodium channel, voltage-gated, type I, alpha polypeptide, など）や、Hypothyroidismとの相関がいわれている遺伝子（PAX8; Paired box homeotic gene-8, CTLA4; Cytotoxic T-lymphocyte-associated serine esterase-4 など）、HOXD gene family、細胞内情報伝達に関係するといわれているCREB1（cAMP-response element-binding protein-1）などがある。今後はこれらの遺伝子を解析していく予定である。

また、AD/HDについては網羅的遺伝子発現解析を行って、原因候補遺伝子(群)の同定を試みた報告は未だに認められていない。今後の研究に期待が持たれる。

E. 結論

今回、染色体の2q領域に存在しているCACNB4遺伝子とADとの連鎖不均衡伝達テストを行ったが有意な結果は得られなかった。今後もこれらの解析を積極的に進めていく予定である。一方で、近年の科学技術の進歩に伴う効率的な解析方法の検討や、人種間の相違を比較するための国際共同研究が必要となってくるものと思われる。

自閉症モデル動物における甲状腺ホルモンの関与に関する研究

分担研究者 定松 美幸 滋賀医科大学医学部精神医学講座 講師

研究要旨；

自閉症モデル動物として、出生直後に軽度低甲状腺ホルモン状態においたラットを作成し、行動実験および組織学的検討を行い、セロトニンの関与を検討するため、脳内セロトニン濃度を変化させるものとして、セロトニン前駆物質である 5-hydroxytryptophan (5-HTP) あるいは SSRI の 1 種である fluvoxamine を投与し、組織学的変化を観察した。行動学的には低甲状腺ホルモンラットは、多動とともに社会的コミュニケーションの異常として、「慣れにくさ」が認められた。5-HTP を投与されたラットでは、コントロールでは大きな変化はなかったが、PTU ラットについては、小脳外顆粒細胞の migration の遅れが回復する傾向にあり、対照的に SSRI を投与された群では、コントロール、PTU ラットともに体重、脳重量、migration の遅れがより増悪する傾向があきらかになった。甲状腺ホルモンの欠乏による微細な組織学的変化をセロトニン前駆物質によって回復させることができた。

A. 研究目的

甲状腺ホルモンは胎生期から哺乳類の中樞神経系の発達に必須である。甲状腺ホルモンの著しい異常であるクレチン症は、身体発達の障害とともに精神発達遅滞を伴い、生後すぐに甲状腺ホルモン補充を行わないと不可逆的な結果となることはよく知られている。最近、新生児スクリーニング検査において甲状腺刺激ホルモン濃度がわずかに上昇を示す、すなわち胎生期に軽度の甲状腺ホルモン低下状態にあったと考えられる例が全国的に増えているという。一方で、先進国では自閉症の発症率が増加しているという報告が相次いでおり、この原因は不明である。

内分泌かく乱物質の一部には、甲状腺ホルモン様の働きを持つものがあり、Jackson らの報告では PCB に胎生期に暴露された子どもの IQ がそうでない子どもに比べて低下していた。動物実験で、胎生期 PCB 暴露が仔ラットの甲状腺ホルモン低下をもたら

すという報告がある。

自閉症の増加と甲状腺ホルモン異常、内分泌かく乱物質との関連を検討することを目的とした。

B. 研究方法

甲状腺ホルモン阻害酵素であるプロピルチオウラシル (PTU) を、出生直後から離乳まで、母ラットに飲水を通して投与し、低甲状腺ホルモン状態においた仔ラットを作成した。出生後時系列的に灌流固定した脳の組織学的検討を行った。セロトニンの関与を検討するため、仔ラットの一部については出生後 7 日目から 21 日目まで、セロトニンの前駆物質である 5-hydroxytryptophan (5-HT) あるいは fluvoxamine (SSRI) を皮下注投与し、主として小脳外顆粒細胞層とプルキンエ細胞に関して組織学的検討を行った。

PTU ラットの行動面についての検討として、オープンフィールドテスト、social

interaction を観察し、コントロールラットを比較した。

（倫理面への配慮）

日本神経科学会の「神経科学における動物実験に関する指針」に従い、滋賀医科大学動物実験倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

行動実験については、オープンフィールドテストでは、PTUラットは処置にかかわらず、なれにくく最後まで多動を示す傾向にあることが明らかになった(図1)。特にPTUラットにSSRIを投与した群では、最初と最後までほとんど運動量が変わらず、環境に慣れていない。立ち上がり行動についても同様であったが、Nが少ないこと、施行が3日と短めであったため、有意な結果にはいたらなかった。

仔ラットに5-HTP, SSRI を投与した群について、小脳の外顆粒細胞層の厚みについては、PTUラットでは、コントロール群に比べて厚いことを昨年報告した。そこで、今回、外顆粒細胞層で、細胞新生が遅れているのか、migration が遅れているのかを検討するために、幹細胞から分裂を始めた細胞のマーカである p27 と、静止状態にある細胞のマーカである PCNA について免疫組織染色を行った。PTUラットではPCNA陽性細胞の層が厚く、分裂をはじめていない幹細胞が外顆粒細胞層にとどまっており、migration 自体にはPTUラットとコントロール群で差が無いことが予想された。

また、PTUラットでは、出生後14日目前後に、外顆粒細胞層を突き抜けて、プルキンエ細胞が樹状突起を伸ばしているのが観察された(図2)。

D. 考察

昨年度、脳内セロトニン濃度を操作し、5-HTP が小脳外顆粒層の migration の遅れを回復させること、SSRI はむしろ悪化させたことを報告した。今年度は、5-HTP

あるいはSSRI投与によって、行動がどのように変化したかを検討した。現在のところ、小脳組織の発達を改善させた5-HTPは、行動上は明らかな改善を示さなかった。

また、PTUラットの外顆粒細胞層でどのような機序でmigrationの遅れが起こっているのかを明らかにした。幹細胞の分裂そのものがPTUラットでは遅くなっており、そのために幹細胞の集まりである外顆粒細胞層の厚みがコントロール群に比して厚いままに経過しているため、migration そのものにはおそらくPTUラットとコントロール群の間で差はみられないだろうと予想される。これについて、脳内セロトニン濃度がどのように関与しているのか、来年度に検討していきたいと考える。

加えて、PTUラットでプルキンエ細胞が発達の過程でシナプス形成ができない樹状突起を多く伸ばしている事実は、発達過程で小脳の microstructure に異常が生じているのではないかという仮説を裏付けるものであり、今後検討を重ねていく予定である。

E. 結論

出生後低甲状腺ホルモン状態においた自閉症モデルラットについて、脳内セロトニン濃度を操作することによって、組織学的には若干の改善を見たが、行動全般においては有意な差を認めなかった。モデルラットにおける小脳外顆粒細胞層の移動の遅れについては、幹細胞の分裂が遅くなっていることが第1で、migration 自体には差が無いことが予想され、この機序について明らかにすることと、脳内セロトニン濃度がこの機序にどのように関与するかを検討することが今後の課題である。

G. 研究発表

1. 論文発表

Sadamatsu M, Kanai H, Xu X, Liu Y, Kato N.
A review of animal models for autism:
implication of thyroid hormone. *Congenital
Anomalies* 461-9, 2006

2. 学会発表

Sadamatsu , M. Kanai, H., Kurokawa, K.,
Kato, N. Abnormal serotonergic developmen
t in rats with neonatal hypothyroidism: impl
ications for autism. ASCAPAP,2006 シンポ
ジウム

定松美幸、金井裕彦、黒川清、加藤進昌.
新生児期低甲状腺ホルモン状態がラット中
枢神経系の発達と行動に及ぼす影響につい
て. 第29回日本神経科学大会, 2006 シン
ポジウム

Sadamatsu, M., Kanai, H., Kurokawa, K., Kato,
N. Abnormal serotonergic development in rats
with neonatal hypothyroidism: implications for
autism. SFN meeting 2006 poster

図 1

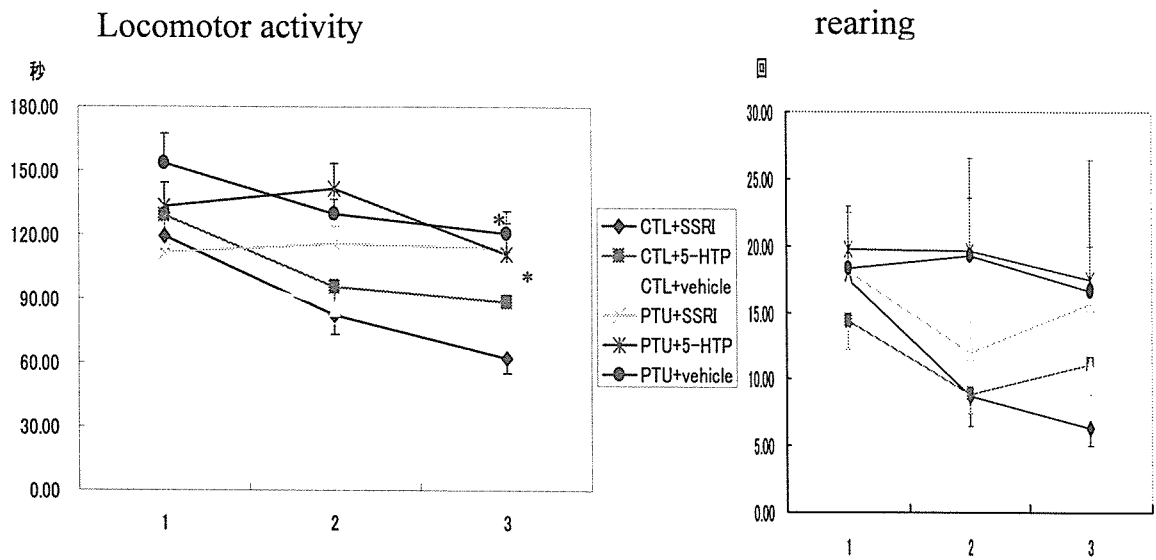
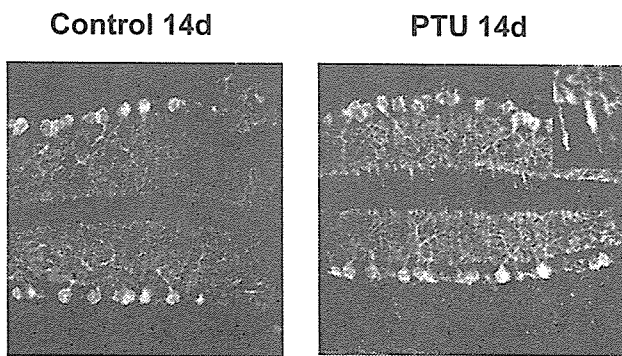


図 2



Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kuwabara H, Kasai K, Takizawa R, Kawakubo Y, Yamasue H, Rogers MA, Ishijima M, Watanabe K, Kato N.	Decreased prefrontal activation during letter fluency task in adults with pervasive developmental disorders: a near-infrared spectroscopy study.	Behav Brain Res	172	272-277	2006
Kono T, Matsuo K, Tsunashima K, Kasai K, Takizawa R, Rogers MA, Yamasue H, Yano T, Taketani Y, Kato N.	Multiple-time replicability of near-infrared spectroscopy recording during prefrontal activation task in healthy men.	Neurosci Res			In press
Paraguison R, Higaki K, Yamamoto K, Matsumoto H, Sasaki T, Kato N, Nanba E.	Enhanced autophagic cell death in expanded polyhistidine variants of HOXA1 reduces PBX1-coupled transcriptional activity and neuronal differentiation.	J Neurosci Res	85	479-487	2007
Itaba-Matsumoto N, Maegawa S, Yamagata H, Kondo I, Oshimura M, Nanba E.	Imprinting status of paternally imprinted <i>DLX5</i> gene in Japanese patients with Rett syndrome	Brain Dev.			in press
Sadamatsu M, Kanai H, Xu X, Liu Y, Kato N.	A review of animal models for autism: implication of thyroid hormone.	Congenital Anomalies	46	1-9	2006
Marui T, Ikuko Funatogawa I, Koishi S, Yamamoto K, Matsumoto H, Hashimoto O, Nanba E, Nishida H, Sugiyama T, Kasai K, Watanabe K, Kano Y, Kato N, Sasaki T.	Tachykinin 1 (TAC1) gene SNPs and haplotypes with autism: a case-control study.	Brain Dev			in press
Marui T, Koishi S, Funatogawa I, Yamamoto K, Matsumoto H, Hashimoto O, Ishijima M, Nanba E, Nishida H, Sugiyama T, Kasai K, Watanabe K, Kano Y, Kato N, Sasaki T.	No association between the Neuronal Pentraxin II genepolymorphism and autism.	Prog-Neuropsychopharmacology Biol Psychiatry,			in press
佐々木司.	遺伝的要因 (特集：アスペルガー症候群)	日本臨床	65	443-448	2007
小平雅基, 金生由紀子	反抗挑戦性障害、行為障害.	小児内科	38 巻 増刊	748-749	2006
金生由紀子	ADHDの子どもへの発達支援	教育と医学	54 (5)	437-444	2006

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）平成 18 年度 業績一覧

金生由紀子	児童期精神医学の現在	医学のあゆみ	217 (10)	923-927	2006
金生由紀子	高機能広汎性発達障害	臨床精神医学	35 (8)	1143-1145	2006
桑原斉、金生由紀子、 加藤進昌	発達障害の生物学的研究の現状とわが 国における研究の方向性.	脳と心の医学	17 (1)	341-351	2006

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
金生由紀子	トゥレット症候群	太田昌孝	発達障害	日本評論社	東京	2006	127-142
高橋礼花, 小尾央桂, 金生由紀子:	思春期のうつ病に SSRIは有効か?	五十嵐隆 ほか編	EBM小児疾 患の治療	中外医学社		2007	572-577

IV. 研究成果の刊行物・別刷