

Citalopram	Couturier and Nicolson 2002 ³³⁾	PDD 小兒-思春期 4-15 歲 17 例	retrospective M : 7.4 ヶ月	M : 19.7mg./H	10/17 (59%)	anxiety	agitation aggression insomniatic
	Namerow et al. 2003 ³⁴⁾	PDD 小兒-思春期 6-16 歲 15 例	retrospective chart review M : 218 H	M : 16.9mg/H 5 ~ 40mg/H	11/15 (73%)	repetitive behavior anxiety irritability	33% with mild headaches sedation aggressiveness agitation lip dyskinesia
	Escitalopram Owley 2005 ³⁵⁾	PDD 小兒-思春期 6-17 歲 (M : 10.4 歲) 28 例	open-label prospectove 10 週問	M : 11.1mg/H 開始 2.5mg/H 最高 20mg.H	17/28 (61%)	irritable	irritability hyperactivity

Abbreviations : ABC=Aberant Behavior Checklist, ABC-CV=ABC-Community Version, BAS=Behavior Assessment Scale, Brown=Brown Aggression Scale, CGI=Clinical Global Impressions scale, CYBOCS=Children's Yale-Brown Obsessive Scale HAM-A=Hamilton Rating Scale for Anxiety MR=Mental Retardation, PDD=Pervasive Developmental Disorders, Ritvo-Freema=Ritvo-Freeman Real-Life Rating Scale, SCARED=Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders, Vineland=Vineland maladaptive behavior subscales, YBOCS=Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale,

れば、より有用性が得られることが示唆される²⁶⁾²⁸⁾。小学生以下の年齢の幼児を含む報告は5報告ある。うち2報告で言語の改善が示されている。言語能力の改善に関する効果は幼少時の方が期待できる可能性があるが、小児では成人とは異なり「発達」途中であることを十分に考慮する必要がある、さらなる検討が必要であろう。

薬剤投与前の全血中セロトニン値が薬剤効果を予測できるかどうかについては、今回の結果も含めて難しいと考えられた²¹⁾。薬剤投与前の全血中セロトニン値が高い方が言語の改善がみられ、低い方が指差しの改善が認められたが、例数が少なくまだ不明である。

薬剤の効果または副作用には個人差が認められる。この個人差の原因を説明し、薬の副作用を減らし、より効率の良い治療をめざすには遺伝子多型が有用ではないかと期待されている。SSRIsの反応とSLC6A4多型との関係を調査した論文は、主として成人うつ病で多く検討されている。自閉症との関連の報告は調べた範囲では見当たらない。Mood DisordersにおけるSLC6A4の多型とSSRIsの効果についてのレビューが最近では一番纏まっているので紹介する³⁶⁾。SLC6A4の多型は、5-HTTLPRについての報告がほとんどである。白人に関する12報告中、反応性が良いまたは反応が速いのが、1アレルの5報告、1/1遺伝子型の3報告、1/1遺伝子型の副作用が少ないが2報告、s/s遺伝子型の反応性が悪いまたは遅いが2報告となっており、圧倒的に1アレルを含む多型に反応例が多い。しかし、東洋人に関する9報告では、反応性が良いのが、1アレルの2報告、1/1遺伝子型の2報告、sアレル1報告、s/s遺伝子型の2報告、関係なし2報告で一定せず、日本人における反応性の良さについても1アレルとsアレルは1報告ずつであり一定しない。これには、5-HTTLPRの多型頻度には人種差が大きく、1/1遺伝子型頻度は白人で高く(ドイツ人36%³⁷⁾、東洋人で少ない(韓国人³⁸⁾≒日本人2~6%³⁹⁾⁴⁰⁾ことと、1アレル内のG/A多型の存在(LGのmRNAレベルはsアレルに近い)⁴¹⁾と関係していると思われる。5-HTT2Aに関して、成人うつ病に対するSSRIsの反応からの検討がいくつか報告されてい

る。-1438A/G多型と102T/C多型はほぼ完全な連鎖不平衡を示すとされるが¹⁰⁾、GG遺伝子型が特にfluvoxamine治療で反応良好⁴²⁾、paroxetine治療中の副作用がCC遺伝子型で多い⁴³⁾、fluvoxamine治療中の嘔気は-1438A/G多型と無関係⁴⁴⁾、胃腸症状はGG遺伝子型と関係する⁴⁵⁾などであり、一定しない。

ABC-J行動評価と遺伝子多型の結果からは、TTの症例では治療前から、易興奮性、多動が強い傾向があり、SSRIの使用により興奮、多動、高いところに登りたがるという副作用が強調されたのではないかと推測している。特にTTの症例では使用量をさらに少なめに抑えることにより、副作用を軽減できる可能性を考えている。逆に興奮が強い症例には選択的な5-HT2Aブロッカーの使用のほうが使いやすいのではないかと推測された。先の考察で、副作用の発現に2群あるとの報告²⁵⁾があったが、少量でも出現してくるタイプの副作用は、このような薬剤反応性に関与する遺伝子多型が関与している可能性が考えられた。

6. ま と め

ASDに対するSSRIs治療について、我々の使用経験とこれまでの報告のレビューを行った。日常生活に困難を来すASD患者の示す異常行動に対して、ある程度効果が期待できるが、副作用を軽減するためには、少量からゆっくりと増量することが重要である。5-HTTLPRと5HTT2A遺伝子多型はASD患者へのSSRIs治療の反応に影響を与えていると思われるが、まだ一定の結論が得られていない。

謝辞：稿を終えるにあたり、ABC-Jの使用を承諾くださいました、宮城県子ども総合センターの小野善郎先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 福田冬季子, 杉江秀夫, 伊藤政孝, 他(1998) 自閉性障害におけるFluvoxamine(選択的セロトニン再取り込み阻害剤)の臨床効果. 脳と発達 30: 51-55.

- 2) Sugie Y, Sugie H, Fukuda T (2003) Clinical efficacy of fluvoxamine and functional polymorphism in a serotonin transporter gene on childhood autism. *J Autism Dev Disord.* 2005 Jun;35 (3) : 377-385.
- 3) 杉江陽子, 杉江秀夫, 福田冬季子, 他 (2003) 小児自閉性障害における fluvoxamine 投与時の臨床効果とセロトニン 2A 遺伝子多型との関連について. *脳と発達.* 35 : 23-28.
- 4) 杉江陽子, 杉江秀夫, 福田冬季子, 他 (2003) 小児自閉性障害における fluvoxamine 投与時の副作用発現に関する検討. *脳と発達.* 35 : 233-237.
- 5) Anderson GM, Freedman DX, Cohen DJ, et al (1987) Whole blood serotonin in autistic and normal subjects. *J Child Psychol Psychiatry.* Nov 28 (6) : 885-900.
- 6) Chugani DC, Muzik O, Behen M, et al (2005) Developmental changes in brain serotonin synthesis capacity in autistic and nonautistic children. *Am J Hum Genet.* Aug 77 (2) : 265-279. Epub 2005 Jul 1.
- 7) Sutcliffe JS, Delahanty RJ, Prasad HC, et al (1999) Allelic heterogeneity at the serotonin transporter locus (SLC6A4) confers susceptibility to autism and rigid-compulsive behaviors. *Ann Neurol.* Mar 45 (3) : 287-295.
- 8) DeLong GR, Teague LA, McSwain Kamran M (1998) Effects of fluoxetine treatment in young children with idiopathic autism. *Dev Med Child Neurol.* Aug 40 (8) : 551-562.
- 9) Lotrich FE, Pollock BG (2005) Candidate genes for antidepressant response to selective serotonin reuptake inhibitors. *Neuropsychiatr Dis Treat.* Mar 1 (1) : 17-35.
- 10) Spurlock G, Heils A, Holmans P, et al (1998) A family based association study of T102C polymorphism in 5HT2A and schizophrenia plus identification of new polymorphisms in the promoter. *Mol Psychiatry.* Jan 3 (1) : 42-49.
- 11) Anderson GM, Feibel FC, Wetlaufer LA, et al (1985) Effect of a meal on human whole blood serotonin. *Gastroenterology.* Jan 88 (1 Pt 1) : 86-89.
- 12) [No authors listed] (1985) Rating scales and assessment instruments for use in pediatric psychopharmacology research. *Psychopharmacol Bull* 21 (4) : 714-1124.
- 13) Cook EH Jr, Courchesne R, Lord C, et al Evidence of linkage between the serotonin transporter and autistic disorder.
- 14) Warren JT Jr, Peacock ML, Rodriguez LC, et al (1993) An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (HTR2) : detection by DGGE and RFLP analysis. *Hum Mol Genet* Mar 2 (3) : 338.
- 15) Posey DJ, Erickson CA, Stigler KA, et al (2006) The use of selective serotonin reuptake inhibitors in autism and related disorders. *J Child Adolesc Psychopharmacol.* Feb-Apr 16 (1-2) : 181-186. Review.
- 16) Brune CW, Kim SJ, Salt J, et al (2006) 5-HTTLPR Genotype-Specific Phenotype in Children and Adolescents With Autism. *Am J Psychiatry.* Dec 163 (12) : 2148-2156
- 17) Ono Y (1998) Behavior disorders in persons with mental retardation receiving antipsychotic medication. *Res Dev Disabil.* Mar-Apr 19 (2) : 123-130.
- 18) Kolevzon A, Mathewson KA, Hollander E (2006) Selective serotonin reuptake inhibitors in autism : a review of efficacy and tolerability. *J Clin Psychiatry.* Mar 67 (3) : 407-414. Review.
- 19) McDougle CJ, Naylor ST, Cohen DJ, et al (1996) A double-blind, placebo-controlled study of fluvoxamine in adults with autistic disorder. *Arch Gen Psychiatry.* Nov 53 (11) : 1001-1008.
- 20) McDougle CJ, Kresch LE, Posey DJ (2000) Repetitive thoughts and behavior in pervasive developmental disorders : treatment with serotonin reuptake inhibitors. *J Autism Dev Disord.* Oct 30 (5) : 427-435.
- 21) Martin A, Koenig K, Anderson GM, et al (2003) Low-dose fluvoxamine treatment of children and adolescents with pervasive developmental disorders : a prospective, open-label study. *J Autism Dev Disord.* Feb 33 (1) : 77-85.
- 22) Fatemi SH, Realmuto GM, Khan L, et al (1998) Fluoxetine in treatment of adolescent patients with autism : a longitudinal open trial. *J Autism Dev Disord.* Aug 28 (4) : 303-307.

- 23) Cook EH Jr, Rowlett R, Jaselskis C, et al (1992) Fluoxetine treatment of children and adults with autistic disorder and mental retardation. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. Jul 31 (4) : 739-745.
- 24) Buchsbaum MS, Hollander E, Haznedar MM, et al (2001) Effect of fluoxetine on regional cerebral metabolism in autistic spectrum disorders : a pilot study. *Int J Neuropsychopharmacol*. Jun 4 (2) : 119-125.
- 25) DeLong GR, Ritch CR, Burch S (2002) Fluoxetine response in children with autistic spectrum disorders : correlation with familial major affective disorder and intellectual achievement. *Dev Med Child Neurol*. Oct 44 (10) : 652-659.
- 26) Hollander E, Phillips A, Chaplin W, et al (2005) A placebo controlled crossover trial of liquid fluoxetine on repetitive behaviors in childhood and adolescent autism. *Neuropsychopharmacology*. Mar 30 (3) : 582-589.
- 27) Hellings JA, Kelley LA, Gabrielli WF, et al (1996) Sertraline response in adults with mental retardation and autistic disorder. *J Clin Psychiatry*. Aug 57 (8) : 333-336.
- 28) Steingard RJ, Zimnitzky B, DeMaso DR, et al (1997) Sertraline treatment of transition-associated anxiety and agitation in children with autistic disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. Spring 7 (1) : 9-15.
- 29) McDougle CJ, Brodtkin ES, Naylor ST, et al (1998) Price. Sertraline in adults with pervasive developmental disorders : a prospective open-label investigation. *J Clin Psychopharmacol*. Feb 18 (1) : 62-66.
- 30) Snead RW, Boon F, Presberg J (1994) Paroxetine for self-injurious behavior. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. Jul-Aug 33 (6) : 909-910.
- 31) Davanzo PA, Belin TR, Widawski MH, et al (1998) Paroxetine treatment of aggression and self-injury in persons with mental retardation. *Am J Ment Retard*. Mar 102 (5) : 427-437.
- 32) Posey DI, Litwiller M, Koburn A, et al (1999) Paroxetine in autism. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. Feb 38 (2) : 111-112.
- 33) Couturier JL, Nicolson R (2002) A retrospective assessment of citalopram in children and adolescents with pervasive developmental disorders. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. Fall 12 (3) : 243-248.
- 34) Namerow LB, Thomas P, Bostic JQ, et al (2003) Use of citalopram in pervasive developmental disorders. *J Dev Behav Pediatr*. Apr 24 (2) : 104-108.
- 35) Owley T, Walton L, Salt J, et al (2005) An open-label trial of escitalopram in pervasive developmental disorders. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2005 Apr 44 (4) : 343-348.
- 36) Serretti A and Kato M (2008) The serotonin transporter gene and effectiveness of SSRIs. *Expert Rev. Neurotherapeutics* 8 (1) : 111-120.
- 37) Klauck SM, Poustka F, Benner A, et al (1997) Serotonin transporter (5-HTT) gene variants associated with autism? *Hum Mol Genet*. Dec 6 (13) : 2233-2238.
- 38) Cho IH, Yoo HJ, Park M, et al (2007) Family-based association study of 5-HTTLPR and the 5-HT2A receptor gene polymorphisms with autism spectrum disorder in Korean trios. *Brain Res*. Mar 30 ; 1139 : 34-41. Epub 2007 Jan 8.
- 39) Nakamura T, Muramatsu T, Ono Y, et al (1997) Serotonin transporter gene regulatory region polymorphism and anxiety-related traits in the Japanese. *Am J Med Genet*. Sep 19 ; 74 (5) : 544-545.
- 40) Kunugi H, Hattori M, Kato T, et al (1997) Serotonin transporter gene polymorphisms : ethnic difference and possible association with bipolar affective disorder. *Mol Psychiatry*. Oct-Nov 2 (6) : 457-462.
- 41) Hu XZ, Lipsky RH, Zhu G, et al (2006) Serotonin transporter promoter gain-of-function genotypes are linked to obsessive-compulsive disorder. *Am J Hum Genet*. May 78 (5) : 815-826. Epub 2006 Mar 28.
- 42) Kato M, Fukuda T, Wakeno M, et al (2006) Effects of the serotonin type 2A, 3A and 3B receptor and the serotonin transporter genes on paroxetine and fluvoxamine efficacy and adverse

- drug reactions in depressed Japanese patients. *Neuropsychobiology* 53 (4) : 186-195. Epub Jul 26.
- 43) Murphy GM Jr, Kremer C, Rodrigues HE, et al (2003) Pharmacogenetics of antidepressant medication intolerance. *Am J Psychiatry*. Oct 160 (10) : 1830-1835.
- 44) Yoshida K, Naito S, Takahashi H, et al (2003) Monoamine oxidase A gene polymorphism, 5-HT 2A receptor gene polymorphism and incidence of nausea induced by fluvoxamine. *Neuropsychobiology* 48 (1) : 10-13.
- 45) Suzuki Y, Sawamura K, Someya T (2006) Polymorphisms in the 5-hydroxytryptamine 2A receptor and CytochromeP4502D6 genes synergistically predict fluvoxamine-induced side effects in Japanese depressed patients. *Neuropsychopharmacology*. Apr 31 (4) : 825-831.

Original article

Study of *HOXD* genes in autism particularly regarding the ratio of second to fourth digit length

Yoko Sugie^{a,*}, Hideo Sugie^b, Tokiko Fukuda^b, Junko Osawa^a

^a Department of Pediatrics, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Shizuoka, Japan

^b Department of Pediatrics, Jichi Medical University and Jichi Children's Medical Center, Tochigi, Japan

Received 30 December 2008; received in revised form 14 May 2009; accepted 16 May 2009

Abstract

Multiple genes are involved in the pathogenesis of autism. To study the causative gene, the relationship between autism endophenotypes and their closely related genes has been analyzed. There is a subgroup of autism spectrum disorder (ASD) in which the ratio of second digit length to fourth digit length (2D/4D) is low (short digit group, SDG). We studied the relationship between ASD and *HOXD* genes, which are located in the candidate locus for ASD and are associated with digit morphogenesis, with a particular focus on SDG. We analyzed 25 SNPs of *HOXD11*, *HOXD12*, and *HOXD13* in the subject of 98 ASD, 89 healthy controls, and 16 non-autistic patients (non-ASD). There was no significant difference in the genotype frequencies between the ASD and the healthy controls. However, the G-112T heterozygote in the promoter region of *HOXD11* was observed in only four patients with ASD and in none of the healthy controls or non-ASD subjects. Moreover, this *HOXD11* G-112T was observed in three of 11 SDG with ASD but in none of the 15 non-SDG patients with ASD. There were eight SDG patients among the non-ASD ones, but this polymorphism was observed in none of them. Considering the above results, it is expected that candidate genes will be further identified, using *HOXD11* G-112T polymorphism as a marker, by analyzing genes located near 2q in a larger number of ASD subjects with clinical signs of SDG.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Autism; *HOXD*; 2D/4D; Endophenotype; Genetic polymorphism

This research was partly supported by a Grant-in-Aid for the Mentally and Physically Handicapped from the Ministry of Health, Labor and Welfare and the research Grant (14B-4-17) for Nervous and Mental Disorders from the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan. The authors declare that they have no competing interests.

* Corresponding author. Address: Department of Pediatrics, Hamamatsu University School of Medicine, 1-20-1, Handayama, Higashi-ku, Hamamatsu 431-3192, Japan. Tel.: +81 53 435 2312; fax: +81 53 435 4311.

E-mail addresses: y-sugie@umin.ac.jp (Y. Sugie), sugie@jichi.ac.jp (H. Sugie), toki-fukuda@jichi.ac.jp (T. Fukuda), yusosawa@nifty.com (J. Osawa).

0387-7604/\$ - see front matter © 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.braindev.2009.05.005

1. Introduction

Autism is basically characterized by severely impaired social interaction and communication, and a limited range of activities and interests. As the diagnosis of autism is made on the basis of patients' behavioral characteristics, the disorder is not caused by only one factor. It is considered that various genetic and environmental factors are involved in the occurrence of autism, and their interactions are complex. In 1998, the International Molecular Genetic Study of Autism Consortium (IMGSC) reported their genome-wide linkage analysis of families in which there was more than one member with idiopathic autism [1]. On the basis of the results of a subsequent large-scale genome-wide scan, candidate

Please cite this article in press as: Sugie Y et al. Study of *HOXD* genes in autism particularly regarding the ratio of second to fourth digit length. Brain Dev (2009), doi:10.1016/j.braindev.2009.05.005

gene loci, including 7q21.2–q36.2, 16p12.1–p13.3, 6q14.3–q23.2, 2q24.1–q33.1, 17q11.1–q21.2, 1q21–q44, and 3q21.3–q29, were identified [2]. In an attempt to increase the linkage, a nearly homogeneous group was selected among patients with autism of heterogeneous causes. Autism patients were classified into subgroups or subsets in accordance with the phenotype of autism [3], such as through a quantitative trait locus (QTL) analysis of the constituent elements of endophenotypes in autism [4], and an ordered-subset analysis [5] was carried out. The ratio of second digit (2D) length to fourth digit (4D) length (2D/4D) is very low in some autism patients [6,7]. The *homeo box D (HOXD)* gene family is involved in skeletal morphogenesis, and correlations between digit length and the expression levels of *HOXD11*, *HOXD12*, and *HOXD13* have been observed [8,9]. In addition, *HOXD* genes form a cluster at 2q24.1–q33.1, which has been found to be a candidate locus by a genome-wide scan [3]. Therefore, we considered that digit length is one of the small physical signs of autism. Hence, we investigated the relationships between autism and polymorphism of *HOXD11*, *HOXD12*, and *HOXD13*. Moreover, we classified autism patients into two categories: patients with a low 2D/4D formed the short digit group (SDG), while the remaining patients formed the non-short-digit group (non-SDG). We also examined the genetic polymorphism of these three genes between SDG and non-SDG with autism and also between SDG with and without autism. No analysis of autism focusing on these relationships has been reported to date.

2. Subjects and methods

Seven patients with autism in the SDG were screened for the presence or absence of gene mutations in the exon and intron of *HOXD11*, *HOXD12*, and *HOXD13*, and for gene polymorphisms. The genotypic frequencies of the detected polymorphisms and the polymorphisms already listed in the GenBank were compared between the autism patients and the controls. Finally, the genotypes of the above polymorphisms of the autism patients in SDG were investigated.

2.1. Subjects

The subjects examined by genetic analysis in this study were 98 patients who visited the Department of Pediatrics, Hamamatsu University School of Medicine and Hamamatsu City Medical Center for Developmental Medicine, and who were diagnosed as having autism, PDD-NOS, and Asperger syndrome on the basis of the criteria in the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV [10]). Patients with clear underlying diseases such as chromosomal abnormalities, tuberous sclerosis, and Fragile X syndrome were

excluded from the study. The patients were of 82 males and 16 females with ages ranging from 5 years and 2 months to 31 years and 10 months (mean age: 12 years and 7 months). In terms of ethnicity, 95 patients had Japanese parents, 2 had Japanese fathers and Filipino mothers, and 1 had Bangladeshi parents. Eighty-nine subjects without any neurological abnormality served as healthy controls for gene analysis; all of them were Japanese and their sex and age were not determined. Thirty patients were also examined as disease controls, including 16 non-autistic patients, 14 mentally retarded patients, and 2 AD/HD patients, all of whom were Japanese.

2.2. Measurement of second and fourth digit lengths

A digital camera providing three-megapixel images was used for the measurement of the 2D and 4D lengths. Each subject's right hand was placed palm-up on a flat desk, and was photographed with the camera 20 cm above the hand. Three pediatric neurologists separately measured the 2D and 4D lengths from the line of the base to the tip of the digits three times using the image analyzing software Scion Image (NIH). The mean ratio of 2D length to 4D length (2D/4D) was calculated. In this study, patients with lower than the mean 2D/4D of the autism patients reported by Osawa et al., that is, a 2D/4D of 0.94 or lower, were classified as SDG [7].

2.3. Gene analysis

Seven patients with autism (6 males and 1 female) in the SDG were screened for the presence or absence of gene mutations and gene polymorphisms by the direct sequencing method. *HOXD11*, *HOXD12*, and *HOXD13* – each consisting of two exons and one intron – were searched for in a region from approximately 500 bp upstream, including a promoter, to approximately 500 bp downstream of the gene. Genomic DNA extracted from lymphocytes using a DNA extraction kit (Takara Co., Shiga, Japan) was used. DNA was amplified by PCR using a Taq PCR Core kit (QIAGEN Co., CA, USA), and the base sequence was obtained by the direct sequencing method. Genotypes were determined for single nucleotide polymorphism (SNP) in five loci that were newly found by this method in this study and for SNP in 20 loci that are listed in the online database GenBank (NCBL dbSNP). Genotypes in some loci were also determined by real-time PCR analysis using a TaqMan allelic discrimination assay (Applied Biosystems).

2.4. Statistical analysis

Genotypic frequency and allelic frequency of the autism patients were compared to those of the healthy con-

control group using a χ^2 test or Fisher's exact test with SPSS 12.0J for a Windows-based System. A statistical significance level of $p \leq 0.05$ was set.

3. Results

2D/4D was determined in 28 patients (24 males and 4 females) out of the 98 autism patients. Eleven patients (9 males and 2 females) of these 28 patients were classified as SDG. The clinical features of these patients, including sex, age, and the severity of mental retardation, are shown in Table 1. A high percentage of patients with severe mental retardation were observed in SDG with autism, whereas no patients with severe mental retardation were observed in non-SDG with autism. We also measured 2D/4D in 16 non-autistic patients in the disease control group, and 8 patients were classified as SDG and 8 patients as non-SDG. The results of the 2D/4D values of the 28 ASD and 30 non-ASD patients are shown in Fig. 1.

The results of the polymorphism analysis are shown in Table 2. No significant difference in polymorphism was observed between the autism patients and the healthy control group. However, with regarding to

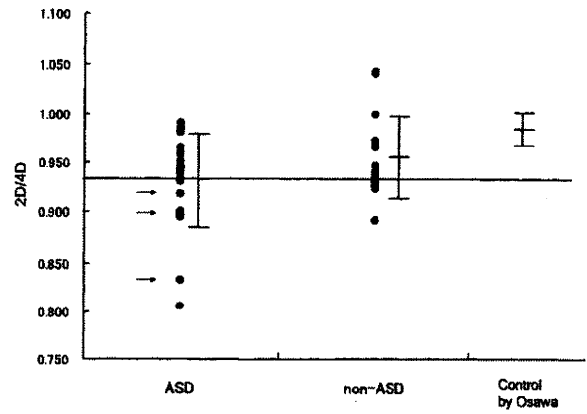


Fig. 1. 2D/4D values for the ASD28 cases and the non-ASD30 cases. Mean \pm SD was presented. The M-ASD line is the average for the ASD cases; at or below this line is the SDG. As a reference, we showed the mean \pm SD for normally healthy children as calculated by Osawa et al. [7]. The arrow indicates cases with *HOXD11* heterogeneity.

SNP in the promoter region of *HOXD11* G-112T, heterozygosity was observed in 4 autism patients, but not in the healthy or disease control group. The SNP in the promoter region of *HOXD12* -C226A and the SNP in

Table 1
Clinical features of patients.

	All the autistic disorder patients	Patients with 2D/4D determined		
		Total	SDG	NSDG
Number of patients	98	28	11	17
Sex				
Males:females	82:16 (5.1:1)	24:4 (5.5:1)	9:2 (4.5:1)	15:2 (7.5:1)
Age	5 y 2 m–31 y 10 m	5 y 4 m–31 y 10 m	8 y 1 m–31 y 10 m	5 y 4 m–16 y 7 m
Median	11 y 6 m	12 y 0 m	14 y 4 m	9 y 2 m
Mean	12 y 7 m	12 y 11 m	16 y 6 m	10 y 4 m
Family history: (3 generations)				
With ^a	22 (22.4%)	10 (35.7%)	3 (30.0%)	7 (41.2%)
Those with autism	7 (7.3%)	5 (17.9%)	2 (20.0%)	3 (17.4%)
Without	69 (70.4%)	16 (57.1%)	7 (70.0%)	7 (41.2%)
Mental retardation				
Without	10 (10.3%)	7 (25.0%)	2 (18.2%)	5 (29.4%)
Minor	21 (21.6%)	6 (21.4%)	2 (18.2%)	4 (23.5%)
Moderate	44 (45.4%)	10 (35.7%)	2 (18.2%)	8 (47.1%)
Severe	22 (22.7%)	5 (17.9%)	5 (45.5%)	0
Age at walk alone	9–48 m (91 cases)	9–48 m (26)	11–48 m (10)	9–18 m (16)
Median	13 m	12 m	12 m	12 m
Mean	13.9 m	14.3 m	18 m	12.9 m
Age at first word	10 m–6 y 10 m (80 cases)	11 m–6 y 10 m (25)	11 m–6 y 10 m (10)	1 y 3 m–3 y 5 m (15)
Median	1 y 6 m	1 y 6 m	1 y 6 m, 1 y 11 m	1 y 10 m
Mean	1 y 9 m	2 y 1 m	2 y 4 m	1 y 11 m
No. of patients 2 y or over	28	10	4	6
Age at first phrase	1 y 6 m–5 y 0 m (31 cases)	1 y 7 m–5 y 0 m (13)	2 y 6 m–5 y 0 m (5)	1 y 7 m–4 y 0 m (8)
Median	2 y 11 m	2 y 11 m	3 y 0 m	2 y
Mean	2 y 10 m	2 y 9 m	3 y 2 m	2 y 5 m
No. of patients 3 y or over	16	5	3	2

^a Family history with psychiatric disorders including major depression, autism etc.

Please cite this article in press as: Sugie Y et al. Study of *HOXD* genes in autism particularly regarding the ratio of second to fourth digit length. Brain Dev (2009), doi:10.1016/j.braindev.2009.05.005

Table 2
Results of analysis of gene polymorphisms.

Gene	Location in gene	dtSNP ID	Allele	Frequency		Genotype	Frequency	
				Autism	Control		Autism	Control
<i>HOXD11</i>	Promoter		G	0.979	1	GG	0.959	1
			T	0.021	0	GT	0.042	0
						TT	0	0
	Intron	rs84746	A	0.711	0.721	AA	0.571	0.561
			C	0.289	0.288	AC	0.230	0.371
						CC	0.133	0.067
	Exon 2	rs863678	G	0.541	0.567	GG	0.316	0.292
			T	0.459	0.443	GT	0.449	0.551
	Exon2	rs6745764	A	0.214	0.18	AA	0.031	0.011
			G	0.786	0.82	AG	0.367	0.337
						GG	0.602	0.652
	<i>HOXD12</i>	Promoter		A	0.041	0.028	AA	0
C				0.959	0.972	AC	0.082	0.056
						CC	0.918	0.944
Promoter			G	0.929	0.955	GG	0.929	0.955
			T	0.071	0.045	GT	0.071	0.045
						TT	0	0
Exon 1		rs847151	A	0.041	0.028	AA	0	0
			G	0.959	0.972	AG	0.082	0.056
						GG	0.918	0.944
						CC	0.786	0.876
						CG	0.214	0.124
Promoter			A	0.082	0.107	AA	0	0
	T		0.918	0.893	AT	0.163	0.213	
					TT	0.837	0.787	
Exon 1		C	0.985	0.989	CC	0.969	0.978	
		T	0.015	0.011	CT	0.031	0.022	
Exon 1	rs2518053	A	0.408	0.455	AA	0.173	0.235	
		G	0.592	0.545	AG	0.469	0.438	
					GG	0.357	0.326	
Intron	rs847194	A	0.684	0.657	AA	0.459	0.404	
		C	0.316	0.343	AC	0.449	0.506	
					CC	0.092	0.09	

SNP with no polymorphism detected in the present cases analyzed among the SNPs listed at the GenBank

<i>HOXD11</i>	Promoter	rs2736846	<i>HOXD13</i>	Exon 1	rs847195
	Intron	rs2736847		Exon 1	rs13392701
	Exon 2	rs12995279		Intron	rs847193
	Exon2	rs12995280		Intron	rs847192
<i>HOXD12</i>	Exon 1	rs2551807	Exon 2	rs28928892	
	Exon2	rs2553776	Exon 2	rs28933082	
			Exon 2	rs28928891	

exon 1 of *HOXD12* (rs847151, G364A) showed a nearly complete linkage disequilibrium. Heterozygosity for both *HOXD12* -C226A and *HOXD12* G364A was observed in five healthy controls and eight autism patients. Furthermore, all of the five controls heterozygous for *HOXD12* -C226A and *HOXD12* G364A were homozygous for *HOXD11* -G112G. On the other hand, of the eight autism patients heterozygous for both *HOXD12* -C226A and *HOXD12* G364A, four were homozygous and four were heterozygous for *HOXD11* G-112T. Taken together, heterozygosity in all the three

loci *HOXD11* G-112T, *HOXD12* -C226A, and *HOXD12* G364A was found in four autism patients but not in the healthy controls. Table 3 shows the relationships between the polymorphisms in these three loci for two cases: SDG and non-SDG with autism and SDG and non-SDG without autism. Of the four patients heterozygous for *HOXD11* G-112T, three in whom digit length was measured were classified into SDG with autism and the rest was unknown. The clinical type of ASD of the patients with having *HOXD11* heterogeneity was classified as autistic disorder in all cases. No patients

Please cite this article in press as: Sugie Y et al. Study of *HOXD* genes in autism particularly regarding the ratio of second to fourth digit length. Brain Dev (2009), doi:10.1016/j.braindev.2009.05.005

Table 3
Frequency of *HOXD* gene polymorphisms between SDG and NSDG patients with or without autism.

Gene	dbSNP ID	Genotype	Autistic patients			Normal Control	Non-autistic	
			Total	SDG	NSDG		SDG	NSDG
<i>HOXD11</i>		GG	94	8	17	89	8	8
		GT	4	3	0	0	0	0
<i>HOXD12</i>		CC	90	8	17	84	8	8
		AC	8	3	0	5	0	0
<i>HOXD12</i>	rs847151	GG	90	8	17	84	8	8
		AG	8	3	0	5	0	0

heterozygous for *HOXD11* G-112T were observed among the 16 non-autistic disease controls including the eight patients with SDG.

4. Discussion

In genetic research for autism, some studies have been conducted that focused mainly on language development skills (e.g., age at first word, age at first phrase, onset of first phrase >36 months, and nonverbal communication) skill. Other studies have focused on the establishment of motor language development, bladder and bowel control milestones, developmental regression, repetitive/stereotyped behavior, restricted behavior, interest, and activity [2–4,11–13].

Manning et al. [6] reported that 2D/4D is low in autism and Asperger syndrome. In Japan, Osawa et al. [7] reported a higher incidence of low 2D/4D in autism patients than in healthy children. From their report, we assumed that it is possible to consider a low 2D/4D as a specific feature in some autism patients. Such patients formed part of a group of subjects (SDG) for investigation in our study. It was assumed that SDG in autism may express one of the common features; hence, 2D/4D may be associated with one of the etiological genes of autism. Manning et al. [14] reported the findings of their 2D/4D measurement as follows: (1) there is a gender difference in 2D/4D measurements (2D/4D is lower in males than in females); (2) a low 2D/4D is observed across races and countries; (3) 2D/4D is closely related to fetal growth, sperm count, family size, myocardial infarction, and breast cancer; and (4) 2D/4D is related to sexual differentiation, the production of sex hormones in the fetal stage, and disease programming in the fetal stage. In addition, there is an inverse correlation between 2D/4D and testosterone concentration at the fetal stage, and 2D/4D correlates with the CAG repeat number in the androgen receptor gene [15].

A study of female twins conducted by Paul et al. [16] showed that the concordance rate of 2D/4D is higher in monozygotic twins than in dizygotic twins, that the heritability of 2D/4D is approximately 66%, and that the

genetic contribution to 2D/4D in females may be more influential than the effects of prenatal environmental factors. Although it is uncertain whether these findings differ significantly between males and females in the absence of any report for males, it seems possible that 2D/4D is affected by both hereditary and secondary perinatal environmental factors.

One study showed that the mean 2D/4D did not change with gestational age from the 9th week to the 40th week [17]. In addition, there was a small increase in 2D/4D with age, which was lowest in the right hand [18]. This study indicates that 2D/4D is probably established in the uterus and that this ratio remains almost constant until adult life.

Because 2D/4D, an easily measurable physical feature, is already determined in utero and remains constant until adult life, it can be used regardless of age differences among subjects and is universal; moreover, its measurement is noninvasive. Therefore, 2D/4D is an excellent parameter for evaluating a group of autistic patients.

In genomic scans of families having more than one member with autism, the susceptibility loci for autism were investigated, and identified; these included 2q21–q33 [3,4]. In the candidate genes located here, the *NRP2* gene is reported as one of the genes related to autism [19]. In addition, specific polymorphism has been found in distal-less 2 (*DLX2*) and cAMP guanine nucleotide exchange factor II (*cAMP-GEFII*) in a few cases of autism [20]. On the other hand, no significant correlation has been reported between autism and distal-less 1 (*DLX1*) [20,21] and *DLX2* [20]. With regard to *HOXD* genes, Bacchlli et al. reported that there is no relationship between *HOXD1* and autism [20]. There has been no report on *HOXD11*, *HOXD12* or *HOXD13* to date.

It seems that these genes may be found to be significant in the development of autism when cases as a study subject have been carefully chosen and classified by the specific characteristics of presenting behavior or phenotypic clinical presentations.

The present study has limitations because it is a case-control study, rather than a family study, with a small number of subjects enrolled. However, in this study,

HOXD11 SNP -112G/-112T heterozygosity was specifically observed in autism patients with low 2D/4D. On the basis of this result, we expect that the relationships between autism and the *HOXD* genes or other candidate genes located in 2q will be clarified by studying a larger population with low 2D/4D, that is, by studying patients heterozygous for -112G/-112T in the *HOXD11* promoter.

References

- [1] International Molecular Genetic Study of Autism Consortium. A full genome screen for autism with evidence for linkage to a region on chromosome 7q. *Hum Mol Genet* 1998;7:571–8.
- [2] Yang MS, Gill M. A review of gene linkage, association and expression studies in autism and an assessment of convergent evidence. *Int J Dev Neurosci* 2007;25:69–85.
- [3] Buxbaum JD, Silverman JM, Smith CJ, Kilifarski M, Reichert J, Hollander E, et al. Evidence for a susceptibility gene for autism on chromosome 2 and for genetic heterogeneity. *Am J Hum Genet* 2001;68:1514–20.
- [4] Shao Y, Wolpert CM, Raiford KL, Menold MM, Donnelly SL, Ravan SA, et al. Genomic screen and follow-up analysis for autistic disorder. *Am J Med Genet* 2002;114:99–105.
- [5] Alarcón M, Cantor RM, Liu J, Gilliam C the Autism Genetic Resource Exchange Consortium, Geschwind H. Evidence for a language quantitative trait locus on chromosome 7q in multiplex autism families. *Am J Med Genet* 2002;70:60–71.
- [6] Manning JT, Baron-Cohen S, Wheelwright S, Sanders G. The 2nd to 4th digit ratio and autism. *Dev Med Child Neurol* 2001;43:160–4.
- [7] Osawa J, Sugie H, Fukuda T, Ito M, Sugie Y, Ohzeki T. Evaluation of the 2nd to 4th digit ratio in the patients with autism. *No To Hattatsu (Tokyo)* 2005;37:424–5, [in Japanese].
- [8] Zákány J, Fromental-Ramain C, Warot X, Duboule D. Regulation of number and size of digits by posterior Hox genes: a dose-dependent mechanism with potential evolutionary implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:13695–700.
- [9] Kuroiwa A. The role of homeobox genes on cartilage pattern formation. *Jikken Igaku* 2002;17:2441–8, [in Japanese].
- [10] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1994.
- [11] Alarcón M, Yonan AL, Gilliam TC, Cantor RM, Geschwind DH. Quantitative genome scan and Ordered-Subsets Analysis of autism endophenotypes support language QTLs. *Mol Psychiatry* 2005;10:747–57.
- [12] Freitag CM. The genetics of autistic disorders and its clinical relevance: a review of the literature. *Mol Psychiatry* 2007;12:2–22.
- [13] Alarcón M, Abrahams BS, Stone JL, Duvall JA, Perederiy JV, Bomar JM, et al. Linkage, association, and gene-expression analyses identify *CNTNAP2* as an autism-susceptibility gene. *Am J Hum Genet* 2008;82:150–9.
- [14] Manning JT, Churchill AJ, Peters M. The effects of sex, ethnicity, and sexual orientation on self-measured digit ratio (2D:4D). *Arch Sex Behav* 2007;36:223–33.
- [15] Manning JT, Bundred PE, Flanagan BF. The ratio of 2nd to 4th digit length: a proxy for transactivation activity of the androgen receptor gene? *Med Hypotheses* 2002;59:334–6.
- [16] Paul SN, Kato BS, Cherkas LF, Andrew T, Spector TD. Heritability of the second to fourth digit ratio (2d:4d): a twin study. *Twin Res Hum Genet* 2006;9:215–9.
- [17] Malas MA, Dogan S, Evcil EH, Desdicioglu K. Fetal development of the hand, digits and digit ratio (2D:4D). *Early Hum Dev* 2006;82:469–75.
- [18] Trivers R, Manning J, Jacobson AA. Longitudinal study of digit ratio (2D:4D) and other finger ratios in Jamaican children. *Horm Behav* 2006;49:150–6.
- [19] Wu S, Yue W, Jia M, Ruan Y, Lu T, Gong X, et al. Association of the neuropilin-2 (NRP2) gene polymorphisms with autism in Chinese Han population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007;144B:492–5.
- [20] Bacchelli E, Blasi F, Biondolillo M, Lamb JA, Bonora E, Barnby G, et al. Screening of nine candidate genes for autism on chromosome 2q reveals rare nonsynonymous variants in the cAMP-GEFII gene. *Mol Psychiatry* 2003;8:916–24.
- [21] Hamilton SP, Woo JM, Carlson EJ, Ghanem N, Ekker M, Rubenstein JL. Analysis of four DLX homeobox genes in autistic probands. *BMC Genet* 2005;6:52.

Please cite this article in press as: Sugie Y et al. Study of *HOXD* genes in autism particularly regarding the ratio of second to fourth digit length. *Brain Dev* (2009), doi:10.1016/j.braindev.2009.05.005

【特集1：精神保健研究所のガイドライン研究】

知的障害児の医学的診断検査ガイドライン

Guideline of medical diagnosis and examination for children with intellectual disability.

稲垣 真澄¹⁾ 加我 牧子¹⁾

Masumi Inagaki Makiko Kaga

紹介ガイドラインの概要

名 称	知的障害児の医学的診断検査ガイドライン
作 成 者	加我 牧子 (精神保健研究所 知的障害部) 田中 恭子 (精神保健研究所 知的障害部) 堀口 寿広 (精神保健研究所 知的障害部) 稲垣 真澄 (精神保健研究所 知的障害部)
発 表 年 月 日	平成 15 年 3 月
研 究 費	平成 12 ~ 14 年度 厚生労働省科学研究費補助金 (こころの健康科学) 「知的障害児の医学的診断のあり方と療育・教育連携に関する研究」
省庁担当部局等	なし
入手・閲覧方法	http://www.ncnp.go.jp/nimh/chitekibu 精神保健研究所知的障害部 稲垣真澄

1. ガイドライン作成の背景

知的障害児は幼児期に精神運動発達や言語発達の遅れを主訴として小児科外来を受診することが多い。これらの児に多発小奇形がある場合、染色体検査を行なうことはほぼ共通している。しかし理学的所見が乏しい知的障害児に、医学的診断検査をどこまで行うかは主治医の考え方や診療現場の設備に影響されるなど議論がある。そこで知的障害の医学的診断と治療・療育のための検査として何を選択すべきかの指針が必要となってきた。今回、知的障害児の診断における医学的検査の現状について、専門外来を行っている医師に対する調査研究を踏まえた上で、患者ご本人にとって、より有益な検査バッテリーを作成することを目的として、一次医療機関、二次医

療機関、さらに専門機関に分けた形で知的障害児診断検査ガイドライン作成を図った。

2. ガイドラインの目的

このガイドラインは、知的障害の医学的診断検査を診療の場面での使用を目的として、発達障害専門外来にて診療中の小児神経科専門医に対する調査に基づいて作成された。三次医療機関で必要な情報や検査の過程を一次・二次医療機関で行うとすればどのような分担が望ましいか、について考慮した形式にした。本ガイドラインは知的障害のあるお子さんたちの全人的治療、リハビリテーションに役立てられることを目指している。

3. ガイドラインの概要・特徴

このガイドラインは、実際に臨床家が知的障害児を診療している場面で、役立つということを主眼に置いている。そのため16名の専門医が経験した症例の診療録に基づいた調査を基盤とした。とくに今回のガイドラインで注目しているのは、精神運動発達遅滞ないし言葉の遅れで初診し、理学所見がほとんどみられない小児における医学的検査ガイドライ

1) 国立精神・神経センター 精神保健研究所 知的障害部
Department of Developmental Disorders, National Institute of
Mental Health, National Center of Neurology and Psychiatry
〒187-8553 東京都小平市小川東町4-1-1
4-1-1 Ogawa-Higashi, Kodaira, Tokyo 187-8553, Japan

ンである。

構成は三部からなり、①開業小児科医、クリニック、検診場面での一次医療機関でのチェック項目と推奨検査項目、②総合病院小児科を中心とした二次医療機関での診察注意点、検査項目、③小児神経科専門医のいる専門施設、また発達障害を専門に診療可能な医療施設である三次医療機関におけるより専門性の高い検査項目に分けた点にある。

検査項目としては、中枢神経系の評価ができるような画像検査や聴覚障害の有無を意識した聴性脳幹反応など神経生理学的検査、知能発達検査などの心理検査に加えて染色体検査の重要性が指摘できる。これらの活用により、臨床症状のみからは確定診断の難しい脆弱X症候群や微細な染色体異常の診断につながるものと思われる。

4. 現在の学術・行政上の活用状況、効果、意義など

今回のガイドライン作成にあたり、後方視的な実態調査で現実の検査の状況と有所見率を確認するという新たな試みを行っており学術的意義が大きいと考える。欧米では原因診断のための検査状況について

ていくつかの報告があり、染色体検査の重要性の主張など重なる部分のある報告もあるが、それぞれ対象の選択が異なっており、今回の結果と同一の立場では比較できない。

知的障害児に対しては程度の差はあれ生涯にわたり医学的・教育的・福祉的アプローチが必要である。医学の面からは検査にかかる医療費対効果について不要な検査を省き必要な検査に集中することで医療費削減をはかれると考える。特に原疾患による精神遅滞の重症度や心理・神経心理学的特性を医学的検査によって明らかにすることで療育・教育の効率化を目指せると考えられる。

5. 今後の展望など

現行のガイドラインでは遺伝子検査のことまでは踏み込んで表現できていない。今後は、三省合同倫理指針などを考慮した形で、研究を進めてさらに包括的な「知的障害児診断検査ガイドライン」を提案していく必要性が感じられる。

6. ガイドラインの主要部分の紹介

一次医療機関（開業小児科クリニック、健診）

- 児について情報を得て、遅れがあるか否かを評価する。遅れの疑いがあれば、その旨を保護者に伝え、
- 評価の必要性について説明する。
- また合併症の可能性がないかどうかチェックする。

- 問診：家族歴、既往歴、胎生期・周産期の異常、発達経過
- 身体診察：身長、体重、頭囲、一般身体所見
- 聴覚障害の疑いがないか判断する。
- できれば遠城寺式発達検査や津守・稲毛式などの検査を行い、客観的な評価を行う。
- 二次専門療育機関にすぐ紹介する必要性がない症例でもその後の発達フォローが重要で、とぎれないようにすることが大切である。

本ガイドラインは次ページのように三部構成となっている。ガイドラインの中核となるのは第三部の三次医療機関における医学検査である。なお専門医療施設において医学的検査を行うとすれば、①正確な

診断に必要であること、②原因疾患や併存疾患を見落とさないようにすること、③治療やその後の対応についての情報が得られること、④遺伝子検査など倫理面の問題が解決されていること、⑤実施が比較

二次医療機関（総合病院小児科）

- 発達の遅れの確認。合併症の診断自閉性障害の有無の確認
- 自施設で実施可能な検査や得られる結果の意義を説明し、検査を実施することのメリット、デメリットにつき家族と相談する。診察・検査の結果および診断を説明し、療育・教育関係者とその後の対応について情報交換を行う。
- 療育・教育関係者とその後の対応について情報交換を行う。
- 自施設で実施が不可能であった検査や紹介可能な専門医療機関について情報を提供し、患者家族の意向を確認する。

- 身体診察：顔貌、外表奇形の有無、神経学的診察
- 発達の遅れの評価：領域や程度、障害特性
- 医学的検査
 - ・発達検査（遠城寺式・津守稲毛式など）
 - ・血液検査（血算、生化学）、尿検査
 - ・脳波
 - ・CTまたはMR
 - ・聴力検査（純音聴力検査、語音聴力検査聴性脳幹反応、耳音響放射）

三次医療機関（小児神経・発達障害専門施設）

的容易であることの五条件を絶えず念頭におかねばならないと思われる。

1. ガイドライン作成の背景

- 発達の遅れの原因や病態を明らかにし、診断を確定する。
- 結果および診断を説明し、療育・教育関係者との対応や情報交換する。

■医学的検査

▼必須

- ・発達・知能検査：
- ・染色体検査（Gバンド、FraX染色体、その他）
- ・誘発電位等（聴性脳幹反応、耳音響放射の確認、視覚誘発電位等）

▼できれば実施が望ましい

- ・SPECT
- ・事象関連電位

▼疑う所見があれば実施するのが望ましい

- ・代謝・内分泌検査
- ・心機能検査
- ・生検

特異的発達障害の診断・治療ガイドライン

稲垣 真澄¹ 小枝 達也²

はじめに

2002年の文部科学省の全国小中学校実態調査によると、通常学級の6.3%の児童生徒に学習障害 (learning disorders; LD) や注意欠陥/多動性障害 (attention deficit/hyperactivity disorders; AD/HD) などの発達障害が疑われると指摘された。実態はどうか、医学的疾患としてとらえられるのか、的確な診断・治療のためにはどのようにしたらよいか、というリサーチクエストを受けて、2007年度から「神経学的基盤に基づく特異的発達障害の診断・治療ガイドライン策定に関する研究」班が厚生労働省精神・神経疾患研究委託費課題としてスタートした。ワークショップでは2年間の研究成果を元に、診断、実態調査、検査法、支援法に関する研究の現状が述べられたが、本稿ではその内容を要約した。

I 臨床検査法とその異常

特異的発達障害の一つである発達性読み書き障害 (developmental dyslexia; DD) は、知的発達が正常かつ本人の勉強意欲が充分あり、教育環境の問題もみられないにもかかわらず、文字 (平仮名、漢字) の読み書きに特異的な障害を持ち、学業や生活に支障が生じている状態を指す。読みにおける正確性かつまたは流暢性の機能障害が指摘されているが、医学的診断に有用な読み機能検査法がこれまで存在しなかった。そこで、小学校普通クラスに在籍する児童の平仮名読み能力を明らかとすること、および読みのつまずきを主訴に外来受診した児童・生徒の「読字」「書字」の症状を尋ねることにより、DDの「診断手順」を作成することを目指して研究を行った。音読検査として、1) 単音連続読み検査、および2) 単語速読検査と3) 単文音読検査を作成し、通常学

級の児童に音読を求めた。また、読み書きのつまずきを主訴に受診した児童生徒の保護者に対して「読字」「書字」の症状チェック表を質問し、上記音読検査と知能検査 (WISC-III) との関連を検討した。

単音連続読み検査音読時間は性差のない発達的变化がみられ、小学校5年、6年は他学年より有意に早かった。また、誤読数は全般的に少なく、陽性例は特殊音節 (拗音、濁音、半濁音) の誤りが目立った。有意味単語速読検査では1年生で有意に遅く、学年とともに早くなった。無意味語音読時間も1年から4年まで徐々に早くなった。単文音読検査でも1年が有意に遅く、その後早くなり、5年と6年は類似し、発達の的に変化した。

症状チェック表と読み能力の関連では、平均学年4年、平均知能指数92を示した98名の保護者へのチェック表の信頼性分析では「読字」「書字」各13項目で α 係数0.72~0.82を示し、十分な信頼性があると判断された。児童生徒の音読検査全体では健常値比較で2.5~3.3SDと高く、全ての検査で成績低下を認めた児童が32%いる一方、健常値と異常値の混在も40%認められた。症状チェック表の該当項目数は児童の平仮名読み能力を推測し、読み書きのつまずきを主訴に外来受診する児童のスクリーニングに有用であることが示唆された。今後は、「読字」の5ないし6項目が該当する場合は、音読検査を行ってDD診断を進めていく手順が示された。

(国立精神・神経センター精神保健研究所知的障害部
稲垣真澄)

II 実態調査

わが国において読字障害 (Reading Disorder/Disability; RD) がどのくらい存在するのかについて、信頼できるデータは少ない。これまで諸外国で報告された有病率は、おおむね3~15%の範囲内にあるが、英語圏では多く、他の言語圏では少ないともいわれる。文部科学省によれば通常学級の中に軽度発達障害児は6%程度在籍するとされるが、この数字は高機能自閉症、LDおよびAD/HDの疑いのある児童を合わせたものであり、RD児の有病率はそれより低いと予想される。RD児をスクリーニングするための通常学級担任教師用質問紙を開発し、仙台市の小学生を対象とする母集団調査を実施して、RD (疑い) 児の推定有病率を明らかにすることとした。

「読みにつまずきのある児童」を評価する教師用質問紙を

見出し語 発達性読み書き障害、平仮名音読検査、疫学、機能的MRI検査、漢字読字書字支援

¹ 国立精神・神経センター精神保健研究所知的障害部

² 鳥取大学地域学部地域教育学科発達科学

連絡先 〒187-8553 小平市小川東町4-1-1

国立精神・神経センター精神保健研究所知的障害部
(稲垣真澄)

E-mail: inagaki(a)ncnp.go.jp

(受付日: 2009. 6. 23)

作成し、福岡県内の2小学校において予備調査を行い、項目の信頼性を検証した後、この質問紙を用いて仙台市における小学校児童の母集団調査を行った。行政区と学校規模から調査対象校を層化抽出し（特別支援学校を除く）、該当校の全学年通常学級在籍児童の中から担任教師が「読みにつまずきのある児童」を抽出し、その児童について質問紙に回答するという手続きをとった。質問紙は無記名で、児童の学年と性別のほか、A. 読みに関する8項目、B. 認知・行動面の特徴に関する4項目、C. 国語と算数の学力に関する2項目、D. 特記事項（知的障害、LD、AD/HD、広汎性発達障害（pervasive developmental disorders; PDD）の有無等）4項目、E. 回答者の属性3項目であった。

本調査では、全学校数126校（児童数54,543名）から22校が抽出され（抽出率17.5%）、そのうち21校（児童数8,510名）から回答があった（回収率95%）。このうち、担任教師が「読みにつまずきがある」と認めた児童は272名で、有効回答は271名分であった。ここで、RD（疑い）児の判定基準として次の3つを設けた。基準1：読み書きに何らかの問題があり、かつ、知的障害がない（推定含む）者、基準2：基準1を満たし、かつ、「文の音読」が「やや困難」あるいは「困難」な者（Aの8項目についてノンパラメトリック項目応答理論による分析から設定）、基準3：基準2を満たし、かつ、国語に「2学年以上の遅れがある」者（1・2年生では、「他児に比べ明らかに遅れている」者）。その結果、基準1を満たした者は232名（2.7%）、基準2を満たした者は184名（2.2%）、基準3を満たした者は62名（0.7%）であった。また、すべての基準において男女比は約3：1であったが、最初の抽出段階で教師によるバイアス（男児の読み能力が女児より低く評価される傾向）がかかった可能性もある。今後、質問紙と読字障害診断手順を併行実施し、推定値および判定基準の妥当性を検証する必要がある。

（東北大学大学院教育学研究科 細川 徹）

Ⅲ 非侵襲的脳機能画像所見の特徴

機能的MRIをはじめとする非侵襲的機能画像法は、侵襲が少なく繰り返し検査を行うことができるため発達経過や治療的介入に伴う変化を追うことが可能であり、発達障害のメカニズムの解明や治療法の開発における有用な研究手法となりうる。DDの罹病率の高い欧米では、すでに多くの機能的MRI研究が行われコンセンサスのある知見が得られている。すなわち、英語をはじめとするアルファベット言語では、音韻処理を行う左頭頂側頭部の活動が初期の読みに、単語の形態認識を行う左紡錘状回が習熟した読みに関わるが、発達性読み書き障害児では左頭頂側頭部と左紡錘状回の両者の活動が不良である。

日本語においては、読みの習熟に伴う脳活動の発達の变化については報告がなく、発達性読み書き障害の神経基盤に関する研究も極めて少ない。関らは仮名の読みの習熟に伴う脳

活動の発達の变化の確認と読字障害児の神経基盤にもとづく類型化を目的に、仮名の読みの習熟過程にある学童期の健常児および読み障害児を対象とする機能的MRI研究を行った結果を報告した。

対象は通常学級に在籍する小学2～6年生20名で、全例に研究班で作成した音読課題を行い、①学年平均の2SD以上の項目が2項目以上存在する、②臨床症状のチェックで読字・書字における困難が複数存在する、をともに満たす者を読み障害群とした。11名が健常児群、9名が読み障害群（うち既診断7名）に分類された。機能的MRIはひらがな単語の黙読（絵とのマッチング）を課題とした。NTTデータベースより音声単語親密度5以上の単語を選び、小学2～6年生40名に平仮名で書いた時の親密度を5件法で尋ね、高親密度10語（a）および低親密度語10語（b）を選出した。これらの単語とモーラ数の一致する偽単語20語（c）、非単語20語（d）、および無意味図形列20個（e）をランダムに提示し、絵と一致するかを判断させた。撮像はSIEMENS MAGNETOM Symphony 1.5 Tを用い、Gradient Echo EPI法（TR 4秒）により行った。1セッションは25刺激（約4分）とし、4セッションに分け、解析はSPM 5を用い、刺激語の種類（a～d）による賦活部位を求めたのち、グループ解析により読み障害群の群間比較、音読課題成績との相関を検討した。

仮名文字（a + b + c + d）で賦活を認めた部位は、両側下前頭回、頭頂葉下部、紡錘状回であった。健常児群では、読み障害児群に比べ両側紡錘状回および左中脳～橋に強い賦活を認めた。健常群児において、左頭頂葉下部の活動が単音連続読みの音読時間の短縮と有意な相関を示したが、読み障害群では、症例による異なる結果であった。高親密度語と非単語の比較（a - d）では、健常児群では左紡錘状回により強い賦活を認めたが、読み障害児では有意な部位を認めなかった。

以上より、音韻処理を行う左下頭頂小葉の活動が仮名の音読能力の向上と関連することが確認された。また、健常児では高親密度語で左紡錘状回に強い活動を認め、この部位が仮名单語の習熟した読みに関ることが示唆された。読み障害群では、左紡錘状回下頭頂小葉の活動が不良であった。表音文字である仮名については、アルファベット言語と同じ神経基盤が関与するといえる。

（鳥取大学地域学部地域教育学科発達科学 関あゆみ、内山仁志、小枝達也）

Ⅳ 読み書き障害の指導と治療—大阪医科大学LDセンターのアプローチ

読み書き障害に対する大阪医科大学LDセンターの取り組みを紹介した。

学習困難の訴えには、学習の基本的技能の障害（学習障害）だけでなく、全般的知的発達の遅れや注意集中障害、学習に対する姿勢の未修得など発達障害全般に広く認める問題が関与していることが多い。学習に関する訴えを外来で整理し、

学習技能や認知能力の検査結果とあわせて鑑別診断する。必要があれば、眼科、耳鼻科への紹介、画像や生理検査、合併する発達障害やその他の医療処置を必要とする問題点への対応、投薬を行う。

読み書き障害に対して「読み書き障害用の指導法」といった一定のプログラムはなく、個々の学習技能の状況や認知能力、注意集中度、学年などに応じた個別のプログラムが必要である。異なる領域を専門とする指導員による幅広いプログラムを用意できれば有利である。ワークショップでは、各領域の一般的な指導の具体例を紹介した。

臨床現場では、読み書き障害のほかにAD/HDやPDD、発達性協調運動障害、言語、視覚などの認知の問題を併せ持つ子どもが多い。読字・書字の訓練のほかに言語、視覚認知や眼球運動、注意機能、上肢巧緻性の訓練を併せて行うと有用である。大阪医科大学LDセンターでは、読字・書字、言語の訓練は言語聴覚士が原則として少人数のグループで、視機能はオプトメトリストが、上肢の協調運動は作業療法士がそれぞれ個別で指導する。

読字・書字では拗音、促音、長音など特殊音節の音韻の認識や「は」「へ」「を」など助詞の知識、漢字の読みと意味、漢字の形態の習得を手助けする。一方で、自発的に表出できる単語が乏しいと文の流暢な読みにつながらないため、仲間集めやスリーヒントクイズで語彙力をつける。また、聴覚提示された文の聞き取り練習や、課題の中で見直し、振り返りを意識させることで学習中の注意の働きを訓練し、習得したことの積みあげをめざす。上肢の協調運動や眼球運動の巧緻性は読字・書字だけでなく多くの学習技能に必要である。作業療法、視機能訓練により感覚と運動の協応、両眼視、先行注視の維持や視覚的注意力を養う。以上のような専門的な訓練のほかに、より一般的な配慮事項も平行して行う。たとえば、座面の工夫、作業台の傾斜、鉛筆のグリップ、教材の拡大や分ち書きなどである。他児と異なるやり方を嫌がる子どもが多いが、実際に体験して有効なことを実感すると抵抗感が減るようで、自己受容にもつながるので有意義である。

また、地理的にLDセンターに通うことができなくても学校(通級教室を含む)や塾で個別指導が可能な場が見つかった子どもには、その子ども用の指導プログラムを作成して手渡し、指導の参考にしてもらっている。ただし、そのような適切な個別指導の場が見つからなくて苦慮することもまだ多い。

学習困難に医療が関与することは比較のまれではあるが、リハビリテーションなど医療の中の機能を活用すれば可能となる手助けも多い。学習技能の評価や認知評価は各学年の対照データが十分にそろっておらず、子どもの状態を把握するのに苦慮する。また、専門機関や教育現場の個別指導の場につながることができない子どもが多いのが現状で、今後の早急な整備充実が待たれる。

(藍野大学医療保健学部 若宮英司)

V 学習障害児における読み書きの発達支援— 東京学芸大学のアプローチ

日本語はひらがなと漢字の2種の文字を併用するため、読字書字障害は複雑な様相を示す。ひらがなの読み支援に関して、我々は単語を視覚的に探索する課題や、意味的に関連した単語を読み指導に先立って読ませる手続き、さらに意味に基づく単語の探索課題によって、読みの流暢性は改善することを指摘した。これより、読み指導の結果、指導単語以外の単語への波及は難しい傾向にあるが、指導単語の読みの流暢性は改善傾向を示すことが明らかになった。特に、RD児は、文の情報を利用し、文脈に沿って単語を読んでいるという知見が示されている。これらを考慮すると、課題文章の内容についての意味理解をはかり、文章中に出てくる単語の読みの流暢性を促進することによって、課題文章の読みが改善可能であることを指摘できる。その際、課題文章の読みの流暢性が達成されても、その波及効果は少ないので、課題文章と類似した文章を呈示することで読める文章の範囲を上げ、読みに対する動機づけを高めることが重要であろう。

漢字の読み支援に関しては、年長のRD児において大きな困難になっていることが指摘されている。我々は、聴覚記憶が弱い事例で、漢字単語についての視覚的イメージが乏しい場合に、漢字単語の読み習得が著しく難しくなることを示した。学習に先立って、写真やイラストなどを用いて、漢字単語の読みについての視覚的イメージを形成しておくことが読みの学習を促進する上で有効なことが指摘できる。

書字の支援に関しては、対象事例がRDを伴う事例であるか、書字のみの障害であるかに依存して、支援手続きが異なる。読字障害を伴う事例の場合には、読字指導とあわせた支援が不可欠である。その際、読み方が複数ある漢字や、抽象性が高い漢字単語は、読字と書字がともに困難になるので、漢字の特徴を考慮した支援が必要である。書字のみの障害事例の場合には、認知特性を考慮した支援が有効である。視空間認知に弱さがあるが、聴覚記憶が良好な事例では、漢字を構成するブロックを言語化し、言語情報を媒介として書字支援をはかる手続きの有効性が報告されている。また、漢字の構成要素の位置に関する情報を、色情報と共に呈示する手続きが効果的であることが報告された。視空間認知は良好であるが、聴覚記憶に弱さが見られる事例に関する報告は少ない。我々は、漢字を構成するブロックの視覚的まとまりを促し、ブロック単位ごとの書字習得をはかる方法が、有効であった事例を認めた。

読字書字障害は、年齢によってひらがな・漢字の困難の様相は異なる。子どもにとって努力可能な学習課題により、読字書字の改善が生じることを経験することは、各年齢段階で共通して大切である。それにより学習に対する効力感を形成し、生活場面での文字に対する動機づけを図ることが可能になる。

(東京学芸大学教育学部 小池敏英)

AD / HD の 神 経 科 学

—抑制系と報酬系に焦点をあてて—

稲垣 真澄¹ 相原 正男²

はじめに

注意欠陥／多動性障害 (AD/HD) の典型例が示す中核症状に、多動／衝動性、不注意があげられる。その中枢神経機構として、2003年にSonuga-Barkeが提唱した抑制系と報酬系に焦点をあてた‘The dual pathway model of AD/HD’があげられる。これは、Barkleyが1997年に提唱した理論 (A unifying theory of AD/HD) を発展した病態モデルであり、AD/HD児の症状が実行機能システムの破綻とあるいは報酬系システムの障害によって、実に見事に説明されるものである。

本夜間集会では、先端的な研究を進めている演者によりセミナーという形式をとって、AD/HDの抑制系と報酬系の研究エビデンスの現状に始まり、動物モデルにおける基礎研究の方向性や臨床例についての非侵襲的脳機能研究を広く、紹介いただいた。本稿はそれらをまとめたものである。

1. 抑制系と報酬系研究のエビデンス

AD/HDは、不注意、多動／衝動性という行動上の特徴によって診断される行動および情緒の障害であるが、その背景には神経生物学的な基盤があることが示唆される。たとえば、不注意は、持続的注意、選択的注意、記憶・計画といった認知プロセスにおける障害によって、多動性—衝動性は、認知や行動面の制御、活動レベルの調整によって説明され、それぞれ対応する神経ネットワークの機能不全が示唆される。それらの視点から、研究のエビデンスをまとめた。

1990年代後半にBarkleyらは、AD/HDの病態を行動抑制

の障害によって説明した。実際、抑制系をはじめとする実行機能課題遂行時の脳活動を脳機能画像により調べると、前頭前野、前部帯状回などの低賦活が報告されている。

また、実行機能課題の成績は、AD/HD罹患の有無と有意に関連するが、そのオッズ比は課題によって異なり、他の要因の関与を示唆していた。近年の脳機能画像研究では、AD/HDの児童および成人において、ギャンプリング課題やMonetary Incentive Delay課題を実施すると、海馬や前部帯状回、側坐核を含む腹側線条体、眼窩前頭皮質などの賦活が低いことが示唆される。これらの知見をもとに、Sonuga-Barkeは、AD/HDの中核障害が抑制系の障害だけではなく、報酬系の障害、具体的には遅延報酬の獲得を指向して待つことができないことから説明が可能であることを示唆している。Solantoらによれば、抑制系の障害と報酬系の障害はAD/HDの罹患に同程度関与しており、両者を含めることで9割近い判別が可能であると報告している。

次に、AD/HD治療薬との関係を検討した。中枢刺激薬 methylphenidate (MPH) は、ドパミントランスポーター (DAT) ならびにノルアドレナリントランスポーター (NET) の再取り込み阻害薬であり (親和性は DAT:NET=10:1)、服用すると前頭前野のドパミンとノルアドレナリンの細胞外濃度が上昇し、線条体、側坐核ではドパミンの濃度が上昇する。一方、ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 atomoxetine は、ノルアドレナリントランスポーターの再取り込み阻害薬であり、前頭前野ではドパミンとノルアドレナリンの細胞外濃度を上昇させるものの、線条体、側坐核のドパミン濃度に影響を与えない。MPHを服用すると、抑制系の機能が改善するが、この改善には前頭前野だけでなく、線条体領域の活動も影響していると示唆される。一方、報酬系の課題を行ったときには、そうでない課題に比べてドパミン放出が促されやすい。これらは行動の動機付けやリスクの回避という点でも重要である。また、AD/HDの児童では、事象関連電位において報酬損失時の反応が大きいたことが示唆されるが、このような報酬系の障害は二次障害との関連が示唆され、MPHが報酬系への作用をもつことは好ましい影響をもたらさう。しかし、ネガティブな側面は依存リスクであろう。しかしながら、臨床データ

見出し語 注意欠陥／多動性障害、抑制系、報酬系、非侵襲的脳機能検査

¹ 国立精神・神経センター精神保健研究所知的障害部

² 山梨大学医学部小児科

連絡先 〒187-8553 小平市小川東町4-1-1

国立精神・神経センター精神保健研究所知的障害部
(稲垣真澄)

E-mail: inagaki(a)ncnp.go.jp

(受付日: 2009. 7. 17)

は矛盾する所見を示しており、中枢刺激薬によるAD/HD治療がむしろ依存リスクを下げることを示唆される。そもそもAD/HD患者では依存リスクが高いことを考え合わせると、AD/HD患者は報酬系の機能不全を自己治療する目的で依存性薬物を摂取しがちであるが、中枢刺激薬の投与を受けた場合、自己治療のリスクを減らすことに繋がるのかも知れない。非中枢刺激薬は、側坐核のドーパミン系へは影響を与えないことから依存性がないものの、その効果は限定される可能性がある。しかし、実際の効果プロフィールには大きな差は認められていない。また、依存発生の保護効果があるかどうかについても検討を要するものと思われる。

(京都大学医学部精神医学 岡田 俊)

2. AD/HD モデル動物における報酬系機能障害

AD/HD患者では薬物依存のリスクが高いことが知られており、その原因としてMPHなどの中枢神経刺激薬による治療が原因である可能性がこれまで考えられていた。しかし、後の大規模な解析により、小児期におけるこれらによる適切な治療はむしろ薬物依存リスクを低下させることが示されている。このことは、AD/HD患者では報酬系機能障害が生じており、薬物依存に脆弱であることを示唆している。しかし、AD/HD患者における報酬系機能障害の病態メカニズムはほとんどわかっていない。

病態メカニズムを解明する上で、モデル動物の解析は有効なアプローチの一つである。AD/HDのモデル動物はすでに各種提案されており、精力的に解析が進められている。これらの中で、ドーパミントランスポーター欠損(DAT-KO)マウスはAD/HDの最も典型的なモデル動物の一つと考えられている。DATは、ドーパミン神経の神経終末の細胞膜に局在しており、放出されたドーパミンを Na^+/Cl^- 依存性に再取り込みする膜タンパク質である。MPHは、methamphetamineやcocaineと同様に、DATのはたらきを阻害するので、シナプス間隙に放出されたドーパミンが高濃度になり、ドーパミン神経伝達を亢進させる。

池田らは、曾良らが作成したDAT-KOマウスにおいて多動およびMPHによる鎮静効果を観察した。また、意欲レベルを評価するために行った尾懸垂試験では、DAT-KOマウスにMPHを投与すると野生型マウスと同様に活動量が上昇した。つまり、MPHによるAD/HD患者の意欲向上効果と類似した薬効がDAT-KOマウスでも示された。さらに、注意欠如を評価するために能動回避試験を行ったところ、野生型マウスやヘテロ型マウスが日を追って回避行動を学習したのに対して、DAT-KOマウスはほとんど学習しなかった。しかし、MPHを投与するとDAT-KOマウスも学習するようになった。このように、DAT-KOマウスは野生型マウスとは異なるMPH反応性を示し、AD/HD患者と健常者におけるMPH反応性の違いと対応するものである。以上より、DAT-KOマウスは極めて典型的なAD/HDモデル動物と考えられた。

また、池田らはこのAD/HDモデル動物における脳内報酬系の異常を、脳内自己刺激試験法によって調べた。野生型およびDAT-KOマウスの外側視床下部に刺激電極を植え込み、マウスが床にあげた穴を覗くと電気刺激がなされるようにしたところ、DAT-KOマウスは野生型マウスと比べて電気刺激による報酬に強い固執を示した。つまり、DAT-KOマウスは報酬系機能障害を示すことが明らかになったのである。AD/HDモデル動物で認められた報酬系機能障害は、AD/HD患者における報酬系機能障害に対応する可能性があり、さらなるモデル動物の解析によってAD/HDの報酬系機能障害の病態メカニズムが明らかになることが期待される。

(東京都精神医学総合研究所・精神生物学研究分野 池田和隆)

3. AD/HD 児の抑制系機能障害—非優襲的脳機能研究

反応抑制に関連した事象関連電位である‘NoGo電位’は、刺激提示後200~300msecに出現するN200成分の振幅が‘非標的刺激’提示後に増高することが以前より知られている。AD/HD児ではこのN200成分の振幅が減衰しているという報告が多いが、刺激提示後300msec以降に出現するP300成分の方が反応抑制機能と強く関連しているという研究もあり、AD/HD児の抑制系機能障害を反映する成分がN200、P300のいずれなのかについての見解は一致していない。この問題を解決するため、従来の行動学的解析・事象関連電位の解析に、重要な実行機能であるスイッチング機能との関連を考慮に入れたアプローチを行い、非標的刺激に対する行動データと事象関連電位をスイッチ試行と繰り返し試行の間で比較・検討した。スイッチ試行においては抑制系に対する脳活動の動員が必要と考えられる。このため、事象関連電位に与える反応スイッチングの影響を解析することで、それぞれの成分がどのように抑制系に関与しているかを検討した。

行動学的には、6~15歳のAD/HD児35名と定型発達児33名を対象とし、視覚性CPT課題を10分間施行した。反応時間、反応時間のばらつき、見逃しエラー率、お手つきエラー率について繰り返し試行とスイッチ試行に分けて比較・検討したところ、両群とも繰り返し試行に比してスイッチ試行のお手つきエラー率が增大したが、AD/HD児群ではその増加分(スイッチコスト)が定型発達児群に比べて有意に大きかった。さらに、AD/HD児群の行動パラメーターのうちスイッチ試行に対するお手つきエラー率は、AD/HD症状の多動・衝動性と正の相関を示す可能性が示唆された。

一方、10~13歳のAD/HD児(12名)、定型発達児(12名)に対して同課題を5分間施行している際の脳波を国際10-20法19chでデジタル記録し、試行ごとに20回平均加算した。陰性成分N200、陽性成分P300の振幅・潜時を比較・検討した。その結果、診断グループ内比較では、定型発達児群の陰性成分N200の振幅が繰り返し試行に比して、スイッチ試行で有意に増高していた(C3/Cz/P3/Pz電極)が、AD/HD児群ではこの効果は認められず、頭頂部の電極(Pz)におい