

29-6 発達障害の治療法の確立をめざすトランスレーショナルリサーチ

主任研究者 国立精神・神経医療研究センター

一戸 紀 孝

総括研究報告

1. 研究目的

自閉症は近年、自閉症スペクトラム障害（ASD）と呼ばれるように、多くの原因からなる多様な疾患を含むと考えられている。また、ADHD, LDなどの発達障害を併発することが知られている。当研究はヒトに近い霊長類マーモセットを用いたASDモデルによる研究と、ヒトのASDと併発する発達障害の研究を並行して行い、それぞれのメリットを活かして、ASDに関する理解を深め、病態生理、バイオマーカー、行動発達特性、診断法、治療法に迫ろうとするものである。

動物モデルグループはバルプロ酸母体投与で作成された自閉症霊長類モデルマーモセットを用い、侵襲的な実験を含むことのできるメリットを利用して、行動学的、分子生物学的、脳形態的（イメージングを含む）、電気生理学、薬理学的手法を含む集学的な方法で、総合的に検討を行い、行動、脳形態、分子生物学的なレベルで、この自閉症様モデルの統一的な理解をし、治療法の開発、バイオマーカーの発見を目指す。

発達障害臨床グループは、多様なアプローチを用いて、自閉症および併発しやすい発達障害の行動学的特徴の定量化、生理学的・遺伝子的・細菌学的バイオマーカーの検討、コホート的早期発見と予後の追跡、行動学的・薬理学的治療法の検討を行い、動物モデル班に実際のヒトASDおよび類縁疾患のフィードバックを行い、同時に、実際の自閉症を含む発達障害の臨床的診断、治療の道を追求する。その際に、動物行動グループからのデータを活かしていくことを目的とする。

2. 研究組織

主任研究者

一戸 紀孝 国立精神・神経医療研究センター

分担研究者

川合伸幸	名古屋大学
郷 康広	自然科学研究機構・新分野創成センター
稻垣真澄	国立精神・神経医療研究センター
中川栄二	国立精神・神経医療研究センター
北 洋輔	国立精神・神経医療研究センター
加賀佳美	国立精神・神経医療研究センター
小枝達也	国立成育医療研究センター
山下裕史朗	久留米大学

功刀 浩 国立精神・神経医療研究センター
神尾陽子 国立精神・神経医療研究センター
高橋秀俊 高知大学
山末英典 浜松医科大学

3. 研究成果

ASD モデルマーモセットの大脳皮質の発達に沿った遺伝子異常を検討した。発達期に関しては、新生児期、ASD の診断がなされる小児期、およびそれ以降である思春期のデータの取得・解析を行った。そのデータを、米国の孤発性 ASD 遺伝子異常バンクと比較を行った。その結果、小児期と思春期の異常遺伝子とヒト孤発性 ASD の異常遺伝子はよく相關していることが見出され、モデルマーモセットが孤発性 ASD 研究のために有用な動物であると考えられた。興味深いことに、モデル動物の新生児期の発現異常遺伝子は、小児期や思春期の発現異常遺伝子とは異なった遺伝子群であり、ヒトの ASD も新生児期ではその後の遺伝子異常とは異なる遺伝子変化が起こっていることが示された。これはヒト ASD の治療法に関して、時期特異的なターゲットを考慮に入れなければならない可能性を示している。また、ラットでのバルプロ酸による ASD モデル動物の皮質発現異常遺伝子とマーモセットの発現異常遺伝子との共通性はほとんどなく、同じバルプロ酸の投与でも、ラットとマーモセットはバルプロ酸により異なる遺伝子発現変動が起こっていることが示された。また、ラットの遺伝子変動に関しては、ヒト ASD との相関は見られず、霊長類特異的な遺伝子発現変化が想定された (Watanabe ら, 投稿準備中)。

ZD3 という左右の社会脳をつなぐ交連繊維の形成に重要であると想定されていた遺伝子が新生児期で低下していることが示された。そこでこの FZD3 の機能に関して、マーモセットで DTI を用いて検討した。その結果、想定通りに交連繊維の形成異常がモデル動物で見出された。ASD で知られている左右交連繊維の障害の原因遺伝子として、FZD3 の寄与があると考えられた。これは初期の交連繊維の発達異常の治療法として、FZD3 をターゲットにした方法の有用性を示したと言える (Mimura ら, 2019)。

ASD の症状にはシナプス障害があるとされている。そこで、我々は遺伝子変化と同様に、シナプス機能・構造の異常に關して、発達期に沿った解析を行った。その結果、マーモセットの思春期ではヒト孤発性 ASD

と同様に興奮性シナプスが過剰に発達していることが示された。しかし、新生児期には、逆に興奮性シナプスの数が低下していた。また小児期特異的に異常発現 LTD (可塑性を示すマーカー) が観察され、興奮/抑制比の低下も見られた。これらのこととは、ASD の時期特異的なシナプス異常の存在を示しており、異常遺伝子発現と並んで、時期特異的な治療法ターゲットを考える必要のあることが示された。

また遺伝子の解析では、ミクログリア、アストロサイト、オリゴデンドロサイト関連遺伝子の異常が認められた。そこで我々は、ミクログリア関連マーカーである Iba-1 免疫組織化学をおこない、モデル動物のミクログリアが過剰活動していることを見出した。このことは、自閉症免疫仮説とあっていと考えられた (Sanagi ら、2019)。

マーモセットが、不公平忌避を示すかを実験的に検討した。その結果、公平な報酬の時はコントロール群・モデル動物群とともに 90%以上の課題遂行率を示した。それに対して、不公平な報酬の時では、コントロールマーモセットは、不公平忌避を示し、モデルマーモセットは不公平忌避を示さないことが明らかになり、胎生期バルプロ酸曝露は、個体の社会性に大きな影響を与えることがさらに示された (Yasue et al., 2018)。

臨床グループは、自閉症およびその関連発達障害に関して、多方面からの検討を行ない、これらの発達障害における病院および社会での実装的な研究を行った。多動性の客観的指標として一定時間内の身体活動を活動量計により定量的に測定した。多施設共同で研究を進め ADHD 児 84 名（男児 73, 5.0-14.9 歳）、ADHD+ASD 児 59 名（男児 54, 5.0-15.3 歳）および TD 児 105 名（男児 50, 4.1-15.0 歳）の活動量（10 分間）の結果から ADHD 児のみ TD 児より活動量が高値になる傾向が示された。ADHD+ASD 群は TD 群と有意差はなかった。すなわち活動量に基づく多動性の診断メニューは ASD 併存の有無と年齢に応じて作成する必要があることが明らかになった。

脳波 (ERP)、近赤外線スペクトロスコピー (NIRS) による非侵襲的脳機能指標や行動学的指標を活用し実行機能評価を行い、ASD の生理指標として「社会性課題」を作成し、定型発達児では Feedback related negativity: FRN が年齢変化するを見出した。

また脳波ネットワーク解析では ASD のネットワークパターンが異なる可能性が示された。415 名の小学生のコホート調査を実施し、算数障害の早期発見と早期介入に必要なスクリーニング検査として新たに「数的基礎力検査」を開発し、その基準値を設定した。また、算数障害の背景にある認知特性を探り、数の大きさの表象課題（数直線課題）が鋭敏かつ重要であることを明らかにした。

比喩皮肉文テストでは ASD とコミュニケーション障

害との間に社会機能的な言語能力の差異は認められなかった。外来通院中の発達障害患者についてグアンファシン塩酸塩 (GXR) が入眠時脳波や併存するてんかんや他の併存症に与える影響や効果について検討した。GXR はてんかんや脳波異常を伴う ADHD に対して治療効果を認め、朝方の日常生活機能を改善する。併存する反抗挑発症と睡眠障害に対する有効性も見出された。抑肝散が睡眠障害と QOL 改善に有効である事も見出した。

ASD 児をもつ母親が受講したプログラムから養育レジリエンスを向上させる要因を抽出した。すなわち、保護者が子どもに適切な期待をもちつつ、子どもに身につけさせることに困難を抱えている基本的生活習慣（食事、睡眠、排泄、清潔、衣服の着脱、朝もしくは夜の一連の行動、礼儀）に取り組むことで、これらについて成功体験をもつことであった。養育レジリエンス向上に特に有用な要素をコアにした ASD 児をもつ保護者のニーズに合ったスペシャルメニューを開発し得た。

オキシトシンとドーパミン神経系・セロトニン神経系の相互作用が ASD 者と TD 者で異なることを見出した。ASD 児で変動のある腸内細菌群の検索を行った。

4. 研究成果刊行一覧

1. Mimura K, 途中 12 名, Ichinohe N*. Abnormal axon guidance signals and reduced interhemispheric connection via anterior commissure in neonates of marmoset ASD model. Neuroimage , 2019, 195:243-251
2. Sanagi T, 途中 4 名, Ichinohe N*. Segmented Iba1-Positive Processes of Microglia in Autism Model Marmosets. Front Cell Neurosci. 2019, 13:344.
3. Komatsu M, Kaneko T, Okano H, Ichinohe N. Chronic Implantation of Whole-cortical Electrocorticographic Array in the Common Marmoset. J Vis Exp. 2019, (144).
4. Owada K, 途中 27 名, Yamasue H*. Quantitative facial expression analysis revealed the efficacy and time-course of oxytocin in autism. Brain 2019; 142: 2127-2136.
5. Takahashi H, Nakahachi T, Stickley A, Ishitobi M, Kamio Y. Relationship between physiological and parent-observed auditory over-responsiveness in children with typical development and those with autism spectrum disorders. Autism, 22, 291-298, 2018.

マーモセット自閉症モデルに有効な薬物の開発

分担研究者 一戸 紀孝

国立精神・神経医療研究センター

緒 言

高度な社会性/コミュニケーションと知性をもつ霊長類マーモセットは、精神・神経疾患モデルとしてげつ歯類よりも質的に高い評価に耐えると考えられる。我々は昨年度までの開発費の研究として、妊娠マーモセットの妊娠中期に抗てんかん薬バルプロ酸を1週間投与した際の産出仔が自閉症様行動を取ることを示した(Yasue et al., 2015, 2018)。我々はこのようにして産出した動物を自閉症スペクトラム障害(ASD)のモデルマーモセットとしてさらなる研究を展開している。当該年度は、このASDモデルマーモセットの行動異常の脳基盤を探るために、遺伝子発現検出法、スライスピッチクランプを用いた薬理学的手法、および免疫組織化学やDTIを用いた形態学的手法を用いて、集学的な研究を行った。また、ヒトと同様なバイオマーカーを検出するための技術開発を行った。

方 法

①モデル動物の脳遺伝子発現の検討

自閉症の病態の背後には遺伝子自体の異常と、遺伝子発現の異常があると考えられている。本モデルは、遺伝子発現に影響を与える、エピジェネティックな手法で作成されている。その遺伝子発現の異常に關して調べた。解析に関しては、P0, 2M, 3M, 6M、成体(1Y6M以降)と発達に沿って、大脳皮質の6カ所から遺伝子発現解析のための検体を採取した。P0は新生児、2M, 3Mは小児期、6Mは思春期前期と考えられる。その検体からマイクロアレーを用いて、遺伝子発現のデータの取得を行なった。

a. モデル動物の遺伝子発現とヒト孤発性遺伝子発現との比較

本モデル動物の妥当性を調べるために、ヒト孤発性ASDの遺伝子発現との比較を行なった。現在、ヒト孤発性ASDに関しては、米国において大きな情報バンクがある。この情報バンクは診断が確定する小児期から成人のデータを含んでいる。このヒトの孤発性ASDの遺伝子発現異常とマーモセットモデル動物の遺伝子異常の間の相関関係を調べた。

b. 新生児期の異常発現遺伝子の機能的検討

新生児期に特に発現の異常の程度が高い遺伝子を調べ、その機能的意義について新生児脳の形態についてDTIを用いて検討した。

c. 異常発現遺伝子のインフォーマティクスによる解析

異常発現遺伝子をgene ontology、pathway解析ソフトなどを用いて機能的意義づけについて検討した。

②モデル動物のシナプス解析

ASDはシナプス病であると言われている。そこでシナプスの形態と機能について調べた。

a 大脳皮質細胞への興奮性入力量の解析

a-1. 解剖学的解析

皮質の錐体細胞の樹状突起棘(スパイン)は興奮性入力を受ける構造であり、その数を数えることにより、興奮性入力の数を知ることができる。神経細胞に染色物質を注入して、神経細胞全体の形態を可視化し、基底樹状突起上のスパインの密度および総数について検討した。この検討も発達期の時間軸にそって、多数の皮質領野について行なった。

a-2. 電気生理学的解析

内側前頭前野の生体外スライスを作成し、電気生理学的にmEPSPを計測することにより興奮性の入力数を検討した。この際、検討した時期は新生児期(0d), 小児期(3M), 思春期(6M)であった。以下の、シナプス関連の実験は、本実験と同じ条件で行われた。

b. 興奮性入力/抑制性入力比(E/I ratio)の検討

E/I ratio は自閉症の発症にとって重要と考えられている。この E/I ratio を計算するために mIPSP を記録し、mEPSP/mIPSP を E/I ratio として計算した。

c. シナプスの可塑性の検討

シナプスの可塑性は脳回路の改変能力を検討するための重要なファクターである。これまで齶歯類 ASD モデル動物において、long-term depression(LTD)に異常があるという報告がある。そこで、マーモセットモデルでも、皮質の深部の 1 Hz 刺激を行い、EPSP の変化を調べた。

d. モデル動物のシナプスのフェノタイプと並行して動く発現異常遺伝子の同定

前頭前野からとった皮質組織のモデル動物と正常動物の遺伝子発現解析を行い発現異常遺伝子と発達時期にそったシナプスパラメーターの異常の相関を調べた。

e. 小児期における鳴き声の発達の異常

新生児期から小児期にすでにシナプス異常があることが示されたので、ヒトの ASD が診断される小児期にマーモセットのコミュニケーションの道具であるコールについて調べた。コールは防音室に隔離して 5 分間の録音が行われ、コールは 12 種類に分け、その頻度を調べた。

③ グリアの異常の検討

ジーンチップによって、グリア細胞関連遺伝子の発現異常を調べた。また、

上のグリア関連遺伝子の発現異常の結果に相当する、形態的表現形があるかに関して、iba-1 免疫組織化学およびミエリンの電顕的解析によって検討した。

④ 脳の機能的異常のアッセイ

a. イメージングによる解析

他のマーモセットが餌をとっている映像を見せ、上側頭溝において他者認知に関わる脳活動のモデル動物に関する異常を、内因性光イメージングにより検討した。

b. 電気生理学的検討

モデル動物の脳活動の異常を検討するためにマーモセット用の ECoG 法の開発を行った。

結果—考察

① モデル動物の脳遺伝子発現の検討遺伝子

a. モデル動物の遺伝子発現とヒト孤発性遺伝子発現との比較

3ヶ月以降の発現異常遺伝子は、ヒトの小児期から大人までのデータを含んだデータベースの遺伝子発現異常と強い相関が見られた。このことは、モデル動物が孤発性 ASD のモデルとして遺伝子の観点から見ても、人の状況を再現していることが出来、遺伝子としての治療ターゲット遺伝子の開発において有用な動物であると思われる。しかし、P0 のマーモセットの異常発現遺伝子は、マーモセットの 3カ月以降のパターンおよびヒトの異常発現遺伝子と P0 の発現異常遺伝子との相関は見られなかった。これはこれまで、検討することの出来なかった新生児期の異常発現遺伝子群の同定が可能になったと考えられ、ヒトの自閉症を考えにおいて、極めて重要で新しい知見だと思われる。

b. 新生児期の異常発現遺伝子の機能的検討

P0 でもっとも低下している遺伝子は FZD3 であった。この遺伝子は左右の皮質を結合する前交連の発達に重要だと考えられている。そこで P0 のマーモセットの前交連を DTI を用いて調べたところ、やはり縮小していることが見出され、齶歯類の遺伝子機能に関する知見が、マーモセットを介して、同様な機能を持っていることを示したということと、ヒトで見られる交連纖維の発達異常に関わる遺伝子に関する情報を提出した。

c. 異常発現遺伝子のインフォーマティクスによる解析

異常発現遺伝子の pathway 解析の結果、synaptogenesis 関連遺伝子や臨界期関連遺伝子群に異常があると考えられた。

②モデル動物のシナプス解析

a 大脳皮質細胞への興奮性入力量の解析

a-1. 解剖学的解析

モデル動物はスペインの密度が定型発達群と比べて、新生児期には低下しており、小児期では異常がなく、思春期では増大していることがわかった。

a-2. 電気生理学的解析

モデル動物は mEPSP の頻度が定型発達群と比べて、新生児期には低下しており、小児期では異常がなく、思春期では増大していることがわかった。

二つの結果は、錐体細胞への興奮性入力に異常があることが示唆された。

b. 興奮性入力/抑制性入力比(E/I ratio)の検討

E/I ratio は、新生児と思春期のモデル動物で正常であるが、小児期では低下していることが示唆された。興奮性と抑制性の入力のコントロールのホメオスタシスに障害があることが示された。

c. シナプスの可塑性の検討

モデル動物の小児期で、異常な LTD の発現が見られた。

d. モデル動物のシナプスのフェノタイプと並行して動く発現異常遺伝子の同定

遺伝子の発現の時空間パターンによって、3つのクラスターにわかれることが示された。それぞれの遺伝子の発現パターンはシナプスのフェノタイプと相関がみられた。

e. 小児期における鳴き声の発達の異常

小児期にはコールがモデル動物で単調になっていることが示された。これはモデル動物の固執性と関連していると思われた。

③ グリアの異常の検討

マーモセットの発現異常遺伝子は髓鞘形成に関わるオリゴデンドロサイトや、ミクログリアやアストロサイトの異常を示していた。モデルマーモセットの脳にはヒト ASD と同様に全グリアを巻き込んだ異常があることを示した。これに一致してミクログリアに過剰活動を示す形態的特徴が見られ、電顕的研究は髓鞘形成の不全を指し示していた。

④脳の機能的異常のアッセイ

a. イメージングによる解析

上側頭溝の他者の意図を反映する活動の低下が見られた。社会脳の機能の障害があることが示された。

b. 電気生理学的検討

モデル動物の脳活動の異常を検討するためにマーモセット用の ECoG 法の開発を終了し、次のタスク中の活動の記録を始めた。

結語

本研究群により、モデル動物の遺伝子発現とそれに応ずる形態的・電気生理学的研究がフェノタイプとして一致していることを示した。これらが実際の ASD 者の病態とどの様な関係にあるかを検討しつつ、至適な治療薬の開発への探索を開始し得ると考えている。

マーモセットの行動発達及び行動評価に関する研究

川合伸幸
名古屋大学大学院 情報学研究科

緒言

自閉症は 1000 人に 1-2 人の割合で生じる先天性の脳機能発達障害と考えられている。しかし、脳機能上の異常から行動の問題へと至る具体的なメカニズムは未だ解明されていない。これまで多くのげっ歯類モデルと候補遺伝子は提案されているが、いずれも症候群のある一面を再現・説明しようとするものであり、ヒト自閉症モデルとして確立しているとは言いがたい。そこで本研究では、高次な知能と高い社会性を有しヒトに近縁な靈長類であるマーモセットを用いて、行動評価系の確立を行い、ヒト実症例に近いモデル開発に繋がる研究を目指した。

方法

①唾液中コルチゾール値の日内変動

ヒト自閉症者では、コルチゾールの分泌に障害があることや心拍数が多いことなど、内分泌機能のリズム異常が報告され始めている。本実験では、マーモセット自閉症様モデルにおいても類似した異常が見られるか調べるために、同一日においてバルプロ酸に暴露されなかった個体（UE 群）と胎生期にバルプロ酸に暴露された個体（VPA 群）の唾液中コルチゾール値を、飼育室の照明点灯 30 分後（午前 7 時 30 分）と消灯 30 分前（午後 6 時 30 分）の 2 回測定し比較した。

②小型加速度計による活動量分析

多動性や過活動性は自閉症様症状の一つである。自閉症モデルマーモセットにもヒト自閉症者と類似した活動性の異常が認められるかを調べるために、小型加速度計を個体に 3 週間装着し、装置に慣れ安定的に計測できた 1 週間分のデータを解析した。

③ストレス事象に対する応答性の検証

自閉症をはじめとする発達障害では、その障害特性がストレス脆弱性を高めていることが報告されている。そこでまずは UE 群を対象個体とし、ストレス事象となり得る物体（ヘビのゴム製玩具）を呈示して、回避行動や警戒音声が発せられるか調べた。また、急性ストレスに応答して分泌されるコルチゾール値を玩具呈示の前後 30 分で測定した。

④オキシトシン投与による行動試験評価

鼻腔からオキシトシン（脳下垂体後葉から分泌されるホルモンの一種）を投与することで、自閉症のコミュニケーション障害が改善されることが最近の研究で示唆されている。近年、マカクザルでも鼻腔にオキシトシンを投与する実験が行われている。それらの実験では他個体に対する注意が変化するなどの結果が得られている。そこで、自閉症モデルマーモセットにオキシトシンを投与することで他個体への注意が変化するかを調べた。他個体と自身の報酬の差を反映する不公平忌避課題を評価指標とした。

実験前に対象個体に対して鼻腔への溶液投与訓練を行い、投与への馴化を行った上で生理食塩水とオキシトシンを投与し不公平忌避課題を実施した。投与 30 分後に同じ報酬が得られる条件を 2 日間（ET セッション）、その後パートナーが価値の高い報酬を得る条件を 2 日間（IT セッション）実施した。その後パートナーを交代してオキシトシン投与後にさらに ET セッション、IT セッションを実施した。

⑤行動指標の関連

本研究に参加しているマーモセットは生後間もない頃から行動テストを実施されている。それらの個体の行動の変化や一貫性を縦断的に調べることが可能である。そこで、生後 15 週齢から 19 週齢までに実施した社会性テストと、成体になってからの高次社会認知実験との関連を調べた。

結果

①唾液中コルチゾール値の日内変動

点灯 30 分後の測定において、VPA 個体が UE 個体と比較して有意に高いコルチゾール値を示したが、消灯 30 分前の計測時には有意差はみられなかった。

②小型加速度計による活動量分析

UE 群 10 頭、VPA 群 10 頭、計 20 頭のホームケージでの活動量を統計的に比較した結果、UE 群に比べ

て VPA 群では日中（午前 7 時から午後 7 時：飼育室内照明が点灯する 12 時間）の活動量が有意に高いことが認められた。

③ストレス事象に対する応答性の検証

玩具非呈示日（同じ実験環境だが玩具の呈示はしない別日）では Phee と呼ばれるグループコンタクトコール（遠くにいる仲間に向けて発する音声）が発する音声の大部分を占めていたが、玩具呈示中には Tsik-Ek と呼ばれる警戒している際に発せられるアラームコールが頻発した。詳細な音声パターンは現在解析中である。また、玩具呈示の前後 30 分で測定したコルチゾール値では、玩具呈示後において上昇が認められた。

④オキシトシン投与による行動試験評価

VPA 群 3 頭に対して行動試験評価を実施したところ、生理食塩水投与時と比較して、オキシトシン投与時には IT セッションでの不公平忌避を示す傾向が認められた。

⑤行動指標の関連

自閉症モデルマーモセットは、生後 15 週齢時に 3 チャンバーテストで評価された社会性得点と、成体になってからの不公平忌避得点およびヒト第三者の互恵／非互恵的認識得点の間にきわめて高い相関があった。これらのこととは、生後 15 週齢の社会性得点で、2 歳以降の社会行動を予測できることを示唆している。

考察

上記の結果から、VPA 群ではヒト自閉症者にみられるような内分泌機能の異常や過活動性が認められることが明らかとなった。また、ヒトの臨床治験から自閉症の治療薬として効果を示すと報告されているオキシトシンが、自閉症モデルマーモセットに対しても、他個体に対する関心を高めるために有効である可能性が示唆された。

自閉症様モデルマーモセットを用いた遺伝子解析によるトランスレータブル指標の開発

郷康広

自然科学研究機構

緒言

ヒトの疾患、特に高次認知機能に関わる病態機序の解明を目的とした研究においては、ヒト脳との形態や機能分化に大きな差異があるマウス脳で得られた結果を、ヒトに外挿する方法論の限界も指摘されている。一方、ヒトにおいては、実験的な操作や侵襲的な実験が不可能なため、病態と遺伝子・分子の因果律の解明まで踏み込むことが極めて難しい現状にある。そこで本研究では、ヒトにより近縁で、高度の社会性・認知機能をもつマーモセットを対象とし、ヒト自閉症スペクトラム症の分子基盤解明およびトランスレータブル分子マーカーの開発を行うことを目的とした。国立精神・神経医療研究センター・微細構造研究部の一戸研究室においては、世界に先駆けてバルプロ酸曝露マーモセットの作出に成功しており、作出されたマーモセットは自閉症様行動を示すことが明らかになっている。また、自閉症スペクトラム症の一つの中間表現型と考えられるシナプスの刈り込み不全によるシナプス形成異常がバルプロ酸曝露マーモセットでは観察されており、マウスではこのシナプス形成異常は観察されないため、その点においても本研究で用いるマーモセットの有用性は非常に高いものと考えられる。本研究では、それらの利点を最大限に活かし、薬理学的に作出された自閉症様マーモセット脳におけるトランスクリプトーム・エピゲノムの動態変化を次世代シーケンサーを用いたオミックス解析により明らかにするとともに、ヒト自閉症スペクトラム症を含む発達障害へのトランスレータブル分子マーカーの開発を行うことを目的とした。

方法

国立精神・神経医療研究センター・微細構造研究部において薬理学的に作出された自閉症様行動を示す胎生期バルプロ酸曝露マーモセット（VPA 個体）の脳を用いた網羅的遺伝子発現解析（トランスクリプトーム解析）を行った。定型発達群（バルプロ酸非曝露マーモセット：UE 個体）との比較発現解析により、靈長類疾患モデルとしてのマーモセット脳内における遺伝子動態を明らかにし、ヒト自閉症スペクトラム症を含む発達障害の治療法の基盤となるトランスレータブル分子マーカーの開発を行った。

具体的には、妊娠 60 日齢の母体マーモセットに連続 7 日間バルプロ酸を経口投与後の出生マーモセットをバルプロ酸曝露個体（VPA 個体）とした。脳のサンプリングは新生児、2 ヶ月齢（シナプス形成期）、3 ヶ月齢（シナプス数ピーク期）、6 ヶ月齢（シナプス刈り込み期）、および成体の各発達段階において、それぞれ area12 と area24 の脳領域を対象とした。令和元年度は、3 ヶ月齢の UE 個体と VPA 個体の area12 から調整した細胞核を用いたシングル核トランスクリプトーム解析を行った。

結果

3 ヶ月齢の UE 個体と VPA 個体の area12 を用いてシングル核トランスクリプトーム解析を行った。UE および VPA 個体それぞれ 1 個体の area12 から細胞核を調整し、DAPI 染色を行った後、DAPI 陽性細胞核をセルソーターで回収し、シングルセルライブリ作成装置（10xGenomics 社 Chromium）を用いて、それぞれ

3561 細胞核 (UE 個体), 1822 細胞核 (VPA 個体) のシングル核における遺伝子発現データを取得した。教師なし学習によるクラスタリングとその後の細胞種特異的分子マーカーによる細胞種の同定を行った結果, 19 種類 (7 種類の興奮性神経細胞, 5 種類の抑制性神経細胞, アストロサイト, オリゴデンドロサイト前駆細胞, 成熟オリゴデンドロサイト, ミクログリア, および 3 種類の未同定細胞) の細胞種を同定することができた。

それぞれの細胞種において, UE 個体と VPA 個体における遺伝子発現量に有意な違いが認められる遺伝子群を解析した。その結果, 興奮性神経細胞では 381 遺伝子, 抑制性神経細胞では 175 遺伝子, アストロサイトでは 74 遺伝子, オリゴデンドロサイト前駆細胞では 6 遺伝子, ミクログリアでは 8 遺伝子において統計的に有意な遺伝子発現量の違いを認めた。

先行研究より自閉症スペクトラム症との関連が示唆されている 215 遺伝子と比較した結果, 興奮性神経細胞において 12 遺伝子 (*ATP2B2*, *CELF4*, *CUX2*, *FOXP2*, *GABRB3*, *KCND3*, *MAP1A*, *MKX*, *RAPGEF4*, *SCN1A*, *SCN2A*, *SRSF11*), 抑制性神経細胞において 6 遺伝子 (*ATP2B2*, *KCNQ3*, *MAP1A*, *NR2F1*, *SLC6A1*, *SRSF11*), アストロサイトにおいて 2 遺伝子 (*ATP1A1*, *NRXN1*) が自閉症スペクトラム症関連遺伝子に該当した。特にナトリウムチャネル (*SCN1A*, *SCN2A*), GABA トランスポーター (*SLC6A1*) シナプス接着因子 (*NRXN1*) などシナプス機能などに関わり自閉症スペクトラム症との高い関連性があると考えられている分子をコードする遺伝子が同定された。

考察

上記のいくつかの比較トランск립トーム解析において定型発達群 (UE 個体) とバルプロ酸暴露群 (VPA 個体) において, シナプス関連遺伝子群に発現差を示す遺伝子が多く同定できた。これらの遺伝子オントロジー, 生物学的パスウェイは自閉症スペクトラムを含む多くの精神疾患との関連が示されているため, 今回の作出されたマーモセットモデルは, 自閉症スペクトラム症のモデル動物となる可能性を示唆する。同時に, 今回同定した遺伝子はトランスレータブルな分子マーカーとなり得る。

令和元年度を含めて過去 3 年間の研究開発費により行ったトランスク립トーム解析において興味深い遺伝子候補が同定できた。シングルセルレベルでの遺伝子発現解析は, まだそれぞれ 1 個体の 1 領域の比較にとどまっているため, 個体数と領域数, さらに各発達段階における比較解析をさらに進め, より精度の高いトランスレータブル分子マーカーの同定を進める。

結論

本研究では, シナプス刈り込み不全, およびヒト自閉症スペクトラム症様の行動を示すバルプロ酸暴露マーモセットの発達に応じた脳内遺伝子発現変動を明らかにし, その分子基盤とトランスレータブル指標の開発を目的とした。定型発達個体群とバルプロ酸暴露個体群との発現変動を示す遺伝子がシングルセルレベルで同定することが可能となった。その多くがシナプス機能と関連し, また自閉症スペクトラム症との関連が示唆される遺伝子であったことは特筆すべき点である。これらの研究結果から, 今回作出された自閉症様マーモセット個体群は自閉スペクトラム様のモデルとなり, 精度の高いトランスレータブル分子マーカーの開発につながる可能性を示すことができた。

衝動性・多動性の診断と治療メニュー作成

国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所

研究分担者：稻垣真澄

【緒言】

注意欠如多動症（Attention Deficit Hyperactivity Disorder、ADHD）は、不注意と多動性・衝動性を主症状とする神経発達症であり、有病率は、小児期から思春期の子どもで6-7%と報告されている（Fayyad et al., 2017; Thomas, Sanders, Doust, Beller, & Glasziou, 2015; Willcutt, 2012）。本研究では、ADHDの主症状のうち、齢不相応の落ち着きのなさや過剰な身体活動として観察される、多動性・衝動性に焦点を当てる。多動性・衝動性は、学校生活への適用、日常生活における安全性、他者との社会的交流などに様々な問題をもたらすことから、慎重かつ適正な評価が特に重要と考えられる。

臨床場面における多動性の評価はこれまで、診察時の行動観察や保護者等への聴取、質問紙などの主観評定が一般的であった。しかし、これら的方法に基づくADHDの診断とサブタイプ分類（不注意優性型、多動・衝動性優勢型、混合型）は、評価者や評定法、診断に用いる情報の組み合わせ方等によって結果が大きく変動し、一貫性が低いことが示されている（Kennerley et al., 2018; Rowland et al., 2008; Valo & Tannock, 2010; Vitoratou et al., 2019）。従って、ADHDの臨床診断は未だ評価者のバイアスや個々の医師の診断手法に依存する部分が大きいと言え、症状や状態が過大もしくは過小評価される可能性がある。

これに対し、多動性・主観的を客観的に評価する試みも、複数の研究で進められてきた。代表的なアプローチは、ADHDのある子どもに加速度センサーが内蔵された活動量計を装着し、身体活動量を数値化するというものである。活動量計は、子どもが動いた量や時間を記録することができ、手首、足首、腰などに着けられる小さな装置であるため、日常生活、授業中、遊び時間、睡眠中といった様々な場面で測定を実施できる。これまでの研究では、ADHDのある子どもが、同年齢の定型発達児と比較して身体活動量が増加することが概ね一貫して示されており、主観評定に代わる多動性・衝動性評価法として臨床応用が期待されている（Gawrilow, Kühnhausen, Schmid, & Stadler, 2014; Kofler, Raiker, Sarver, Wells, & Soto, 2016; Murillo, Cortese, Anderson, Di Martino, & Castellanos, 2015）。

しかし、活動量計を用いてADHD児の多動性・衝動性を検討した先行研究の多くは、計測時間が数時間から数日にも及び、また家庭や学校等で測定を行っていた（e.g., Dane, Schachar, & Tannock, 2000; Hudec et al., 2015; Kam et al., 2010; Lin, Yang, & Su, 2013; Miyahara, Healey, & Halperin, 2014; Tsujii et al., 2009; Wood, Asherson, Rijssdijk, & Kuntsi, 2009）。従って、ADHDのある子どもの身体活動量を臨床場面で求められる条件、すなわち短時間かつ統制された状況下で測定する手法は未だ開発されていない。さらに、主観評定による多動性・衝動性評価では通常、年齢を追って得点や重症度が低下するが（Biederman, Mick, & Faraone, 2000; Döpfner, Hautmann, Götz-Dorten, Klasen, & Ravens-Sieberer, 2015; Larsson, Dilshad, Lichtenstein, & Barker, 2011; Murray et al., 2019; Pingault et al., 2015; Sasser, Kalvin, & Bierman, 2016）、活動量計を用いて測定した身体活動量について、年齢変化はこれまで検討されていな

い。多動性・衝動性において、年齢は重要な要因であることから、この点についても明らかにする必要があると考えられた。

そこで本研究では、一般的な臨床場面において短時間で実施可能な、多動性・衝動性の客観的評定法を開発することを目的とした。方法として、多施設での ADHD 外来診察場面において短時間（10 分間）の身体活動量計測を行い、診察場面を模した状況下で測定した定型発達児（TD 児）のデータと、活動量とその年齢変化を比較した。また、主観評定との比較検証を行うため、保護者による ADHD 評価スケール（DuPaul, Power, Anastopoulos, & Reid, 1998 市川・田中訳, 2008）の結果と、身体活動量の対応を検討した。さらに、ADHD のある子どもの一定数においては、自閉スペクトラム症（Autism Spectrum Disorder、ASD）の併存が認められることから（Antshel, Zhang-James, Wagner, Ledesma, & Faraone, 2016; Hansen, Oerbeck, Skirbekk, Petrovski, & Kristensen, 2018; Jensen & Steinhause, 2015）、ADHD 群を単独群（ADHD 群）と併存群（ADHD+ASD 群）の 2 群に分け、両者の相違についても探索した。

【方法】

対象児

小児神経専門医により、DSM-5 (American Psychiatric Association, 2013) に基づく診断を受けた ADHD 児 84 名、ADHD+ASD 児 63 名、および TD 児 105 名の計 252 名が研究に参加した（表 1）。群間で参加者の年齢に有意差は認められなかった ($F_{2,249} = 1.08, p = .34, \eta^2_p = .009$)。ADHD 群と ADHD+ASD 群は、全例で知能指数または発達指数が 70 以上であった。ADHD 症状の主観評定として、保護者による日本版 ADHD 評価スケール（DuPaul, Power, Anastopoulos, & Reid, 1998 市川・田中訳, 2008）の不注意得点および多動性・衝動性得点を取得し、TD 群については全員の両得点が同年代の 93 パーセンタイル未満であることを確認した。

身体活動量の計測

身体活動量の計測は、臨床群においては外来の診察場面で主治医、保護者、および本人の 3 者が対面して行った。TD 群については、研究者、保護者または指導者、本人が、診察場面を模した個室で測定を行った。対象児は、3 軸加速度センサーが内蔵された活動量計（wGT3X-BT; Actigraph, Pensacola, Florida, USA）を、利き腕と反対の手首に装着し、イスに着席して iPod で風景写真のスライドショーを見ているよう指示された。測定時間は 12 分間であった。その間、主治医（研究者）は保護者（または指導者）から、対象児の普段の様子を聴取した。測定中の対象児の身体活動は、3 軸（x, y, z）の加速度として記録され、サンプリング周波数は 30 Hz であった。

分析方法

活動量計で記録した加速度データは、ソフトウェア（ActiLife 6, version 6.13.2, Pensacola, Florida, USA）を用いて、1 秒ごとの活動量値に変換した。3 軸の活動量値はベクトル値 ($\sqrt{X^2+Y^2+Z^2}$: X, Y, Z は各軸の活動量値) を算出して統合した（Martín-Martínez et al., 2012）。安定した活動量値を得るために、測定区間（12 分間）の最初および最後の 1 分間は分析対象外とし、各対象児について 10 分間の活動量値を合計した総活動量を算出した。統計解析は、総活動量および ADHD 評価スケールの多動性・衝動

性得点について、群（ADHD、ADHD+ASD、TD）をカテゴリカル変数、年齢を連続変数として投入した線形重回帰分析を行い、2つの臨床群とTD群の間で総活動量の群間差、および年齢変化の差異について検討した。

【結果】

ADHD 症状評定 保護者による ADHD 評価スケールの評定値については、不注意得点について群の主効果が認められ ($F_{2,249} = 133.55, p < .0001, \eta^2_p = .52$)、ADHD 群、ADHD+ASD 群とともに TD 群より有意に高かった (both $p < .0001$)。多動性・衝動性にも群の主効果が認められ ($F_{2,249} = 96.98, p < .0001, \eta^2_p = .44$)、評定値は両臨床群が TD 群よりも高く (both $p < .0001$)、ADHD+ASD 群が ADHD 群よりもさらに高値であった ($p = .0002$)。

身体活動量 図 1A は、各対象児の総活動量を、年齢を横軸にとって示したものである。線形重回帰分析の結果、群と年齢を要因としたモデルはデータと適合しており (adjusted $R^2 = .26, F_{5,246} = 18.84, p < .0001$)、全体として ADHD 群の総活動量が TD 群よりも増大していたが、同様の主効果は ADHD+ASD 群では認められなかった (表 2)。また、年齢の主効果も認められ、全体として年齢が高い児ほど総活動量が減少していた (表 2)。

加えて、ADHD 群については、群と年齢の交互作用が認められ、TD 群と年齢変化に差異があることが示された (表 2)。この結果の下位検定として、ADHD 群と TD 群でそれぞれ年齢を説明変数とした総活動量の単回帰分析を実施し、年齢効果の単純傾斜を t 検定により比較した (Robinson, Tomek, & Schumacker, 2013)。その結果、両群で年齢を追った総活動量の減少が認められ (表 2、ADHD 群: adjusted $R^2 = .30, F_{1,82} = 36.08, p < .0001$; TD 群: adjusted $R^2 = .15, F_{1,103} = 19.83, p < .0001$)、減少の傾斜は ADHD 群で TD 群よりも急峻であることが認められた (表 2, $t(187) = 4.00, p < .0001$)。一方、ADHD+ASD 群については、群と年齢の交互作用が認められなかった (表 2)。ADHD 群との対比のため、TD 群との年齢効果の比較を行ったところ、ADHD+ASD 群でも年齢を追った総活動量の減少は有意であったが (表 2、adjusted $R^2 = .06, F_{1,61} = 4.71, p = .03$)、TD 群との間に単純傾斜の差は認められなかった ($t(166) = 0.29$ [絶対値], $p = .77$)。

多動性・衝動性得点 図 1B は、各対象児における ADHD 評価スケールの多動性・衝動性得点を、年齢を横軸にとって示したものである。線形重回帰分析の結果、群と年齢を要因としたモデルはデータと適合しており (adjusted $R^2 = .26, F_{5,246} = 18.84, p < .0001$)、ADHD 群と ADHD+ASD 群の両方で得点が TD 群よりも増大していた (表 3)。

多動性・衝動性得点については、ADHD 群と ADHD+ASD 群で群と年齢の交互作用が認められ、両臨床群とも年齢変化に TD 群との差異があることが示された (表 3)。総活動量と同様に、各群で年齢を説明変数とした単回帰分析を実施したところ (Robinson, Tomek, & Schumacker, 2013)。ADHD 群と ADHD+ASD 群では年齢を追った得点の低下が認められたが (表 3、ADHD: adjusted $R^2 = .08, F_{1,82} = 7.61, p = .007$; ADHD+ASD: adjusted $R^2 = .12, F_{1,61} = 9.51, p = .003$)、TD 群では認められなかった (adjusted $R^2 = -.006, F_{1,103} = 0.36, p = .55$)。年齢を追った得点の低下 (単純傾斜) は ADHD 群、ADHD+ASD 群とともに TD 群よりも有意に急峻であった (ADHD: $t(187) = 3.39, p = .0008$; ADHD+ASD: $t(166) = 4.04, p < .0001$)。

【考察】

外来診察場面、あるいはそれを模した状況下で計測した、短時間（10分間）の身体活動量データは、ADHD群の身体活動が全体としてTD群よりも多く、年齢を追った活動量の減少がADHD群でより顕著に生じることを示した。このことから、身体活動量の計測は主に、低年齢のADHD児（単独例）において落ち着きのなさや過剰な身体活動を把握するのに貢献すると考えられる。反対に高年齢のADHD児では、年齢を追った身体活動量の急峻な減少により、TD児との差異が観察されなくなるため、多動性・衝動性の評価方法としては適さないことも示唆された。ADHD児の身体活動量に関する先行知見の多くが、数時間から数日に及ぶ計測データに基づいていたことを踏まえると（e.g., Dane, Schachar, & Tannock, 2000; Hudec et al., 2015; Kam et al., 2010; Lin, Yang, & Su, 2013; Miyahara, Healey, & Halperin, 2014; Tsujii et al., 2009; Wood, Asherson, Rijsdijk, & Kuntsi, 2009）、本知見は活動量計を用いた多動性・衝動性の客観評定は、臨床場面により即した手法で実施可能であることを実証したと言える。加えて、活動量計測による同様の検討で、広範な年齢層における発達的変化を示したのは本研究が初めてであり、多動性・衝動性の客観評定の応用可能性が年齢に依存することを示した点にも意義がある。

さらに、身体活動量とその年齢変化に関するADHD群とADHD+ASD群の比較では、前者にのみTD群との差異が示され、後者では総活動量の増大や年齢変化の違いが認められなかった。ASDの併存は、ADHD症状の重症度や適応機能の問題を増大させることが示されているが（Ashwood et al., 2015; Green et al., 2015; S. Thomas, Sciberras, Lycett, Papadopoulos, & Rinehart, 2018; Van Der Meer et al., 2012）、本知見からは単独例と併存例が多動性・衝動性に関して、異なる臨床像および発達的変化を呈することが明らかになった。ASD単独例や広汎性発達障害では、身体活動量が定型発達児よりも低下する時間帯や瞬間があることが示されているが（Ogino et al., 2018; Takahashi et al., 2018; Tsujii et al., 2009）、これらを踏まえると、ADHD単独例では多動性・衝動性が恒常的に高いのに対し、ADHD+ASD併存例ではより散発的に出現するといった性質の違いが存在する可能性がある。従って、短時間の総活動量に基づく多動性・衝動性の客観評定は、単独例には適するが併存例には適さないことが示唆され、臨床応用に際してはASD併存の鑑別を含めた手続きの策定が必要になると考えられる。

ADHD群とADHD+ASD群のさらなる相違は、客観指標の身体活動量と主観評定の多動性・衝動性得点の対比から示された。身体活動量においてTD群との差異が認められたのはADHD群のみであったが、多動性・衝動性得点は両群がTD群よりも高値であり、年齢を追った低下もより急峻であった。さらに、平均得点の比較ではADHD+ASD群がADHD群を有意に上回っていた。これらの結果は、保護者による主観評定においてADHD+ASD群は、ADHD群と同等かそれ以上の多動性・衝動性があると評価されているにも関わらず、実際の身体活動量については明らかな増大や特異な発達的変化が見られなかつたことを意味している。そのため、ADHD単独例では多動性・衝動性の主観評定と客観評定、およびそれらの発達的変化が比較的一致するが、ADHD+ASD併存例では両者の乖離が大きくなることが示唆される。ADHDにおける多動性・衝動性の主観評定と客観評定が必ずしも一致しないことは、先行研究でも示されてきたため（Dane et al., 2000; Du Rietz et al., 2016; Marks, Himelstein, Newcorn, & Halperin, 1999）、多動性・衝動性の適正な評価においては、手法や指標の主観性／客観性を議論するだ

けでなく、単独例と併存例にそれぞれ適した評価法を確立・選択することが重要であり、主観評定と客観評定の組み合わせをも含めた診断法を開発していく必要があると考えられる。

しかしながら、客観評定（身体活動量）と主観評定（多動性・衝動性得点）、および ADHD 群と ADHD+ASD 群のいずれについても、個人間でのデータのばらつきや群内の不均質性が大きかった。このことは、多動性・衝動性の適正な評価方法、および ADHD の確定的な診断方法を作成していく上で大きな問題と言える。今後の課題として、身体活動量については診察場面での短時間計測が可能な利点を活かしつつ、測定条件のさらなる検討を進め、落ち着きのなさや過剰な身体活動をより正確に補足できるようする必要がある。また、適用可能な年齢範囲や疾患群についても検討を進め、医師や医療機関を問わず使用できる、標準的な診断手続きを策定することも望まれる。さらに、ADHD 単独例と ADHD+ASD 併存例において、客観評定と主観評定の一貫性と乖離、ならびに両者の組み合わせによる判定精度等の検討を進め、それぞれ最適な診断手続きを確立することも今後の展望として挙げられる。特に、患児が有する疾患によって多動性・衝動性の性質が異なる可能性を考慮すると、画一的な診断手法ではなく、選択可能な診断メニューを確立していくことが、臨床場面でのより実際的な応用につながるであろう。

【結論】

医療機関での発達障害児の診察場面において、活動量計を用いての短時間の身体活動量の計測は、多動性・衝動性の評価および診断に有益であることが客観的に示された。同時に、ADHD 単独例と ADHD+ASD 併存例、ならびに身体活動量と主観評定の乖離も示されたことから、画一的な手法ではなく、対象児の年齢や疾患に応じて選択可能な診断および治療メニューの策定が必要であることが明らかになった。

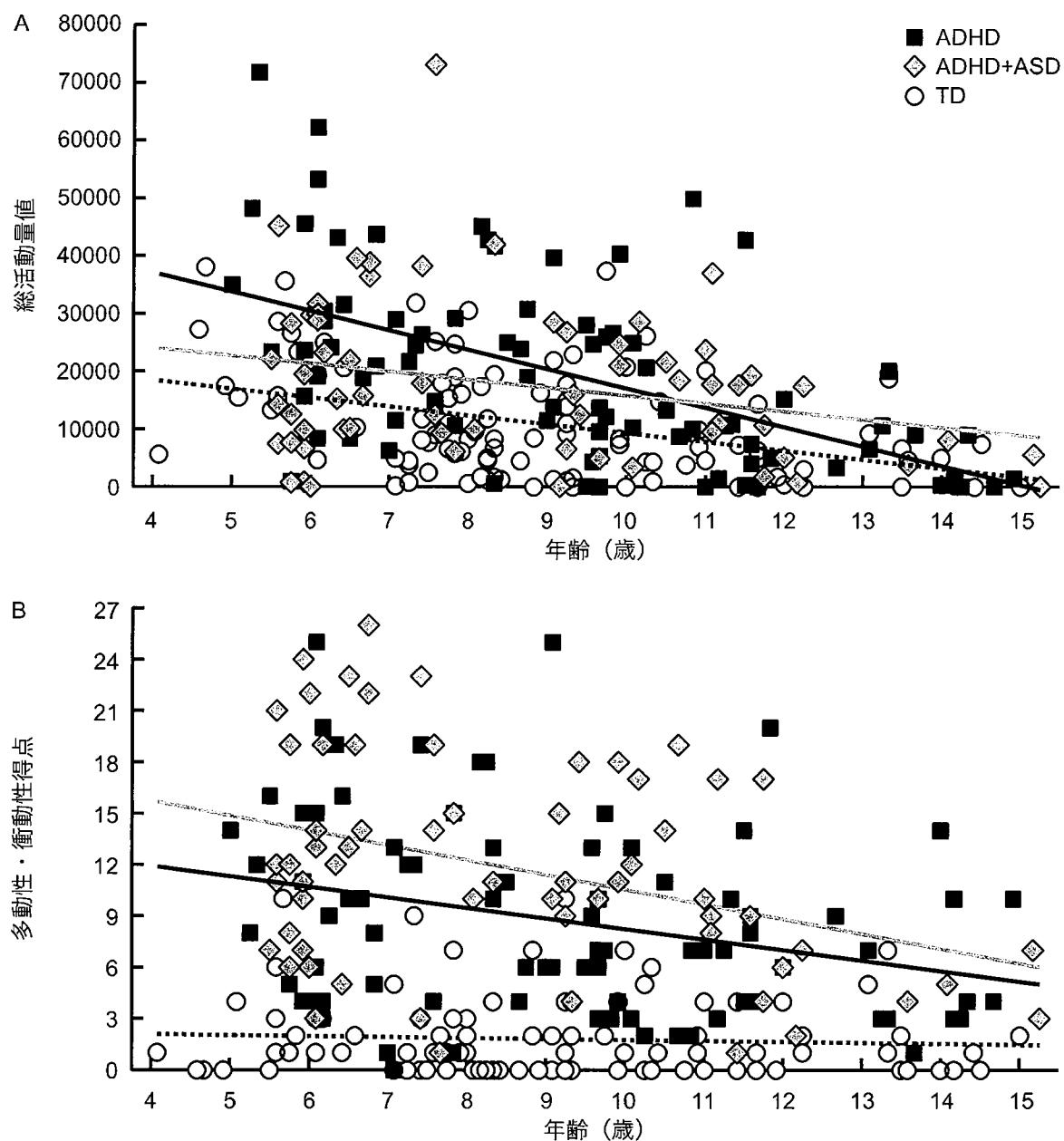


図 1. A) 10 分間の総身体活動量、B) ADHD 評価スケール：多動性・衝動性得点の散布図と群ごとの回帰直線。ADHD=単独群、ADHD+ASD=併存群、TD=定型発達群

表 1. 対象児の情報と ADHD 評価スケールの得点

群	ADHD	ADHD+ASD	TD	F 検定
N (男児/女児)	84 (73/11)	63 (58/5)	105 (50/55)	-
服薬中	29	28	-	-
年齢	9.25 ± 2.68 (5.00-14.92)	8.61 ± 2.68 (5.50-15.25)	9.02 ± 2.48 (4.08-15.00)	.3404
不注意得点	13.07 ± 5.65 (0-26)	14.63 ± 5.82 (5-27)	3.41 ± 3.70 (0-17)	< .0001
多動性・衝動性 得点	8.70 ± 5.67 (0-26)	11.75 ± 6.31 (1-26)	1.81 ± 2.35 (0-10)	< .0001

年齢、不注意得点、多動性・衝動性得点については、平均±1標準偏差および値域（カッコ内）を示してある。F検定の結果は、群の主効果のp値である。

表 2. 総活動量の線形重回帰および単純傾斜分析の結果

重回帰モデル (<i>n</i> = 252)	<i>β</i>	SE	<i>t</i>	<i>p</i>	
切片	24626	4345	5.668	< .0001	***
群 : ADHD	25894	6353	4.076	.0001	***
群 : ADHD+ASD	5021	6653	0.755	.4512	
年齢	-1533	465	-3.297	.0011	**
ADHD × 年齢	-1817	669	-2.714	.0071	**
ADHD+ASD × 年齢	147	727	0.202	.8403	
群ごとの単回帰モデル	<i>β</i>	SE	<i>t</i>	<i>p</i>	
ADHD 群 (<i>n</i> = 84)					
切片	50520	5367	9.414	< .0001	***
年齢	-3349	558	6.017	< .0001	***
TD 群 (<i>n</i> = 105)					
切片	24625	3217	7.654	< .0001	***
年齢	-1532	344	4.453	< .0001	***
単純傾斜の差 (<i>df</i> = 187)	1817	454	4.000	< .0001	***

群 (ADHD、ADHD+ASD) を含む主効果と交互作用は、TD 群を参照カテゴリーとしたときの結果である。|*t*|は、絶対値であることを示す。* < .05、** < .01、*** < .001。

表 3. 多動性・衝動性得点の線形重回帰および単純傾斜分析の結果

重回帰モデル (<i>n</i> = 252)	<i>β</i>	SE	/t/	<i>p</i>	
切片	2.31	1.69	1.371	.1717	
群 : ADHD	12.08	2.47	4.894	< .0001	***
群 : ADHD+ASD	16.88	2.59	6.529	< .0001	***
年齢	-0.06	0.18	-0.310	.7568	
ADHD × 年齢	-0.56	0.26	-2.152	.0324	*
ADHD+ASD × 年齢	-0.81	0.28	-2.862	.0046	**
群ごとの単回帰モデル	<i>β</i>	SE	/t/	<i>p</i>	
ADHD 群 (<i>n</i> = 84)					
切片	14.40	2.15	6.701	< .0001	***
年齢	-0.62	0.22	2.758	.0072	**
ADHD+ASD 群 (<i>n</i> = 63)					
切片	19.21	2.53	7.588	< .0001	***
年齢	-0.87	0.28	3.084	.0031	**
TD 群 (<i>n</i> = 105)					
切片	2.31	0.87	2.666	.0089	**
年齢	-0.06	0.09	0.603	.5478	
単純傾斜の差					
ADHD 群 vs. TD 群 (<i>df</i> = 187)	0.56	0.16	3.392	.0008	***
ADHD+ASD 群 vs. TD 群 (<i>df</i> = 166)	0.81	0.20	4.037	.0001	***

群 (ADHD、ADHD+ASD) を含む主効果と交互作用は、TD 群を参照カテゴリーとしたときの結果である。/t/は、絶対値であることを示す。* < .05、** < .01、*** < .001。

神経学的評価と睡眠異常の診断と治療メニュー作成

国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科

研究分担者：中川栄二

【緒言】

(1) 発達障害においては、睡眠障害やてんかんの併存を認めることが多く、また脳波異常を認める割合はさらに高い。発達障害に対する薬物治療として、抗精神病薬のみならず、抗てんかん薬の併用が精神症状や睡眠障害に治療効果を認めることが多い。しかしながら、脳波異常を伴う発達障害に対する薬物治療の一定の見解は得られていない。発達障害における入眠時脳波異常と睡眠障害に対する薬物治療の検討を行った。また、睡眠障害を定性評価し、睡眠障害に対するバルプロ酸（VPA）の治療効果について検討した。

(2) 神経発達症ではてんかんの併存率が高く、注意欠如多動症（ADHD）では 12-17%にてんかんが併存し、脳波異常の頻度は 18-69%とてんかんの合併よりも多いことが報告されている。ADHD 治療薬であるグアンファシン塩酸塩（GXR）が入眠時脳波や併存するてんかんや他の併存症に与える影響や効果についての報告は少ない。

【方法】

(1-1) 睡眠時脳波異常と睡眠障害

当院てんかん・発達障害外来通院中の自閉スペクトラム症（ASD）、注意欠如多動症（ADHD）、限局性学習症（SLD）、知的障害（ID）を含む発達障害患者 354 人を対象として、睡眠時脳波と発作波の種類、部位、抗てんかん薬や抗精神病薬の内服状況と行動障害、精神症状、睡眠障害に対する薬物治療の検討を行った。薬物効果判定は、睡眠障害や興奮性、衝動性などの行動面、生活面での改善の有無を保護者から同意を得て聴取にて行った。

(1-2) 睡眠障害とバルプロ酸(VPA)治療効果

当院てんかん・発達障害外来受診中の患児を対象にした。同意が得られた保護者に子どもの睡眠習慣質問票日本語版を用いて調査を行った。睡眠時刻遅延、入眠潜時延長、睡眠時間短縮、中途覚醒、日中の眠気に分類し、それぞれ 0-2 点の最大 10 点で数値化した睡眠障害重症度を用い評価した。発達特性は PARS、ADHD-RS 等で評価した。脳外傷や脳炎脳症既往、脳外科手術歴や基礎疾患を有する者を除外し、治療経過 3 年以内の治療前後の発達特性、睡眠障害について検討した。また治療前後で睡眠脳波検査を施行した。VPA 治療前後の睡眠障害点数差と PARS 点数差、脳波異常を Wilcoxon 順位和検定で解析した。

倫理委員会の承認を得て、同意の得られた患者の診療録を後方視的に調査した。

(2-2) GXR 治療前後における浅睡眠時脳波変化

ADHD に対して GXR の治療効果を認め、GXR 投与前後の脳波変化を比較できた 16 例（男児 14 例、女児 2 例）、年齢 8-19 歳（平均 12 歳）を対象とした。てんかん合併例は 13 例で、検討中に

抗てんかん薬の増減は行わなかった。浅睡眠時 (sleep stage 1-2) の脳波において、任意の 5 分間を 1 秒単位に分け、1 秒以内に 1 か所でも棘波、鋭波、棘徐波を認めた場合を脳波異常所見ありとし、300 秒で除して百分率を求め突発指數とした。効果判定は突発指數が 50% 以上減少した症例を有効例、50% 以上増加を認めた症例を悪化例、それ以外は変化なしとした。またてんかん患者においては GXR 投与前後でのてんかん発作頻度を検討した。

(2-2) GXR の ADHD に併存する反抗挑発症と睡眠障害に対する有効性

当院通院中の、GXR 内服開始後、4 週間以上経過している ADHD 患者 21 例に対し、外来受診時にアンケートを行った。アンケートは、①臨床全般改善度 (CGI)、②ADHD RS 日本語版、③子どもの日常生活チェックリスト (QCD)、④反抗挑戦性評価尺度 (ODBI)、⑤睡眠習慣質問票を用いて行った。

【結果】

(1-1) 睡眠時脳波異常と睡眠障害

対象とした発達障害患者 354 人のうち男性 254 人 (71.8%)、女性 100 人 (28.2%) で、平均年齢は 13.9 ± 6.6 歳 (2~46 歳) であった。そのうち脳波異常は 293 人 (82.8%) に認め、男性 210 人 (59.3%)、女性 83 人 (23.4%) であった。脳波異常の内訳は前頭部の鋭波や徐波が 180 人 (50.8%)、前頭部の棘波が 52 人 (14.7%)、前頭部棘徐波が 32 人 (9.0%)、全般性鋭波 39 人 (11.0%)、全般性徐波 32 人 (9.0%)、その他 29 人 (11.4%) であった。睡眠障害は全体の 47.5% に認められ、ASD では 51.3%、ADHD では 46.5%、ASD と ADHD 併存では 58.0% で認められた。てんかんの合併は 226 人 (63.8%) に認められた。抗てんかん薬は 326 人 (92.1%) に使用され、CBZ、VPA、CZP、LTG、LEV、GBP、CLB、ZNS、NZP、PB、TPM が投与されていた。脳波異常がある発達障害に対する抗てんかん薬と抗精神病薬の併用により、睡眠障害や興奮性、衝動性などの行動面での改善が認められた。

(1-2) 睡眠障害とバルプロ酸(VPA)治療効果

回答が得られた 121 例中、基礎疾患を除外した症例は 38 例で、ASD 31 例、ADHD 26 例、ID 6 例、SLD 1 例(重複あり)、うち 34 例(男 27 : 女 7、平均年齢 7.1 歳)の保護者が睡眠障害を訴えた。睡眠障害点数差 3 点以上が、睡眠障害の訴えと臨床全般評価度と概ね一致した。VPA 使用群は幼児期(3-6 歳)治療開始群(男 12 例、平均年齢 4.3 歳)と、学童期(7 歳以降)治療開始群(男 10 : 女 4、平均年齢 8.4 歳)で、VPA 非使用群は(男 5 : 女 3、平均年齢 8.9 歳)であった。VPA 幼児期開始群は他の 2 群と比べ有意 ($p=0.013-0.015$) に睡眠が改善していたが、PARS 点数差は有意差を認めなかった ($p=0.67-0.82$)。治療前に脳波検査が行えた 35 例中 17 例に不規則な高振幅鋭徐波や突発波が認められたが、治療前後の統計的有意差は認められなかった。

(2-1) GXR 治療前後における浅睡眠時脳波変化

GXR の維持用量は 1m g 12 名、2m g 4 名で ADHD に対して治療効果を認めた。GXR 投与前の

突発指數は 0.3-86%（中央値 4.3%）、投与後は 0-90%（中央値 2.4%）で治療前後による統計的有意差を認めなかった。突発指數の変化については有効例 5 例、変化なし 9 例、悪化例 2 例であった。悪化例 2 例については突発指數の変化がそれぞれ 0.7 から 1.7%、0.3 から 0.7% といずれも絶対値としてはわずかであった。てんかん発作頻度の増悪が認められた例は認めなかった。

（2-2）GXR の ADHD に併存する反抗挑発症と睡眠障害に対する有効性

年齢：中央値 13 歳（6-18 歳）、性別：男 19 例、女 2 例。GXR 開始時、メチルフェニデート（MPH）から変更 5 例、アトモキセチン塩酸塩（ATX）から変更 3 例、MPH と併用 5 例。①CGI 改善度は著明な改善 1 例、改善 9 例、やや改善 7 例、不変 4 例で 80% が改善したと感じていた。②ADHD-RS では、GXR 投与前後で不注意項目が平均 6.3 点、多動・衝動性項目が平均 5.0 点改善し、それぞれ有意差を認めた ($P=0.0004$, $P=0.0005$)。不注意と多動/衝動性の改善度の比較では有意差は認めなかった。③QCD は、GXR 投与前後で、総得点は平均 4.9 点上昇し有意に改善していた ($P=0.024$) が、時間帯別の下位項目毎に見ると、早朝/登校前が有意に改善しており ($P=0.019$)、学校、夕方では有意差を認めていたが ($P=0.043$, $P=0.049$)、放課後、夜、全体の行動では有意差は認めなかった。④反抗挑戦性障害の症状を認め、ODBI がカットオフ値である 20 点以上であったのは 15 例。GXR 開始後、その内 9 例でスコアの低下を認め、低下スコアの平均は 7.9 点であり有意差を認めた ($P=0.0078$)。また、4 例でカットオフ値以下に低下していた。⑤睡眠障害は 21 例全てに認め、GXR 開始後 13 例で改善を認め、悪化は 3 例で認めた。GXR 投与前後で平均 4.4 点改善し、有意差を認めた ($P=0.0019$)。

【考察】

（1）脳波異常は入眠時に前頭部優位に鋭波、徐波、高振幅な律動性速波が認められ、発達障害の発症には前頭葉機能との関連が示唆された。脳波異常を伴う睡眠障害は抗てんかん薬投与により改善が認められ日常生活の質の向上が認められた。本検討では発達障害患者の 82.8% に脳波異常が認められ、47.5% に睡眠障害が認められた。てんかんを合併した症例以外にも前頭部優位に脳波異常を高頻度に認めた。これらの検討からも前頭部優位の脳波異常の出現には前頭葉機能の低下や GABA 抑制系の低下が関与している可能性がある。一方で、脳波異常そのものが前頭葉機能に影響を与えていたり、脳波異常と睡眠障害を改善させることができることで発達障害に対する治療となり得ると考えられる。我々の検討では、抗精神病薬に抗てんかん薬を追加することにより睡眠障害などの併存症状の改善効果が認められた。このことから脳波異常を認める ADHD に対する抗てんかん薬の投与は有効であり、抗精神病薬と併用することによりさらに症状の改善を見込める可能性があると考えられる。特に、幼児期からの VPA 内服は発達障害に合併する睡眠障害を改善させる可能性があり、早期診断と適切な治療介入が必要であると考えられた。

（2）GXR 治療前後における浅睡眠時脳波変化：GXR はてんかんや脳波異常を伴う ADHD においても、脳波異常の悪化や発作頻度の増悪を認めずに ADHD に対して治療効果が期待できる。

GXR の ADHD に併存する反抗挑発症と睡眠障害に対する有効性：GXR は、不注意、多動・衝動性を同程度に改善し、特に朝の日常生活機能を改善し、睡眠障害、反抗挑戦性症状に有効である可能性が示唆された。

【まとめ】

発達障害においては、睡眠時を含む脳波検査を可能なかぎり行い、入眠時脳波異常を伴う場合は、抗てんかん薬による薬物治療を行うことで睡眠の質の向上により昼間の精神症状や行動異常の改善が期待できる。特に、併存症状を認める場合や抗精神病薬による症状の改善を認めなかつた場合には、脳波異常の有無を参考にして抗てんかん薬の追加投与を検討することで、脳波異常の改善とともに併存症状の改善を期待できる。

利益相反：利益相反に関する開示事項はない。

倫理的配慮：本研究は当センター倫理委員会承認のもとで行われた（A2017-019,2017-032,2017-060）。

実行機能・社会性機能障害の診断と治療メニュー作成: ASD併存の特徴

国立精神・神経医療研究センター

分担研究者：加賀佳美

【緒言】

近年、発達障害の有病率は高く、問題行動を生ずる前に介入していく必要性に迫られている。しかし、従来の発達障害の診断は、Rating scale(RS)などの保護者への問診による聞き取りが中心で、主観的評価に基づいたものであり、均てん化した診断や治療が行われていないのが現状である。また発達障害の専門外来は患者があふれ、外来待機も大きな問題となっている、そこで誰でも診療しやすい指標、すなわち客観的バイオマーカーの確立は急務である。

発達障害には、注意欠如多動症(ADHD)をはじめ、自閉スペクトラム症(ASD)、限局性学習症などがある。その中で ADHD の病態生理として、実行機能障害、遅延報酬障害、時間処理障害があることが知られている¹⁾。特に実行機能障害の中でも抑制機能は、ADHD 症状の中核として、脳波や事象関連電位²⁾、近赤外線スペクトロスコピー(fNIRS)³⁾、機能的 MRI(fMRI)⁴⁾など非侵襲的脳機能評価のための課題として用いられている。しかし、実際それぞれの検査法には利点と欠点があり、臨床現場において実際に使いやすい検査方法の確立が必要である。そこで今回は ADHD のバイオマーカーとして、行動抑制課題として知られている Go/NoGo 課題を用いて、事象関連電位 Go/NoGo 電位、fNIRS の同時記録を行い、バイオマーカーとして有用性を検討した。

ASD では、コミュニケーションや社会性の障害、こだわりなど常同行動、および想像力の欠如などが知られている。今回は社会性に目を向け、特に比喩表現や皮肉など、字義通りでない表現を理解することが難しいことから⁵⁾、字義通りではない表現の多い慣用句に着目し、課題を作成した。そして慣用句課題の回答時の脳内フィードバック機能について脳波を用いて検討を行い、ASD のバイオマーカーとしての有用性について検討した。

本研究では、発達障害とともに、注意欠陥多動障害(ADHD)、自閉症スペクトラム障害(ASD)の病態の中心と考えられている実行機能と社会性の神経生理学的バイオマーカーを抽出し、その診断および治療効果の指標として、客観的な評価法を確立することを目的とした。

【方法】

検討 1：実行機能評価のためのバイオマーカーの確立

行動抑制課題である Go/NoGo 課題を 2 つの客観的検査法である脳波と近赤外線スペクトロスコピー(fNIRS)を用いて検討した。対象は、8~11 歳の定型発達(TDC)群 18 例、ADHD 群 20 例。ADHD の診断は DSM-5 を用いて行い、投薬のない症例を選択した。また症状の評価については保護者評定 ADHD-RS を使用した。Go/NoGo 課題は、5 種類の色(赤、白、青、黄、緑)を提示した Continuous Performance test(CPT)であり、白の次に赤(1 セット目)または青(2 セッ

ト目)が来たときキー押し(Go 刺激)、それ以外の時はキーを押さない(NoGo 刺激)よう指示した⁶⁾。10-20 法の Fz, Cz, Pz に電極を装着し、前頭部に眼球運動のアーチファクトの除外のため電極を設けた。得られた脳波から、Go 刺激、NoGo 刺激時の事象関連電位(ERP) Go/NoGo 電位を解析した。

脳波解析ソフト(EMSE、ミュキ技研)を用いて、NoGo および Go の加算波形をそれぞれ算出し、200ms 付近の陰性波 NoGo-N2 および、300ms 付近の陽性波 NoGo-P3/ Go-P3 を求めた。それぞれ振幅、潜時を計測し、特に NoGo-P3/Go-P3 振幅比に着目して解析した。また fNIRS は、OEG-16(スペクトラテック社)を用いて、プローブを前頭部に装着し、Go 課題を対照課題として Go/NoGo 課題施行中の酸素化ヘモグロビン(OxyHb)変化を比較検討した。なお、本研究の実施にあたり、当センター倫理委員会の承認を得た(A2017-002)。なお統計は、TDC、ADHD の 2 群間の検討には、Student t-testを行った。

検討 2：社会性の評価のためのバイオマーカーの確立

慣用句は 5~6 文字でなる体の部分を使用した慣用句を選択 120 間の正答率について定型発達児 110 名の検討を行った。次に、図 1 に示すように同課題を用いて強化学習課題を作成し、課題施行中の脳波を集積した。脳波は 10~20 法の 28 チャンネルとした。対象は、10 歳以上の TDC21 名と ASD13 名。ASD の保護者評価としては PARS を用いた。ASD の診断は DSM-5 を用いた。刺激提示には、マルチトリガーシステム(メディカルトライシステム)、脳波解析は脳波解析ソフト(EMSE、ミュキ技研)を用いて行い、フィードバック後 200msec 付近に出現する陰性波の事象関連電位である Feedback related negativity(FRN)、300msec 付近の陽性波を P300 とし、それぞれ最大振幅となる Fz および Pz の解析を行った。また FRN 振幅については誤答時で高くなるため、誤答時と正答時の振幅差を検討した。さらに TDC は発達変化を調べるため、13 歳未満群と 13 歳以上にわけて年齢変化を検討した。

FRN については、それぞれの脳部位との関連を検討するためネットワーク解析法の一つである Dynamic Causal Modeling(DCM)法を用いて検討した。FRN 出現の推定部位として、前部帯状回(dACC)、外側前頭前皮質(dlPFC)、背側中心前頭前皮質(vmPFC)がこれまでの報告から知られているため、図 2 のようなモデルを推定し、それぞれの connectivity について解析を行い、ASD と TDC について比較検討した。統計は、2 群の検討には Student t-test を用いた。

【結果】

検討 1：Go/NoGo 課題における ADHD の実行機能障害の検討

ADHD では TDC と比較してお手付きエラー ADHD 3.4±4.2、TDC 1.4±1.9、見逃しエラー ADHD 2.9±3.5、TDC 0.7±1.6 ($p<0.05$) 有意に見逃しエラーが高くなっていた。NoGo-P3 潜時は、ADHD 407±67msec、TDC 373±24msec ($p<0.05$)、NoGo/Go-P3 振幅比 ADHD 0.8±0.2、TDC 1.1±0.4 ($p<0.05$) と ADHD で有意に NoGo-P3 潜時が延長し、NoGo/Go-P3 振幅比が小さくなっていた。一方、fNIRS の OxyHb 変化値では、TDC で右前頭部中心に増加が認められたのに対し、ADHD は全体的に低

下しており、特に右前頭部で有意差を認めた($p<0.01$)。また、右前頭部の OxyHb と NoGo /Go-P3 振幅比は、正の相関を認めた($r=0.36, p=0.047$)。ADHD-RS とは明らかな相関は認められなかった。

検討 2：慣用句課題における ASD のフィードバック機能の検討

慣用句はひらがな 5~6 文字の体に関する慣用句を抽出し、本来の意味を示すイラストに対しても、○か×を答える課題。9~18 歳の 110 名の正答率を調べたところ、60%以上を 8 割が示した年齢は 10 歳以上であった。特に 15 歳以上は全例 60% 以上であった。そのため、脳波採取の対象群を 10 歳以上とした。

事象関連電位 FRN は、まず TDC 群を 13 歳未満と 13 歳以上の 2 群に分けて検討した。正答率は 13 歳未満 0.68 ± 0.1 、13 歳以上 0.72 ± 0.07 と年齢とともに増加していた。FRN 潜時は 13 歳未満 282.9 ± 27.8 msec、13 歳以上 262.8 ± 27.8 msec、FRN 振幅は、13 歳未満 4.0 ± 5.4 、13 歳以上 4.7 ± 3.5 μV と年齢とともに潜時は短縮し、誤答時の FRN 振幅が増加した。

次に 13 歳以上の ASD と TDC を比較したところ、正答率は ASD 0.71 ± 0.09 、TDC 0.72 ± 0.07 と差はなかった。FRN 潜時は、ASD 256.0 ± 24.4 msec、TDC 262.8 ± 27.8 msec 振幅は ASD 4.5 ± 6.0 μV、TDC 4.7 ± 3.5 μV で、ASD と TDC の差は認められなかった。また P300 は TDC、ASD とも誤答時に振幅は高くなるパターンを示した。

DCM によるネットワーク解析では、誤答時には、両群に差を認めなかった。正答時、ASD では、vmPFC から dACC への connectivity が弱いという結果であった(図 3)。さらに、PARS スコアとの相関を検討したところ、この connectivity と PARS スコアが負の相関を認めた($r=-0.508, p=0.044$)。

【考察】

実行機能検査として、色を用いた Go/NoGo 課題は、NoGo 電位、fNIRS による右前頭部脳血流変化とともに ADHD では反応が低く、客観的評価法として有用性を認めた。また NoGo-P3/Go-P3 振幅比と右前頭部の酸素化 Hb 変化は正の相関を認め、どちらもバイオマーカーとして有用である可能性がある。NoGo 電位は古くから有用性が認められているが、報告によって結果も異なっており、また解析や測定がやや煩雑であるのが欠点である。一方 fNIRS は比較的装着が容易であるが、体動アーチファクトの影響などを受けやすく、また皮膚血流の影響なども指摘されていた。今回われわれの検討から、同時記録により、NoGo 電位と fNIRS の相関を認めたことから、ADHD のバイオマーカーとしてどちらも同様に計測できることがわかった。

今後の課題としては、実行機能には年齢変化があり、通常 10 歳以降に発達してくることがわかっている^{7) 8)}。fNIRS でも年齢による変化があることが報告されており⁹⁾、今後この二つの課題を組み合わせることで、ADHD のバイオマーカーとして、その精度を上げることが出来る可能性がある。

慣用句を用いたフィードバック機能は、正答率や FRN の振幅や潜時に ASD と相違を認めなかった。このことはフィードバック機能としては正常に働いている事を示している。実際容易な課

題だったと事もあり、正答率も相違はなかった。これまでの報告でも ASD では振幅の低下はなかったという報告が多く、むしろ他者が課題をモニタリングしてその他者反応を記録するモニタリング FRN で差があったという報告などがある¹⁰⁾。しかし、行動上は正答していても、その正当時の connectivity のパターンが異なっており、課題は実行できても、その脳内機序が異なっている可能性は考えられる。今後 connectivity スコアがバイオマーカーとして使用できる可能性もある。症例数を増やして検討していく必要がある。

【結論】

実行機能検査として、Go/NoGo 課題における事象関連電位 NoGo 電位、および右前頭部の酸素化 Hb の変化は、ADHD の客観的バイオマーカーとして診断精度を上げられる可能性がある。また社会性指標の一つとして、「慣用句」強化学習課題を用いた FRN の connectivity が ASD の客観的バイオマーカーになり得る可能性がある。

【

【図の説明】

図 1 慣用句を用いた強化学習課題

図 2 DCM 法に使用した connectivity のモデル

図 3 前部帯状回と各部位の connectivity の比較

dIPFCL ; 左外側前頭前皮質、dIPFCR ; 右外側前頭前皮質、vmPFC ; 背側中心前頭前皮質、TDC ; 定型発達児、ASD ; 自閉スペクトラム症

図1

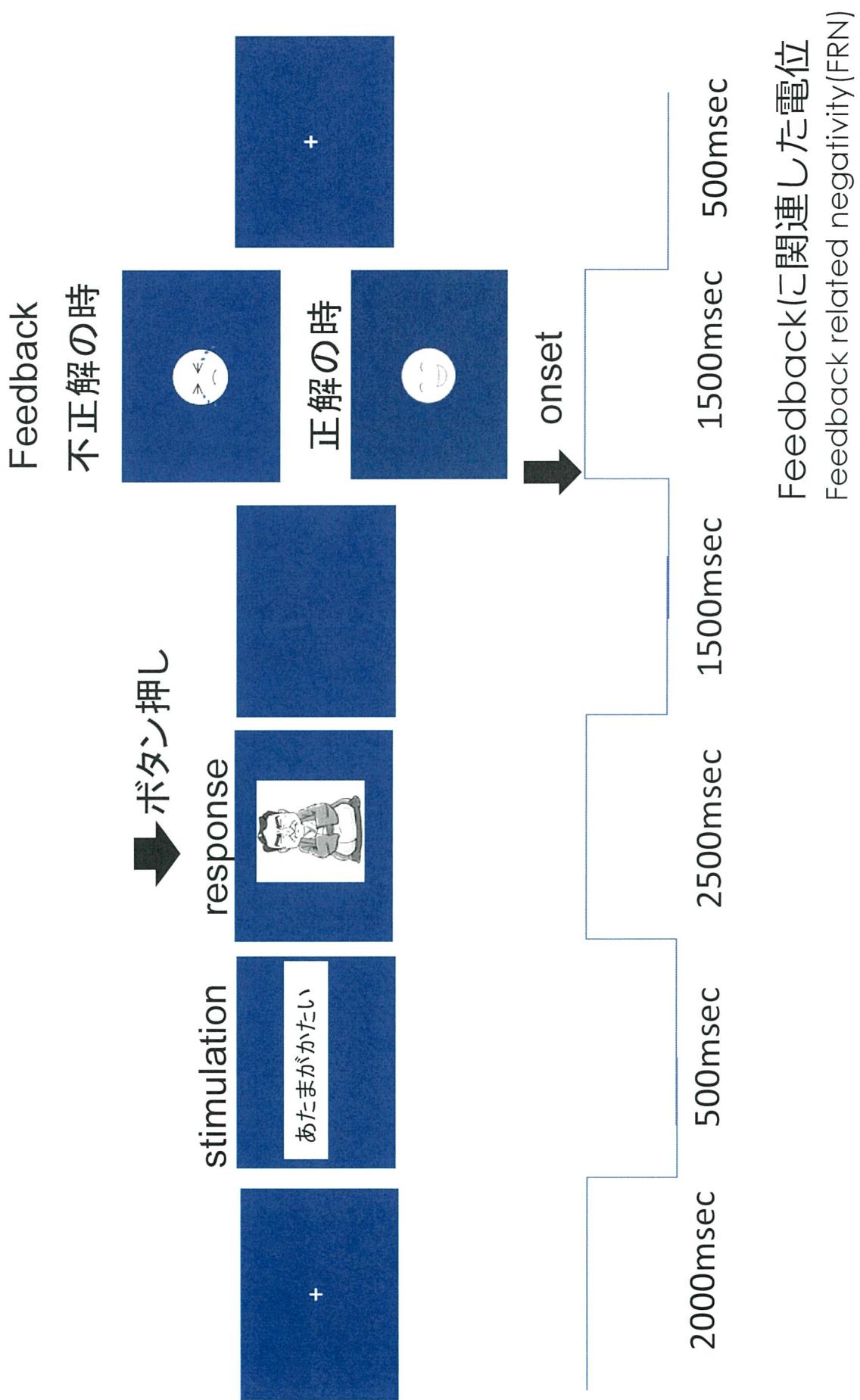


図2

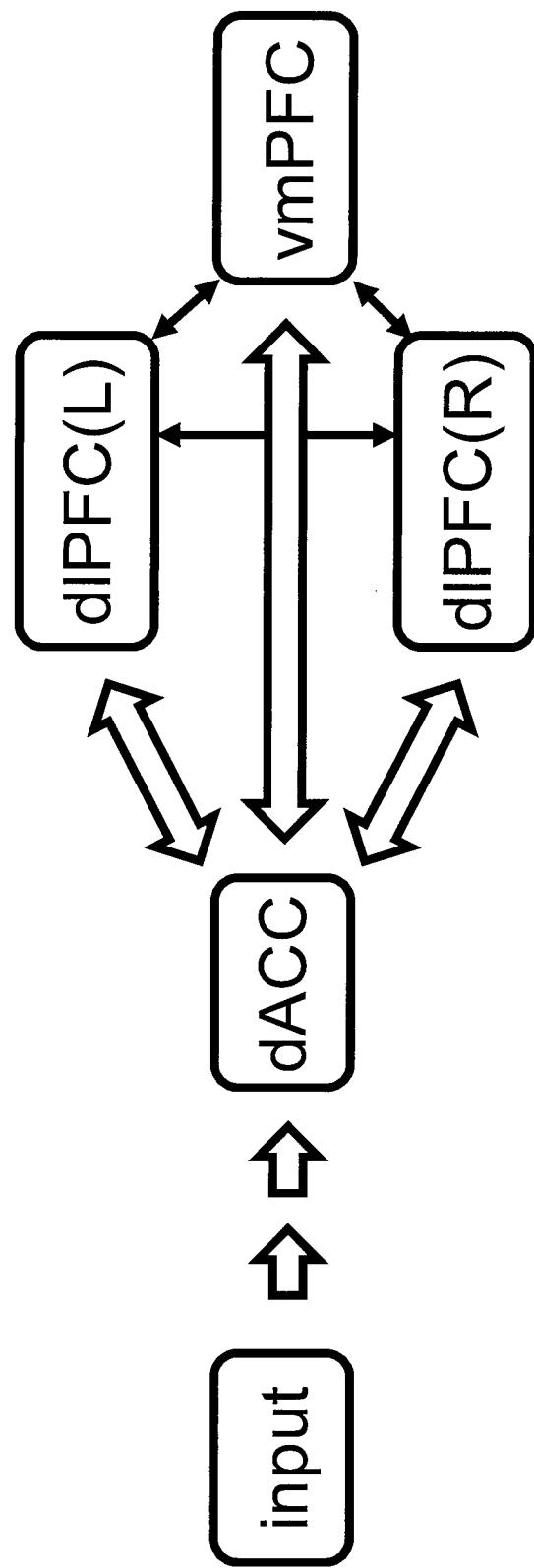
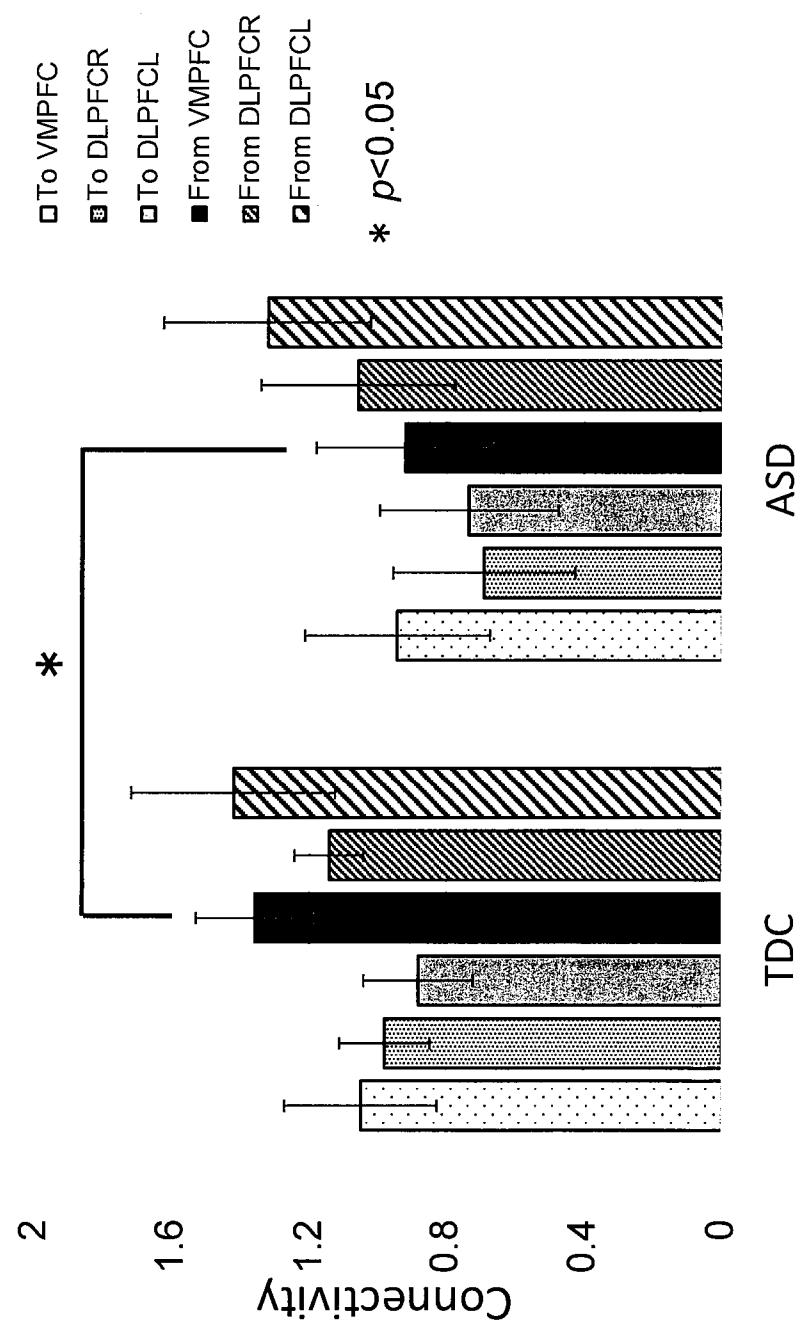


图3



障害・コミュニケーション障害の診断メニュー作成：ASD併存例の特徴

所属機関：国立成育医療研究センターこころの診療部

分担研究者：小枝達也

【緒言】

本邦ではまだ定まっていない算数障害及びコミュニケーション障害の診断のために必要なメニューとして、スクリーニング法の開発、新たな診断補助検査法の開発と診断のための基準設定などを目指しており、それに必要な基礎的なデータを収集し、両者の併存症例の特徴を抽出することを目的とする。そのために、I. 数的基礎力検査開発、II. 算数障害の基底病態解明、III. 社会的コミュニケーション障害(以下、Social Communication Disorder: SCD)の特性解明の3つに関する研究を分担して行った。Iの数的基礎力検査開発は、小枝達也、大羽沢子、前垣義弘が担当した。IIの算数障害の基底病態解明は関あゆみ、後藤亜矢子が担当した。IIIのSCDの特性の解明は2年度と3年度の2年間での実施となり、小枝達也、多門裕貴が担当した。

【方法】

I. 数的基礎力検査開発

1) 初年度

先行研究で開発した数的基礎力検査（序数性・基数性・数的事実の3要素から構成される検査）をスクリーニング検査法として用いた。小学1年生239名（男児125名）を対象として、数的基礎力検査を10月に実施し、2月に各学校で実施される算数学力テスト成績と照合することにより、数的基礎力検査の算数の学力に対する予測性を検討した。解析方法は、数的基礎力検査の3つの構成要素の各領域別得点および総合点を算出し、各得点が算数学力テストの成績をどの程度予測できるかについて、ROC解析で検討した。

2) 2年度

数的基礎力検査を用いて、2年生での算数の学力を予測することとした。昨年度の小学1年生239名から得られた数的基礎力検査結果と1年生2月の算数学力テスト結果を元に、2年生算数学力テスト下位20%の小児を高精度に予測する方法を検討した。

3) 最終年度

対象となる小学1年生を415名に増やして、昨年度までに開発した算数の学力を予測する方法の精度を再度確認することとした。

II. 算数障害の基底病態解明

1) 初年度

通常学級に在籍している算数の学習に著しい困難を訴えている小学3年～6年生16名（男児9名）を対象とした。算数能力の評価は米国で用いられている評価法 Add+Vantage Math Recovery (AVMR)

を用いた。認知能力は、数の大きさの表象能力（数直線課題）、視空間ワーキングメモリ（ドット課題）、音韻ワーキングメモリ（数の順唱と逆唱）、語彙理解力（絵画語彙発達検査）の4つの認知機能検査を実施して、カテゴリー化した。

数直線課題は100までの数字を用いたときの誤差を調べる数直線誤差100課題と1000までの数を用いたときの誤差を調べる数直線誤差1000課題の2つを実施した。

ドット課題は順再生と逆再生の2種類を行った。

2) 2年度

計算に困難がない通常学級に在籍している小児78名（3～6年生）を対象に、数直線課題、視空間WM課題、数・計算課題、数唱（順唱、逆唱）等の関係性を調べた。

3) 最終年度

通常学級に在籍している計算に困難がある小学生16名（3年生から6年生）と計算に困難がない小学生80名（3年生から6年生）を対象として、数直線課題における両者の質的な差異について検討した

III. SCDの特性解明

1) 2年度

ASD17名とSCD5名を対象にSRS2と比喩皮肉文テストを実施し、SCDの臨床的特徴を抽出した。

2) 最終年度

ASDの対象者を25名に増やして、昨年度と同様に比較検討を行った。

【結果】

I. 数的基礎力検査開発

1) 初年度

235名中231名のデータが解析できた。総得点の満点が100点になるよう重み付けをした結果、数的基礎力の総得点は正規分布に近似し、平均点は46.5点、1標準偏差は13.5となった。スクリーニング基準を-2SDとすると、総合得点は20点であり、それを下回るのは8名（3.5%）であった。スクリーニング基準を-1.5SDとすると、総合得点は26点となり、それを下回るのは21名（9.1%）であった。

算数学力テスト結果で下位10%以下の小児をターゲットとしたROC解析において、AUC(Area Under Curve)は、数的基礎力検査の各要素の得点、総合得点のうち総合得点が0.895ともっとも高く、感度は82.4、特異度は80.0であった。下位15%でも下位20%でもAUCは総合得点においてもっともよい値を示した（それぞれ0.873、0.854）。

2) 2年度

数的基礎力検査、1年と2年の算数学力テスト結果が得られたのは215名であった。215名のデータを元に2年生の算数学力テスト下位20%を精度よく予測できる数的基礎力検査と1年生の算数学力テ

ストの組み合わせを探索したところ、1年生算数学力テストで下位20%である小児（41名）で数的基礎力検査にて30点未満であると高率に2年生算数学力テストで下位20%となることが判明した（11名中10名、91%）。

一方、1年生算数学力テストで下位20%であった小児でも、数的基礎力検査で40点以上であれば、2年生算数学力テストで下位20%になるものは27%（18名中5名）と少ないことも判明した。両者間の相対危険度は3.3であった。

2) 最終年度

415名の小学1年生のうち保護者の同意が取得できた392名を対象として、数的基礎力検査、1年生と2年生の算数学力テスト結果を調査した。すべてがそろったのは365名（男児179名）であった。数的基礎力検査結果と算数学力テスト結果との間には有意な相関がみられた（1年生0.52、2年生.47、 $p<0.01$ ）。

昨年度に検討した数的基礎力検査結果と1年生での算数学力テスト結果を組み合わせる方法を用いて、同様に高い予測性が得られるかについて検討した。

1年生の算数学力テストが下位20%78名のうち、数的基礎力検査結果が30点未満であった28名は、そのうち21名が2年生でも算数学力テスト結果が下位20%であった。一方で1年生の算数学力テストが下位20%であった78名のうち、数的基礎力検査結果が40点以上であった26名は、そのうち5名が2年生の算数学力テスト結果が下位20%であった。両者間の相対危険度は3.9であり、またオッズ比も12.9であり、昨年度と同等の結果であることが確認された（図1）。

II. 算数障害の基底病態解明

1) 初年度

数に関する基礎的能力を評価するAVMRの成績と4つの認知機能検査結果の相関を見たところ、数直線誤差100課題との相関係数は-0.815、数直線誤差1000課題では-0.817、ドット課題の逆再生とは0.712と高い相関を示した。

AVMRの成績を従属変数とした重回帰分析（ステップワイズ法）では、数直線誤差100課題が説明変数としてピックアップされ、R²は0.88であった。数直線誤差100課題と絵画語彙発達検査の修正得点の2つも説明変数としてピックアップされ、R²は0.924であった。

対象児16名を4つの認知機能検査結果でサブタイプに分けると、

- (1) 数直線課題の困難と視空間ワーキングメモリに困難があるタイプ 10名
 - (2) 数直線課題と視空間ワーキングメモリの困難に加えて音韻性ワーキングメモリに困難があるタイプ 2名
 - (3) 数直線課題と視空間ワーキングメモリの困難に加えて語彙理解力に困難があるタイプ 1名
 - (4) いずれの認知機能検査においても困難がないタイプ 3名
- に分けられた。

2) 2年度

定型発達の小学生において、数直線課題では、100 課題の誤差、1000 課題の誤差について学年間で有意差はなかった。視空間 WM 課題では、学年間で差があり、高学年の成績が良好であった。これらの認知課題と数・計算課題との関連を調べた（学年の影響を制御した偏相関分析）が、有意な相関を示すものはなかった。

3) 最終年度

計算に困難のない小学生では数直線課題の 100 課題でも 1000 課題でも、ともに対数への適合率よりも線形への適合率が良好で、適合性に学年間の有意差はなかった。

計算に困難のあるとなしで比較すると、1000 課題で計算に困難がある小学生の方がない小学生に比べて、線形の適合率が有意に低く ($p<0.01$)、対数の適合率が有意に高い ($p<0.05$) という結果であった。

さらに線形と対数への適合率が 90% 以上である人数を比べると、100 課題、1000 課題ともに計算に困難がある小学生の方が困難のない小学生に比べて有意に人数が少なかった（表 1、 $p<0.01$ ）。

III. SCD の特性解明

2 年間の結果をまとめて記す。

SRS-2 の総合 T 得点、社会性 T 得点、興味の偏り T 得点を比較したところ、ASD 群 25 名と SCD 群 5 名の間にはすべてに有意差が認められた（ASD 群 79.3、77.7、80.2 : SCD 群 60.4、60.6、55.6、それぞれ $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.001$ 、図 2）。

ASD 群ではすべての T 得点が臨床域でかつ重度であるのに対し、SCD 群では興味の偏り T 得点は臨床域に入らず、臨床域に入る総合 T 得点、社会性 T 得点でも軽度であることが示された。ROC 曲線では T 得点にて AUC0.89、感度 84%、特異度 80% であった。SCI の T 得点では AUC0.82、感度 84%、特異度 80% であった。RRB の T 得点では AUC1.0、感度 100、特異度 100 であった。

比喩皮肉文テストでは総合得点、比喩得点、皮肉得点、地雷得点（皮肉られたのに褒められたと勘違いした得点）を比較したところ、皮肉得点においてのみ有意差が認められた（ASD 群 30.6 点 : SCD 群 0 点。図 3）。

【考察】

I. 数的基礎力検査開発

3 年間の研究で 1 年生の 10 月に実施した数的基礎力検査は、算数の学力が低い小学生を一定の精度で予測することが可能であることが示された。しかし、2 年生での予測性はやや低下することが判明したため、数的基礎力検査と 1 年生での算数学力テストを組み合わせることを検討し、2 年生で算数学力テストが下位 20% 以下になる予測が高率に可能な方法を探査した。

その結果、1 年生の算数学力テスト結果が下位 20% 未満でかつ数的基礎力検査結果が 30 点未満の場合には、数的基礎力検査結果が 40 点以上であるものよりも相対危険度が 3.3～3.9、オッズ比は 12.6 と高いことも判明した。

この方法を用いることにより、2年生の学年末で算数の学力が低い小学生を1年生のうちに高率に予測することが可能であることが示された。これは何らかの介入的な指導を1年生の学年末から取り入れて、2年生の終了時に改善するかどうかを検証する土台ができたことを意味する。

II. 算数障害の基底病態解明

3年間の研究により、算数に困難がある小学生には、4つのサブタイプがあることが示唆された。その多くに数の大きさの表象能力が関与しており、この能力が算数困難の基盤にあり、そこに視覚性や音韻性のワーキングメモリの困難が関与するタイプがあると考えられる。語彙理解力が関与するタイプは全般的な知的能力の低さが大きく影響しているのではないかと考えられる。

こうした困難の背景にある認知能力障害の一つとして数直線課題での数の見積もりをする能力の困難が想定された。一方で計算に困難がある小学生の半数では、数直線課題での線形との適合率が良好であることから、数の見積もりをする能力に問題はなく、別の背景要因もあると考えられた。

III. SCD の特性解明

SCD群におけるSRS2の特徴は、平均点で見た場合、ASD群に比べて軽度であること、かつ興味の偏りT得点は臨床域に入らないことが特徴であると考えられた。また比喩皮肉文テストではASDよりも皮肉得点が低く、皮肉という状況の理解がより不十分であることが示された。両者の組み合わせでASDとSCDの違いを区別できることが示唆された。

【結論】

I. 数的基礎力検査開発

算数の学力テストと数的基礎力検査を組み合わせることで、介入効果の検証の対象となる小児を特定する条件を見出すことができた。

II. 算数障害の基底病態解明

算数障害の背景にある認知特性を探り、数の大きさの表象課題（数直線課題）が鋭敏かつ重要であることを明らかにした。さらに検討した結果、数直線課題では説明しきれない背景を有する計算障害のある小児の存在が明らかとなった。

III. SCD の特性解明

ASDの社会的なコミュニケーション障害を抽出するのに有用な比喩皮肉文テストを用いて、SCDの特徴の抽出を試みた。SRS2と比喩皮肉文テスト両者を用いることで、SCDの特性を抽出することが可能であると考えられた。

対象児数365名（数的基礎力検査、1年・2年学力テスト結果がそろっている者）

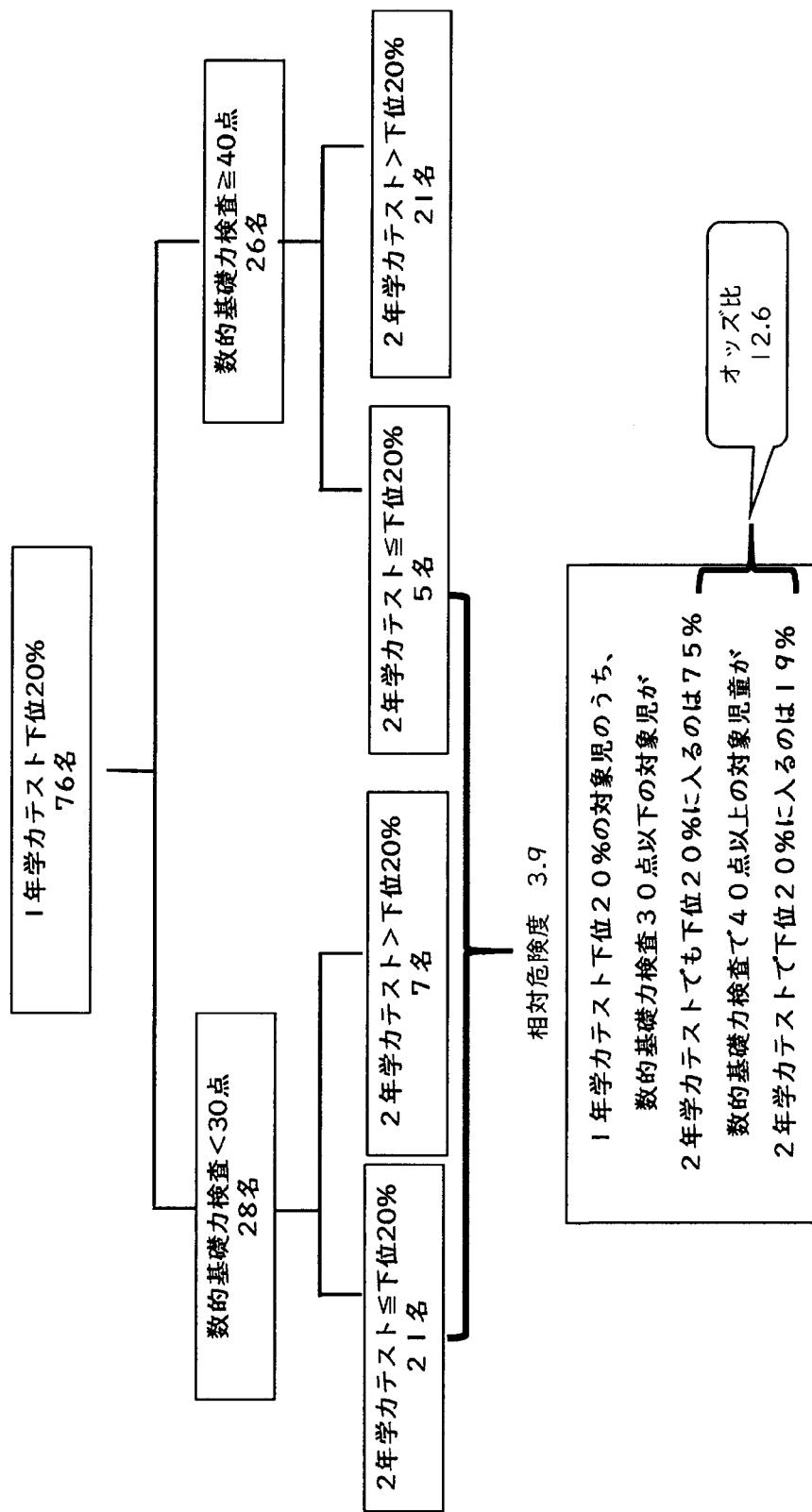


図 1 数的基礎力検査結果と算数学力テスト結果の組み合わせによる予測

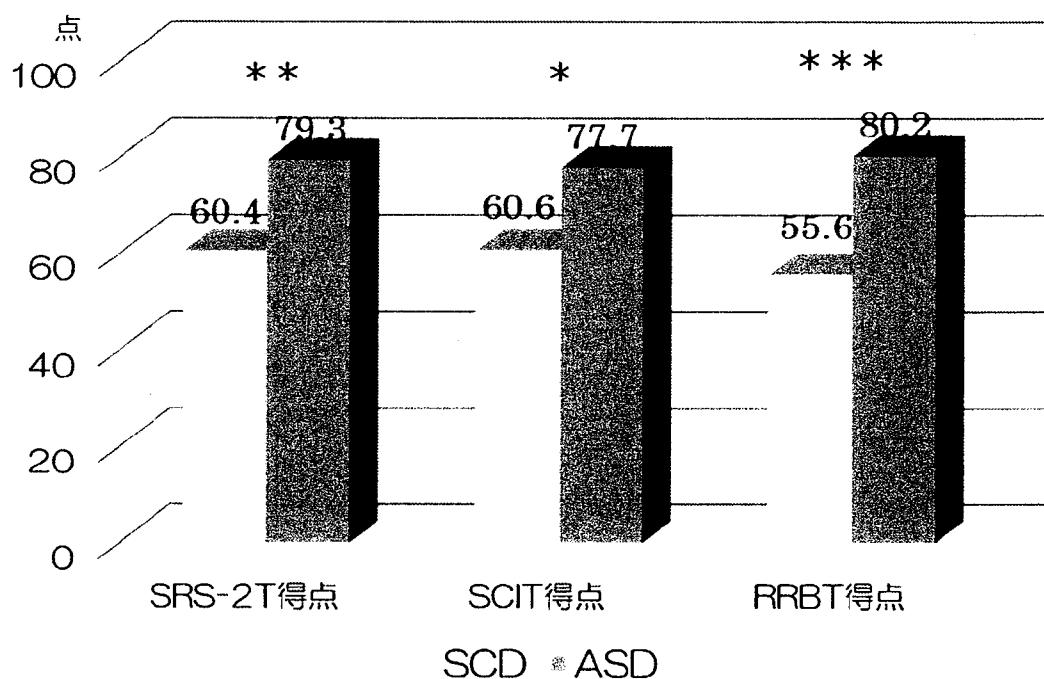


図 2 ASD と SCD における SRS2 の T 得点比較

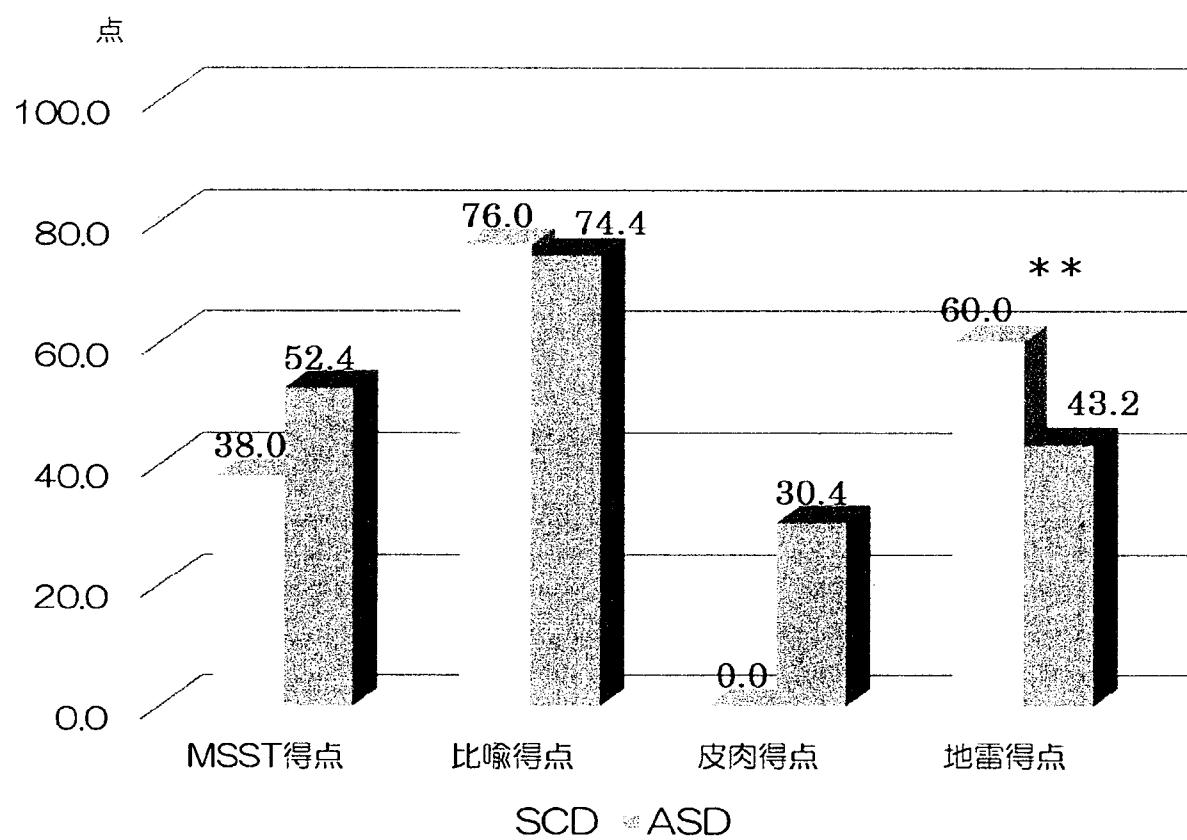


図 3 ASD と SCD における比喩皮肉文テスト結果の比較

保護者支援メニューの作成：ASD の子どもをもつ保護者に特化したスペシャルメニュー

所属機関：久留米大学小児科

研究分担者：山下裕史朗

【緒言】

自閉スペクトラム症(Autism Spectrum Disorder; ASD)の子どもをもつ保護者は子育てにおいて逆境に立たされることが多い。ASD をもつ子どもの子育ては困難であり、不適切な子育てや虐待を受けるリスクが定型発達児より高いことが報告されている。我々の予備的研究では、ASD をもつ子どもの保護者は基本的生活習慣を習得させることに困難を感じていた。そこで、我々は、ASD のある子どもの基本的生活習慣の習得と保護者の養育レジリエンスを向上することを目的としたスペシャルプログラムの作成と実践を目指した。

【方法】

1. 平成 27 年(2015)から平成 29 年(2017)までのトリプル P 受講者の養育レジリエンス変化を 78 例で追跡し、養育レジリエンス要素質問票(PRQ)サブスケールの変化を検討した。受講した ASD をもつ保護者へのアンケート調査を行い、保護者の困難に感じている項目を抽出した。
2. 2018 年に養育レジリエンス向上に特に有用な要素をコアにした ASD のある子どもの保護者のニーズに合ったスペシャルメニュー（試行版）を作成し、2019 年度に試行版をもとに、ASD のある子どもの保護者（母親）へ 8 週間のスペシャルメニューを実施した。PRQ、DASS、Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ)および基本的生活習慣習得項目を評価に用いた。実践結果をもとに、ワークブック、ファシリテーターマニュアル、DVD、スライドを作成した。

【結果】

1. トリプル P 受講者の養育レジレンス要素質問票(PRQ)サブスケール 3 項目ともに改善を認めた。受講した ASD をもつ保護者へのアンケート調査を行い、保護者は基本的生活習慣の習得に困難を感じていることが明らかになった。
2. スペシャルメニューの実施：小児神経科医師、言語聴覚士からの 3～5 歳の ASD 児紹介は 30 名、うち 2 名は参加承諾が得られず、28 名の参加希望者に無作為割り付けを行い A、B グループ 14 名ずつで開始した。A が介入群、B 群は waiting 群である。それぞれの群の男女差は、A 群（介入）14 名は男 11 名、女 3 名である。B 群(waiting)14 名は男 10 名、

女 4 名である。A,B 群の男女比、年齢分布において有意差はなかった。開始時の PRQ 得点は両群とも有意差なし（図 1）。PRQ 得点は A 群（介入）のみ下位尺度すべてに有意な差が認められ、B 群（waiting）は改善がなかった（図 2）。不安、抑うつ、ストレを評価する DASS（Depression Anxiety Stress Scale）は、ストレスおよび抑うつのみ有意な改善が認められた。SDQ に関しては、有意に減少することはできなかったものの、向社会性に関して上昇していた。

基本的生活習慣：参加した母親がプログラム中に取り組んだ基本的生活習慣の項目は、食事 2 名、排泄 4 名、衣類 5 名、清潔 1 名、礼儀 2 名であった。受講中、14 名中 13 名の子どもが目標を到達でき、1 名が途中達成となっている。また、14 名のうち、3 名は途中で初期目標が達成でき、次の目標に取りくめた。

【考察】

ASD スペシャルメニュー（保護者への認知行動療法）は親の養育レジリエンスを向上し、子どもに基本的生活習慣を習得することのできるプログラムである。

介入群はメンタルヘルスの向上、不適切な子育ての減少につながっており、養育レジリエンスの向上によるものと考えられる。SDQ に関しては、有意に減少することはできなかったものの、向社会性に関して上昇していた。この結果は子どもが基本的生活習慣を習得していることが反映したと考える。

ワークブックとファシリテーターマニュアル、DVD、スライドを完成したが、今後はスペシャルメニューを活用した支援者の研修およびより多くの参加者を対象とした実践と効果検証が求められる。

図1. 開始時の両群データ

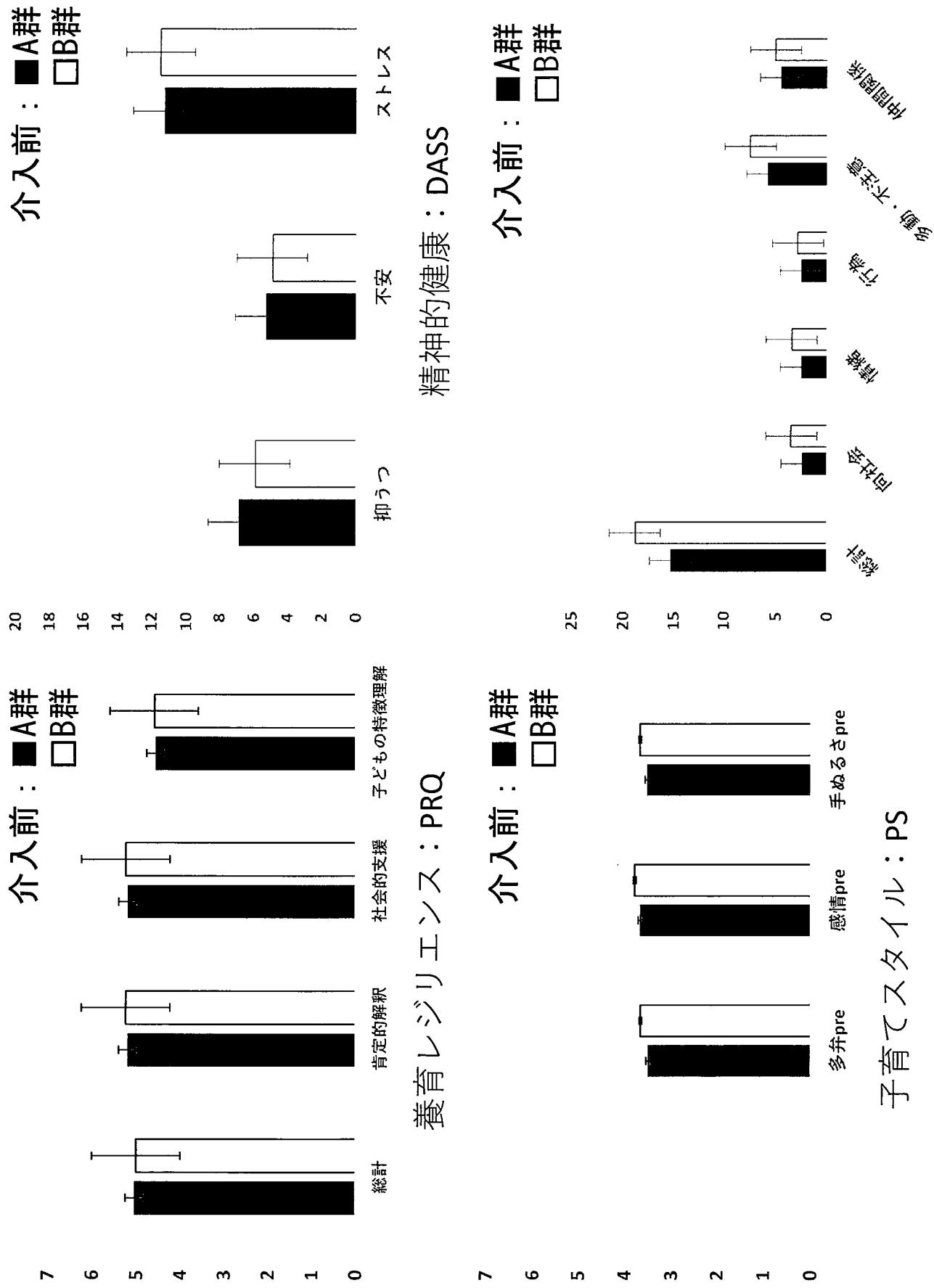
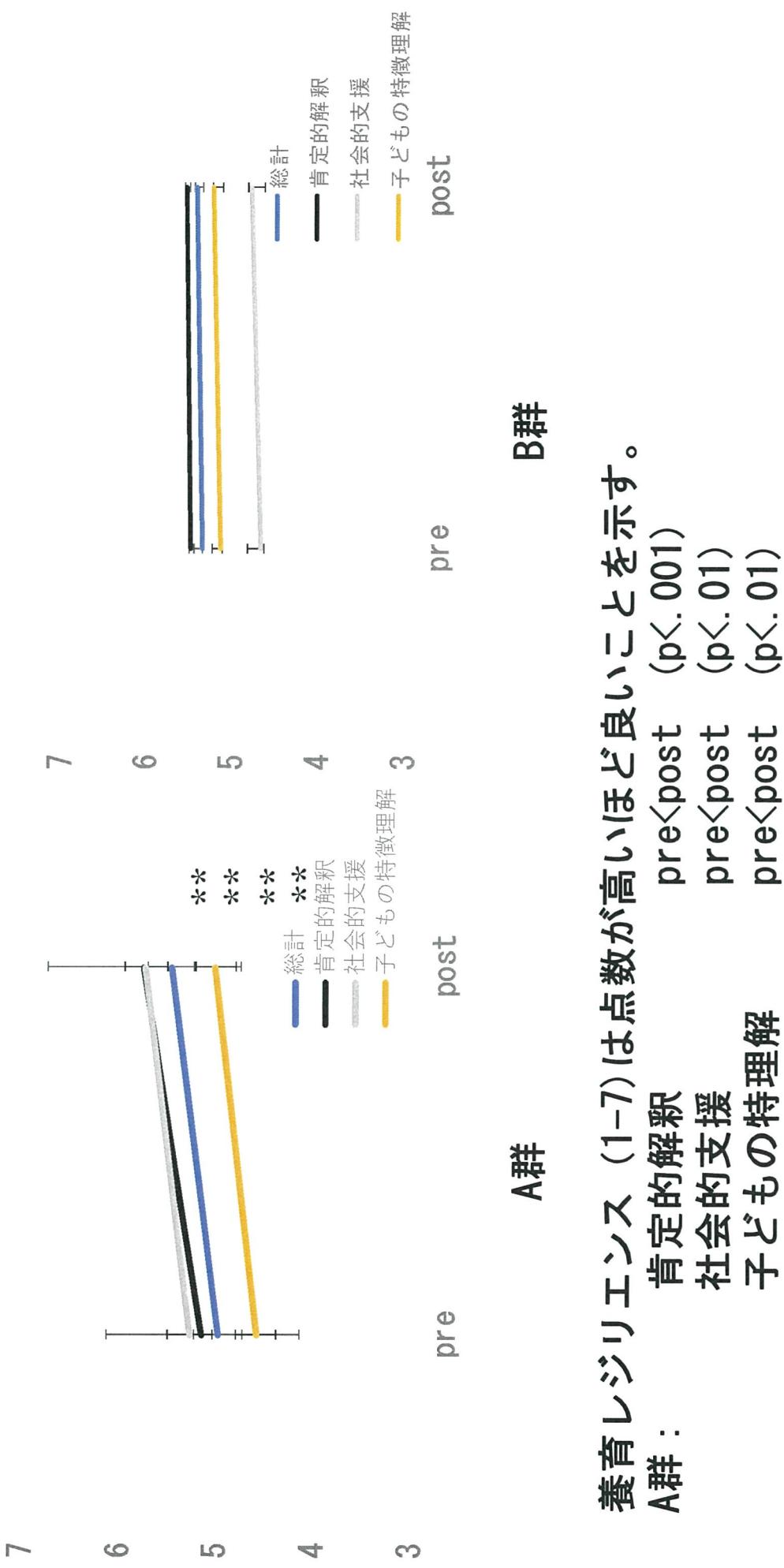


図2. 養育レジリエンスデータ



養育レジリエンス (1-7) は点数が高いほど良いことを示す。

A群 :
 肯定的解釈
 社会的支援
 子どもの特徴理解

pre<post (p<.001)
 pre<post (p<.01)
 pre<post (p<.01)

漢字の学習障害診断メニュー作成

東京学芸大学、現 尚絅学院大学

研究分担者：小池敏英

【緒言】

発達性読み書き障害（発達性ディスレクシア）は、全般的な知能が正常範囲にあり、視覚や聴覚などの末梢感覚器の障害がなく、学習環境や本人の意欲にも問題がないにも関わらず、「読み書き」に習得の困難を認めるものである¹⁾。また、その特徴は、正確かつ／または流暢な単語認識の困難があり、綴りや文字記号の音声化が劣拙である¹⁾。音韻認識の問題や呼称のスピードの異常を検査で明らかにすることが客観的な診断や病態把握につながるとされている^{2) 3)}。日本語は、アルファベットと同じ表音文字のひらがな、カタカタと、表意文字である漢字の3種を使用している。発達性ディスレクシアの発生率は文字と音との対応関係により異なることが報告されており⁴⁾ 日本語は、ひらがな、カタカナ、漢字によりその発生率が異なる。ひらがなにおける発達性ディスレクシアの発生率は1~2%であり、また、漢字はひらがなよりも多く6~7%と報告されている^{5) 6)}。

漢字は、学年ごとに配当されており学年進行に合わせて学習がなされる。通常学級における漢字の習得状況に関する調査によると、読みと書きでその正答率が異なり読みは各学年共に90%を超えており⁷⁾。書きは読みと比較して正答率が徐々に下がるが約70%の正答率をしめしている⁷⁾。発達性ディスレクシア児のような、ひらがな文に読み困難を示す子どもの中には、漢字の読み困難を示す者がとても多いことが報告されている⁸⁾。また、ひらがなにおける読字障害児の大部分は漢字の読字・書字にも困難をきたすが、それ以外に漢字のみで読字・書字の困難を示す症例との指摘もある⁹⁾。これより、かな文字の音韻意識や、呼称スピードの問題と共に、日本語においては漢字の読みと書きの問題についても評価していくことが必要であると考えられる。

日本において漢字を含めた、発達性ディスレクシアのスクリーニング検査として、小学生の読み書きスクリーニング検査（STRAW）が報告されている¹²⁾。この検査では、認知発達検査と共にひらがな、カタカナに加え、漢字の音読と書取の検査が用いられ、定型発達児の基準値に比して-2SD以下の値を明らかな異常値とする検査である。しかしながら、未だ漢字も含めた発達性ディスレクシアの診断やスクリーニングを目的とした検査は少ないことが現状であり、また、発達性ディスレクシアの診断には、標準化された検査による客観的な学習到達度の評価が不可欠である¹²⁾。

そこで本研究では、臨床場面で簡便に使用できる漢字の読字と書字の検査の基準値を作成することを目的とした。具体的には、はじめに、漢字単語の読字と書字の課題を小学生の定型発達児を対象として調査し、基準値を算出する。次いで、発達性読み書き障害児または、書字障害児に漢字単語の読字と書字の課題を実施し、基準値の妥当性を検討する。

【方法】

1. 対象

（1）定型発達児

関東地方及び、中国地方の公立学校の通常学級に在籍する児童を対象に調査を行なった。その際、漢字の書字課題が全て無回答の者、性別に関する記述が未記入であった児童を除外し3396名（男児1745名、女児1651名）を対象に分析を行なった。各学年別の人数は、2年生758名（男児389名、女児399名）、3年生

707名（男児375名、女児332名）、4年生685名（男児350名、女児335名）、5年生614名（男児305名、女児309名）、6年生632名（男児326名、女児306名）示した。対象児については、国語の学習達成において遅れがないことを確認した。研究の趣旨を保護者に文章で伝え、小学校を通して研究協力と発表の同意を得た。

（2）読み書き困難児（以下LD児）

LD児114名（小学2年生20名、3年生25名、4年生26名、5年生22名、6年生21名）を対象とした。本研究においてLD児は①WISC-IIIないしはIVにおいてFIQ(FSIQ)が70以上を示す者、②読み書き困難を主訴として医療機関を受診または相談機関に相談をしている者、③脳損傷に関する病歴が報告されていない者と操作的に定義した。漢字単語の読字テストの検討にあたっては、小児神経科医により発達性ディスレクシア(DD)または、読字障害(RD)の診断がある者、ガイドラインによる評価(稻垣ら, 2010)¹⁾で+2SD以上の課題が2課題以上ある者のいずれかを満たす者を、読み書き困難群、それ以外を読み書き非困難群とした。読み書き困難群は73名、非困難群は46名であった。漢字単語の書字テストの検討にあたっては、小児神経科医により発達性ディスレクシア(DD)または、書字障害(WD)の診断がある者を書字困難群、それ以外を書字困難群とした。書字困難群は56名、非困難群は50名であった。対象児とその保護者に対して、研究趣旨の説明を行い、研究協力と共に発表に対する同意を文章で得た。

2. 調査課題

漢字の読みと書きの能力は、漢字単語の読字テストと漢字単語の書字テストによって検討した。課題で出題した漢字単語は、各学年の国語の教科書に掲載されている新出単語の中から、既学年の前学年までに学習した漢字単語を16単語選定し出題した。漢字単語の選定に当たっては、漢字単語の属性として、親密度、心像性が漢字単語の読みに影響を与えることが報告されているため、その報告を参考に単語の属性を調整し調査単語の選定を行った¹⁴⁾。親密度、心像性の値については、NTTデータベースを用いた¹⁵⁾。親密度は、各学年の教科書(東京書籍)に掲載されているすべての新出漢字単語について親密度の中央値を求め、中央値以上の単語を選択した。またその中から、Ondaら(2015)¹⁴⁾の報告に掲載されている心像性の範囲に基づき、高心像単語を8単語、低心像単語を8単語選定した。2年生に関しては、漢字単語の心像性の値が高いためテストは高心像漢字のみとした。漢字単語の読字テストの親密度は、2年生6.03~6.46、3年5.81~6.56、4年5.72~6.63、5年5.62~6.34、6年5.40~6.09であった。高心像性漢字の心像性の平均(SD)は、2年生5.84(0.47)、3年生5.54(0.20)、4年生5.92(0.35)、5年生5.48(0.37)、6年生4.41(0.23)であった。低心像漢字の心像性の平均(SD)は、3年生4.41(0.32)、4年生3.91(0.16)、5年生3.83(0.16)、6年生3.73(0.19)であった。漢字単語の書字テストの親密度は、2年生5.84~6.53、3年5.71~6.56、4年5.71~6.34、5年5.46~6.40、6年5.34~6.28であった。高心像性漢字の心像性の平均(SD)は、2年生5.42(0.61)、3年生5.48(0.28)、4年生5.79(0.22)、5年生5.39(0.29)、6年生4.35(0.22)であった。低心像漢字の心像性の平均(SD)は、3年生4.7(0.29)、4年生3.8(0.19)、5年生3.82(0.19)、6年生3.83(0.11)であった。

漢字単語の読字テストはA4用紙に漢字単語が16題記載されており、問題の下にある括弧の中に漢字単語の読み仮名をひらがなで記入する課題である。漢字単語の書字テストは、A4用紙に、回答する漢字単語の読みが含まれた短い文章が16題記載された。回答する漢字単語の読みには下線が引かれていた。各問題の

下にある四角の中に読みに対応する漢字を記入する課題である。各課題はいずれも実施時間は5分間であった。

3. 手続き

定型発達児については、平成27年4月～7月に調査を実施した。調査実施に当たっては、担任教員に教示文を配布した。教示文に基づき担任教員により各クラスで一斉実施された。LD児については、平成28年4月～令和2年1月に調査を実施した。調査実施に当たっては、教示文に従い個別に実施した。

4. 分析

得られたデータの統計的分析は、エクセル統計2012（社会情報サービス、日本）及びEasyEstimation Ver.1.7.1¹⁶⁾を用いた。漢字単語の読字テスト、書字課題の信頼性を検討するため、各学年で、課題項目の α 係数を算出した。また、項目応答理論(IRT)を用いて、各漢字単語の難易度と弁別性を算出した。その際、各学年の漢字単語についての難易度と弁別性のパラメーターは、項目応答理論の2パラメータモデルを用いて算出した。漢字単語のテスト項目の難易度のパラメーターが一定の範囲内にある場合、テストの得点は対象児の達成の度合いを反映するとされている。難易度のパラメーターに関して、平均と標準偏差を算出し、課題項目の難易度を検討した。次に、読字困難群/読字非困難群（書字困難群/非困難群）の判定を、漢字単語の読字テスト、書字テストによってどの程度正確に識別可能であるのかを検討するために感度と特異度を算出した。

【結果】

1. 定型発達児について

(1) 漢字単語の読字テストと書字課題の正答率の分布と信頼性

漢字単語の読字テストの平均正答率(SD, 5パーセンタイル値、10パーセンタイル値)は2年生95.5(10.4、81.2、87.5)、3年生93.8(14.5、75.0、81.2)、4年生94.6(11.0、75.0、81.2)、5年生96.1(9.5、81.2、87.5)、6年生92.7(15.6、68.8、81.2)であった。各学年の正答率の分布は図1に示した。テスト項目が調査対象者の一貫した特徴を測定できているか検討するため、漢字単語の読字テストの16問のクロンバックの α 係数を算出した。その結果、2年生 $\alpha=.819$ 、3年生 $\alpha=.909$ 、4年生 $\alpha=.790$ 、5年生 $\alpha=.796$ 、6年生 $\alpha=.890$ となり、すべての学年で $\alpha=.79$ 以上の高い信頼性係数を示した。項目応答理論を用いて、各学年の漢字単語の読字テストの難易度を算出し、課題項目の難易度を検討した結果、難易度のばらつきは比較的小さく-1.0～-3.8の範囲であった。

漢字単語の書字テストの平均正答率(SD, 5パーセンタイル値、10パーセンタイル値)は2年生92.1(12.4、68.8、81.2)、3年生87.6(17.9、50.0、70.0)、4年生82.5(20.2、36.5、53.1)、5年生78.7(19.9、37.5、47.8)、6年生80.0(20.9、34.4、50.0)であった。各学年の正答率の分布は図2に示した。テスト項目が調査対象者の一貫した特徴を測定できているか検討するため、漢字単語の書字テストの16問のクロンバックの α 係数を算出した。その際、3年生以上は各課題項目が2文字熟語で構成されているため、漢字ごとに(32字) α 係数を算出した。その結果、2年生 $\alpha=.762$ 、3年生 $\alpha=.938$ 、4年生 $\alpha=.925$ 、5年生 $\alpha=.909$ 、6年生 $\alpha=.926$ を示した。項目応答理論を用いて、各学年の漢字単語の読字テストの難易度を算出し、課題項目の難易度を検討した結果、難易度のばらつきは比較的小さく-4.3～0.1の範囲であった。

2. LD児について

漢字困難群/読字非困難群（書字困難群/非困難群）の判定を、漢字単語の読字テスト、書字テストによってどの程度正確に識別可能であるのかを検討するために感度と特異度を算出した。その際、漢字読字テスト、書字テストの5パーセンタイル値、10パーセンタイル値を基準値として識別可能か検討した。

各学年の感度と特異度の値を表1に示す。漢字単語の読字テストについては、小学3年～6年生においては、10パーセンタイル値を基準値としたときの感度が70%以上、特異度は80%以上を示した。漢字書字テストについては、小学2年生は、10パーセンタイル値を基準値としたときの感度が88.9%、特異度は87.5%を示した。小学2年生～6年生においては、5パーセンタイル値を基準値としたときの感度の範囲は55.6～81.8%、特異度の範囲は66.7～100%を示した。また、10パーセンタイル値を基準値としたときの感度の範囲は69.2～100%、特異度の範囲は57.1～88.9%を示した。

【考察】

（1）漢字単語の読字書字テストについて

これまで、日本における発達性ディスレクシアのスクリーニングや診断においては、ひらがなの音読の正確性や流暢性を測る検査が多く用いられているが、発達性ディスレクシアの発生率は、かな文字よりも漢字の読字と書字における発生率の方が高いことが報告されている。漢字は学年進行に従い学習単語が決定されているため、当該学年にあわせた漢字単語の読字と書字の評価を行なっていくことが必要であろう。しかしながら、漢字の読字書字に問題のある児童を評価するための実用的な検査は、未だ少ない状態にある。ひらがなの音読の流暢性、正確性と共に、漢字の読字、書字について評価することで、臨床場面や診断における情報になると考えられる。そこで、本研究では、臨床場面で簡便に使用できる漢字の読字と書字の検査の基準値を作成刷ることを目的として調査を行った。

日本教育技術学会（2007）⁷⁾は、小学1～6年生までの配当漢字について学年ごとに習得率の調査を行なっている。その結果、漢字の読字では全ての学年で92%～94%の正答率を示していた。漢字の書字では、2年生では、小学2年生79%、小学3年生71%、小学4年生～6年生は、65%前後を示している。Onda et al (2015)の漢字単語の読字テストの正答率は2年生94.6%、3年生93.9%、4年生92.2%、5年生95.8%、6年生92.4%を示していた¹⁴⁾。

本研究の漢字単語の読字テストは、全ての学年で90%以上の平均正答率を示し、日本教育技術学会（2007）⁷⁾やOnda et al (2015)¹⁴⁾の調査とほぼ同様の結果が得られた¹⁴⁾。漢字単語の読みは、文部科学省の学習指導要領¹⁷⁾の中で、当該学年までに配当されている感じを読めるようにすることが指導目標とされている。通常学級における児童の多くは全ての学年で当該学年までの漢字の読みを達成していることが指摘できる。また、漢字の読みは学年が進行しても正答率に大きな変化はないという結果も先行研究と同様の知見が得られた。

漢字単語の書字テストは、日本教育技術学会（2007）による調査⁷⁾と比較すると正答率が高くなかった。本研究では、漢字単語の親密度を統制し、単語としての親しみが低すぎるものは出題しなかった。これが、要因となり日本教育技術学会（2007）が行った調査⁷⁾よりも正答率が高くなかったと考えられる。しかしながら、学年進行に従って正答率が下がる傾向は同様に認められた。

課題の信頼性は漢字読字、書字共におおよそ $\alpha = .80$ 以上を示した。また、項目応答理論の結果から、学年間のテストの難易度に差がないことが確認できた。これより、本研究で作成した漢字単語の読字、書字テスト

は基準値としての信頼性を指摘できる。

(2) 漢字単語の読字、書字テストの感度と特異度について

漢字単語の読字テスト、書字テストの感度と特異度を検討するにあたっては、各テストの 5 パーセンタイル値、10 パーセンタイル値の 2 種について、基準値の候補として検討した。その結果、漢字単語の読字テストについては、小学 3 年～6 年生においては、10 パーセンタイル値を基準値としたときの感度が 70% 以上、特異度は 80% 以上を示した。これより、漢字単語の読字テストについては、10 パーセンタイル値を基準値とすることが妥当と考えられる。一方、漢字書字テストについては、小学 2 年生～6 年生においては、5 パーセンタイル値を基準値としたときの感度の範囲は 55.6～81.8%、特異度の範囲は、66.7～100% を示した。また、10 パーセンタイル値を基準値としたときの感度の範囲は 69.2～100%、特異度の範囲は 57.1～88.9% を示し、その範囲が大きかった。この点については、小学 2 年生～4 年生においては、10 パーセンタイル値を基準値とし（感度の範囲は 80.0～100%、特異度の範囲は、60.0～87.5%）、5 年生と 6 年生については、5 パーセンタイル値を基準値とする（感度の範囲は 69.2～81.8%、特異度の範囲は 71.4～88.9%）と比較的良好な識別が可能になることを指摘できる。

【結論】

漢字単語の読字、書字テストの基準値について検討を行った。漢字読字テストについては各学年で 10 パーセンタイル値を基準値とすることが妥当であることが示された。また、小学 2 年生～4 年生においては、10 パーセンタイル値を基準値とし、5 年生と 6 年生については、5 パーセンタイル値を基準値とすることが妥当であることが示された。この基準値を利用することにより、ASD をはじめとする他の発達障害が併存した場合の漢字の読字・書字障害の様相の解明につながることを指摘できる。

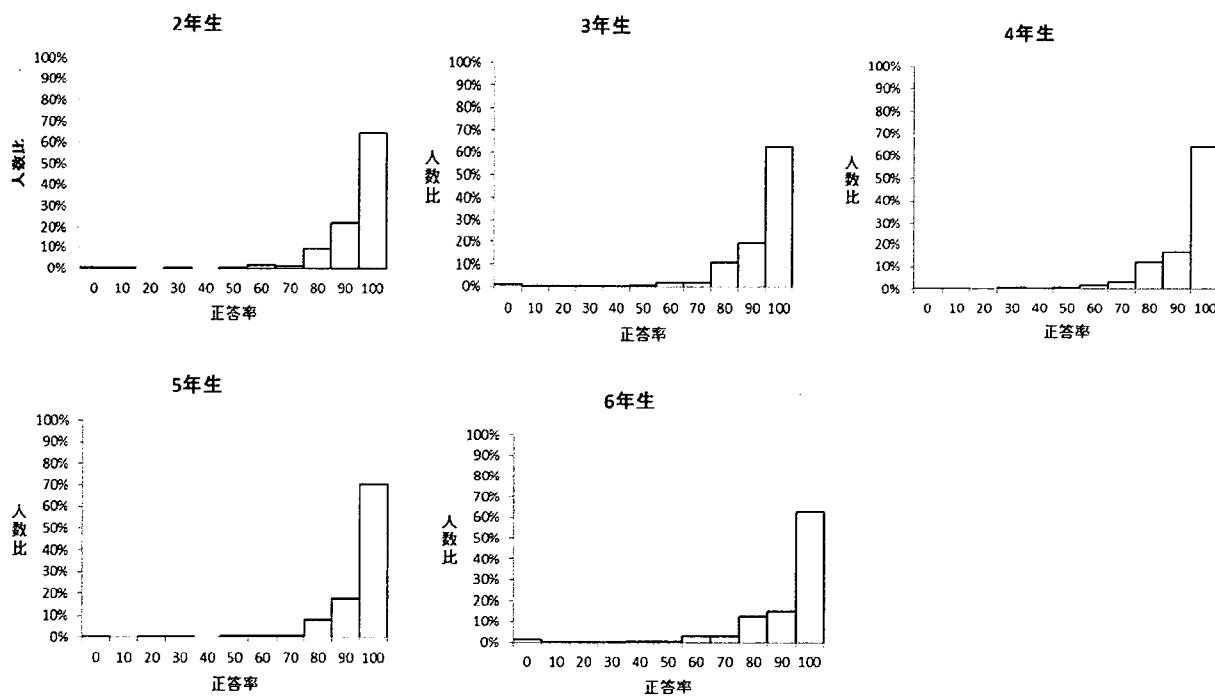


図1 漢字単語の読み字テストの成績分布

漢字単語の読み字テストの成績分布である。棒グラフの縦軸は人数比、横軸は漢字単語の読み字テストの正答率を示している。

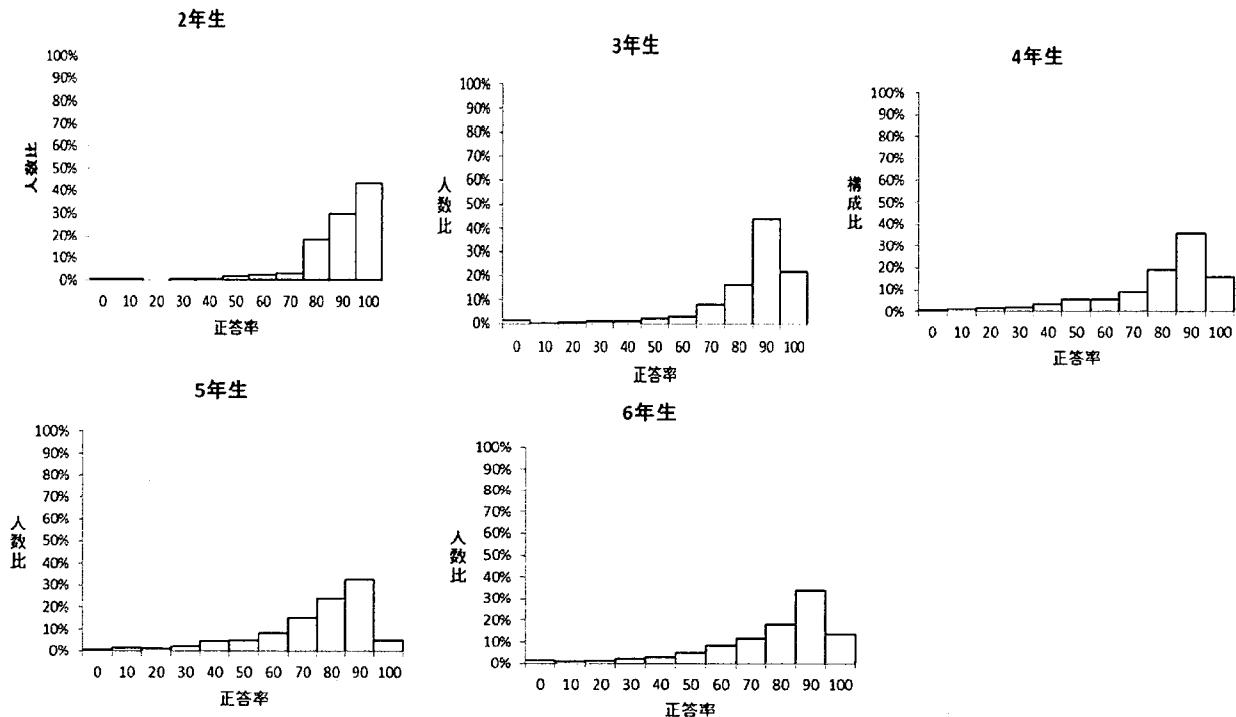


図2 漢字単語の書き字テストの成績分布

漢字単語の書き字テストの成績分布である。棒グラフの縦軸は構成比、横軸は漢字単語の書き字テストの正答率を示している。

表 1 漢字単語の読字、書字テストの感度と特異度

		漢字単語の読字テスト		漢字単語の書字テスト	
		感度	特異度	感度	特異度
2年生	5%タイル値	42.9%	100.0%	55.6%	100.0%
	10%タイル値	64.3%	83.3%	88.9%	87.5%
3年生	5%タイル値	80.0%	93.3%	75.0%	66.7%
	10%タイル値	86.7%	93.3%	100.0%	60.0%
4年生	5%タイル値	75.0%	100.0%	60.0%	90.9%
	10%タイル値	75.0%	90.0%	80.0%	63.6%
5年生	5%タイル値	57.1%	100.0%	69.2%	88.9%
	10%タイル値	85.7%	100.0%	69.2%	88.9%
6年生	5%タイル値	57.1%	100.0%	81.8%	71.4%
	10%タイル値	71.4%	100.0%	81.8%	57.1%

発達障害バイオマーカーの開発

功刀 浩

国立精神・神経医療研究センター

緒言

発達障害と腸内細菌との関連は古くから指摘されており、トピックスの1つになっている(Hsiao et al, Cell 2013 ほか)。また、栄養学的異常との関連も多数指摘されているが、唾液の常在菌解析なども含めて日本での検討は殆どない。

そこで本研究は腸や口腔内常在菌の役割、栄養学的指標に焦点をあてた解析を行う。常在菌や食生活との関連が明らかになれば、介入法の開発に直接役立つ知見が得られることが期待される。

方法

定型発達児28名、自閉症スペクトラム障害(ASD)児13名を対象に糞便および唾液を採取し、菌叢DNAを抽出後、16S rRNA菌叢解析を行い、両群間で比較した(糞便採取できたASD児は10名)。

＜倫理的配慮＞ 被験者・保護者に対しては、承認されたプロトコールに従って研究について説明を行い、文書で同意を得る。具体的には、「自閉スペクトラムにおける病態生理の解明、および新規治療法・診断予防法の開発を目指した遺伝子解析・ヒト粘膜常在細菌に関する研究という課題名で既に倫理委員会での承認を得ている。データの取り扱いにあたっては、個人情報の保護に十分留意している。

結果

腸管/口腔内における α -Diversity(個人内多様性)の解析では、腸管内の菌種についてASD群で有意に多かった。菌叢における菌種組成のバランスを表すShanon's indexもASD群で有意に高く、定型発達児と比べて菌組成のバランスが悪くなっている可能性が示唆された。腸内フローラの予備的解析結果によれば、2群間で有意差がみられた菌種の多くはFirmicutes門であり、ストレプトコッカス科(Streptococcaceae)とベイロネラ属(Veillonella)はASD群で平均存在比が低く、ルミノコッカス科(Ruminococcaceae)、リケネラ科(Rikenellaceae)、デスルfovibrio属(Desulfovibrio)ではASD群で平均存在比が高かった。

唾液フローラにおいて、2群間で有意差がみられた菌の多くはFirmicutes門、Proteobacteria門、Fusobacteria門であった。Firmicutes門の菌種全体でASD群は菌数が多く、特にラクノアナエロバクタム属(Lachnoanaerobaculum)の平均存在比が高かった。Proteobacteria門、Fusobacteria門の菌についてはASD群で平均存在比が低かった。Bacteroidetes門では特定の属のみ有意差がみられ、プレボテラ属(Prevotella)はASD群で平均存在比が低く、パルディバクテリア属(Paludibacter)は平均存在比が高かった。

考察

ASD児では胃腸症状との関連が指摘されているRuminococcus torquesが多いという報告(Wang et al., 2013)があり、今回の腸内フローラ解析の結果と一致した。リケネラはバクテロイデス目であり、バクテロイデスおよびパラバクテロイデスはコントロールマウスと比較してASDモデルであるBTBRマウスで有意に多いという動物実験での結果とも整合性がある(L. Coretti, et al., 2017)。また、Desulfovibrio属の菌数は自

閉症症状と強い相関があるという報告があり (Tomova A., et al., 2015)、ASD 群の特徴を表す菌である可能性が支持された。

腸内の *Prevotella* 属の組成比が ASD 児で有意に低いということが示されており (DW. Kang, et al., 2013)、口腔と腸管内それぞれの *Prevotella* 属の関連性はわからないものの、ASD の病態に何らかの関係があるかもしれない。

結論

ASD 児と定型発達児との間で、腸内・口腔内フローラにおける菌組成に有意な差があることが示唆された。ASD 児では腸内・口腔内ともに菌の種数が多く組成バランスが定型発達児と比べて悪かった。腸内では Firmicutes 門に属する菌で ASD 児と定型発達児の 2 群間で有意差があり、口腔内ではそれに加えて Proteobacteria 門、Fusobacteria 門でも有意差が見られた。

所沢コホート：発達障害リスク児の幼児期からの発達軌跡の同定

分担研究者：神尾陽子

国立精神・神経医療研究センター

お茶の水女子大学 基幹研究院人間科学系 人間発達教育科学研究所

緒言

本研究は、精神保健研究所と連携協定を結んでいる所沢市が2017年に開設した児童発達支援事業所（「所沢市こども支援センター」）との密接な連携のもとで、発達支援を必要としてセンターを訪れる就学前児とその養育者を対象として行う縦断的な観察研究である。自閉スペクトラム症(ASD)を主とする発達障害を疑われた子どもたちは発達過程で、発達障害以外にも情緒や行動の問題を持ちやすいが、包括的な観点からの発達軌跡は明らかにされていない。また、発達障害の発症は遺伝的要因が大きいことがわかっているが、同時に育児のむずかしさからマルトリートメントのリスク要因もある。子どもと家族への支援という観点からは、子どもの発達、情緒、そして行動に影響する遺伝的要因と養育環境要因の双方の影響について縦断的にデータ収集の仕組みが必要である。本研究では、地域の発達支援の拠点となる支援機関（所沢市こども支援センター）との連携のもとで、幼児期から子どもの発達障害特性に加えて、精神症状や一般健康問題を、環境要因として、家庭環境、親の健康や発達特性について年1回の質問紙調査に加え、必要に応じて臨床情報をあわせて包括的なデータを収集する体制を構築することを目標とする。最終的にはエビデンスにもとづく早期支援および予後予測が可能となり、個別ニーズに応じた支援サービスの提供が可能となると考える。また前向きコホートを維持することは、医療、福祉、教育との連携強化に役立ち、エビデンスにもとづく地域の発達支援のモデルとなることが期待される。

方法

対象：所沢市こども支援センター・発達支援部門の新規来所者（2歳から6歳までの未就学児でなんらかの発達的な困難を抱えている多様な発達リスク群と、同年齢、同数の同センターの育児支援部門を利用するコントロール群とその養育者。2019年度末時点で、発達リスク群32名、コントロール群4名からインフォームド・コンセントを得た。

手続き：当研究チームと、所沢市（こども未来部、こども支援センター）、そしてNCNPが連携協定を結んでいるお茶の水女子大学（人間発達教育研究所）の三者での連携会議を計15回持ち、研究者、行政、民間事業者との間で合意形成をはかりながらすすめた。具体的には1年次は、研究計画を策定し、データ収集にかかる負担を少なくするためにクラウドを介した電子アンケートの調査項目（フェイスシート項目15、子どもに関する項目150-200、親に関する項目130、子どもの年齢により多少変動あり）を確定し、調査ツール（所沢子どもの心の健康調査：Tokorozawa Survey of Children's Mental Health: TOUCH ME “タッチミー”）のシステムを開発した。1年次末から2年次にかけて13名の保護者を対象にパイロットテストを行い、その結果を踏まえた修正版システムとユーザー向け利用マニュアルを作成した。2年次10月から、研究参加募集のチラシ配布、個別に研究参加への説明を行い、その後に電子アンケートのIDを配布を経て、回答をしてもらうという手順で本調査を開始した。説明のための日程調整が難しいため、対面以外に電話での説明の選択肢も用意し、できるだけ迅速な調査開始の工夫を行った。同時に、1年次、2年次を通して、既存の臨床データの活用を見越して、こども支援センターの全職員を対象として標準化された臨床検査の実施の質の向上のために研修を実施した。3年次には、広く市民に本研究事業を知ってもらうために、子育て交流サロンを開催し（2020.1.28、於：こども支援センター）、保護者と研究者、福祉課、事業所が参加した。

本研究は国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得ており、全ての被験者およびその保護者に対して研究の目的及び内容を十分に説明して書面によるインフォームド・コンセントを得て行われた。

結果と考察

現時点でアンケートの初回回答の終了した21名の特徴は、2-4歳が大部分を占め、第1子が過半数、男女比は2.7:1と男児>女児であった。回答者の9割は母親で、ほとんど全員が児の発達に懸念があった。家庭の経済的状況については地域を代表する分布を示していた。児の対人関係の問題は自閉症的特性の強さと強い相関を示し、ADHD特性との相関も中程度にみられた。心の健康全般の困難さは自閉症、ADHD双方の発達特性と高い相関を示した。育児ストレス（保護者自身に関するもの、子どもの特徴に関するもの）のうち後者のみ、前述の児の発達障害特性および心の健康全般の困難さと中程度の相関を示した。

結論

子どもの自閉症的特性と全般的メンタルヘルスの問題が強いほど、育児ストレスが高くなることが示され、先行研究の結果と一致した。幼児期に地域で支援サービスを受けることで、どのように変化していくかについては今後の検討課題である。

聴覚情報処理に関する神経生理学的基盤を用いた児童期から成人期における精神医学的障害の早期発見と早期介入に関する研究

分担研究者：高橋秀俊
高知大学

緒言

本研究の目的は、発達障害の聴覚情報処理特性に応じた治療法（特に環境調整法）と併存精神障害発症や介入時期の予測法の開発である。近年、都市化の進展やインターネットの普及などにより聴覚情報処理に関する環境的負荷はますます増している。発達障害や精神障害における聴覚情報処理の脆弱性は古くから報告されているが、ともに病因の異種性が大きいこと、発達障害における思春期・成人期発症精神障害の高い併存率のため、治療には個々の特性に応じたアプローチが必要である。そのため聴覚情報処理特性の簡便な生理学的評価法と、それを基に動物実験などでの治療法ならびに精神障害発症や介入時期の予測法の開発に対する必要性は高く、このような成果は社会実装にもつなげやすいと期待できる。

方法

本分担研究課題では、これまで分担研究者らが多摩地域で行ってきたコホート研究の参加児童（自閉スペクトラム症 [autism spectrum disorders: ASD]・定型発達）を主な対象とした。これらの児童では、主要な臨床指標（精神医学的診断、定量的自閉症特性、精神症状、社会機能）や生理学的指標を得る体制が整備されていた。

臨床指標としては、日本語版 Social Responsiveness Scale (SRS)用いた定量的自閉症特性、日本語版 Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ) を用いた児童の情緒や行動の問題、日本語版感覚プロファイルを用いて感覚刺激への反応傾向（感覚過敏・鈍麻など）、日本版 Vineland-II 適応行動尺度を用いて適応行動・不適応行動などを評価した。協力の得られた児童に関しては、聴覚性驚愕反応（acoustic startle response: ASR）検査、脳波・脳磁図（安静時会閉眼、聴性定常ガンマ律動、聴覚性前注意的弁別処理）検査といった神経生理学的検査、アクチグラフを用いた身体活動動態などの表現型、さらには糞便・唾液内細菌叢も検討した。

ASR 検査では、ASR の潜時や 65dB から 105dB まで 10dB きざみで 5 段階の各音圧の白色雑音(40msec)に対する ASR の大きさ、さらに ASR の制御機構として馴化やプレパレス抑制 (PPI) について評価した。脳波・脳磁図検査では、開閉眼課題や聴性定常ガンマ律動に加え、聴覚性前注意的弁別処理（ミスマッチ陰性電位[MMN: 脳波]）を評価するため、聴覚性 multi-feature oddball 課題として、標準音（70%）に対して duration・pitch・omission の 3 種類（各 10%ずつ）の偏奇音を提示し、課題実施中の脳波を 64 チャネル脳波計を用いて測定し、各偏奇音に対する加算平均誘発波形から標準音に対する加算平均誘発波形を減算した後、MMN ならびに P3a を評価し、eLORETA (exact low resolution brain electromagnetic tomography) 法を用いて電位源を推定した。糞便・唾液内細菌叢では、採取した糞便・唾液検体で 16S rRNA 配列(細菌叢)解析を行い、菌種(OTU)組成情報を得、多様性解析を行った。これらの指標において、ASD 児と定型発達児とで群間比較し、さらに生理学的指標と臨床指標との関連についても検討した。

なお、本研究課題で行った研究は全て臨床研究に関する倫理指針及びヘルシンキ宣言の指針に基づく手続きを遵守し、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得ており、平成 29 年 2 月 28 日一部改正後の「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」にも対応できている。全ての被験者およびその保護者に対して研究の目的及び内容を十分に説明し書面によるインフォームド・コンセントを得て行われた。これまで倫理的な問題は特に生じていない。

結果

小さな聴覚刺激に対する ASR の大きさなどの ASR の指標は、ASD 特性や情緒・行動上の問題に加え、感覚の問題¹⁾、適応行動の低さ²⁾ やアクチグラフで評価した身体活動動態³⁾と関連し、アクチグラフで評価した身体活動動態は ASD 特性とも関連⁴⁾した。また、小さな聴覚刺激に対する ASR の大きさや ASR のピークの潜時は、糞便・唾液内の様々な細菌叢とも関連した。腸内・口腔内細菌に関する研究では、糞便や唾液細菌叢中の組成が、児童の自閉症特性や情緒・行動上の問題、感覚特性と関連する結果を得つつある。

開眼安静時の脳波 α 帯域の電位源は、心の理論に関与すると考えられる右縁上回を中心とする側頭頭頂接合部において、定型発達児に比べ、ASD 児で更新していた。さらに、pitch- oddball MMN の右下前頭回における電位源の大きさは、SDQ total score で評価した情緒・行動上の問題と負の相関を認めた。また時間・空間分解能に優れる脳磁計を用いて評価した聴性定常ガンマ律動の同期の側性も、SDQ total score で評価した情緒・行動上の問題と負の相関を認めた。

考察

低次知覚処理を反映する ASR や開眼時脳波、聴覚性前注意的弁別処理、聴性定常ガンマ律動、アクチグラフで評価された身体活動動態および腸内・口腔内細菌叢の菌種が ASD や併存する行動上の問題と関連する生物学的マーカーになる可能性が考えられた。

特に ASD 児に認める聴覚過敏性など低次知覚処理の非定型性を反映する ASR の指標は、ASD の自閉症特性や感覚の問題、感覚の問題や行動上才問題、適応行動など重要な臨床指標と関連するエンドフェノタイプ候補と考えられた。これらの知見、および ASR を用いた ASD 研究の今後の方針性に関して英文総説⁵⁾ や和文総説⁶⁾にまとめた。聴覚過敏などの特性が強い児童では生活場面での音環境保全が重要であり、学校の教室や保育園の室内における音環境調査を建築音響工学や教育関係者等と連携し、教室内音環境調査を行い、音環境保全の重要性について国内学会や和文総説^{7,8)}で報告した。これらの成果をもとに、感覚過敏に対する社会的な取組 (sensory friendly な取組) の日本での普及に関わり、川崎市において我国初のスーパー・マーケットでのクワイエット・アワー、サッカー競技場での sensory friendly room が実施できた⁹⁾。糞便や唾液細菌叢に関しては、今後詳細な解析を行い ASD の臨床特性に影響する細菌叢を同定し、菌種の組成と食品接種状況との関連についても解析することで、ASD の臨床特性を改善する食生活や薬剤の開発につなげる可能性が考えられる。

今後は、被験者を多施設・多地域で募り、ASR を中心に脳波・脳磁図などの神経生理学的指標や被験者の腸内・口腔内細菌やアクチグラフによる身体活動動態など基礎研究に応用しやすい臨床指標の発達的变化を多次元的・総合的に評価し、マーモセットなどの動物で類似の指標を得て、発達過程における ASD の病態メカニズムの変遷、ならびに併存精神障害の発症や介入時期の予測への応用について検討することで、ASD の感覚特性や併存精神障害への有効な支援法の開発につながると考えらえる。

結論

ASD や併存する行動上の問題と関連する生物学的マーカーとして、低次知覚処理を反映する ASR や開眼時脳波、聴覚性前注意的弁別処理、聴性定常ガンマ律動、アクチグラフで評価された身体活動動態および腸内・口腔内細菌叢の菌種のような基礎研究に応用しやすい指標をマーモセットなどの動物に応用することで、ASD の感覚特性や併存精神障害への有効な支援法の開発につながると考えられた。

脳画像とゲノム解析の応用による社会的コミュニケーションの障害の治療薬開発

山末英典

浜松医科大学 精神医学講座

緒言 自閉スペクトラム症 (ASD) は、100 人に 1 人の頻度で認められる発達障害で、社会的コミュニケーションの障害などの中核症状の治療法が未確立で、巨大な Unmet Medical Needs として、当事者や家族さらには社会全体にも大きな負担となっている。これに対して分担者は、H26-H28 年に責任研究者として、ASD に対するオキシトシン経鼻剤の世界初の多施設検証的自主臨床試験となった Japanese Oxytocin Independent Trial (JOIN-Trial)など、繰り返し自主臨床試験を行なってきた (JAMA psychiatry 2014; Mol Psychiatry 2014; 2918a, 2018b; Brain 2014; 2015; 2019 など)。一方、社会行動におけるオキシトシンとセロトニン (Nature 501:179-186, 2013 など) やドバミン (Neuron 95:368-384, 2017 など) の相互作用の重要性は、動物実験で繰り返し指摘されているが、ヒトでの知見は乏しい。

本研究は、オキシトシンによる ASD 中核症状改善過程における他の分子の関与を明らかにすることを研究目的とした。

方法 分担者が責任研究者として行なった、多施設無作為割付のプラセボ対照二重盲検並行群間デザインの検証的臨床試験である JOIN-Trial に参加した 106 名の成人で高機能の男性 ASD 当事者から、投薬開始直前と 6 週間の投薬期間の最終投薬から 1 時間後に収集した血漿検体について、網羅的な代謝物濃度測定を行なった(CE-TOFMS, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)。投薬内容は、オキシトシン経鼻剤 48 単位またはプラセボであった。

結果 定量に成功した 35 の代謝物について解析を行なったところ、オキシトシン投与前後では、プラセボ投与前後に比べて、N,N-dimethylglycine (DMG) 濃度の有意な上昇が認められた($P_{FDR}=0.043$, $d=0.74$, $N=83$)。さらに、分担者らが見出していたオキシトシン反復投与による効果減弱 (Brain 2019) との関係を検討するために、オキシトシン投与を受けた参加者の中でも顕著に一旦発現した効果の減弱を示した 20 名を抽出して検討すると、やはり DMG 濃度について、プラセボ投与に比べた有意な上昇をより大きな効果量で認めた($P_{FDR}=0.004$, $d=1.13$, $N=60$)。さらに、この DMG 上昇と臨床試験におけるオキシトシン投与による臨床的改善との関係を検討すると、DMG 濃度上昇が顕著であった参加者ほど、投与開始後 2 週間での臨床的改善 (対人場面での定量解析した中立表情の変動の乏しさという ASD 的表情特徴の減少) も顕著であった($P_{FDR}=0.006$, $r=-0.485$, $N=43$)。一方で、DMG 濃度上昇が顕著であった参加者ほど、投与開始後 2 週から 4 週の間においては、臨床効果の減弱も顕著であるという相関を認めた($P_{FDR}=0.033$, $r=0.415$, $N=37$)。しかし、DMG 濃度上昇は、6 週間の全投与期間における臨床的改善とは、いずれの指標でも相関を認めなかった ($P_{FDR}>0.62$)。

考察 DMG はグリシンの誘導体であり、NMDA 受容体を調整している可能性がある。DMG などの NMDA 受容性のグリシン結合部位の作動薬には、ASD も含めて様々な向精神作用が報告されている。

分担者らの先行研究 (Molecular Psychiatry 2018) も含めて、オキシトシン作用と神経可塑性や NMDA 受容体の関連については報告が散見されている。

本研究結果は、ASD 当事者におけるオキシトシン反復投与による効果減弱過程に、NMDA 受容体に関連する生化学的変化が関与することを初めて示したものである。

結論 本研究結果から、DMG 濃度上昇は、オキシトシンの反復投与に伴う効果減弱過程と関連することが示された。分担者らの先行報告 (Molecular Psychiatry 2018) と合わせても、オキシトシン反復投与に伴う効果減弱過程には、NMDA 受容体や神経可塑性が関与していることが支持された。本研究結果によって、オキシトシンによる臨床効果発現メカニズムの解明が促進され、より改良された最適な治療方法の開発が期待される。

Translational Research for developing of therapy of developmental disorder

Noritaka Ichinohe

National Institute of Neurological and Psychiatry

Autism spectrum disorder (ASD) is one of the most common developmental diseases and can be defined by the disorder of social communication, fixated or restricted behaviors, and high sensitivity. This project team performs translational research for ASD combining both pre-clinical marmoset-model and clinical researches. In 3 years of this project, marmoset model group has performed gene-expression analysis of brains from developing model animal. Study showed that markers for myelination and oligodendrocyte were down-regulated and markers for astrocyte and microglia were up-regulated. These results were consistent with reduction of fraction anisotropy and inclement of inflammatory-related biomarker in brains from patients with ASD. Animal model group also developed the quasi-non-invasive methods. These are comparable to non-invasive methods used for diagnosis and assay of therapeutic effects of patients with ASD. The developed methods were intrinsic optical imaging, comparable to fMRI in human, high density cortical wide ECoG, comparable to EEG and MEG in human, DTI for marmoset and human, and higher social test, comparable to human behavior score. Similar methods were used by clinical group, and this group provided data related to diagnostic efficacy of these methods for patients with ASD. Marmoset group and clinical group have proceeded with this project by collaborating with each other.