慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	自閉症スペクトラム障害の生物学的基盤 : 非罹患同胞との相違に注目して
Sub Title	Neurobiological signatures of autism spectrum disorder
Author	山縣, 文(Yamagata, Bun)
Publisher	
Publication year	2017
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2016.)
JaLC DOI	
Abstract	現時点までに計54名(15組のASD兄弟ペアと12組の健常兄弟ペア)を登録した。ASDとその非罹患同胞の2群間での脳灰白質体積の検討では, 両群で有意な差はみとめなかった。これは過去の報告と矛盾しない結果であった。さらに検定水準を下げた解析からは, 非罹患同胞と比較してASD群では扁桃体や被殻の体積が減少し, 中前頭回では増加していた。これらは過去のメタ解析より体積異常を指摘されている脳領域と一致していた。以上より, 非罹患同胞は, 臨床的にはASDと診断はされないが, ASDの病態に関連する脳領域において軽度の脳構造異常を有しており, この共通所見こそがASDの生物学的な所見である可能性が示唆された。 We have enrolled total 54 participants including 15 ASD and their unaffected sibling (US) pairs and 12 healthy control sibling pairs in this study. When we compared gray matter volume (GMV) between ASD and US, there was no significant GMV difference between groups in a voxel-based analysis. However, when decreasing the level of significance, we found ASD had smaller GMV in the bilateral amygdala and caudate and larger GMV in the middle frontal gyrus compared to UN. These brain regions have consistently been reported to be associated with ASD pathology from previous meta-analysis studies. Although UN is not clinically diagnosed as ASD, UN has mild structure abnormalities in the brain regions related to the pathology of ASD. We suggested that these common findings between ASD and UN may be a specific biological marker for ASD.
Notes	研究種目 : 若手研究(B) 研究期間 : 2013 ~ 2016 課題番号 : 25861030 研究分野 : 脳画像研究, 発達障害, 気分障害
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_25861030seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成　２９　年　　６　月　　２　日現在

機関番号：　３２６１２
研究種目：　若手研究(B)
研究期間：　2013～2016
課題番号：　２５８６１０３０

研究課題名（和文）自閉症スペクトラム障害の生物学的基盤：非罹患同胞との相違に注目して

研究課題名（英文）Neurobiological signatures of autism spectrum disorder

研究代表者
山縣　文（Yamagata, Bun）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：３０４３９４７６

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　2,400,000円

研究成果の概要（和文）：現時点までに計54名（15組のASD兄弟ペアと12組の健常兄弟ペア）を登録した。ASDとその非罹患同胞の2群間での脳灰白質体積の検討では、両群で有意な差はみとめなかった。これは過去の報告と矛盾しない結果であった。さらに検定水準を下げた解析からは、非罹患同胞と比較してASD群では扁桃体や被殻の体積が減少し、中前頭回では増加していた。これらは過去のメタ解析より体積異常を指摘されている脳領域と一致していた。以上より、非罹患同胞は、臨床的にはASDと診断はされないが、ASDの病態に関連する脳領域において軽度の脳構造異常を有しており、この共通所見こそがASDの生物学的な所見である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We have enrolled total 54 participants including 15 ASD and their unaffected sibling (US) pairs and 12 healthy control sibling pairs in this study. When we compared gray matter volume (GMV) between ASD and US, there was no significant GMV difference between groups in a voxel-based analysis. However, when decreasing the level of significance, we found ASD had smaller GMV in the bilateral amygdala and caudate and larger GMV in the middle frontal gyrus compared to UN. These brain regions have consistently been reported to be associated with ASD pathology from previous meta-analysis studies. Although UN is not clinically diagnosed as ASD, UN has mild structure abnormalities in the brain regions related to the pathology of ASD. We suggested that these common findings between ASD and UN may be a specific biological marker for ASD.

研究分野：　脳画像研究、発達障害、気分障害

キーワード：　発達障害　自閉症スペクトラム障害　脳画像研究　同胞研究

１．研究開始当初の背景

自閉症スペクトラム障害(Autism Spectrum Disorder; ASD)**は、**社会性やコミュニケーションの障害に特徴づけられ、かつ遺伝的因子に強く規定された先天的な脳の発達障害を有する疾患群である。しかしながら、その根本原因は未だに明らかにされていない。MRI(Magnetic Resonance Imaging)を用いた健常者と脳体積の比較を行った研究では、灰白質の局所の所見として、社会認知に関与する扁桃体や紡錘状回、下前頭回や上側頭溝で体積異常をみとめる報告が多い。しかしながら、それらの結果は、扁桃体の体積が大きいか小さいかのレベルで不一致がみとめられ、現時点において ASD における一貫した生物学的基盤は示されていない。

近年、ASD と健常者の 2 群間だけの比較でなく、非罹患同胞を含めたうえで脳の機能および形態的異常を検討した神経画像研究が散見される。Kaiser らは健常者と比べ、小児から思春期の ASD とその非罹患同胞が共通して生体運動課題遂行中に有意な脳血流低下を示した領域を ASD の trait marker とし、両側紡錘状回と左背外側前頭前野、右下側頭回を報告した(Kaiser et al., 2010)。次に扁桃体の体積を比較した研究では、非罹患同胞は ASD との比較で有意差はみとめなかったが、健常者との比較では、体積の減少を示した(Dalton et al., 2007)。また、Barnea-Goraly らは、DTI(Diffusion Tensor Imaging)を用い、健常者と比べ、小児 ASD と非罹患同胞が共通して社会認知や心の理論、顔認知に関係する脳領域における白質の構造異常を示し、これらの所見が ASD の生物学的マーカーである可能性を示唆した(Barnea-Goraly et al., 2010)。**Spencer らも、機能的 MRI を用いて表情認知課題遂行中に賦活される脳領域を検討した**(Spencer et al., 2011)。**紡錘状回や上側頭溝、側頭極といった共感や顔認識に関与する脳領域において、非罹患同胞と健常者の比較では、腑活反応性に有意差をみとめたが、ASD と非罹患同胞では、有意差はみとめなかった。これらの表情認知課題への脳反応性の所見が、ASD の生物学的マーカーに成りうる可能性が示唆された。**しかしながら、これまでの ASD の非罹患同胞を含めた神経画像研究では、

（1）　小児から思春期を対象にしたものが多く、成人例のみを対象とした報告が少ない。ASD は健常者と異なり、脳の成長のピークが幼少期にあるため、横断面での観察年齢の違いにより脳形態異常の不一致という問題が起こる。特に、対象年齢の幅が大きいと結果の解釈には注意が必要となる。

（2）単一の神経画像技術を用いた報告しかない。
灰白質および白質の体積や白質繊維の微細な構造異常、脳回の表面積や脳溝の深さといった形態的特徴を複合的に評価し、その中で一貫してみとめられた結果こそ、より信頼性の高い知見と考えることができる。

（3）　ASD と非罹患同胞の間で共有している生育環境や生物学的に同胞であるという影響を排除していない。
過去の ASD の同胞研究では、健常群と比較して、ASD と非罹患同胞が共通して異常所見を示した脳領域を ASD の遺伝に関与する trait maker としている。しかしながら、ASD とその非罹患同胞は生物学的な兄弟であり、かつ生育環境も共有している。つまり、同じ親から生まれた兄弟ゆえ、脳機能や構造に差がみられない、という可能性を排除できていない。

（4）　ASD の脳機能および構造の性差について検討されていない。
ASD 発症には男性が女性に比べ 4～5 倍多いと言われている。女性 ASD は非典型的な臨床像を呈し、男性 ASD よりも表面的な社会的スキルや言語能力が高いと報告されている(Gillberg & Coleman, 2000)。近年の脳画像研究から、女性には男性と比べ ASD 発症に対してより保護的な脳基盤を有している可能性が示唆されている(Murphy et al., 2011)。過去の同胞研究では、男女が混合となっており、性差による脳機能および構造への影響が考慮されていない。

２．研究の目的

そこで、我々は遺伝的因子の強い ASD において、その罹患していない同胞との関係に注目をした。ASD と健常群の 2 群間だけの比較ではなく、ASD とその非罹患同胞ペアと健康成人も同胞ペアの非罹患同胞を含めて検討し、健常同胞ペアと比較し、ASD と非罹患同胞でより共通してみられる脳の形態および機能的異常を抽出することで、この疾患における生物学的および遺伝学的マーカーを検出することを目的とした。

３．研究の方法

【対象】
昭和大学附属烏山病院の発達障害の専門外来へ通院しており、ASD と診断された男性成人患者 30 例とする。さらに、その同性の同胞で年齢差が 5 歳以内で ASD と診断されない症例 30 例。さらに、家族負因のない男性の健康成人同胞を 30 ペア集める。
統合失調症、てんかん、その他のうつ病以外の精神疾患の既往、また、物質依存、アルコール依存、頭部外傷の既往のあるものは除外する。

【方法】

(基礎情報)

患者の診療録から背景情報、臨床経過、検査所見などの情報を得る。

(神経画像検査)

（1） Voxel-based Morphometry (VBM)

MRI T1 強調像で撮像し、SPM8 ソフトウェアを用いて解析する。Voxel 単位で 4 群間の灰白質および白質の体積を比較する。

（2） Diffusion Tensor Imaging (DTI)

MRI 拡散強調画像で撮像し、FSL ソフトウェアを用い解析する。最新の DTI の解析方法である Tract-based Spatial Statistics (TBSS)を行う。白質繊維を skeletonization し、xovel 単位で 4 群間の FA(fractional anisotropy)、AD(axial diffusivity)、および RD(radial diffusivity)値を比較する。

（3）Free Surfer

MRI T1 強調像で撮像し、Free Surfer ソフトウェアを用いて解析する。それぞれの脳回の表面積および脳溝の深さを測定し、4 群間で比較する。

（4）Resting-state fMRI

本研究では、脳腑活課題は用いずに fMRI を撮像し、SPM8 を用いて解析する。Voxel 単位で 4 群間の安静時の脳神経の活動を比較する。

成人 ASD とその非罹患同胞ペア（ASD 兄弟ペア）と健常兄弟ペアを比較し、ASD 兄弟ペアでより類似性の高い脳構造や脳機能を示す領域を抽出することを試みる。

脳構造に関しては、高解像度 T1 強調画像を撮像し、VBM など全脳自動的解析手法を用いて行う。また DTI 撮像により、神経線維束の密度・神経軸策の髄鞘化など白質内の微小構造、および白質繊維の走行性を検討する。脳機能の検討には、fMRI(functional MRI: 機能的磁気共鳴映像法)によって安静時の局所脳代謝活動を測定する。fMRI 信号の脳領域間の信号変化の時間的相関を検討することにより、複数の領域から成るネットワーク（機能的結合）としての機能を解析する。また、被験者の知能や臨床症状の程度を種々の評価尺度を用いて評価する。

４．研究成果

4 年間の実施期間のなかで、現時点までに計 54 名の被験者を登録した。具体的には 15 組の ASD 兄弟ペアと 12 組の健常兄弟ペアである。これらのデータをもとに灰白質において Whole-brain VBM 解析を行なった（ただし、健常対照群のデータを取得中であるが、今回は解析に含めていない)。解析には SPM8 を使用し、DARTEL による被験者間の位置合わせを行なった。その後、各被験者の頭蓋内容積を共変量として voxel-wise two-sample t-test を用いて灰白質の体積の群間比較を行なった。Height $P < 0.05$, spatial extent $P<0.05$ (Family wise error corrected)の有意水準で検定したところ、ASD 群と非罹患同胞群で有意な灰白質の体積の差はみとめなかった。そこで、有意水準を下げて再解析を行なったところ（Height $P < 0.05$ uncorrected, $k = 700$)、ASD 群は非罹患同胞に比べ、両側の扁桃体や被殻、右側尾状核で体積が減少していた。一方で、中前頭回では ASD 群の方が体積が大きかった（図)。

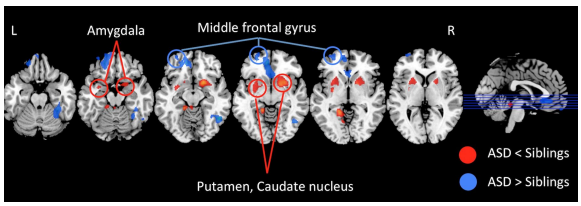


図 ASD と非罹患同胞における VBM 解析結果 (Height $P < 0.05$ uncorrected, $k = 700$)

今回の我々の結果から、ASD 群と非罹患同胞群において有意な灰白質体積の差をみとめる脳領域はなかった。これは、非罹患同胞を含め 3 群比較をした過去の画像研究と矛盾しない結果となった(Barnea-Goraly et al., 2010; Kaiser et al., 2010)。Dalton らは、扁桃体の体積を 3 群比較している。ASD 群は健康対照群と比較し有意に減少していた。一方で、非罹患同胞群と比べ ASD 群の体積は小さかったが、両群に有意差は認めなかった（Dalton et al., 2007)。また Spencer らは、fMRI を用いて表情認知課題遂行中に賦活される脳領域を検討している。紡錘状回や上側頭溝、側頭極といった共感や顔認識に関与する脳領域において、非罹患同胞群と健康対照群の比較では、腑活反応性に有意差をみとめたが、ASD と非罹患同胞では、有意差はみとめなかった(Spencer et al., 2011)。

さらに、検定水準を下げた解析から、非罹患同胞群と比較し、ASD 群で扁桃体や被殻の体積が減少しており、中前頭回で体積が増加しているという結果を得た。これらは過去の ASD 群と健康対照群の 2 群比較をしているメタ解析で体積異常を指摘されている脳領域と一致していた（Via et al., 2011; Nicki-Jockschat et al., 2012)。

以上より、非罹患同胞は、臨床的には ASD と診断はされないが、ASD の病態に関連する脳領域において、統計学的には有意なレベルではないが、ごく軽度の脳構造異常を有しており、この共通所見こそが ASD の病態に特異的な異常所見である可能性が示唆された。しかし、今回の解析結果は、サンプル数が少なく、健康対照群を含めた 3 群比較ではないため、あくまで予備的なものであるという前提を踏まえた上での解釈が必要である。今後は

さらに症例数を増やし、健康対照群を含め、VBM だけではなく、DTI、fMRI といった異なる MRI 解析技術を総合的に用い、ASD の生物学的マーカーの検出を試み、平成 29 年度中には論文としてまとめ、発表する予定である。

５．主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計　0　件）

〔学会発表〕（計　0　件）

〔図書〕（計　0　件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計　0　件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計　0　件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

６．研究組織
(1)研究代表者
山縣　文　（YAMAGATA Bun　）
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：30439476

(2)研究分担者
（　　）

研究者番号：

(3)連携研究者
（　　）

研究者番号：

(4)研究協力者
（　　）