

論文の内容の要旨

論文題目 自閉症的行動特性とオキシトシン受容体遺伝子多型を結ぶ
中間表現型としての脳形態指標とその性差に関する研究

氏名 齋藤 有希

1、序文

自閉症スペクトラム障害 (Autism spectrum disorders ; ASDs) とは (1) 他者との社会相互性の障害、(2) コミュニケーションの障害、(3) 常同的で興味・行動の限定された様式という、3つの行動特徴のうち (1) を必須として他の特徴を能力のパターンと考え連続的な障害として捉えたもので、これらの行動特徴を幼児期から認めることで診断される。ASDs の成因としては遺伝要因と環境要因などがあり、さらに遺伝要因でも **common genetic variant** と **rare genetic variant** など複数の要因が想定され、異質性の高い疾患群であることが分かっている。ASDs の中には、一つ一つは表現型に与える効果が弱い多数の遺伝子や、これを修飾する環境要因が形質発現に関与し、その分布は正規分布するという量的遺伝学のモデルに則り、ある閾値を超えると疾患が発症するという **threshold theory** に従うものがあると考えられている。この仮説に基づいた双生児研究や家族研究では、定型発達者の中にも閾値下の自閉症的行動特性 (Autistic-like traits ; ALTs) がみられ、特性の殆ど認めないものから強いものまで連続的に分布し、ALTs は ASDs と遺伝的に重複していること、その違いに周産期等の環境要因や、環境要因と遺伝要因の相互作用が影響している可能性が示唆されている。

また双生児研究から ALTs や ASDs は 3つの中核症状ごとに神経基盤が異なる可能性が指摘されている。さらに ASDs の有病率や ALTs の強さの男女差、社会相互性に関わる脳領域の構造の男女差、社会性へ影響を及ぼすオキシトシンやバズプレッシンの分泌や機能の男女差から男女で神経基盤が異なる可能性も示唆される。よって ALTs の因子構造の検討や、男女差を考慮した解析により、ASDs の異質性を低減出来る可能性があると思われる。

オキシトシンはヒトや動物の社会行動に関係し、ALTs は性差を持つがオキシトシンも性差をもち、オキシトシンレセプター遺伝子 (oxytocin receptor gene; *OXTR*) の多型は定型発達者における向社会性や社会行動の個人差に関連することが知られている。また最近の報告から *OXTR* rs2254298A がアジア人における ASDs のリスクアレルである事が示唆され、定型発達者で *OXTR* rs2254298A と辺縁系、傍辺縁系の形態との関係が報告されていることから、本研究でも ALTs の社会性ドメインと関連する候補遺伝子として *OXTR* rs2254298A に注目した。しかし直接 ALTs と *OXTR* rs2254298A の関係を調べた遺伝子研究で関連は見出されておらず中間表現型研究が有望であると考えられる。本研究では局所灰白質体積と解剖的カップリングを候補として、ALTs の社会性ドメインと *OXTR* rs2254298A を結ぶ中間表現型としての脳形態指標の同定を試みた。

2、方法

定型発達者 135 人（男性 79 人）を対象に Voxel-based morphometry (VBM) 解析と Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) タイピングを用いて、以下の解析を行った。この際 ALTs の評価には Autism Spectrum Quotient (AQ) を用い、ALTs の異質性の低減のために、その因子構造を検討し、「自閉症的社会的性」（つまり、ALTs の社会的性ドメイン）、「コミュニケーション」、「こだわりやパターン」、「想像力」の 4 つの因子得点を後の解析に用いた。

2-1、相関解析

VBM による画像統計解析にて ALTs の社会的性ドメインを説明変数、性別を条件、本人の社会経済尺度、全頭蓋内体積 (intracranial volume; ICV) を共変量として、ALTs の社会的性ドメインと局所灰白質体積の相関の性差の検定 (有意水準は uncorrected $P < 0.001$) および ALTs の社会的性ドメインと局所灰白質体積の相関解析を行なった (有意水準は FDR corrected $P < 0.05$)。2-2、解剖的カップリングの解析および解剖的カップリングと ALTs の社会的性ドメインとの相関解析

VBM による画像統計解析にて、ALTs の社会的性ドメインと相関を示した脳局所灰白質領域のピークボクセルから半径 10mm の球で平均した値を Marsbar を用いて取り出し説明変数とし、ICV を共変量として他の局所灰白質体積との相関解析 (有意水準は FDR corrected $P < 0.05$) を行なった。さらに有意となった領域のピークボクセルから固有値を取り出し、ALTs の社会的性ドメインとの相関を SPSS で調べ、ピアソンの積率相関係数を求めた (有意水準は $P < 0.05$)。

2-3、OXTR rs2254298A アレル数との相関解析。

OXTR rs2254298A のアレル数 (A/A, A/G, G/G で計算) と 2-1 および 2 で有意になった領域の局所灰白質体積を反映する固有値との相関を SPSS にてスピアマンの順位相関係数検定を用いて調べた (有意水準は $P < 0.05$)。

3、結果

定型発達成人男性において、ALTs の社会的性ドメインと右島の灰白質体積が負に相関し (FDR-corrected $P < 0.05$)、この相関の男女差が有意であった ($T=4.99$, $P < 0.001$)。

男性での他の因子得点と局所灰白質体積との相関や、女性での相関、局所白質体積での相関は認めなかった。

また男性で、右島皮質と解剖的カップリング (FDR-corrected $P < 0.05$) を認めた主に側頭部と前頭部を中心とした 8 箇所領域のうち、ALTs の社会的性ドメインと相関を示したのは腹側前部帯状皮質 (Anterior cingulate cortex ; ACC) と右島の解剖的カップリングのみであった ($r=-0.23$, $p < 0.05$, $n=79$)。

さらに男性で OXTR rs2254298A のアレル数と右島局所灰白質体積の間に負の相関を認めたが ($\rho=0.270$, $p=0.024$, $n=70$)、この相関は女性では認めなかった ($\rho=-0.091$, $p=0.568$,

n=42)。右島皮質と ACC 間の解剖的カップリングの強さと *OXTR* rs2254298A のアレル数の間に相関は認めなかった ($P>0.216$)。

ALTs の社会性ドメインと *OXTR* rs2254298A との相関は認めなかった ($P>0.913$)。

4、考察

本研究では、ASDs と共通の遺伝要因を反映している可能性がある ALTs を研究対象とし、異質性の低減を ALTs の因子構造を検討すること、解析において男女二形性に配慮することによって試みた。この結果、定形発達成人男性において ALTs の社会性ドメインが高いほど右島の局所灰白質体積が小さく、この相関の男女差が有意であること、男性で ALTs の社会性ドメインが高いほど右島と腹側 ACC との解剖的カップリングが弱いこと、さらに男性で *OXTR* rs2254298A を多く持つほど右島灰白質体積が小さいことが示せた。これらを初めて同一サンプルで示すことで、右島灰白質が ALTs の社会性ドメインと *OXTR* rs2254298A を結ぶ中間表現として、有力な脳形態指標である事を明らかにした。

4-1、表現型と中間表現型の関係について

本研究では ALTs の社会性ドメインが局所灰白質体積と相関を示したが、これは類人猿やヒトにおいて向社会性が大きな脳を発達させる原動力となってきたという社会脳仮説に矛盾しない。また島皮質は他人の感覚や感情の共有や不確実な事柄を処理する過程などに重要な役割を持ち、社会相互性に関与する脳領域の一つとして注目されており、本研究の所見に矛盾しない。

本研究で用いた解剖的カップリングという手法は局所灰白質体積の相関関係を検討しており、直接白質繊維の走行を定量していないが、先行研究からは構造の相関が解剖学的接合性と対応していることが示されている。さらに島皮質前部と ACC は強い繊維連絡があり、特に情動をとまなう場面で同期して活動し、島皮質前部が情動の察知、ACC はその統合や行動の制御として働く事が知られている。よって右島皮質と ACC の解剖的カップリングが弱いほど ALTs の社会性ドメインが強いという結果は妥当であると考えられる。

4-2、中間表現型と候補遺伝子の関係について

本研究では中間表現型候補として島皮質が見出されたが、*OXTR* と関連する脳領域として先行研究では扁桃体、視床下部、ACC という、島以外の領域が報告されている。この違いについては、本研究では多重比較を避けるため、先に ALTs の社会性ドメインと相関する脳局所領域を絞った上で、その局所灰白質体積との *OXTR* rs2254298A の関連を検討したことも一因と考えられる。また、オキシトシンレセプターが島を含む辺縁系、傍辺縁系に局在しているとの報告や、定形発達成人で島の情動反応が経鼻オキシトシン投与で増大したとの報告もあり、本結果と矛盾しない。

4-3、男女二形成について

本研究では、ALTs の社会性ドメインー右島灰白質体積ー *OXTR* rs2254298A の関係を男性でのみ認めた。性ホルモンが辺縁系における *OXTR* の発現の仕方を調節するとの報告もあり、

OXTR rs2254298A 遺伝子の発現の仕方にも男性特有の要因が関わっている可能性も示唆される。

4-4、方法論的制約

第一に本研究は ASDs が量的遺伝学のモデルに従う事を前提にしている事である。量的遺伝学のモデルに従うものが現時点でどの程度あるか分かっていないため、その割合によっては本結果の信頼性が低くなると考えられる。

第二に因子分析に用いた被験者数が少なく因子構造を十分に検討出来ていない可能性がある。因子分析では項目数：被験者数が 1：5 以上であることが望ましいとされているが、本研究では 1：2.7 と小さい。けれども本因子分析では 2 つ以上の因子に渡って因子負荷が 0.4 以上の項目が認められず、重なりなく分かれある程度信頼できると考えられる。

第三にサンプルの男女数に偏りがある事である。検出力に差があるため男性でのみ相関が有意になった可能性が否定できない。

第四に ALTs の評価に AQ という主観的な指標を用いていることである。今後 Social Responsiveness Scale (SRS) などの客観的な指標を用いた検討が望まれる。

第五に中間表現型研究という手法の限界として遺伝子と表現型の直接の因果関係までは示せない事である。しかし中間表現型を用いて表現型の単純化を試みることで、直接は遺伝子と表現型の関係を示せない場合に、間接的にでも示せたことは中間表現型研究を用いる利点であると考えられる。

第六に本研究では ALTs を対象としていることである。ALTs を対象とする事で被験者が早期に集まりやすいという利点があるが、ASDs と ALTs に共通の遺伝的要因があるという仮定も量的遺伝学のモデルを前提としており、真実は分からないため、今後 ASDs を対象に同様の解析を行っていく必要があると思われる。

4-5、今後の展望

今後 ASDs を対象とした研究で、本研究で同定された脳形態指標を中間表現型として用いて探索的に表現型や遺伝子との関係を調べていくことで、異質性の高い ASDs の病態の解明の糸口になる事が期待される。

5、結論

右島灰白質体積は ALTs の社会性ドメインと *OXTR* rs2254298A を結ぶ中間表現型としての男女二形性をもつ脳形態指標である事が示された。

(4000 字)