

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591394

研究課題名（和文）自閉症スペクトラムの病態における GABA 系の関与

研究課題名（英文）GABAergic system and brain network in Autism spectrum disorder.

研究代表者

菊知 充（Kikuchi Mitsuru）

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：00377384

研究成果の概要（和文）：DTI を用いて広汎性発達障害者 20 名、気分障害と広汎性発達障害の合併患者 4 名、健常コントロール 18 名を対象に、解剖学的ネットワークについて検討した。広汎性発達障害の患者においては、脳梁において FA 値が低下していた。特に両疾患の合併例においては、Superior longitudinal fasciculus において FA 値が有意に低下していた。MRS の施行による GABA 測定については、撮像時間が長く、被験者への負担が大きいことから、解析可能なサンプル数には至っていない。今回の研究で、広汎性発達障害の大脳皮質のネットワーク障害を形態学的に示した。

研究成果の概要（英文）：White matter abnormalities can be detected by diffusion tensor imaging (DTI). DTI is a noninvasive MRI technique that is useful for investigating white matter structure, an important aspect of brain connectivity. Autism spectrum disorder (ASD) (n=20) and ASD with bipolar disorder (ASD with BP) (n=4) were compared control subject (n=18). Our results demonstrated that ASD group showed reduced fractional anisotropy (FA) in splenium of corpus callosum, and that ASD with BP group showed reduced FA in superior longitudinal fasciculus. Our results suggested the deviated anatomical brain network in ASD patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009 年度	700,000	210,000	910,000
2010 年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：精神医学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：自閉症スペクトラム障害、拡散テンソル解析、核磁気共鳴スペクトロスコピー

1. 研究開始当初の背景

自閉性障害を代表とする自閉症スペクトラム障害は、主に社会性、コミュニケーションにおける障害および反復的な行動様式によって特徴づけられる神経発達障害である。最近英国で行われた 10000 人の子供における

有病率(Lancet, 2006)調査は 116 人 (1.16%) と報告しているが、その有病率の高さからも、病態生理の解明が社会的に急務であると考えられる。

自閉症スペクトラム障害の病態はいまだ未解明であるが「脳のネットワーク障害仮

説」が一つの有力な仮説であり、その背景には、発達過程における、さまざまな情報伝達系の障害が背景にあると考えられている。なかでも近年、興味深いことに、GABA系機能不全の自閉症への関与を示唆する研究が次々となされている。これまでの報告では、GABA系の機能不全は神経の異常興奮を惹起し、神経発達過程に異常を引き起こすことが分かっている (Child Neurol., 1997)。さらに、ほ乳類の新生児における学習、記憶、発達の基礎過程である臨界期において、GABA受容体数が重要な役割を果たしていることが報告され (Neuron, 2007)、GABA系の障害が自閉症における言語習得をはじめ、さまざまな社会性能力獲得の臨界期に影響している可能性が考えられている。これらのGABA系の障害は、幼児期におけるシナプスの形成、剪定、軸索のミエリネーションなど脳内のネットワーク形成の様々な段階で影響を及ぼすことから、自閉症に想定されている脳内ネットワーク障害の背景として、GABA系の障害があると我々は着目している。自閉症患者の脳成長過程の特異性が報告されているように (JAMA., 2003)、自閉症患者の脳成長パターンから予測されることとして、出生後早期の脳で異常に早い秩序の伴わない成長が起り、短い期間にたくさんの神経コネクショが適応性なく産生され、その後、脳の可塑性が低下し、適切な時期に社会性を獲得するための脳内ネットワークが再構築されず、学習が出来なくなっている可能性がある。

2. 研究の目的

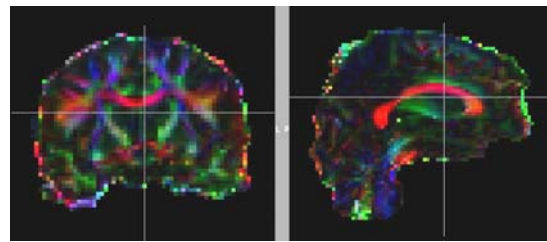
自閉症スペクトラム障害におけるGABA系の機能と形態学的神経ネットワークの関係について研究を行うことで、この疾患のより一元的な病態解明が期待される。近年、3Tの核磁気共鳴スペクトロスコピー (MRS) をもちいて脳内GABA濃度を無侵襲で測定する事が可能になった。また拡散テンソル解析 (DTI) により軸索回路の質的評価を行うことができるようになった。今回我々はこれらの手法をもちいて脳内GABA濃度と脳の形態学的ネットワークの特徴を測定し病態解明の一助とする。

3. 研究の方法

自閉症スペクトラム成人患者、気分障害患者、その合併例および健常成人を調査し生理学的データの比較検討を行う。すなわち以下の事を明らかにする。

まず、はじめに Diffusion Tensor Imaging (DTI) によって、神経の回路網を非侵襲的に画像化するため最適なパラメーターを決定した。具体的に試行錯誤のうえ決定されたパラメーターは 36 軸、Field of view 32 cm _ 32cm (スライス面の大きさ)、

Acquisition matrix 1 2 8 _ 1 2 8 (スライス内のマトリックス数=空間分解能)、Slice thickness/gap 2.5 mm/0 mm (スライスの厚さと、スライスごとのギャップ)、Number of slice locations 65 (スライス数)、TR 16000 に決定し、15 分の撮像時間で施行した。このパラメーターで取得したデータから、fiber tracking image を行い、実際に tracking が可能であることを確認した。36 軸の DTI で得られる Fractional Anisotropy (FA) map は白質神経線維の異方性拡散を表す正確な指標となり、白質の質的評価を詳細に行うことが可能であることを初年度に確認した。



DTI の解析により得られる fractional anisotropy (FA) 値は拡散の方向性を定量できる最もすぐれた指標とされる。ただし、この値の統計的な画像処理については未だに確立されていない。そこで、この FA 値の統計処理については、従来の SPM を用いた方法や、FSL というソフトウェアで Tract-Based Spatial Statistics を用いた解析と London の Institute of Psychiatry が開発した XBAM というソフトを用いた解析を施行した。下にそれぞれの解析方法の特徴を示す (当大学大学院、廣澤徹調査)。

	Merit	Problem
SPM	Popular	Parametric Free but requires MATLAB
FSL	Popular Non-parametric Completely free	Low sensitivity
FSL : TBSS	High sensitivity	Restricted to thick tract
XBAM	High sensitivity Whole brain	Unpopular

核磁気共鳴スペクトロスコピー (MRS) は 3T の MRI をもちいて PRESS sequence を用い、撮像パラメーターは TE= 35ms, TR= 2000ms に設定し 64 回の積算を行って撮像の準備を整えた。

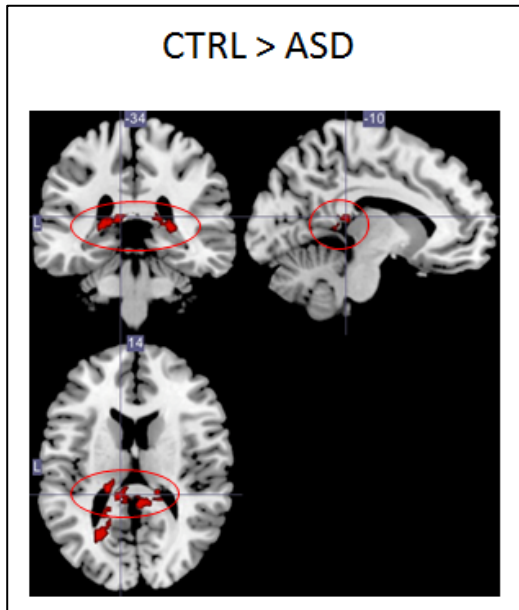
対象は、広汎性発達障害者、双極性感情障害患者、気分障害と広汎性発達障害の合併患者、健常コントロールそれぞれ 20 人を目標とした。

4. 研究成果

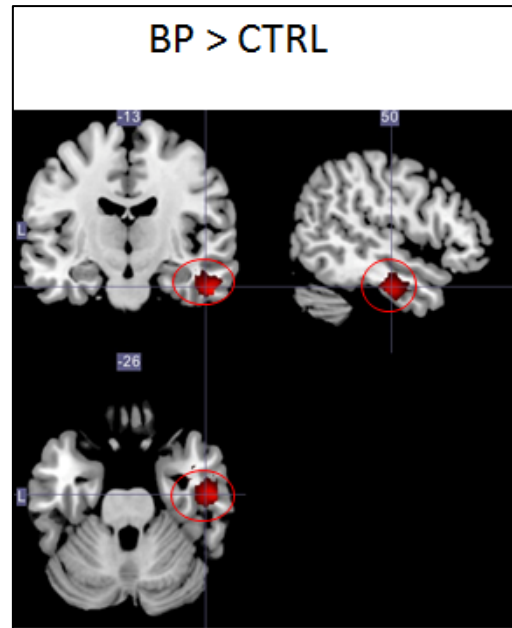
最終的に集まった対象は、広汎性発達障害患者 20 名、双極性感情障害患者 24 名、気分障害と広汎性発達障害の合併患者 4 名、健常コントロール 18 名で、MRI による DTI 撮像を終了した。

DTI については 3 6 軸、Field of view 32 cm _ 32cm、Acquisition matrix 128 _ 128、Slice thickness/gap 2.5 mm/0 mm、Number of slice locations 65、TR 16000 のパラメーターで 15 分程度の撮像時間で前被検者に対して施行することができた。一方で核磁気共鳴スペクトロスコピー (MRS) は 3T の MRI をもちいて PRESS sequence を用い、撮像パラメーターの最適化を試みたものの、結果的に撮像時間が 40 分程度と長時間におよぶため、被験者にかかる心理的負担が予想を超えて大きく、今回の患者被験群の大多数で施行を控えるを得なかった。

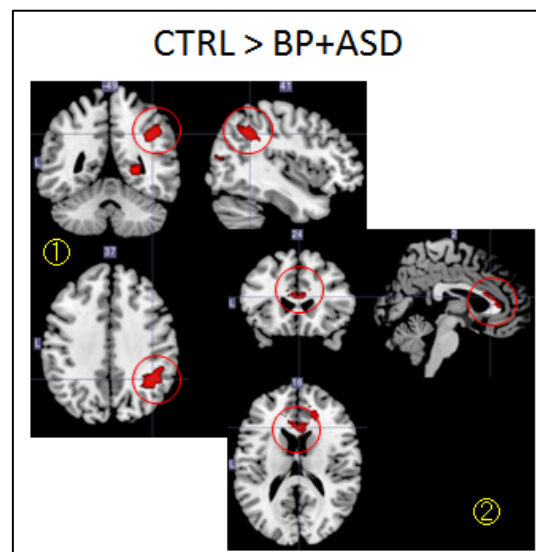
DTI の FA 値を London の Institute of Psychiatry が開発した XBAM を用いて統計処理した結果を下記に示す。下図が示すように、ASD では健常対照群 (CTRL) に比較して、脳梁膨大部で FA 値が低値を示した。すなわち、脳梁膨大部を介した左右の皮質間の解剖学的ネットワークに乏しいことを示唆している。



また、双極性障害 (BP) 群では CTRL 群に比較して、次の図にしめすように inferior longitudinal fasciculus (ILF) の FA 値の上昇を認めた。すなわち、ILF を介した半球内の皮質間の解剖学的ネットワークが過剰である事を示唆している。



ASD + BP 群では CTRL 群に比較して、longitudinal fasciculus と脳梁膝部で FA 値が低値を示した。すなわち、それらを介した左右の皮質間の解剖学的ネットワークに乏しいことを示唆している。



SPM、FSL (TBSS)、XBAM それぞれ異なる画像統計処理を用いた解析結果について、次の表にまとめた。結果として、XBAM を用いた解析手法にて各群間で有意な差を検出することができた。一部 FSL (TBSS) と XBAM によって結果が異なっていることなどについて、今後統計的手法としての検討が必要であると考えられた。

Result - summary			
	SPM	TBSS	XBAM
ASD	n.s.	n.s.	FA↓ Splenuum of CC
BP	n.s.	FA↑ Internal capsule	FA↑ ILF
ASD+BP	n.s.	n.s.	FA↓ SLF, genu of CC

CC, Corpus callosum; SLF, superior longitudinal fasciculus; ILF inferior longitudinal fasciculus; MLF, middle cerebellar peduncle

今回の研究では核磁気共鳴スペクトロスコピー (MRS) は3TのMRIをもちいてPRESS sequenceを用い、撮像パラメーターの最適化を試みたものの、結果として撮像時間が長時間におよぶことから、患者群における測定は断念することになった。今後は個々のGABA濃度と、解剖学的なネットワーク形成との関連性にまで踏み込んだ検討を行うためにもより短時間に行える手法 (MRSI等) をもちいて、GABA系の評価を行うように引き続き検討を行っていく。

今回の研究からは、ASD群のみならず、気分障害群とその合併例を調査することにより、その背景にある病態生理が異なることを示した。さらにASDは気分障害を合併するなど、臨床的にもその多様性が指摘されているが、脳内のネットワークといった観点からも、その多様性を示すことができた。

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10件)

- ① Beneyto M, Abbott A, Hashimoto T, Lewis DA. Lamina-Specific Alterations in Cortical GABA Receptor Subunit Expression in Schizophrenia. *Cereb Cortex*. 2011 May;21(5):999-1011. 査読有
- ② Suzuki K, Sugihara G, Ouchi Y, Nakamura K, Tsujii M, Futatsubashi M, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Matsumoto K, Takebayashi K, Wakuda T, Yoshihara Y, Suda S, Kikuchi M, Takei N, Sugiyama T, Irie T, Mori N. Reduced acetylcholinesterase activity in the fusiform gyrus in adults with autism spectrum disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 2011 Mar;68(3):306-13. 査読有
- ③ Remijn GB, Kikuchi M, Yoshimura Y, Shitamichi K, Ueno S, Nagao K, Munesue T, Kojima H, Minabe Y. Hemodynamic responses to visual stimuli in cortex of adults and 3- to 4-year-old children. *Brain Res*. 2011 Feb 2. 査読有
- ④ Kikuchi M, Shitamichi K, Ueno S, Yoshimura Y, Remijn BG, Nagao K, Munesue T, Iiyama K, Tsubokawa T, Haruta Y, Inoue Y, Watanabe K, Hashimoto T, Higashida H, Minabe Y. Neurovascular coupling in the human somatosensory cortex: a single trial study. *NeuroReport* 2010 21: 1106-1110. 査読有
- ⑤ Munesue T, Yokoyama S, Nakamura K, Anitha A, Yamada K, Hayashi K, Asaka T, Liu HX, Jin D, Koizumi K, Islam MS, Huang JJ, Ma WJ, Kim UH, Kim SJ, Park K, Kim D, Kikuchi M, Ono Y, Nakatani H, Suda S, Miyachi T, Hirai H, Salmina A, Pichugina YA, Soumarokov AA, Takei N, Mori N, Tsujii M, Sugiyama T, Yagi K, Yamagishi M, Sasaki T, Yamasue H, Kato N, Hashimoto R, Taniike M, Hayashi Y, Hamada J, Suzuki S, Ooi A, Noda M, Kamiyama Y, Kido MA, Lopatina O, Hashii M, Amina S, Malavasi F, Huang EJ, Zhang J, Shimizu N, Yoshikawa T, Matsushima A, Minabe Y, Higashida H. Two genetic variants of CD38 in subjects with autism spectrum disorder and controls. *Neurosci Res*. 2010 Jun;67(2):181-91. 査読有
- ⑥ Higashida H, Lopatina O, Yoshihara T, Pichugina YA, Soumarokov AA, Munesue T, Minabe Y, Kikuchi M, Ono Y, Korshunova N, Salmina AB. Oxytocin signal and social behaviour: comparison among adult and infant oxytocin, oxytocin receptor and CD38 gene knockout mice. *J Neuroendocrinol*. 2010 May;22(5):373-9. 査読有
- ⑦ Kosaka H, Omori M, Munesue T, Ishitobi M, Matsumura Y, Takahashi T, Narita K, Murata T, Saito DN, Uchiyama H, Morita T, Kikuchi M, Mizukami K, Okazawa H, Sadato N, Wada Y. Smaller

insula and inferior frontal volumes in young adults with pervasive developmental disorders. Neuroimage. 2010 May 1;50(4):1357-63. 査読有

- ⑧ Kikuchi M, Hanaoka A, Kidani T, Remijn GB, Minabe Y, Munesue T, Koshino Y. Heart rate variability in drug-naïve patients with panic disorder and major depressive disorder. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2009 Nov 13;33(8):1474-8. 査読有
- ⑨ Maldonado-Avilés JG, Curley AA, Hashimoto T, Morrow AL, Ramsey AJ, O'Donnell P, Volk DW, Lewis DA. Altered markers of tonic inhibition in the dorsolateral prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. Am J Psychiatry. 2009 Apr;166(4):450-9. 査読有
- ⑩ Takahashi T, Cho RY, Murata T, Mizuno T, Kikuchi M, Mizukami K, Kosaka H, Takahashi K, Wada Y. Age-related variation in EEG complexity to photic stimulation: a multiscale entropy analysis. Clin Neurophysiol. 2009 Mar; 120:476-83. 査読有

[学会発表] (計7件)

- ① Hayashi, N Sanada, S Miyati T, Suzuki M, Kikuchi M, Matsui O, Minabe Y, Yamamoto T, Minehiro K, Sakuta K, Takanaga M, Kawashima H, Advantages and pitfalls of segmentation methods using texture, anatomical features, and VBM on brain MR images. Radiological Society of North America 2010 96th Scientific Assembly and Annual Meeting 平成 22 年 11 月 30 日 McCormick Place, Chicago (USA)
- ② 菊知充, 渡邊克巳, 鈴木道雄, 春田康博, 井上芳浩, 三邊義雄 子どもに優しい脳発達研究プロジェクト:バンビプラン、第 19 回海馬と高次脳機能学会、平成 22 年 11 月 20 日金沢湯涌創作の森「交流研修棟」(石川県)
- ③ Yoshimura Y. Kikuchi, M., Shitamichi, K., Ueno, S., Nagao, K. Minabe, Y. Auditory evoked response of speech stimuli in 3- to 4-year-old children: a magnetoencephalography study. International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN2010) 平成 22 年

11 月 1 日神戸国際会議場 神戸市 (兵庫県)

- ④ Nagao, K. Kikuchi, M., oshimura Y. Shitamichi, K., Ueno, S. Minabe, Y. Correlations between the development of cognitive functions and spontaneous MEG responses of healthy 3- to 4-year-old infants. International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN2010) 平成 22 年 11 月 1 日神戸国際会議場 神戸市 (兵庫県)
- ⑤ Remijn, G.B., Kikuchi, M., Yoshimura, Y., Shitamichi, K., Ueno, S., Nagao, K., Kojima, H., Minabe, Y. NIRS-measurements of cortical hemodynamic activity in adults and preschool infants in response to static and motion stimuli. International Congress of Clinical Neurophysiology (ICCN2010) 平成 22 年 10 月 29 日神戸国際会議場 神戸市 (兵庫県)
- ⑥ 菊知 充。バンビプランの紹介 —広汎性発達障害の診断・治療・経過観察総合システムの開発—、第 173 回北陸精神神経学会、H21 年 6 月 21 日、金沢都ホテル (石川県)
- ⑦ 菊知 充、三邊義雄。シンポジウム『子どものこころの脳科学—大阪大学・浜松医科大学・金沢大学連合大学院発足を記念して—』:バンビプランの紹介 第 36 回日本脳科学会、平成 21 年 6 月 12 日、金沢大学医学部記念館 (石川県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菊知 充 (Kikuchi Mitsuru)
金沢大学・医学系・助教
研究者番号: 00377384

(2) 研究分担者

橋本 隆紀 (Hashimoto Takanori)
金沢大学・医学系・准教授
研究者番号: 40249959
(H20→21: 連携研究者)

(3) 連携研究者

棟居 俊夫 (Munesue Toshio)
金沢大学・子どものこころの発達研究センター・特任准教授
研究者番号: 50293353

長澤 達也 (Nagasawa Tatsuya)
金沢大学・附属病院・講師
研究者番号: 10334773

中谷 英夫 (Nakatani Hideo)
金沢大学・附属病院・助教
研究者番号：10452103

植田 文明 (Ueda Humiaki)
金沢大学・附属病院・講師
研究者番号：80293356

龍 泰治 (Ryu Yasuzi)
金沢大学・医学系・助教
研究者番号：50456414