

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：13802

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860998

研究課題名(和文) 爪郭部毛細血管叢による自閉症早期診断法の確立

研究課題名(英文) Nailfold plexus visibility as an early diagnostic system for autistic spectrum disorder

研究代表者

青山 美紗子 (AOYAMA, MISAKO)

浜松医科大学・医学部・特任研究員

研究者番号：60636447

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：1. 自閉症患者100名(6～20歳)および健常対象者50名からデータを得た。知的評価はWAIS-IIIあるいはWISC-IIIを用いた。10本の手指の爪郭部毛細血管叢画像を撮影した。撮影にはCCDビデオカメラ付き実態顕微鏡(SC-4, (株)健康科学研究会)を用いた。爪郭部の毛細血管が強調される特殊波長光を照射してCCDビデオカメラにより撮影した画像を毛細血管血流解析ソフトの入った専用パソコン(SC-101, (株)健康科学研究会)に保存。毛細血管透過性(NPV)は既報の5段階評価を用いてスコアリングして定めた。

2. 血清中のsPECAM-1濃度測定のために、毛細血管叢撮像と同日に採血を行い、凍結保存した。

研究成果の概要(英文)：1. Nailfold plexus visibility(NPV): NPV have been observed in 100 patients with autistic spectrum disorder and 50 age-matched normal development controls. Intellectual level was scored by WAIS-III or WISC-III. NPV was recorded by stereoscopic microscope with CCD video recorder (VIDEO MICROSCOPE SC-4, Kenko-kagaku-kenkyukai). NPV in all 10 fingers were evaluated in the standard 5 scores system.

2. sPECAM-1: Serum samples have been obtained from all participants at the day when NPV data was taken. All samples were stored in freezer for quantitation of sPECAM with a evaluation ELISA kit.

研究分野：児童精神医学

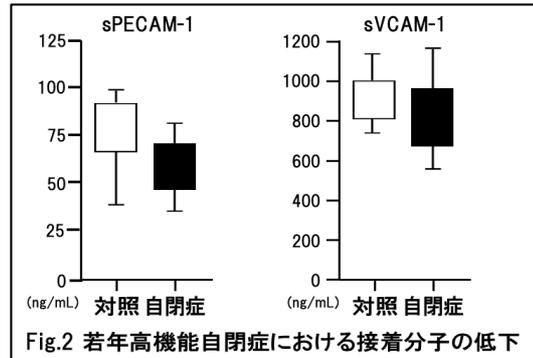
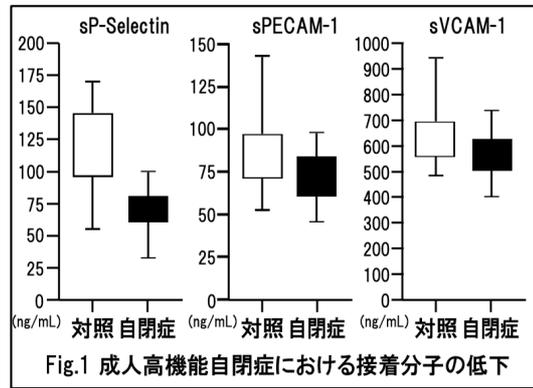
キーワード：自閉症スペクトラム障害 早期発見 爪郭部毛細血管叢 sPECAM-1

1. 研究開始当初の背景

自閉症は社会的相互反応やコミュニケーションの障害、および常同的行動によって特徴づけられる神経発達の障害である。早期からの母子への働きかけにより、予後が大きく改善することが分かっている。しかし、知的障害や異常行動が目立たない児では発見が遅れることが多く、スクリーニングに便利な、非侵襲的で、繰り返し行え、誰でもどこでも実施可能、さらに安価な診断法が求められている。

これまでの多くの研究成果から自閉症の病態には免疫系の障害が重要な役割を担っていることが示唆されている。その中で我々は、炎症時に働く接着分子 E-selectin、P-selectin、ICAM-1、VCAM-1、PECAM-1 に注目した。これらの分子は白血球と血小板の細胞膜表面、および血管内皮に存在している。炎症に際し、循環している白血球は炎症部位付近で走行速度を落とし、血管内皮に結合し、内皮の間隙を通り抜けて炎症部位に浸潤する。これらの接着分子は、この過程で共同して働き、可溶性分子 (soluble form) となって血中に溶出する。よって動脈硬化症や多発性硬化症のような炎症性疾患において、末梢血中におけるこれらの接着分子の可溶性分濃度が上昇する。

我々は、成人 (18 歳~26 歳) の高機能自閉症者におけるそれぞれの接着分子の可溶性成分の血清中濃度を調べたところ、soluble P-selectin (sP-selectin) と soluble PECAM-1 (sPECAM-1) が対照群に比べて有意に低下し、soluble VCAM-1 (sVCAM-1) は低下傾向であった (Iwata ら、*Br J Psychiatry* 2008; Tsuchiya ら、*Biol Psychiatry* 2007) (Fig.1)。さらに、若年 (5 歳~17 歳) の高機能自閉症では sPECAM-1 と sVCAM-1 が有意に低下していた (Fig.2)。また、4 歳以下の自閉症児の調査でも sPECAM-1 と sP-selectin が低下していた (Onore ら、*Biol Psychiatry* 2012)。これらの結果から、自閉症における sPECAM-1 の低下は



発達早期から成人に至るまで一貫して見られる所見である。PECAM-1 は主に血管内皮細胞同士の間隙に密集して存在し、隣り合う細胞同士を結合させている分子である。このことから、我々は、自閉症には血管内皮に障害があるのではないかと考えた。

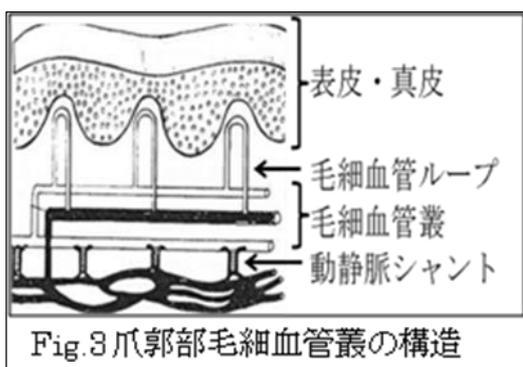
加えて、我々は高機能自閉症の末梢血において、sEGF と sTGF-β の濃度が低下していることを報告した (Suzuki ら、*Biol Psychiatry* 2007; Okada ら、*Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2007)。EGF と TGF-β はいずれも血管新生において重要な役割を果たしている。これも自閉症に血管異常があることを示唆する。

PECAM-1 は白血球に血管内皮を通過させる働きをしている。しかしその一方で、PECAM-1 欠損マウスの多発性硬化症モデルでは単核球細胞の脳内浸潤が増強しており、脳血管関門では PECAM-1 欠損は脳内への白血球侵入を促進している可能性がある (Graesser ら、*J Clin Invest* 2002)。最近我々は PET を用いて、高機能自閉症の脳の広範な部位においてミクログリア活性化が亢進していることを見出したが (Suzuki ら、*Arch Gen*

Psychiatry 2012)、この活性化は、PECAM-1の低下により脳内浸潤した白血球によって誘導されている可能性がある。しかし脳血管閉門の異常は簡単に調べることはできない。SPECT や PET は、児童の神経細胞は放射線感受性が高いことから、容易には行うことができない。そこで我々は、手指の爪郭部毛細血管を観察するという着想に至った。

## 2. 研究の目的

心臓から出た血管は大動脈から細動脈を経て毛細血管となり、指先の手前でUターンして細静脈から大静脈を経て心臓へ戻る。指先の爪の付け根(爪郭)の皮下にはヘアピン状の毛細血管が密集している(Fig.3: 爪郭部毛細血管叢 nailfold plexus)。この爪郭部毛細血管叢は容易に観察でき、そのループ形状や透過性(毛細血管叢可視性 nailfold plexus visibility: NPV)で評価される。これまでに炎症疾患である皮膚筋炎やSLEなどで多く調べられているが、精神疾患では特に統合失調症について報告されている(Maricq ら、*Biol Psychiatry* 1976; Miranowski ら、*Schizophr Res.* 2010)。



このような簡便な方法で、血管の性状を直接、非侵襲的に観察できることは非常に有利と言える。具体的には、生後間もなくの新生児でも使用でき、繰り返し計測が行えるため経時的な変化を追うことも可能である。この方法が早期診断として応用可能となれば、早期診断の時期、精度ともに格段の向上が得られ、その社会への貢献度は極めて高い。本研究では、この爪郭部毛細血管叢検査による自閉症早

期診断法を確立する。

## 3. 研究の方法

対象: 自閉症群は、浜松医科大学医学部附属病院精神科神経科に受診中、あるいは自閉症の患者と家族の会「アスペルデの会」の夏合宿に参加した患者から募集した。定型発達児は浜松市内のボランティアグループからリクルートを行った。

被験者には本研究の目的、方法、研究の危険性、プライバシーの保護、研究協力の自由撤回などについて説明文書をもとに十分説明し、文書による同意を得た。この際、本研究への同意、拒否に関わらず、患者の治療に関して不利益がもたらされないよう十分配慮した。すべての被験者は両親からの同意を得た。全ての個人データは連結可能なID番号が割り当てられ、それ自体では個人の特定ができない形にした。またこれらのデータはインターネットに接続されていないコンピュータに保存され、管理者から個人IDとパスワードを得なければ利用できないようにした。これらは、浜松医科大学倫理委員会で承認を得ている。

診断は主な養育者からの聴取にて、日本語版自閉症診断面接改定版 Autism Diagnostic Interview-Revised: ADI-R によって行った。ADI-Rは国際的に使われている自閉症スペクトラムの診断アルゴリズムで、熟練した検査者が半構造化面接によって聴取する。DSM-IV診断基準に準拠した4領域、A(社会機能)、B(コミュニケーション能力)、C(常同行動)、D(発症年齢)のドメインに分けて数値化できる。健常者は精神科診断面接マニュアル SCID と ADI-R にて精神疾患及び人格障害を除外した。ウェクスラー成人知能検査(WAIS-III)あるいはウェクスラー児童用知能検査(WISC-III)を用いて知的水準を評価した。

方法:

### 1. 毛細血管叢画像撮影

毛細血管叢撮影には CCD ビデオカメラ付き実体顕微鏡 (Fig.5: VIDEO MICRO SCOPE SC-4、(株)健康科学研究会)を用いた。



Fig.5 毛細血管叢画像撮影用顕微鏡

対照者の左右 10 本の手指について爪郭部毛細血管叢画像を撮影した。爪郭部の毛細血管が強調される特殊波長光を照射して CCD ビデオカメラにより撮影した画像を毛細血管血流解析ソフトの入った専用パソコン (SC-101、(株)健康科学研究会)に保存。

## 2. 毛細血管叢の評価

毛細血管画像の評価パラメータとして毛細血管透過性 (NPV) を用いた。各被験者から得られた左右手指 10 本分の爪郭部画像について、毛細血管透過性を以下の4段階で評価し (Fig.6)、その合計点を NPV スコアとした。

Fig.6 毛細血管透過性 (NPV) :

1 点



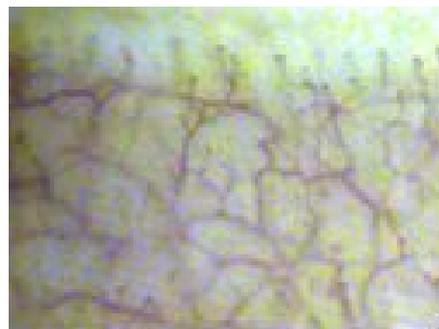
2 点



3 点



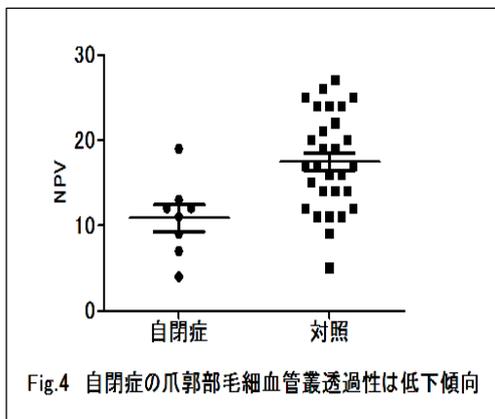
4 点



## 4. 研究成果

自閉症患者 79 例 (4 歳 ~ 20 歳) と 健常対照者 94 例 (4 歳 ~ 20 歳) からデータを集めた。集積した NPV データについて現在スコアリング中である。スコアリングの終わった自閉症児 9 名と定型発達対照児 33 名を比較したところ、自閉症児で爪郭部毛細血管叢透過性 (NPV) スコアは低い分布を示した (Fig.4)。

指先で観察された所見が、脳血管の異常を反映しているかどうかは不明であるが、少なくとも自閉症では末梢の毛細血管に異常がある可能性が高い。すなわち、自閉症の血管障害は全身性であることを示しているかもしれない。



## 5. 主な発表論文等

〔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)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

浜松医科大学・医学部・特任研究員

青山美紗子 (AOYAMA, Misako)

研究者番号：60636447

### (2)研究分担者

なし

### (3)連携研究者

なし