

帝塚山大学大学院心理科学研究科  
博士（心理学）学位論文

リズム・運動介入による神経発達障害児の  
行動変容及び神経可塑性の誘導

2017年3月

帝塚山大学大学院心理科学研究科心理学専攻

盛永 政和

## 目次

論文要旨 .....	1
第1章 研究課題 .....	6
第2章 序論 .....	9
第1節 神経発達障害に関する概論 .....	9
1-1 神経発達障害の定義 .....	9
第2節 モノアミン神経系研究の意義 .....	10
2-1 モノアミンとその役割について .....	10
2-2 モノアミンの代謝 .....	14
2-3 モノアミンと精神疾患 .....	18
2-4 モノアミンと神経発達障害 .....	19
第3章 神経発達障害児の病態メカニズムの解明とリズム・運動介入効果 .....	21
第1節 <第1研究>5-HT 神経活動の脳-尿相関 .....	21
1-1. 関連発表 .....	21
1-2. 目的 .....	21
1-3. 実験方法 .....	22
1-4. 結果 .....	25

1-5. 考察 .....	27
第 2 節<第 2 研究>ADHD モデル動物である NAR のモノアミン代謝排泄の特徴.....	30
2-1. 関連発表 .....	30
2-2. 目的 .....	30
2-3. 実験方法 .....	31
2-4. 結果 .....	33
2-5. 考察 .....	36
第 3 節<第 3 研究>神経発達障害児の多動・衝動性と尿中モノアミン代謝産物排泄...	38
3-1. 受賞歴.....	38
3-2. 関連発表 .....	38
3-3. 目的 .....	38
3-4. 実験方法 .....	39
3-5. 結果 .....	42
3-6. 考察 .....	45
第 4 節<第 4 研究>神経発達障害児の不注意，多動性・衝動性，ASD 傾向とその原因	
.....	47
4-1. 関連発表 .....	47
4-2. 目的 .....	47

4-3. 実験方法 .....	48
4-4. 結果 .....	50
4-5. 考察 .....	54
第5節<第5研究>ASD児の行動変容及び神経可塑性の誘導.....	58
5-1. 関連発表 .....	58
5-2. 目的 .....	58
5-3. 実験方法 .....	60
5-4. 結果 .....	69
5-5. 考察 .....	75
第4章 全体的考察 .....	81
第5章 今後の検討課題.....	88
第6章 引用文献 .....	90
謝辞.....	101
付録.....	102

## 論文要旨

神経発達障害は、Diagnostic and statistical manual of mental disorders; Fifth Edition (DSM-5: 精神障害の診断と統計マニュアル) (American Psychiatric Association, 2013)で定義された脳・中枢神経の成長発達に関する不全であり(Reynolds & Goldstein, 1999)、学習、社会的スキル、実行機能等が特異的に障害されることで、様々な社会的不適応を示している。このように、神経発達障害のある児童生徒に対する適切な支援を検討する上で、その病態メカニズムの解明は重要である。本研究では神経発達障害の中でも特に社会的な問題が大きく、科学の対象として多くの先行研究のある注意欠如・多動症(Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: ADHD)と自閉スペクトラム症(Autism Spectrum Disorder: ASD)に焦点を当てて研究を行った。本研究課題は、ADHD と ASD に見られる不注意傾向、多動・衝動傾向、ASD 傾向といった行動特徴とモノアミン神経系動態の関連を明らかにした上で、介入によって認知機能や社会生活の改善のみならず、神経可塑的変化の誘導可能性を検討することである。

従来から神経発達障害は、Positron Emission Tomography (PET)、Near-infrared spectroscopy (NIRS)、functional magnetic resonance imaging (fMRI)を主とする脳イメージング手法により、障害に関係する脳領域の部位特定が試みられてきたが(Zametkin, Nordahl, Gross et al., 1990; Rubia, Overmeyer, Taylor et al., 1999)、これら脳イメージング手法では、特定された脳部位の脳神経系活動を把握することは不可能である。

ADHD 及び ASD は脳内モノアミン神経系、特に noradrenaline (NA)、dopamine (DA)、

及び serotonin (5-hydroxytryptamine; 5-HT)の3つのモノアミン神経系活動との関連性が報告されている(Ryden, Johansson, Blennow et al., 2009; Baker, Bornstein, Douglass et al., 1993; Castellanos, Elia, Kruesi et al., 1996; Gorina, Kolesnichenko, & Mikhnovich, 2011; Hranilovic, Bujas-Petkovic, Tomicic, et al., 2008; Adamsen, Meili, Blau, et al. 2011)。しかしながら、その結果は一致していない。その理由としてADHDの3つのサブタイプ(不注意優勢状態、多動性-衝動性優勢状態、混合状態)に分類した研究が、モノアミンとの関連に関してこれまでほとんどされてこなかったことが考えられる。また、これまでの研究においては「ADHD群とコントロール群」または「ASD群とコントロール群」といった比較しかされておらず、ADHDの各サブタイプとASD、そしてコントロール群を包括的に比較したものは見当たらない。

さらに、動物モデルを用いた研究においては、ADHDモデル動物である高血圧自然発症ラット (Spontaneously Hypertensive Rats: SHR) や無アルブミンラット (Nagase Analbuminemic Rat: NAR) を使った研究では脳内のモノアミン神経伝達物質が測定されているが、いずれも前頭皮質においてNA、DA、及び5-HTの全てがコントロール群に比べて有意に減少している(袴田・山本, 2014a, 2014b)。また、ASDモデルラットの研究では、脳の5-HTクリアランスおよび5-HT受容体の感度の増加が報告されているが(Muller, Anacker, & Veenstra-VanderWeele, 2016)、これは脳における5-HTレベルが減少している可能性を示唆している。

以上から、ヒトADHD及びASDにおけるモノアミン神経系に関する研究においては、

モデル動物研究に比べ個体差の大きさに起因する結果のばらつきが生じる可能性があることが推測される。且つ、ヒト研究においては非侵襲的に脳内モノアミン神経系活動を推定する必要がある。そこで著者は尿中モノアミン代謝産物排泄に着目してきた。

第 1 研究では、ラットを用いた動物研究を行い、脳内 5-HT 神経系破壊毒である 5,7-Dihydroxytryptamine (5,7-DHT)を用いて脳内の 5-HT 神経系を特異的に破壊したときの、脳内 5-HT 含量と尿中の 5-HT 代謝産物である 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA)排泄量との関係を比較することで、5-HT 神経系の脳-尿相関を検討した。その結果、5-HT 神経系における脳-尿相関が明らかとなった。これまで、NA と DA については脳-尿相関が明らかにされていたため(George et al., 1993; Mori et al., 2003; David, 1985)、本研究によって NA、DA、5-HT の 3 種のモノアミンにおいて脳-尿相関が確認されたこととなった。

第 2 研究では、ADHD モデル動物である NAR と、その野生型である Sprague Dawley rat (SDrat)の尿中モノアミン代謝産物排泄を比較した。NAR と SDrat はともに前頭前野における NA、DA、5-HT の減少が明らかとなっているが(袴田・山本, 2014a)、尿中最終代謝産物排泄も同様の結果を示したことから、自然発症型の動物モデルにおけるモノアミンの脳-尿相関が明らかとなった。

第 3 研究では、まず「子どもの強さと困難さアンケート(Strengths and Difficulties Questionnaire: SDQ; youthinmind, 2009)」を用いて、対象児らを多動の程度によって分類し、多動と尿中モノアミン代謝産物排泄との関連を検討した。その結果、多動・衝動傾向は DA 神経系の亢進と、NA 及び 5-HT 神経系の抑制と関連していることが明らかとなった。これ

によって、行動特徴とモノアミン神経系の関連が示唆された。

第4研究では、ADHD及びASDに見られる他の行動特徴である不注意傾向とASD傾向について、尿中モノアミン代謝産物排泄との関連を検討した。ADHD Rating Scale-IV (ADHD-RS-IV; DuPaul, Power, Anastopoulos, et al., 2008)及びAutism Spectrum Quotient-10 (AQ-10; Baron-Cohen, Wheelwright, Skinner et al., 2001; Baron-Cohen, Hoekstra, Knickmeyer et al., 2006; Auyeung, Baron-Cohen, Wheelwright et al., 2008)を用いて、神経発達障害児を不注意傾向優位群、多動・衝動傾向優位群、ASD傾向優位群の3群に分類した。そして、これらの3つの優位型の尿中モノアミン代謝産物動態を観察し、ADHD及びASDの代表的な行動特徴との関連性を検討した。その結果、不注意、多動性・衝動性、ASD傾向といった3つの行動特徴のメカニズムが、モノアミンのアンバランスによって説明できることを明らかにした。更にADHDは行動指標のみならず、尿中モノアミン代謝産物測定からも不注意優勢タイプと多動性・衝動性優勢タイプの2群に明確に区別されることも明らかにした。また、これら3種の優位型はコントロール群とも明確に区別されることも明らかとなった。具体的には、不注意傾向はNA神経系の亢進とDA神経系の抑制が、多動・衝動性傾向はDA神経系の亢進とNA神経系の抑制が生じており、ASD傾向はNA神経系の亢進と5-HT神経系の抑制が生じていることが明らかとなった。更にコントロール群は3種のモノアミンがバランスを保っていることも明らかとなり、著者はADHD及びASDにおけるモノアミン・インバランス仮説を提唱するに至った。

第5研究では、ASD児らを対象に神経の可塑的变化を誘導することを目的としてリズ

ム・運動介入を行い、児童らの行動特徴、認知能力、モノアミン神経系活動が変化し得るかどうかを検討した。その結果、リズム・運動介入によって、ASD 児の実行機能を改善すること、そして神経可塑性を誘導し得ることを明らかにした。一方で、AQ-10 を用いた ASD 特性の評価において変化は見られなかった。

本研究の特色としては、大きく 3 点挙げられる。1 点目は尿中モノアミン代謝産物排泄について ADHD の各サブタイプ、ASD、コントロール群を包括的に比較した点、2 点目は単一のモノアミン代謝産物排泄を比較するのではなく、3 種のモノアミン代謝産物排泄のアンバランスに着目した点、そして 3 点目は、介入効果を認知機能的側面とモノアミン神経系の両側面から評価した点である。これら 3 点のアイデアに基づく研究及び成果はこれまでに見当たらず、本研究の独自性はこの点に集約される。そして、本研究による神経発達障害の行動特徴に関するメカニズムの解明は、神経発達障害研究における基礎研究領域のみならず心理・教育臨床領域にも多大な貢献を与えるものである。

## 第1章 研究課題

神経発達障害は、DSM-5 (American Psychiatric Association, 2013)で定義された脳・中枢神経の成長発達に関する不全であり(Reynolds & Goldstein, 1999)、学習、社会的スキル、実行機能等が特異的に障害されることで、様々な社会的不適応を示している。このように、神経発達障害のある児童生徒に対する適切な支援を検討する上で、その病態メカニズムの解明は重要である。

神経発達障害は従来から、脳イメージング手法により、障害に関係する脳領域の部位特定が試みられてきた(Zametkin, Nordahl, Gross et al., 1990; Rubia, Overmeyer, Taylor et al., 1999)。しかし、脳イメージング手法では、特定された脳部位の脳神経系活動を把握することは不可能である。

ADHD 及び ASD は脳内モノアミン神経系、特に NA、DA、及び 5-HT の3つのモノアミン神経系活動との関連性が報告されている(Ryden, Johansson, Blennow et al., 2009; Baker, Bornstein, Douglass et al., 1993; Castellanos, Elia, Kruesi et al., 1996; Gorina, Kolesnichenko, & Mikhnovich, 2011; Hranilovic, Bujas-Petkovic, Tomicic, et al., 2008; Adamsen, Meili, Blau, et al. 2011)。一方で、その結果は一致していない。このことの原因として、ADHD に関しては、従来の研究では不注意優勢状態、多動性-衝動性優勢状態、混合状態というサブタイプに言及した研究はほとんど見当たらないことが考えられる。

さらに、動物モデルを用いた研究がある。ADHD モデル動物である SHR や NAR を使った研究では脳内のモノアミン神経伝達物質が測定されているが、いずれも前頭皮質に

において NA、DA、及び 5-HT の全てがコントロール群に比べて有意に減少している(袴田・山本, 2014a, 2014b)。また、ASD モデルラットの研究では、脳の 5-HT クリアランスおよび 5-HT 受容体の感度の増加が報告されているが(Muller, Anacker, & Veenstra-VanderWeele, 2016)、これは、脳における 5-HT レベルが減少していることを示唆している。

本研究における最終的な課題は、非薬物療法の開発、即ち、非薬物的な心理学的介入によってモノアミン神経系活動の可塑的变化を誘導し得るかどうかを検討することである。そのためには、ヒト神経発達障害に見られる行動特徴と、モノアミン神経系動態との関連を明らかにする必要がある。また、それに先駆けて、ヒト研究においては非侵襲的に中枢モノアミン神経系活動を推定する必要がある。以上より、本研究においてはラットを用いた動物研究から着手し、ヒトの基礎、そして応用研究へと展開していくこととした。

第 1 研究では、ラットに対して脳内 5-HT 神経系破壊毒である 5,7-Dihydroxytryptamine (5,7-DHT)を用いて脳内の 5-HT 神経系を特異的に破壊したときの、脳内 5-HT 含量と尿中 5-HIAA 排泄量の関係を比較することで、5-HT 神経系の脳-尿相関を検討した。第 2 研究では、ADHD モデル動物である NAR と、その野生型である SDrat の尿中モノアミン代謝産物排泄を比較した。NAR と SDrat はともに前頭前野における NA、DA、5-HT 含量が明らかとなっていることから(袴田・山本, 2014a)、病態モデル動物におけるモノアミン神経系の脳-尿相関を網羅的に検討した。第 1 研究と第 2 研究から脳-尿相関を確認した。そこで第 3 研究では、ヒトにおける ADHD、ASD、及び両者の重複診断児につい

て行動特徴とモノアミン代謝産物排泄との関連を検討した。第3研究では、まず「子どもの強さと困難さアンケート(Strengths and Difficulties Questionnaire: SDQ)」を用いて、多動の程度によって分類し、多動と尿中モノアミン代謝産物排泄との関連を検討した。第3研究で多動とモノアミン代謝産物排泄との関連が明らかになったことから、第4研究では、神経発達障害児に見られる他の行動特徴である不注意傾向と ASD 傾向について、尿中モノアミン代謝産物排泄との関連を検討した。ADHD Rating Scale-IV (ADHD-RS-IV) 及び Autism Spectrum Quotient-10 (AQ-10)を用いて、神経発達障害児を不注意傾向優位群、多動・衝動傾向優位群、ASD 傾向優位群の3群に分類した。そして、これらの3つの優位型の尿中モノアミン代謝産物動態を観察し、神経発達障害様の行動特徴との関連性を検討した。第5研究では、まず、第4研究で明らかにした行動特徴とモノアミン神経系活動の関連の内、ASD 傾向における再現性の確認を行った。続いて、本博士研究の最終目的である非薬物療法の開発のために、ASD 児らを対象とした介入研究を行った。ASD 児の神経の可塑的变化を誘導することと、実行機能の向上を目的として、申請者が開発したリズム介入及びリズム・運動介入を行い、児童らの行動特徴、実行機能、モノアミン神経系活動が変化し得るかどうかを検討した。

## 第2章 序論

### 第1節 神経発達障害に関する概論

#### 1-1 神経発達障害の定義

神経発達障害のある子どもの社会的不適応は、今日様々な社会的問題をみせている(岡田・後藤・上野, 2005)。例えば、神経発達障害等により学習や生活の面で特別な教育的支援を必要とする児童生徒の数について、文部科学省が平成24年に実施した「通常の学級に在籍する特別な教育的支援を必要とする児童生徒に関する全国実態調査」の結果では、約6.5パーセント程度の割合で通常の学級に在籍している可能性が示されている(文部科学省, 2012)。また、米国においては3歳から17歳の子どもの約17%に発達障害があることが示されている(Boyle, Boulet, Schieve, et al., 2011)。

神経発達障害は、Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Fifth Edition (DSM-5) (American Psychiatric Association, 2013)によると、「発達の時期に発症する条件をもつ一連の障害である。その障害は典型的には発達早期、しばしば小学校入学前に現れ、個人的・社会的・学業あるいは職業的な機能を損なう発達の欠陥により特徴づけられるものである。発達の障害の幅は、学習や実行機能の非常に特殊な制限から社会的スキルや知能の全体的な欠陥まで幅がある。」と定義されている。

神経発達障害は、知的能力障害群(Intellectual Disabilities)、コミュニケーション症群(Communication Disorders)、自閉スペクトラム症(Autism Spectrum Disorder: ASD)、注意欠如・多動症(Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: ADHD)、限局性学習症

(Specific Learning Disorder)、運動症群(Motor Disorders)、他の発達症群(Other Neurodevelopmental Disorders)の 7 つに分類されている(日本精神神経学会, 2014)。中でも ADHD と ASD は社会的な問題が大きく、科学の対象として多くの研究が行われており、本研究もそれに準じて ADHD と ASD に焦点を当て研究を行った。

## 第 2 節 モノアミン神経系研究の意義

### 2-1 モノアミンとその役割について

モノアミンとは、神経科学分野においては NA、DA、5-HT、Histamine (HA)、Adrenaline (AD)の 5 種類を主に指している。これらは脳神経系に存在し、神経伝達物質としての役割を担っている。

NA は青斑核を起始部として大脳皮質、視床下部、海馬、扁桃体、小脳、視床といった広範な脳領域に投射される上行性 NA 系投射と、脊髄へ降りて痛み経路を調節する下行性 NA 系投射がある(Figure 1-a)。覚醒時に規則的な活動をする一方で、徐波睡眠時に活動が減弱し、レム睡眠時に完全に活動を停止する状態依存性の活動様式を示す(Jacobs, 1987)。また、身体内外環境の劇的変動、特にストレスでその活動が賦活されるという特徴もある。NA は気分や覚醒に関与しているほか、注意や記憶といった認知機能においても重要な役割を担っている(Mair, Zhang, Bailey, Toupin, & Mair, 2005; McGaugh & Roozendaal, 2009)。

DA は中枢において主に 4 つの投射経路がある。中脳の黒質を起始部として線条体に

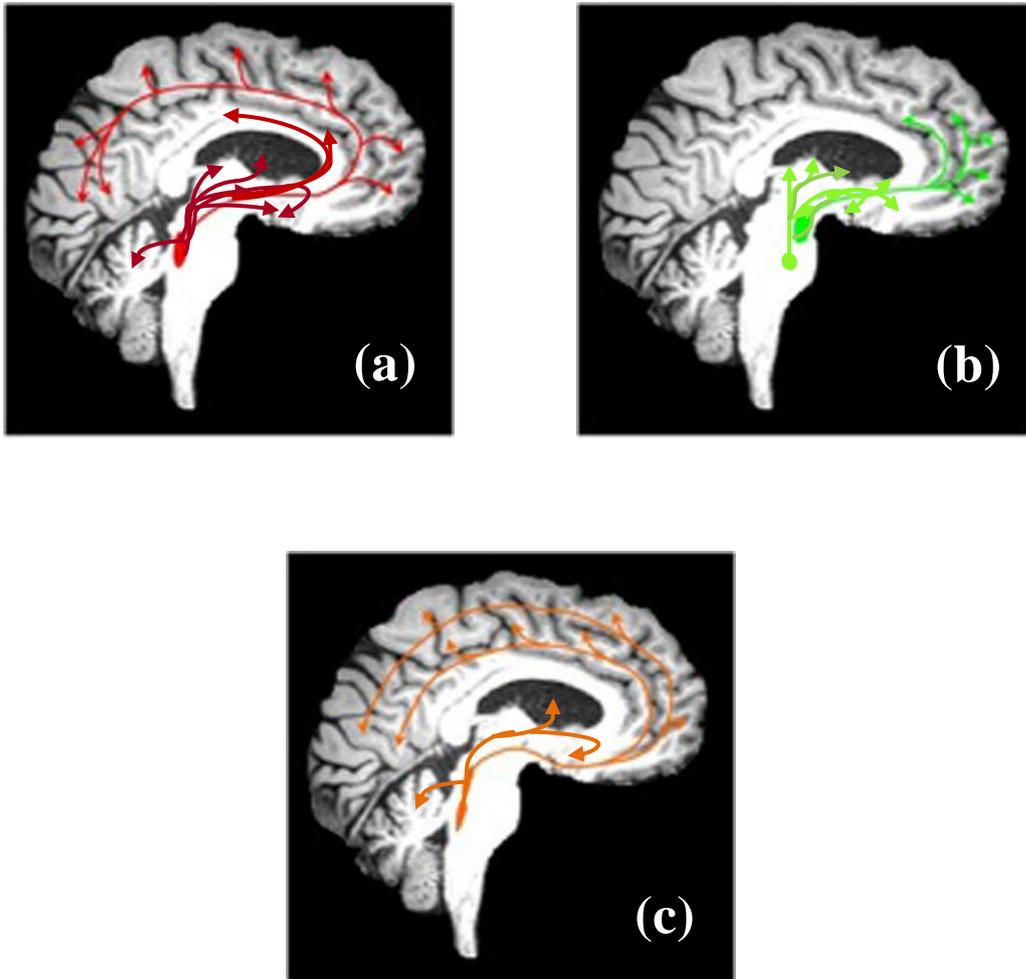
投射される黒質線条体 DA 経路、腹側被蓋野を起始部として前頭皮質に投射する中脳皮質 DA 経路、同じく腹側被蓋野を起始部として辺縁系に投射する中脳辺縁系 DA 経路、そして視床下部から下垂体前葉へと投射し、乳汁分泌を調整する漏斗下垂体 DA 経路である(Figure 1-b)。このうち、黒質線条体 DA 経路は運動調節に重要な役割を果たすことが知られており(Dauer & Przedborski, 2003)。中脳皮質・辺縁 DA 経路は報酬に対する応答を司る報酬系として機能していることが知られている(Carlezon & Thomas, 2009)。また、DA は学習・記憶、注意、実行機能などの認知機能に関係していることが知られている(Robbins, 2005)。DA 神経の活動様式は睡眠・覚醒サイクルに依存せず、日内変動がほとんど見られないが、注意の集中または定位行動時に発射が一時的に停止することが知られている(Yamamoto, 2005; 有田, 2006)。

5-HT の約 95%は末梢に存在するが(Mohammad-Zadeh, Moses, Gwaltney-Brant, 2008)、中枢においては伝達物質として働く。主に縫線核を起始部として、小脳を含む脳の大半に投射する上行性 5-HT 系投射と、脳幹から脊髄に至る下行性 5-HT 系投射がある(Figure 1-c)。上行性投射は気分、不安、睡眠サイクル等に関与している。5-HT は覚醒時において極めて規則的な発射活動があり、徐波睡眠時に活動が減弱し、レム睡眠になると完全に消失する。この点については NA と同様であるが、5-HT は痛みや恐怖、低酸素等、内外環境の変化による活動変動は見られない。一方で、歩行、咀嚼、呼吸運動といったリズム性運動が繰り返されることで自発性発射頻度が増強する。

モノアミン神経系は相互依存的にネットワークを形成している。5-HT は脳幹にある

NA 及び DA 神経に存在する 5-HT<sub>2A</sub> 受容体に結合することで、前頭前皮質への NA 及び DA 放出を遮断する働きを有している(Stephen, 2008)。また、NA は前頭前皮質の軸索終末の  $\alpha_2$  受容体と結合することで 5-HT 放出を抑制している一方で、細胞体樹状突起領域の  $\alpha_1$  受容体と結合することで、5-HT の放出を促進している(Stephen, 2008)。

HA と AD に関しては、報告も少なく、不明な点が多い。



**Figure 1. NA (a), DA (b), and 5-HT (c) pathway (Bohnen, Bogan & Müller, 2009, Figure 6)**

本図は Bohnen, Bogan & Müller., *European neurological journal*. 2009; 1: 33-50. (Figure 6)の論文から引用・一部改変し、NA、DA、5-HT それぞれの投射経路を示したものである。DA(b)は前頭前野に特異的に投射されており、腹側被蓋野を起始部として辺縁系にも投射している(b)。NA(a)と 5-HT(c)は脳の広範にわたり投射されている。尚、本図では NA、5-HT における下行性投射は割愛している。本図は FLAIR MRI による矢状面であり、図中央に黒く表示されているのは脳室である。線条体は本図中央の脳室を覆うように位置しており、Figure 1- a, b, c において、脳室中を神経走行しているように見えるのは、脳室手前にある線条体に向けての投射である(付録 4, 5 参照)。

## 2-2 モノアミンの代謝

モノアミンは生体内で合成され、最終的に Catechol-O-methyltransferase (COMT)と Monoamine oxidase (MAO)によって分解され、血中を経て尿中へと排泄される(Figure 2)。NA は 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG)に、DA は Homovanillic acid (HVA)に、5-HT は 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA)に最終的に代謝される(Figure 3-a, b, c)。

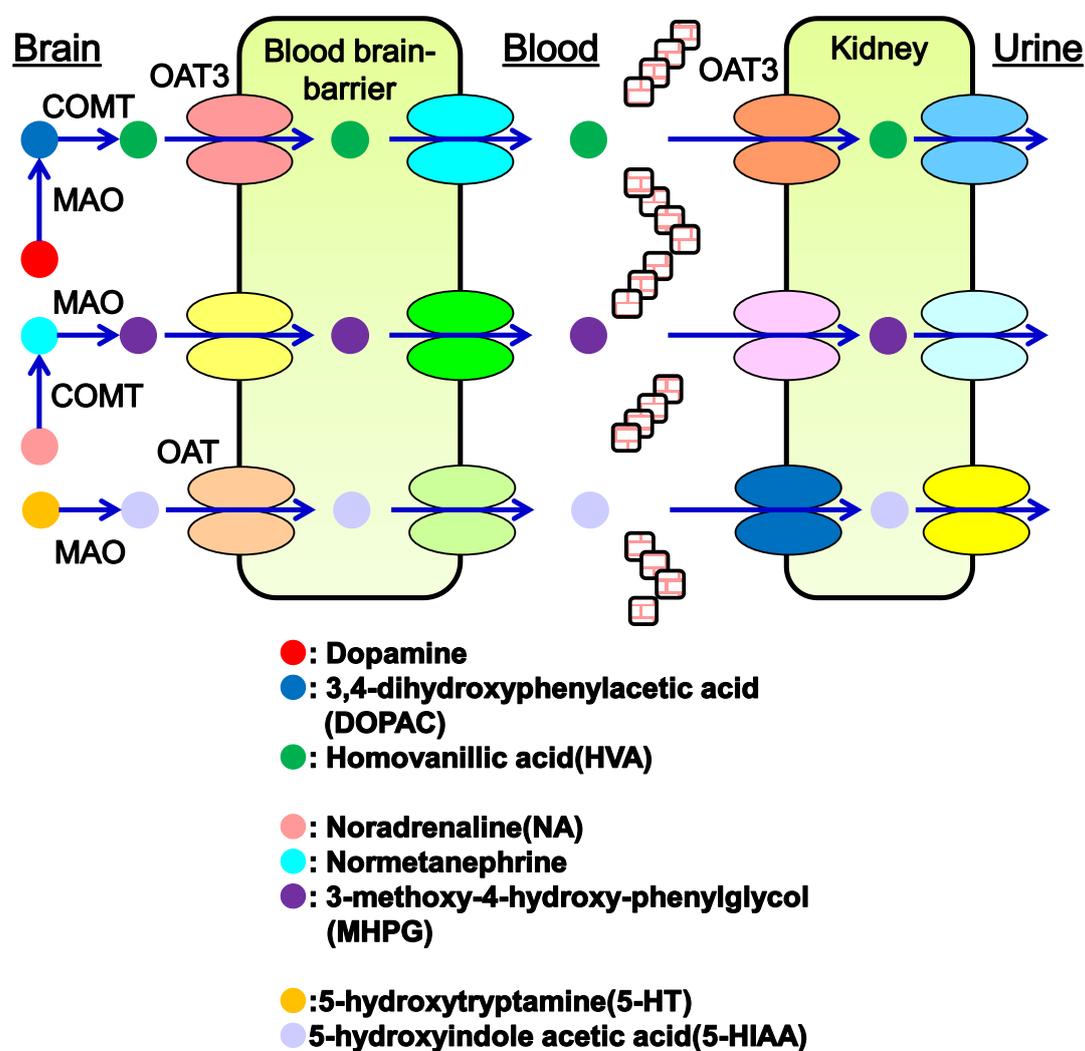
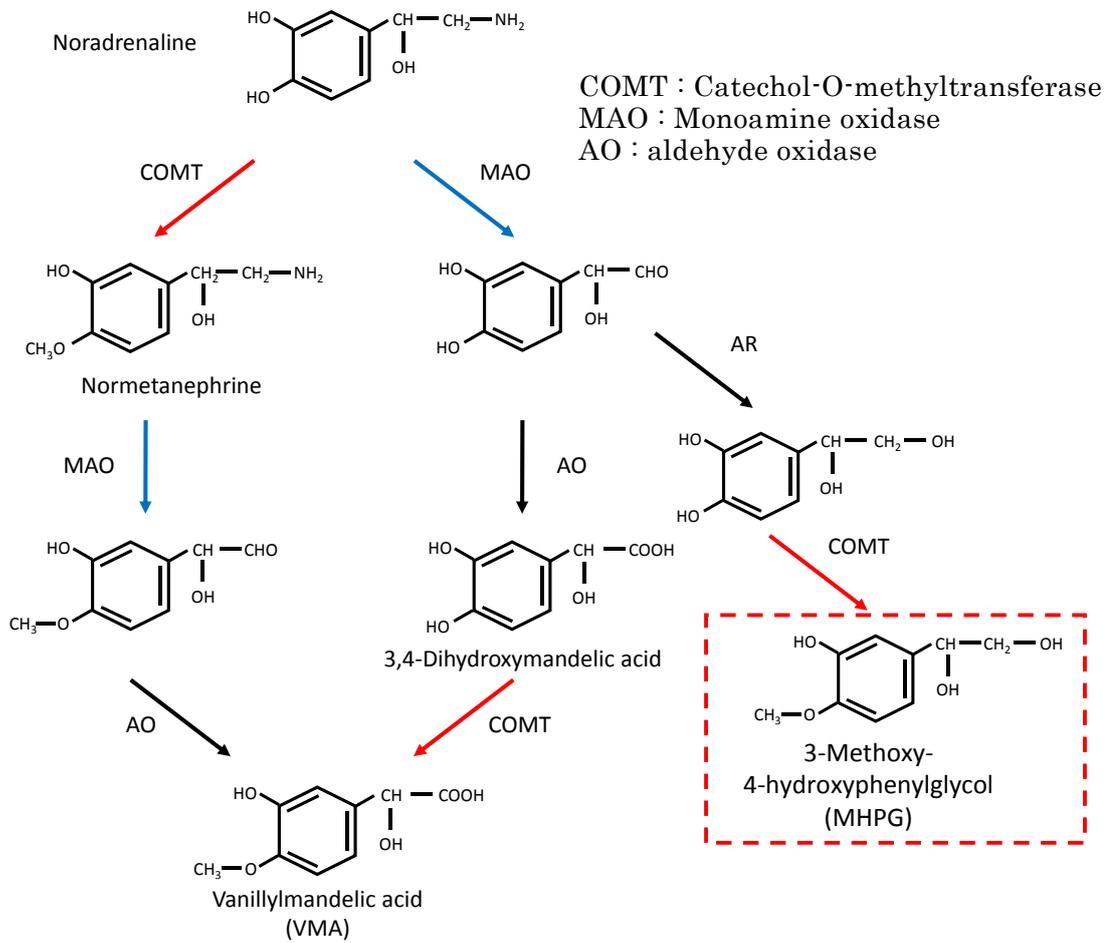


Figure 2. The fate of monoamine metabolites in vivo.



**Figure 3-a. NA synthesis & metabolism**

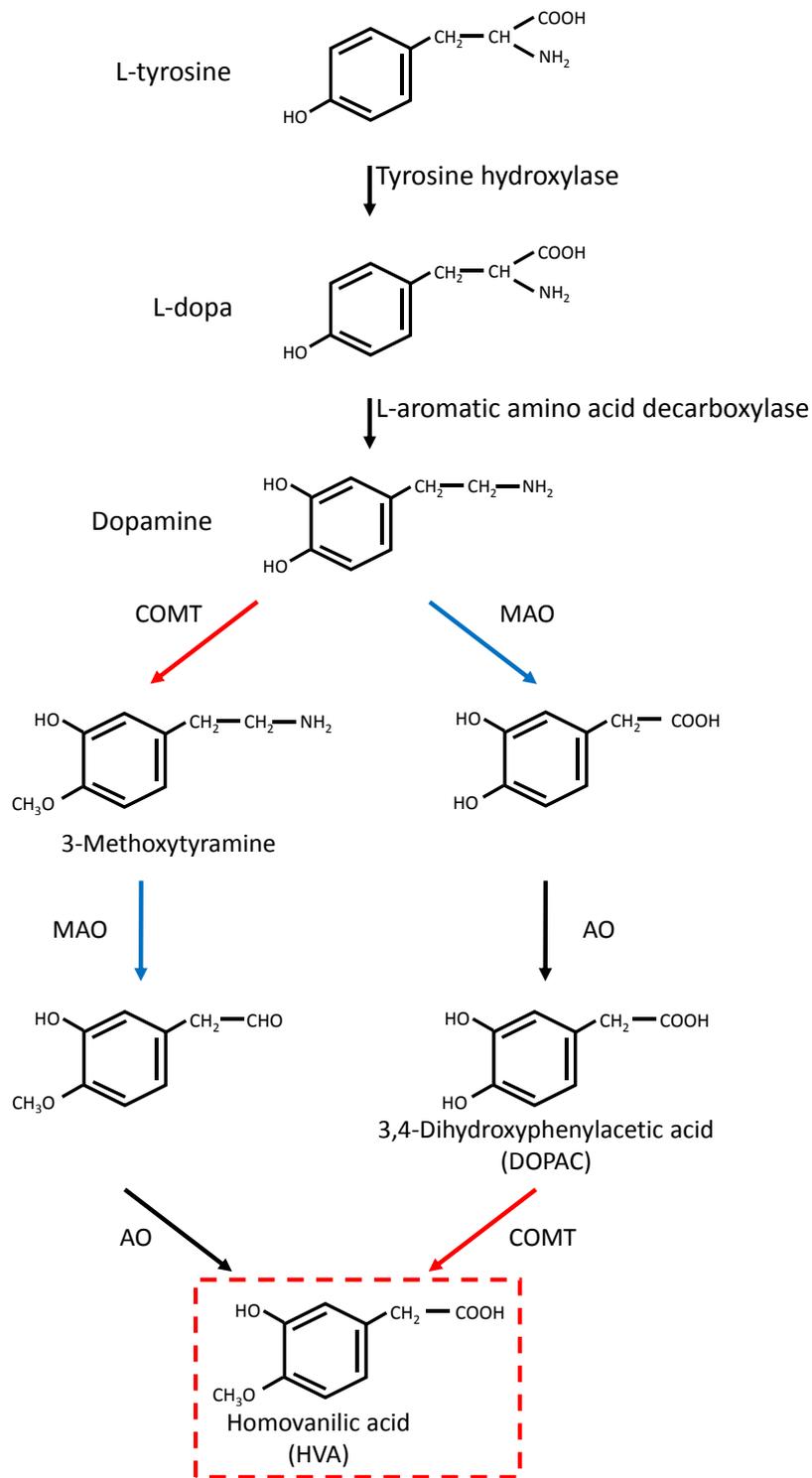
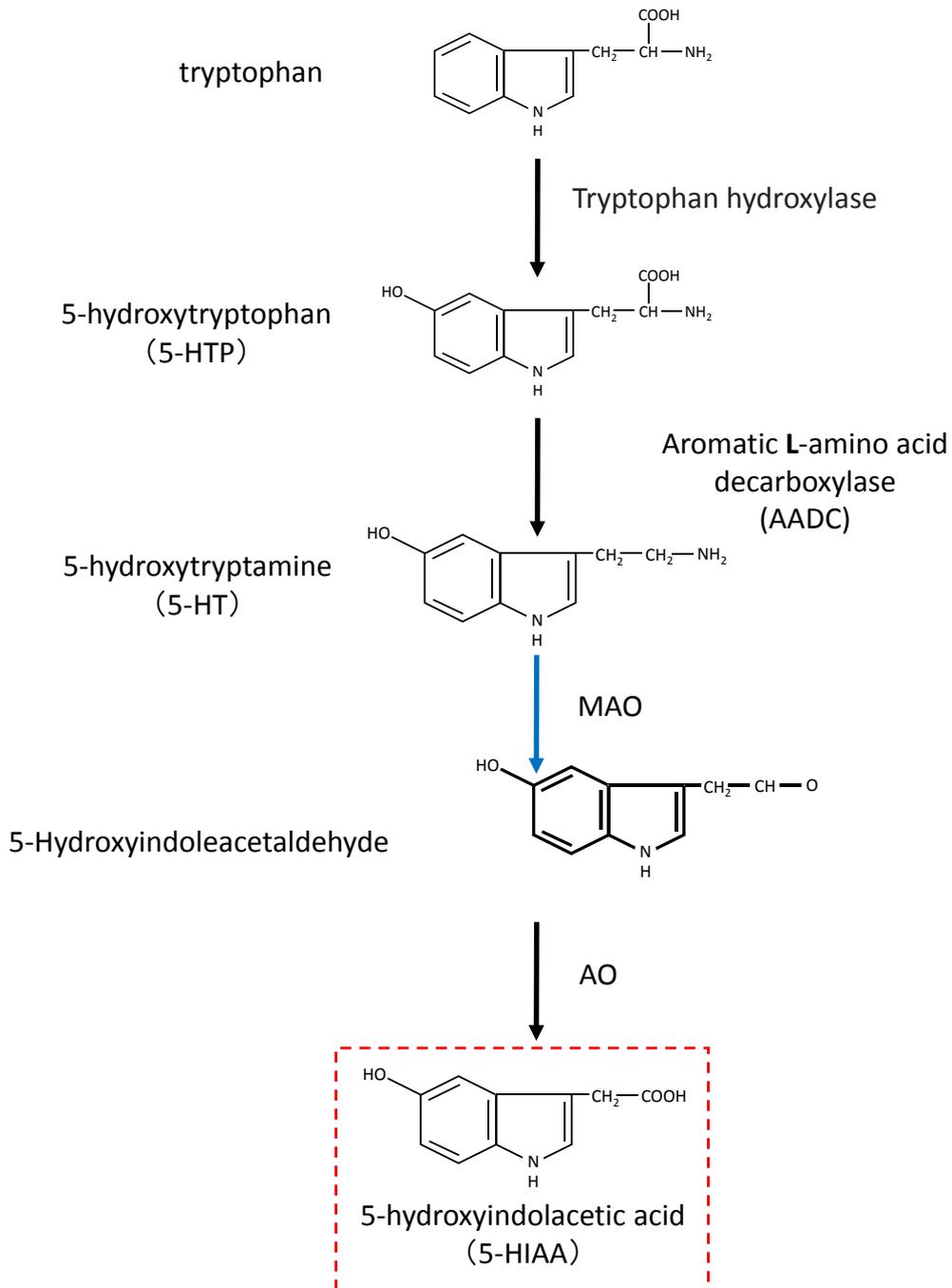


Figure 3-b. DA synthesis & metabolism



**Figure 3-c. 5-HT synthesis & metabolism**

中枢のモノアミン神経系の活動動態を知る上で、尿中におけるその代謝産物レベルを測定することは有用である。尿中 MHPG はその 50~60%が中枢由来であるといわれている (George et al, 1993)。また、HVA は血液脳関門上に発現する organic anion transporter 3 (OAT3)を通り、中枢から血中さらに尿中へと排泄されることが明らかとなっている (Mori et al., 2003)。さらに 5-HT の最終代謝産物である 5-HIAA についても OAT の阻害薬プロベネシドによって、その脳内濃度が上昇し、OAT を介して末梢を経て尿中に排泄される (大槻ら, 2003)。このように、尿中モノアミン代謝産物は、中枢モノアミン神経系動態を反映するバイオマーカーとなる可能性があり、ヒトの中枢モノアミン神経系動態を非侵襲的に知ること、神経発達障害の病態解明に寄与することができる。

### 2-3 モノアミンと精神疾患

モノアミンは精神疾患と密接な関連があることが示唆されている。統合失調症の陽性症状は、側坐核における DA 伝達の過剰によるとされており、陰性症状は前頭前野における DA 放出の減少であるとされている (有田, 2006)。パーキンソン病は DA-beta-hydroxylase の減少によって脳内の DA 濃度が低下することが報告されている (Cross, Crow, Perry, Blessed, & Tomlinson, 1981)。NA に関連したものとしては、不安障害が挙げられる。NA 作動性活性の増強により不安を促進するという報告がある (Montoya, Bruins, Katzman, & Blier, 2016)。また、5-HT はうつ病との強い関連が指摘されてお

り、線条体、扁桃体、脳幹及び中脳において 5-HT トランスポーターの減少が報告されている(Kambeitz, & Howes, 2015)。

#### 2-4 モノアミンと神経発達障害

ADHD 及び ASD は脳内モノアミン神経系、特に NA、DA、及び 5-HT の 3 つのモノアミン神経系活動との関連性が報告されている(Hakamada & Yamamoto, 2014; Muller, Anacker, & Veenstra-VanderWeele, 2016; Ryden, Johansson, Blennow et al., 2009; Baker, Bornstein, Douglass et al., 1993; Castellanos, Elia, Kruesi et al., 1996; Gorina, Kolesnichenko, & Mikhnovich, 2011; Hranilovic, Bujas-Petkovic, Tomicic, et al., 2008; Adamsen, Meili, Blau, et al. 2011)。

ADHD モデル動物である無アルブミンラット(NAR)における研究で、袴田・山本(2014)は NAR の前頭葉における NA、DA、5-HT がコントロール群に比べ有意に低下していたことを報告している。

ASD モデル動物による研究では、Muller ら(2016)が脳 5-HT クリアランスと 5-HT レセプター感受性がともに増加していることを報告している。このことは脳において 5-HT が減少していることを示唆している。

このように、動物研究の結果ではコントロール群と比較して、モノアミンが全て低下していることが示されている。

ヒト ADHD に関する最近の研究では、Castellanos ら(1996)は脳脊髄液中の HVA 濃度

がコントロール群に比べ ADHD 群では高くなっていると報告している。一方で、Ryden ら(2009)は脳脊髄液中の HVA 及び 5-HIAA 濃度はむしろ減少しており、MHPG には差がないと報告している。また Baker ら(1993)は尿中 NA 及び MHPG 排泄に差は見られなかったと報告している。このようにヒト ADHD 研究の結果は、中枢及び末梢のモノアミン代謝産物排泄の結果に一貫性が見られない。

ヒト ASD に関する最近の研究では、Gorina ら(2011)は血漿中 MHPG 及び HVA 濃度が ASD 患者ではコントロール群に比べ高くなっていることを報告している。一方で、Adamsen ら(2011)は脳脊髄液中の 5-HIAA 濃度の減少を指摘している。このように、中枢及び末梢におけるモノアミン代謝産物排泄のうち、上昇を示すものもあれば低下しているものもあり、動物研究と同様に一様に低下を示すという結果ではない。

このようにモデル動物研究とヒト研究は必ずしも一致しておらず、またヒト研究の中においても結果に矛盾が生じている。

## 第3章 神経発達障害児の病態メカニズムの解明と

### リズム・運動介入効果

#### 第1節 <第1研究>5-HT 神経活動の脳-尿相関

##### 1-1. 関連発表

盛永政和・山下雅俊・山本隆宣. 脳内 5-hydroxytryptamine 含量における非侵襲的マーカーとしての尿中 5-hydroxyindoleacetic acid 排泄量の測定: 5,7-dihydroxytryptamine マイクロインジェクション後の脳-尿相関について. 認知神経科学投稿中.

##### 1-2. 目的

NA 神経系については尿中 MHPG の 50~60%が中枢由来であると報告されており (George et al., 1993)、DA 神経系については、HVA が血液脳関門上に発現する organic anion transporter 3 (OAT3)を通り、中枢から血中、さらに尿中へと排泄されるメカニズムが明らかにされている (Mori et al., 2003)。さらに 6-hydroxydopamine (6-OHDA)の脳室内投与により、脳・尿ともに DA・NA および HVA・MHPG が減少しているという報告がある (David, 1985)。このように、DA と NA は尿中代謝産物排泄動態が脳内神経系活動を反映していることが、排泄機構および脳内ペアレントアミンと尿中代謝産物の脳-尿相関の両面から明らかにされている。一方で、5-HT においては、5-HIAA の脳内濃度が OAT の阻害薬プロベネシドによって上昇することから、OAT を介しての中枢から末梢、尿中への排泄機構が明らかとなっている (大槻・堀・寺崎, 2003)。しかしながら、脳内ペアレ

ントアミンと尿中代謝産物、即ち脳内 5-HT と尿中 5-HIAA の脳-尿相関についての報告は見当たらない。第 1 研究では、5-HT 神経系の脳-尿相関を明らかにするため、特異的脳内 5-HT 神経系破壊毒である 5,7-Dihydroxytryptamine (5,7-DHT)を用いて脳内の 5-HT 神経系を破壊したときの、脳内 5-HT 含量と尿中 5-HIAA 排泄量の関係性を検討した。

### 1-3. 実験方法

#### 実験動物

本研究は日本神経科学学会の「神経科学における動物実験に関する指針(2015)」および「帝塚山大学実験動物倫理指針」に基づき、帝塚山大学動物実験倫理委員会の承認を得て、帝塚山大学心理学部神経生理学研究室で行われた。実験動物には Wistar 系ラット 10 匹を用い(雄, 10 週齢, 日本 SLC)、うち 5 匹は 5,7-DHT を投与する 5,7-DHT 群、残り 5 匹は Vehicle を投与する Vehicle 群とした。室温  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 55%、12 時間毎の明暗サイクル(明期 8:00-20:00、暗期 20:00-8:00)の環境下で飼育した。飲料水および固形飼料(日本クレア)は自由に摂取させた。サンプルは統計学的処理を行うための必要最小限にとどめた。

#### 5,7-DHT 両側脳室内投与

5,7-DHT は 5-HT 神経のみならず NA トランスポーターへも同時に取り込まれてしまう可能性があることから、NA 再取込阻害薬であるデシプラミン(Sigma)を投与した。デ

シプラミンは 15mg/ml になるよう 0.01N の HCl に溶解させたものを施術の 1 時間前に腹腔内へ 15mg/kg 投与した。施術開始 30 分前にペントバルビタール(50mg/ml)を 0.5-0.75ml/kg の用量で 0.5-1.0ml/kg 投与し、個体を脳定位固定装置へと固定した。ラットの鼻上から後頭部までにかけて切開し、一方の側脳室の真上に位置する頭蓋を歯科用ドリルで穿った。頭蓋に開けた穴からシリンジの針を挿入する座標は Paxinos & Watson (1986) の脳地図に従って Bregma より AP:-0.8mm、L:±1.5mm、DV:-3.5mm に定めた。5,7-DHT は 0.1%アスコルビン酸を含む生理食塩水にて 2µg/µl に希釈し、シリンジポンプ Micro Infusion Unit XF-320J (NIHON KOHDEN)を用いて各側脳室に 16µg ずつ流速 1µl/min でマイクロインジェクションを行った。注入完了より 2 分後にシリンジを抜き取り、もう一方の側脳室へ同様の手続きにてマイクロインジェクションを行った。マイクロインジェクションした 5,7-DHT は、左右の側脳室に投与したものを合計して 32µg であった。Vehicle 群には同様の手続きで 0.1%アスコルビン酸を含む生理食塩水 8µl を投与した。

## HPLC 分析装置

高速液体クロマトグラフィー(以下 HPLC; 株式会社 資生堂)、分析カラム CAPCELLPAK C18 MG S-5 (株式会社 資生堂)、ポリマーコート型カオチン交換カラム CAPCELLPAK SCX UG80 (株式会社 資生堂)、バッファー組成を含む分析システムは Yamamoto ら(1997)の方法を用いた。標準試料として、DA、NA、5-HT、5-HIAA、HVA (Sigma-aldrich、Tokyo、Japan)を用い、溶媒として 0.05N の塩酸を用いて希釈した。

## 海馬、線条体の摘出

海馬と線条体の摘出は、Glowinski & Iversen (1966)の方法に従って行った。海馬と線条体はそれぞれ 5 倍量の 3%過塩素酸とともにサンプルチューブへ移した後、ホモジェナイザーにてホモジェナイズし、その後遠心分離し除タンパクを行った。

## 24 時間尿の採取

ラット代謝ゲージ SN-781 (シナノ製作所)内にラットを 24 時間留置し、その間に排泄された尿を用いた。採尿は 0.05N の塩酸 20ml を予め入れておいたラット代謝ゲージを使用した。採取した尿サンプル 4ml に 2.5 %過塩素酸を 4 ml 入れ、10000 rpm、4°C、10 分間で遠心分離し除タンパクを行い、その後、上清 0.5 ml のみを 0.05N の塩酸で各サンプルとも濃度 200 倍になるよう希釈した。

以上の手順で分析可能な状態にした海馬および線条体組織と尿は、HPLC 分析まで 70°C以下で冷凍保存した。

## 脳および尿中モノアミン代謝産物の微量分析

以上のようにして得られたサンプルを流速 0.7 ml/min、電圧 700 mV、カラム温度 40 °C の HPLC に注入し、脳内の DA、NA、5-HT、5-HIAA と尿中の 5-HIAA、HVA を分析した。HPLC に使用した緩衝液は、Yamamoto ら(1997)の方法に基づき作成した。なお、脳内サンプルおよび尿サンプルの結果はそれぞれ nmol/g、 $\mu\text{g}/24\text{hr}$  で示した。

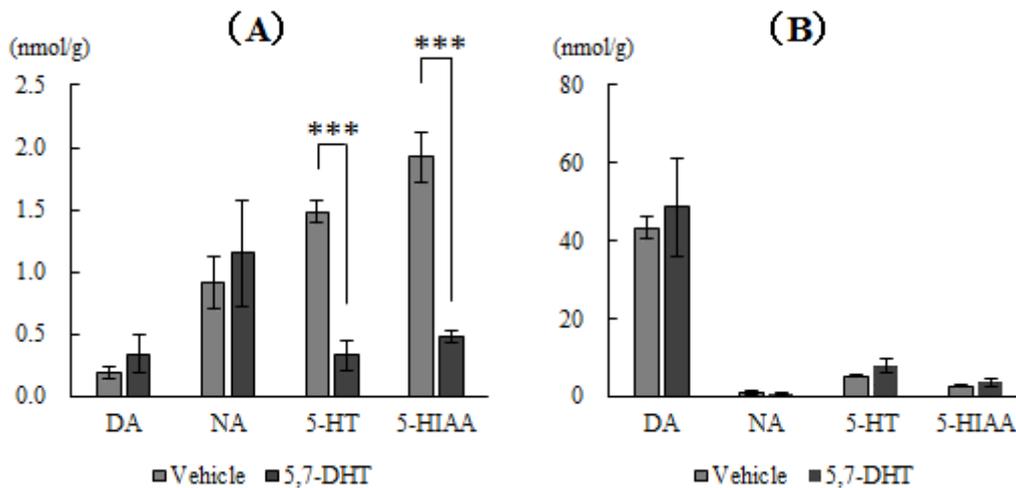
## 統計解析

両群間における脳内モノアミン濃度 (nmol/g) と尿中モノアミン代謝産物排泄量 ( $\mu\text{g}/24\text{hr}$ ) の比較には  $t$  検定を使用した。統計ソフトウェアは Windows の SPSS 22.0 (IBM Corporation, NY, USA) を使用し、統計的な有意水準は 0.05 以下とした。

### 1-4. 結果

#### 海馬と線条体におけるモノアミンおよび 5-HIAA 含量

Vehicle 群と 5,7-DHT 群の海馬、線条体における DA、NA、5-HT、5-HIAA の濃度の平均値 (nmol/g) と標準誤差を Figure 4 に示す。今回、各群の海馬、線条体における DA、NA、5-HT、5-HIAA 含量を比較するため、対応のない  $t$  検定を行った。その結果、海馬における両群間の DA ( $t(4.57) = .96, p = .39$ ) および NA ( $t(8) = .49, p = .64$ ) 含量に差は見られなかったが、5-HT ( $t(8) = 7.78, p < .001$ ) および 5-HIAA ( $t(4.47) = 6.98, p < .001$ ) 含量において両群の平均値間に有意な差が認められた。線条体においてはいずれも有意差は見られなかった (DA:  $t(8) = .41, p = .69$ ; NA:  $t(8) = .51, p = .63$ ; 5-HT:  $t(4.44) = 1.32, p = .25$ ; 5-HIAA:  $t(8) = .89, p = .40$ )。即ち、5,7-DHT 群の海馬 5-HT および 5-HIAA 含量は、Vehicle 群と比べ有意に減少していた。

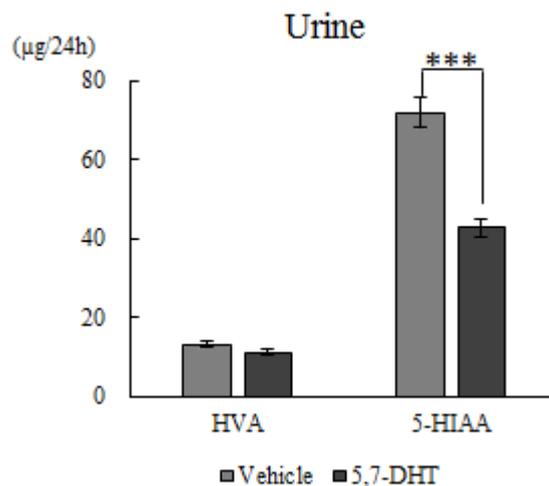


\*\*\*  $p < 0.001$ .

**Figure 4. The neurotransmitter substance concentration in hippocampus (A) and striatum (B) of vehicle group and 5,7-DHT group.** Data expressed as the means  $\pm$  SEM. dopamine (DA), noradrenarin (NA), 5-hydroxytryptamine (5-HT), 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA).

#### 尿における 5-HIAA および HVA 排泄量

尿における 5-HIAA と HVA それぞれの排泄量の平均値( $\mu\text{g}/24\text{hr}$ )と標準誤差を Figure 5 に示す。各群における尿中 5-HIAA および尿中 HVA 排泄量を比較するため、対応のない  $t$  検定を行った結果、両群間における 5-HIAA 排泄量に有意な差が認められた( $t(8) = 6.58$ ,  $p < .001$ )。一方、HVA 排泄量に有意な差は見られなかった( $t(8) = 1.60$ ,  $p = .15$ )。即ち、5,7-DHT 群の尿中 5-HIAA 排泄量は、Vehicle 群と比べ有意に減少していた。



\*\*\*  $p < 0.001$ .

**Figure 5. The urinary monoamine metabolites excretion of vehicle group and 5,7-DHT group.** Data expressed as the means  $\pm$  SEM. homovanillic acid (HVA) and 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA).

以上より、5,7-DHT マイクロインジェクション実験から、尿中 5-HIAA 排泄動態は脳 5-HT 神経系活動を反映することが示された。

### 1-5. 考察

今回、左右の側脳室への 5,7-DHT のマイクロインジェクションにより脳の 5-HT 神経系を破壊することによって、海馬および線条体の 5-HT と 5-HIAA 含量と、尿中の 5-HIAA 排泄量の間関係を調べることで、5-HT 神経系における脳-尿の相関を明らかにすることを目的として研究を行った。その結果、5,7-DHT のマイクロインジェクションによって海馬における 5-HT および 5-HIAA 含量と尿中 5-HIAA 排泄量が特異的に減少することが示された。脳内における 5-HIAA 含量の減少の度合い(Figure 4-A.)に比べ、尿中 5-HIAA

排泄量の減少の度合い(Figure 5)が少なかったことの原因としては、尿中 5-HIAA の基礎値が末梢由来のものであるためと考えられる。即ち、尿中における両群の 5-HIAA 排泄量の差異は末梢由来分を基礎値として、脳内における 5-HIAA 含量の差異を反映したものであると考えられる。また、脳内において海馬と線条体それぞれにおける 5-HT と 5-HIAA 含量の間に、強い正の相関が認められた。5-HIAA は大槻ら(2003)によって、中枢から末梢への排泄機構が報告されていたが、脳内において 5-HIAA は 5-HT 神経系活動を反映しており、さらに、尿中 5-HIAA が脳内 5-HT 神経系動態を反映することが示された。今回の結果から、DA や NA と同様に、5-HT 神経系においても採尿という非侵襲的な手法によって、中枢の神経系動態を推定できることが明らかとなった。これによって DA と NA を含む 3 種のモノアミン神経系において、排泄機構および脳内ペアレントアミン含量と尿中代謝産物排泄量の脳-尿相関という、メカニズムと物質双方の根拠に基づき、尿中代謝産物動態から脳内モノアミン神経系活動を推定し得ることが示された。ヒト研究においては非侵襲的に中枢のモノアミン神経系動態を推定する必要があるが、その際に尿中モノアミン代謝産物という生化学的指標を用いることの根拠をより確かなものにした点において、本研究結果は極めて大きな意味を持つと考えられる。

山本(1990)の報告によると、5,7-DHT10 $\mu$ g 投与では注入部位の 5-HT 神経のみを限定的に破壊するのに対し、100 $\mu$ g 投与するとデシプラミンを投与しても他の広範囲に破壊部位が及び、かつ他のカテコールアミン神経をも破壊してしまう。従って、本研究は必要最小限の投与量であることに留意した。今回、線条体において差が見られなかったのは

マイクロインジェクションした 5,7-DHT が少量であったことと、解剖学的な視点からマイクロインジェクションした部位による影響が考えられる。つまり、側脳室にマイクロインジェクションした 5,7-DHT は解剖学的に見ると後頭方向にかけて徐々に脳の下部方向に流れていくが、途中で線条体の側面を通過し、その後線条体より下部に位置する海馬まで到達する。即ち、少量投与では通過するだけの線条体では影響が見られず、より貯留時間が長いと考えられる海馬では 5,7-DHT による神経毒作用の影響が強く出たのではないかと考えられる。

本研究では、薬理的操作によって神経破壊を行うことで 5-HT 神経系についても強い脳-尿相関があることを明らかにした。今後の検討課題としては、自然発生的に脳内モノアミンでも病態を示すモデル動物において、同様の脳-尿相関を示すかどうかの検討が必要である。

## 第 2 節<第 2 研究>ADHD モデル動物である NAR のモノアミン代謝排泄の

### 特徴

#### 2-1. 関連発表

盛永政和、袴田康祐、山本隆宣. 無アルブミンラットの ADHD 動物モデルとしての可能性. 最新の疾患/動物モデルの作成技術と病態解析、開発への応用, 技術情報協会. 受理 (査読付き).

#### 2-2. 目的

第 1 研究では薬物で神経系を破壊することで、5-HT 神経系活動の脳-尿相関を明らかにした。これらの動物モデルを使った研究では、脳を摘出することで脳内のモノアミン神経伝達物質を測定することができるが、このような方法をヒト研究で用いることはできない。そのため、非侵襲的に脳内モノアミン神経系活動を推定する必要がある。第 2 研究では、薬理的操作でなく自然発症的に病態を示すモデル動物におけるモノアミン神経系の脳-尿相関を確認することを目的とした。袴田・山本(2014)の報告によると、ADHD 動物モデルである NAR の前頭前野における NA、DA、5-HT 含量は、NAR の野生型である SDrat と比べ有意に減少していることが示されている。そこで第 2 研究では、NAR と SDrat の尿中モノアミン代謝産物排泄を比較することで、尿中モノアミン代謝産物が脳内モノアミン神経系活動の非侵襲的指標となり得るかどうかを検討した。

## 2-3. 実験方法

### 実験動物

本研究は日本神経科学学会の「神経科学における動物実験に関する指針(2015)」および「帝塚山大学実験動物倫理指針」に基づき、帝塚山大学動物実験倫理委員会の承認を得て、帝塚山大学心理学部神経生理学研究室で行われた。実験動物には無アルブミンラット(Nagase Analbuminemic Rat: NAR) (雄, 6 週齢, 日本 SLC, n=5)とその野生型であるSprague-Dawley rat (SDrat) (雄, 6 週齢, 日本 SLC, n=5)を用いた。室温  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 55%、12 時間毎の明暗サイクル(明期 8:00-20:00、暗期 20:00-8:00)の環境下で飼育した。飲料水および固形飼料(日本クレア)は自由に摂取させた。また、ハンドリングは 5 日間行った。サンプルは統計学的処理を行うための必要最小限にとどめた。

### HPLC 分析装置

高速液体クロマトグラフィー(以下 HPLC; 株式会社 資生堂)、分析カラム CAPCELLPAK C18 MG S-5 (株式会社 資生堂)、ポリマーコート型カオチン交換カラム CAPCELLPAK SCX UG80 (株式会社 資生堂)、バッファー組成を含む分析システムは Yamamoto ら(1997)の方法を用いた。標準試料として、DA、NA、5-HT、5-HIAA、HVA (Sigma-aldrich, Tokyo, Japan)を用い、溶媒は 0.05N の塩酸により希釈した。

## **24 時間尿及び昼間尿、夜間尿の採取**

24 時間の採取は第 1 研究と同様の手続きで行った。昼間尿は 8:00～20:00、夜間尿は 20:00～8:00 として、他は第 1 研究と同様の手続きにて行った。

## **尿中モノアミン代謝産物の微量分析**

以上のようにして得られたサンプルを第 1 研究と同様の手続きで分析した。なお、尿サンプルの結果は nmol/min で示した。

## **統計解析**

24 時間尿、昼間尿、夜間尿について、両群間における尿中モノアミン代謝産物排泄量 (nmol/min) の比較には  $t$  検定を使用した。統計ソフトウェアは Windows の SPSS 22.0 (IBM Corporation, NY, USA) を使用し、統計的な有意水準は 0.05 以下とした。

## 2-4. 結果

### 24 時間尿における MHPG、HVA、5-HIAA 排泄量

24 時間尿における MHPG、5-HIAA、HVA それぞれの排泄量の平均値(nmol/min)と標準誤差を Figure 6 に示す。各群における 24 時間尿中 MHPG、5-HIAA、HVA 排泄量を比較するため、対応のない *t* 検定を行った結果、MHPG ( $t(8)=4.92, p=.64$ )、HVA ( $t(8)=1.33, p=.22$ )、5-HIAA ( $t(4.98)=1.25, p=.27$ )のいずれにおいても、両群間における有意な差は認められなかった。

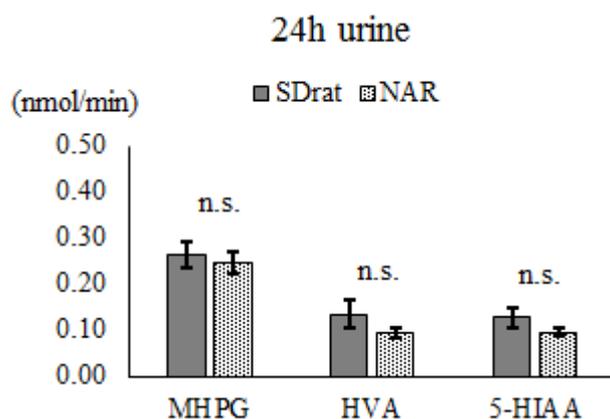


Figure 6. Monoamine metabolites in 24h urine.

### 昼間尿における MHPG、HVA、5-HIAA 排泄量

昼間尿における MHPG、5-HIAA、HVA それぞれの排泄量の平均値(nmol/min)と標準誤差を Figure 7 に示す。各群における昼間尿中 MHPG、5-HIAA、HVA 排泄量を比較するため、対応のない  $t$  検定を行った結果、MHPG ( $t(8) = 2.31, p < .05$ )と 5-HIAA ( $t(8) = 3.19, p < .05$ )において有意な差が認められた。一方で、HVA には両群間における有意な差は認められなかった。( $t(8) = 0.53, p = .61$ )。

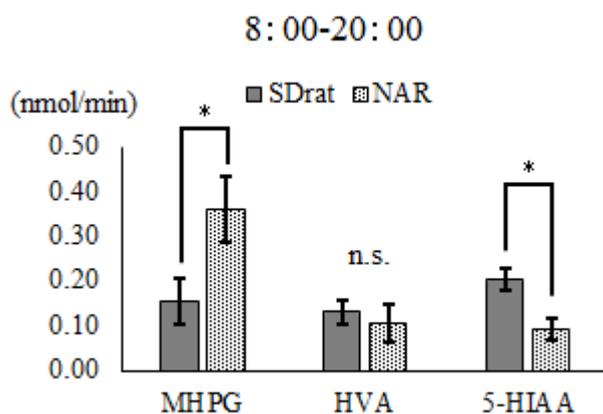


Figure 7. Monoamine metabolites in 8:00-20:00 urine.

### 夜間尿における MHPG、HVA、5-HIAA 排泄量

24 時間尿における MHPG、5-HIAA、HVA それぞれの排泄量の平均値(nmol/min)と標準誤差を Figure 8 に示す。各群における夜間尿中 MHPG、5-HIAA、HVA 排泄量を比較するため、対応のない *t* 検定を行った結果、MHPG ( $t(8) = 4.92, p = .64$ )、HVA ( $t(8) = 1.33, p = .22$ )、5-HIAA ( $t(4.98) = 1.25, p = .27$ )のいずれにおいても、両群間における有意な差は認められなかった。

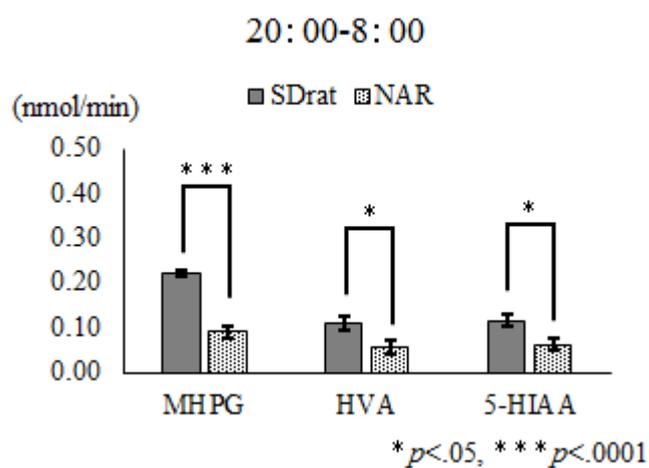


Figure 8. Monoamine metabolites in 20:00-8:00 urine.

## 2-5. 考察

本研究では、前頭前野における NA、DA、5-HT 含有量が、SDrat に比べ NAR の方が有意に低下していたとする先行研究(袴田・山本, 2014)に基づき、NAR と SDrat の尿中モノアミン代謝産物排泄を比較することで、中枢モノアミン神経系活動と尿中モノアミン代謝産物排泄の脳-尿相関を検討した。その結果、昼間尿と比べ、夜間尿中のモノアミン代謝産物排泄が先行研究と同様に有意な低下を示した。

このことの原因として、ラットが夜行性であることが考えられる。NA は覚醒時に規則的な活動をする一方で、徐波睡眠時に活動が減弱し、レム睡眠時に完全に活動を停止する状態依存性の活動様式を示す(Jacobs, 1987)。また、DA は日内変動がほとんど見られないことが知られている(Yamamoto, 2005)。5-HT も NA と同様の活動様式を示す(有田, 2006)。NAR は SDrat と比べ活動時に多動・衝動を示していることから、本来の活動時間である夜間に採取された尿こそ、NAR と SDrat の本質的な差異を反映していると考えられる。

一方、昼間尿においては、特に MHPG 排泄において脳における含有量と異なる結果が得られた。ラットは夜行性であるが、飼育環境の特性上、昼間は人の出入りがあるために野生の状態とは異なる刺激に晒されることとなる。NA は身体内外環境の劇的変動、特にストレスでその活動が賦活されるという特徴もある(Jacobs, 1987)ことから、徐波睡眠時に人の出入りがあったことで、安定した発射活動が維持されなかったために差が生じたと考えられる。また、HVA 排泄には有意差は見られなかったものの、NAR の方が比

較的低値を示しており、5-HIAA 排泄は脳と同様に NAR が有意に低値を示していた。

24 時間尿は昼間尿と夜間尿を合計した結果であり、本来の差が半減された結果となったために、いずれの代謝産物排泄も NAR の方が低値であったものの、有意な差は反映されなかった。

以上のことから、NAR と SDrat における脳内モノアミン神経系活動と尿中モノアミン代謝産物排泄は、特に活動時(夜間)において強い相関関係にあると結論付けられる。モノアミン神経系の活動様式は睡眠-覚醒サイクルに依存していることから(Jacobs, 1987; Yamamoto, 2005; 有田, 2006)、ヒト研究においても、特に活動時(昼間)において尿中モノアミン代謝産物排泄を測定することで非侵襲的に脳内モノアミン神経系活動を推定できることが明らかとなった。

今後の検討課題としては、ヒト神経発達障害においてもモデル動物と同様の尿中モノアミン代謝産物排泄を示すかどうかを検討する必要がある。

### **第3節<第3研究>神経発達障害児の多動・衝動性と尿中モノアミン代謝産物排泄**

#### **3-1. 受賞歴**

本研究の一部は、日本 ADHD 学会第6回総会にてベストポスター賞を受賞した。

盛永政和、山本隆宣. ADHD 児, ASD 児, およびそれらの重複診断児の尿中及び唾液中モノアミン濃度との相関について. 日本 ADHD 学会第6回総会. 2015.

#### **3-2. 関連発表**

盛永政和、山下雅俊、山本隆宣. 神経発達障害児における尿中モノアミン代謝産物動態バランスと多動との関係－Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ)の多動指標との比較－. 帝塚山大学心理学部紀要(査読付き). 2016: 5, 41-47.

#### **3-3. 目的**

第1研究および第2研究において、尿中モノアミン代謝産物排泄が非侵襲的に脳内モノアミン神経系活動を推定できることを明らかにした。そこで第3研究では、ヒト研究への応用として、ヒト ADHD およびヒト ASD の尿中モノアミン代謝産物排泄と行動特徴の関係を検討することとした。まず、ASD、ADHD、そして両者の重複診断のある児童らを対象とし、Goodman (1997)によって開発された3歳～16歳児についての簡単な行動スクリーニング アンケート(youthinmind, 2009)である「子どもの強さと困難さアンケート(SDQ)」を用いて、多動性・衝動性の程度に基づいて、参加者を多動性・衝動性が高

いグループ、中程度のグループ、そして低いグループに分類した。さらに、各グループにおける尿中モノアミン代謝産物の動態レベルの特徴を比較することで、質問紙による心理学的評価と尿中モノアミン代謝産物排泄による生化学的評価との関連について検討した。

### **3-4. 実験方法**

#### **対象児**

本研究は日本神経科学学会の「ヒト脳機能の非侵襲的研究の倫理問題などに関する指針(2009)」に基づき、また帝塚山大学研究倫理委員会の承認(受付番号: 26-37)を得て行われた。

奈良県内にある特別な支援を要する子どもを対象とした塾に通う 6 歳～19 歳(10.1±3.8)までの児童 26 名(男児 21 名、女児 5 名)を対象とした。うち 7 名は医療機関にて ADHD、14 名は ASD、そして 5 名は重複診断を受けていた。

#### **質問紙**

本研究では、SDQ を用いた。SDQ は Goodman (1997)によって開発された 3 歳～16 歳児についての簡単な行動スクリーニング アンケートである。5 つのサブスケール(向社会性、多動性、情緒面、行為面、仲間関係)から構成され、質問項目は 25 項目であり、あてはまる、まああてはまる、あてはまらないの 3 件法で実施される。本研究では、多

動性指標に注目した。多動指標の質問項目は「おちつきがなく、長い間じっとしてられない」「いつもそわそわしたり、もじもじしたりしている」「すぐに気が散りやすく、注意を集中できない」「よく考えてから行動する」「ものごとを最後までやりとげ、集中力もある」の5項目であった。記入は保護者に依頼した。

## **HPLC 分析装置**

対象児らの尿の分析は、標準試料として、MHPG、HVA、5-HIAA (Sigma-aldrich、Tokyo、Japan)を用いて、第1研究と同様の方法で行った。

## **尿の採取と処理過程**

実験参加者が塾に来室し、授業が始まるまでの時間に、尿を採取した(Figure 9)。採尿時間は9:00~18:00に行ったが、激しい身体運動がなければ日中におけるモノアミン動態は安定していることが示されている(Yamamoto, 2005; 有田, 2006)。また、採取前は座位の姿勢を取らせ安静状態とした。採取した尿は、0.05 規定の塩酸で10倍に希釈した後、0.5mlのサンプルに2.5%過塩素酸を0.5ml入れ、10000 rpm、4℃、10分間で遠心分離し除タンパクを行い、その後、上清0.5mlのみを0.05 規定の塩酸0.5mlで希釈した。以上の手順で分析可能な状態にした後、HPLC 分析まで-70℃以下で冷凍保存した。

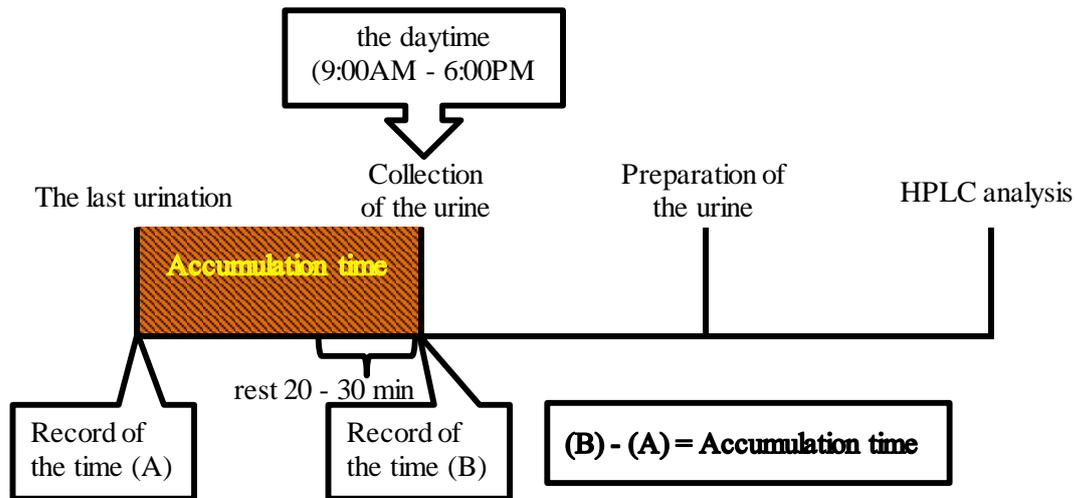


Figure 9. Experimental schedule

## 統計解析

本研究では、サンプル毎の尿中モノアミン代謝産物排泄の個人差が大きいため、3種の代謝産物排泄のバランスに着目するために正準判別分析を行った。行動特性に基づいたSDQによる分類に関して、モノアミン代謝産物排泄量を独立変数として、SDQによる分類名(High Need、Some Need、Low Need)をグループ化変数とした。統計ソフトウェアはWindowsのSPSS 22.0 (IBM Corporation, NY, USA)を使用し、統計的な有意水準は0.05以下とした。

### 3-5. 結果

#### SDQ の多動性指標による分類結果

SDQ の結果による分類を Table 1 に示す。High Need (0-5)が 12 人、Some Need (6)が 5 人、そして Low Need (7-10)は 9 人となった( ( )内の数字はスコア)。Low Need 群は平均年齢が他の 2 群に比べ高かったことから、加齢とともに多動性・衝動性が減少することが伺えた。また、各群における診断名による内訳からは、今回の対象者においては ADHD の不注意優性状態の児が多かったこと、重複診断児は多動性・衝動性の高い児が多かったこと、そして ASD 児は 3 つの群にほぼ同数ずつ分類されたことから、多動性・衝動性の程度に基づく分類が困難であることが伺われた。

**Table 1. Classification by SDQ score.**

Classification	n	Diagnosis	n	score		year	
				mean	SD	mean	SD
High Need	12	ADHD	2	8.1	1.0	8.1	2.78
		overlap	4				
		ASD	6				
Some Need	5	ADHD	0	6.0	0.0	8.8	3.43
		overlap	1				
		ASD	4				
Low Need	9	ADHD	5	4.4	1.2	13.4	2.75
		overlap	0				
		ASD	4				
total	26		26	6.3	2.1	10.1	3.81

## SDQ による分類と尿中モノアミン代謝産物排泄量

尿中のモノアミン代謝産物排泄量を SDQ の多動性指標の結果による分類によりまとめた結果を Table 2 に示す。また、正準判別分析の結果得られた、標準化された正準判別関数係数とグループ重心の関数を Table 3、4 に示す。判別式 Z1 においては Table 3 の MHPG 及び 5-HIAA が負の値、HVA が正の値を示すとき、Table 4 における High Need 及び Some Need が正の値を示すこと、そして Z2 においては Table 3 の 5-HIAA が高い正の値を示し、Table 4 の High Need が負の値を示している。これらのことは MHPG が低く、HVA が高いと多動性・衝動性傾向が高くなることを示している。

**Table 2. Descriptive statistics of urinary monoamine metabolites excretion (nmol/min).**

	n	MHPG			HVA			5-HIAA		
		mean	±	SD	mean	±	SD	mean	±	SD
High Need	12	10.0	±	8.93	13.0	±	5.75	6.3	±	2.24
		(max:30.43,min:3.05)			(max:24.76,min:3.62)			(max:9.58,min:1.26)		
Some Need	5	21.0	±	17.81	18.5	±	6.27	13.2	±	7.45
		(max:42.82,min:2.23)			(max:28.36,min:10.94)			(max:27.56,min:7.31)		
Low Need	9	25.7	±	19.61	9.4	±	5.51	9.3	±	6.27
		(max:61.78,min:4.58)			(max:16.21,min:0.01)			(max:24.35,min:3.64)		
total	26	17.5	±	16.82	12.8	±	6.60	8.68	±	5.76

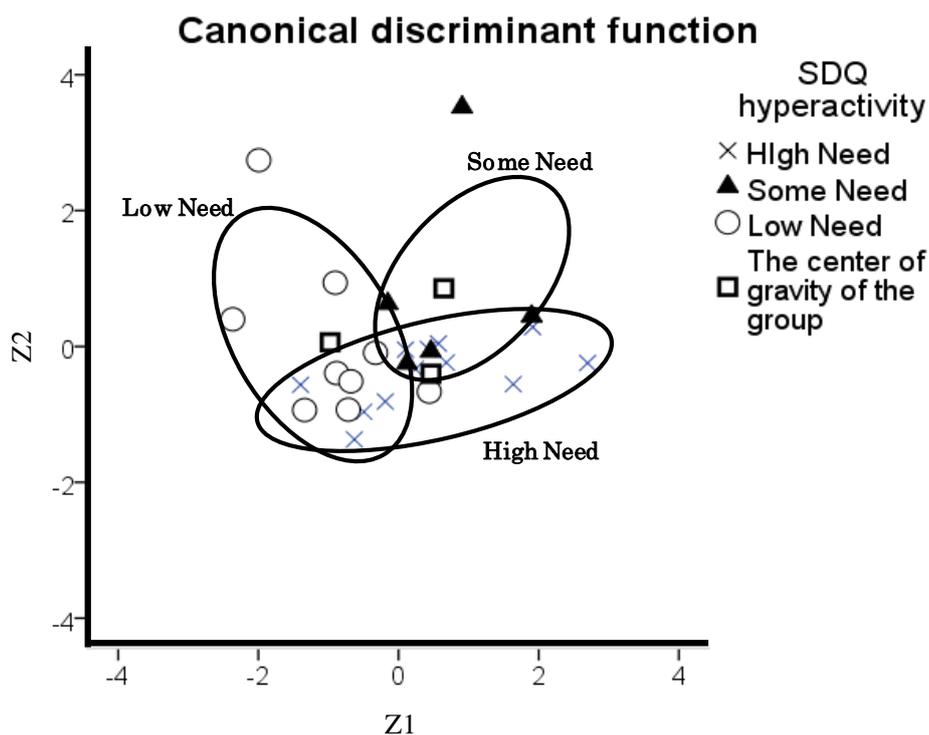
**Table 3. Standardized canonical discriminant function coefficients**

	Function	
	Z1	Z2
MHPG	-.786	-.096
HVA	1.008	.024
5-HIAA	-.141	1.047

**Table 4. Function of the group center of gravity**

group	Function	
	Z1	Z2
High Need	.462	-.402
Some Need	.647	.856
Low Need	-.976	.061

さらに、1つの有意な判別式  $Z1 = -0.049 \times \text{MHPG 排泄量} + 0.164 \times \text{HVA 排泄量} - 0.026 \times 5\text{-HIAA 排泄量} - 1.024$  (固有値 0.575、正準相関 0.60、Wilks の  $\lambda = 0.51$ 、 $\chi^2(6) = 14.82$ 、 $p < .05$ ) と、有意傾向の判別式  $Z2 = -0.006 \times \text{MHPG 排泄量} + 0.004 \times \text{HVA 排泄量} + 0.191 \times 5\text{-HIAA 排泄量} - 1.603$  が得られ(固有値 0.25、正準相関 0.44、Wilks の  $\lambda = 0.80$ 、 $\chi^2(2) = 4.82$ 、 $p < .10$ )、このときの判別率は 80.8%であった。これらのことは、2つの判別関数により High Need 群、Some Need 群、Low Need 群の3群に分類可能であることを示している(Figure 10)。



**Figure 10. The result of the canonical discriminant analysis**

### 3-6. 考察

本研究では、ADHD、ASD、及びそれらの重複診断児を SDQ の多動性指標により、High Need 群、Some Need 群、そして Low Need 群の 3 群に分類し、多動性・衝動性の程度とモノアミン神経系動態に関連があるのかを調べた。そして、簡便かつ非侵襲的な方法として尿中のモノアミン代謝産物に着目した微量分析を行った。その結果、尿中モノアミン代謝産物排泄量のバランスから、多動性・衝動性の程度を推定できることが明らかとなった。即ち、MHPG が低く、HVA が高いと多動性・衝動性傾向が高くなることを示している。このことは、質問紙による客観的心理学的指標による分類と、尿中モノアミン代謝産物排泄量による生化学的指標による分類に関連が見られたことを意味する。また、MHPG が低いことから、中枢における NA が低下していること、HVA が高いことから中枢における DA 神経系の亢進がそれぞれ推定できる。

Solant (1984)は衝動性の根底には DA システムの過剰な活性があることを提唱しており、Castellanos ら(1996)は多動性の高い児童は髄液中の HVA 濃度が高いと報告しているが、本結果はそれらの先行研究と一致する。Pliszka (2003)は ADHD を NA や DA の単純な欠損であるとみなすことはできないと述べているが、ADHD と ASD、そしてこれらの重複診断児に関しては、NA、DA、そして 5-HT 神経系活動相互の拮抗関係の崩壊、即ち 3 種のモノアミンの不均衡により生じているものと考えられる(Yamamoto, Morinaga, & Yamashita, 2015)。

本研究結果の意義は、神経発達障害である ADHD と ASD にしばしば共通して見られることのある多動性・衝動性の生化学的指標として、尿中モノアミン代謝産物が有用であることが示唆された点である。また、その際に単一のモノアミンによってではなく、それらの代謝産物も含めた

包括的な視点により、3種のモノアミンのアンバランスによって多動性・衝動性といった行動特性が引き起こされているという考察は、これまでに見られなかったものである。

今後の課題としては、ADHDスクリーニング検査 (ADHD Rating Scale-IV: ADHD RS-IV)や自閉症スペクトラム指数(Autism-Spectrum Quotient: AQ)等の、より特異的にADHDやASDの診断場面に用いられることもある質問紙を用いて検討することが挙げられる。また、不注意やASD傾向といった他の行動特性についても、同様に特徴的な生理的状态を示すかについても検討が必要である。

## 第 4 節<第 4 研究>神経発達障害児の不注意，多動性・衝動性，ASD 傾向と

### その原因

#### 4-1. 関連発表

Masakazu MORINAGA, Masatoshi YAMASHITA, and Takanobu YAMAMOTO. Evidence for imbalance hypothesis of three monoamines in neurodevelopmental disorders. 2016: Psychiatry Research. In submission.

#### 4-2. 目的

第 3 研究では、神経発達障害児の多動性と尿中モノアミン代謝産物排泄との関連を検討することで、神経発達障害児の行動特徴の一部が尿中モノアミン代謝産物排泄から推定できることを明らかにした。次に、神経発達障害に見られる行動特徴としての不注意傾向と ASD 傾向との関連を検討しなければならない。第 4 研究では、ADHD-RS-IV (DuPaul, Power, Anastopoulos, et al., 2008)及び AQ-10 (Baron-Cohen, Wheelwright, Skinner et al., 2001; Baron-Cohen, Hoekstra, Knickmeyer et al., 2006; Auyeung, Baron-Cohen, Wheelwright et al., 2008)を用いて、神経発達障害群を不注意傾向優位群、多動・衝動傾向優位群、ASD 傾向優位群の 3 群に分類した。そして、これらの 3 つの優位型の尿中モノアミン代謝産物動態を観察し、各優位型における特異的なモノアミンバランスとの関連性を検討した。

### 4-3. 実験方法

#### 研究対象者

本研究は日本神経科学学会の「ヒト脳機能の非侵襲的研究の倫理問題などに関する指針(2009)」に基づき、また帝塚山大学研究倫理委員会の承認(受付番号: 26-37)を得て行われた。

研究対象群として奈良県内にある、特別な支援を要する子どもを対象とした塾に通う6歳～16歳(平均±SD: 9.60±3.4)までの児童25名(男児19名、女児6名)と、比較対照群として定型発達児6名(男児5名、女児1名)の計31名を対象とした。研究対象群はそれぞれ医療機関にてADHD (n=6)、ASD (n=15)、そして重複診断(n=4)を受けていた(Table 5)。

**Table 5. Classification by medical diagnosis**

Medical diagnosis	n	Age			Range
		Mean	±	SEM	
ADHD	6	11.2	±	1.54	6-15
Dual diagnosis	4	11.5	±	2.10	6-16
ASD	15	8.5	±	0.74	6-14
Control	6	8.7	±	1.56	5-14

#### 質問紙

本研究では、不注意傾向と多動・衝動傾向の判定にADHD-RS-IV日本語版を、ASD

傾向の判定に AQ-10 を用いた。ADHD-RS-IV は ADHD の特徴である不注意、多動・衝動性を評価する質問紙であり、DuPaul らによって開発された。不注意 9 項目、多動・衝動性 9 項目の計 18 項目で構成されており、各項目は 4 件法(0: ほとんどない、1: ある、2: しばしばある、3: 非常にしばしばある)で評定される。AQ-10 は Baron-Cohen ら (2001)によって開発された ASD スクリーニングアンケートである AQ の簡略版であり、成人版(16 歳以上)、思春期版(12 歳～15 歳)、児童版(4 歳～11 歳)がある (Baron-Cohen, Wheelwright, Skinner et al., 2001; Baron-Cohen, Hoekstra, Knickmeyer et al., 2006; Auyeung, Baron-Cohen, Wheelwright et al., 2008)が、AQ と同様の感度と特異性を有しており、ASD のスクリーニングに有用であることが示されている (Booth, Murray, McKenzie et al., 2013)。AQ-10 の日本語版は標準化されていないが、質問項目は若林ら (2003)によって標準化されている AQ 日本語版の中から選定されており、訳語はそれを使用した。今回、筆者らが保護者面談を行い、成育歴確認を行った上でこれらの質問紙を記入した。今回、研究対照群を ADHD-RS-IV、そして AQ-10 の各項目における該当数が最も多かったものに分類した。

## HPLC 分析装置

対象児らの尿の分析は、標準試料として、MHPG、HVA、5-HIAA (Sigma-aldrich, Tokyo, Japan)を用いて、第 1 研究と同様の方法で行った。

## 尿の採取と処理過程

対象児らの尿の採取及び処理は、第3研究と同様の手続きで行った。

## 統計分析

統計分析には、第3研究と同様に正準判別分析を行った。行動特徴による分類に関して、モノアミン代謝産物排泄量を独立変数として、行動特徴による分類名をグループ化変数とする正準判別分析により解析した。統計ソフトウェアは Windows の SPSS 22.0 (IBM Corporation, NY, USA)を使用し、統計的な有意水準は 0.05 以下とした。

### 4-4. 結果

#### ADHD-RS-IV 及び AQ-10 による分類結果

ADHD-RS-IV 及び AQ-10 による分類の結果、不注意傾向優位群は 4 名で、全て ADHD の診断を受けている者だった。また多動・衝動傾向優位群は 9 名で、その内訳は ADHD が 2 名、重複診断児が 2 名、そして ASD の診断を受けた者が 5 名であった。最後に ASD 傾向優位群は 12 名と最も多く、そのうち 10 名が ASD、残り 2 名は重複診断を受けている者だった(Table 6)。

**Table 6. Classification by ADHD-RS-IV and AQ-10**

Behavioral characteristic	n	Age			Range
		Mean	±	SEM	
Inattention dominant	4	13.5	±	0.65	12-15
Hyperactivity-impulsivity	9	6.8	±	0.55	6-11
ASD dominant	12	10.4	±	0.95	6-16
Control	6	8.7	±	1.56	5-14

ADHD-RS-IV: the judgment of an inattention tendency and hyperactivity-impulsivity tendency

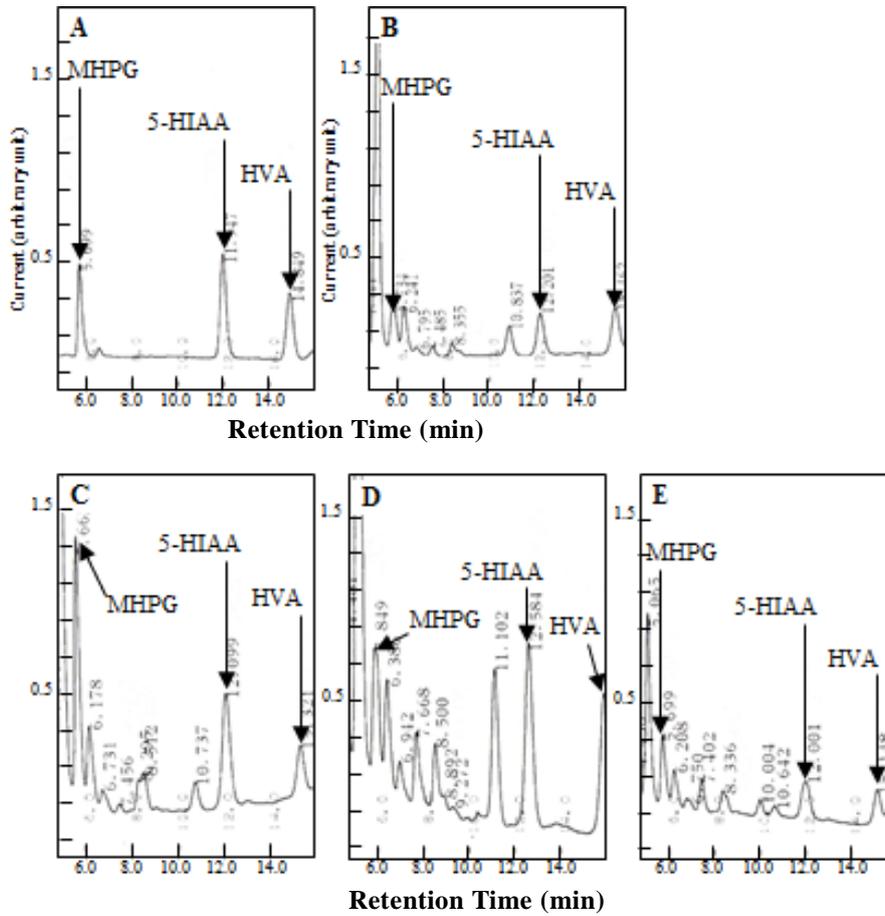
AQ-10: the judgment of the ASD tendency

## クロマトグラム

Table 7 に尿中モノアミン代謝産物排泄の微量分析の結果を示す。Figure 11 は(A)標準試料、(B)不注意傾向優位群、(C)多動性-衝動性傾向優位群、(D)ASD 傾向優位群、(E)コントロール群の3つの代謝産物が同定できる典型的なパターンのクロマトグラムを示す。

**Table 7. Descriptive statistics of urinary monoamine metabolites excretion (nmol/min)**

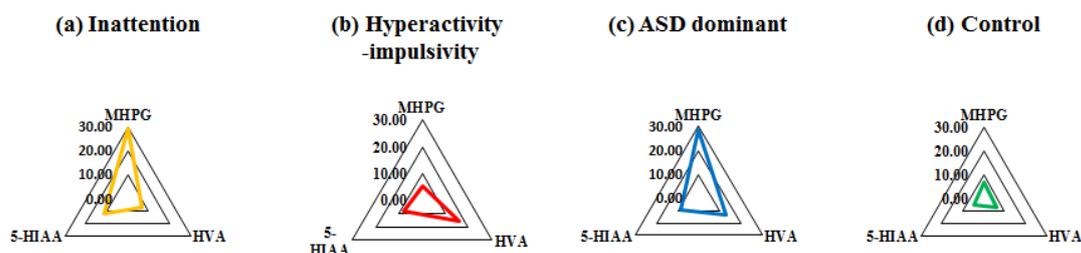
	n	MHPG		HVA		5-HIAA	
		Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
Inattention dominant	4	29.17	± 12.47	6.95	± 3.47	11.38	± 4.62
Hyperactivity-impulsivity	9	5.19	± 0.90	15.90	± 1.74	7.82	± 0.53
ASD dominant	13	28.47	± 4.74	13.18	± 1.98	8.88	± 1.97
Control	6	7.20	± 2.12	6.19	± 1.37	4.87	± 1.25



**Figure 11.** Typical chromatogram of standard solution (nmol/min) (A) and urine sample of inattention dominant group (B), hyperactivity-impulsivity dominant group (C), ASD dominant group (D), and control group (E).

## 正準判別分析による結果

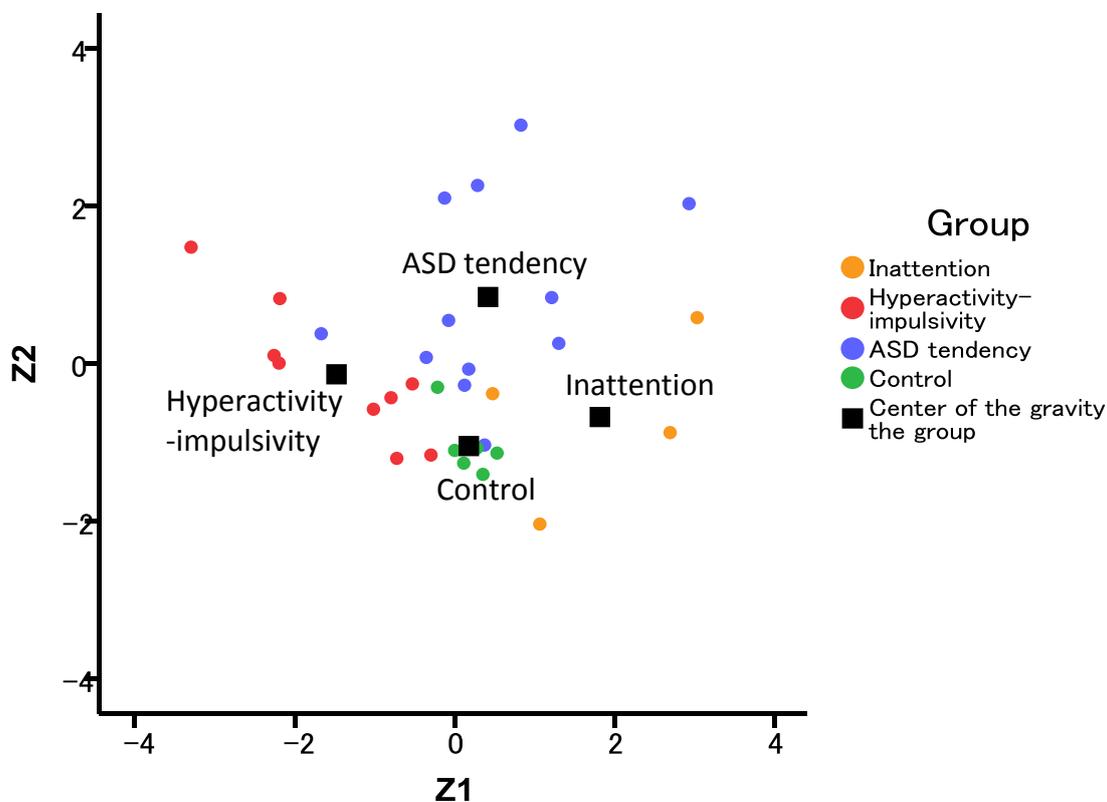
本研究では第3研究と同様に、個人差の大きさを考慮し、尿中モノアミン代謝産物排泄のアンバランスに着目するため正準判別分析を行った。正準判別分析の結果、不注意傾向優位群では MHPG が高く、HVA が低いこと、多動・衝動傾向優位群では MHPG が低く、HVA が高いこと、ASD 傾向優位群では MHPG が高く、5-HIAA が低いことが示唆された(Figure 12)。また、コントロール群は、いずれのモノアミン代謝産物排泄量も安定して低値を示していた。



**Figure 12. Excretion of monoamine metabolites in each predominant type (nmol/mim).** Inattention dominant group (a), hyperactivity-impulsivity dominant group (b), ASD dominant group (c), and control group (d).

さらに、 $Z1 = 0.056 \times \text{MHPG 排泄量} - 0.184 \times \text{HVA 排泄量} + 0.085 \times \text{5-HIAA 排泄量} + 0.501$  (固有値 1.301、正準相関 0.75、Wilks の  $\lambda = 0.24$ 、 $\chi^2(9) = 37.34$ 、 $p < .001$ ) と、 $Z2 = 0.071 \times \text{MHPG 排泄量} + 0.171 \times \text{HVA 排泄量} - 0.204 \times \text{5-HIAA 排泄量} - 1.621$  (固有値 0.64、正準相関 0.62、Wilks の  $\lambda = 0.56$ 、 $\chi^2(4) = 15.26$ 、 $p < .01$ ) が得られ、このときの判別率は 77.4% であった。これらのことは、判別関数式に尿中モノアミン代謝産物排泄量を代入することにより、神経発達

障害児をタイプ別に分類可能であることを示している(Figure 13)。



**Figure 13. Result of canonical discriminant analysis.** Plotted coordinates obtained by substituting the quantity of excreted MHPG, HVA and 5-HIAA excretion of each sample into canonical discriminant functions Z1 ( $p < 0.001$ ) and Z2 ( $p < 0.01$ ). Samples can be classified into an inattention dominant group, hyperactivity-impulsivity dominant group, ASD dominant group, and a control group. The discrimination rate was 77.4%.

#### 4-5. 考察

尿中モノアミン代謝産物排泄は脳内モノアミン神経系活動を反映していることから (George, Bernard, Wayne, Stephen, & Michael, 1993; Mori et al., 2003; Ohtsuki, Hori, & Terasaki, 2003)、我々は尿中 MHPG、HVA、5-HIAA 排泄量からそれぞれのペアレントアミンである NA、DA、5-HT の脳内神経系活動を推定することができる。

本研究では ADHD-RS-IV と AQ-10 を用いて、神経発達障害児を不注意傾向優位群、多動・衝動傾向優位群、ASD 傾向優位群に分類し、これらの優位型の尿中モノアミン代謝産物動態と行動特徴との関連性を検討した。簡便、且つ非侵襲的に採取可能な尿中モノアミンマーカ―は、脳神経系活動を把握することが可能である。その結果、不注意傾向優位群では MHPG が高く、HVA が低いこと、多動・衝動傾向優位群では HVA が高く、MHPG が低いこと、ASD 傾向優位群では MHPG が高く、5-HIAA が低いことを明らかにした。

以上から、不注意傾向は NA 神経系の亢進と DA 神経系の抑制が、多動・衝動性傾向は DA 神経系の亢進と NA 神経系の抑制が生じており、ASD 傾向は NA 神経系の亢進と 5-HT 神経系の抑制が生じていることが示唆される。

Brown (2005)は NA 神経系の亢進はしばしば注意の焦点を移動させることを阻害し、過集中を生じさせるとしている。このことから、不注意傾向優位群においては、過集中による注意制御の困難によって不注意が生じていると考えられる。

次に多動・衝動傾向優位群に関して、Solant (1984)は衝動性の根底には DA システムの過剰な活性があることを提唱しており、Castellanos ら(1996)は髄液中の HVA 濃度が高いほどに多動であるという報告と一致する。

ASD 傾向優位群に関しては、不注意傾向優位群と同様に NA 神経系の亢進が推定されるが、Happé and Frith (2006)が提唱している weak central coherence (WCC)から説明が可能である。central coherence とは、情報入力に際し、細部を犠牲にしても、より高次の意味

に向けて整理統合し、全体的な文脈に沿って処理することである。WCC は、ASD 児ではこのような情報処理が障害されているため細部へ集中し、全体的な輪郭や文脈的意味を犠牲にして細かな特徴が知覚され記憶される、という仮説である。この仮説は本研究結果を支持している。また、ASD 傾向優位群は 5-HT 神経系の抑制が推定されるが、5-HT トランスポーターの過剰発現が、脳内 5-HT レベルの低下につながる事が報告されている(Katafuchi, Kondo, Take, & Yoshimura, 2005)。さらに、Anstey ら(2009)の報告によると、サバクトビバッタを用いた研究で、5-HT の増加と群れ形成の関係を示しており、5-HT の増加と群れ形成の間に強い正の相関があったことを報告している。ASD 児は社会的コミュニケーション及び相互関係における持続的障害を有しており、集団行動を苦手とする事が多いが、このことは 5-HT 神経系の抑制と関係しているのかもしれない。

本研究の結果から、ADHD 児及び ASD 児の不注意、多動性・衝動性、ASD 傾向という 3 つの行動特徴は、NA、DA、5-HT 神経系活動の不均衡により分類されることが明らかとなった(判別式 Z1:  $p < .001$ 、Z2:  $p < .01$ )。更に、ADHD は不注意優勢状態と多動性・衝動性優勢状態及び混合状態に分類されるが、本研究結果より生化学的な指標から少なくとも不注意優勢タイプと多動性・衝動性優勢タイプの 2 群に明確に分類されることが示唆された。

Pliszka (2003)は ADHD を NA や DA の単純な欠損であるとみなすことはできないと述べているが、ADHD と ASD、そしてこれらの重複診断児に関しては、NA、DA、5-HT 神経系活動の不均衡により生じているものと考えられる(Yamamoto, Morinaga, & Yamashita,

2015)。一方で、多動・衝動傾向優位群には ASD の診断のある者も含まれていたことから、ASD と ADHD の多動性・衝動性優勢状態とは重複している可能性が高いことが示唆される。また、不注意傾向優位群は平均年齢が他の群に比べ高く、加齢に伴い多動性・衝動性が減少することが窺えた。

本研究により、神経発達障害である ADHD と ASD に見られる不注意、多動性・衝動性、ASD 傾向といった 3 つの行動特徴のメカニズムが、尿中モノアミン代謝産物バランスによって説明できることを明らかにした。更に ADHD は行動指標のみならず、尿中モノアミン代謝産物測定からも不注意優勢タイプと多動性・衝動性優勢タイプの 2 群に明確に区別されることも明らかにした。

今後の検討課題としては、介入によって神経発達症群のモノアミン神経系活動の可塑的变化を誘導し得るかどうかということが考えられる。また、可塑的变化を誘導することで、認知機能と ASD 特性は改善し得るのかについても検討が必要である。さらに、その場合どのような介入が有効なのかも検討する必要がある。

## 第 5 節＜第 5 研究＞ASD 児の行動変容及び神経可塑性の誘導

### 5-1. 関連発表

1. 盛永政和. 同時処理優位で、集中力がなく、イライラしやすい小 2 男児への情報の入力強化トレーニング. K-ABC アセスメント研究(査読付き). 2011: 13, 59-67.
2. . 盛永政和・岡本久実. 衝動性の高い広汎性発達障害幼児への注意・集中力向上訓練. K-ABC アセスメント研究(査読付き). 2012: 14, 51-59

### 5-2. 目的

第 3 及び第 4 研究で、神経発達障害児に見られる代表的行動特徴である不注意傾向、多動性・衝動性傾向、ASD 傾向とモノアミン神経系活動の関係を明らかにした。第 5 研究では、まず、第 4 研究における採尿から 18 カ月経過していたため、第 5 研究の開始時に採取した尿と 18 カ月前の尿とを比較し、尿中モノアミン代謝産物排泄バランスの再現性を確認した。

続いて、第 4 研究における ASD 傾向は NA 神経系の亢進及び 5-HT 神経系の抑制が生じているという結果を踏まえ、モノアミン神経系活動バランスの変化に焦点を当て、ASD 児を対象に介入を行うことで、行動及び神経可塑性を誘導し得るかどうかについて検討することとした。評価は Stroop Test と Trail Making Test による認知評価及び AQ-10 による ASD 特性の評価、尿中モノアミン代謝産物排泄の測定による生化学的評価を行った。

本研究では、介入方法として認知トレーニング（盛永，2013）、リズムトレーニング、

リズム・運動トレーニングの3種類を考案・実施した。いずれのトレーニングも、児童らにとって抵抗感なく実施できるもの、失敗しにくい或いは失敗を感じにくいもの、そして短時間で実施できるものであることに留意した。リズムトレーニングの開発の根拠は以下の理由による。Leismanら(2010)によると、リズムフィードバック訓練は注意の焦点化の向上に影響を与えることから、対象児の注意機能の向上に寄与することが期待される。また、リズム運動(呼吸、散歩等)によって5-HT神経系は活性化することから(有田, 2006; Fumoto, 2010)、5-HT神経系の抑制が生じている可能性のあるASDにおいて、5-HT神経系の発射活動を増進させることが期待される。さらに、5-HTはNA神経の細胞体樹状突起終末に存在する5-HT<sub>2A</sub>受容体に作用してNA放出を抑制することが知られているが(Stephen, 2008)、第4研究の結果から、ASD児はNA神経系の亢進が示唆されることから、リズムトレーニングによる5-HT神経の活性によって、NA神経系の活動を抑制させることが期待される。即ち、5-HT神経系の活性とNA神経系の抑制を促すことで、ASDにおけるNA神経系の亢進と5-HT神経系の抑制を改善し得るという仮説を立て、リズムトレーニングを開発した。

次に、リズム・運動トレーニングの開発の根拠は以下の理由となる。運動によってASDの認知機能が改善するという報告(Tan, Pooley & Speelman, 2016)や、社会的行動の問題を改善し、多動を軽減するとの報告がある(Bahrami et al., 2012 ; Petrus et al., 2008)。また、10分間の軽運動でも実行機能が高まるとの報告がある(Byun et al., 2014)。さらに、運動によってNA及びDA神経系活動が活性化することから(Yamamoto, 2005; 山本, 2010)、

NA 及び DA 神経系の活性が期待できる。リズムの要素も組み合わせることで、リズムトレーニングと同様に 5-HT 神経系の活性も期待できる。このように、3 種のモノアミンを全て活性させることで、モノアミン神経系における相互依存的ネットワークを調整させるという仮説を立て、リズム・運動トレーニングを開発した。

### 5-3. 実験方法

#### 研究対象者

本研究は日本神経科学学会の「ヒト脳機能の非侵襲的研究の倫理問題などに関する指針(2009)」に基づき、また帝塚山大学研究倫理委員会の承認(受付番号: 26-37)を得て行われた。

本研究では研究 4 の児童のうち、医療機関にて ASD の診断を受けている 7 歳～15 歳(平均±SD: 9.75±2.52)の児童 16 人(男児 14 名、女児 2 名)を対象とした。

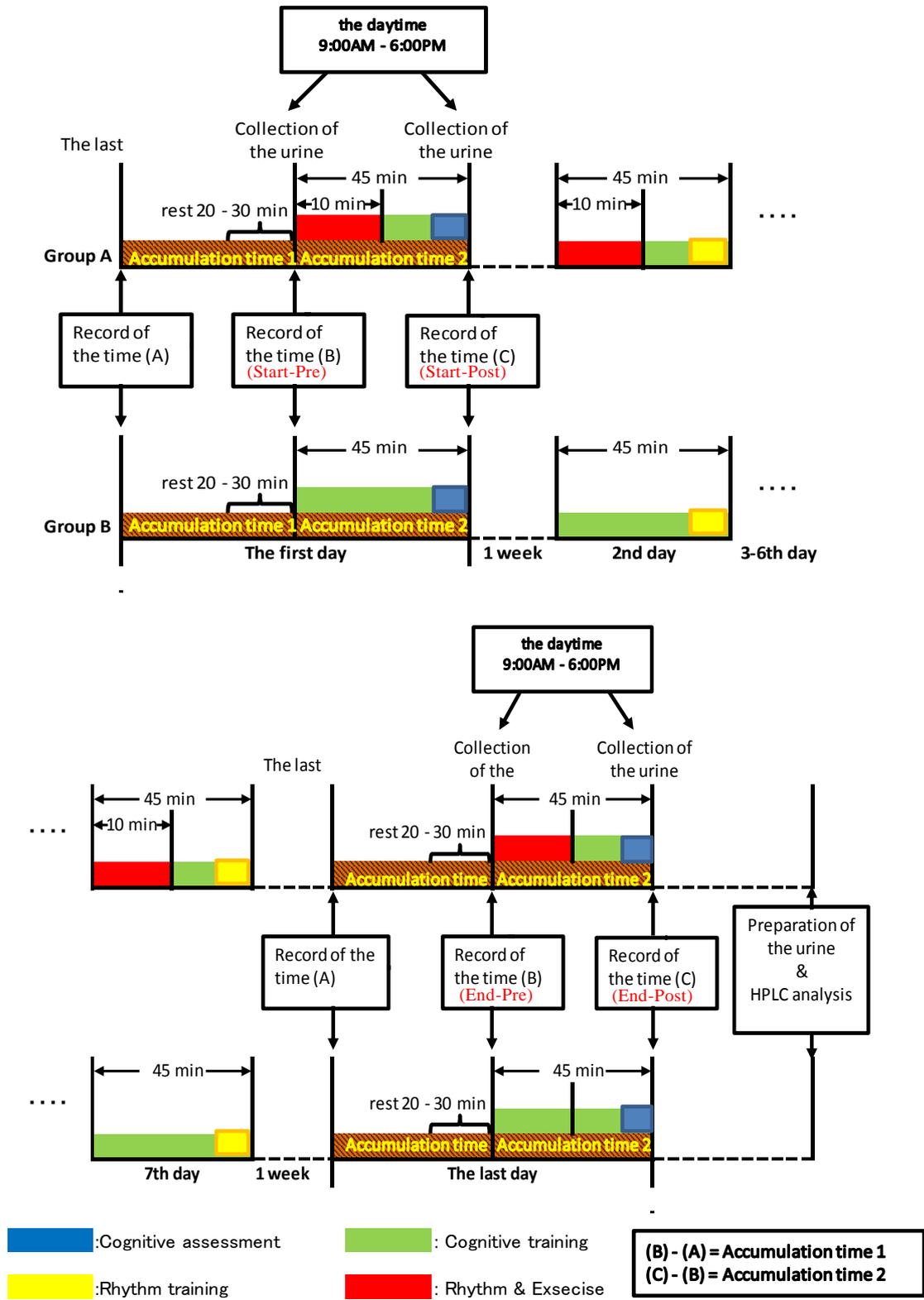
また、18 か月前の尿データとの比較による再現性の確認は、上記対象者のうち 8 名であり、8 歳～15 歳(平均±SD: 9.75±2.49)の児童 8 人(男児 7 名、女児 1 名)であった。

対象児をリズム・運動トレーニング、認知トレーニング、リズムトレーニングの 3 種類を行う A 群と、認知トレーニングとリズムトレーニングの 2 種類を行う B 群に分けた。群の分類は塾での授業を行うクラス編成によるものであり、年齢により決定した(A 群: 年齢±SD=9.88±3.00、B 群: 年齢±SD=9.63±2.13)。

## 実験スケジュール

再現性の確認実験は、第 4 研究時に採取した尿との比較にて行った。第 4 研究から本研究までは 18 カ月間が経過していたが、その間、認知トレーニングを週 1 回のペースで 45 分間行っていた。

次に、介入実験の実験スケジュールを Figure 14 に示す。両群ともに介入は週 1 回で 2 カ月間(8 回)行った。実験開始日、初回セッション時に著者は教室に来室してきた研究対象児から順番に尿を採取した(Start-Pre)。A 群は 10 分間のリズム・運動トレーニングを行った。その後、認知トレーニング(30 分)、リズムトレーニング(5 分)を順次行い、リズム・運動トレーニング開始から 45 分後に認知検査(Stroop Test と Trail Making Test)を実施し、終了後再度尿の採取を行った(Start-Post)。B 群は認知トレーニング(40 分)とリズムトレーニング(5 分)を 45 分間行い、その後、認知検査(Stroop Test と Trail Making Test)を実施し、再度採尿した(Start-Post)。2 回目～7 回目までの 6 セッションでは採尿及び認知検査は行わずにトレーニングを行った。実験最終日は、初回セッションと同様、即ち、来室後に採尿(End-Pre)、トレーニング、認知検査、採尿(End-Post)を行った。



**Figure 14. Experimental schedule**

## HPLC 分析装置

対象児らの尿の分析は、標準試料として、MHPG、HVA、5-HIAA (Sigma-aldrich, Tokyo, Japan)を用いて、第1研究と同様の方法で行った。

## 尿の採取と処理過程

対象児らの尿の採取及び処理は、第3研究と同様の手続きで行った。

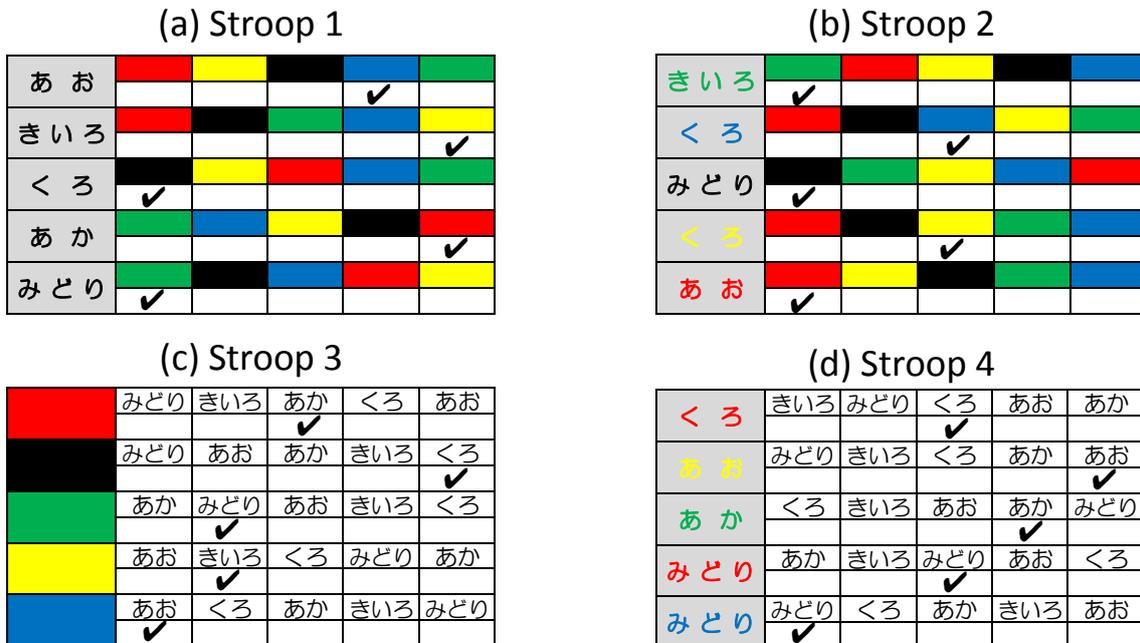
## 認知アセスメント

本研究における介入効果の検討のために、認知アセスメントは Stroop Test と Trail Making Test の2種類を行った。

### Stroop Test

ストロープ効果とは、文字意味と文字色のように同時に提示される2つの視覚情報が干渉しあう認知的葛藤現象である (Stroop, 1935)。このような複雑な課題の遂行に対して、行動を制御する認知システムを実行機能と呼び (Ozonoff, Pennington & Rogers, 2006)、Stroop Test は認知的葛藤により生じる反復潜時が実行機能の違いによって生じることを利用した前頭前野の機能検査である。本研究では、提示されたことばが意味する色のチェックを行う逆ストロープ統制課題 (Figure 15-a)、提示されたことばの色をチェックする逆ストロープ干渉課題 (Figure 15-b)、提示された色を示すことばをチェックするストルー

プ統制課題(Figure 15-c)、提示されたことばが意味することばをチェックするストロープ  
 干渉課題(Figure 15-d)の4つを行った。それぞれ1分間の正答数を得点とした。



**Figure 15. Stroop Test:** (a) Reverse Stroop control task that checks the color that shown words mean. (b) Reverse Stroop interference task to check the color of shown words. (c) Stroop control task to check the word that shows the presented color. (d) Stroop interference task to check the words that shown words mean.

### Trail Making Test (TMT)

TMT は注意機能及び実行機能の評価として広く使われている。TMT は提示された 1～25 の数字を昇順にたどる TMT-A (Figure 16-a)と、数字とひらがなを交互に昇順にたどる TMT-B (Figure 16-b)がある。数字や文字の認識・持続的注意力・視覚的探索力等の能力が必要とされているが、特に TMT-B では実行機能の評価できる。本研究では遂行に要した時間により評価した。

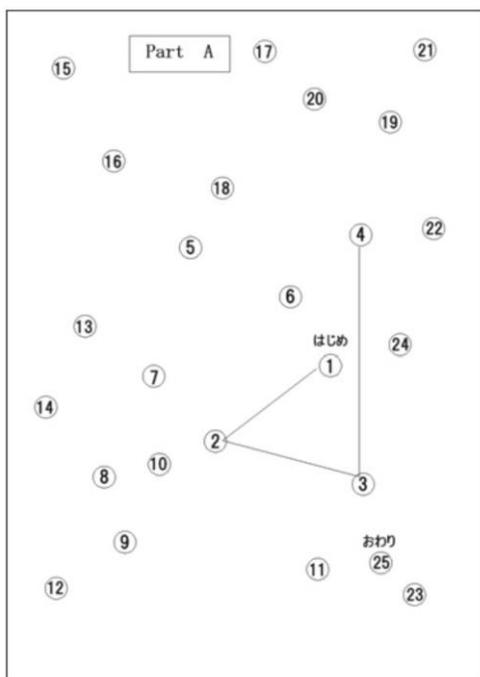


Figure 16-a Trail Making Test A

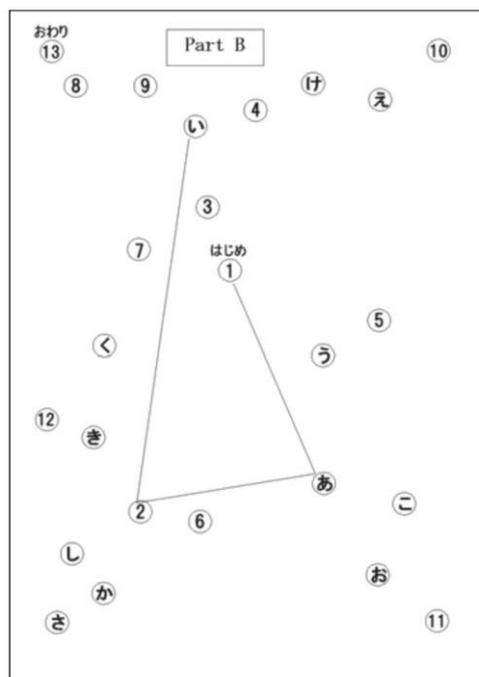


Figure 16-b Trail Making Test B

## ASD 特性の評価

ASD 特性の評価には、研究 4 で使用した AQ-10 を使用した。本研究の開始時と終了時に保護者に AQ-10 を配布し、記入を依頼した。

## 介入方法

本研究では、A 群には認知トレーニング、リズムトレーニング、リズム・運動トレーニングの3種類を、B 群には認知トレーニングとリズムトレーニングの2種類を行った。

以下にそれぞれのトレーニングについて説明する。

## 認知トレーニング

認知トレーニングは、上嶋(2008)を参考に下記の五つを実施した。

1) 落書き課題: B4 サイズのスケッチブックに鉛筆で紙が真っ黒になるように 1 分間落書きさせる(Figure 17)。この課題では 1 分間スケッチブックに視野を集中させ、はみ出さないように、また鉛筆を折らないように気を付けながら真っ黒にしていくことを要求した。途中の私語や途中でやめることは禁止し、「終わり」と言ったらすぐにやめることをルールとした。

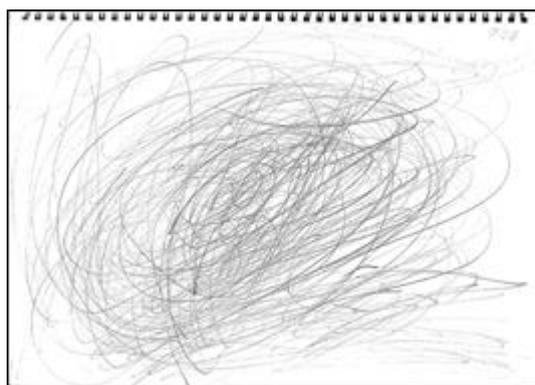


Figure 17. 落書き課題 (盛永・岡本(2012)より引用)

2) 点結び課題: B4 のスケッチブック上にランダムに打たれた 30 個の点の横に、実験者が読み上げる 1~30 数字を書いていく(Figure 18-a)。その後、教室前方にあるホワイトボードに 1~30 の番号が書かれたカードをランダムに貼っていき、それらを順に結んでいく。児童らはホワイトボード上に示されたものと同じ順で、手元に書いた数字を結んでいく(Figure 18-b)。

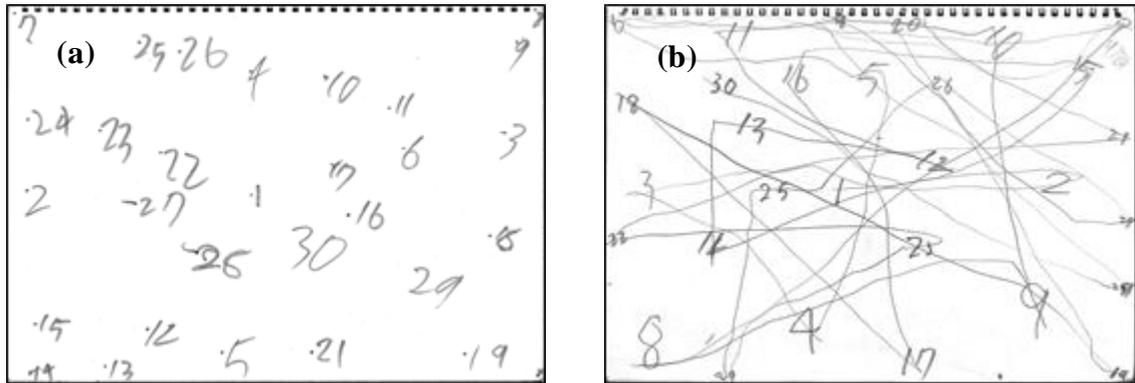


Figure 18-a, b. 点結び課題 (盛永・岡本(2012)より引用)

- 3) 数字の聴写課題、条件付き聴写課題: 聴写課題では、マス目のあるノートに著者がランダムに読み上げる 0~50 までの数字を、聞こえた通りにノートに書き写していく。条件付き聴写課題では、読み上げた数字に+1 や+2 などの操作を加えて書き写していく。
- 4) 言葉の聴写課題、条件付き聴写課題: 言葉の聴写課題では、実験者がランダムに読み上げる 4 文字の言葉をノートに書きとっていく。条件付き聴写課題、読み上げた言葉から「ん」を抜いて書くなどの操作を加える。
- 5) 記憶聴写課題: 連続で読み上げる三つの 3 文字言葉を記憶してノートに書く。

### リズムトレーニング

教室前方にあるホワイトボードに、1~50 までの数字が書かれたカードを縦横 7×3 に提示する(Figure 19)。児童らは 1 分間に 40~60 回のペースで聴覚的に提示されるメトロノームのリズムに合わせて手拍子を行い、1 人ずつ順番に数字を読み上げていく。課題

実施前には児童らに目を閉じるよう指示し、音だけを聞かせ、リズムに合わせて体の一部を動かすことで、課題に取り組みやすくなるセクションを設けた。

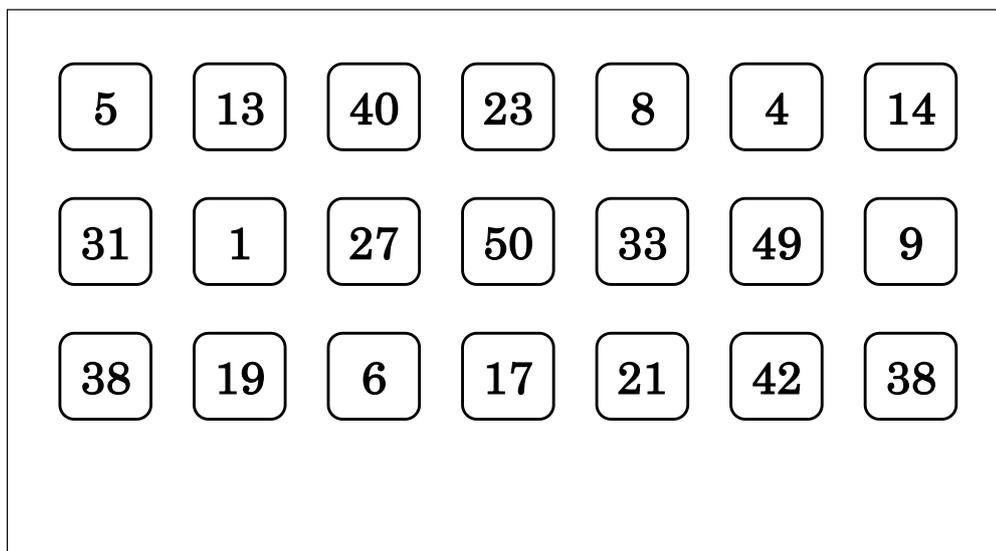


Figure 19. リズムトレーニング課題提示刺激例

### リズム・運動トレーニング

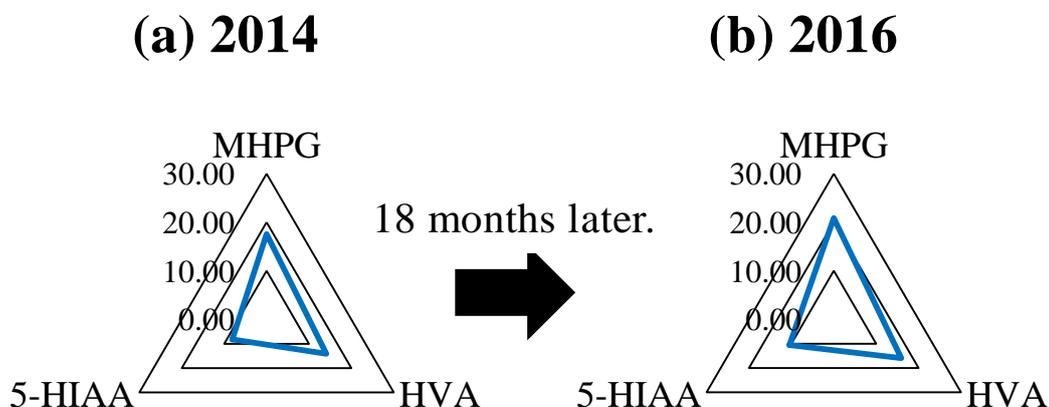
本研究では、1分間に60回のペースで聴覚的に提示されるメトロノームのリズムに合わせて、地面から3cm～10cmの高さの位置に張られたゴムロープを前後に跳躍を繰り返すリズムと運動の要素を取り入れたトレーニングを考案・実施した。本研究で実施したリズム・運動トレーニングは、1セットを60回/1分の跳躍運動と1分間のインターバルとして5セット(10分間)行った。下記の公式に従って算出した運動強度は軽度(30未満)であった。

$$\text{運動強度} = \frac{\text{運動中の心拍数} - \text{安静心拍数 (拍/分)}}{\text{最大心拍数} - \text{安静心拍数 (拍/分)}} \times 100\%$$

## 5-4. 結果

### 尿中モノアミン代謝産物排泄の再現性

今回採取した尿中におけるモノアミン代謝産物排泄 (Figure 20-a) と、18 カ月前 (Figure 20-b) に第 4 研究として採取した尿中モノアミン代謝産物排泄との比較を行った結果を Figure 20-a, b に示す。18 か月間、対象児らは週 1 回のペースで認知トレーニングを行っていたが、尿中モノアミン代謝産物排泄バランスは、第 4 研究にて示された ASD 傾向特有のバランスを示していた (Figure 12-c)。対応のある t 検定の結果、各モノアミン代謝産物排泄に有意差は見られなかった。



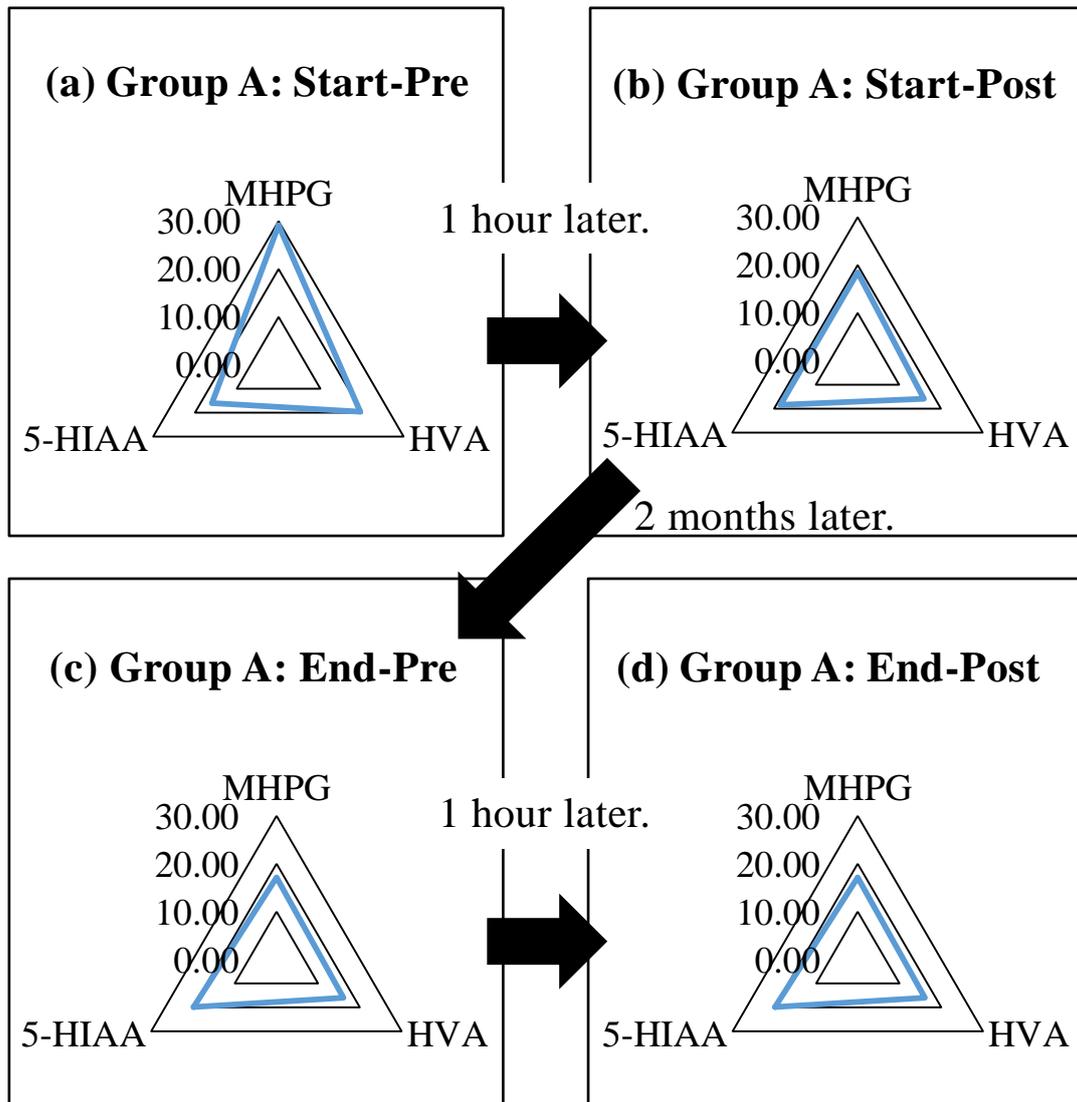
**Figure 20. Reproducibility of urine monoamine metabolites excretion (nmol/min):**

In both 2014 (a) and 2016 (b), it has shown the ASD specific balance which are high MHPG and low 5-HIAA. That is, it means that the reproducibility even after 18 months is guaranteed.

## 尿中モノアミン代謝産物排泄の結果

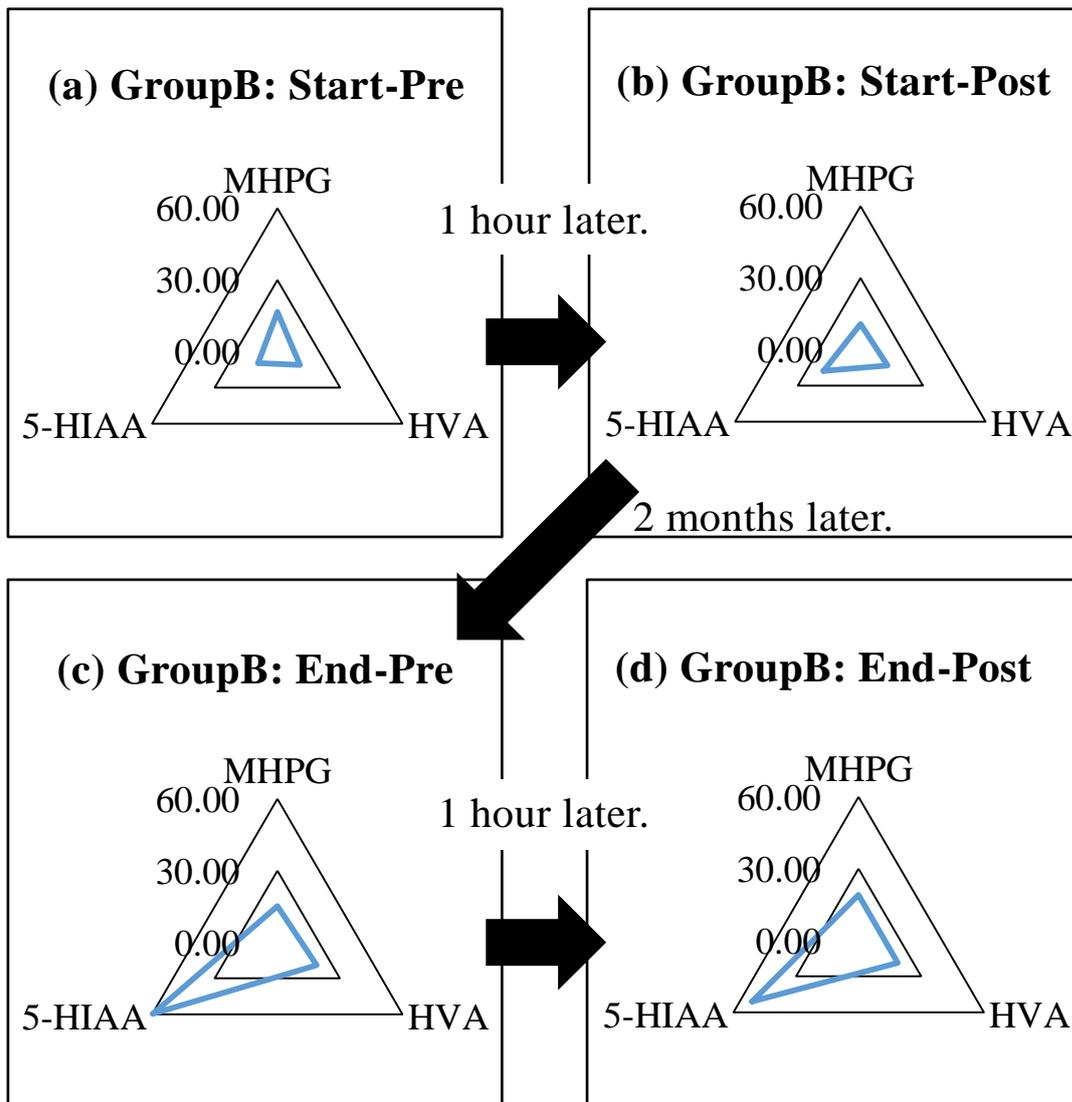
尿中モノアミン代謝産物排泄の A 群の結果を Figure 21-a, b, c, d に、B 群の結果を Figure 22-a, b, c, d に示す。トレーニング開始前(Start-Pre: a)の尿中モノアミン代謝産物排泄バランスは両群ともに、上述の通り、ASD 傾向特有の物であった。トレーニング直後(Start-Post: b)において A 群は MHPG 排泄が低下し、5-HIAA 排泄が増加したため、3 種のモノアミン代謝産物排泄のバランスが均衡状態となった(Figure 21-a, b)。それに対して B 群は 5-HIAA 排泄が大幅に増加する結果となった(Figure 22-a, b)。

2 カ月のトレーニング期間を経た最終トレーニング直前(End-Pre: c)において、A 群は Start-Post と同様のモノアミン代謝産物排泄バランスを示していたのに対し(Figure 21-b, c)、B 群は 5-HIAA が更に増加している結果となった(Figure 22-b, c)。最終のトレーニング終了後(End-Post: d)は、両群ともに End-Pre 時点と同様のバランスを示した(Figure 21-c, d; Figure 22-c, d)。



**Figure 21. The results of the urinary monoamine metabolites excretion in group A. (nmol/min)**

(a) Before starting the training. (b) 1hour later of the training. (c) 2months later, training-pre. (d) 2months later, training-post.



**Figure 22. The results of the urinary monoamine metabolites excretion in group B. (nmol/min)**

(a) Before starting the training. (b) 1hour later of the training. (c) 2months later, training-pre. (d) 2months later, training-post.

## Stroop Test の結果

運動トレーニングの有無による介入効果の検討のため、Stroop Test 1, 2, 3, 4 において Levene の誤差分散の等質性検定を行った結果、Stroop Test 1 の End 時点( $F(1, 14)=5.43, p<.05$ )、Stroop Test 2 の End 時点( $F(1, 14)=3.70, p<.10$ )、Stroop Test 4 の End 時点( $F(1, 14)=4.92, p<.05$ )において、それぞれ群間の等質性が保証されなかった。そのため、Stroop Test の比較には対応のある  $t$  検定を行った。

その結果、A 群の Stroop Test 1( $t(7)=3.19, p<.05$ )、Stroop Test 2( $t(7)=3.55, p<.01$ )、Stroop Test 4( $t(7)=2.14, p<.10$ )の得点において有意な差が認められた。B 群においてはいずれにおいても有意差は見られなかった(Figure 23-a, b, c, d)。

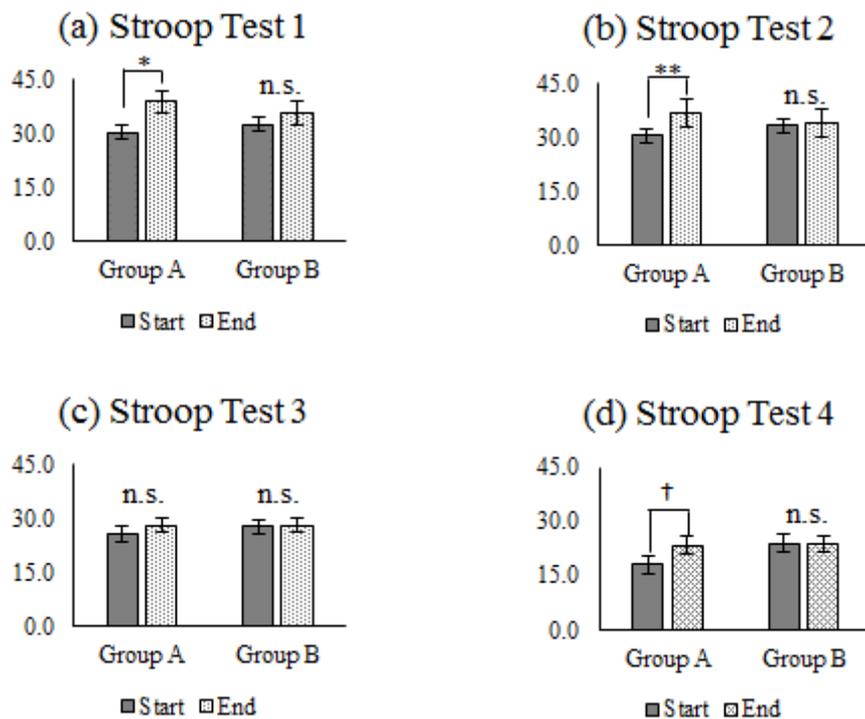


Figure 23. Results of Stroop Test score 1 (a), 2 (b), 3 (c), 4 (d)

## TMTの結果

運動トレーニングの有無による介入効果の検討のため、TMT-A、TMT-B において、Levene の誤差分散の等質性検定を行った結果、TMT-A の End 時点( $F(1, 14)=4.60, p<.05$ )において群間の等質性が保証されなかった。そのため、TMT の比較には対応のある  $t$  検定を行うこととした。

その結果、両群ともに TMT-A 及び TMT-B の遂行時間において有意な差は認められなかった(Figure 24-a, b)。

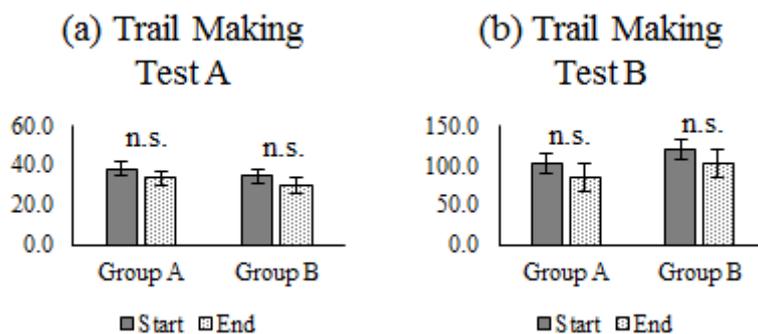


Figure 24. Results of Trail Making Test time (second) A (a), B (b)

## AQ-10 の結果

AQ-10 による ASD 特性の評価結果を Figure 25 に示す。AQ-10 スコアの比較には対応のある  $t$  検定を行うこととした。その結果、両群ともに Start 時点と End 時点での AQ-10 のスコアにおいて有意な差は認められなかった。

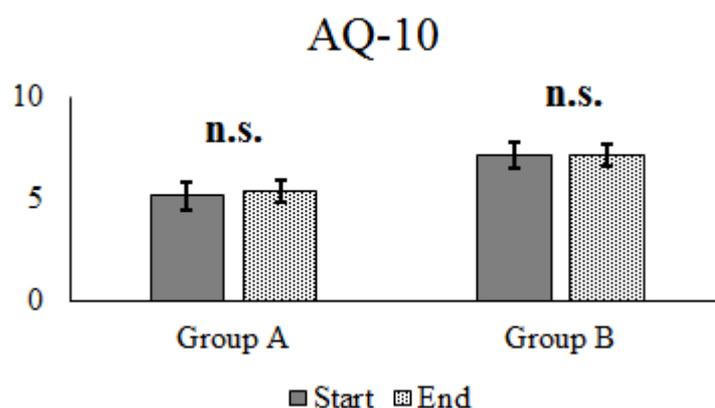


Figure 25. Results of AQ-10 score.

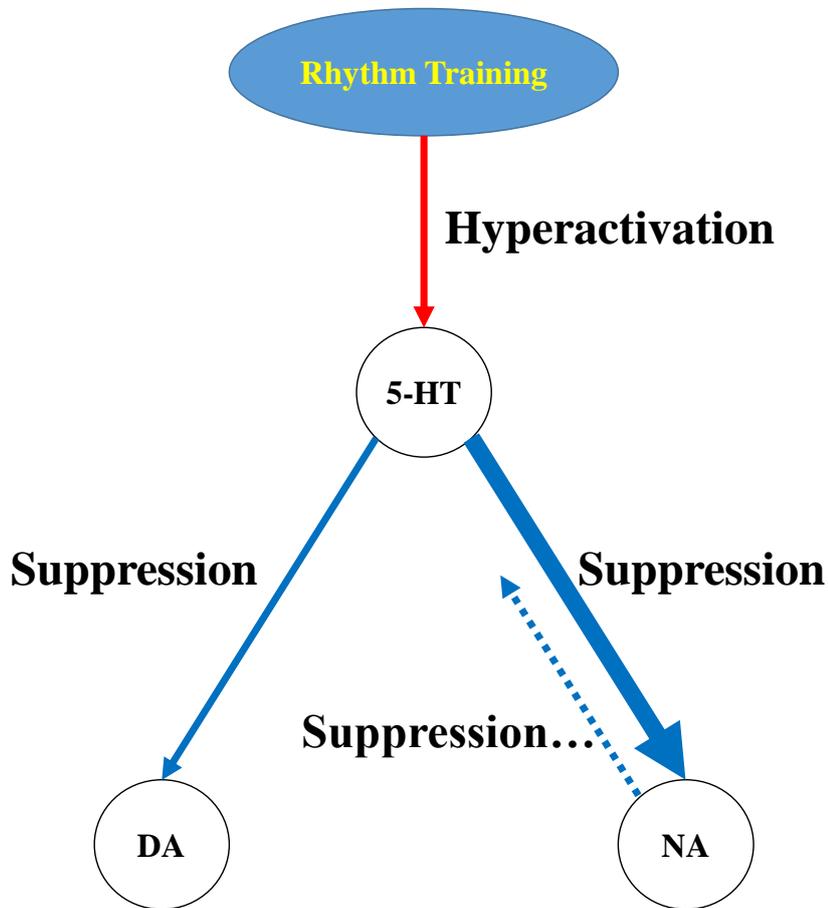
## 5-5. 考察

今回、ASD 児を対象に第 4 研究の結果との比較によって、ASD 傾向におけるモノアミン神経系活動のアンバランスについての再現性の確認と、認知・リズム・運動介入を行うことで、行動及び神経可塑性を誘導し得るかどうかについて検討した。さらに、認知機能の変化について、Stroop Test と Trail Making Test の 2 種類の認知検査によって評価した。

まず再現性の確認の結果は第 4 研究時の尿と本研究の Start-Pre の尿の比較によって明らかにすることができた。Figure 20 に示した通り、第 4 研究で明らかにした ASD 傾向

に特有の尿中モノアミン代謝産物排泄バランスを示しており (Figure 12)、ASD 傾向に見られるモノアミン神経系バランスは経年変化が生じないことが明らかとなった。また、第 4 研究から本研究までの 18 か月間に渡り認知トレーニングを実施していたが、モノアミン神経系活動のアンバランスに変化が見られなかったことから、本研究で実施した認知トレーニングでは神経の可塑的变化は生じないことが明らかとなった。

次に神経系の可塑的变化に対する介入方法の違いによる検討を行った。リズムトレーニングについては、Figure 22 に示す通り 5-HIAA 排泄の増加が認められた。このことは 5-HT 神経系の亢進を示していると考えられる。5-HT 神経系の過剰亢進が生じた背景としては、次のことが考えられる。NA は前頭前野において、NA シナプス後の  $\alpha_2$  受容体におけるネガティブフィードバックによって、5-HT 放出を抑制することが知られているが (Stephen, 2008)、5-HT も NA 神経の細胞体樹状突起終末に存在する 5-HT<sub>2A</sub> 受容体に作用して NA 放出を抑制している。このように NA と 5-HT は相互に調節合っている。しかし、リズムトレーニングによって過剰亢進した 5-HT 神経により NA 放出の過剰な抑制が生じ、両者のバランスが崩れたことによって 5-HT に対する抑制系が機能しなくなったと考えられる (Figure 26)。リズムトレーニングに関しては、仮説の通りに神経の可塑的变化を誘導することはできなかった。

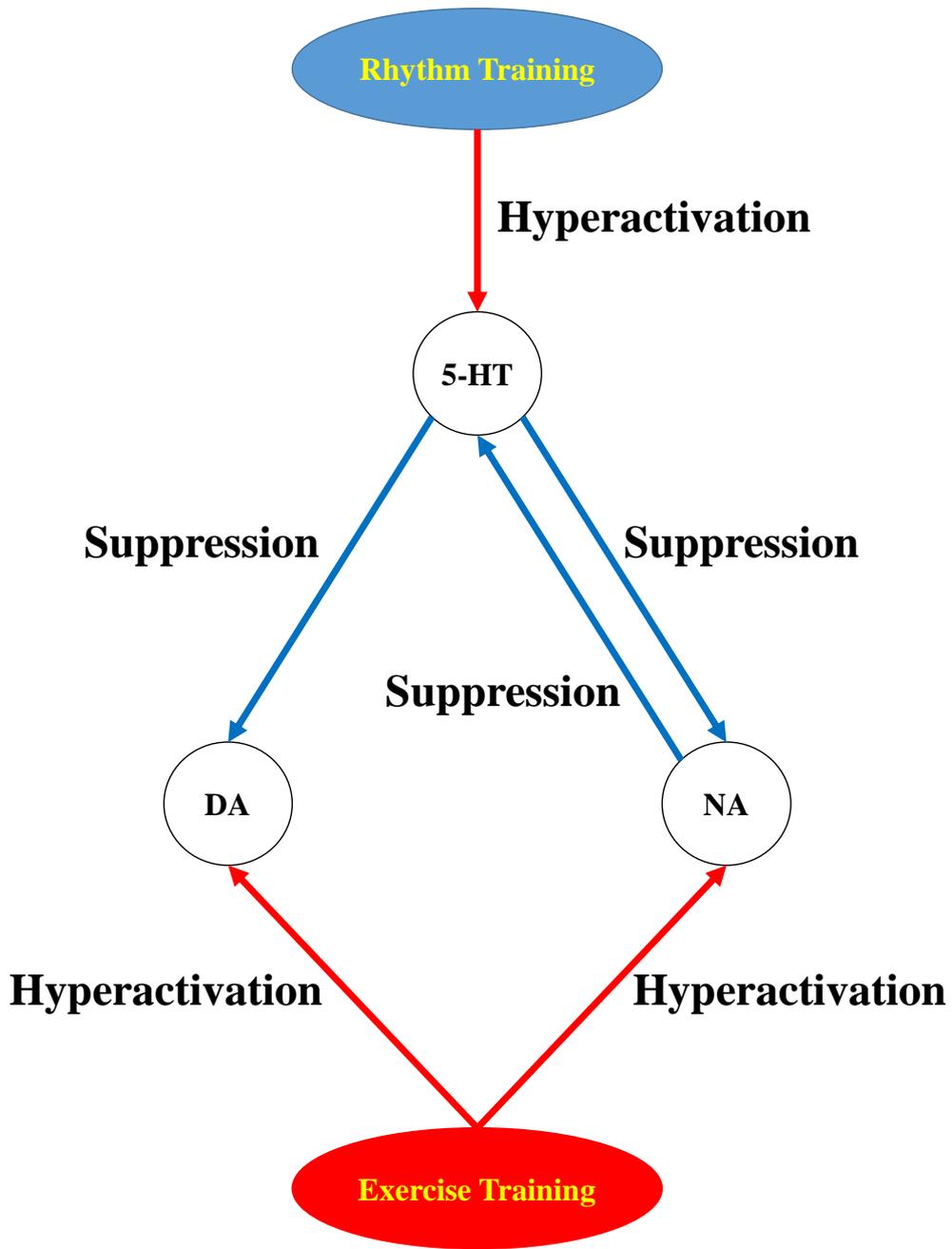


**Figure 26. Conception diagram of rhythm training and the monoamine neural circuit:**

Rhythm training makes 5-HT nervous system be accelerated. And 5-HT inhibits NA and DA nervous system. However, there is no system suppressing 5-HT. As the result, hyperactivation of 5-HT occurs.

リズム・運動トレーニングを行った群については、Start-Pre 時の ASD 傾向に特有なモノアミン代謝産物排泄バランスが(Figure 12-c & 21-a)、Start-Post 時には第 4 研究で示されたコントロール群(第 4 研究の Figure 12-d)のように変化した(Figure 21-b)。さらに驚く

べきことに、2カ月後の End-Pre 時には Start-Post 時と同様のバランスを示していた(Figure 21-c)。これは運動直後に一過性の変化が生じるだけでなく、介入効果が一定期間持続していたことを示すものである。即ち、2カ月のリズム・運動トレーニングによって神経可塑性を誘導したことを示唆している。そのメカニズムについては、下記のことが考えられる。リズム・運動トレーニングを行わずにリズムトレーニングのみを行うと、上述の通り 5-HT 神経系の過剰亢進が生じる。しかしながら運動刺激によって NA 神経系の活性化が生じることで次のような 5-HT 抑制機構が働く。即ち、NA 投射の促進によって NA がシナプス後  $\alpha_2$  受容体に結合することで、NA のネガティブフィードバックが生じ、5-HT 放出を抑制する。また、運動刺激によって DA 神経系も活性化するが、これに対しては 5-HT 神経系からの抑制機構が働く。即ち、リズムトレーニングによって活性化した 5-HT 投射は腹側被蓋野を起始部とする中脳辺縁系 DA 経路における DA 神経の自発発射に対して、5-HT<sub>2c</sub> 受容体を介して抑制的に作用する。5-HT は NA と DA の双方に対して抑制作用を有しているが、NA が 5-HT を抑制することで、NA、DA、5-HT はそれぞれ抑制し合っている。このように、リズム・運動トレーニングによって NA、DA、5-HT 神経系相互回路を活性化させると同時に、それぞれの抑制機構を正常化することで、3種のモノアミン神経系が均衡状態を保つよう変化したと考えられる(Figure 27)。リズム・運動トレーニングによって、仮説の通りに神経の可塑的变化を誘導することに成功したと言える。



**Figure 27** Conception diagram of rhythm-exercise training and the monoamine neural circuit: Exercise leads NA, DA nervous system hyperactivation. Therefore, NA, DA and 5-HT can maintain balanced state respectively.

次に認知検査の結果については、特に Stroop Test の結果において A 群の成績が優位に向上していた(Figure 23-a, b, d)。Stroop Test は実行機能の一部を評価する課題であり、リズム・運動トレーニングを行ったことで実行機能が向上したことが明らかとなった。この点については、わずか 10 分間の軽運動でも実行機能が改善するとした Byun ら(2014)の報告とも一致する結果となった。

運動刺激によって活性化した DA が実行機能を司る前頭前野の神経活動を亢進するが、PET を用いた研究において、NA が実行機能に関係する前帯状や眼窩前頭皮質を活性化するという報告(Aston-Jones and Cohen, 2005)もある。これらのことから、運動によって DA 及び NA の投射が促進され、前頭前野及び前帯状や眼窩前頭皮質が活性化することで実行機能が改善したと考えられる。

ASD 特性の評価については変化がないという結果であった。この点については、周囲が変化、成長する中で状態が悪化しなかったと考え、ポジティブな結果と言える。また、運動介入を行わなかった B 群の評価も変わらなかったことから、5-HT 神経系の過剰亢進による ASD 特性に対する負の影響は認められなかったことになる。このように、認知機能及びモノアミン神経系の可塑的变化が生じながら ASD 特性の劇的な改善が生じなかった点について、原因の究明及び介入方法の検討等、今後更なる改善に向けての検討の余地があると言える。また、本研究においては ASD のみを対象として介入を行ったが、ADHD 児に対して介入を行った場合の検討も必要である。

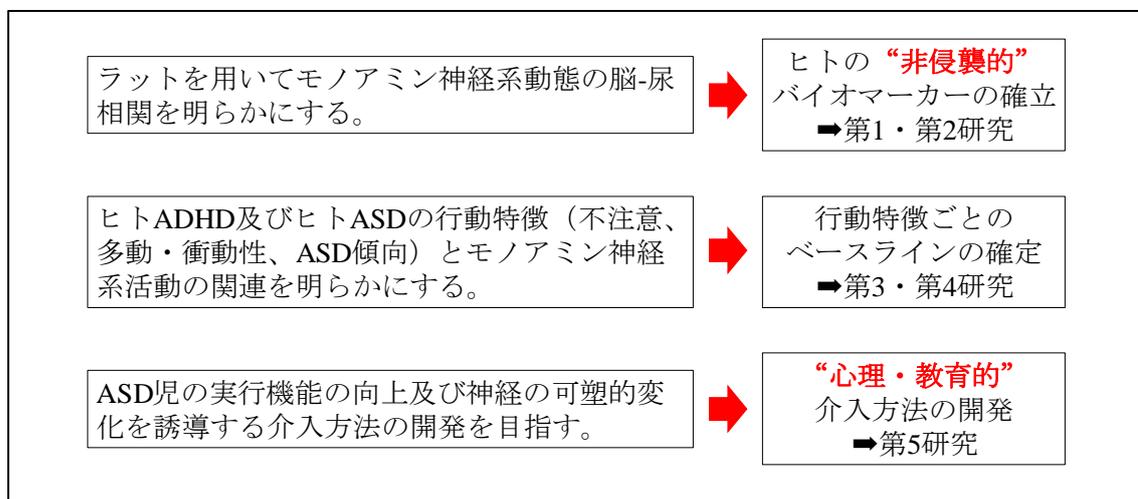
## 第4章 全体的考察

本研究では神経発達障害の中でも特に社会的な問題が大きく、科学の対象として多くの先行研究のある ADHD と ASD に焦点を当てて研究を行った。ADHD 及び ASD 児に対する適切な支援を検討する上で、その病態メカニズムの解明は重要である。

本研究課題は、ADHD と ASD に見られる不注意傾向、多動・衝動傾向、ASD 傾向といった行動特徴の発現メカニズムをモノアミン神経系動態から明らかにし、さらに介入によって行動変容のみならず神経可塑性の誘導可能性を検討することである。

ADHD 及び ASD は脳内モノアミン神経系、特に NA、DA、及び 5-HT の3つのモノアミン神経系活動との関連性が報告されているが、動物モデル研究とヒト研究の結果には相違があり、またヒト研究においても結果が矛盾している。前者については、モデル動物研究に比べヒト研究では個体差の大きさに起因する結果のばらつきが生じる可能性があることが推測され、後者に関しては、これまでの研究においては「ADHD 群とコントロール群」または「ASD 群とコントロール群」といった比較しかされてこなかったことが理由と考えられる。そこで本研究では、ADHD の各サブタイプと ASD、そしてコントロール群を網羅的に比較した。また、従来から行われている脳イメージング手法では特定し得ない、ヒトにおける脳内モノアミン神経系活動を非侵襲的に特定するため、尿中モノアミン代謝産物排泄に着目した。さらに、ヒト研究における尿中モノアミン代謝産物排泄の個人差の大きさに対して、正準判別分析によって差ではなくアンバランスによる分類を試みた。

本研究の目的および構成は Figure 28.の通りである。



**Figure 28. The purpose and constitution of these studies.**

第1研究の成果として、脳内 5-HT 神経系破壊毒である 5,7-Dihydroxytryptamine (5,7-DHT)を用いて脳内の 5-HT 神経系を特異的に破壊したときの、脳内 5-HT 含量と尿中 5-HIAA 排泄量の関係を比較することで、5-HT 神経系の脳-尿相関を明らかにした。これまで、NA と DA については脳-尿相関が明らかにされていたため(George et al., 1993; Mori et al., 2003; David, 1985)、本研究によって NA、DA、5-HT の3種のモノアミンにおいて脳-尿相関が確認されたこととなった。一方で、本研究では薬理的操作によって神経破壊を行ったが、次は自然発生的に脳内モノアミンでも病態を示すモデル動物において、同様の脳-尿相関を示すかどうかの検討が必要である。

第2研究の成果として、ADHD モデル動物である NAR とその野生型である SDrat の尿中モノアミン代謝産物排泄を比較することで、自然発症型の動物モデルにおいてモノアミンの脳-尿相関を明らかにした。この成果は尿中モノアミン代謝産物排泄を測定する

ことで非侵襲的に脳内モノアミン神経系活動を推定できることを示唆することで、ヒト研究への応用へと導くものである。

第3研究の成果は、ADHDとASDの代表的な行動特徴の1つである多動性・衝動性の生化学的指標として、尿中モノアミン代謝産物が有用であることが示唆された点である。具体的には多動・衝動傾向はDA神経系の亢進と、NA神経系の抑制と関連していることが示唆された。このように、多動性・衝動性は単一のモノアミンによってではなく、3種のモノアミンのアンバランスによって引き起こされているという考察は、これまでに見られなかったものである。次に、不注意傾向、多動・衝動傾向、ASD傾向とモノアミンとの関連を網羅的に検討する必要がある。

第4研究の成果として、ADHDとASDに見られる不注意、多動性・衝動性、ASD傾向といった3つの行動特徴のメカニズムが、尿中モノアミン代謝産物バランスによって推定できることを明らかにした。更にADHDは行動指標のみならず、尿中モノアミン代謝産物測定からも不注意優勢タイプと多動性・衝動性優勢タイプの2群に明確に区別されることも明らかにした。また、これら3種の優位型はコントロール群とも明確に区別されることも明らかとなった。具体的には、不注意傾向はNA神経系の亢進とDA神経系の抑制が、多動・衝動性傾向はDA神経系の亢進とNA神経系の抑制が生じており、ASD傾向はNA神経系の亢進と5-HT神経系の抑制が生じていることが明らかとなった。更にコントロール群は3種のモノアミンがバランスを保っていることも明らかとなり、著者はADHD及びASDにおけるモノアミン・インバランス仮説を提唱するに至った。

次に、各行動優位型に特有のモノアミンアンバランスが明らかになったことと、コントロール群のモノアミンバランスが均衡状態であることが明らかになったことから、課題は以下の通りとなる。即ち、介入によってモノアミン神経系の可塑的変化を誘導し得るのかどうか、また、そのことで認知機能及び生活場面に改善が生じるのかどうかについての検討を行う必要がある。

第5研究の成果として、リズム・運動介入によって、ASD 児の認知機能を改善すること、そして神経可塑性を誘導し得ることを明らかにした。一方で、AQ-10 を用いた生活場面の評価において変化は見られなかった。リズム運動(呼吸、散歩等)によって 5-HT 神経系は活性化することが報告されているが(有田, 2006; Fumoto, 2010)、本研究においてもリズム・運動介入を行わずにリズム介入を行った B 群においては、5-HT 神経系の過剰亢進が生じた。これは 5-HT の過剰亢進によって NA 神経系の抑制が強くなり働き過ぎたために、NA 神経系からの 5-HT 抑制機構(Stephen, 2008)が機能しなくなったためと考えられる。一方で、リズム介入と併用して運動介入を行った場合、運動刺激によって NA 神経系が活性化することで、NA 投射の促進によるシナプス後  $\alpha_2$  受容体への結合によって、NA のネガティブフィードバックが生じ、5-HT 放出を抑制する。また、運動刺激による DA 神経系の活性化に対しては 5-HT 神経系からの抑制機構が働く。即ち、リズムトレーニングによって活性化した 5-HT 投射は腹側被蓋野を起始部とする中脳辺縁系 DA 経路における DA 神経の自発発射に対して、5-HT<sub>2c</sub> 受容体を介して抑制的に作用する。リズム介入によって 5-HT 神経系が亢進し、運動介入によって NA 及び DA 神経系が亢進す

る。同時に 5-HT は NA と DA の双方に対して抑制作用を有しているが、NA が 5-HT を抑制している。このように、リズム・運動介入によって NA、DA、5-HT 神経系をそれぞれ活性化させると同時に、それぞれの抑制機構を正常化することで、NA、DA、5-HT 神経系活動がそれぞれ均衡状態へと変化していったと考えられる。認知機能の評価は、Stroop Test の成績において特に有意な向上が見られたが、これはわずか 10 分間の軽運動でも実行機能が改善するとした Byun ら(2014)の報告とも一致する結果となった。DA は実行機能を司る前頭前野の神経活動を亢進させるが、NA も実行機能に関係する前帯状や眼窩前頭皮質を活性化することが示されている(Aston-Jones and Cohen, 2005)。これらことから、運動によって DA 及び NA の投射が促進され、前頭前野及び前帯状や眼窩前頭皮質が活性化することで実行機能が改善したと考えられる。ASD 特性の評価については変化がないという結果であった。この点については、周囲が変化、成長する中で状態が悪化しなかったと考えれば、ポジティブな結果と言える。また、運動介入を行わなかった B 群の評価も変わらなかったことから、5-HT 神経系の過剰亢進による ASD 特性に対する負の影響は認められなかったことになる。このように、認知機能及びモノアミン神経系の可塑的変化が生じながら ASD 特性の劇的改善は生じなかった。ASD における対人的コミュニケーションと相互作用の障害及び限局された反復する行動や興味に対する介入には、主に Social Skill Training (SST)が行われるが、本研究で開発したリズム・運動介入により生じた神経の可塑的変化と実行機能の向上は、ASD 特性に対する SST や学習指導をより効率的にし得ると考えられる。この点については今後検討していく必要

がある。

本研究の特色としては、大きく 3 点挙げられる。1 点目は尿中モノアミン代謝産物排泄について ADHD の各サブタイプ、ASD、コントロール群を並列で比較した点である。従来の研究はいずれも「ADHD v.s. Control」、「ASD v.s. Control」といった群設定であったが、本研究では ADHD と ASD を、ADHD-RS-IV と AQ-10 を用いて不注意傾向優位群、多動・衝動傾向優位群、ASD 傾向優位群に分類し、それらとコントロール群を網羅的に比較検討することで、各行動特徴とモノアミンとの関連を明確にした。

2 点目は単一のモノアミン代謝産物排泄を比較するのではなく、3 種のモノアミン代謝産物排泄のアンバランスに着目した点である。従来の研究はコントロール群と比較して、どの物質が高い／低いのかを検討することがほとんどであったが、本研究では正準判別分析を用いることで、不注意傾向、多動・衝動傾向、ASD 傾向といった行動特徴に、特異的なモノアミン神経系活動のアンバランスがあることを明らかにした。

3 点目は、介入効果を認知機能的側面とモノアミン神経系の両側面から評価した点である。従来から、介入効果を認知評価またはモノアミン及び他の生理的或いは生化学的指標から評価した研究は行われてきた。しかし本研究のように認知機能評価とモノアミンを関連付けたものは皆無である。これら 3 点のアイデアに基づく研究及び成果はこれまでに見当たらず、本研究の独自性はこのような臨床神経心理学的視点によるものであるという点に集約される。そして、本研究の成果は神経発達障害のある児童の病態解明に寄与するだけでなく、早期診断・早期介入といった心理・教育臨床の場への応用が期

待できる。さらに、本研究は臨床神経心理学的知見及び手法によって新しい分野を切り拓き、「障害」という社会問題に多大に貢献することができる。

## 第5章 今後の検討課題

神経発達障害は、米国においては3歳から17歳の子どもの約17%程度存在することが示されており(Boyle, Boulet, Schieve, et al., 2011)、また我が国においても通常の学級に在籍している児童の約6.5パーセント程度の割合で存在する可能性が示されている(文部科学省, 2012)。そして、学習、社会的スキル、実行機能等が特異的に障害されることで、様々な社会的不適応を示していることから、早期診断、早期支援の重要性は明白である。しかしながら、神経発達障害は脳の機能障害が推定されているものの、病態メカニズムは未だに明らかになっていない。

本研究成果により、尿中モノアミン代謝産物の微量分析という非侵襲的手法により、ADHD 及び ASD に見られる代表的な行動特徴である不注意傾向、多動・衝動傾向、ASD 傾向と尿中モノアミン代謝産物との強い相関が明らかとなった。また、リズム・運動介入によって脳内モノアミン神経系活動にかかわる神経回路のバランスを調整することができることや、認知機能の向上が見られることを明らかにした。それでもなお、多くの課題が存在する。

第一に、本研究の課題としてはサンプルサイズを大きくし、信頼性を高めることが挙げられる。モデル動物を用いた研究と異なり、生活環境の違いに代表される条件統制が困難な日常場面におけるヒト研究では、個体差は必然的に大きくなる。そのため、臨床応用に向けてはより大規模なサンプルサイズの確保が求められる。また、信頼性の保証をより確かなものとするためにも縦断的なデータ収集も必要である。

第二に、ASD 特性を劇的に改善する介入法の開発が挙げられる。介入の頻度と期間を固定した上で、リズムと運動のバランスやトレーニング強度について検討を重ねていくことが重要である。

神経発達障害は、我々にとって身近でありながら多様な社会的不適応を示している。

「障害」という社会問題に対して、神経発達障害の病態メカニズム及びその症状の改善方法の解明は、基礎的研究と臨床研究を同時的且つ双方向的に行うことでなし得ることができる。

## 第 6 章 引用文献

- Adamsen, D., Meili, D., Blau, N., Thöny, B., & Ramaekers, V. (2011). Autism associated with low 5-hydroxyindoleacetic acid in CSF and the heterozygous SLC6A4 gene Gly56Ala plus 5-HTTLPR L/L promoter variants. *Molecular Genetics and Metabolism*, **102**, 368–373.
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Fifth Edition: DSM -5*. Washington, D. C: American Psychiatric Association.
- Anstey, M. L., Rogers, S. M., Ott, S. R., Burrows, M., & Simpson, S. J. (2009). Serotonin mediates behavioral gregarization underlying swarm formation in desert locusts. *Science*, **323**, 627–630.
- 有田秀穂. (2006). 脳内物質のシステム神経生理学：精神精気のニューロサイエンス，中外医学社.
- (Arita, H. (2006). The system neurophysiology of the material in the brain: Neuroscience of the mind energy, Chugai-Igakusha.)
- Aston-Jones, G., & Cohen, J. D. (2005). An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annual review of neuroscience*, **28**, 403–450.
- Auyeung, B., Baron-Cohen, S., Wheelwright, S., & Allison, C. (2008). The Autism Spectrum Quotient: Children's Version (AQ-Child). *Journal of Autism and Developmental Disorders*, **38**, 1230–1240.

- Baker, G. B., Bornstein, R. A., Douglass, A. B., Van Muyden, J. C., Ashton, S., & Bazylewich, T. L. (1993). Urinary excretion of MHPG and normetanephrine in attention deficit hyperactivity disorder. *Molecular and Chemical Neuropathology*, **18**, 173–176.
- Bohnen, N. I., Bogan, C. W., & Müller, M. L. (2009). Frontal and periventricular brain white matter lesions and cortical deafferentation of cholinergic and other neuromodulatory axonal projections. *European neurological journal*, **1**, 33-50.
- Bahrami, F., Movahedi, A., Marandi, S. M., Abedi, A. (2012). Kata techniques training consistently decreases stereotypy in children with autism spectrum disorder. *Research in developmental disabilities*, **33**, 1183–1193.
- Baron-Cohen, S., Wheelwright, S., Skinner, R., Martin, J., & Clubley, E. (2001). The autism-spectrum quotient (AQ): evidence from Asperger syndrome/high-functioning autism, males and females, scientists and mathematicians. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, **31**, 5–17.
- Baron-Cohen, S., Hoekstra, R. A., Knickmeyer, R., & Wheelwright, S. (2006). The Autism-Spectrum Quotient (AQ)—adolescent version. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, **36**, 343–350.
- Booth, T., Murray, A. L., McKenzie, K., Kuenssberg, R., O'Donnell, M., & Burnett, H. (2013). Brief report: an evaluation of the AQ-10 as a brief screening instrument for ASD in adults. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, **43**, 2997–3000.

- Boyle, C.A., Boulet, S., Schieve, L., Cohen, R.A., Blumberg, S.J., Yeargin-Allsopp, M., Visser, S., Kogan, M.D. (2011). Trends in the Prevalence of Developmental Disabilities in US Children, 1997–2008. *Pediatrics*, **127**, 1034-1042.
- Brown, T. E. (2005). *Attention Deficit Disorder: The Unfocused Mind in Children and Adults*. Yale University Press, London.
- Byun, K., Hyodo, K., Suwabe, K., Ochi, G., Sakairi, Y., Kato, M., Dan, I., & Soya, H. (2014). Positive effect of acute mild exercise on executive function via arousal-related prefrontal activations: an fNIRS study. *NeuroImage*, **98**, 336-345.
- Carlezon, W. A. Jr., & Thomas, M. J. (2009). Biological substrates of reward and aversion: a nucleus accumbens activity hypothesis. *Neuropharmacology*, **56**, 122-132.
- Castellanos, F. X., Elia J., Kruesi, M. J. P., Marsh, W. L., Gulotta, C. S.,...Rapoport, J. L. (1996). Cerebrospinal homovanillic acid predicts behavioral response to stimulants in 45 boys with attention-deficit hyperactivity disorder. *Neuropsychopharmacology*, **14**, 125–137.
- Cross, A. J., Crow, T. J., Perry, E. K., Perry, R. H., Blessed, G., Tomlinson, B. E. (1981). Reduced dopamine-beta-hydroxylase activity in Alzheimer's disease. *British medical journal. (Clinical research ed.)* **282**, 93-94.
- Dauer, W., & Przedborski, S. (2003). Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*, **39**, 889-909.
- David, J. E., Joshua, R., Steven, K., & M. L. Sedlock. (1985). Effects of intraventricular injections

- of 6-hydroxydopamine on amine metabolites in rat brain and urine. *Journal of biochemical and pharmacological research*, **34**, 1255-1263.
- DuPaul, G. J., Power, T. J., Anastopoulos, A. D., & Reid, R. (1998). *ADHD Rating Scale-IV: Checklists, Norms, and Clinical Interpretation*. The Guilford Press, New York.
- Fumoto M., Oshima T., Kamiya K., Kikuchi H., Seki Y., Nakatani Y., Yu X., Sekiyama T., Sato-Suzuki I., & Arita H. (2010). Ventral prefrontal cortex and serotonergic system activation during pedaling exercise induces negative mood improvement and increased alpha band in EEG. *Behavioural Brain Research*, **213**, 1-9.
- George, J. S., Bernard, W. A., R, Wayne, A., Stephen, K. F., Michael, D. U. (1993) *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects Fifth Edition*. Raven Press, New York.
- Glowinski, J., & Iversen, L. L. (1966). Regional studies of catecholamines in the rat brain. I. The disposition of [3H] norepinephrine, [3H] dopamine and [3H] dopa in various regions of the brain. *Journal of neurochemistry*, **13**, 655-669.
- Goodman, R. (1997). The Strengths and Difficulties Questionnaire: A Research Note. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, **38**, 581-586. (Abstract)
- Gorina, A. S., Kolesnichenko, L. S., & Mikhnovich, V. I. (2011). Catecholamines and their metabolites in children with Asperger and Kanner syndromes. *Biomeditsinskaia khimiia*, **57**, 562–570.

- 袴田康佑, 山本隆宣 (2014a). 注意欠陥/多動性障害(AD/HD)動物モデルとしての無アルブミンラットに関する検討. *認知神経科学*, **16**, 67-76.
- (Hakamada, K., & Yamamoto, T. (2014a). The Nagase Analbuminemic Rats as an animal model of AD/HD. *Japanese Journal of Cognitive Neuroscience*, **16**, 67-76.)
- Hakamada, K., & Yamamoto, T. (2014b). About monoamine abnormality in the common brain between AD/HD animal models. *Japanese Journal of Cognitive Neuroscience*, **16**, 136.
- Happé, F., & Frith, U. (2006). The weak coherence account: detail-focused cognitive style in autism spectrum disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, **36**, 5-25.
- Hranilovic, D., Bujas-Petkovic, Z., Tomicic, M., et al. (2008): Hyperserotonemia in autism: activity of 5HT-associated platelet proteins. *Journal of Neural Transmission*, **116**, 493-501.
- Jacobs, B. L. (1987). Brain monoaminergic unit activity in behaving animals. *Progress in Psychobiology and Physiological Psychology*, **12**, 171-206.
- Kambeitz, J. P., & Howes, O. D. (2015). The serotonin transporter in depression: Meta-analysis of in vivo and post mortem findings and implications for understanding and treating depression. *Journal of affective disorders*, **186**, 358-366.
- Katafuchi, T., Kondo, T., Take, S., & Yoshimura, M. (2005). Enhanced expression of brain interferon-alpha and serotonin transporter in immunologically induced fatigue in rats. *European Journal of Neuroscience*, **22**, 2817-2826.
- Leisman, G., Melillo, R., Thum, S., Ransom, M. A., Orlando, M., Tice, C., & Carrick, F. R. (2010).

The effect of hemisphere specific remediation strategies on the academic performance outcome of children with ADD/ADHD. *International journal of adolescent medicine and health*, **22**, 275-283.

Life Science Databases (LSDB). (2009). Striatum. Anatomography 2017年2月20日

〈<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6c/Striatum.png>〉(2017年2月20日)

Mair, R. D., Zhang, Y., Bailey, K. R., Toupin, M. M., & Mair, R. G. (2005). Effects of clonidine in the locus coeruleus on prefrontal- and hippocampal-dependent measures of attention and memory in the rat. *Psychopharmacology*, **181**, 280-288.

McGaugh, J. L., & Roozendaal, B. (2009). Drug enhancement of memory consolidation: historical perspective and neurobiological implications. *Psychopharmacology*, **202**, 3-14.

Mohammad-Zadeh, L. F., Moses, L., & Gwaltney-Brant, S. M. (2008). Serotonin: a review. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, **31**, 187-199.

文部科学省 (2012). 通常の学級に在籍する発達障害の可能性のある特別な教育的支援を必要とする児童生徒に関する調査結果について通常の学級に在籍する発達障害の可能性のある特別な教育的支援を必要とする児童生徒に関する調査結果について. 文部科学省.

[http://www.mext.go.jp/a\\_menu/shotou/tokubetu/material/\\_\\_icsFiles/afieldfile/2012/12/10/1328729\\_01.pdf](http://www.mext.go.jp/a_menu/shotou/tokubetu/material/__icsFiles/afieldfile/2012/12/10/1328729_01.pdf), 2016年11月13日.

Montoya, A., Bruins, R., Katzman, M. A., & Blier, P. (2016). The noradrenergic paradox:

implications in the management of depression and anxiety. *Neuropsychiatric disease and treatment*, **12**, 541-557.

Mori, S., Takanaga, H., Ohtsuki, S., Deguchi, T., Kang, Y. S., Hosoya, K., Terasaki, T. (2003).

Rat organic anion Transporter 3 (rOAT3) is responsible for brain-to-blood efflux of homovanillic acid at the abluminal membrane of brain capillary endothelial cells. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*, **23**, 432-440.

盛永政和 (2011). 同時処理優位で、集中力がなく、イライラしやすい小2男児への情報の入力強化トレーニング. *K-ABC アセスメント研究*, **13**, 59-67.

(Morinaga, M. (2012). The training to improve the intake of information for second grade elementary student who has simultaneous processing advantage, is lacking in concentration, and is prone to irritation. *Journal of K-ABC assessment*, **14**, 51-59.)

盛永政和・岡本久実 (2012). 衝動性の高い広汎性発達障害幼児への注意・集中力向上訓練. *K-ABC アセスメント研究*, **14**, 51-59.

(Morinaga, M., Okamoto, K. (2012). Attention and concentration improvement training to a child with pervasive developmental disorder. *Journal of K-ABC assessment*, **14**, 51-59.)

盛永政和 (2013). 児童の注意機能の促進を目的とした取り組みーLuria 理論における機能的単位と注意機能の観点からー. 帝塚山大学大学院 2012 年度修士論文.

Morinaga, M., Masatoshi, Y., & Yamamoto, T. (2016). Imbalance hypothesis of monoamine nervous system activity: The relationship between behavioral characteristics and urinary

excretion of monoamine neurotransmitters in children with neurodevelopmental disorders.

*The 31st International Congress of Psychology, (Suppl. 1), PS27A-08-96.*

Muller, C. L., Anacker, A. M., & Veenstra-VanderWeele, J. (2016). The serotonin system in autism spectrum disorder: From biomarker to animal models. *Neuroscience*, **321**, 24–41.

大槻純男, 堀里子, 寺崎哲也. (2003). 血液脳関門の薬物透過と排出の分子機構—中枢支援防御システム—. *日本薬理学雑誌*, **122**, 55-64.

(Ohtsuki, S., Hori, S., & Terasaki, T. (2003). Molecular mechanisms of drug influx and efflux transport at the blood-brain barrier. *Journal of Pharmacological Sciences*, **122**, 55–64.)

日本精神神経学会 精神科病名検討連絡会 (2014). DSM-5 病名・用語翻訳ガイドライン (初版). *精神神経学雑誌*, **116**, 429-457.

Paxinos, G. & Watson, C. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd edition*, Academic Press, Australia.

Petrus, C., Adamson, S. R., Block, L., Einarson, S. J., Sharifnejad, M., & Harris, S. R. (2008). Effects of exercise interventions on stereotypic behaviours in children with autism spectrum disorder. *Physiotherapy Canada*, **60**, 134–145.

Pliszka, S. R. (2003). *Neuroscience for the Mental Health Clinician*. The Guilford Press. New York. 143-164.

Reynolds, C. R., Goldstein, S. (1999). *Handbook of neurodevelopmental and genetic disorders in children*.

- Rubia, K., Overmeyer, S., Taylor, E., Brammer, M., Williams, S. C. R., Simmons, A., & Bullmore, E. T. (1999). Hypofrontality in attention deficit hyperactivity disorder during higher-order motor control: A study with functional MRI. *American Journal of Psychiatry*, **156**, 891–896.
- Ryden, E., Johansson, C., Blennow, K., & Landen, M. (2009). Lower CSF HVA and 5-HIAA in bipolar disorder type 1 with a history of childhood ADHD. *Journal of Neural Transmission*, **116**, 1667–1674.
- Solant, M. V. (1984). Neuropharmacological basis of stimulant drug action in attention deficit disorder with hyperactivity: A review and synthesis. *Psychological Bulletin*, **95**, 387–409.
- S. Ozonoff, B. F. Pennington., & S. J. Rogers. (2006). Executive function deficits in high-functioning autistic individuals: relationship to theory of mind". *Journal of child psychology and psychiatry*, **32**, 1081-1105.
- Stephen, M. S., (2008). "*Stahl's Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications*", *Third Edition*. Cambridge University Press, UK.
- Stroop, J.R. (1935). Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology*, **28**, 643-662.
- Tan, B. W., Pooley, J. A., & Speelman, C. P. (2016). A Meta-Analytic Review of the Efficacy of Physical Exercise Interventions on Cognition in Individuals with Autism Spectrum Disorder and ADHD. *Journal of autism and developmental disorders*, **46**, 3126-3143.
- The Japan Neuroscience Society. (2009). *the guidelines on the ethics of "noninvasive study of*

*human brain function.*” The Japan Neuroscience Society.

T.W. Robbins. (2005). Role of cortical and striatal dopamine in cognitive function. *Handbook of Chemical Neuroanatomy*, **21**, 395–434.

上嶋恵 (2008). 教室でできる特別支援教育 1 分間集中トレーニング. 学陽書房.

(Ueshima, M. (2008). *Special support education to be possible in a classroom - 1 minute concentration training*. Gakuyo Shobo.

若林明雄, 東條吉邦, Baron-Cohen, S., Wheelwright, S. (2004). 自閉症スペクトラム指数 (AQ) 日本語版の標準化高機能臨床群と健常成人による検討. 心理学研究, **75**, 78-84.

(Wakabayashi, A., Tojo, Y., Baron-Cohen, S., Wheelwright, S. (2004). The Autism-Spectrum Quotient (AQ) Japanese version: Evidence from high-functioning clinical group and normal adults. *The Japanese Journal of Psychology*, **75**, 78-84.

山本 隆宣. (1990). 線条体セロトニン損傷ラットのローリング運動出現. 帝塚山大学教養学部紀要, **27**, 9-16.

Yamamoto, T., Castel, L. M., Botella, J., Powerll, H., Hall, M., Young, A., & Newsholme, E. A. (1997). Changes in the Albumin binding of tryptophan during post-operative recovery: A possible link with central fatigue? *Brain Research bulletin*, **43**, 43–46.

Yamamoto, T. (2005). ESSENTIAL NEUROSCIENCE AND MEDICAL PHYSIOLOGY: An

Illustrated Guide, Sugiyama Publishing Co.

山本 隆宣 (2010). 情報と認知-生命と脳神経系の科学-. 杉山書店.

(Yamamoto, T. (2010). *Cognitive systems and Biosignalling*. Sugiyama Publishing Co.)

Yamamoto, T., Morinaga, M., & Yamashita, M. (2015). Balance hypothesis of behavioral characteristics and urinary monoamines metabolites in neurodevelopmental disorders. *Journal of Neurochemistry (Suppl. 1)*, **134**, 147–147.

youthinmind. (2009). Information for researchers and professionals about the Strengths & Difficulties Questionnaires. Youthinmind.

<http://www.sdqinfo.com/>, 2016 年 11 月 13 日.

Zametkin, A. J., Nordahl, T. E., Gross, M., King, A. C., Semple, W. E., Rumsey, J., Cohen, R. M. (1990). Cerebral glucose metabolism in adults with hyperactivity of childhood onset. *New England Journal of Medicine*, **323**, 1361–1366.

## 謝辞

本博士学位論文の執筆にあたり、帝塚山学園を始めとした多くの方々のお力添えを頂きました。山本隆宣先生とは修士課程2年生のときに運命的な出会いを致しました。修士課程修了以降の4年間に渡り、神経科学に関する基礎知識、生化学研究の基礎となる分析方法や、研究者として常に海外の動向を意識することの大切さを丁寧に、且つほとばしる情熱をもって時に厳しく、時に温かくご指導賜りましたことを深謝申し上げます。

本論文の副査である玉瀬耕司先生には、心理学及び教育学的視点から論文の構成、特に介入に関する記述について貴重なご指導を賜りましたことを深く感謝申し上げます。

同じく副査の徳島大学の福井裕行先生には主に医学及び薬理学的な視点から、生化学データに関する考察について貴重なご指導を賜りましたことを深く感謝申し上げます。

また、本博士研究の土台となった修士研究においてご指導頂いた大久保純一郎先生には、データを粘り強く吟味することの大切さをご指導賜りましたことを深謝申し上げます。水野邦夫先生には統計分析についてご助言頂きましたことを深謝申し上げます。

山本研究室の同志の皆様、山下雅俊氏、畦地裕統氏、袴田康佑氏、栗原郁恵氏、ゼミ生の皆さまにも感謝致します。また、本研究で用いました実験動物にも深謝致します。

最後に、本研究に際し、尿サンプルを提供して下さったお子様方、またそれをご承認下さった保護者の方々にも深く感謝申し上げます。

2016年2月20日

盛永 政和

# 付録

P4-16

## 「子どもの強さと困難さアンケート」 (Strengths and Difficulties Questionnaire: SDQ)

以下のそれぞれの質問項目について、あてはまらない、まああてはまる、あてはまる、のいずれかのボックスにチェックをつけてください(例:☑)。答えに自信がなくても、あるいは、その質問がばからしいと思えたとしても、全部の質問に答えてください。あなたのお子さんのここ半年くらいの行動について答えてください。

お子さんのお名前: ..... 性別: 男子/女子

お子さんのお誕生日: .....年.....月.....日

	あてはまらない	まああてはまる	あてはまる
他人の気持ちをよく気づかう	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
おちつきがなく、長い間じっとしていられない	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
頭がいたい、お腹がいたい、気持ちが悪いなどと、よくうたえる	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
他の子どもたちと、よく分け合う(おやつ・おもちゃ・鉛筆など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
カッとなったり、かんしゃくをおこしたりする事がよくある	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
一人でいるのが好きで、一人で遊ぶことが多い	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
素直で、だいたい大人のことをよくきく	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
心配ごとが多く、いつも不安なようだ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
誰かが心を痛めていたり、落ち込んでいたり、嫌な思いをしているときなど、すすんで助ける	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
いつもそわそわしたり、もじもじしている	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
仲の良い友だちが少なくとも一人はいる	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
よく他の子とけんかをしたり、いじめたりする	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
おちこんでしずんでいたり、涙ぐんでいたりすることがよくある	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
他の子どもたちから、だいたい好かれているようだ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
すぐに気が散りやすく、注意を集中できない	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
目新しい場面に直面すると不安ですがりついたり、すぐに自信をなくす	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
年下の子どもたちに対してやさしい	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
よくうそをついたり、ごまかしたりする	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
他の子から、いじめの対象にされたり、からかわれたりする	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
自分からすすんでよく他人を手伝う(親・先生・子どもたちなど)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
よく考えてから行動する	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
家や学校、その他から物を盗んだりする	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
他の子どもたちより、大人という方がうまくいこうだ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
こわがりで、すぐにおびえたりする	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ものごとを最後までやりとげ、集中力もある	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

署名: ..... 日付: .....年.....月.....日

ご回答くださったのはどなたですか(○をつけてください):

親/保育士・教師/その他(具体的に: )

ご協力ありがとうございました。

© Robert Goodman, 2006

被験者名	評価者	評価日	月	日
------	-----	-----	---	---

**ADHD RS-IV 日本語版**

	ない、もしくは、 ほとんどない	ときどき ある	しばしば ある	非常に しばしばある
1. 学校の勉強で、細かいところまで注意を払わなかったり、不注意な間違いをしたりする。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
2. 手足をそわそわ動かしたり、着席していてもじもじしたりする。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
3. 課題や遊びの活動で注意を集中し続けることが難しい。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
4. 授業中や座っているべきときに席を離れてしまう。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
5. 面と向かって話しかけられているのに、聞いていないようにみえる。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
6. きちんとしていなければならないときに、過度に走り回ったりよじ登ったりする。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
7. 指示に従わず、またやるべき仕事を最後までやり遂げない。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
8. 遊びや余暇活動におとなしく参加することが難しい。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
9. 課題や活動を順序だてて行うことが難しい。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
10. じっとしていない、または何かに駆り立てられるように活動する。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
11. 精神的な努力を続けなければならない課題(学校での勉強や宿題など)を避ける。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
12. 過度にしゃべる。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
13. 課題や活動に必要なものをなくしてしまう。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
14. 質問が終わらないうちに出し抜けに答えてしまう。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
15. 気が散りやすい。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
16. 順番を待つのが難しい。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
17. 日々の活動で忘れっぽい。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3
18. 他の人がしていることをささげったり、邪魔したりする。	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3

Copyright 1998, DuPaul, Power, Anastopoulos and Reid. The Guilford Press, A division of Guilford Publications, Inc. 72 Spring Street, New York, NY 10012. All rights Reserved.

ADHD RS-IV 日本語版ガイド/ブロープ(参考)

	0 ない、もしくは ほとんどない	1 ときどきある	2 しばしばある	3 非常にしばしばある
行動の頻度	ほとんど見られない または報告されない	・日によっては ・ときどき ・ときどき監督が必要	・ほとんどの日 ・ほとんどの時間 ・時々“良い”日がある ・ときどき監督が必要でないときがある	・毎日 ・ほとんどいつも またはいつも ・常に監督が必要
障害の程度	障害なし	・弱～中程度の障害 ・他の子供より多いいくつかの状況で ・保護者は“重み”に耐えられる ・家族の QOL には最小限の影響	・全ての状況で中程度の障害 ・保護者にとって重大である ・家族の QOL が損なわれる ・家族介入はある程度の効果あり	・全ての状況で重い障害 ・保護者、家族にとって重大である ・家族の QOL が大きく損なわれる ・家族介入は効果なし
同年齢の子どもの比較	変わらない	・いくらか違う ・質問はされるが、積極的な回避はほとんどされない	・目だてて違う ・同輩/大人からいくらか避けられる	・非常に違う ・子どもおよび/または大人(親類)から好んで避けられる

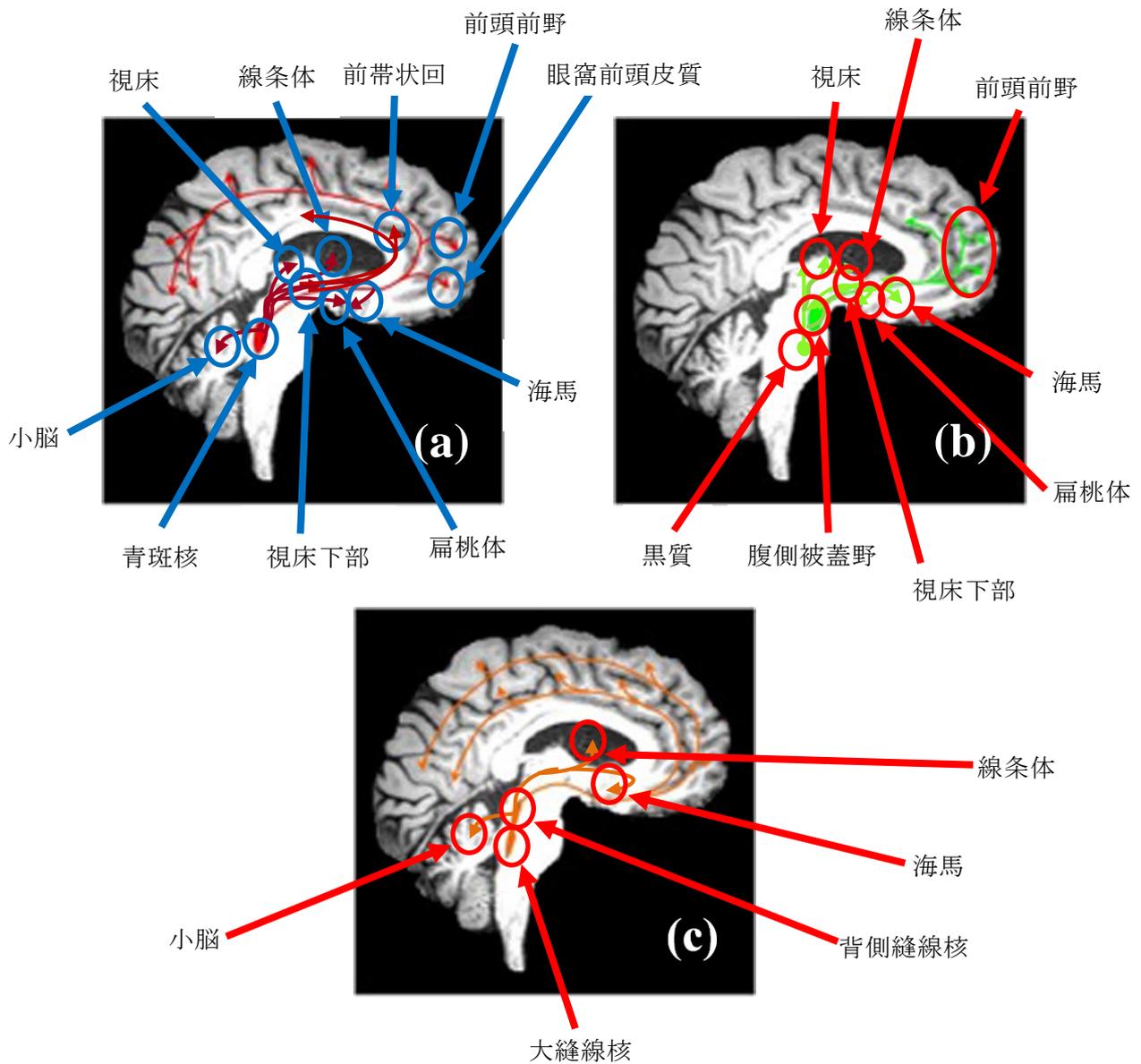
Supplement 2. ADHD Rating Scale-IV: ADHD-RS-IV

## The Child Autism Spectrum Quotient (AQ-10)

### Ages 4-11 : Scoring Key

1. 他の人が気がつかないような小さい物音に気が付くことがしばしばある。
2. ものごとの細かいところよりも全体像に注意が向くことが多い。
3. 親しい人が何人かいる場面などで、いろいろな（複数の）人との会話を簡単に続けることができる。
4. 同時に2つ以上のことをするのは、簡単である。
5. 会話をどのようにつづけたらいいのか、わからなくなってしまうことがよくある。
6. ヒトと雑談やちょっとしたおしゃべりをするのが得意だ。
7. 物語を読んだり、お話を聞いているとき、登場人物の意図や考えなどをよく理解できないことがある。
8. 幼稚園（保育園）のとき、友達と一緒に‘〇〇ごっこ’（ごっこ遊び）をよくして遊んでいた。
9. 相手の顔を見るだけで、その人が考えていることや感じていることがわかる。
10. 新しい友人を作ることは、むずかしい（苦手である）。

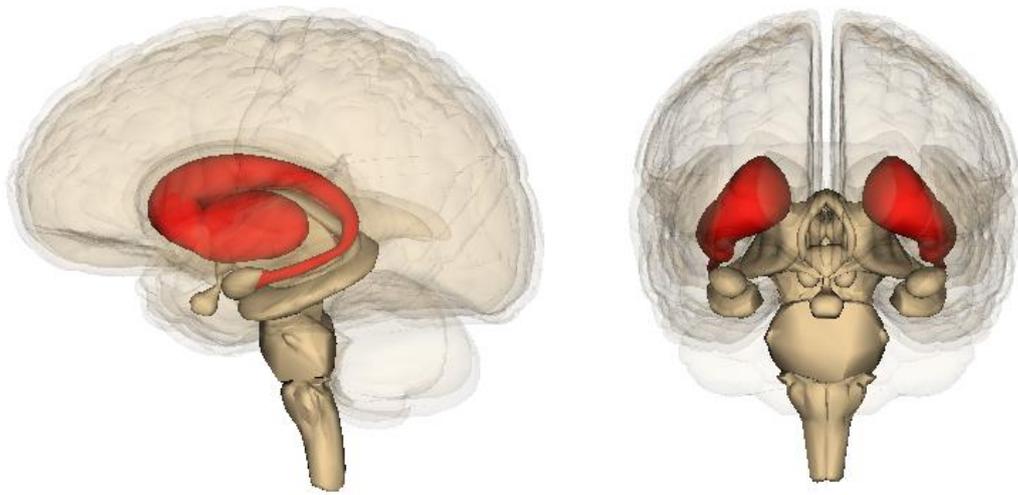
### Supplement 3. Autism Spectrum Quotient-10: AQ-10



**Supplement 4. Major monoamine projections**

**Notes:** 本図は Bohnen, Bogan & Müller., European neurological journal. 2009; 1: 33-50.

(Figure 6)の論文から引用・一部改変し、NA (a), DA (b), 5-HT (c)における代表的な投射先を示している。



### Supplement 5. Striatum

**Notes:** BodyParts3D, © The Database Center for Life Science licensed under CC Attribution  
-Share Alike 2.1 Japan.

上図は線条体の位置を示している。上図に示される通り、線条体は脳室を覆うように位置している。Figure 1- a, b, c において、線条体への投射が脳室内を繊維走行しているように見えるのはそのためである。実際には、脳室手前にある線条体に向けて投射している。