

2019.3

特集号



(題字：櫻井克年学長)

国立大学法人 高知大学学報

高知大学学位授与記録第九十八号

総務課広報係発行

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、高知大学学位規則第14条に基づきその論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

 *
 *
 *
 *
 *

高知大学学報

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

目 次

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
乙総医博第46号	寺石 美香	Critical involvement of ZEB2 in collagen fibrillogenesis: the molecular similarity between Mowat-Wilson syndrome and Ehlers-Danlos syndrome (コラーゲン原線維形成におけるZEB2の関与：Mowat-Wilson症候群とEhlers-Danlos症候群との分子的類似性)	1
乙総医博第47号	片岡 佐誉	Distinct kinetics of two pathologies induced in mice by topical treatment with imiquimod cream : Psoriasis-like inflammation and systemic autoimmunity. (マウスにおけるイミキモドクリーム of 局所塗布によって誘導される2つの異なる病態のカイネティクス：乾癬様炎症と全身性自己免疫)	19
乙総医博第48号	惣田 聡子	Musical disability in children with autism spectrum disorder (自閉症スペクトラム障害児の音楽の能力)	11

氏名(本籍)	寺石 美香 (高知県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第46号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成30年12月18日
学位論文題目	Critical involvement of ZEB2 in collagen fibrillogenesis: the molecular similarity between Mowat-Wilson syndrome and Ehlers-Danlos syndrome (コラーゲン原線維形成におけるZEB2の関与: Mowat-Wilson症候群とEhlers-Danlos症候群との分子的類似性)
発表誌名	Scientific Reports, 7: 46565. 2017年4月19日
	審査委員 主査 教授 藤枝 幹也 副査 教授 仲 哲治 副査 教授 村上 一郎




論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

	氏名	寺石 美香
論文題目	<p>Critical involvement of ZEB2 in collagen fibrillogenesis: the molecular similarity between Mowat-Wilson syndrome and Ehlers-Danlos syndrome.</p> <p>(コラーゲン原線維形成におけるZEB2の関与： Mowat-Wilson症候群と Ehlers-Danlos症候群との分子的類似性)</p>	
<p>(論文要旨)</p> <p>Mowat-Wilson症候群 (MOWS) は、<i>ZEB2</i>遺伝子の片側アレルに機能喪失型変異や欠失を生じて発症する先天性疾患である。<i>ZEB2</i>は細胞の遊走に関連する転写因子であり、このタンパク質の変異は神経や骨格などの発生に異常をきたす。MOWS患者は重度知的障害、特徴的顔貌、小頭症を3主徴に、先天性心疾患やHirschsprung病、泌尿生殖器異常、てんかんなど、多様な障害を有するが、皮膚症状に関してこれまで詳細な報告は無い。我々は日本国内における複数の施設でMOWS患者を診察する中で、皮膚過伸展、関節過屈曲、皮膚萎縮性癬痕など、遺伝性結合組織疾患であるEhlers-Danlos症候群 (EDS) 患者に類似した症状を見出した。超音波検査では真皮の菲薄化があり、採取した皮膚組織を電子顕微鏡で観察すると、コラーゲン線維束の径の小型化、形状の不整化といった、EDS患者にみられる変化と類似した異常を確認した。</p> <p>これらの変化が<i>ZEB2</i>の変異に由来しているかを確認するため、中胚葉特異的に<i>ZEB2</i>遺伝子を欠損させたマウス (<i>Zeb2</i>-cKOマウス) を作製したところ、それらの皮膚でMOWS患者同様、過伸展、菲薄化などが再現されただけでなく、電子顕微鏡でもコラーゲン線維束の変化を認めた。<i>ZEB2</i>がコラーゲン合成を介して真皮の構造の維持に関与していると考え、<i>Zeb2</i>-cKOマウスから採取した線維芽細胞を用いて、コラーゲン合成に関与する種々の遺伝子発現について検討を行った。DNAマイクロアレイの結果では、結合組織疾患であるEDSやMarfan症候群の発症に関与するコラーゲン遺伝子、TIMPファミリー、Adamts2などの発現が<i>Zeb2</i>-cKOマウスで低下し、一方でコラーゲン分解酵素であるMMPファミリーの発現が増加していた。蛋白レベルにおいても、<i>Zeb2</i>-cKOマウスではI型コラーゲン量が減少しているのに対し、Mmp13は著明に増加していた。</p> <p>以上の結果より、定常状態で<i>Zeb2</i>-cKOマウスの線維芽細胞ではコラーゲンの合成経路が抑制され、分解経路が亢進していることが示された。そこで線維化刺激に対するコラーゲン合成能を検討するため、野生型マウスと<i>Zeb2</i>-cKOマウスでプレオマイシンによる線維化誘導を行った。結果、<i>Zeb2</i>-cKOマウスでは野生型マウスに比べ、線維化反応が著明に減弱しており、<i>ZEB2</i>が誘導系の線維化反応においても必要な因子であることが示唆された。</p> <p><i>ZEB2</i>は神経系の発達において様々な調節機能をもつことが知られているが、皮膚への影響について、これまでMOWS患者は肌の色素が薄く、雨滴様の色素脱失がみられるといった報告しかされていなかった。本研究は、MOWS患者に皮膚の菲薄、過進展性があり、皮膚萎縮性癬痕や関節の過可動を認め、電子顕微鏡でもコラーゲン線維の異常を呈しているなど、EDSと同様の変化を有することを初めて示した。更に、作製したモデルマウスにおいても同様の変化を見出したことは、<i>ZEB2</i>の変異や欠失が線維芽細胞の異常なコラーゲン生合成、分解を生じる原因となることを示唆する。本研究の成果は、強皮症や肺線維症、肝硬変、心筋線維症などの線維化疾患に対する、<i>ZEB2</i>を標的とした新規治療法に繋がる可能性を与えている。</p>		

論文審査の結果の要旨

	氏名	寺石 美香
審査委員	主査氏名	藤枝 幹也 
	副査氏名	仲 哲治 
	副査氏名	村上 一郎 

題 目 Critical involvement of ZEB2 in collagen fibrillogenesis: the molecular similarity between Mowat-Wilson syndrome and Ehlers-Danlos syndrome
 (コラーゲン原線維形成におけるZEB2の関与：Mowat-Wilson症候群とEhlers-Danlos症候群との分子的類似性)

著 者 Mika Teraishi, Mikiro Takaishi, Kimiko Nakajima, Mitsunori Ikeda, Yujiro Higashi, Shinji Shimoda, Yoshinobu Asada, Atsushi Hijikata, Osamu Ohara, Yoko Hiraki, Seiji Mizuno, Toshiyuki Fukada, Takahisa Furukawa, Nobuaki Wakamatsu, and Shigetoshi Sano

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
 Scientific Reports, 7: 46565.
 2017年4月19日

要 旨

Mowat-Wilson 症候群(MOWS)は、*ZEB2* 遺伝子の片側アレルに機能喪失型変異や欠失が原因で発症する先天性疾患であり、重度知的障害、特徴的顔貌、小頭症を 3 主徴に先天性心疾患、Hirschsprung 病、泌尿生殖器異常、てんかんなどを呈する。皮膚症状に関しては、詳細な報告がないが、著者らは、皮膚過伸展、間接過屈曲、皮膚萎縮瘢痕などが Ehlers-Danlos 症候群(EDS)様の症状に類似し、超音波検査や電子顕微鏡(電顕)による皮膚組織検索で、真皮菲薄化、コラーゲン線維束の径小型化、形状不整など EDS 類似の所見を呈することを、見出した。

そこで、頭骨や皮膚などの中胚葉特異的に *ZEB2* 遺伝子を欠損させたマウス(*ZEB2*-cKO マウス)を作成し種々検討をおこなった。その結果は以下である。

1. 皮膚症状は MOWS 患者同様の、皮膚菲薄化や皮膚過伸展が認められた。
2. 電顕でコラーゲン線維束の小型化が認められた。

3. このマウスの皮膚から採取した繊維芽細胞を DNA マイクロアレイで検討した。
- 1)細胞外基質の形成に関与するコラーゲン遺伝子で、EDS や Marfan 症候群の発症に関与するといわれる TIMP family (*Timp2* 遺伝子など)や *Adamts2* 遺伝子発現が、wild type に比して有意に減少していた。
 - 2)コラーゲン分解酵素である MMP family の *Mmp13* 遺伝子発現は、wild type に比して著明に増加していた。
4. 蛋白レベルでも I 型コラーゲン量は減少し、*Mmp13* は著明に増加していた。
- 以上から、このマウスでは、線維芽細胞によるコラーゲン合成路が抑制され、分解路が亢進していることが認められた。
- ついで、ブレオマイシン皮下投与による線維化誘導試験を行ったところ、このマウスでは wild type に比して、線維化反応が著明に減少しており、ZEB2 が線維化誘導系においても重要な因子であることが観察された。

以上、著者らは、MOS 患者の皮膚症状において皮膚の菲薄化、過伸展、萎縮瘢痕さらに関節可動を認め、電顕でコラーゲン線維異常など EDS 様の所見を呈することを報告した。さらに、*ZEB2*-cKO マウスにより ZEB2 変異や欠失が線維芽細胞の正常なコラーゲン生成の障害の一因になることも示した。MOWS における一連の皮膚症状については、これまで国内外で報告はなく、本研究は世界に先駆けたものであり、MOWS の病態解明のみならず、ZEB2 を標的とした新規治療法開発の道を開く極めて重要な研究と考えられる

氏名(本籍)	片岡 佐誉 (岡山県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第47号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成30年12月18日
学位論文題目	Distinct kinetics of two pathologies induced in mice by topical treatment with imiquimod cream : Psoriasis-like inflammation and systemic autoimmunity. (マウスにおけるイミキモドクリーム of 局所塗布によって誘導される2つの異なる病態のカイネティクス : 乾癬様炎症と全身性自己免疫)
発表誌名	Journal of Dermatological Science 91(2):225-228. 2018年 8月

審査委員	主査	教授	福島	敦樹
	副査	教授	山本	哲也
	副査	教授	寺田	典生

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨




学位論文要旨

論文題目	氏名 片岡 佐誉 Distinct kinetics of two pathologies induced in mice by topical treatment with imiquimod cream: Psoriasis-like inflammation and systemic autoimmunity. (マウスにおけるイミキモドクリーム of 局所塗布によって誘導される2つの異なる病態のカイネティクス：乾癬様炎症と全身性自己免疫)
(論文要旨) 要約 イミキモド (IMQ) クリームを用いたマウスの局所塗布は、ヒト乾癬に似た皮膚炎症の発生をもたらすことが広く認識されている。我々はこれまでに、野生型マウスにおいて IMQ およびレシキモド (RQM) を含む TLR7 アゴニストを用いた局所塗布によって、野生型マウスにおいてループス様全身性自己免疫を誘導することを報告している。このように、IMQ の外用は乾癬様皮膚炎症と全身性自己免疫という2つの異なる病態を誘発するが、これらのメカニズムが共通しているかどうかは不明である。この研究では、両方の疾患の発症の詳細な動態を調べた。乾癬様病変は、外用1週間でピークに達し、その後それらは減弱した。しかし、脾臓 T 細胞、B 細胞などの免疫応答細胞数はすべて徐々に増加し、外用6週間でピークに達した。同様に、血清中抗二本鎖 DNA 抗体および抗 Sm 抗体は1週間で検出され、その後急激に増加し、6~8週間でピークとなった。また、TLR7 ノックアウトマウスを用いた解析によって、乾癬様炎症反応が TLR7 にほぼ非依存性であるのに対して、全身性自己免疫は TLR7 依存性であったことから、2つの病態間で異なるメカニズムが関与することが明らかになった。 材料と方法 C57BL / 6 マウスまたは TLR7 ノックアウト (KO) マウスの耳介に IMQ クリームまたは RQM を週に3回塗布した。皮膚炎症は、耳の腫脹と8週間までの経時的な組織病理学によって評価した。脾臓細胞成分の変化をフローサイトメトリーにより調べた。血清を ELISA アッセイで自己抗体の力価を評価するために処置の1~8週間後に採取した。乾癬関連遺伝子の発現を決定するために皮膚組織から抽出した RNA より定量的リアルタイム PCR 分析を行った。統計解析には両側マンホイットニー U 検定を用いた。 結果 表皮の厚さと Ki67 によって評価された乾癬様皮膚炎症は、1週間でピークに達し、その後も IMQ 処理を続けても徐々に回復した。脾臓重量は、ベースラインから8週間で5倍以上に達するまで徐々に増加した。これに対応して、脾臓 T 細胞、B 細胞、形質細胞様樹状細胞 (pDC) および顆粒球/マクロファージの数は増加し、6週間でピークに達した。同様に、抗 dsDNA 抗体が2週間で検出され、その後に上昇した。抗 Sm 抗体は1週間で検出され、4週間でピークに達した。 TLR7KO マウスへ IMQ クリームを塗布すると、野生型マウスと比較して皮膚肥厚、表皮過形成および Ki67 染色により検出されるケラチノサイト増殖はやや軽度となったが反応は残存していた。また、このとき皮膚における乾癬関連遺伝子 mRNA 発現レベルは、対照マウスと比較して一部減少したものの多くは高発現した。これは、IMQ クリームによる乾癬様皮膚炎症がほぼ TLR7 シグナル非依存的に誘導できることを示した。一方、TLR7KO マウスにおいては抗核抗体上昇を含む自己免疫性炎症が誘導できなかった。別の TLR7 アゴニストである RQM を野生型マウスに塗布すると、血清中の抗 dsDNA 抗体が著明に上昇するも、乾癬様炎症は誘導しなかった。	

結論および考察

TLR7 アゴニストである IMQ クリームは尖圭コンジローマや日光角化症治療に用いられている。一方これをマウス皮膚に塗布すると乾癬類似の皮膚炎が誘導できるため、乾癬モデルとして広く使用されてきた。最近、我々は、IMQ を含む TLR7 アゴニストを 4 週間以上繰り返し経皮投与することにより、抗核抗体の上昇、自己免疫性肝炎および糸球体腎炎の発症を特徴とする、SLE に似た全身性自己免疫を誘発することを発見し報告した。今回の研究では、IMQ クリーム塗布によって誘導される 2 つの異なる病態、すなわち乾癬様皮膚炎症と全身性自己免疫につき詳細な発症動態を調べた。2 つの病態形成は時期が異なっており、乾癬様炎症は薬剤塗布開始より 1 週間、全身性自己免疫症状は 6 週目にピークがあった。TLR7KO マウスにおいて、IMQ クリーム外用後の乾癬様炎症反応、IL-23/IL-17 遺伝子発現ともにやや減弱するも、残存した。この事実は、IMQ クリームの基剤中に含まれるイソステアリン酸がインフラマソームを活性化し炎症を誘発することを報告した過去の研究結果を支持している。すなわち、乾癬様皮膚炎誘導においては基剤成分による炎症惹起が主で、IMQ そのものによる TLR7 シグナルの関与は比較的少ないことを示す。一方で TLR7KO マウスでは抗 DNA 抗体が検出されず、腎炎スコアも著明に軽減することより全身性自己免疫の発症は TLR7 依存性である。IMQ クリームは、その基剤による主に TLR7 非依存性の乾癬様皮膚炎と、pDC からの IFN α 放出による TLR7 依存性の全身性自己免疫の 2 つの異なる病態を誘導する。また、RQM による局所塗布は、IMQ 処理よりも高い抗 dsDNA 抗体力価を示す重度の自己免疫を誘発したが、当該基剤を含まないために乾癬様皮膚炎症は引き起こさなかったと考える。このことは、乾癬様皮膚炎症がその後の自己免疫の進展のための前提条件ではないことを意味する。

論文審査の結果の要旨

		氏名	片岡 佐誉
審査委員	主査氏名	福島 敦樹	
	副査氏名	山本 哲也	
	副査氏名	寺田 典生	

題目 Distinct kinetics of two pathologies induced in mice by topical treatment with imiquimod cream : Psoriasis-like inflammation and systemic autoimmunity.
(マウスにおけるイミキモドクリーム of 局所塗布によって誘導される2つの異なる病態のカイネティクス：乾癬様炎症と全身性自己免疫)

著者 Sayo Kataoka, Mayoko Yamamoto, Kentaro Ohko, Kimiko Nakajima, Shigetoshi Sano

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月
Journal of Dermatological Science 91(2):225-228
2018年 8月

要旨

[緒言]

イミキモドクリームを用いたマウスの局所塗布は、ヒト乾癬に似た皮膚炎症の発生をもたらすことが広く認識されている。我々はこれまでに、野生型マウスにおいてイミキモドおよびレシキモドを含むTLR7アゴニストを用いた局所塗布によって、野生型マウスにおいてループス様全身性自己免疫を誘導することを報告している。このように、イミキモドの外用は乾癬様皮膚炎症と全身性自己免疫という2つの異なる病態を誘発するが、これらのメカニズムが共通しているかどうかは不明である。本研究では、両方の疾患の発症の詳細な動態を調べることを目的とした。

[材料と方法]

C57BL / 6 マウスまたはTLR7ノックアウト(KO)マウスの耳介にイミキモドクリームまた

はレシキモドを週に3回塗布した。皮膚炎症は、耳の腫脹と8週間までの経時的な組織病理学によって評価した。脾臓細胞成分の変化をフローサイトメトリーにより調べた。血清をELISAアッセイで自己抗体の力価を評価するために処置の1~8週間後に採取した。乾癬関連遺伝子の発現を決定するために皮膚組織から抽出したRNAより定量的リアルタイムPCR分析を行った。統計解析には両側マンホイットニーU検定を用いた。

[結果]

表皮の厚さとKi67によって評価された乾癬様皮膚炎症は、1週間でピークに達し、その後もイミキモド処理を続けても徐々に回復した。脾臓重量は、ベースラインから8週間で5倍以上に達するまで徐々に増加した。これに対応して、脾臓T細胞、B細胞、形質細胞様樹状細胞(pDC)および顆粒球/マクロファージの数は増加し、6週間でピークに達した。同様に、抗dsDNA抗体が2週間で検出され、その後に上昇した。抗Sm抗体は1週間で検出され、4週間でピークに達した。

TLR7KOマウスにイミキモドクリームを塗布すると、野生型マウスと比較して皮膚肥厚、表皮過形成およびKi67染色により検出されるケラチノサイト増殖はやや軽度となったが、反応は残存していた。また、このとき皮膚における乾癬関連遺伝子mRNA発現レベルは、対照マウスと比較して一部減少したものの多くは高発現した。これは、イミキモドクリームによる乾癬様皮膚炎症がほぼTLR7シグナル非依存的に誘導できることを示した。一方、TLR7KOマウスにおいては抗核抗体上昇を含む自己免疫性炎症が誘導できなかった。別のTLR7アゴニストであるレシキモドを野生型マウスに塗布すると、血清中の抗dsDNA抗体が著明に上昇するも、乾癬様炎症は誘導されなかった。

[結論および考察]

TLR7アゴニストであるイミキモドクリームは尖圭コンジローマや日光角化症治療に用いられている。一方これをマウス皮膚に塗布すると乾癬類似の皮膚炎が誘導できるため、乾癬モデルとして広く使用されてきた。最近、申請者らは、イミキモドを含むTLR7アゴニストを4週間以上繰り返し経皮投与することにより、抗核抗体の上昇、自己免疫性肝炎および糸球体腎炎の発症を特徴とする、SLEに似た全身性自己免疫を誘発することを発見し報告した。今回の研究では、イミキモドクリーム塗布によって誘導される2つの異なる病態、すなわち乾癬様皮膚炎症と全身性自己免疫につき詳細な発症動態を調べた。2つの病態形成は時期が異なっており、乾癬様炎症は薬剤塗布開始より1週間、全身性自己免疫症状は6週目にピークがあった。TLR7KOマウスにおいて、イミキモドクリーム外用後の乾癬様炎症反応、IL-23/IL-17遺伝子発現ともにやや減弱するも、残存した。この事実は、イミキモドクリー

ムの基剤中に含まれるイソステアリン酸がインフラマソームを活性化し炎症を誘発することを報告した過去の研究結果を支持している。すなわち、乾癬様皮膚炎誘導においては基剤成分による炎症惹起が主で、イミキモドそのものによるTLR7シグナルの関与は比較的少ないことを示す。一方でTLR7KOマウスでは抗DNA抗体が検出されず、腎炎スコアも著明に軽減することより全身性自己免疫の発症はTLR7依存性である。イミキモドクリームは、その基剤による主にTLR7非依存性の乾癬様皮膚炎と、pDCからのIFN α 放出によるTLR7依存性の全身性自己免疫の2つの異なる病態を誘導する。また、レシキモドによる局所塗布は、イミキモド処理よりも高い抗dsDNA抗体力価を示す重度の自己免疫を誘発したが、当該基剤を含まないために乾癬様皮膚炎症は引き起こさなかったと考える。このことは、乾癬様皮膚炎症がその後の自己免疫の進展のための前提条件ではないことを意味する。

[審査結果]

以上のように、本論文は医学的に高い価値を有するものである。よって、審査員一同は本論文が高知大学博士（医学）にふさわしい価値あるものと判断した。

氏名(本籍)	惣田 聡子 (神奈川県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	乙総医博第48号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成31年3月5日
学位論文題目	Musical disability in children with autism spectrum disorder (自閉症スペクトラム障害児の音楽の能力)
発表誌名	Psychiatry Research, Volume 267, Pages (354-359) September 2018

審査委員	主査	教授	山口	正洋
	副査	教授	藤枝	幹也
	副査	教授	古谷	博和

論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

	氏名	惣田 聡子
論文題目	Musical disability in children with autism spectrum disorder (自閉症スペクトラム障害児の音楽の能力)	
<p>(論文要旨)</p> <p>序論</p> <p>自閉症スペクトラム障害 (ASD) は、先天性の脳機能障害によって、社会的コミュニケーションの困難さと、限定された反復的な行動、興味、活動を呈する病態である。ASD児の音楽能力に関しての以前の研究では、定型発達 (TD) の人より、高い音楽能力を持っていると報告されている。しかしこれらの先行研究には、ケースレポートである、少数例での検討である、古いASD診断基準が用いられているなどの問題点があった。また近年、ASD児が異常な聴覚処理をすること、ASD児には聴覚刺激に対する鈍感さがあることも報告されている。さらに我々は日々の臨床診察場面で音楽能力の低いASD児に出会うことが多い。以上のことからASD児の音楽能力については再検討する必要がある。また、脳血管障害や精神疾患の患者においては音楽能力の低下と認知機能障害、特にASDで障害が認められている神経機能 (社会的コミュニケーション、ワーキングメモリー、空間処理など) との関連が指摘されている。そこで、今回、我々は、最新の診断基準に基づいてASDと診断した患者を対象に、標準化された音楽評価バッテリーを用いて、音楽能力障害の有無を検討した。さらにASD児において、音楽能力の低下と認知機能、社会性の低下、および臨床症状との関連の有無を検討した。</p> <p>方法</p> <p>対象者は、6歳から15歳のASDを持つ児童26人と、性別、年齢、IQをマッチさせたTD児童27人である。全ての参加者から研究参加に対する同意を得た。ASDを持つ児童は、JA高知病院小児科外来と高知県立あき総合病院外来通院中で、DSM-5で自閉症スペクトラム症と診断された患者である。対象患者に対しては、ASDの症状をThe High Functioning Autism Spectrum Screening Questionnaire (ASSQ) で評価し、情緒や行動の児童期の全般的な精神病理をStrengths and Difficulties Questionnaire (SDQ) で評価した。参加児のIQはWISC-IVで測定し、親の社会経済的特徴はSocioeconomic status (SES) で評価した。また、検査時に音楽に対する興味、関心を聞き取りした。音楽能力はThe Montreal Battery of Evaluation of Amusia (MBEA) の簡易版 (MBEA-s) で評価した。評価は4つのサブスケールの平均を音楽能力の平均点としている。MBEA-sでは、ピアノ音で作られたフレーズを提示し、Scale (音階)、Contour (音の高低)、Interval (音と音との間隔)、Rhythm (リズム) の4つの音楽能力を測定する。全ての下位検査で高得点が高成績を意味する。認知機能評価には、Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia (BACS) を使用した。空間認知能力評価には、メンタルローテーションを使用した。</p> <p>解析：人口統計学的データ、臨床評価結果の2群間比較にはカイ二乗検定、もしくはt検定を使用した。SDQ、ASSQとMBEA-sの4つのサブスコアとの相関分析にはスピアマン検定を用いた。MBEA-sの4つのサブスコアとBACSスコアとの相関は重回帰分析をおこなった。統計学的有意水準の設定の際に</p>		

は、Bonferroni補正を行った。MBEA-sと独立に相関する変数を同定するために年齢、性別、FSIQ、メンタルローテーション、SDQ、ASSQ、MBEA-s、BACSのサブスコアを用いてステップワイズ法を用いた重回帰分析をおこなった。

結果

2群間比較結果：

ASD群とTD群との間で、年齢、性別、親の教育歴、音楽に対する興味には有意差を認めなかった。MBEA-s平均スコアは、年齢・性別・音楽への興味を調整した後も、ASD群の方がTD群より低かった (ASD 63.38 % vs. TD 71.26 %, $F(1, 48) = 8.295$, $p = 0.008$)。MBEA-sの4つのサブスコアは、年齢性別興味を調整し、Bonferroni補正を行うと、ASDとTDには統計学的に有意差がなかった。

MBEA-s平均スコアを性別・診断の2元配置ANOVAで解析した結果では、有意な交互作用を認めた ($F(1, 48) = 0.022$)。ポストホックテストでは、ASD男児はASD女児より有意に低下がみられたが、TDには男女差を認めなかった。ASD男児の成績はTD男児より有意に低下していた ($p = 0.007$)。同様に、BACSにおいてもASD群はTD群と比較して有意に成績が低下していた (ASD -2.22 vs. TD -1.61, $F(1, 48) = 7.763$, $p = 0.009$)。BACSサブテストにおいて、ワーキングメモリー、運動速度、遂行機能においてASD児にわずかな低下がみられたが有意差はなかった。




相関分析結果：

MBEA-sの4つの平均スコアは、ASDの年齢 ($r = 0.705$, $p < 0.001$)と親の教育歴 ($r = 0.520$, $p = 0.009$)と有意に相関しており、ASD群は年齢が上がると音楽への興味が増していた ($r = 0.433$, $p = 0.027$) が、TD群では低下していた ($r = -0.597$, $p = 0.001$)。MBEA-s平均スコアとASD症状をノンパラメトリック検定でおこなったところ、ASSQのどの尺度においても相関はみられなかったが、ステップワイズ重回帰分析の結果、ASD児において、ワーキングメモリーと多動/不注意の項目の得点の高低が音楽能力を予測する因子となった。

考察および結論

本研究によって、ASD児ではTD児と比較して有意に音楽能力が低下していることが明らかになった。これは、ASD児が高い音楽能力を示すという先行研究と一致しない結果であった。この不一致の理由として、我々の研究の対象者は先行研究と比べ年齢が低かったことが挙げられる。今回の研究で、ASD群では低年齢ほど音楽興味が低く、年齢とともに音楽興味が増加していた。今後、好奇心が段階的に増加し、先行研究同様、ASD児は高い音楽能力を示すようになるかもしれない。また、我々の診断基準はDSM-5に基づいていたことが考えられる。DSM-5では、DSM-III以来一貫して採用されていた複数の下位分類の集合体である「広汎性発達障害; PDD」が不採用となり、下位分類のない「自閉症スペクトラム症; ASD」に変更となった。ASDへの変更によって、診断概念の考え方そのものが大きく変更した。先行研究はDSM-5以前の診断基準を使用しており結果に影響が出た可能性がある。Thomas Bergmannらの研究では(2015)、音楽ベースでDSM-5とICD-10に沿ったASD診断が可能であるか、また、ADOSと比較して有効性はどうかをみている。対象は重度の知的障害がある成人であり、我々の研究対象とは異なるが、ASDの社会性やコミュニケーションの障害が音楽表現の乏しさに反映しているという結論に対しては、我々の研究の方向性と一致していた。今回は、音楽能力において性差がみられ、ASD男児はASD女児より音楽能力に低下がみられた。統合失調症患者の音楽能力を測定した先行研究では、患者群と健常群両方で男性は女性より、音楽能力が低かったという結果であった。TDは小児期から成人になるまで、女性の方が音楽能力が高いのか、ASDにおいて、小児期の音楽能力は女児に優位性があったが、成人になっても、女性の方が音楽能力が高いママであるのか追跡が必要である。今回の研究では女児は少数であったのでデータとしては限界があり、今後は参加人数を増やすことや経過を追った研究が必要と考えられた。また、ASD児において低いワーキングメモリーと多動/不注意の重症度が、低い音楽能力と関係していることを示した。今後は、縦断的な研究の必要性があり、また評価も社会性、情動、および社会的なコミュニケーション評価を追加する必要がある。また、神経画像や認知機能評価の関係をみていくことが必要である。

論文審査の結果の要旨

	氏名	惣田 聡子
審査委員	主査氏名	山口 正洋 
	副査氏名	藤枝 幹也 
	副査氏名	古谷 博和 

題 目

Musical disability in children with autism spectrum disorder

(自閉症スペクトラム障害児の音楽の能力)

著 者

Satoko Sota, Sanae Hatada, Kinji Honjoh, Tomoyuki Takatsuka, William Honer, Shigeru Morinobu, Ken Sawada

発表誌名、巻(号)、ページ(~)、年 月

Psychiatry Research, Volume 267, Pages (354-359)

September 2018

要 旨

【背景・目的】

自閉症スペクトラム障害(ASD)は、先天性の脳機能障害によって、社会的コミュニケーションの困難さと、限定された反復的な行動、興味、活動を呈する病態である。ASD児の音楽能力に関しての以前の研究では、定型発達(TD)の人より高い音楽能力を持っていると報告されている。しかしこれらの先行研究には、少数例での検討である、古いASD診断基準が用いられているなどの問題点があった。また近年、ASD児が異常な聴覚処理をすること、ASD児には聴覚刺激に対する鈍感さがあることも報告されている。さらに日々の臨床診察場面で音楽能力の低いASD児に出会うことが多い。以上のことからASD児の音楽能力については再検討する必要があると考えられる。また、脳血管障害や精神疾患の患者においては音楽能力の低下と認知機能障害、特にASDで障害が認められている神経機能(社会的コミュニケーション、ワーキングメモリー、空間処理など)との関連が指摘されている。そこで申請者は、最新の診断基準に基づいてASDと診断した患者を対象に、標準化された音楽評価バッテリーを用いて音楽能力障害の有無を検討した。さらにASD児において、音楽能力の低下と認知機能、社会性の低下、および臨床症状との関連の有無を検討した。

【方法】

6歳から15歳のASDを持つ児童26人と、性別、年齢、IQをマッチさせたTD児童27人を対象者とした。ASD児はJA高知病院小児科外来と高知県立あき総合病院外来通院中で、DSM-5で自閉

症スペクトラム症と診断された患者である。対象児の ASD の症状を The High Functioning Autism Spectrum Screening Questionnaire (ASSQ)、情緒や行動の全般的な精神病理を Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ) で評価した。IQ は WISC-IV、親の社会経済的特徴は Socioeconomic status (SES) で評価した。音楽能力は The Montreal Battery of Evaluation of Amusia (MBEA) の簡易版 (MBEA-s) により、Scale (音階)、Contour (音の高低)、Interval (音の間隔)、Rhythm (リズム) のサブスコアを評価した。検査時に音楽に対する興味、関心を聞き取りした。認知機能は Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia (BACS)、空間認知能力はメンタルローテーションで評価した。

2 群間比較にはカイニ乗検定もしくは t 検定、相関分析にはスピアマン検定、重回帰分析を用いた。MBEA-s と独立に相関する変数の同定にはステップワイズ法を用いた重回帰分析を行った。

【結果】

・ ASD 群と TD 群との間で、年齢、性別、親の教育歴、音楽に対する興味には有意差を認めなかった。MBEA-s 平均スコア (音楽能力評価) は ASD 群の方が TD 群より低かった (ASD 63.38 % vs. TD 71.26 %, $F(1,48)=8.295$, $p=0.008$)。MBEA-s の 4 つのサブスコアは、年齢性別興味を調整し、Bonferroni 補正を行うと、ASD と TD には統計学的に有意差がなかった。

・ MBEA-s 平均スコアを性別・診断の 2 元配置 ANOVA で解析した結果では、有意な交互作用を認めなかった ($F(1, 48)=0.022$)。ポストホックテストでは、ASD 男児は ASD 女児より有意に低下がみられ、TD 男児より有意に低下していた ($p=0.007$)。TD には男女差を認めなかった。

・ BACS (認知機能評価) においても ASD 群は TD 群と比較して有意に成績が低下していた (ASD-2.22 vs. TD-1.61, $F(1,48)=7.763$, $p=0.009$)。BACS サブテストにおいて、ワーキングメモリー、運動速度、遂行機能において ASD 児にわずかな低下がみられたが有意差はなかった。

・ MBEA-s の 4 つの平均スコアは、ASD の年齢 ($r=0.705$, $p<0.001$) と親の教育歴 ($r=0.520$, $p=0.009$) と有意に相関しており、ASD 群は年齢が上がるほど音楽への興味が増していた ($r=0.433$, $p=0.027$) が、TD 群では低下していた ($r=-0.597$, $P=0.001$)。

・ MBEA-s 平均スコアと ASD 症状は、ASSQ のどの尺度においても相関はみられなかったが、ステップワイズ重回帰分析の結果、ASD 児においてワーキングメモリーの低下と多動/不注意の重症化が音楽能力の低下を予測する因子となった。

【考察・結論】

本研究によって、ASD 児では TD 児と比較して有意に音楽能力が低下していることが明らかになった。これは、ASD 児が高い音楽能力を示すという先行研究と一致しない結果であった。この不一致の理由として、本研究の対象者は先行研究と比べ年齢が低かったことが挙げられる。今回の研究で、ASD 群では低年齢ほど音楽興味が低く、年齢とともに音楽興味が増加していた。今後、好奇心が段階的に増加し、先行研究同様、ASD 児は高い音楽能力を示すようになるかもしれない。また、本研究の診断基準は DSM-5 に基づいていたことが考えられる。診断概念の考え方そのものが大きく変更したことが結果に影響した可能性がある。

本研究では音楽能力において性差がみられ、ASD 男児は ASD 女児より音楽能力に低下がみられた。統合失調症患者の音楽能力を測定した先行研究では、患者群と健常群両方で男性は女性より音楽能力が低いという結果であった。TD では小児期以降に女性の方が音楽能力が高くなるのか、ASD では成人になっても女性の方が音楽能力が高いままであるのか追跡が必要である。また、ASD 児において低いワーキングメモリーと多動/不注意の重症度が、低い音楽能力と関係していることを示した。今後は、年齢縦断的な研究、また社会性、情動、および社会的なコミュニケーション評価を追加する必要がある。また、神経画像や認知機能評価の関係をみていくことが必要と考えられた。

以上本論文は、ASD 児の音楽能力、更にその ASD 症状との関連性を定型発達児と比較しながら明らかにした。本研究の ASD 男児で音楽能力が低く、音楽能力とワーキングメモリー、多動/不注意症状が関連するという知見は、ASD 児の音楽能力に関する本質的な理解を深め、今後 ASD 児の音楽療法を進展させる上で非常に重要なものと考えられる。

よって、審査員一同は本論文が高知大学博士 (医学) に相応しい価値あるものと判断した。