

【研究ノート】

ミスマッチ PCR 法による DYX1C1 遺伝子変異スクリーニング

Screening for DYX1C1 gene mutations by mismatch-PCR

大西麻衣、上坂智子、野村 純、杉田克生

ONISHI Mai、UESAKA Tomoko、NOMURA Jun、SUGITA Katsuo

要旨 日本における遺伝子変異を背景とする発達性読み書き障害（以下、ディスレクシアと記す）の有無を明らかにするため、DYX1C1 遺伝子変異スクリーニングを実施した。多数の症例を検討するため、簡便かつ精度、経済性の優れたミスマッチ PCR 法を用いた。ディスレクシアの臨床症状のない正常群 139 名、臨床症状をもつ患者群 12 名と、臨床症状のない患者群の家族 23 名を対象とし、スクリーニングを行った。正常群からランダム抽出した 20 サンプル、患者、患者家族群の全サンプルはダイレクトシーケンスでその遺伝子型を調べ、スクリーニングシステムの精度を確かめた。患者、患者家族群は正常群よりも高頻度で DYX1C1 遺伝子のエクソン 2 E1K-1 転写因子結合部位変異（-3 G → A）を示した。

I. はじめに

ディスレクシア（dyslexia）は「読みの障害」を意味する用語であるが、大半の症例で書字障害を伴うため、発達性読み書き障害と訳される¹⁾。国際ディスレクシア協会はディスレクシアを次のように定義している。「ディスレクシアは神経生物学的原因による特異的な学習障害である。つづりとデコーディングの達成度の低さに由来する、単語認識の正確さ・流暢さの一方あるいは両方の困難に特徴づけられる。典型的に言語の音韻構成以外の言語の認識能力や教授方法の違いではまったく説明できない。第二に、この結果として、読解能力の未発達や読む経験の不足を招き、語彙と知識の習得を妨げる」²⁾ 主な症状は文字の読み書きの困難と文字を一文字ずつ拾い読みする（逐次読み）、単語あるいは文節の区切りというまとまりを見定める障害（チャンキング障害）、文字を音に変換するデコーディングへの集中による易疲労性である³⁾。

英語圏ではディスレクシアの発生頻度が高く、全体の 8～10%、報告によっては 15～20%とも言われている。学習障害と診断された子どもの 80%を占めるほど一般的であり、よく研究されている障害領域である。日本においては、ディスレクシア単独ではないが学習障害に関する調査が実施されている。2002 年、文部科学省が「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」⁴⁾を全国の公立小、中学校に在籍する 41,579 人を対象に実施した。学級担任と複数の教員の回答に基づき、学習面（「聞く」「話す」「読む」「書く」「計算する」「推論する」）で著しい困難を示すに該当する児童生徒が 4.5%であった。この結果から、日本でも相当数の児童生徒が読み書きに何らかの問題を抱えていることが考えられる。

ディスレクシアは早期発見により適切な指導をすることで、症状の悪化を未然に防ぐこ

とができることから、支援体制を整える必要性が高い。ディスレクシアは学習への意思や努力に関係なく、通常の教授、学習方法での読み書きの満足な習得に至りにくいと考えられている。読み書きの習得の遅れは本人が自覚しやすいことであり、自信の喪失は将来への不安につながりやすいと考えられる。また、周囲のディスレクシアの無理解は、読み書きができないことは本人の怠けや反抗の表れという誤解を生み、結果的に心身症や学校や社会からの離脱につながるとも指摘されている⁵⁾。義務教育終了後の進学、就職にも問題がある。行政の具現的な方策は義務教育期間に重点が置かれており、支援の機会が与えられるが、それ以降の進学や就労問題においては明確な方針が確立されていないことが現状である⁶⁾。

以上の教育での問題に加え、早期診断の遅れも指摘されている。このため本研究ではディスレクシアの早期発見のための候補遺伝子スクリーニングシステムの確立を主眼とした。ディスレクシアは家族性であり、遺伝性の疾患であると言われている。親が症状を持つ場合、生まれた子どもの23~65%に同様の症状が認められるとの報告もある⁷⁾。ディスレクシア発症に関連する遺伝子はいくつか報告されている。フィンランドの Taipale らは、音韻認識や、デコーディング等、読みと読みのプロセスに関連する領域であると示唆されている⁸⁾ DYX1C1 遺伝子のエクソン2の Elk-1 転写因子結合部位変異 (-3G → A)、エクソン10のコドン変異 (1249G → T) についてディスレクシアとの関連があると報告している。-3G → A はコントロール群2.8%に対し8.5%、1249G → T はコントロール群5.4%に対し11.7%であり、統計的に有意とされている⁹⁾。一方、日本での報告は現在のところ見当たらない。

われわれは DYX1C1 遺伝子変異が、日本においてディスレクシア発症と関係するかに注目した。ディスレクシアの臨床症状を有する者の DYX1C1 遺伝子変異を検索し、遺伝子変異を背景とするディスレクシアの有無を明らかにすることを目的とした。今回は多数の症例を検討できる簡便かつ精度、経済性に優れたスクリーニングシステムとしてミスマッチ PCR 法を開発し、ダイレクトシーケンスによってその精度を確かめたので報告する。

II. 対象および方法

対象

検査対象として、ディスレクシアの臨床症状のない正常ボランティア139名(男子76名、女子63名)、臨床症状のある患者12名(男子9名、女子3名)、および臨床症状のない患者群の家族23名(男子14名、女子9名)の協力を得た。なお、DYX1C1 遺伝子スクリーニングに関しては提供者の人権および利益の保護のため、千葉大学教育学部生命倫理審査委員会に倫理審査書を提出、承認されている(「DYX1C1 遺伝子異常を有する発達性読字障害の認知神経学的解析」)。

方法

(1) DNA の採取および抽出

遺伝子検体提供者には事前に研究の目的・方法について十分な説明を行い、書面による

同意を得たあと、口腔粘膜細胞採取を行った。DNA 採取には頬粘膜細胞採取用綿棒 (スワブ) ; Catch-All™ Sample Collection Swab (EPICENTRE® Biotechnologies) を用いた。両頬部粘膜を、スワブを回転させながら数回ずつ痛くない程度にこすり、細胞を採取する。このスワブは DNA 抽出操作に最適であり、痛みを伴わない頬粘膜細胞採取が可能であった。

DNA 抽出には REDExtract-N-Amp™ Tissue PCR Kit (SIGMA 社) を使い、使用手順「口腔内からの DNA 抽出」に従った。1.5ml のマイクロ遠心チューブを用意し、Extract Solution 200µl と Tissue Preparation Solution 25µl を注入する。この混合液中にスワブを入れ、室温で 1 分間インキュベートする。1 分後、スワブから余分な溶液を落としながら取り出す。サンプルを室温で 10 分間インキュベートした後、3 分間 95℃ のウォーターバスで加熱処理した。そこに 200µl の Neutralization Solution B を加えた。この溶液をこれ以降の実験操作においてゲノム DNA 抽出液として使用した。

(2) PCR 反応

エクソン 2 の検出にフォワードプライマー (野生型; 5′ - CATTCCGCTCCCGTTGCTACCG - 3′、変異型; 5′ - CATTCCGCTCCCGTTGCTACCA - 3′) 及び、リバープライマー (; 5′ - AAGTAGAGCCTGTTGCTCGT - 3′) を使用し、エクソン 10 の検出にはフォワードプライマー (5′ - GGCAACAGAAGGAGACTCTG - 3′) 及び、リバープライマー (野生型; 5′ - AATAGTCATTAAGATTTTAGTTC - 3′、変異型; 5′ - AATAGTCATTAAGATTTTAGTTA - 3′) を使用した。試薬 (計 10µl : 滅菌蒸留水 2 µl、フォワード、リバープライマーそれぞれ 0.5µl、ゲノム DNA 抽出液 2 µl、REDExtract-N-Amp™ PCR Reaction Mix 5 µl) を PCR チューブにピペッティングして混合した後、PCR マシン (my Cyclor ; BioRad 社) にセットし、行った。PCR 反応産物はアガロースゲル電気泳動で分離後、エチジウムブロマイドで染色し、トランスイルミネータで可視化し、解析した。

(3) ミスマッチ PCR 法

プライマーの 3′ 断端を SNP の位置に合わせて設計し、PCR 反応を行う。野生型プライマーと変異型プライマーを使用することで SNP の有無を判定する。エクソン 2 では野生型プライマーとして - 3 G を含むプライマー (5′ - CATTCCGCTCCCGTTGCTACCG - 3′) と、変異型プライマーとして - 3 A を含むプライマー (5′ - CATTCCGCTCCCGTTGCTACCA - 3′) を作成した [インビトロジェン株式会社]。エクソン 10 では野生型プライマーとして 1249G を含むプライマー (5′ - AATAGTCATTAAGATTTTAGTTC - 3′) 及び、変異型プライマーとして 1249T を含むプライマー (5′ - AATAGTCATTAAGATTTTAGTTA - 3′) を、野生型、変異型それぞれプライマーの長さを変えて 4 種類ずつ作成した (インビトロジェン株式会社)。

(4) DYX1C1 遺伝子変異スクリーニング

エクソン 2、10 それぞれで PCR 反応条件を検討し、その条件化で対象の DNA サンプルのスクリーニングを行った。

Ⅲ. 結果

(1) DYX1C1 遺伝子の PCR 法による増幅のためのプライマーの検討

エクソン 10 に関してプライマーの塩基長を検討した。野生型、変異型プライマーでそれぞれ 4 種類のプライマーを設計した。(野生型: 5' - AGTCATTAAGATTTTAGTTC - 3', 5' - TAGTCATTAAGATTTTAGTTC - 3', 5' - ATAGTCATTAAGATTTTAGTTC - 3', 5' - AATAGTCATTAAGATTTTAGTTC - 3', 変異型: 5' - AGTCATTAA-GATTTTAGTTA - 3', 5' - TAGTCATTAAGATTTTAGTTA - 3', 5' - ATAGT-CATTAAGATTTTAGTTA - 3', 5' - AATAGTCATTAAGATTTTAGTTA - 3') PCR 反応条件として変性 96 度 4 分を 1 回行った後、変性 30 秒、アニーリング・伸長反応温度は 50 度で 1 回行い、アニーリング・伸長反応温度を 52.9 度 1 分で 34 サイクル行った後、68 度の伸長反応を 10 分行った。1.2% アガロースゲルによる電気泳動を行い、トランスイルミネーターで確認した結果、23mer のプライマーで PCR 反応産物が明瞭に認められることがわかった。(図 A)

塩基長の最も長いプライマーで PCR 産物が鮮明だったことから、プライマーが長い方でより特異性が増し、遺伝子増幅がされやすいと考えられる。ミスマッチ PCR 法では PCR プロトコルの検討も必要であるが、プライマーの設計も重要であることが確認できた。なおプライマーの検討の過程で用いたゲノム DNA はディスレクシアの臨床症状がなく、ダイレクトシーケンスにより遺伝子型が確認された DNA サンプルである。

(2) DYX1C1 遺伝子検出のための PCR 反応条件の最適化

1) エクソン 2

はじめにアニーリング・エクステンション温度の検討を行った。50~60℃、24 サイクルで反応させた。この結果、野生型、変異型のプライマー間で PCR 産物の量に差は見られなかった。次に範囲を 58~68℃ とし、24 サイクル下で検討したところ、66.6~68℃ で

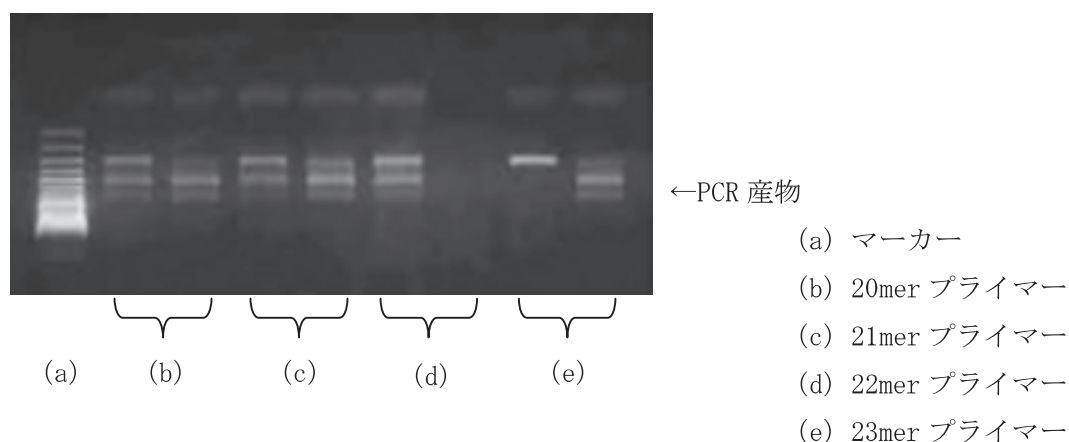


図 A 23mer のプライマーで目的の PCR 産物が鮮明に確認できる。他のプライマーでは PCR 産物が複数あり、PCR 産物を比較し判定するのに向かない。

PCR 産物量に差が生じた。ここで、アニーリング・エクステンション温度を 66.4 度とし、サイクル数を検討した。PCR 反応条件として変性 96 度 4 分を 1 回行った後、変性 96 度 30 秒、アニーリング・伸長反応温度を 66.4 度 1 分で 24~32 サイクルまでの間とし、68 度の伸長反応の 10 分を追加した。PCR 反応産物を比較し、26 サイクルを採用した。

次に、サイクル数を 26 で固定し、さらに小刻みにアニーリング・エクステンション温度の検討を行った。66.5 度で遺伝子型によって PCR 産物量に差が見られたので、66.5 度を採用した。(図 B)

なお PCR 条件最適化の過程で用いたゲノム DNA は、ディスレクシアの臨床症状がなく、ダイレクトシーケンスにより遺伝子型が確認された DNA サンプルである。

2) エクソン 10

まず、PCR 反応条件のサイクル数を検討した。PCR 反応条件として変性 96 度 4 分を 1 回行った後、変性 30 秒、アニーリング・伸長反応温度は 50 度で 1 回行い、アニーリング・伸長反応温度を 52.9 度 1 分で 28~34 サイクルまでの範囲とした。そこに 68 度の伸長反応 10 分を加えた。PCR 反応産物は 1.2% アガロースゲルによる電気泳動を行い、トランスイルミネーターで確認し、30 サイクルを採用した。(図 C)

なおこの PCR 条件最適化の過程で用いたゲノム DNA は、ディスレクシアの臨床症状がなく、ダイレクトシーケンスにより遺伝子型が確認された DNA サンプルである。

(3) DYX1C1 遺伝子変異スクリーニング

エクソン 2、10 それぞれ最適化された PCR 反応条件でスクリーニングを行い、その精度、有効性について検討した。被験者はディスレクシアの臨床症状のない正常群 139 名、

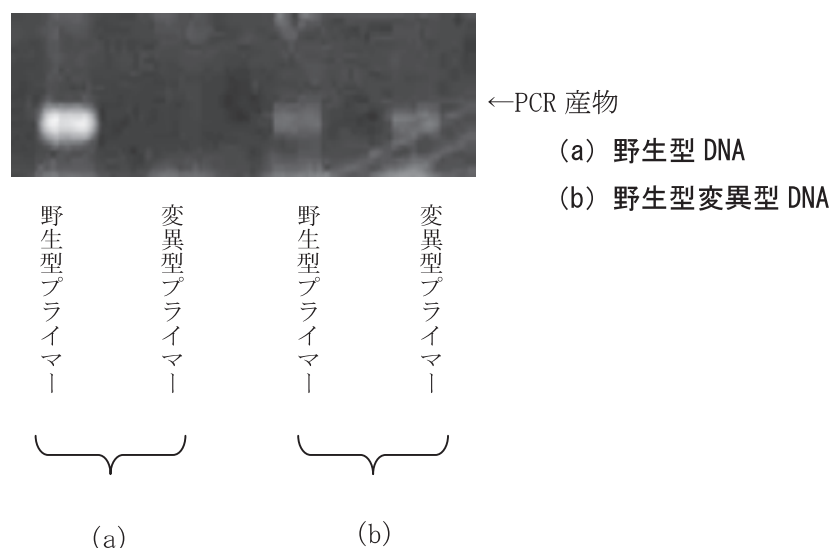


図 B エクソン 2 PCR 条件の最適化

野生型 DNA、野生型変異型 DNA で PCR 産物量が異なる。

野生型 DNA では野生型プライマーでのみ、野生型変異型 DNA ではどちらのプライマーでも PCR 産物が確認できる。

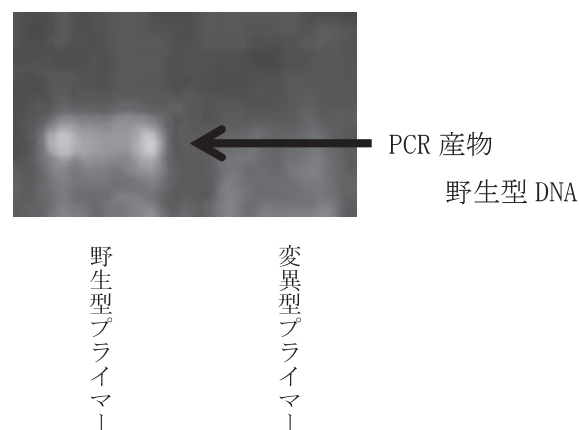


図 C エクソン 10 PCR 条件の最適化
野生型プライマーのみで PCR 産物が確認
できる。

臨床症状がある患者群 12 名、臨床症状のない患者群の家族 23 名とし、DYX1C1 遺伝子変異の有無を調べた。

1) エクソン 2

スクリーニングを行った正常群 139 名のうち、野生型 130 名、野生型／変異型 4 名、変異型 5 名を示した。患者群 12 名のうち、野生型 9 名、野生型／変異型 3 名、変異型 0 名を示し、患者家族では 23 名中、野生型 19 名、野生型／変異型 3 名、変異型 1 名を示した。(表 1)

野生型を陰性とし、野生型／変異型と変異型を陰性とする、割合は以下のようになる。正常群の陰性は 93.53% (130/139)、陽性 6.47% (9/139) であり、患者群、患者家族群では陰性 80.00% (28/35)、陽性 20.00% (7/35) である。患者群、患者家族群の陽性の割合が正常群に比べ高いことがわかった。

2) エクソン 10

スクリーニングを行った正常群 139 名のうち、野生型 127 名、野生型／変異型 12 名を示した。患者群 12 名のうち、野生型 10 名、野生型／変異型 2 名を示し、患者家族では 23 名中 23 名が野生型を示した。(表 2)

表 1 エクソン 2 スクリーニング結果

	正 常 群 (139)	患 者 群 (12)	患者家族 (23)
野 生 型	130	9	19
野生型変異型	4	3	3
変 異 型	5	0	1

表2 エクソン10 スクリーニング結果

	正 常 群 (139)	患 者 群 (12)	患者家族 (23)
野 生 型	127	10	23
野生型変異型	12	2	0
変 異 型	0	0	0

エクソン2と同様に、以下に割合を示す。正常群の陰性は91.37% (127/139)、陽性8.70% (12/139)であり、患者群、患者家族群では陰性94.29% (33/35)、陽性5.71% (2/35)である。

(4) ゲノム DNA ダイレクトシーケンスによるスクリーニング精度の検討

われわれの行ったスクリーニングの結果とダイレクトシーケンスの結果が一致するか検討した。ダイレクトシーケンスは(株)セリッシュエフディーに依頼し行った。依頼したのは、正常群から20サンプル、患者群12サンプル、患者家族23サンプル（計55サンプル）である。われわれのスクリーニング結果とダイレクトシーケンス結果の相互表を以下に掲載する（表3）。

スクリーニングとダイレクトシーケンス結果の不一致率は、エクソン2で14.55%、エクソン10で10.91%であった。ダイレクトシーケンス結果から、現在のスクリーニングシステムの精度を以下に示した。（表4, 5）感度（鋭敏度）とは遺伝子型が変異型あるいは変異型/野生型の者（陽性）を正しく判定する傾向、特異度とは遺伝子型が野生型の者（陰性）を正しく判定する傾向である。感度と特異度は、エクソン2で88.89%、100%であり、エクソン10では0.00%、89.09%であった。

(5) スクリーニングシステムの調整

ダイレクトシーケンスの結果を受けて、エクソン2のスクリーニングシステムを調整した。はじめに、従来のプライマーの塩基長を1塩基伸ばして新たにプライマーを作成した[インビトロジェン株式会社]。このプライマーを使用し、アニーリング・エクステンション温度の検討を行った。従来のアニーリング・エクステンション温度である66.5度を基準として65.5度～67.0度で温度を振った結果、温度の低い方で遺伝子増幅が可能と判明した。次に、従来のプライマーと新しいプライマーの比較を行うために、従来のプライマーでも同様にアニーリング・エクステンション温度を65.5度～66.7度で検討を行った。その結果、従来のプライマーでアニーリング・エクステンション温度を65.5度とした時に、ダイレクトシーケンスで得た結果に沿う結果となり、より正確なスクリーニングシステムになることがわかった。

表3 スクリーニング結果とダイレクトシーケンス結果相互表

	エクソン 2		エクソン 10	
	スクリーニング	ダイレクトシーケンス	スクリーニング	ダイレクトシーケンス
1	野生型	野生型	野生型	野生型
2	野生型	野生型	野生型	野生型
3	野生型	野生型	野生型	野生型
4	野生型	野生型	野生型	野生型
5	野生型	野生型	野生型	野生型
6	野生型	野生型	野生型	野生型
7	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型	野生型
8	野生型	野生型／変異型	野生型	野生型
9	野生型	野生型	野生型	野生型
10	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型	野生型
11	変異型	変異型	野生型	野生型
12	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型	野生型
13	野生型	野生型	野生型	野生型
14	野生型	野生型	野生型	野生型
15	野生型	野生型	野生型	野生型
16	野生型	野生型	野生型	野生型
17	野生型	野生型	野生型	野生型
18	野生型	野生型	野生型	野生型
19	野生型	野生型	野生型	野生型
20	野生型	野生型	野生型	野生型
21	野生型	野生型	野生型	野生型
22	野生型	野生型	野生型	野生型
23	野生型	野生型／変異型	野生型	野生型
24	野生型	野生型	野生型	野生型
25	野生型	野生型	野生型／変異型	野生型
26	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型
27	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型	野生型
28	野生型	野生型	野生型	野生型
29	野生型	野生型	野生型	野生型
30	野生型	野生型	野生型	野生型
31	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型	野生型
32	野生型	野生型	野生型	野生型
33	野生型	野生型	野生型	野生型
34	野生型	野生型	野生型	野生型
35	野生型	PCR 増幅不可	野生型	野生型
36	野生型	野生型	野生型	野生型
37	野生型	野生型	野生型	野生型
38	野生型	野生型	野生型	野生型
39	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型	野生型
40	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型
41	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型	野生型
42	変異型	野生型／変異型	野生型	野生型
43	変異型	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型
44	変異型	野生型／変異型	野生型	野生型
45	変異型	野生型／変異型	野生型	野生型
46	変異型	野生型／変異型	野生型	野生型
47	野生型	野生型	野生型／変異型	野生型
48	野生型	野生型	野生型／変異型	野生型
49	野生型	野生型	野生型	野生型
50	野生型	野生型	野生型	野生型
51	野生型	野生型	野生型	野生型
52	野生型	野生型	野生型	野生型
53	野生型	野生型	野生型	野生型
54	野生型	野生型	野生型	野生型
55	野生型／変異型	野生型／変異型	野生型	野生型

表4 エクソン2 スクリーニングシステムの精度

		ダイレクトシーケンス	
		陽性 (変異型、野生型／変異型)	陰性 (野生型)
スクリーニング	陽性 (変異型、野生型／変異型)	16	0
	陰性 (野生型)	2	36

表5 エクソン10 スクリーニングシステムの精度

		ダイレクトシーケンス	
		陽性 (変異型、野生型／変異型)	陰性 (野生型)
スクリーニング	陽性 (変異型、野生型／変異型)	0	6
	陰性 (野生型)	0	49

IV. 考察

スクリーニングシステムとして採用したミスマッチ PCR 法は、PCR 反応に用いるプライマーの一方を共通とし、もう一方のプライマーの3'断端を SNP の位置に合わせて、野生型、変異型の DNA に特異的に結合するように設計するものであり、1つのサンプルに対し、2種類のプライマーを使用した遺伝子増幅を行い、PCR 産物を比較し遺伝子型を判定するものである。それぞれの PCR 産物は以下の組み合わせの場合にできる（表6）。エクソン2、10それぞれで最適化した PCR 条件下でのスクリーニングを行った。スクリーニングは本来、迅速に実施できる検査システムを用いて、認識されていない疾病を早期発見できることから有効とされ広く実施されている。ゆえに、検査システムの精度は正確で

表6 ミスマッチ PCR 法における PCR 産物生成の組み合わせ

		プライマー型	
		野生型	変異型
遺伝子型	野生型	あり	なし
	変異型	なし	あり

ある必要がある。

今回われわれが開発したスクリーニングシステムが、DYX1C1 遺伝子変異を抽出できているか確認するため DNA サンプルの一部についてダイレクトシーケンスを行った。この結果、初期のエクソン 2 のスクリーニングにおいて全 55 サンプル中 2 サンプルで擬陰性の結果が出ていることが判明した。擬陰性とは、ダイレクトシーケンスによって遺伝子変異があるとわかったが、スクリーニングでは遺伝子変異なしと出ていることを示している。このスクリーニングシステム確立の目的はディスレクシアの遺伝的背景を持つ者の早期発見、早期介入であるので、擬陰性が出ないことがスクリーニングシステムの絶対前提である。ダイレクトシーケンスの結果を受けて、エクソン 2 のアニーリング・エクステンション温度を低くし、PCR 反応条件をゆるめ擬陰性が出ないように調整した。

また、エクソン 10 については擬陽性が 6 サンプル出しており、擬陽性を減らすためにスクリーニングシステムを厳しく調整する必要があることがわかった。現在、この過程でエクソン 10 の変異型人工合成遺伝子を使用し、PCR 反応条件を変更することを検討中である。また、今回のダイレクトシーケンスの結果から、エクソン 10 について以下 2 つの可能性も考えられる。一つ目は、DYX1C1 遺伝子エクソン 10 のコドン変異が日本人にはないという可能性、二つ目にエクソン 10 のコドン変異がディスレクシアに関与しないという可能性である。この点について検討するためにも、スクリーニングシステムの調整を行い、より大規模な調査を行う必要があると考えられる。

一方、今回スクリーニングシステム開発の過程で使用したディスレクシアの臨床症状を有する DNA サンプルは、ディスレクシアの統一されたガイドラインから抽出されていない。ディスレクシアの診断ラインをどこに引くかによって、サンプルの質にばらつきが出るおそれがあり、今後は統一されたガイドラインに沿って診断されたサンプルを用いてスクリーニングデータを収集することが必要だと考える。加えて、今後、統計的にディスレクシアの臨床症状のないコントロール群と対象群との間の有意差を判断するためにも、有症者のサンプルを増やしていく方針である。今回の研究で得られたデータからは、エクソン 2 においてディスレクシアの臨床症状がある者の方が、ない者よりも遺伝子変異の保有率が高いように思われる。

日本におけるディスレクシアは、過去の牧田による調査結果から発生率が非常に低いという認識が欧米でも通説になっており¹⁰⁾、その発生率の低さと日本語独特の漢字とかなの表記システムが関連付けて考えられてきた¹¹⁾。特に、かな文字と発音は完全に 1 対 1 で対応しており、英語圏での音韻認識の弱さがディスレクシアと関連するという理論から、日本語においては障害になりにくいと結び付けられやすい。英語をはじめとしたアルファベット表記の言語では、音韻の処理機能の問題をはじめ、障害のメカニズムについて複数の説が検証されている。一方では、読み書きは言語により使われる認知が異なると指摘されている。ヨーロッパを起源とする言語の病態は共通していることが分かってきているが、中国語では異なる脳機能が関与している可能性が示唆されている¹²⁾。つまり、英語圏での対応に準じて、そのまま日本でのディスレクシアの対応としたのでは、適切でないこともあると考えられる。日本語独特の障害メカニズムを明らかにし、認知障害の別で根拠に基づく対応を行う必要がある。また、日本でのディスレクシアは音韻処理機能に加えて、図形の認知や記憶力に関する能力である、視覚情報処理機能の障害が関与しているという説

も提案されている¹³⁾。

近年、学習指導要領の改訂により、小学校からの英語教育が始まっている。音韻や音素が不規則に対応する英語では、ディスレクシアの症状が出現することが予想される。早期英語教育により、“おちこぼれ、おちこぼしとなる子ども”が増えると考えられる。特に日本語学習でも症状の出現するディスレクシアは重症例である可能性があり、英語教育において顕著に症状が現れることもあると思われる。ディスレクシアをもつ子どもがはじめに困難を抱えるのは、主に学校であると想定される。学校での対応が適切であれば、二次障害の出現を抑えられると思われる。教員および保護者へのディスレクシアの正しい知識の普及、従来の指導方法の適切な変換、医療機関、専門的教育機関への紹介が必要とされる。遺伝的背景も考慮しつつ、保護者への支援も行っていかなければならない。

今回の研究から、日本人における DYX1C1 遺伝子変異はディスレクシアと関連するか明らかにすることは可能であると考えられる。ただ、KG Wigg らがカナダのトロントで行った研究では関連しないという結果が出ており⁸⁾、使用したサンプルの民族構成が異なれば、障害に関与する変異部位に影響が出る可能性がある。後続の研究でも Taipale らの結果は検証できていない¹⁴⁾。DYX1C1 遺伝子以外の候補遺伝子も報告されていること、男女で発症率が異なることから¹¹⁾、単一の遺伝子疾患でなく、複合的にいくつかの遺伝子が関与していることが推測される。ゆえに、他の候補遺伝子についてもスクリーニングシステムを確立し、最終的には日本人特有の遺伝的背景を考慮したスクリーニングシステム体系を確立することは可能であると考えられる。さらに、関連する遺伝子がディスレクシア発症にどう関わるのか、脳内認知機能にどう影響するのか明らかにし、脳内認知機能に対応した早期介入の治療的教育支援体制の確立を目指している。

謝辞

なお本研究は、文部省科学研究費（挑戦的萌芽研究：発達性読字障害における科学的評価基準作成ならびに教育支援開発）ならびに厚生労働省精神・神経疾患委託費（神経学的基盤に基づく発達障害の診断・治療ガイドライン策定に関する総合的研究）によるものである。

V. 文献

- (1) 宇野 彰, 波多野 和夫 高次神経機能障害はここまで変わった 株式会社 医学書院 145-153 (2002)
- (2) 国際ディスレクシア協会 (IDA) ホームページ <http://www.interdys.org/>
- (3) 小枝 達也, 関 あゆみ, 内山 仁志 疾患としての読み書き障害—就学早期からの治療的介入の試み—教育と医学 56(9): 898-907
- (4) 文部科学省「通常の学級に在籍する特別な支援を必要とする児童生徒に関する全国実態調査」調査結果 2003
- (5) 石井 加代子 認知・神経科学から見た発達性ディスレキシア LD 研究 15(1): 22-26 (2006)
- (6) 内山 千鶴子 学習障害児の長期経過—読み書き算数障害児の就学前より高校卒業までの追跡—小児の精神と神経 47(3): 161-167 (2007)
- (7) Sally E. Shaywitz, M.D. et al.(大石 敬子訳) 読みの科学とディスレクシア LD 研究 17(2): 218-230 (2008)
- (8) Wigg KG et al. Support for EKN1 as the susceptibility locus for dyslexia on 15q21. Molecular

- Psychiatry 1111-1121 (2004)
- (9) Mikko Taipale et al. A candidate gene for developmental dyslexia encodes a nuclear tetratricopeptide repeat domain protein dynamically regulated in brain. PNAS 100 : 11553-11558 (2003)
 - (10) 加藤 醇子 大会シンポジウムの企画について LD 研究 17(1) : 2-3 (2007)
 - (11) 広瀬 雄彦 日本語表記の心理学 単語認知における表記と頻度 株式会社 北大路書房 35-43 (2007)
 - (12) 若宮 英司 医療はどうかかわるのか LD 研究 17(1) : 7-11 (2007)
 - (13) 宇野 彰, 春原 則子 支援や指導に繋がる研究の必要性 LD 研究 17(1) : 11-15 (2007)
 - (14) Silvia Paracchini et al. The Genetic Lexicon of Dyslexia The Annual Reviews Genomics Human Genetics (8) 57-79 (2007)