

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K11507

研究課題名（和文）自閉症スペクトラム障害と臍帯血中 3系脂肪酸に関するコホート内症例対照研究

研究課題名（英文）A nested case-control study on autism spectrum disorder and omega-3 fatty acids in umbilical cord blood

研究代表者

濱崎 景（Hamazaki, Kei）

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：50533494

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：出産時に得られた臍帯血の血清 3系多価不飽和脂肪酸と5歳時点での自閉症スペクトラム障害のリスクとの関連について、症例75名と対照150名の1:2のコホート内症例・対照研究を行った。その結果、3系多価不飽和脂肪酸では、両群間で特に有意差は認められなかった。また、3系多価不飽和脂肪酸であるドコサヘキサエン酸、ドコサペンタエン酸、エイコサペンタエン酸を三分位に分けて、10の交絡因子で補正の上ロジスティック回帰分析を行った結果、最低三分位と比較して第2三分位および第3三分位ではオッズ比で特に有意差は認められなかった。また、トレンド検定でも特に有意な関連は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自閉症スペクトラム障害の原因はまだ完全には解明されておらず、遺伝的要因、環境要因、神経発達の異常など、複数の要因が関与している可能性がある。いくつかの症例対照研究では、神経発達に重要である3系多価不飽和脂肪酸が関与している可能性が示唆されているが、出生時の臍帯血中3系多価不飽和脂肪酸とその後の自閉症スペクトラム障害との関連をみた研究は少ない。そういった中、本研究の結果は重要な知見と考えられる。統計学的に有意な関連は認められなかった理由としては、日本の妊婦では、欧米と比べてこの関連が認められるほど3系多価不飽和脂肪酸の摂取が低いとは言えないのかもしれない。

研究成果の概要（英文）：We conducted a nested case-control study with a 1:2 ratio, consisting of 75 cases and 150 controls, to investigate the relationship between umbilical cord serum omega-3 polyunsaturated fatty acids obtained at birth and the risk of autism spectrum disorder at the age of 5. The results did not show any significant differences in omega-3 levels between the two groups. Furthermore, after adjusting for 10 confounding factors using logistic regression analysis, dividing the omega-3, docosahexaenoic acid, docosapentaenoic acid, and eicosapentaenoic acid, into tertiles, no significant differences were observed in the odds ratios for the second and third tertiles compared to the lowest tertile. Additionally, no significant associations were found in the trend analysis.

研究分野：疫学調査、脂質代謝、発達障害

キーワード：3系多価不飽和脂肪酸 自閉症スペクトラム障害 コホート内症例・対照研究

1. 研究開始当初の背景

妊娠期間中は多量の 3 系多価不飽和脂肪酸が胎児形成に必要とされており、特に妊娠第 3 三半期 (妊娠 28 ~ 40 週) では 1 日必要量が 67mg と最大となる (Clandinin MT, et al. Early human development. 5:355-66, 1981)。ドイツでの妊婦を対象にしたコホート研究では、妊娠中および授乳中において血清 3 系多価不飽和脂肪酸が徐々に減少することが報告されており、こういった状況で十分な

3 系多価不飽和脂肪酸を摂らないと、母親の組織中で 3 系多価不飽和脂肪酸が不足し、母子への健康 (産後うつや児の神経発達) に影響することは容易に想像できる。また日本人の母乳中の 3 系多価不飽和脂肪酸は、一昔前に比べると明らかに減少している (吉田敏ら. 日本脂質栄養学 28:124, 2019)。

自閉症スペクトラム障害は比較的早い時期よりコミュニケーションがうまくとれない、あるいはステレオタイプの行動をとるなどとして認識されているが、他の小児の精神疾患 (注意欠陥多動性障害、ディスレクシア、統合運動障害) と同様に多価不飽和脂肪酸の不足あるいはバランス異常が示唆されている (Richardson AJ et al. Lipids 2004; 39:1215-1222)。自閉症スペクトラム障害と多価不飽和脂肪酸に関しては、これまでいくつかの症例対照研究が報告されており、2017 年に報告された 15 の症例対照研究を統合したメタ解析 (n= 1193) の結果によると、自閉症スペクトラム障害で有意にドコサヘキサエン酸 (DHA)、エイコサペンタエン酸 (EPA)、アラキドン酸などの多価不飽和脂肪酸が低下しており、その一方で 6/ 3 比が有意に高いという結果であった。さらに、同論文では 4 つのランダム化比較試験のメタ解析も報告しており、プラセボ群と比較して 3 系多価不飽和脂肪酸投与群では、社会的相互作用や限定された興味と反復行動などといった症状を有意に改善していた (Mazahery H et al. Nutrients 2017, 9, 155)。なお、臍帯血血清の 3 系多価不飽和脂肪酸とその後の発達障害との関連を調べた研究は少なく、日本では皆無である。

2. 研究の目的

本研究は、臍帯血血清の 3 系多価不飽和脂肪酸の低下が 5 歳時点での自閉症スペクトラム障害の危険因子になっているかどうかを検証するコホート内症例対照研究である。

3. 研究の方法

本研究では、2010 年度より環境省で施行されている出生コホート研究「子どもの健康と環境に関する全国調査 (以下、エコチル調査)」において、協力機関である富山大学が独自に行っている「追加調査」の既存の生体試料および情報を利用した。追加調査では 3,837 名が登録されており、この中から 5 歳時点における質問票調査で、「4 歳からこれまでの 1 年間に、医師から以下の病気だと診断された事がありますか (4 歳以前から継続的に通院、治療している場合も含まれます)」で、「自閉症または類縁障がい (自閉症スペクトラム障がい、広汎性発達障がい、アスペルガー障がいなど)」にチェックを入れていて、かつ、臍帯血血清が保存されている症例が 75 名 (男児 60 名、女児 15 名) 該当した。これに対して、児の性別比を揃えて、検出力を確保するために症例の倍の 150 名の対照を無作為に抽出した (1:2 のコホート内症例対照研究)。

脂肪酸測定方法に関しては、血清 100 μ l にブチルヒドロキシトルエン 50 μ g/ml を含むメタノール-ヘキサン (4:1) を 2 ml、内標としてトリコンサン酸メチル (C23:0, 20.8 μ g/100 μ l) を 100 μ l、塩化アセチルを 200 μ l 加え、窒素置換し攪拌した後に 100 \times 1 時間で加熱した。その後、6% 炭酸カリウム溶液を 5 ml 加え、遠心分離 (3300 rpm, 4, 10 min) した後、上層のヘキサン層をマイクロバイアルに採取してガスクロマトグラフィーにて測定した (Masood A. et al 2005)。

それぞれの 3 系多価不飽和脂肪酸 (DHA、ドコサペンタエン酸 (DPA)、EPA) を三分位に分け、最低三分位を参照値として共変量で補正し、ロジスティック回帰分析にてオッズ比および 95% 信頼区間を算出した。なお、共変量には以下の 10 の項目を使用した: 出産年齢 / 運動強度 / 臍帯血中水銀濃度 / 妊娠中の就業有無 / 出産回数 / 世帯収入 / 教育歴 / 喫煙状況 / 飲酒状況 / 妊娠前 BMI。欠損値は、以下のように確認されたが、多重代入法にて補完した。出産年齢: 症例=0, 対照=0 / 運動強度: 症例=2, 対照=5 / 臍帯血中水銀濃度: 症例=1, 対照=0 / 妊娠中の就業有無: 症例=1, 対照=0 / 出産回数: 症例=0, 対照=1 / 世帯収入: 症例=6, 対照=8 / 教育歴: 症例=1, 対照=0 / 喫煙状況: 症例=1, 対照=0 / 飲酒状況: 症例=1, 対照=1 / 妊娠前 BMI: 症例=0, 対照=0。両側 $p < 0.05$ を統計的に有意とみなし、統計解析には SAS バージョン 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC) を使用した。

4. 研究成果

(1) 表 1 には、本研究で対象となった児および母親の背景を示す。児の性別については、マッチング因子であるため比は一致している。特記すべき事項としては、対照の方で妊娠中の就業有の割合が有意に高かった。その他の項目では特に有意差は認められなかった。

表 1. 参加者の背景

	症例 (n=75)	対照 (n=150)
Maternal age (year)	33.0 \pm 4.6	32.4 \pm 4.6

Child sex (male/female)	60 / 15	120 / 30
Highest educational level		
1. Junior high school or high school	22	41
2. Technical junior college, technical/vocational college, or associate degree	34	69
3. Bachelor's degree, postgraduate degree	18	40
Family income (JPY/year)		
1. < 4 million	26	33
2. 4 million - 6 million	20	50
3. 6 million +	23	59
Smoking status		
1. Never smoker	45	91
2. Ex smoker	29	57
3. Current smoker	0	2
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²), n (%)		
1. <18.5	14	29
2. 18.5-25	53	112
3. ≥25	8	9
Occupation during pregnancy (yes / no)	38 / 36	109 / 41
Parity of 1 or more (yes / no)	36 / 39	77 / 72
Median physical activity (mets·min/ day)	161 ± 379	223 ± 555
Alcohol intake		
1. Never	25	53
2. Quit before learning of pregnancy	19	23
3. Quit after learning of pregnancy, or current drinker	30	73
Cord serum mercury (ng/g)	3.85 ± 2.03	4.28 ± 1.90

(2) 表 2 に臍帯血血清脂肪酸組成の症例と対照の比較を示す。飽和脂肪酸では、特に有意差は認められなかった。一価不飽和脂肪酸では、ネルボン酸で症例の方が有意に高かった。なお、今回特に着目している 3 系多価不飽和脂肪酸 (DHA、DPA、EPA) については、いずれも有意差は認められなかった。また、6 系多価不飽和脂肪酸や 6/3 比についても特に有意差は認められなかった。

表 2. 臍帯血血清脂肪酸組成の比較

	症例 (n=75)	対照 (n=150)	<i>p</i> value
総脂肪酸のうちの割合 (%)			
飽和脂肪酸			
パルミチン酸	16 : 0 26.09 ± 0.82	25.95 ± 0.95	0.28
ステアリン酸	18 : 0 9.85 ± 0.77	9.77 ± 0.74	0.43
アラキジン酸	20 : 0 0.60 ± 0.08	0.58 ± 0.09	0.27
ベヘン酸	22 : 0 1.02 ± 0.16	1.00 ± 0.16	0.29
リグノセリン酸	24 : 0 1.07 ± 0.17	1.04 ± 0.17	0.30
総飽和脂肪酸	40.48 ± 1.45	40.14 ± 1.47	0.10
一価不飽和脂肪酸			
パルミトレイン酸	16 : 1 n-7 2.98 ± 0.58	2.90 ± 0.52	0.30
パルミトレイン酸	16 : 1 n-9 0.71 ± 0.14	0.72 ± 0.14	0.63
バクセン酸	18 : 1 n-7 2.63 ± 0.29	2.58 ± 0.26	0.18
オレイン酸	18 : 1 n-9 16.56 ± 1.65	16.78 ± 1.67	0.36

ゴンドイン酸	20 : 1 n-9	0.14 ± 0.06	0.13 ± 0.05	0.52
エルカ酸	22 : 1 n-9	0.03 ± 0.03	0.04 ± 0.03	0.89
ネルボン酸	24 : 1 n-9	1.67 ± 0.28	1.58 ± 0.30	0.03
総一価不飽和脂肪酸		24.79 ± 2.36	24.78 ± 2.25	0.98
6系多価不飽和脂肪酸				
リノール酸	18 : 2 n-6	10.21 ± 1.27	10.49 ± 1.42	0.16
エイコサジエン酸	20 : 2 n-6	0.25 ± 0.03	0.24 ± 0.04	0.36
ジホモ-リノレン酸	20 : 3 n-6	2.91 ± 0.40	2.82 ± 0.40	0.14
アラキドン酸	20 : 4 n-6	10.99 ± 1.06	11.08 ± 1.21	0.57
総 6系多価不飽和脂肪酸		25.49 ± 1.44	25.75 ± 1.60	0.23
3系多価不飽和脂肪酸				
-リノレン酸	18 : 3 n-3	0.23 ± 0.09	0.24 ± 0.10	0.79
EPA	20 : 5 n-3	0.59 ± 0.25	0.59 ± 0.24	0.94
ドコサペンタエン酸	22 : 5 n-3	0.39 ± 0.18	0.39 ± 0.14	0.81
DHA	22 : 6 n-3	4.87 ± 1.04	4.98 ± 0.94	0.43
総 3系多価不飽和脂肪酸		6.07 ± 1.33	6.19 ± 1.22	0.50
6/ 3 比		4.40 ± 1.02	4.32 ± 0.89	0.52

(3) 表 3 に臍帯血血清脂肪酸と産後うつとのオッズ比および 95%信頼区間を示す。今回特に着目している 3系多価不飽和脂肪酸(EPA, DHA, DPA)については、最低三分位を参照値として、第2~3 分位のオッズ比を算出したが、特に有意差は認められなかった。またトレンド検定においても有意な関連は認められなかった。さらに、総 6系多価不飽和脂肪酸、アラキドン酸、また 6/ 3 についても検討したが、いずれにも有意な関連は認められなかった。

表 3. 臍帯血血清脂肪酸と自閉症スペクトラム障害のオッズ比

	臍帯血血清脂肪酸の三分位			トレンド検定
	1 (Low)	2	3 (High)	
EPA				
範囲	<0.454	0.454-0.634	0.634<	
症例	26	24	25	
対照	50	50	50	
Model 1 ^a	1.0	0.92(0.47-1.82)	0.96(0.49-1.89)	0.91
Model 2 ^b	1.0	1.16(0.54-2.45)	1.31(0.58-2.94)	0.52
ドコサペンタエン酸				
範囲	<0.323	0.323-0.432	0.432<	
症例	30	20	25	
対照	50	50	50	
Model 1 ^a	1.0	0.67(0.34-1.33)	0.83(0.43-1.61)	0.57
Model 2 ^b	1.0	0.71(0.33-1.53)	1.04(0.50-2.18)	0.93
DHA				
範囲	<4.42	4.42-5.32	5.32<	
症例	27	24	24	
対照	50	50	50	
Model 1 ^a	1.0	0.89(0.45-1.75)	0.89(0.45-1.75)	0.73

Model 2 ^b	1.0	1.06(0.51-2.22)	1.31(0.60-2.85)	0.51
総 3				
範囲	<5.58	5.58-6.56	6.56<	
症例	30	19	26	
対照	50	50	50	
Model 1 ^a	1.0	0.63(0.32-1.27)	0.87(0.45-1.67)	0.65
Model 2 ^b	1.0	0.70(0.32-1.52)	1.20(0.56-2.57)	0.68
アラキドン酸				
範囲	<10.6	10.6-11.7	11.7<	
症例	21	35	19	
対照	50	50	50	
Model 1 ^a	1.0	1.67(0.85-3.25)	0.91(0.43-1.89)	0.81
Model 2 ^b	1.0	1.91(0.90-4.00)	0.86(0.38-1.93)	0.72
総 6				
範囲	<25.0	25.0-26.5	26.5<	
症例	27	29	19	
対照	50	50	50	
Model 1 ^a	1.0	1.07(0.56-2.07)	0.70(0.35-1.43)	0.35
Model 2 ^b	1.0	1.15(0.56-2.39)	0.62(0.28-1.38)	0.26
n-6/n-3				
範囲	<3.86	3.86-4.72	4.72<	
症例	27	21	27	
対照	50	50	50	
Model 1 ^a	1.0	0.78(0.39-1.55)	1.00(0.52-1.94)	1.00
Model 2 ^b	1.0	0.64(0.29-1.40)	0.63(0.29-1.37)	0.25

a: 補正なし。b: 以下の10の交絡因子で補正: 出産年齢 / 運動強度 / 臍帯血中水銀濃度 / 妊娠中の就業有無 / 出産回数 / 世帯収入 / 教育歴 / 喫煙状況 / 飲酒状況 / 妊娠前 BMI。
なお、欠損値は多重代入法にて補完した。

(4) 今回、臍帯血血清 3系多価不飽和脂肪酸(EPA, DHA, DPA)と自閉症スペクトラム障害とに関連が認められなかった理由としては、日本では魚食離れが進んでいるとは言え(厚生労働省)、諸外国と比べるとまだ魚の摂取量は多い方であり、関連が見られるところまでには至っていない可能性が考えられた。例えば、カナダで行われた調査では、臍帯血血漿 DHA3.6, EPA0.4 であり、明らかに今回の研究(DHA=4.87~4.98, EPA=0.59)の方が高い。本研究は対象者が富山県内在住であり、今後は母集団を代表するような標本に拡大していく必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	守口 徹 (Moriguchi Toru) (10512006)	麻布大学・生命・環境科学部・教授 (32701)	
研究分担者	稲寺 秀邦 (Inadera Hidekuni) (10301144)	富山大学・学術研究部医学系・教授 (13201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関