

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19218

研究課題名(和文)環境化学物質がADHD症状の多様性に及ぼす影響：事象関連脳電位を用いた検討

研究課題名(英文) Effects of prenatal exposure to environmental chemical compounds on ADHD symptom: An event-related brain potential study

研究代表者

山崎 圭子 (Yamazaki, Keiko)

北海道大学・環境健康科学研究教育センター・特任助教

研究者番号：60732120

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ADHDは注意や衝動性、多動の症状を持ち、近年は化学物質曝露の関与が指摘される。本研究はPCBs・dioxin胎児期曝露濃度と学童期の認知活動の関連をERPのP300を用いて検討した。前向き出生コホート研究「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」参加児514名中、同意した80名のオッドボール課題中の脳波を測定した。検査時年齢で調整したモデルでdioxin濃度とP300潜時の正の関連が有意であった。P300潜時はADHD傾向と正に相関した。P300潜時は刺激評価時間を反映するため、胎児期のdioxin曝露により学童期の認知活動が遅延し、ADHD症状に関連している可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The symptoms of ADHD are characterized by inattentiveness, impulsiveness, and hyperactivity. Recently, it is suggested that these symptoms might be due to prenatal exposure to environmental chemicals. In this study, we investigated the relationship between prenatal PCBs/dioxin concentration and cognitive ability of school-aged children using P300 of ERP. We recorded brain activity of 80 voluntary children during oddball paradigm, among 514 participants in Sapporo Cohort, the Hokkaido Study on Environment and Children's Health. Regression analysis showed significant positive relationship between dioxin level and P300 latency in a model adjusted by the children's age at recording. Furthermore, positive correlation between P300 latency and ADHD-RS score was significant. These results indicate that prenatal dioxin exposure might cause delay of cognitive process, which is related to ADHD symptom, because P300 latency reflects the time for stimulus evaluation process in the brain.

研究分野：環境疫学

キーワード：ERP P300 PCB・dioxin ADHD 出生前向きコホート 疫学

1. 研究開始当初の背景

AD/HD(Attention deficit hyperactivity disorder;注意欠如多動性障害)は、注意や衝動性、多動を中心とする発達障害であり、地域により変動するが、人口の約5%が発症する。これまでの研究では、フタル酸、BPA、PFCs・ダイオキシン類、鉛、*p,p'*-DDEなどの有機塩素系化合物などの環境化学物質曝露がAD/HD発症と関わる可能性が示されているが、研究間で結果が一致せず、確定していない(レビューとしてPolańska, Jurewicz, & Hanke 2013)。DSM-Vによると、AD/HD症状は、不注意優勢型、多動性・衝動性優勢型、混合型の3つに大別される。しかし、教科書通りのAD/HD症状は稀であり、個人間で多様な症状が観察されることが知られている(大村 2011)。

発達障害に対する影響のみならず、様々な認知機能の発達についても環境化学物質の影響が指摘されている。たとえば、母体内でのPCBs曝露は、知覚や注意機能の低下(Boucher 2010)、乳幼児期の運動発達の遅延(Nakajima 2006, Gascon 2013)に影響する。これらの環境化学物質は、認知機能の発達に悪影響を及ぼす可能性が高い。しかし、環境化学物質の曝露影響を調べた多くの先行研究では、全般的な発達程度や、発達障害を持つか否かのスクリーニングに用いるための神経心理学的検査が主流であり(Rossignol, Genuis, & Frye 2014, Polańska, Jurewicz, & Hanke 2013)、注意など各種の認知機能については未検討である。

神経心理学的検査には、養育者や周囲の大人が子どもの精神的・身体的・社会的発達の様相についての質問に答える、あるいは、子どもの運動能力や認知機能について、対面で直接課題を行わせるものなど、多くの種類が存在する。そのような検査は、行動特徴からわかる障害の可能性、および子どもの総合的な発達の程度について評価するために有用であるが、その基盤となる認知機能については記述することが難しい。たとえば、何らかの環境化学物質の影響として運動機能の低下が起こるとしても、それが刺激の認知、運動反応の選択、運動出力や実行機能のいずれの問題であるかについて明らかにできない。

詳細な認知機能について測定する手法としてERP(Event-related brain potential; 事象関連脳電位)がある。ERPとは、非侵襲的な脳活動の測定方法である、脳波を加算平均処理することによって得られる波形であり、人間の認知機能についてミリ秒単位での計測が可能な手法である。ERP研究では、特定の実験状況で観察される電位が同定されており、注意などの認知機能を詳細に検討できるという利点がある(Luck, 2005)。これらのERP電位の潜時と振幅を調べることにより、環境化学物質による神経発達への影響を、生体としての基盤を持つ、より限定的な認知機能の問題として捉えることが可能である。

PCBs・dioxin曝露による子供の認知発達への影響について、ERPを指標として調べた先行研究にBoucherら(2010)がある。彼らは、高濃度のPCBs・dioxin胎児期曝露がある場合、11歳時点で実施した聴覚オッドボール課題中のP300振幅が濃度に伴って減衰することを報告した。この結果から、高濃度のPCBs・dioxinへの曝露が、学童期の子どもの注意配分やワーキングメモリに影響することが示された。Dioxinへの胎児期曝露については、より低濃度であっても幼児期の運動発達を遅延させることが報告されているが(Nakajima et al., 2006)、その後の発達への影響については明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、比較的低濃度のPCB・dioxin胎児期曝露が学童期の認知発達、特にAD/HD傾向と関連する注意配分やワーキングメモリの機能に影響するかどうかについて、脳波のERPを用いて解明することを目的とした。そのため、学童期の児において観察されるオッドボール課題中のP300を測定し、その振幅・潜時と胎児期のPCB・dioxin曝露濃度との関連を検討することとした。

3. 研究の方法

対象者 2002年から2005年に札幌市の一産科医療機関においてリクルートを行い、前向き出生コホート研究「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」に参加登録した母児514組のうち、脳波測定について協力の同意が得られた80名を測定対象とした。

曝露測定 曝露評価は、妊婦426名について、妊娠23週から35週に採血した母体血中ダイオキシン類濃度PCDDs(7異性体)PCDFs(10異性体)、ダイオキシン様PCBs(12異性体)を、高分解能マススペクトロメーター(HRGC/HRMS法)で測定した(福岡県保健環境研究所)。

調査票 コホート登録時のベースライン調査票および出産時の病院記録により参加者の属性(母の年齢、学歴、出産回数、喫煙、アルコール、父の年齢、学歴、喫煙、年収、妊娠日数、児の性別、出生体重、出生身長、出生胸囲、出生頭囲)についての情報を収集した。また、脳波測定への協力依頼とともにADHD-RS(ADHD Rating Scale)およびASSQ(Autism Spectrum Screening Questionnaire)を送付し、現在の発達障害傾向について情報を得た。

脳波測定 手続き:参加者は脳波測定用の電極装着の後、視覚3刺激オッドボール課題を行った。刺激は白の画面中央に青色で提示した。SOA(刺激間隔)は2s、durationは300msであった。Easy条件ではSTD(標準刺激)は直径40mmの円、TGT(標的刺激)は直径28mmの円、NTG(逸脱刺激)は一辺が40mmの正方形とし、TGTにできるだけ早く正確に反応するよう教示した。Difficult条件では

TGTを直径36mmの円とした。呈示確率はSTDが70%、TGTとNTGが15%ずつとなるようランダムに提示した。100試行を1ブロックとし、各条件につき4ブロックずつ行った。本報告ではEasy条件についての結果のみを報告する。

記録と分析：EEGは頭皮上4電極(Fz, Cz, Pz, Oz)から時定数3sで記録した。Referenceは鼻尖で記録後にオフラインで両耳朶平均とした。Sampling rate 1000 Hz, オフラインで30 HzのLow-pass filterを用いた。分析は $\pm 75 \mu V$ を超えるノイズ試行および誤反応があった試行を除去の後、刺激呈示前200 msをbaselineとして1000 ms間を加算平均した。

統計解析 ERPの加算平均回数が各刺激について10回以上、かつPCBs・dioxinデータがある児69名を対象とした。PCBs・dioxinデータはLog10変換したのち、アウトカムをP300平均振幅および頂点潜時として重回帰分析を行った。Model1では検査時年齢、Model2ではそれに加えて、妊娠中のアルコール摂取の有無、児の性別、母乳摂取期間が3か月以上か否かで調整した。

4. 研究成果

参加者の特徴 ERP測定を行った参加者のうち男児が33名、女児は36名、測定時の平均年齢は11.9歳(SD 0.7)であった。出産時の母の年齢は32.7歳(SD 4.7)、妊娠中にアルコール摂取した参加者は22名(31.9%)、喫煙者はいなかった。

Dioxin濃度 本研究での中央値はTEQ(毒性等価量)に換算して17.1 pg/g lipidであった。同一集団で130人程度について解析した先行研究では中央値17.8 pg/g lipidであり(Nakajima et al., 2006)、本研究では人数は少ないがdioxin濃度についての参加者間の偏りは大きくなかったと考えられる。

P300振幅および潜時 頭頂部位の電極Pzにおいて優勢であり、TGT刺激呈示時に最大振幅を示すP300が観察された。総加算平均波形より、潜時390-490ms間の平均電位をP300の平均振幅とし、同区間で最大の陽性となる時点をP300頂点潜時とした(Fig. 1)。P300平均振幅と参加者の特徴との間に有意な相関は見られなかったが、頂点潜時とADHD-RSの総得点($\beta = 0.43, p < 0.01$)、不注意得点($\beta = 0.44, p < 0.01$)、多動衝動性得点($\beta = 0.37, p < 0.01$)、および検査時年齢($\beta = -0.35, p < 0.01$)との間で正の相関が有意であった。また、妊娠中の母のアルコール摂取の有無により潜時が短縮する傾向が認められた($t = -1.7, p = 0.09$)。

dioxin胎児期曝露濃度とP300 重回帰分析の結果、Total PCBsとP300との間に有意な相関は見られなかった(Table 1)。また、dioxin胎児期濃度とP300についても、crudeでは相関は見有意でなかったが、検査時年齢

で調整したModel1($\beta = 42.33, 95\%CI: 1.70, 82.96$)では正の相関が有意であった。加えて妊娠中の母のアルコール摂取と児の性別、母乳摂取期間で調整したModel2($\beta = 1.18, 95\%CI: 0.12, 2.25$)では正の相関が有意傾向であった。検査時年齢などの影響を考慮した場合には、dioxin胎児期曝露濃度が高いほどP300潜時が延長する可能性が示された。P300潜時は認知的な刺激評価時間を反映することから、dioxin胎児期曝露により、学童期において認知判断にかかる時間が延長する可能性が考えられる。Boucherら(2010)の先行研究では、聴覚オッドボール課題におけるP300の振幅がPCBs胎児期曝露濃度と関連して減衰することが報告されているが、本研究ではPCBs・dioxinと振幅の関連は観察されなかった。刺激モダリティが異なること、曝露濃度の違いなどが考えられる。

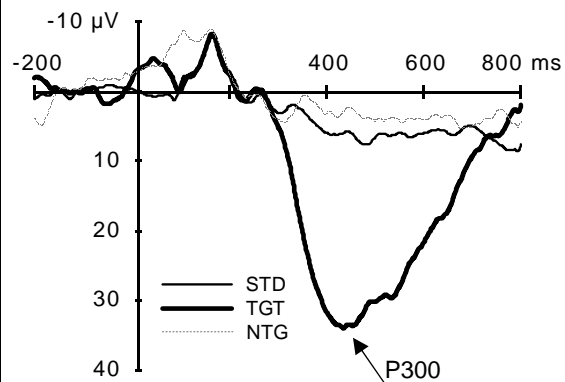


Fig. 1 総加算平均波形(頭頂部電極Pz)

Table 1 母体血中のTotal PCBsおよびTotal dioxin TEQ (pg/g lipid)とP300振幅・潜時との関連 (n = 69)

| | P300 Amplitude | | P300 Latency | |
|---------------|----------------|--------------|---------------|---------------------|
| | Crude | Crude | Crude | Crude |
| | β^a | 95% CI | β^a | 95% CI |
| Crude | | | | |
| PCBs | 1.3 | (-6.2, 8.7) | 6.2 | (-28.2, 40.6) |
| Dioxin | -1.9 | (-11.0, 7.2) | 17.4 | (-24.5, 59.2) |
| Model1 | | | | |
| PCBs | 1.1 | (-6.5, 8.7) | 13.0 | (-19.6, 45.5) |
| Dioxin | -2.7 | (-12.4, 7.1) | 42.3** | (1.7, 83.0) |
| Model2 | | | | |
| PCBs | -0.01 | (-8.3, 8.3) | 14.3 | (-21.0, 49.6) |
| dioxin | -2.6 | (-13.0, 7.9) | 21.7* | (-4.2, 82.4) |

ADHD-RS得点とdioxinによるP300潜時への影響

P300潜時とADHD-RS得点の間には正の相関が観察されたことから、ADHD-RSで高得点であるほどP300潜時が延長した。PCBs・dioxin濃度とADHD傾向との間に相関は見られなかったが($p > 0.05$)、このことはADHD症状とdioxin胎児期曝露との関係性を示唆す

るかもしれない。

本研究の限界と今後の展開 本研究の限界として、参加者の人数が少ないことがあげられる。特に ADHD 傾向との関連の解析については、今後人数を増やして検討することが必要と考えられる。

<引用文献>

- Polanska, K., Jurewicz, J., Hanke, W., 2013. Review of current evidence on the impact of pesticides, polychlorinated biphenyls and selected metals on attention deficit / hyperactivity disorder in children. *International journal of occupational medicine and environmental health* 26(1), 16-38.
- Omura, K., 2011. ERP revisited as indices of executive function for ADHD. *Bulletin of Yamagata University. Educational Science*(2), 131-142.
- Boucher, O., Bastien, C.H., Saint-Amour, D., Dewailly, E., Ayotte, P., Jacobson, J.L., Jacobson, S.W., Muckle, G., 2010. Prenatal exposure to methylmercury and PCBs affects distinct stages of information processing: an event-related potential study with Inuit children. *Neurotoxicology* 31(4), 373-384.
- Nakajima, S., Saijo, Y., Kato, S., Sasaki, S., Uno, A., Kanagami, N., Hirakawa, H., Hori, T., Tobiishi, K., Todaka, T., Nakamura, Y., Yanagiya, S., Sengoku, Y., Iida, T., Sata, F., Kishi, R., 2006. Effects of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on mental and motor development in Japanese children at 6 months of age. *Environmental health perspectives* 114(5), 773-778.
- Gascon, M., Verner, M.A., Guxens, M., Grimalt, J.O., Fornes, J., Ibarluzea, J., Lertxundi, N., Ballester, F., Llop, S., Haddad, S., Sunyer, J., Vrijheid, M., 2013. Evaluating the neurotoxic effects of lactational exposure to persistent organic pollutants (POPs) in Spanish children. *Neurotoxicology* 34, 9-15.
- Rosignol, D.A., Genuis, S.J., Frye, R.E., 2014. Environmental toxicants and autism spectrum disorders: a systematic review. *Translational psychiatry* 4, e360.
- Luck, S. J. (2005). *An Introduction to the Event-Related Potential Technique*. Cambridge, MA: MIT Press.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

[雑誌論文](計4件)

- R. Kishi, A. Araki, M. Minatoya, T. Hanaoka, C. Miyashita, S. Itoh, S. Kobayashi, Y. Ait Bamai, K. Yamazaki, R. Miura, N. Tamura, K. Ito. H. Goudarzi; The Hokkaido birth cohort study on environment and children's health: Cohort profile - updated 2017, *Environmental Health and Preventive Medicine*, in press 査読有 doi: 10.1186/s12199-017-0654-3
- 西原進吉, 荒木敦子, 宮下ちひろ, 山崎圭子, 岸玲子, 殺虫用途の農薬への曝露と ADHD を中心とした神経発達障害との関連についての疫学研究動向, *北海道公衆衛生学雑誌*, in press 査読有 <http://hpha.web.fc2.com/gakuzassi.htm>(北海道公衆衛生協会 HP)
- M. Minatoya, S. Itoh, A. Araki, N. Tamura, K. Yamazaki, S. Nishihara, C. Miyashita and R. Kishi; Associated factors of behavioural problems in children at preschool age: the Hokkaido study on environment and children's health., *Child: care health and development*, 2016 査読有 doi: 10.1111/cch.12424.
- 小林澄貴, 池野多美子, 荒木敦子, 山崎圭子, 西原進吉, 岸玲子, 環境化学物質の胎児期曝露による児の神経発達への影響に関する疫学文献レビュー: 注意欠如・多動性障害 (AD/HD)・自閉症スペクトラム (ASD)を含めて, *北海道公衆衛生学雑誌*, 29(2), 31-40, 2016 査読有 <http://hpha.web.fc2.com/gakuzassi.htm>(北海道公衆衛生協会 HP)

[学会発表](計3件)

- 山崎圭子, 宮下ちひろ, 伊藤佐智子, 荒木敦子, 小林祥子, 水谷太, 菅木洋一, 岸玲子, 胎児期の有機塩素系農薬曝露が母児の甲状腺ホルモンに及ぼす影響-北海道スタディ, 第86回日本衛生学会, 「旭川文化会館(北海道・旭川市)」(2016.5.11-13.)
- 山崎圭子, 関あゆみ, 岸玲子, 胎児期 PCB・dioxin 曝露が学童期の脳活動に与える影響についての予備的検討, 第34回日本生理心理学会, 「名古屋大学東山キャンパス(愛知・名古屋)」(2016.5.14-15)
- 山崎圭子 学際領域における心理学と生理心理学, 日本心理学会若手の会・異分野間協働懇親会, 「ホテルマホロバ・マイズ三浦(神奈川県・三浦市)」(2016.03.7-8)

[その他]

ホームページ等
北海道大学環境健康科学研究教育センター
<https://www.cehs.hokudai.ac.jp/>

環境と健康ひろば
<https://www.cehs.hokudai.ac.jp/hiroba/>

環境と子どもに関する北海道研究・北海道スタ
タディ
<https://www.cehs.hokudai.ac.jp/hokkaido-study/>

6．研究組織

(1)研究代表者

山崎 圭子 (YAMAZAKI, Keiko)

北海道大学・環境健康科学研究教育センター・特任助教

研究者番号：60732120