

令和 6 年 10 月 3 日現在

機関番号：13401

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(A））

研究期間：2021～2023

課題番号：20KK0280

研究課題名（和文）過去の養育状況が子の認知・社会性発達に及ぼす影響とそのエピゲノム因子の同定

研究課題名（英文）Effects of parenting status on the cognitive social development of children and identification of epigenomic factors.

研究代表者

藤澤 隆史（Fujisawa, Takashi）

福井大学・子どものこころの発達研究センター・准教授

研究者番号：90434894

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 10,800,000円

渡航期間： 24ヶ月

研究成果の概要（和文）：本研究では、基課題において既にサンプリングされ、エピゲノムワイド解析を終えているメチル化アレイデータを対象に、機械学習を用いてエピゲノム情報に基づいた養育状況および発達状況のリスク推定モデリングの構築を行った。その結果、モデルはテストデータにおいて、小児期逆境体験の有無に関する推定リスクスコアは71.5%、分類性能の指標であるAUCは0.76という高い性能を示した。またリスク推定に関与しているメチル化部位は「シナプス伝達」や「神経システム発生」に関与していることが見いだされた。また、本研究の有効性を傍証するために、メンタルヘルス領域におけるメチル化リスク推定モデルに関するレビューを行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子の養育状況（特に小児期逆境体験や社会的養護）発達状況の関連性は重要な課題であると考えられるが、近年、メチル化アレイデータから健康リスクを推定するデータサイエンスが盛んに行われている。本研究では、先行研究のメチル化アレイデータに基づき機械学習を用いて子の発達状況に関するリスク推定モデルを構築した。エピジェネティックな変異は遺伝要因と環境要因のインタラクションに基づいた心理発達現象の分子基盤とも捉えられ、養育状況と発達状況（認知・社会性）との関連性を探るという点において、本研究の試みは学術的意義が高いと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we used machine learning to construct risk estimation modeling of parenting and developmental status based on epigenomic information on methylation array data for 60 individuals who had already been sampled and completed epigenome-wide analysis in the previous study. The results showed that the model performed well on the test data, with an estimated risk score of 71.5% for the presence of childhood adversity experience and an AUC of 0.76, a measure of classification performance. The methylation sites involved in risk estimation were found to be involved in “synaptic transmission” and “neural system development”. In addition, a review of methylation risk estimation models in the mental health domain was conducted to investigate the validity of this study.

研究分野：発達心理学

キーワード：発達 養育状況 エピジェネティクス 養育環境

1. 研究開始当初の背景

近年、女性の社会進出、少子高齢化など人口構造の変化などの問題から、親（養育者）には養育スタイルの変化や多様性が求められているものの、養育スタイルの違いが子の発達に対して、どのような影響をもたらすのかについての科学的エビデンスは乏しい状況である。また子の養育状況と発達状況の関連性は、小児期逆境体験などにより社会的養護を受けている子どもの場合には、より重要な課題であると考えられる。一方で、ヒトの末梢サンプルを対象としたバイオマーカー研究では、メチル化アレイデータから年齢などの基礎情報だけでなく、寿命や喫煙状況など健康リスクを推定してしまうデータサイエンスが盛んに行われている。共同研究者らのチームでは、メチル化アレイデータに機械学習を適用することで、在胎週数や収集や女性ホルモンであるエストロゲン濃度を推定するモデルを構築してきたが (Knight & Smith, 2016; Hack & Smith, 2020) 我が国においてもメチル化アレイデータに基づいた「子どものこころ」の発達リスク推定モデリングを開発することは急務であると考えられる。

2. 研究の目的

上記の問題意識から、基課題では、養育状況（過去のアロペアレンティング状況や小児期逆境体験による社会的養護）が、子の発達状況（認知・社会性）やその神経基盤にどのような影響を及ぼすのかについて、母子インタラクションの行動評価や脳イメージングを中心に後方視的に検討してきた。しかしながら、その分子生物学的基盤についてはホルモン動態や遺伝子多型に基づく遺伝的個人差との関連性の検討にとどまっておらず、養育環境の違いによって規定される発達状況の分子基盤については未検討の課題として残されたままであった。そこで本研究では、基課題に上記 Smith 博士との共同研究で得たエピゲノム解析の知見と手法を適用することで、養育環境の違いによって規定される発達状況の分子基盤を同定することを目的とする。具体的には、基課題および申請者らのグループで既にサンプリングされ、エピゲノムワイド解析を終えている 60 名分のメチル化アレイデータを対象に、アロペアレンティング状況および子の発達状況（認知・社会性）に関するエピゲノム情報を同定し、エピゲノム情報に基づく養育状況や発達状況のリスク推定モデリングを構築することを目的とする。

3. 研究の方法

基課題および申請者らのグループで既にサンプリングされ、エピゲノムワイド解析を終えている 60 名分のメチル化アレイデータを対象に、子の過去の養育状況（アロペアレンティング状況や小児期逆境体験の有無）や発達状況（認知・社会性）に関するエピゲノム情報を同定し、エピゲノム情報に基づく養育状況や発達状況のリスク推定モデリングを構築する。

- (1) ゲノムワイドデータの品質確認を行う。各サンプルのゲノムワイド解析を既に終えているが、共同研究先の推定アルゴリズムを適用するために、共同研究先が推奨する前処理方法を習得し、実行と品質確認を行う。共同研究先であるエモリー大学の Smith 博士は、PGC (Psychiatric Genomic Consortium) for PTSD の EWAS working group の代表者であり、PCG が提唱する PGC パイプライン (Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2017) に則った前処理を実施する。
- (2) エピゲノムワイド関連解析手法を行う。共同研究先が実施している DMP(CpGassoc)、ゲノムワイド解析に生じやすいインフレの修正 (bacon)、バッチエフェクトの調整 (sva, COMBAT) Enrichment 解析 (GO, KEGG) Horvath のアルゴリズムによる血中細胞種推定、唾液中頬粘膜細胞率推定 (EpiDISH) メチル化年齢推定 (PedBE) を実施する。また、同時に取得している脳構造・機能画像データ (T1, DTI, rs-fMRI) との関連性についても解析する。
- (3) Smith 博士らの研究グループがメチル化アレイデータに機械学習 (Elastic Net, Random Forest) に適用することで構築した在胎週数推定モデルやエストロゲン濃度推定モデルと同様のアルゴリズムに基づき、(1)(2)のメチル化アレイデータに対して、子の過去の養育状況（アロペアレンティング状況や小児期逆境体験の有無）や発達状況（認知・社会性）のリスク推定モデリングを構築する。

先行研究では、脳構造画像に対して機械学習を適用することで感受性期解析を実施したが、メチル化アレイデータが有する諸特徴を十分に考慮した推定モデリングでは構築に困難が予想されることから、共同研究によりこの点を補完することで、世界に先駆けた発達リスク推定モデリングの構築に寄与する。

4. 研究成果

- (1) 既存データから、小児期逆境体験の有無を推定する機械学習を行った結果、Elastic Net (EN) により 143 のメチル化部位が小児期逆境体験の推定に有意に関連するとされ、調整パラメータ(λ)の収束にも問題ないことが確認された。機械学習の種類による比較では、Random Forest (RF) ではテストデータにおいて 84% の精度 ($p < 0.001$)、Support Vector Machine (SVM) では 97% の精度 ($p < 0.001$) で推定可能であることが確認された。SVM で精度が上昇した理由の一つとしては、多くのサンプル数を必要とする機械学習の中で、SVM はサンプル数の少なさにも比較的頑健な特長を示すという点が挙げられる。次に、認知機能を推定する機械学習を行った結果、EN による関連メチル化部位の選択では 155 のメチル化部位が認知機能の推定に有意に関連するとされ、また λ の収束にも問題ないことが確認された。SVM によるテストデータの推定結果では、実際の認知機能指標と認知機能指標推定値の相関は $r = 0.84$ で有意に強く相関することが確認された。さらに認知機能は小児期逆境体験の有無とも関連しており、逆境体験あり群はなし群よりも認知機能指標が低いことが確認され、この傾向は SVM による認知機能指標推定値においても再現された。学習に用いたトレーニングデータとテストデータのデモグラフィックデータに有意差は無く、また変数間の相関も確認されなかったことから、予測値はメチル化部位データからモデリングされたものであることを示唆している。しかしながら、以上の結果は他拠点による独立サンプリングデータに対して有効な推定性能が示されないことが明らかとなった。本研究による局所データのみからの推定モデリングは局所サンプルに対する推定精度を高めすぎた結果、人種や組織特異性などに対する汎化性能が失われていることが示唆された。そこで本研究の推定モデリングの枠組みを複数のコホートサンプル (米国 Atlanta の小児期逆境体験の唾液サンプルである GTP コホート、米国 Providence の小児期逆境体験の血液サンプルである BEAR コホート) へ適用し、モデルの妥当性について検証することとした。

- (2) 対象は上記 3 拠点からリクルートした小児期逆境体験への曝露児および非曝露児 373 名の唾液および血液から抽出した DNA であり、サンプルからの抽出 DNA に対して、約 45 ~ 85 万カ所のメチル化部位をカバーする 450k および EPIC アレイにより網羅的解析を実施した。

小児期逆境体験の有無を推定する機械学習の結果、EN により 688 のメチル化部位が小児期逆境体験の推定に有意に関連するとされ、エラスティックネットにより 45 万のメチル化部位の中から 3337 のメチル化部位が推定に有意であると抽出された。機械学習の種類による比較では、テストデータによる推定成績では、RF は EN や SVM に比べて分類性能が劣っていたが、EN と SVM は同等程度であった。EN は SVM よりも特異度が高く、感度が低かったが、 κ 係数はわずかに高く 0.6 以上であったことから、EN がわずかに優れた分類性能であることが示唆された。EN によるテストデータの推定精度では、小児期逆境体験の有無に関する推定リスクスコアは 71.5% であった。また、分類性能の指標である AUC は 0.76 であり、感度は 0.76、特異度は 0.67 という高い分類性能を示した (図 1)。またリスク推定に貢献している 3337 ケ所のメチル化部位についてエンリッチメント解析 (GO 解析、KEGG 解析) を実施したところ、「シナプス伝達」や「神経システム発生」に関与していることが見いだされた。本国際共同研究によるこれまでの成果は、他拠点コホートによるさらなる妥当性検証の可能性も考慮しつつ、共同研究先の助言を踏まえながら論文出版を予定している。

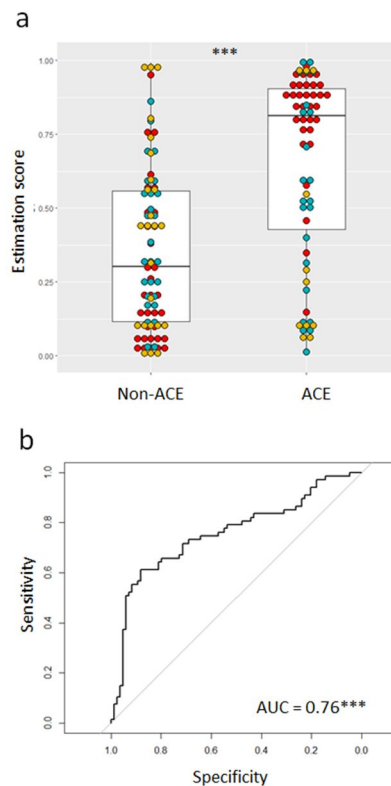


図 1. テストデータによる推定リスクスコア (a. 群間比較 b. ROC 曲線)

- (3) 本研究の有効性について傍証するために、メンタルヘルスの疾患リスクや重症度を予測するためにエピゲノムデータを利用した先行研究についてレビューを行い、メチル化アレイデータに対して機械学習を適用したデータサイエンスの有効性に関するレビュー論文を出版した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nishitani Shota, Smith Alicia K, Tomoda Akemi, Fujisawa Takashi X	4. 巻 16
2. 論文標題 Data Science Using the Human Epigenome for Predicting Multifactorial Diseases and Symptoms	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Epigenomics	6. 最初と最後の頁 273 ~ 276
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2217/epi-2023-0321	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

福井大学子どものこころの発達研究センター https://rccmd.med.u-fukui.ac.jp/kodomo/

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
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	スミス アリーシャ (Smith Alicia)	エモリー大学・医学部・教授	

6. 研究組織（つづき）

	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
その他の研究協力者	ニュージェント ニコール (Nugent Nicole)	ブラウン大学・医学部・教授	

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			
	米国	エモリー大学	ブラウン大学	ハーバード大学