

令和 6 年 6 月 22 日現在

機関番号：32641

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K18653

研究課題名（和文）遺伝子多型はADHD児の脳の薬物応答特性を変えるのか？

研究課題名（英文）Effects of genotypes on neuropharmacological responses of ADHD children

研究代表者

檀 一平太（Dan, Ippeita）

中央大学・理工学部・教授

研究者番号：20399380

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、注意欠如多動症（ADHD）児の遺伝的背景が薬物治療にもたらす効果を脳活動のモニタリングを通して明らかにすることである。ADHDにおけるドーパミン産生異常の可能性を考慮し、遺伝子としてカテコール-O-メチルトランスフェラーゼ（COMT）を対象とした。この変異型では脳内ドーパミンの濃度が高くなりがちである。参加者中、変異あり群は14名、なし群は15名であった。Go / No-go課題遂行中の脳活動をfNIRS（機能的近赤外分光分析法）で計測した。結果を総合すると、COMT遺伝子の変異有無は、抑制に関する前頭前野の機能には関係ない可能性が高く、一方、運動機能への可能性は考慮された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

注意欠如多動症（ADHD）の原因はドーパミンの産生異常という説が有力である。その治療薬のメチルフェニデートは脳内のドーパミン濃度を上げる効果がある。そこで、ドーパミン分解に関するカテコール-O-メチルトランスフェラーゼ（COMT）遺伝子に着目した。このVal型は酵素活性が高く、Met型では脳内ドーパミンの濃度が高くなりがちである。そこで、ADHD児の遺伝的背景が薬物治療にもたらす効果を脳活動のモニタリングによって解析した。その結果、COMT遺伝子の影響は抑制機能に関しては限定的であることがわかってきた。ADHDの脳機能と薬物治療効果に遺伝子型は関係ない可能性が高い。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to explore the effect of genetic background on drug treatment in children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) by monitoring brain activation. We focused on COMT gene: its variant tends to increase the concentration of dopamine in the brain. Cortical activation during the Go / No-go task was measured by fNIRS (functional near infrared spectroscopy). The results suggest that the presence or absence of mutations in the COMT gene is likely not related to prefrontal cortex function related to inhibition, while its potential for motor function was taken into account.

研究分野：脳機能イメージング

キーワード：注意欠如多動症 発達障害 遺伝子 薬物治療 脳機能 機能的近赤外分光分析法

1. 研究開始当初の背景

注意欠如多動症 (ADHD) は、不注意、多動、衝動性を中核症状とする発達障害である¹。有病率は 5-7%程度と高く、学業不振や社会的不適応、精神疾患の発症という二次障害の危険もあり、重大な社会的問題となっている²。

ADHD の発症に遺伝的要因が影響することは間違いない。一卵性双生児研究から推定された遺伝率は 70-80%である³。また、親兄弟に ADHD が存在する場合、発症率は 2-8 倍となる^{4,6}。一方でこの数字は、遺伝的背景が決定論的ではないことも表わしている。実際、これまで ADHD の原因因子の遺伝子探索は熱心に行なわれてきたが、いまだ決定的な成果はない。

そこで我々は、ADHD への遺伝子の影響は限定的であると考え、その上で治療効果をなるべく向上させるというアプローチを採る。その第一歩として、遺伝子的背景が ADHD 児の薬物治療に及ぼす影響を脳機能の変化からとらえる。この準備として、我々は光を用いた無侵襲の脳機能イメージング法、fNIRS (機能的近赤外分光分析法) を用いて ADHD に特徴的な脳機能変化を可視化し、診断や投薬治療効果を客観的に評価する方法を開発した⁷⁻¹⁴。これまで ADHD 児の治療法については客観的な基準がなく、治療効果を示すバイオマーカーが希求されていたが、我々は抑制課題遂行時の右前頭前野の脳活動が ADHD 児の診断と薬効評価に有用な指標であることを明らかにした。このような準備研究をふまえ、我々は、fNIRS を用いて、遺伝子的背景が ADHD 児の薬物治療に及ぼす影響を脳機能の変化から定量化する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、注意欠如多動症 (ADHD) 児の遺伝的背景が薬物治療にもたらす効果を脳活動のモニタリングを通して明らかにすることである。これによって、遺伝的背景に応じて、ADHD 児が自分に合った適切な投薬治療を受けることが可能となる。ADHD はドーパミンの産生異常という説が有力であり¹、その治療薬の MPH はドーパミン再取り込み阻害剤としてドーパミン受容体近傍でのドーパミン濃度を上げる効果がある。そこで、対象とする遺伝子は、カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ (COMT) を第一とする¹⁵。

3. 研究の方法

COMT については、rs4680 遺伝子多型を対象とした。これは COMT タンパク質の第 158 番目アミノ酸において、バリン (Val) がメチオニン (Met) に変異したもので、野生型である Val 型 (rs4680(G)) に対して、Met 型 (rs4680(A)) は約 25% の酵素活性しか持たない。この結果、Met 型では、脳内ドーパミンの濃度が高くなりがちである¹⁵。

COMT 遺伝子について ADHD 児の薬物脳反応特性との関係を比較検討した。遺伝子採取は口腔粘膜から行ない、採取サンプルは -80 度の冷凍庫に保存した。TaqMan プローブを用いたリアルタイム PCR 法により、対象となる SNP を蛍光強度の違いから検出した。

被験者については、これまでに計測に参加していただいた ADHD 児に対して、遺伝子情報を取得した上で、遺伝子型と脳活動データとの関係を後ろ向きに再解析することとした。これまでの実験参加者のうち、2015 年までの計測対象者に関してはカルテにて基本的な診療データへの紐付けがなされている。それ以降の計測対象者については、12 種類の神経心理学検査を付随して実施している。当初予定では、約 80 名の遺伝子情報が得られると予想していたが、Covid-19 の流行、および、流行終息後においても、感染不安の影響が残っており、当初予定していた人数のリクルートは断念した。結果として、29 名の ADHD 児が実験に参加した。

脳機能計測を伴う実験の課題には、我々の先行研究と同様に Go / No-go 課題を用いた⁷⁻⁹。この課題は 2 種類の動物のイラストのどちらにもボタンを押す Go ブロックと、2 種類の動物のイラストのうち特定の動物のイラストが表示された場合にはボタンを押し、もう一方のイラストが表示された場合にはボタンを押しなないようにボタンを押し分ける Go / No-go ブロックの 2 種類がある。Go/No-go ブロック時に、ボタン押しの抑制が必要になるため、抑制に関する能力を測定することができる。ADHD 児が反応の抑制を不得手とするため、定型発達児と比べた時の反応抑制の行動データの違いや脳活動の評価が可能である。定型発達児と比べ脳活動においても抑制の機能に関わる領域で賦活が見られにくいことが示されている⁷⁻⁹。

本研究では、光トポグラフィ装置 ETG-400 (Hitachi Medical Corporation, Kashiwa, Japan) を使用した。分光計測には 2 波長の近赤外線 (695nm および 830nm) を利用して脳血流動態を計測する装置し、サンプリングレートは 10Hz とした。Modified Beer-Lambert 法に基づいた光学データの分析によって、酸素化ヘモグロビン (oxy-Hb) 脱酸素化ヘモグロビン (deoxy-Hb) の信号変化を記録した。先行研究⁷⁻⁹と同様に、Go/No-go 課題で賦活が見られることが報告されている、前頭及び側頭領域を覆うように、3×5×2 のマルチチャンネルプローブホルダーを装着した。プローブは送光器が 8 個、受光器が 7 個で、隣接するプローブ間の距離は 3 cm であり、1 組の送光器と受光器の間の中点をチャンネルとして定義し、両側の合計で 44 チャンネルが得られた。脳血流計測後に 3D デジタイザー (Patriot, Polhemus, VT, USA) を用いて、各被験者のプローブ位置を測定した。3D デジタイザーの空間データから、チャンネルの空間座標推定を行うため、確率的レジスト

レーション法を用い、チャンネルの空間座標を MNI (Montreal Neurological Institute) 標準脳座標系上の座標で表現した¹⁶。その後、MNI 座標から Broadman area (Chris roaden' MRIcro) による脳地図を参照した¹⁷。

ADHD 児は課題中の体動が大きく時系列データにアーチファクトが多く含まれた可能性があるため、本研究においては、区間平均による解析を行った。各被験者の全ての Ch における時系列データにおいて、解析対象区間は Go ブロックの後半 10 秒間(ベースライン)と、Go/No-go ブロックの開始 4 秒後から 24 秒まで (ターゲット区間) とした。次に医師の診断を基に、29 名の被験者を ASD 併存の有無によって 2 群に分けた。これは、先行研究により ASD 併存の ADHD 児と純粋な ADHD 児では脳活動が異なることが示されているためである¹³⁻¹⁴。

全てのチャンネルの区間平均値に対して 2 段階で解析を行った。

まず、各群の MPH の服薬前後それぞれで、ターゲット区間からベースライン区間の値の差分を取り、one-sample t test (vs 0) を行った。この時、被験者数が少ないため、Cohen's $d \geq |0.5|$ であった Ch を賦活と見なした。その結果を踏まえ、各群の服用前、服用後のいずれかで賦活した Ch に限定して、計測時点(pre, post)×ASD 併存の有無(併存あり、なし)×遺伝子(変異有、変異なし)の 3way ANOVA を行った。

4 . 研究成果

COMT 遺伝子の解析の結果、被験者は A/A 及び、A/G の型の遺伝子を持つ群と、G/G 型の遺伝子を持つ 2 群に分けられた。前者を変異のある群、後者を遺伝子変異なし群とした。変異のある群は 14 名、変異なし群は 15 名であった。

脳機能解析の結果、ASD 併存なし群では、Oxy-Hb 信号の MPH 服用前で左 supramarginal gyrus と左 angular gyrus に位置する 3Ch で賦活が見られた。MPH 服用後で、左の precentral gyrus, 右の postcentral gyrus を含む 7 領域に位置する 9 Ch で賦活していた。

また、ASD 併存あり群では、Oxy-Hb 信号において MPH 服薬前は、the bilateral middle frontal gyrus, the left middle temporal gyrus, the left superior temporal gyrus の 3 領域に位置する 4 Ch で賦活が見られた。MPH 服用後は、the left postcentral gyrus (Ch7) と the right middle temporal gyrus (Ch 35) に位置する 2 Ch が賦活した。

上記の ASD 併存あり群となし群の両群の服用前後どちらかの時点で賦活を示した Ch に限定して、被験者間要因を計測時点(服用前・服用後)、被験者内要因を ASD 併存の有無(ASD 併存あり・なし)、遺伝子変異の有無(遺伝子変異あり・なし)の 3 要因混合計画 ANOVA を行った。

ANOVA の結果、Oxy-Hb において Ch3 (左 supramarginal gyrus) で計測時点の主効果が見られた。また、Ch7 (左 post-central gyrus) で計測時点と ASD 併存の有無の交互作用が、Ch16 (左 precentral gyrus) で計測時点と遺伝子変異の有無の交互作用が見られた。

これらの結果を総合すると、COMT 遺伝子の変異有無は、抑制または注意に関する前頭前野の機能には関係ないという解釈が妥当となった。一方で、運動機能に関わるドーパミン経路が、MPH の服用によって、安定化するという可能性は考えられる。

現状では、COMT 遺伝子の変異が ADHD の認知機能に関わるという可能性は低く、この意味では遺伝子決定論的な議論を惹起する恐れは少ないと言える。一方で、最終的な結論の導出については、引き続き慎重な態度を以て行うべきであり、今後、Deoxy-Hb 信号の解析結果も踏まえた判断が必要であり、最終的な結論の報告については、現時点では時期尚早と考えている。

一方で、本研究の遂行に際して、ADHD 児の後ろ向き調査を行ったが、その過程で、MPH による薬物治療を中止した被験者が一定数明らかになり、それらの被験者の脳機能を Go/Nogo 課題を用いて再び解析したところ、定型発達児と同様の賦活が見られることが分かった。この結果から、いったんは ADHD と判断された児童においても、一定の割合で右前頭前野の機能回復が見られるということが明らかになった (投稿中) 。

また、本研究の解析への必要性から、比較的少人数のサンプルについて、脳の賦活を検定する際の多重比較補正法に関して、新たな統計解析手法を生み出した¹⁸。

このように、本研究に関しては、予定被験者数の確保が困難であったがゆえの計画変更を余儀なくされたが、その一方で予想外の成果もえられるという展開となった。

【参考文献】

- 1) Barkley, R. A. (1997). Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: constructing a unifying theory of ADHD. *Psychological bulletin*, 121(1), 65.
- 2) Polanczyk, G., De Lima, M. S., Horta, B. L., Biederman, J., & Rohde, L. A. (2007). The worldwide prevalence of ADHD: a systematic review and metaregression analysis. *American journal of psychiatry*, 164(6), 942-948.
- 3) Burt, S. A. (2009). Rethinking environmental contributions to child and adolescent psychopathology: a meta-analysis of shared environmental influences. *Psychological bulletin*, 135(4), 608.
- 4) Biederman, J., Keenan, K., & Faraone, S. V. (1990). Parent-based diagnosis of attention deficit disorder predicts a diagnosis based on teacher report. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 29(5), 698-701.

- 5) Biederman, J., Faraone, S. V., Keenan, K., Benjamin, J., Krifcher, B., Moore, C., ... & Tsuang, M. T. (1992). Further evidence for family-genetic risk factors in attention deficit hyperactivity disorder: Patterns of comorbidity in probands and relatives in psychiatrically and pediatrically referred samples. *Archives of general psychiatry*, 49(9), 728-738.
- 6) Faraone, S. V., Biederman, J., Keenan, K., & Tsuang, M. T. (1991). Separation of DSM-III attention deficit disorder and conduct disorder: evidence from a family-genetic study of American child psychiatric patients. *Psychological medicine*, 21(1), 109-121.
- 7) Monden, Y., Dan, H., Nagashima, M., Dan, I., Kyutoku, Y., Okamoto, M., ... & Watanabe, E. (2012). Clinically-oriented monitoring of acute effects of methylphenidate on cerebral hemodynamics in ADHD children using fNIRS. *Clinical Neurophysiology*, 123(6), 1147-1157.
- 8) Monden, Y., Dan, H., Nagashima, M., Dan, I., Tsuzuki, D., Kyutoku, Y., ... & Momoi, M. Y. (2012). Right prefrontal activation as a neuro-functional biomarker for monitoring acute effects of methylphenidate in ADHD children: an fNIRS study. *NeuroImage: Clinical*, 1(1), 131-140.
- 9) Nagashima, M., Monden, Y., Dan, I., Dan, H., Tsuzuki, D., Mizutani, T., ... & Yamagata, T. (2014). Acute neuropharmacological effects of atomoxetine on inhibitory control in ADHD children: a fNIRS study. *NeuroImage: Clinical*, 6, 192-201.
- 10) Nagashima, M., Monden, Y., Dan, I., Dan, H., Tsuzuki, D., Mizutani, T., ... & Yamagata, T. (2014). Neuropharmacological effect of methylphenidate on attention network in children with attention deficit hyperactivity disorder during oddball paradigms as assessed using functional near-infrared spectroscopy. *Neurophotonics*, 1(1), 015001-015001.
- 11) Nagashima, M., Monden, Y., Dan, I., Dan, H., Mizutani, T., Tsuzuki, D., ... & Watanabe, E. (2014). Neuropharmacological effect of atomoxetine on attention network in children with attention deficit hyperactivity disorder during oddball paradigms as assessed using functional near-infrared spectroscopy. *Neurophotonics*, 1(2), 025007-025007.
- 12) Monden, Y., Dan, I., Nagashima, M., Dan, H., Uga, M., Ikeda, T., ... & Yamagata, T. (2015). Individual classification of ADHD children by right prefrontal hemodynamic responses during a go/no-go task as assessed by fNIRS. *NeuroImage: Clinical*, 9, 1-12.
- 13) Tokuda, T., Ikeda, T., Monden, Y., Mizushima, S. G., Inoue, T., Nagashima, M., & Ujiie, Y. (2018). Methylphenidate-elicited distinct neuropharmacological activation patterns between medication-naive attention deficit hyperactivity disorder children with and without comorbid autism spectrum disorder: a functional near-infrared spectroscopy study. *Neuropsychiatry*, 8(3), 917-929.
- 14) Sutoko, S., Monden, Y., Tokuda, T., Ikeda, T., Nagashima, M., Kiguchi, M., ... & Dan, I. (2019). Distinct methylphenidate-evoked response measured using functional near-infrared spectroscopy during go/no-go task as a supporting differential diagnostic tool between attention-deficit/hyperactivity disorder and autism spectrum disorder comorbid children. *Frontiers in human neuroscience*, 13, 7.
- 15) Schacht, J. P. (2016). COMT val158met moderation of dopaminergic drug effects on cognitive function: a critical review. *The pharmacogenomics journal*, 16(5), 430-438.
- 16) Tsuzuki, D., Jurcak, V., Singh, A. K., Okamoto, M., Watanabe, E., & Dan, I. (2007). Virtual spatial registration of stand-alone fNIRS data to MNI space. *Neuroimage*, 34(4), 1506-1518.
- 17) Tsuzuki, D., & Dan, I. (2014). Spatial registration for functional near-infrared spectroscopy: from channel position on the scalp to cortical location in individual and group analyses. *Neuroimage*, 85, 92-103.
- 18) Yamamoto, Y., Kawai, W., Hayashi, T., Uga, M., Kyutoku, Y., Dan, I. (2024). Adjusting effective multiplicity (Meff) for family-wise error rate in fNIRS data with a small sample size. *Neurophotonics* (in press).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamamoto, Y., Kawai, W., Hayashi, T., Uga, M., Kyutoku, Y., Dan, IY	4. 巻 -
2. 論文標題 Adjusting effective multiplicity (Meff) for family-wise error rate in fNIRS data with a small sample size	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Neurophotonics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 林念念、田中日花里、大島沙織、倉根超、檀一平太、門田行史
2. 発表標題 ADHD 児におけるメチルフェニデート服用終了後の脳活動について探索的研究
3. 学会等名 日本ADHD学会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

人間総合理工学科4年生の林念念さん、日本ADHD学会優秀発表賞受賞！ http://www.human.chuo-u.ac.jp/news/7406

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	門田 行史 (Monden Yukifumi) (80382951)	自治医科大学・医学部・准教授 (32202)	

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
---------	---------