

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月17日現在

機関番号：10101
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23659341
 研究課題名（和文） エピジェネティクス及び環境遺伝交互作用による注意欠陥／多動性障害発症リスクの解明
 研究課題名（英文） To assess the risk of Attention Deficit/Hyper-Activity Disorder cause by Epigenetic action and gene environment interaction.
 研究代表者
 岸 玲子 (KISHI REIKO)
 北海道大学・環境健康科学研究教育センター・特任教授
 研究者番号：80112449

研究成果の概要（和文）：

出生前向きコホートで8才児の注意欠陥／多動性障害（ADHD）への喫煙影響を明らかにするため、Conners3を用い調査した。8歳児1,192名から調査票を回収した。アウトカムはConners3の「不注意」「多動衝動」「総合指標」得点で評価した。妊娠前の母親、7歳時両親が喫煙している場合、各得点が高かった（ $p=0.014\sim 0.006$ ）。Conners3得点からADHD疑い群8名と対照群28名に対面調査を実施した。WISC-IVによる知能検査は両群に差がなかった。ADHD発症に関わる化学物質曝露と代謝関連遺伝子多型、環境遺伝交互作用を総説にまとめた。

研究成果の概要（英文）：

In this study, for clarification of the effect of smoking on ADHD in 8-year old children, questionnaires containing Conners3 were used in a prospective cohort study. Questionnaires were filled by 1,192 cases with 8 years old. ADHD as outcome were considered as ‘attention-deficit’, ‘hyperactive impulsive’ and ‘comprehensive index’. Smoking of mothers before pregnancy and parents with children at the age of 7 years old, was higher in all of 3 mentioned ADHD categories ($p=0.014\sim 0.006$). Using Conners3 criteria, 8 cases of ADHD were compared to 28 cases as control group. Intelligence test by WISC-IV did not show any significant differences between both of groups. Factors related to ADHD development including environmental chemical exposure, metabolism-related genetic polymorphism and genetic-environment interaction were summarized in a review article.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学・健康科学

キーワード：注意欠損・多動性障害（ADHD）、環境要因、エピジェネティクス、喫煙、葉酸、環境遺伝相互作用

1. 研究開始当初の背景

注意欠陥／多動性障害（ADHD）は小児期に発症する精神疾患の中では遺伝性が最も高いものである。ADHDの有病率は高く、アジア、アフリカを含めた全世界では5.3%と報告されている（Polanczykら、2007）。一方、わが

国では小規模な疫学調査で有病率10.5%とされたが（Sugawaraら、1999）、これに続く疫学研究はまだない。ADHD発症に関与するリスク遺伝子としてDAT1、DRD4遺伝子などの多型が候補とされたが、発症原因のごく一部しか説明できず、また、結果も一致していない

ことから環境要因の関与が示唆されてきた。欧米の研究では ADHD 発症の環境要因として鉛曝露、妊娠中の喫煙や飲酒、低出生体重などが報告され (Millichap, 2008), 特に、妊婦の喫煙による ADHD 発症のリスク上昇は約3倍であった (Linnet ら, 2003)。近年、環境要因との交互作用を評価することが原因遺伝子発見につながるとされ、喫煙、飲酒、心理的ストレスを検討した研究では胎児期曝露で交互作用が認められた (Neuman ら 2007 ほか)。申請者らは、妊婦の喫煙と遺伝子多型の交互作用で出生体重が低下し、喫煙が胎児発育に負の環境要因であることを報告した (Sasaki ら, 2006, 2008)。患者数が増加している ADHD 発症リスクの解明においても、喫煙と遺伝子の交互作用を検証する疫学研究の必要性は高いといえる。

2. 研究の目的

(1) 北海道全域の出生前向きコホート (平成 24 年度登録妊婦 20,940 名) で、8 歳に達した児を対象に、ADHD をアウトカムに調査票で、国際的に最も使用されている ADHD 関連症状調査票 (Conners3 日本語版) ならびに生活環境要因について調査し、環境要因の発症リスクを明らかにする。

(2) コホート内症例対照研究で Conners3 日本語版 (以下 Conners3 とする) の総合指標得点の上位 5% を ADHD 疑い群として、性・年齢をマッチした対照群を設定し、対面調査により児の認知能 (WISC-IV), 行動評価 (CBCL), 養育ストレスなどを調査する。

(3) 遺伝子の後天的修飾であるエピジェネティクスの関与に着目した DNA メチル化解析、さらに社会経済的環境との環境遺伝交互作用も評価するため、ADHD 発症に関わる環境化学物質曝露とその代謝に関する遺伝子多型と環境遺伝交互作用について先行研究を調査する。

3. 研究の方法

研究対象者は、大規模出生コホート

(20,940 名登録) に参加し、平成 24 年度 8 歳に達した児 2,171 名である。

(1) 児の養育者にアウトカムとなる ADHD 関連症状を把握する Conners3 を含む調査票を送付した。調査票では児の健康状態、睡眠時間、遊びの性向 (PSAI), メディア接触時間、養育環境 (HOME), 両親の喫煙状況、経済状態、ライフイベントについても尋ねた。回収した調査票は、すでに入力済みの妊娠初期調査票、出産時調査票、7 歳児調査票と連結した。胎児期喫煙曝露評価として妊娠後期母体血コ

チニン値の測定を終了し、葉酸摂取影響としては妊娠初期母体血葉酸値を (測定済み) を用いた。Conners3 から「不注意」「多動衝動」「総合指標 (3GI)」の T 得点を用い、喫煙状況との関連を検討した。喫煙状況は、自記式調査票による妊娠前、妊娠中母親の喫煙の有無、7 歳時母・父それぞれの喫煙の有無と、妊娠中母体血の血漿中コチニン値は 3 群

(25.00ng/ml 以下, 25.01~79.9ng/ml, 80.00ng/ml 以上) に分けた。解析はデータクリーニングの終了した 619 名について行った。(2) コホート内症例対照研究を設定するため、Conners3 の ADHD 診断の疑いを判断する

「Conners 3 総合指標 (3GI)」, 「Conners 3 総合指標短縮版 (3AI)」得点の上位 5% から、対照群は性、年齢をマッチした中から抽出し、かつ対面調査協力の承諾が得られた母児を対象とした。児には認知能として WISC-IV を、母親には児の行動評価として CBCL と養育ストレス状況などを尋ねた。

(3) ADHD 発症に関わる環境化学物質曝露要因、脳内神経伝達物質とその代謝関連遺伝子について先行研究を調査した。次に環境化学物質曝露の次世代影響におけるエピジェネティクス研究の動向を調べた。

4. 研究成果

(1) 8 歳時調査票は 1,192 名から回収し (回収率は 55%), 619 名について解析を行った。調査票からは、ADHD 診断を受けた児は 12 名 (1.9%), 発達障害診断を受けた児は 14 名 (2.3%) であった。日本では 3~7% 前後の報告が多いが、やや低い結果であった。Conners3 の「不注意」「多動衝動」「Conners3 総合指標 (3GI)」の得点分布を図に示した。Conners3 総合指標得点から DSM-IV-TR 基準で ADHD が疑われた数は 31 名 (5.01%) で、タイプ別の「不注意」粗点、「多動衝動」粗点を表 1 に示した。Conners3 の「不注意」T 得点は 52.6 ± 11.0 , 「多動衝動」T 得点は 48.3 ± 8.7 , 「Conners3 総合指標 (3GI)」T 得点は 51.1 ± 10.9 であった。これら 3 つの得点を喫煙状況別に比較した。喫煙状況は妊娠中母体血の血漿中コチニン値の 3 群 (25.00ng/ml 以下, 25.01~79.9ng/ml, 80.00ng/ml 以上), 妊娠前・妊娠中の母親の喫煙の有無, 7 歳時母親・父親の喫煙状況別 (非喫煙・禁煙・喫煙) に比較した。血漿中コチニンの 3 群間に、ADHD 各得点の差は見られなかった。調査票による喫煙の有無では、妊娠前に喫煙している群は、「多動衝動」得点が有意に高く ($p=0.009$), 他の 2 得点も高い傾向を示した。7 歳時の母親の喫煙状況は、

「不注意」「多動衝動」「Conners3 総合指標」すべての得点が、喫煙している群で有意差が認められた (p=0.032~0.006)。父親の喫煙状況は「多動衝動」「Conners3 総合指標」得点に差があった (p=0.014~0.010)。母親、父親とも、非喫煙者より喫煙しているほうが、また途中禁煙しても ADHD 関連症状の各得点が高い結果であった。

コチニン値は妊娠後期母体血で 16,980 件、葉酸値は妊娠初期母体血で 20,181 件の測定を終了した。本研究で解析した対象者 619 名については、母体血漿コチニン値平均 8.60ng/ml (N=529)、母体血清葉酸値は 8.4 ng/ml (N=553) であった。(図 1, 図 2, 図 3, 表 1, 表 2)

図1 「不注意」IT得点分布

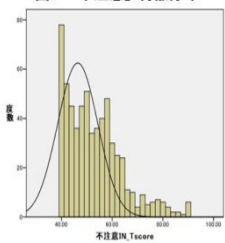


図2 「多動衝動」IT得点分布

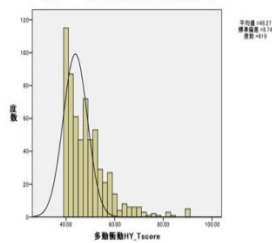


図3 「3GI」IT得点分布

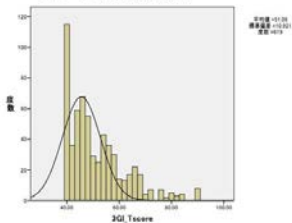


表1 Conners3「不注意」「多動衝動」粗点 結果

	N (%)	「不注意」点 (SD)	「多動衝動」点 (SD)
対照 ¹⁾	588 (95.0)	5.91 (4.08)	4.53 (3.63)
ADHD疑い ²⁾	31 (5.0)	20.41 (4.38)	15.39 (7.20)
不注意型	17 (2.8)	19.41 (3.36)	10.47 (5.12)
多動-衝動型	2 (0.3)	13.00 (1.41)	20.50 (0.71)
混合型	12 (1.9)	23.08 (4.06)	21.50 (4.52)

1) 対照: DSM-IV-TR基準によりADHD診断がつかない

2) ADHD疑い: DSM-IV-TR基準によりADHDと診断がつく可能性が高い

(2) ADHD 疑い群 8 名, 対照群 28 名に対し, 児の WISC-IV 検査, 問題行動 (CBCL), 母親のストレス状況を対面調査で行った。WISC-IV

表2 喫煙とADHD関連症状の関連

	N	不注意得点 平均±SD	P	多動衝動得点 平均±SD	P	Conners3 総合指標 平均±SD	
						平均±SD	P
母体血漿中コチニン値 ¹⁾							
≤25.00ng/ml	487	52.3±10.9		48.1±8.6		50.9±10.9	
25.01~79.99ng/ml	20	55.0±13.4	0.389	52.0±12.3	0.273	52.9±14.4	0.880
80.00ng/ml以上	22	53.2±8.6		47.6±7.5		51.7±11.1	
妊娠前 ²⁾ 母							
非喫煙	452	52.2±11.0		47.9±8.7		50.6±10.7	
喫煙	167	53.6±10.9	0.078	49.3±9.9	0.009	52.3±11.4	0.059
妊娠中 ²⁾ 母							
非喫煙-禁煙	575	52.4±10.9		49.2±8.6		50.9±10.8	
喫煙	44	55.0±12.0	0.136	49.2±10.1	0.542	52.7±12.4	0.432
7歳 母 ¹⁾							
非喫煙	453	52.1±10.7		47.7±8.0		50.4±10.3	
禁煙	37	56.4±12.1	0.032	49.5±7.7	0.006	53.8±11.3	0.021
喫煙	85	53.9±10.6		50.5±10.2		53.4±12.2	
7歳 父 ¹⁾							
非喫煙	239	51.4±10.2		47.0±7.6		49.4±9.5	
禁煙	90	52.8±10.5	0.021	48.0±7.8	0.014	50.4±9.8	0.010
喫煙	217	53.9±11.5		49.3±9.1		52.8±12.1	

1) Kruskal-Wallis検定

2) Mann-WhitneyのU検定

による全検査知能 (FSIQ) の合成得点は ADHD 疑い群 106.5±15.8, 対照群 102.4±13.0 で有意な差はなかった。下位検査である言語理解, 知覚推理, ワーキングメモリー, 処理速度のいずれも両群に差は認められなかった。(3) ADHD と環境化学物質との関連では, 内分泌攪乱物質であるフタル酸エステル類, 有機フッ素化合物, 有機塩素化合物, 有機臭素系化合物について報告があった。ADHD の環境要因, 遺伝的発症要因および交互作用に関する先行研究では, 喫煙に関して遺伝子多型との交互作用が認められていた。また, 胎児期環境化学物質曝露が児ゲノム DNA のメチル化に与える影響では, タバコ由来化学物質や多環芳香族炭化水素などの曝露により, 児ゲノムメチル化パターンが変動することが確認された。環境要因では喫煙曝露によるメチル化の変化が大きかった。

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)

(1) 安住 薫, 小林 祥子, 岸 玲子. 環境化学物質曝露の次世代影響の解明におけるエピジェネティクス研究. 北海道公衆衛生学雑誌, 査読有, 26, 2012, 29-38

(2) Yila TA, Sasaki S, Miyashita C, Braimoh TS, Kashino I, Kobayashi S, Okada E, Baba T, Yoshioka E, Minakami H, Endo T, Sengoku K, Kishi R. Effects of maternal 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and tobacco smoking on infant birth weight in a Japanese population. J Epidemiology. 査読有, 2012, 22(2), 2012, 91-102

DOI:10.2188/jea.JE20110039

(3) Sasaki S, Braimoh TS, Yila TA, Yoshioka E, Kishi R. Self-reported tobacco smoke exposure and plasma cotinine levels during pregnancy - A validation study in Northern Japan. Science of the Total

Environment. 査読有, 2011, 412-413, 114-118
DOI:10.1016/j.scitotenv.2011.10.019
(4) Kishi R, Sasaki S, Yoshioka E, Yuasa M,
Sata F, Saijo Y, Kurahashi N, Tamaki J, Endo
T, Sengoku, K, Nonomura K, Minakami H.
Cohort Profile: The Hokkaido Study on
Environment and Children's Health in Japan.
Int J Epidemiol. 査読有, 40(3), 2011,
611-618
DOI: 10.1093/ije/dyq071

[学会発表] (計7件)

- ① 白石秀明. てんかんガイドラインを用いた
小児てんかん治療の実際, 第46回日本てん
かん学会プレコングレスセミナー (招待講
演). 2012. 10. 10, 東京 都市センターホテ
ル
- ② Shiraishi H, Magnetoencephalography is
useful for postsurgical evaluation in
patients with catastrophic epilepsy, 18th
International Conference on Biomagnetism
(Biomag 2012). 2012. 8. 27, Maison de la
Chimie, France
- ③ 岸玲子. 出生コホート研究による次世
代影響解明など生涯を通じた人々の健康増
進のための環境疫学研究. 第82回日本衛生学
会学術総会学会賞受賞講演 (招待講演).
2012. 3. 26, 京都市 京都大学吉田キャン
パス
- ④ 池野多美子, 小林澄貴, 馬場俊明, 岸玲子.
注意欠損・多動性障害 (ADHD) の文献
Review(1)-有病率と発生に関する要因. 第
82回日本衛生学会学術総会. 2012. 3. 24-3. 26,
京都市 京都大学吉田キャンパス
- ⑤ 小林澄貴, 池野多美子, 馬場俊明, 岸玲子,
注意欠損・多動性障害 (ADHD) の文献
Review(2)-環境要因と遺伝要因, その交互作
用. 第82回日本衛生学会学術総会.
2012. 3. 24-3. 26, 京都市 京都大学吉田キャン
パス
- ⑥ Braimoh TS, Sasaki S, Yila TA, Baba T,
Miyashita C, Okada E, Kashino I, Ito K,
Kobayashi S, Yoshioka E, Kishi R. Effects
of prenatal environmental tobacco smoke
exposure on infant birth size. The
American Public Health Association (APHA)
139th Annual Meeting and Exposition.
2001. 10. 29-11. 2, Washington Convention
Center, USA
- ⑦ 岸玲子. 環境リスクの次世代影響: わが国
で最初の本格的な出生コホートによる先天
異常・発達・免疫アレルギーの検討. 「環
境と子どもの健康に関する北海道研究」. 第
28回日本医学会総会 (招待講演), 2011. 9. 18,
東京 東京ビックサイト

[その他]

ホームページ等
<http://www.cehs.hokudai.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岸 玲子 (KISHI REIKO)
北海道大学・環境健康科学研究教育センタ
ー・特任教授
研究者番号: 80112449

(2) 研究分担者

安住 薫 (AZUMI KAORU)
北海道大学・環境健康科学研究教育センタ
ー・特任講師
研究者番号: 90221720
池野 多美子 (IKENO TAMIKO)
北海道大学・環境健康科学研究教育センタ
ー・特任講師
研究者番号: 80569715
吉岡 英治 (YOSHIOKA EIJI)
旭川医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 70435957

(3) 連携研究者

白石 秀明 (SHIRAISHI HIDEAKI)
北海道大学・大学病院・助教
研究者番号: 80374411
佐々木 成子 (SASAKI SEIKO)
北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・
助教
研究者番号: 30448831