

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461769

研究課題名(和文) ASD社会性機能障害発症機序における「環境×遺伝子相互作用」の解明

研究課題名(英文) Investigation into the influences of gene x environment interaction on the emergence of ASD-like behavioral tendency during early development

研究代表者

土居 裕和 (DOI, Hirokazu)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・講師

研究者番号：40437827

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、「環境×遺伝子相互作用」と、乳児期におけるASD様行動傾向発現との関連性を検証するため、乳児を対象とした縦断追跡を実施した。縦断追跡では、注視点計測・質問紙によるASD様行動傾向評価に加え、臍帯血サンプルを採取し、「環境×遺伝子相互作用」検証のためのデータベースを整備した。さらに、文献調査により、簡易に計測可能な、ASD特異的な非定型的脳機能マーカーを同定する為、発達障害児・者を対象としたfNIRS計測研究の文献調査を行った。その結果、小児ADHDでは、右半球とりわけ右前頭前野に局限した非定型的脳機能活動が多くみられたが、ASDでは、一貫した非定型的パターンは認められなかった。

研究成果の概要(英文)：The present study primarily aimed to investigate the influences of gene x environment interaction on the emergence of ASD-like behavioral tendency during early infancy. To achieve this goal, we carried out longitudinal investigation on large cohort of mother-infant pairs, and collected umbilical cord blood samples and the evaluations of ASD-related behavioral tendencies using gaze tracking and questionnaires. Another aim of the present study was to establish an easily-measurable marker of atypical neural function in developmental disorders. The systematic review of fNIRS (functional near-infrared spectroscopy) studies revealed right-lateralization in atypical neural function in children with ADHD, but no consistent pattern was observed in people with ASD.

研究分野：認知神経科学

キーワード：ASD 縦断追跡 環境 遺伝子 ダイオキシン

## 1. 研究開始当初の背景

環境ホルモン様物質は、胎生期神経系発達における性腺ホルモンの作用をかく乱することで、脳性分化異常をもたらすことが明らかにされている (Petersen, Krishnan & Hudgens, 2006)。一方、ASD 発症機序として有力視されている「ASD 脳性分化異常仮説」によれば、胎生期における脳性分化異常が、ASD 社会性機能障害の主たる要因の一つである (Auyeung, Lombardo & Baron-Cohen, 2013)。したがって、環境ホルモン様物質への胎生期曝露は ASD 社会性機能障害をもたらす環境リスク因子の有力候補であると考えられる。

以上を踏まえ、ダイオキシン類への胎生期曝露 (胎生期ダイオキシン類曝露) が、環境リスク因子の一つとして、ASD 社会性機能障害の発症に関与している可能性が高い。しかし、既存のダイオキシン類毒性評価試験において検討対象とされてきた神経機能は、言語などの知的機能に限られており、胎生期ダイオキシン類曝露と社会性機能障害との関連性については、ほとんど明らかになっていない。

一方、自身のこれまでの研究成果 (Doi et al., 2013 等) を踏まえ、研究代表者は、胎生期ダイオキシン類曝露レベル (環境リスク因子) とダイオキシン類への遺伝的脆弱性 (遺伝的リスク因子) の「環境 x 遺伝子相互作用」を通じて、ASD における社会性機能障害がもたらされるとの新規発症機序モデル = < ASD 社会性機能障害の環境 x 遺伝子相互作用モデル > を着想した (図 1 参照)

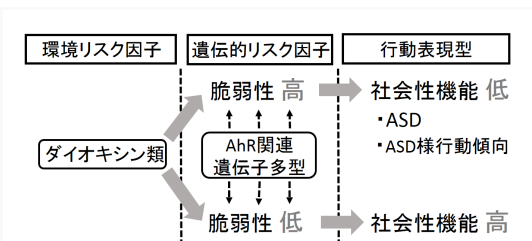


図 1. <環境 x 遺伝子相互作用モデル> の概略

## 2. 研究の目的

本研究では、< ASD 社会性機能障害の環境 x 遺伝子相互作用モデル > の妥当性を実証的に検証するため、胎生期ダイオキシン類曝露レベル (環境リスク因子) と、AhR 関連遺伝子多型 (遺伝的リスク因子) の「環境 x 遺伝子相互作用」に焦点を合わせ、以下の課題に取り組んだ。

**課題(1)** 胎生期からの乳児コホート研究により、生後の社会性機能発達・ASD 様行動傾向発現と「環境 x 遺伝子相互作用」との関連性を解明する。

**課題(2)** 小児 ASD 患児の社会性機能障害重

症度と「環境 x 遺伝子相互作用」の関連性を解明する。

課題(2)では、十分な症例数が得られなかった。そこで、以下では、課題(1)の研究成果の概略を報告する。また、以上の研究に加え、今後のコホート計測で利用する ASD 様行動傾向の客観的評価指標の確立を目的として、簡易に計測可能な、非定型的脳機能活動マーカーに関する文献調査を実施した。

**課題(3)** ASD 様行動傾向計測指標に関する文献調査

近赤外分光法 (NIRS) を用いた発達障害患者の脳機能計測研究に関してレビューを行った。

## 3. 研究の方法

五島市-長崎大学協定に基づき、研究代表者らが起ち上げた長崎市内及び長崎県五島市の母子コホート集団の乳児とその母親を対象に、生体試料計測、及び、社会性行動発達の縦断的計測を実施した。本報告書ではすでに解析が一部終了している長崎市コホート集団の解析結果を報告する。これら、長崎市内のコホート集団に加え、千葉県でも一部項目の計測を実施した。

各計測の詳細は以下の通りである。

### 計測(1) 生体試料採取

胎生期ダイオキシン類曝露レベル解析に用いる臍帯血サンプルを採取した。また、臍帯血サンプルから、ダイオキシン類の神経毒性発現・社会性発達に関連する以下の遺伝子多型を解析した。

「**AhR 蛋白関連遺伝子**」: AhR・ARNT・ARNT2・AhRR (Herbert et al., 2006; Amin et al., 2011)

「**AhR 標的遺伝子**」: CYP1A1・CYP1B1・GSTM1・GSTT1 (Tsai et al., 2006)

「**AhR により制御される情報伝達系遺伝子**」: AR・ER (ESR1)・ER (ESR2) (Henningsson et al., 2009)

「**社会性発達に関連する遺伝子**」: OXTR 遺伝子一塩基多型、CD38 遺伝子一塩基多型

### 計測(2) 社会性行動発達計測

ASD 早期診断補助装置 Gaze Finder (現有設備) を用いて、ASD 早期診断マーカーとなる可能性が示唆されている、社会的刺激に対する注視反応 (Volkmar, Chawarska & Klin, 2005) を評価した。さらに、本研究では、ASD 超男性化脳仮説 (Baron-Cohen, 2003) に基づき、脳性分化の度合いを評価する為の、新たな動画刺激を Gaze Finder に組み込み、各動画に対する注視行動を計測した。生後 10 ヶ月以降は、乳幼児自閉症チェックリスト修正版 (M-CHAT) による ASD 症状評価をあわせて実施した。

## 4. 研究成果

### 結果(1) 縦断的追跡研究

ASD 超男性化脳仮説 (Baron-Cohen, 2003) によれば、脳性分化過程における脳男性化の度合いが、ASD 様行動傾向の強さを規定する。これと、ダイオキシン・ダイオキシン様化学物質が脳性分化過程に与える影響を考慮すると、発達初期の脳性分化を反映した行動学的パターンが、< ASD 社会性機能障害の環境 x 遺伝子相互作用モデル > の検証に有効な行動指標になると考えられる。

一方、近年の研究から、ヒトの男児/女児は発達初期から、それぞれ機械・無生物/社会的刺激・生物に注意を向けやすいことが明らかにされている (類似の傾向はヒト以外の霊長類でも確認されている)。これを踏まえ、機械・無生物と社会的刺激・生物の動画を左右に提示し、各画像に対する注視時間を評価する選好注視計測を実施した。

さらに、これら選好注視行動と (i) 研究代表者の過去の研究で社会行動発達との関連性を見出した ARNT 遺伝子一塩基多型、及び (ii) 生後 10 か月・18 ヶ月時点で M-CHAT を用いて評価した ASD 様行動傾向、との関連性を分析した。

ARNT 遺伝子一塩基多型の遺伝子型と、生後 10 か月、18 ヶ月時点における機械・無生物/社会的刺激・生物に対する注視時間との関連性を図 2 に示す。

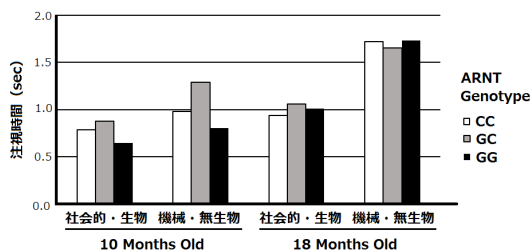


図 2. ARNT 遺伝子型と各月齢における注視行動の関連性

分散分析の結果、測定時の月齢と視覚各刺激のタイプの主効果が有意となった、 $p < .05$ 。さらに、これら両因子の間の交互作用が有意になった、 $p < .05$ 。これは、10 か月から 18 か月にかけて、機械・無生物刺激に対する注視時間が増大したことを反映していると考えられる。遺伝子型の主効果、及び、遺伝子型要因を含む交互作用は、有意水準に達しなかった  $ps > .10$ 。また、注視パターンと M-CHAT との間にも有意な相関はみられなかった、 $ps > .10$ 。

### 結果(2) 文献調査研究

文献調査では、乳児・小児に対しても簡易に計測可能な、ASD 様行動傾向を反映した脳科学的マーカーの同定を目的に、発達障害患者を対象とした NIRS 計測研究のシステムレビューを行った。対象とした発達障害は、NIRS 研究例が多い ASD と注意欠陥・多動性障害 (ADHD) である。調査対象としたのは、2016 年前半までに公表された原著論文で、健常統制群における脳機能活動パターンとの比較分析をおこなっている研究とした。

検討の結果、小児 ADHD 患者を対象とした NIRS 研究では、右半球とりわけ右前頭前野に限局した非定型的脳機能活動が多くみられたが、成人 ADHD 患者では、このような傾向は認められなかった。一方 ASD では、小児・成人に関係なく、一貫した非定型的パターンは認められなかった。

以上のように、本研究で実施した縦断的計測では、当初予想していた AhR 関連遺伝子多型の影響は認められなかった。今後は、解析途中のその他の遺伝子多型、臍帯血中ダイオキシンレベル、及び両者の相互作用が、社会性発達・ASD 様行動傾向発現に及ぼす影響を、今後予定している 36 ヶ月時点での計測結果を踏まえて詳細に検討する予定である。一方、文献調査では、右前頭前野活動の評価により、ADHD における脳活動の非定型性を捉えることが出来る可能性が見出された。一方 ASD 児の非定型性に一貫したパターンは見出されなかった。今後の縦断計測で使用する ASD の脳科学的マーカーに関しては、さらなる検討が必要である。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

1. Doi H, Shinohara K. (2017) fNIRS Studies on Hemispheric Asymmetry in Atypical Neural Function in Developmental Disorders.

Frontiers in Human Neuroscience, 11:137. doi: 10.3389/fnhum.2017.00137, 2017. (査読有り)

2. Sawano, E., Doi, H. (equally contributing author), Nagai, T., Ikeda, S., Shinohara, K. (2017). Interactive effects of 5-HTTLPR genotype and rearing environment on affective attitude towards own infant in Japanese mothers. Behavioural Brain Research. 325, 173-80. (査読有り)

3. 土居裕和, 篠原一之 (印刷中) 注意の生理学的指標とその社会性認知研究への応用 Clinical Neuroscience (査読無)

し)

4. 土居裕和, 篠原一之 (2016) GID の遺伝的基盤. 思春期学, 34(4), pp. 383-387.(査読無し)

〔学会発表〕(計 2 件)

1. Doi, H., Nakagawa, J., Sawano, E., Ayuse, T., Shinohara, K.(2017). Positive correlation between salivary oxytocin concentration and the level of blood-injury phobia in healthy men. 第 94 回日本生理学会大会, アクトシティ浜松(静岡県、浜松市)

2. Doi, H., Shinohara, K. (2016). Gene X Environment Interaction in Social Cognition Development. THE DEVELOPMENT OF BONDING: INTEGRATING GENES, BEHAVIOR, AND ENVIRONMENT Summit Italy-Japan. ロベレト(伊)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

〔その他〕

該当なし

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

土居 裕和 (DOI, Hirokazu)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・講師

研究者番号：40437827

##### (2)研究分担者

岩永 竜一郎 (IWANAGA, Ryoichiro)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(保健学科)・教授

研究者番号：40305389

##### (3)連携研究者

篠原 一之 (SHINOHARA, Kazuyuki)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授

研究者番号：30226154

##### (4)研究協力者

なし