

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 28 日現在

機関番号：33303

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15244

研究課題名(和文)ダイオキシンによる自閉症スペクトラム障害とミラーニューロン系活動との関連

研究課題名(英文)Associations between autistic traits induced by dioxin exposure and mirror neuron systems

研究代表者

西条 旨子(NISHIJO, Muneko)

金沢医科大学・医学部・教授

研究者番号：40198461

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ダイオキシン高暴露地域の3歳児167名を対象として、視線検査を行った。まず、子供の顔や遊びを含む画像における視線の位置や視線の停留時間を、自閉症ハイリスク児9名と健常児18名とで比較したところ、自閉症ハイリスク児では視線の停留時間が短い画像が多かった。また、対象者全体については、非視線停留者(視線停留時間が25パーセンタイル値未満)の頻度は、女兒の高TCDD暴露群で低暴露群に比べ有意に高かった。ミラーニューロン系脳波の測定については、8歳児小児37名について、手の動きを見た時のミュー波の抑制を測定したが、ミュー波の抑制の程度とダイオキシン暴露との関連性は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：We investigated effects of dioxins on eye tracking of 167 children aged 3 years old living in heavily exposed area in Vietnam using eye-tracker. At first, we compared location and time of gaze on some pictures with faces and activity of children in autistic children with those in healthy children. For the results, we found that gaze of autistic children on several pictures with faces stayed for shorter time compared with healthy children. Then, we compared frequency of children who focus on pictures only for a short time (25 percentile of gaze time) between high and low TCDD groups. The frequency was higher in high TCDD group in girls when 2 pictures with faces were shown to them. For 37 children aged 8 years old, we investigated decreasing power of mu-wave in them when video of moving hands were shown to them. We observed decreased mu-wave by watching hand movements, but the degree of decreased power was not associated with dioxin exposure.

研究分野：環境保健

キーワード：ダイオキシン 視線 自閉症傾向 ミラーニューロン 小児 ベトナム

1. 研究開始当初の背景

ベトナムでは、ベトナム戦争時に散布された枯葉剤によるダイオキシン汚染がよく知られているが、40年以上経過した現在でも旧米軍基地周辺の、いわゆるホットスポットと呼ばれる地域では、ダイオキシン環境汚染が明らかになっている。一部の地域においては、土壌復元が試みられているが、基地周辺住民の母乳中ダイオキシン濃度が枯葉剤散布地域および非散布地域住民の母乳中濃度に比べて高く、現在もなお、住民へのダイオキシン暴露が続いている。我々は、このベトナムのホットスポットの一つであるダナン市の旧米軍基地周辺の地域病院で出生した新生児250名からなるコホート集団を追跡調査し、高ダイオキシン暴露群が、4ヶ月時に微細運動能力の低下を、1歳時にはコミュニケーション発達の遅れを、3歳時では、高汚染群に自閉症様症状を示す児が多いことを報告してきた。また、ベトナム最大のホットスポットであるピエンホアにおいても新生児コホートを立ち上げ、追跡調査を行い、小児の脳神経発達障害発生を早期に把握することを試みてきた。

しかし、これまでの我々の調査では、自閉症傾向の検査として保護者への問診による自閉症スコアを用いてきたが、客観性に乏しいのが難点であった。近年、自閉症児の特徴である、他者との視線が合いにくい、ヒトの顔よりも、単純な模様や形、反復的なパターンを好んで注目するなどの症状を、注視点の違いとして、客観的に把握することが試みられている。また、自閉症児における社会情動性の障害は、他者の行動の模倣を行うことに関与しているミラーニューロン系の障害に起因していることが示唆されている。このミラーニューロン系の活動は、他者の手の動きを観察している時に脳波を測定し、MUリズムと呼ばれる約10 Hzの脳波が抑制されることで示され、小児においても侵襲なく安全に検査が実施できることが知られている。

2. 研究の目的

本研究では、視線検出装置による注視点の検査と、手の動きを見ている時のミラーニューロン系活動を脳波により測定し、より客観的な指標を用いて、ベトナムの高濃度ダイオキシン汚染地域における自閉症傾向の増加を評価することを目的とした。本研究は、ダイオキシン暴露が脳のミラーニューロン系の活動を障害した結果、自閉症傾向が生じることを、脳神経科学的にヒトで検証するということが最終目的としており、ダイオキシンの高次脳機能への影響を明らかにすることを目指している。

3. 研究の方法

ベトナム共和国ピエンホア市の元米軍基地周辺10地区に居住する母親の出生児226名を対象として、ペーリー発達尺度と自閉症スペクトラム障害尺度(ASRS)を用いた3歳児健診を行った。健診に参加した198名にアイトラッカー(X2-60, TobbiPro AB, Stockholm, Sweden)を用いた視線検査を行い、ダイオキシン指標等の欠損値のない167名についてデータ解析を行った。視線検出には複数の子供の顔や遊びや日常生活動作を含む画像を15枚用意し、各3秒間提示した時の視線の位置と滞留時間からヒートマップを作成することにより、視線を評価した。まず、被験者には9名の自閉症あるいは言語発達障害のある児(自閉症ハイリスク群)が含まれていたため、発達検査およびASRS検査結果の良好な18名の児を選び健常群として、2群の視線の位置や視線の滞留時間を比較し、自閉症ハイリスク群に特徴的な視線を検討した(自閉症ハイリスク児視線調査)。次に、受検者全体の解析では、各画像に付き視線の滞留時間の25パーセント値をカットオフ値として、非視線滞留群の出現頻度を、高TCDD暴露群(TCDD3.5pg/g-lipid以上)と低暴露群(3.5pg未満)でロジスティック回帰分析を用いて年齢や生下時在胎週数、母親の年齢や教育歴等を調整して比較した(視線全数調査)。さらに、男女別に高TCDD群と低TCDD群の視線のヒートマップ(Tobbi Studio)を用いた比較を行い、視線集積の局在の相違を検討した。

また、ミラーニューロン系脳波の測定については、ベトナム・ダナン市のダイオキシン高濃度汚染地域テンケ地区に居住し、8歳児健診に参加した115名の内、小児の攻撃性等の問題行動調査票(C-SHARP)で一つ以上のサブスケールで基準値以上の値を示した小児37名(男児21名、女児16名)を対象とした。手の動きの画像およびコントロール画面(ボールの動き)を見ている時(コントロール)に、脳波測定(8誘導:FP1、FP2、C3、C4、O1、O2、T3、T4)を実施した。その後、脳波データをASCII fileとして書き出し、その脳波ファイルをMATLABソフトウェアを用いてノイズを消去した後、ニューロガイド脳波解析ソフトウェアを用いて、各誘導につき、 δ 、 θ 、 α 、 β の周波数ごとに解析した。ニューロン系に特徴的なMUリズムは、頭頂葉C3、C4の領域の脳波であるため、解析にはC3、C4の脳波のみを用い、FFT absolute power(以下パワーと略す)の大きさを、手の動きを見た時とコントロール画像を見た時で比較した(ミラーニューロン系活動検査)。

4. 研究成果

(1) 自閉症ハイリスク児調査: 従来報告

されてきた自閉症児の視線の特徴とは異なり、視線が写真の子供の顔、特に目に注がれているかどうかについては両群での違いは認められず、視点の集積密度が低く、視線の滞留時間が短い写真が多いことが、健常児と大いに異なる点であった。しかし、これらの自閉症ハイリスク児は、周産期ダイオキシン暴露、特に TCDD 暴露と関連した自閉症傾向の増加が推測されている小児であり、健常児に比べ、検査者の指示に従うことが困難であった。今回は検査を十分に行えなかった可能性もあり、年長になった時点での再調査が必要と考えられた。

(2) 視線全数調査: 2枚の顔写真で、女児の非視線停留群の頻度が高 TCDD 暴露群で有意に高かった。また、女児では、動作の画像で、高 TCDD 群の非視線停留群の頻度が低く、むしろ視線がよく停留していたが、ヒートマップの解析により、写真の顔以外の部位に視線が集まっており、低 TCDD 暴露群とは視線の集まる位置が異なっていることが明らかとなった。男児では、非視線停留群の頻度は暴露による有意な差はなかったが、ヒートマップによる解析では、女児で暴露により差の見られた顔写真において、高 TCDD 群は、目以外の部分に視線の集積が分布しているのに対し、低暴露群では、目を中心に視線が集積していることが認められた。これらのことから、ダイオキシン、特に枯葉剤と関連の深い TCDD 暴露により、視線の集積度や分布が異なることが示唆された。また、高 TCDD 暴露群では、言語発達の遅れや、自閉症傾向を示す ASRS スコアが、低 TCDD 群に比べ高いことが、別の研究により明らかにされており、この視線の集積や分布の違いは自閉症傾向と関連していると推察された。

(3) ミラーニューロン系活動検査: まず MU 波測定を、脳波室ではないベトナムの一般環境での健診の中で行うために、測定方法に関する検討を行った。全体にシールドされた皿電極を左右4か所(前頭部、頭頂部、側頭部、後頭部)に付け、コントロール画面と手の動きの画面を見ている時、画面を見ながら手を動かしている時のそれぞれのパワーを 1-12Hz 毎に比較した。これは、小児の脳波は成人に比べ、波でも、より短い周波数の脳波の割合が多く、MU リズムも成人では 10Hz 前後とされているが、小児では 8Hz 前後と報告されている。本研究の対象者も 8 歳であるため、ベトナムにおける調査に先立ち、日本で同年齢のベトナム人の子供を被験者にしての脳波の測定を行った。その結果、手を動かしている時と同様に、手の動きの画面を見ている時にも 7-10Hz (8Hz をピークとする) のパワーがコントロールと比べ低下した。このことから、今回の脳波装置および視覚刺激で MU 波の測定が可能と考えられたが、

小児の特性を考慮し、解析に際しては、通常の周波数の分類、(例えば 波は 8-12Hz の脳波と定義)だけでなく、低周波領域で 1Hz 毎の解析を行うこととした。次に、この装置を用いて問題行動のスコアの高かった 8 歳児に、MU リズムの測定を行った。その結果、C3 および C4 の 波、特に 8Hz のパワーが、コントロール画面に比べ手の動き画面で有意に低下していた。しかし、周産期ダイオキシンの指標である母乳中ダイオキシンとパワーの減少率との相関関係は認められなかった。一方、女児では、生下時体重が低いほど 波のパワー減少率が小さく、小児期のミラーニューロン系の活動に、胎児期の成長が影響している可能性が考えられた。今回の解析では、ダイオキシン暴露の直接的なミラーニューロン系活動への影響は示唆されなかったが、今回はダイオキシン暴露が比較的高い問題行動のある小児のみの検討であったことから、今後小児コホート全体の MU リズムの測定を行い、暴露との関連性を検討していくことが必要と考えられた。

以上より、ベトナムにおけるダイオキシン暴露に関連した自閉症傾向の有無の客観検査として、視線の検査は有用であり、検査も非侵襲的で、被験者の協力も比較的得られやすいことから、今後の小児の発達健診で使用する予定である。また、脳波によるミラーニューロン系活動検査については、対象者数を増やして、ダイオキシン暴露との関連性を検討していく。

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1件)

Tran NN, Pham TT, Ozawa K, Nishijo M, Nguyen AT, Tran TQ, Hoang LV, Tran AH, Phan VH, Nakai A, Nishino Y, Nishijo H. Impacts of Perinatal Dioxin Exposure on Motor Coordination and Higher Cognitive Development in Vietnamese Preschool Children: A Five-Year Follow-Up. PLoS One. 11:e0147655, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0147655. (査読有)

[学会発表](計4件)

Pham NT, Nishijo M, Pham TT, Nishijo H, Nagasawa S, Nishino Y. A case control study of neurotoxic effects of perinatal dioxin exposure on children of 2 years of age in Vietnam. 5th Conference on Prenatal Programming and Toxicity, November 13-16 2016 北九州国際会議場(福岡県北九州市).

Nishijo M, Pham NT, Pham TT, Tran HA, Boda H, Nagasawa S, Nishino Y, Nishijo H. Neurotoxic effects of perinatal dioxin exposure on children in Vietnam: Two birth

cohort studies in hot spots of dioxin contamination from Agent Orange. 5th Conference on Prenatal Programming and Toxicity. 北九州国際会議場（福岡県北九州市）2016年11月13-16日。

Nishijo M, Pham NT, Pham TT, Nishijo H, Nishino Y. Role of AHR signaling in effects on neurodevelopment in Vietnamese children perinatally exposed to Agent Orange. AHR 2016: The aryl hydrocarbon receptor as a central mediator of health and disease. Rochester, New York, USA, 2016年8月3-6日。

Tran NN, Nishijo M, Pham TT, Nishino Y, Hoang VL, Tran HA, Morikawa Y, Pham NT, Nishijo H. ベトナムの高濃度汚染地域住民における母乳中ダイオキシン濃度と臍帯血中ダイオキシン濃度の関連性 第86回日本衛生学会総会、旭川市文化会館（北海道旭川市）2016年5月11-13日。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西条 旨子 (NISHIJO, Muneko)
金沢医科大学・医学部・教授
研究者番号：4 0 1 9 8 4 6 1

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

森河 裕子 (MORIKAWA, Yuko)
金沢医科大学・看護学部・教授
研究者番号：2 0 2 1 0 1 5 6

西条 寿夫 (NISHIJO, Hisao)
富山大学・医学(系)研究科(大学院)・教授
研究者番号：0 0 1 8 9 2 8 4

(4) 研究協力者

海外研究者(ベトナム)
ベトナム軍医科大学
Pham Ngoc Thao
Nghiem Thi Thuy Giang
Pham The Tai
Phoung Van Luong
Tran Hai Anh
ベトナム厚生省
Tran Ngoc Nghi