

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：33303

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K19709

研究課題名（和文）ダイオキシン高暴露成人男性における脳領域体積と領域間結合の変化についての研究

研究課題名（英文）Effects of dioxin exposure on brain regional volumes and connectivity between among regions in highly exposed male residents in Vietnam

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） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：ベトナムのビエンホア出生コホートの父親32名を対象として、脳MRI検査にて3D-T1強調画像とDTI画像を撮影し、脳領域別体積はVBM法で、脳領域間結合力FAはDTI法で解析を行った。その結果、血中TCDD濃度が増加するに従い左側頭葉の紡錘状回の体積が減少し、血中TCDDやTEQ-PCDDの増加と共に左の内側側頭葉極の体積が減少していた。血中TCDD高値群の両側帯状束海馬部分と右側の鉤状筋束のFA値が低暴露群に比べ有意に低かった。周産期曝露が推定される男性では、左の眼窩部下前頭回の体積が低下していたが、脳全体の体積は増加していた。また、左の帯状束海馬部分のFA値が非曝露群に比べ低かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、ベトナム戦争で枯葉剤曝露を受けたアメリカ退役軍人にアルツハイマー型認知症に罹患する者が多いことが報告され、ダイオキシン曝露の脳への影響が注目されている。これまでも、小児の脳神経発達にダイオキシン曝露が負の影響を与えることが、欧米での研究で報告され、我々もベトナムの旧米軍基地周辺の出生コホートにおいて同様な報告を行ってきた。しかし、本研究では、小児には実施することが困難であったMRI検査を実施することにより、ダイオキシン曝露による脳への器質的な変化を明らかにすることができたことは、学術的に意義深く、ダイオキシンの神経毒性を明らかにする上で重要な知見を得ることができたと考えている。

研究成果の概要（英文）：Our subjects included 32 men who are fathers from Bien Hoa birth cohort in Vietnam. Blood dioxin levels and perinatal dioxin exposure suspected from residency of their mothers in Bien Hoa during pregnancy were used as dioxin exposure markers. T1-weighted images and diffusion tensor images (DTI) by brain MRI scan were subjected to regional volume analysis using the VBM tool and to regional connectivity indicated by fractional anisotropy (FA) using DT tractography. Significant inverse associations were found between blood TCDD and fusiform gyrus volume, and between TEQ-PCDDs and temporal pole volume. FA values in high blood TCDD group were lower in right and left cingulum hippocampal part and right uncinata fasciculus. In men with suspected perinatal dioxin exposure, the left inferior frontal gyrus pars orbitalis volume was significantly lower, whereas the total gray matter volume was significantly higher. FA value in left uncinata fasciculus was lower in men with perinatal exposure.

研究分野：環境保健

キーワード：ダイオキシン MRI 脳領域体積 脳領域間結合 成人男性 周産期曝露 血中ダイオキシン

1. 研究開始当初の背景

ベトナム戦争(1961 - 1971年)で枯葉剤の散布が北緯17度線以南のベトナムで行なわれ枯葉剤に含まれていたダイオキシンの環境およびヒトへの曝露が発生した。特に、ピエンホア基地は枯葉剤作戦最大の軍事拠点あり、戦後40年以上経過した現在でも、基地周辺地域住民はダイオキシン曝露のリスクが高い。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、高ダイオキシン曝露群の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、ベトナム最大の汚染地域であるピエンホアにおいても、2012年に調査した基地周辺に居住する母親の母乳中に、枯葉剤の特徴である2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin (TCDD)が、対照地域に比べ2 - 3倍高く、出生児の周産期曝露量が多いことが推定された。そこで、ピエンホアにおいても新生児コホートを立ち上げ、新生児の脳波を測定したところ、高TCDD周産期曝露群では、脳波パワーが変化していること、その変化の大きかった児は2年後の言語発達のスコアが、脳波への影響影響が認められなかった児に比べ有意に低かったことを報告した。

2. 研究の目的

これまでの研究で我々は小児を対象としてダイオキシン周産期曝露の脳機能への影響を検討してきたが、本研究では脳の形態学的影響を明らかにすることを目的として、脳MRI検査が小児コホートの父親を対象としてMRI画像解析を行い、ダイオキシン曝露の脳領域体積と領域間神経束結合への影響を明らかにすることを試みた。

3. 研究の方法

2015年にピエンホア基地周辺地区で立ち上げた出生コホートの父親32名の脳MRI検査を、所在地の県立病院にてシーメンス社3T MRI装置(TrioTim)を用いて行ない、3D-T1強調画像とDTI画像を撮影した。撮影した画像をDICOMデータに変換して日本に持ち帰り、脳領域別灰白質の体積をVBM(Voxel-based morphometry)法およびDTI法で解析するためのデータベースの作成をBioView社に依頼した。

VBM法による脳領域体積の解析には、MATLABソフトウェア環境下で動作するSPM12を用い、脳領域体積と血中ダイオキシン濃度との関連性や周産期曝露の有無による脳領域体積の相違について解析を行った。この時、多重比較の統計学的補正にはクラスターベースのFDRを用い、有意な解析結果を示した脳領域の解剖学的名称の特定にはSPM12のAnatomy toolboxを用いた。

全灰白質体積や全脳体積と血中ダイオキシン濃度や周産期曝露との関連性についてもSPSSソフトウェアの一般線形モデルを用いて、交絡因子である年齢や身長を調整して解析した。なお、周産期曝露の有無については対象者の母親が妊娠・出産期にピエンホア基地周辺地域に在住していたか否かにより推定した。また、血中ダイオキシン濃度は、全血を脂肪抽出、カラムによる分離精製後、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析装置(HR-GC-MS)を用いて、17のダイオキシン異性体につき定量的に測定を行った。

DTI法による解析では、神経線維結合の強さを反映すると考えられているFA値(fractional anisotropy)をDTI解析ソフトTravkVisを用いて算出し、共分散分析を用いて周産期ダイオキシン曝露の有無によるFA値の相違を年齢と身長を調整した上で解析した。

4. 研究成果

血中ダイオキシン濃度と脳領域体積との関連性を年齢と頭蓋内全体積を調整した上で解析したところ、TCDD濃度が増加するに従い左側頭葉の紡錘状回の体積が減少していた。また、TCDDやToxic equivalency values of polychloro-dibenzo-dioxins (TEQ-PCDD)の増加と共に、左脳の内側側頭葉極の体積が有意に減少していた。しかし一方で、1,2,3,4,7,8-6塩化ダイオキシン(HxCDD)が増加するに連れて、右脳の中前頭回の体積が増加していた。

次に、周産期曝露の有無により異なる体積を示す脳領域をVBM法で解析したところ、周産期ダイオキシン曝露が推定される男性(以下、周産期曝露群)では、左脳の眼窩部下前頭回の体積が、曝露が無いと推定される男性(以下、周産期非曝露群)に比べ有意に低下していた。また、脳全体の体積および全灰白質体積は、周産期曝露群では、非曝露群に比べ有意に増大していたが、血中のダイオキシンとそれらの脳全体の指標との関連性は認められず、周産期曝露の有無のみが脳全体の体積に影響を与えていた。さらに、脳葉レベルで同様の検討を行ったところ、前頭葉と側頭葉の増大が周産期曝露による脳全体の増大に寄与していた。

DTI法による脳領域間結合の強さとダイオキシン曝露との関連性の解析では、血中TCDD高(10.8 pg/g lipid以上)の帯状束海馬部分のFA値が両側共に低値群に比べ有意に低かった。同様に、右側の鉤状筋束のFA値が、TCDD高値群で有意に低かった。一方、左側の鉤状筋束のFA値は、血中TEQ-PCDD高値群(39.5 pg-TEQ/g lipid以上)で低値群に比べ有意に低かった。

また、周産期曝露群では、左の帯状束海馬部分のFA値が非曝露群に比べ有意に低かった。

このことは、脳領域間結合へのダイオキシン曝露の影響は、血中濃度で示される成人期曝露と周産期曝露により、同じ神経束が影響を受ける可能性を示唆していると考えられた。

以上のことから、血中ダイオキシン濃度により示唆される成人期におけるダイオキシン曝露により、顔認知や情動と関連の深い脳領域である紡錘状回や内側側頭葉極の体積が減少していることが示唆された。これらの脳領域は自閉症で障害される機能を司る領域である。また、中前頭回や小脳の体積は増加していたが、これらの領域も情動との関連の深い眼窩前頭皮質との結合のある領域であることから、認知機能や感情と関連の深い脳領域を中心に、成人期のダイオキシン曝露が影響を与えていることが考えられた。一方、周産期に高濃度のダイオキシンの曝露したと推定される男性では、情動の理解や言語によるコミュニケーション能力との関連の深い眼窩部下前頭回の体積減少が認められた。

また、周産期曝露群では、自閉症児に報告されているような全灰白質の増加や脳全体の増加も認められたが、これらの脳領域体積と血中ダイオキシン濃度との関連性は認められず、周産期曝露に特有な脳灰白質の変化と考えられた。今後、本研究対象者の認知機能や社会情動性などの機能面についての周産期および成人期におけるダイオキシン曝露影響を調査する必要があると考えられた。

本研究では、同じ汚染地域に居住する者の内で、推定曝露の有無により周産期曝露の全脳体積への影響を検討したが、非曝露対照群との比較は行わなかった。このため、2023年4月に枯葉剤非散布地域で追跡調査中の出生コホートの父親32名を対象に同様な脳MRI画像解析を行い、年齢と身長をマッチさせた10組のビエンホア周産期曝露群と非曝露対照群の全脳体積を比較した。その結果、非曝露対照群と比較しても汚染地域の周産期曝露が推定される男性は、全灰白質や全脳の体積が有意に増加していた。このことからダイオキシン周産期曝露により脳体積が増加することが、より確かになったと考えられる。今後は母乳中ダイオキシン濃度により周産期曝露量が把握されている出生コホートの小児を対象に研究を進めていきたい。

<引用文献>

1. Nishijo, M.; Pham, T.T.; Nguyen, A.T.; Tran, N.N.; Nakagawa, H.; Hoang, L.V.; Tran, A.H. et al. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin in breast milk increases autistic traits of 3-year-old children in Vietnam. *Mol. Psychiatry* 2014, 19, 1220-1226.
2. Pham, N.T.; Nishijo, M.; Pham, T.T.; Tran, N.N.; Le, V.Q.; Tran, H.A.; Phan, H.A.V.; Nishino, Y.; Nishijo, H. Perinatal dioxin exposure and neurodevelopment of 2-year-old Vietnamese children in the most contaminated area from Agent Orange in Vietnam. *Sci. Total Environ.* 2019, 678, 217-226.
3. Nghiem, G.T.; Nishijo, M.; Pham, T.N.; Ito, M.; Pham, T.T.; Tran, A.H.; Nishimaru, H.; Nishino, Y.; Nishijo, H. Adverse effects of maternal dioxin exposure on fetal brain development before birth assessed by neonatal electroencephalography (EEG) leading to poor neurodevelopment; a 2-year follow-up study. *Sci. Total Environ.* 2019, 667, 718-729.
4. Pham, N.T.; Nishijo, M.; Nghiem, T.T.G.; Pham, T.T.; Tran, N.N.; Le, V.Q.; Vu, T.H.; Tran, H.A.; Phan, H.A.V.; Do, Q.; et al. Effects of perinatal dioxin exposure on neonatal electroencephalography (EEG) activity of the quiet sleep stage in the most contaminated area from Agent Orange in Vietnam. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2021, 232, 113661.
5. Albajara Saenz, A.; Van Schuerbeek, P.; Baijot, S.; Septier, M.; Deconinck, N.; Defresne, P.; Delvenne, V.; Passeri, G.; Raeymaekers, H.; Slama, H.; et al. Disorder-specific brain volumetric abnormalities in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder relative to autism spectrum disorder. *PLoS ONE* 2020, 15, e0241856.
6. Lim, L.; Chantiluke, K.; Cubillo, A.I.; Smith, A.B.; Simmons, A.; Mehta, M.A.; Rubia, K. Disorder-specific grey matter deficits in attention deficit hyperactivity disorder relative to autism spectrum disorder. *Psychol. Med.* 2015, 45, 965-976.
7. Riddle, K.; Cascio, C.J.; Woodward, N.D. Brain structure in autism: A voxel-based morphometry analysis of the Autism Brain Imaging Database Exchange (ABIDE). *Brain Imaging Behav.* 2017, 11, 541-551.
8. Raznahan, A.; Greenstein, D.; Lee, N.R.; Clasen, L.S.; Giedd, J.N. Prenatal growth humans and postnatal brain maturation into late adolescence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2012, 109, 11366-11371.
9. Vu, H.T.; Nishijo, M.; Pham, T.N.; Pham-The, T.; Hoanh, L.V.; Tran, A.H.; Tran, N.N.; Nishino, Y.; Do, Q.; Nishijo, H. Effects of perinatal dioxin exposure on mirror neuron activity in 9-year-old children living in a hot spot of dioxin contamination in Vietnam. *Neuropsychologia* 2021, 161, 108001.

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Vu Hoa Thi, Pham Thao Ngoc, Yokawa Takashi, Nishijo Muneko, The Tai Pham, Do Quyet, Nishino Yoshikazu, Nishijo Hisao	4. 巻 9
2. 論文標題 Alterations in Regional Brain Regional Volume Associated with Dioxin Exposure in Men Living in the Most Dioxin-Contaminated Area in Vietnam: Magnetic Resonance Imaging (MRI) Analysis Using Voxel-Based Morphometry (VBM)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Toxics	6. 最初と最後の頁 353 ~ 353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/toxics9120353	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 該当する

1. 著者名 Pham TN, Nishijo M, Pham TT, Vu HT, Tran NN, Tran AH, Do Q, Takiguchi T, Nishino Y, Nishijo H	4. 巻 749
2. 論文標題 Dioxin exposure and sexual dimorphism of gaze behavior in prepubertal Vietnamese children living in Da Nang, a hot spot for dioxin contamination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Total Environ	6. 最初と最後の頁 141083
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2020.141083	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Pham NT, Nishijo M, Nghiem TTG, Pham TT, Tran NN, Le VQ, Vu TH, Tran HA, Phan HAV, Do Q, Takiguchi T, Nishino Y, Nishijo H	4. 巻 232
2. 論文標題 Effects of perinatal dioxin exposure on neonatal electroencephalography (EEG) activity of the quiet sleep stage in the most contaminated area from Agent Orange in Vietnam	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Hyg Environ Health	6. 最初と最後の頁 113661
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijheh.2020.113661	査読の有無 有
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 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Vu Thi Hoa, Muneko Nishijo, Pham Ngoc Thao, Takashi Yokawa, Pham The Tai, Do Quyet, Yoshikazu Nishino, Hisao Nishijo
2. 発表標題 Effects of dioxin exposure on brain regional volumes analyzed using VBM technology in men living in the most dioxin-contaminated area in Vietnam
3. 学会等名 日本衛生学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Vu Thi Hoa, Muneko Nishijo, Pham Ngoc Thao, Takashi Yokawa, Pham The Tai, Do Quyet, Yoshikazu Nishino, Hisao Nishijo
2. 発表標題 Effects of dioxin exposure on brain regional volumes analyzed using VBM technology in men living in the most dioxin-contaminated area in Vietnam
3. 学会等名 第91回日本衛生学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	的場 宗孝 (MATOBA Munetaka) (90288308)	金沢医科大学・医学部・教授 (33303)	

	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
研究協力者	西条 寿夫 (NISHIJO Hisao)		
研究協力者	西野 善一 (NISHINO Yoshikazu)		

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

ベトナム	ベトナム軍医科大学	ベトナム厚生省		
------	-----------	---------	--	--