

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23591716

研究課題名(和文)被虐待児のエピジェネティック異常仮説の臨床応用についての検討

研究課題名(英文)Study of the clinical application of the epigenetic hypothesis in abused children

研究代表者

今村 明 (IMAMURA, Akira)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・准教授

研究者番号：40325642

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：人生早期に虐待を受けた児と発達障害児との鑑別は時に困難な場合があり、またそのような児の治療は、児に心理学的影響だけではなくエピジェネティック変化等の生物学的変化も生じている可能性もあって、非常に困難である場合が多い。我々は被虐待児の診断・治療の進歩のために、被虐待児と、性と年齢をマッチさせた発達障害児、健常対照児を対象として、グルココルチコイド受容体遺伝子を中心に虐待と関係があると考えられている遺伝子のエピジェネティック変化(DNAメチル化)についての検討を行った。現時点で、被虐待児とそれ以外の児での差異は検出できていないが、今後も検討を続ける予定である。

研究成果の概要(英文)：Differential diagnosis of children abused during early life and children with neurodevelopmental disorders is sometimes difficult. Treatment of these children is often very difficult because there may not only be psychological damage but also epigenetic changes. To improve the diagnosis and treatment of abused children, we planned to examine abused children and two sex-and-age-matched groups, which included children with neurodevelopmental disorders and normal children to assess the epigenetic changes in the genes, such as the glucocorticoid receptor gene (NR3C1), which may be related to child abuse. We have not detected any epigenetic differences between abused children and other children yet. We will continue this study trying to increase the number of subjects.

研究分野：精神科遺伝学

 キーワード：児童虐待 エピジェネティクス 被虐待児 DNAメチル化 反応性愛着障害 アタッチメント 発達障害
神経発達症群

1. 研究開始当初の背景

児童相談所による児童虐待相談対応件数は年々増加しており、児童虐待は大きな社会問題となっている。平成21年度中に、全国の児童相談所が児童虐待相談として対応した件数は44,210件で、前年度から1,546件の増加となっている。虐待を受けた児は、不安、抑うつ、解離、等とともに、発達障害様症状が長期間続く場合があることが知られている。また海馬や扁桃体、脳梁等の様々な脳部位に形態学的変化が生じることも報告されている¹⁾。

最近の研究から、これらの虐待による症状の背景にゲノムのエピジェネティックな変化が存在するのではないかとされている。カナダのMeaneyらの研究グループは、このことを支持する報告を多数行っている。2004年にNature Neuroscience誌に掲載された報告²⁾では、十分な養育行動がみられる親ラットに育てられた仔ラットと比べて、養育行動のみられない親ラットに育てられた(人間で言えばネグレクトの状態)仔ラットは、海馬のグルココルチコイド受容体遺伝子(NR3C1)のプロモーター領域が高度にメチル化されており、NR3C1の発現が減り、視床下部下垂体副腎皮質系(HPA系)のフィードバックシステムの機能不全にいたり、ストレス耐性が減少したりする、ということが示されている。同じ研究グループの報告³⁾で、児童虐待を受けた自殺者の死後脳では、虐待を受けていない自殺者やその他の原因で亡くなった対照者と比較して、NR3C1のプロモーター領域にDNAメチル化が多くみられ、遺伝子発現が抑制されていることが示されている。

このように、人生早期の虐待が、心理的な影響だけではなく、DNAのメチル化という分子記憶として後の個体の行動に強い影響を及ぼす、という仮説を支持する多数の証拠がある。

2. 研究の目的

人生早期に虐待を受けた児と発達障害児との鑑別は時に困難な場合があり、またそのような児の治療に関しても、前述のように児に心理学的変化だけではなく生物学的変化も生じている可能性もあって、非常に困難である場合が多い。

我々は、被虐待児と、性と年齢をマッチさせた発達障害児、健常対照児を対象として、NR3C1を中心に虐待と関係があると考えられている遺伝子のDNAメチル化についての検討を行うことにより、被虐待児の診断・治療に関して、新たな一歩を踏み出すことを今回の研究の目的と考えた。

3. 研究の方法

(1)対象者

長崎県では、長崎大学病院(精神科、小児科)、長崎県立こども医療福祉センター(小

児科)、長崎県立精神医療センター(精神科)、医療法人カメリア大村共立病院(精神科)、長崎県子ども・女性・障害者支援センター(児童相談所)の5施設で「長崎県子どもの心診療拠点病院ネットワーク」を構築し、被虐待児のケースに対応している。このネットワークを通じて10歳以上の被虐待児、発達障害児を集積した。健常対照児は、主として長崎大学病院小児科か長崎県立こども医療福祉センターを受診した、虐待、発達、精神の問題がみとめられない児とその保護者で、研究への同意が得られたものとした。

今回は、公立高校在学中の17歳女性3名(被虐待児A、発達障害児B、健常対照児C)を対象とした。Aは、N県で2名同胞中第一子として出生(妹が一人)、父は公務員であるが、アルコール多飲の問題があり(精神科受診歴はなし)、酔った父親から幼少時より身体的虐待、心理的虐待を受けていた。パート勤務の母も父からDVを受けており、ほとんど父に口出しができない状況で、また共働きだったため、本人とかわかることも少なかった。DSM-5により反応性アタッチメント障害と診断された。Bは、N県で2名同胞中第一子として出生(同じ診断である弟が一人)、両親とも会社員である。症状としては、対人交流や情緒的反応が極端に少なく、Aとの共通点が見られた。診断としてはDSM-5自閉スペクトラム症とされた。Cは健常対照児として性、年齢をマッチさせて選択された。

長崎大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会(研究課題:被虐待児のエピジェネティック異常仮説の臨床応用についての検討、許可番号:第120130216号)で認められた方法で、対象者に同意を得、採血を行った。

(2)DNAメチル化の検出

末梢血、唾液、爪などの生体の組織よりDNAを抽出する。今回はすべて末梢血からDNA抽出を行った。これまで文献的に虐待や発達障害と関係があると考えられている遺伝子、(NR3C1、BDNF、MeCP2、OXTR、MAOA)³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾について、メチル化解析を行った。Infinium HumanMethylation450 BeadChip arrayは45万以上のメチル化サイトを解析することが可能であり、CpGアイランドの96%をカバーしている。A,B,Cに対して同アレイを用いて、ゲノムワイドにDNAメチル化を解析した。

4. 研究成果

まず、Infinium HumanMethylation450 BeadChip arrayに含まれる485577のサイトのメチル化をそれぞれの対象者で比較した。それぞれのPearsonの相関係数は、被虐待児Aと健常対照児Cは0.993、発達障害児Bと健常対照児で0.992、被虐待児Aと発達障害児Bでは0.994であった(P値はすべて<0.0005、ちなみに双生児3組を使った予備的研究では、双生児間のメチル化の相関係数

は0.999、他人同士であれば0.994であった)。次に遺伝子毎のメチル化の比較を行った。Infinium HumanMethylation450 BeadChip array には、該当する遺伝子のメチル化に対応するローカスが、*NR3C1* に 30、*BDNF* に 2、*MECP2* に 17、*OXTR* に 14、*MAOA* に 14 含まれていた。すべての遺伝子のローカスに対して、A,B,C での DNA メチル化レベルを比較したが、0.1 以上の差を認めることはなかった。

図 1 に *NR3C1* の結果のみを示す。

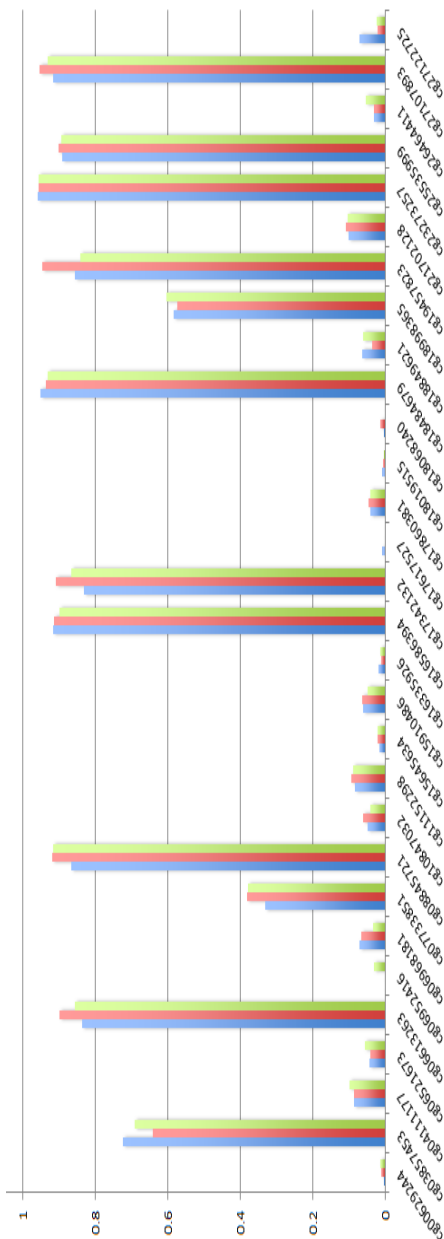


図 1 . Infinium HumanMethylation450 BeadChip array による *NR3C1* のメチル化解析の結果；それぞれのローカスで、A (青), B (赤), C (緑) の順に DNA メチル化レベルを示している。

図 1 に示すように *NR3C1* に関連する TargetID "cg27122725" では A,B,C の DNA メチル化レベルはそれぞれ 0.07032、0.02022、0.02458 であり、被虐待児が発達障害児、健常対照児に比べてそれぞれ約 3.5 倍、約 2.9 倍高くなっていました。今後症例数を増やし、この結果を検証していく予定である。

本研究は当初、末梢血からの DNA 抽出を行っていたが、特に被虐待児から採血を拒否されることが多かった。また一度同意を得ても、撤回されることもあった。本年度より DNA 採取キットである「オラジーン DNA」を用いて唾液からの DNA 抽出を行っている。今年度だけで被虐待児 7 名、発達障害児 1 名、健常対照児 1 名の唾液採取を行った。今後も研究を継続する予定である。

参考文献：

- 1) Bremner JD et al. Biol Psychiatry. 1997 Jan 1;41(1):23-32.
- 2) Weaver IC, et al. Nat Neurosci. 2004 Aug;7(8):847-54.
- 3) McGowan PO, et al. Nat Neurosci. 2009 March; 12(3): 342-348.
- 4) Nilsson KW, et al. Int J Neuropsychopharmacol. 2014 Dec 10;18(5). pii: pyu107.
- 5) Zhubi A, et al. Int Rev Neurobiol. 2014;115:203-44.
- 6) Haas BW, Smith AK. Front Genet. 2015 Feb 17;6:28.
- 7) Caspi A, et al. Science. 2002 Aug 2;297(5582):851-4.

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 10 件)

今村明

成人の発達障害 II

「精神科外来での診断と支援」

精神科医療サービス 14 巻 pp395-401.2014 年

査読無

今村明

被虐待児と発達障害児のエピジェネティック変化の関与の可能性. 日本精神神経学雑誌 第 108 回日本精神神経学会学術総会特別号 SS346-355、2013 年

査読有

今村明、中村尚広、岩永竜一郎

児童精神科外来でみられる自閉症スペクトラム児の感覚の問題、チャイルドヘルス Vol.16 No.10 : 12-15、2013 年

査読無

Iwanaga R, Tanaka G, Nakane H, Honda S, Imamura A, Ozawa H. Usefulness of near-infrared spectroscopy to detect brain dysfunction in children with autism spectrum disorder when inferring the mental state of others. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2013 May;67(4):203-9.(2.040)
査読有

Kinoshita M, Numata S, Tajima A, Shimodera S, Ono S, Imamura A, Iga J, Watanabe S, Kikuchi K, Kubo H, Nakataki M, Sumitani S, Imoto I, Okazaki Y, Ohmori T. DNA methylation signatures of peripheral leukocytes in schizophrenia. *Neuromolecular Med*. 2013 Mar;15(1):95-101.(4.492)
査読有

杉本流, 今村明
アトモキセチンのエビデンス
脳 21 16(2): 215 -220、2013 年
査読無

今村明
海外におけるアトモキセチンの使用状況
精神科 23(1): 74-78、2013 年
査読無

小野慎治、黒滝直弘、木下裕久、小澤寛樹、今村明
コピー数変異と統合失調症
精神科治療学 26 巻 1387-1393、2011 年
査読無

Kurotaki N, Tasaki S, Mishima H, Ono S, Imamura A, Kikuchi T, Nishida N, Tokunaga K, Yoshiura K, Ozawa H. Identification of novel schizophrenia loci by homozygosity mapping using DNA microarray analysis. *PLoS One*. 2011;6(5):e20589.(3.730)
査読有

Nakazawa N, Imamura A, Nishida A, Iwanaga R, Kinoshita H, Okazaki Y, Ozawa H. Psychotic-like experiences and poor mental health status among Japanese early teens. *Acta Medica Nagasakiensia*, 56(2), pp.35-41; 2011
査読有

〔学会発表〕(計6件)

Akira Imamura
Epigenetic mechanisms may underlie the etiology of attention-deficit/hyperactivity disorder. The 2ND Asian Congress on ADHD, Symposium IV "Genetics

and Epigenetics of ADHD: Basic and Clinical Implications”
March 8-9, 2014, Tokyo, Japan

今村明
「触法発達障害者の対応 外来の症例を中心に」第110回日本精神神経学会 シンポジウム46「触法発達障害者への対応 司法・医療・地域の課題」コーディネーター、司会、発表、2014年6月26日 28日、パシフィコ横浜(横浜市)

今村明
「自閉症スペクトラム障害の感覚の問題-研究者、当事者の記述より-」第109回日本精神神経学会 シンポジウム24「DSM-5の時代にあらためて考える 自閉症スペクトラム障害の感覚の問題」コーディネーター、司会、発表、2013年5月23日 25日、福岡国際会議場(福岡市)

今村明
「被虐待児と発達障害児のエピジェネティック変化の関与の可能性」第108回日本精神神経学会 シンポジウム46「被虐待児と発達障害児の生物学的関係、特にエピジェネティクスについて」コーディネーター、司会、発表、2012年5月24日 26日、札幌コンベンションセンター(札幌市)

Akira Imamura, Shinji Ono, Aoi Hashida, Naohiro Kurotaki, Hiroki Ozawa, Koh-ichiro Yoshiura, Yuji Okazaki
Copy number analysis in monozygotic twins discordant for autistic disorder
10th World Congress of Biological Psychiatry
Prague, Czech Republic, 30 May 2011

今村明
一卵性双生児精神疾患不一致例におけるコピー数解析
日本生物学的精神医学会(招待講演)2011年5月22日、ホテルグランパシフィック LE DAIBA(東京都港区台場)

〔図書〕(計2件)

今村明
おとなの発達症のための医療系支援のヒント. 星和書店、2014年11月、全221頁

今村明(共著)
精神科臨床エキスパート 抑うつ鑑別を究める(野村総一郎 編) 第4章自閉
pp54-65、医学書院、2014年7月

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

今村 明 (IMAMURA, Akira)
長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学系)・
准教授

研究者番号：40325642

(2)研究分担者

成田 年 (NARITA, Minoru)
星薬科大学・薬学科・教授

研究者番号：40318613

黒滝 直弘 (KUROTAKI, Naohiro)
長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学系)・
講師

研究者番号：20423634

小澤 寛樹 (OZAWA, Hiroki)
長崎大学・医歯薬学総合研究科 (医学系)・
教授

研究者番号：50260766

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし