

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26893002

研究課題名(和文) 児のADHD発症と胎児期受動喫煙との遺伝-環境交互作用の解明

研究課題名(英文) Effects of prenatal exposure to passive smoking and genetic polymorphisms on attention deficit/hyperactivity disorders (ADHD) in Japanese children

研究代表者

小林 澄貴 (Kobayashi, Sumitaka)

北海道大学・環境健康科学研究教育センター・特任助教

研究者番号：10733371

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：研究デザインは、出生前向きコホート内症例対照研究である。2003-2007年に生まれた8歳児のうちADHD-RS得点が得られた3,263名のうち、児の性別と母の出産年齢でマッチングさせ1,491名抽出したところ、非喫煙群552名、受動喫煙群812名、喫煙群127名となった。ロジスティック回帰分析で検討したところ、非喫煙群と比較して、受動喫煙群から生まれた8歳児のADHD疑いになるオッズ比は1.17倍高かったものの有意ではなかった(95%CI: 0.84-1.63)。妊娠中の母の受動喫煙曝露が8歳児のADHDのリスク増加に影響を及ぼさず、そして遺伝環境交互作用も関与しないと考えられた。

研究成果の概要(英文)：I investigated the effects of maternal genetic polymorphisms and prenatal passive smoking in relation to children's attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD) in Japanese children at 8-year-old of age by means of nested case-control study. Totally, 1,491 participants (552 non-smokers, 812 passive smokers and 127 smokers) were included in the study between 2003 and 2007. Three groups of mothers were distinguished by plasma cotinine levels by ELISA measured during the third trimester of pregnancy (cut-off = 0.21 and 11.48 ng/mL). We conducted data analysis using logistic regression models. Odds ratio of suspected ADHD of infants born from passive smokers was 1.17 (95%CI: 0.84-1.63) compared to infant born from non-smokers. Therefore, I considered that infants whose mothers passive-smoked during the third trimester had not increased ADHD risk at 8-year-old and not affected gene-environment interaction between maternal genetic polymorphisms and prenatal passive smoking to ADHD.

研究分野：公衆衛生学

キーワード：ADHD 喫煙 遺伝環境交互作用 環境化学物質 妊婦 社会医学 疫学 公衆衛生学

1. 研究開始当初の背景

注意欠損・多動性障害 (Attention deficit/hyperactivity disorder; ADHD) は不注意、多動性、衝動性を主症状とする神経発達障害である。わが国において、不注意または多動性・衝動性の問題を著しく示す児童生徒の割合は全体の 3.1% であり、増加している (文部科学省、2012)。ADHD の環境要因としては、妊娠中の喫煙や飲酒などが報告されている (Millichap ら、2008)。さまざまな環境要因の中で、妊婦の受動喫煙は 1.43 倍にリスクを上げた (Langley ら、2012)。近年、妊娠中の母の喫煙、飲酒および社会経済要因を検討した研究では、遺伝要因との相互作用が認められた (Grizenko ら、2012 ほか)。妊娠中の母の受動喫煙と多環芳香族炭化水素 (Polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs) 代謝関連遺伝子多型との相互作用が出生身長を 0.59 cm 減少させた (小林、2014)。さらに、妊娠中の母の喫煙と N-ニトロソアミン代謝酵素の相互作用も出生体重を 199 g 減少させたと既に報告されている (Sasaki ら、2008)。発症者数が増加している ADHD 発症への影響の解明においても、胎児期受動喫煙と遺伝要因を検討する必要がある。

妊娠中の母の受動喫煙とシトクロム P450 (Cytochrome P450; CYP) 1A1 遺伝子多型との相互作用が 2 歳児の神経発達に影響を及ぼした (Hsieh ら、2008)。また、ADHD 発症の双生児研究では、高い遺伝性を示す報告があった (76-78%) (Faraone ら、2006)。先行研究では神経伝達関連遺伝子、特にドパミン系 (DRD4、DAT1、COMT など) との相互作用が有力とされている (O'Brien ら、2012)。さらに、たばこ煙に含まれるニコチンがニコチン型アセチルコリン受容体に結合したのち、脳内にドパミンを供給する。ドパミンが脳内で神経伝達に使われ枯渇化し供給不足におちいる。そして、ADHD が発症する。このメカニズムは動物実験で既に報告されている (Zhu ら、2012)。しかし、このメカニズムでは、化学物質代謝関連遺伝子多型との相互作用が検討されていない。化学物質は母児の生体内代謝を受けた後、児の脳内神経細胞に移行する。よって、胎児期受動喫煙と ADHD 発症との関連には、化学物質代謝および神経伝達関連両方の遺伝要因の影響を受けることが示唆される。

2. 研究の目的

前向きコホート研究を用いて、8 歳児を対象にコホート内症例対照研究を行う。この研究によって、胎児期受動喫煙と化学物質代謝関連および神経伝達物質代謝関連遺伝子多型との相互作用が 8 歳児の ADHD 発症に及ぼす影響を検討することを目的とする。本研究成果によって、世界的に増えている児の ADHD 発症に対し、早期からの予防医学的なアプローチが可能になる。また、遺伝的なハイリスク群の妊婦が ADHD 発症を予防する

ための自主的な受動喫煙対策への取り組みも立てられるようになる。

3. 研究の方法

2001 年に出生前向きコホート研究「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ (以下、北海道スタディ) (研究代表者: 岸玲子 北海道大学特別招へい教授)」を用いて、収集された質問票への回答や、母体血・臍帯血等の生体試料に基づき化学物質の曝露評価を行い、アウトカムとの関連を検討した。また、遺伝環境交互作用の影響を評価するため、母体血中の DNA 一塩基多型 (Single nucleotide polymorphisms; SNPs) を測定し、受動喫煙曝露とアウトカムとの関連を検討した。

(1) バイオマーカーによる受動喫煙の曝露評価: 妊娠中の母の受動喫煙の指標として、既に Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法で測定した妊娠後期の母体血漿コチニン値を使った。妊娠後期の母体血漿コチニン値を Receiver operating characteristic (ROC) 曲線を使って非喫煙者と喫煙者のカットオフ値を求めたところ、11.49 ng/mL だった。さらに、非喫煙者でたばこ煙に曝露された群と曝露されていない群のカットオフ値を求めたところ、0.21 ng/mL だった (Sasaki ら、2011)。

(2) 遺伝子解析: Fludigm 社製マイクロフリューディック遺伝子解析 EP1 システムでたばこ煙中の代表物質多環芳香族炭化水素代謝関連の芳香族炭化水素受容体 (Aromatic hydrocarbon receptor, AHR; dbSNP ID: rs2066853)、CYP1A1 (rs1048943)、DNA 修復遺伝子である X-ray cross-complementing gene 1 (XRCC1; rs1799782) の SNPs を解析した。

(3) アウトカム評価

出生アウトカムに関する検討: 低出生体重は生後の神経行動発達に負の影響を及ぼすことが示唆されているため、出生体重、出生身長および出生頭囲への影響を調査した。生後 4 か月時に母子健康手帳の転記を依頼し、出生時体格情報を得た。

神経行動発達に関する検討: 8 歳児に ADHD-rating scale (ADHD-RS) を使って ADHD 疑いを評価した。

4. 研究成果

本研究の成果として、以下の曝露とアウトカムに関する新たな関連を明らかにすることができた。加えて、環境遺伝交互作用の影響を示すことができた。

(1) 妊娠中の母の能動・受動喫煙との遺伝環境交互作用: 児の出生時体格について妊娠中の母の能動・受動喫煙と児の出生時体格との関連について、妊娠後期非喫煙者 (妊娠後期コチニン値 ≤ 11.48 ng/mL) から生まれた児と比較して、喫煙者 (妊娠後期コチニン値 ≥ 11.49

ng/mL) から生まれた児は、出生体重が 71 g 有意に小さかった (95%信頼区間 (Confidence intervals; CI) : -103, -40; $P < 0.001$)。さらに、非喫煙者 (妊娠後期コチニン値 ≤ 0.21 ng/mL) から生まれた児と比較して、受動喫煙者 (妊娠後期コチニン値 0.22-11.48 ng/mL) から生まれた児は 55 g 有意に小さかった (95% CI: -96, -14; $P < 0.01$)。妊娠中、特に妊娠後期の喫煙および受動喫煙が細胞の成長や肥大化を阻害することで、出生時体格に大きく影響を及ぼすと考えられた。喫煙と出生時体格との遺伝環境交互作用については、有意な関連が認められなかったものの、胎児発育に母の DNA 修復遺伝子多型が関与することがわかった。さらに *AHR*, *CYP1A1* および *XRCCI* の特定の遺伝子多型の組合せをもつ妊娠中喫煙者から生まれた児では、より大きな出生体重の減少 (-145 g 減少、 $P = 0.003$) を示した (表 1)。これらの遺伝子多型の組合せをもつ喫煙者では、DNA 付加体がより多く形成されやすいことから、胎児への影響に個体差が見られたと考えられた。

(2) 妊娠中の母の能動・受動喫煙による遺伝環境交互作用：8 歳児の神経行動発達について

妊娠中の母の能動・受動喫煙と 8 歳児の ADHD との関連について、2007 年 12 月までの ADHD-RS 得点が得られたのは 3,263 名だった。ここから症例群：対照群 = 1 : 4 とし、児の性別と母の出産年齢 (± 5 歳) でマッチングさせ 1,491 名抽出したところ、非喫煙者 552 名、受動喫煙者 812 名、喫煙者 127 名だった。交絡因子で調整したロジスティック回帰分析で検討したところ、非喫煙者から生まれた児と比較して、受動喫煙者から生まれた児の ADHD 疑いになるオッズ比は 1.71 倍高くなるものの有意ではなかった (95% CI: 0.84, 1.63; $P = 0.365$)。一方、喫煙者から生まれた児の ADHD 疑いになるオッズ比は、1.71 倍高くなり有意だった (95% CI: 1.01, 2.90; $P = 0.045$) (図 1)。妊娠中の母の受動喫煙と児の ADHD との関連については、有意な関連が認められなかったことから、胎児期の母の受動喫煙曝露が 8 歳児の ADHD のリスク増加に影響を及ぼさず、そして遺伝環境交互作用も関与しないと考えられた。しかし、胎児期の母の喫煙曝露による 8 歳児の ADHD のリスク増加に遺伝環境交互作用を及ぼすことは否定できなかった。妊娠中の母の能動・受動喫煙と 8 歳児の ADHD との関連についての解析対象者 1,491 名について、母体血 DNA および臍帯血 DNA を抽出した。今後、母体血 DNA および臍帯血 DNA の化学物質代謝および神経伝達物質代謝関連遺伝子多型を

解析することで、妊娠中の母の喫煙曝露による 8 歳児の ADHD のリスク増加に遺伝環境交互作用が関与するかについて、さらに明らかにしていく。

表 1. 母の妊娠中の喫煙と児の出生体重との関連：遺伝子型の組合せ別

母の喫煙状況	人数	母の遺伝子型			児の出生体重 (g) β (95%CI)
		<i>AHR</i>	<i>CYP1A1</i>	<i>XRCCI</i>	
非喫煙	144	GA/AA	AA	CC	Reference
非喫煙	174	GA/AA	AA	CT/TT	34 (-1, 69)
非喫煙	96	GA/AA	AG/GG	CC	19 (-24, 63)
非喫煙	100	GA/AA	AG/GG	CT/TT	43 (0, 86)
非喫煙	72	GG	AA	CC	81 (31, 131)**
非喫煙	74	GG	AA	CT/TT	36 (-14, 86)
非喫煙	25	GG	AG/GG	CC	28 (-46, 102)
非喫煙	48	GG	AG/GG	CT/TT	97 (32, 162)**
喫煙	250	GA/AA	AA	CC	22 (-32, 76)
喫煙	290	GA/AA	AA	CT/TT	-56 (-111, -2)*
喫煙	164	GA/AA	AG/GG	CC	-70 (-136, -4)*
喫煙	178	GA/AA	AG/GG	CT/TT	-22 (-83, 39)
喫煙	122	GG	AA	CC	0 (-72, 72)
喫煙	129	GG	AA	CT/TT	-47 (-121, 26)
喫煙	64	GG	AG/GG	CC	-64 (-186, 58)
喫煙	68	GG	AG/GG	CT/TT	-145 (-241, -50)**
$P_{int} = 0.199$					

AHR, G>A, Arg554Lys; *CYP1A1*, A>G, Ile462Val; *XRCCI*, C>T, Arg194Trp。
 β は Reference と比較した児の出生体重の変化量 (95%信頼区間)、 P_{int} は交互作用項の P 値を表す。

母の年齢、身長、妊娠前体重、出産歴、妊娠中飲酒状況、教育歴、世帯収入、在胎週数、児の性別で調整した重回帰分析。

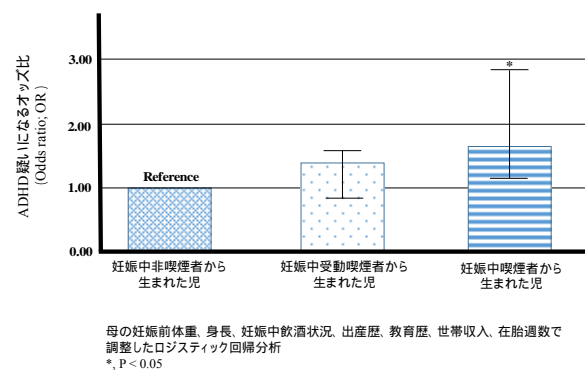


図 1. 妊娠中非喫煙者から生まれた児と比較した受動喫煙者および喫煙者から生まれた児の ADHD 疑いになるオッズ比

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

- 1) 池野多美子, 小林澄貴, 山崎圭子, 西原進吉, 岸玲子. 子どもを取り巻く環境と健康 第 16 回 児の精神神経発達と環境化学物質 (3) AD/HD・ASD. 公衆衛生. 医学書院. 査読無. 2016 (印刷中).
- 2) 佐々木成子, 小林澄貴, 岸玲子. 子ども

を取り巻く環境と健康 第7回 喫煙, 受動喫煙による児への影響—遺伝的ハイリスク群を含む. 公衆衛生. 医学書院. 査読無. 2015. 79: 637-643.

- 3) 小林澄貴, 池野多美子, 荒木敦子, 山崎圭子, 西原進吉, 岸玲子. 環境化学物質の胎児期曝露による児の神経発達への影響に関する疫学文献レビュー: 注意欠如・多動性障害(AD/HD)・自閉症スペクトラム(ASD)を含めて. 北海道公衆衛生学雑誌. 査読有. 2015. 29: 31-40.
- 4) 小林澄貴, 佐々木成子, 佐田文宏, 宮下ちひろ, 池野多美子, 荒木敦子, 岸玲子. 妊婦の受動喫煙が児の出生時体格へ及ぼす影響: 遺伝的なハイリスク群について—環境と子どもの健康に関する北海道スタディー. 北海道小児保健研究会会誌. 査読無, 2014. 35-39.
- 5) 小林澄貴, 荒木敦子, 佐々木成子, 池野多美子, 宮下ちひろ, 伊藤佐智子, 岸玲子. 胎児期の母の受動喫煙と児の出生体重との関連について最近の研究動向. 北海道公衆衛生学雑誌. 査読有. 2014. 28: 37-48.

〔学会発表〕(計10件)

- 1) Sumitaka Kobayashi, Chihiro Miyashita, Seiko Sasaki, Atsuko Araki, Fumihiko Sata, Susumu Ban, Jumboku Kajiwara, Takashi Todaka, Reiko Kishi. Effects of maternal AHR, CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms and dioxins on infant birth weight: The Hokkaido Study. 18th Hokkaido University and Seoul National University Symposium: Climate Change Impacts on Natural Disasters (Satellite Session: Chemical exposures among sensitive populations and environmental health implications). Seoul National University, Seoul, Korea. November 26-27, 2015.
- 2) 小林澄貴, 宮下ちひろ, 荒木敦子, 池野多美子, 伊藤佐智子, Houman Goudarzi, 花岡知之, 岸玲子. 妊娠初期における就労女性の有害物質の取扱いが児の流・死産に及ぼす影響. 第67回北海道公衆衛生学会. 旭川医科大学. 北海道旭川市. 2015.11.22.
- 3) 西原進吉, 池野多美子, 小林澄貴, 佐々木成子, 岸玲子. 胎児期の母と学童期の児の喫煙曝露とADHD-RSとの関連—北海道スタディー. 第74回日本公衆衛生学会総会. 長崎ブリックホール. 長崎県長崎市. 2015.11.4.-6.
- 4) 小林澄貴, 宮下ちひろ, 荒木敦子, 池野多美子, 伊藤佐智子, Houman Goudarzi, 花岡知之, 岸玲子. 妊娠初期における北海道内女性労働者の記述疫学的考察. 平成27年度日本産業衛生学会北海道地方会(第95回北海道医学大会産業衛生分科会). サン・アザレア(旭川建設労働者福祉センター). 北海道旭川市.

2015.10.17.

- 5) Sumitaka Kobayashi, Chihiro Miyashita, Seiko Sasaki, Atsuko Araki, Fumihiko Sata, Susumu Ban, Jumboku Kajiwara, Takashi Todaka, Reiko Kishi. Effects of maternal AHR, CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms and dioxins on infant birth weight: The Hokkaido Study. 27th Conference of the International Society for Environmental Epidemiology (ISEE2015). Reboucas Convention Center, Sao Paulo, Brazil. August 30-September 3, 2015.
- 6) 小林澄貴, 宮下ちひろ, 佐々木成子, 荒木敦子, 佐田文宏, 坂晋, 梶原淳睦, 戸高尊, 岸玲子. ダイオキシン類曝露と胎児発育との関連: 遺伝的なリスクについて—北海道スタディー. 第85回日本衛生学会学術総会. 和歌山県民文化会館. 和歌山県和歌山市. 2015.3.26-28.
- 7) 小林澄貴, 佐々木成子, 佐田文宏, 宮下ちひろ, 池野多美子, 荒木敦子, 岸玲子. 胎児期の母の受動喫煙が児の出生時体格に及ぼす影響: 遺伝環境交互作用について. 第66回北海道公衆衛生学会. 北海道大学. 北海道札幌市. 2014.12.02.
- 8) Sumitaka Kobayashi. Prenatal dioxin concentrations in blood and genetic polymorphisms in the AHR and CYP1A1. 17th Hokkaido University and Seoul National University Joint Symposium 2014 (Satellite Session 11: Endocrine Disruptors and Health Effects among Susceptible Populations). Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido, Japan. November 27-29, 2014.
- 9) 小林澄貴, 荒木敦子, 宮下ちひろ, 池野多美子, 伊藤佐智子, 伊藤久美子, Houman Goudarzi, 田村菜穂美, 岸玲子. 北海道における妊婦の職域における化学物質曝露・受動喫煙および飲酒習慣が児の出生時体格に及ぼす影響. 平成26年度日本産業衛生学会北海道地方会(第94回北海道医学大会産業衛生分科会). 札幌市医師会館. 北海道札幌市. 2014.10.18.
- 10) 小林澄貴, 佐々木成子, 佐田文宏, 宮下ちひろ, 池野多美子, 荒木敦子, 岸玲子. 妊婦の受動喫煙が児の出生時体格へ及ぼす影響: 遺伝的なハイリスク群について—環境と子どもの健康に関する北海道スタディー—. 北海道小児保健研究会平成26年度総会. 札幌医科大学. 北海道札幌市. 2014.05.24.

〔その他〕

ホームページ等
北海道大学 環境健康科学研究教育センター
<http://www.cehs.hokudai.ac.jp/>
北海道スタディー
<http://www.cehs.hokudai.ac.jp/hokkaidostudy/>
環境と健康ひろば
<http://www.cehs.hokudai.ac.jp/hiroba/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

小林 澄貴 (KOBAYASHI, Sumitaka)
北海道大学・環境健康科学研究教育センター・
特任助教
研究者番号 : 10733371

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし