

## 【5-1454】環境化学物質による ASD 等の神経発達障害と環境遺伝ーエピゲノム相互作用の解明

(H26～H28 累計予算額 150,644 千円)

研究代表者 岸 玲子 (北海道大学)

### 1. 研究実施体制

- (1) 神経発達アウトカムへの環境化学物質曝露と環境遺伝相互作用の解明 (北海道大学)
- (2) 環境化学物質曝露に起因する ASD 等の発達障害関連エピジェネティクス変化の解明 (山梨大学)

### 2. 研究開発目的

本研究では、ASD や ADHD 等の発達障害や子どもの問題行動および知能への、胎児期の BPA、フタル酸エステル類曝露による影響をヒトで明らかにする。さらに、環境化学物質曝露による発達障害のリスクは遺伝子の多型によって異なるか、加えて化学物質曝露により影響を受ける DNA メチル化変化(エピゲノム変化) が神経発達障害の発症リスクと関連するかを解明する。

環境省が実施するエコチル調査の追加調査として、1.5 歳頃の社会的行動発達を M-CHAT (Modified Checklist for Autism in Toddlers、乳幼児期自閉症チェックリスト修正版)により調査し、早期の ASD 兆候を明らかにし、エコチル本体調査で実施する子どもの発達調査とあわせて、子どもの発達の軌跡をとらえることを目的とする。さらに、地域や行政とも協力し、早めの支援や介入を可能とする。併せて将来子どもの生後の環境化学物質曝露を調べることを目的に、尿を収集する。

また、エコチル調査より 10 年早く開始した前向き出生コーホート「子どもの健康と環境に関する北海道スタディ」を用いて、胎児期の BPA、フタル酸エステル類曝露による 6 および 18 か月児の精神運動発達、42 か月児の知能・行動発達、5、6 歳の ASD、ADHD 関連症状への影響を明らかにする。神経伝達物質代謝関連遺伝子や化学物質受容体関連遺伝子の一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphisms: SNPs) と、6 歳児の ADHD 傾向との関連を明らかにする。

臍帯血 DNA の 45 万メチル化解析により、BPA、フタル酸エステル類曝露と関連する DNA メチル化部位 (CpG=シトシンの次にグアニンが現れるタイプの 2 塩基配列) を同定し、曝露によるエピゲノム変化を解明する。また、抽出した CpG を含む遺伝子領域について、次世代シーケンサーを用いてメチル化変化を解析し、網羅的メチル化解析で抽出された曝露と関連するメチル化変化が神経発達に関連するかを解明する。

### 3. 本研究により得られた主な成果

#### (1) 科学的意義

- 1) エコチル追加調査として、本体調査では実施できなかった M-CHAT を用いた生後早期の社会性発達調査を 3,500 名以上に実施し、1.5 歳頃の子どもの ASD 傾向の実態と特徴を明らかにした。これまでは明らかになっていない ASD 症状の軌跡を、今後、本体調査 4 歳以降の時点における ASD 調査と合わせて詳細に記述するためのデータを得た。
- 2) SDQ、DCDQ、ADHD-RS、SCQ の結果から、広汎性発達障害や協調運動障害、ADHD 疑いに関連する可能性がある社会経済要因として、妊娠中の世帯年収が低いこと、母の教育歴が低いこと、そのほかの要因として、母の妊娠前 BMI が  $30\text{kg}/\text{m}^2$ 、第一子であること、男児であることを示した。特に、SDQ は一般集団を対象とした研究ではこれまでの国内の報告の中でも最大規模であり、科学的なエビデンスの蓄積に貢献した。
- 3) BPA、フタル酸エステル類 7 代謝物の曝露測定結果から、日本人妊婦の BPA、フタル酸エステル類への曝露実態に関する詳細なデータを提供した。比較的低濃度ではあるが BPA、DnBP、DiBP、DEHP、の曝露が認められることを示した。
- 4) 比較的低濃度の胎児期 BPA 曝露であっても、42 か月の問題行動への影響がある可能性が示唆され

た。一方、6か月、18か月での神経行動発達、42か月の知的能力との関連は認められず、胎児期曝露による影響はないことが示唆された。また、BPA、フタル酸エステル類の胎児期曝露は、6歳でのADHDとは関連がみられなかったが、遺伝子多型によって層別化したところ、MEHP濃度とADHD疑いとなるオッズに違いがみられた。曝露によるADHD発症には、遺伝子多型によるハイリスク群の可能性が示唆されたが、今後より詳細に検討する必要がある。

- 5) 292人の児の臍帯血の網羅的DNAメチル化解析を実施し、胎児期の化学物質および喫煙曝露によりメチル化が変化する遺伝子領域を示した。BPA、フタル酸エステル類の胎児期曝露への影響を遺伝子網羅的に解析した研究は国際的にも初となる。喫煙については日本で初めての研究である。胎児期のBPAやフタル酸エステル類曝露により有意にメチル化変化が起こる遺伝子が同定されたが、それらの中には、神経発達に関連する遺伝子が含まれ、曝露による神経発達への影響にDNAメチル化が関与する可能性が示された。
- 6) 喫煙曝露については、同定したメチル化部位には既報の遺伝子だけでなく、新規に神経発達関連遺伝子を見出した。また、DNAメチル化で喫煙をやめた効果が反映される遺伝子を見出すことができた。
- 7) 次世代シーケンサーを用いて、他検体・複数領域のDNAメチル化を定量的に解析する方法を確立できたことから、今後エピゲノム疫学分野での本研究方法や技術の活用が期待できる。

## (2) 環境政策への貢献（研究代表者による記述）

### <行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

### <行政が活用することが見込まれる成果>

- 1) 環境省が行うエコチル調査の目的である、「胎児期から小児期にわたる子どもたちの成長・発達に影響を与える環境要因を明らかにすること」に、妊婦の環境化学物質曝露の実態のデータ提供や、発達検査の実施を通して大きく貢献できる。M-CHATのデータは、環境省エコチル本体調査で3、5歳に実施する対人応答性尺度を用いた発達調査のデータとあわせて、子どもの生後早期の社会性発達の軌跡をとらえることにより早期治療に活用できる。また、1.5歳の社会性発達（ASD傾向）の調査により、生後早期の発達調査を実施することで、行政課題である、発見の遅れ、学校現場等において二次障がいが生じている発達障害児の発見と対応に貢献できると考えられる。
- 2) 本研究で明らかになった妊婦のフタル酸エステル類、BPAの曝露実態は、これら化学物質の規制や管理をしていくうえで、科学的根拠として用いることができる。特定の遺伝子多型を持つ児では、MEHPの濃度が増加すると、注意欠陥・多動性障害疑いとなるリスクが増加することを示唆し、この結果は行政が遺伝的ハイリスク群も考慮した化学物質濃度の規制や基準を制定するなどの環境政策の立案に活用できる。
- 3) 大規模な日本人集団において臍帯血の網羅的DNAメチル化データは初めてであり、貴重なエピゲノムデータセットとして利用可能である。網羅的DNAメチル化解析により、環境化学物質曝露によるメチル化変化がみられるCpGには、動物実験などから神経発達に関与するとされる遺伝子が含まれていた。胎児期のビスフェノールAやフタル酸エステル類曝露がDNAメチル化を介して、ヒトの神経行動発達に影響する可能性を示唆し、この結果は環境化学物質の規制を考慮する際に科学的根拠の一つとして活用できる。
- 4) 胎児期の喫煙曝露によりDNAのメチル化が変化する遺伝子上の部位と、喫煙をやめた効果が反映される遺伝子のDNAメチル化部位を見出した。喫煙をやめることによるDNAメチル化変化への影響が示唆されたため、禁煙を推進する政策を策定する際に、DNAレベルでの禁煙の効果を国民に発信する科学的根拠として活用できる。

- 5) 大規模な疫学研究において次世代シーケンサーによるDNAメチル化解析法が確立できたことから、喫煙のみならず様々な環境化学物質曝露によるDNAメチル化の解析への利用が可能である。次世代シーケンサーを用いて、多検体・複数領域のDNAメチル化を定量的に解析する方法により、今後エピゲノム疫学分野での活用が期待できる。
- 6) 胎児期喫煙曝露による神経発達障害発症へのDNAメチル化の関与の有無を明らかにすることで、DNAメチル化解析による発症リスクを持つ児の早期特定、介入を行うことが将来的に可能になる。

#### 4. 委員の指摘及び提言概要

疫学調査と遺伝子解析により、環境化学物質が ASD や ADHD などの神経発達障害と関係があることを示唆した貴重な研究であり、また遺伝子メチル化の関与の研究については後続の大規模疫学研究における1つのタイプの出発点となる意味もある。対象汚染物質が BPA、DEHP のみに限定されているが、今後は他の汚染物質との関連性や、見出された遺伝子の変化が実際の生理的变化上で意味をもつかどうかの解析も進めていただきたい。また、調査対象数の増加、データ呈示法の充実等も考慮しながら結論をまとめていくことも期待される。

#### 5. 評点

総合評点：A