

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質総合研究事業）
分担研究報告書

内分泌攪乱化学物質の次世代への影響に関する前向きコホート研究

5) 水銀曝露と小児発達

主任研究者	岸 玲子	北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野教授
研究協力者	佐々木成子	北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野
	蜂谷 紀之	環境省国立水俣病総合研究センター
	安武 章	環境省国立水俣病総合研究センター
	佐田 文宏	北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野講師
	玉置 淳子	北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野助手
	西條 泰明	北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野
	加藤 静恵	北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野
	中島そのみ	北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野
	鵜野安希子	北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野

研究要旨

次世代への影響が示唆されている水銀曝露と小児発達との関連性を検討するために妊娠中の母親を対象とした前向きコホート研究を設定した。分娩後採取による母親の毛髪水銀濃度測定および質問票を用いた魚介類摂取状況把握から妊娠中の水銀曝露評価を行なう。

A. 研究目的

水銀曝露による次世代への影響については、妊娠中に水銀曝露があった母親から生まれた児では脳性麻痺、筋肉緊張あるいは腱反射低下、発育の遅れなど神経学的な異常がみられたという報告があり、妊娠時の水銀曝露が胎児に及ぼす有害性が示唆されてきた。

わが国では熊本県水俣市で発生した胎児性水俣病が報告されており、魚介類に蓄積された高濃度のメチル水銀が母親から胎盤を通じて胎児に重大な障害を与えた¹⁾。

また、微量のメチル水銀が胎児に与える影響についても報告されてきた。セイシエル諸島では妊娠中の母親の魚介類摂取によるメチル水銀曝露と児の神経発達の相関関係を検討したが、出生前の水銀曝露による有害な影響は認められなかった²⁾³⁾。一方、デンマーク領フェロー諸島で行われた7歳児への調査では反応時

間や言語検査において水銀曝露と有意な関連性が示された⁴⁾⁵⁾。

微量のメチル水銀はマグロなど外洋を回遊する魚に多く含まれているが、魚介類摂取が多いわが国においても地域ベースで水銀濃度測定を行ない、水銀曝露と小児発達との関連性について明らかにする必要がある。

B. 研究方法

札幌市内の一般病院産科を受診した妊娠23-35週の妊婦を対象とする前向きコホート調査を設定した。母親の妊娠中の水銀曝露評価のために分娩後5日以内に母親の後頭部毛根から約20-50mgの毛髪を採取して水銀濃度を測定する。さらに、質問票を用いて妊娠中の魚介類摂取状況を把握する。

(倫理面への配慮)

疫学調査は北海道大学大学院医学研究科医の倫理委員会および遺伝子解析審査小委

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質総合研究事業）
分担研究報告書

員会、同遺伝子病制御研究所の倫理規定に従って実施し、インフォームドコンセントはヘルシンキ宣言に基づいて行なった。研究への参加は自由意志により、自発的に中止しても不利益を被らないよう配慮した。対象者のプライバシーの保持には細心の注意を払った。児に関しては両親の了解を得てから詳細な問診と理学所見の検討を行なう。神経発達・免疫学的ならびに内分泌学的検査に関しては、すべて事前にインフォームドコンセントを得て行なう。すべての実験・研究は、北海道大学大学院医学研究科および北海道大学大学院獣医学研究科で規定されているヒト組織および動物を用いた実験指針に従った。実験動物の飼育および安楽死に関しては最大限の配慮をする。動物実験計画の立案は、動物の導入から飼育、実験操作、終了後の処置までを、科学的にはもとより動物福祉の観点に立って十分な検討を行ない、動物実験の範囲を研究目的に必要な最小範囲にとどめるため実験操作の十分な検討を行なった。

C. 研究結果

62名の母親から毛髪採取および質問票による妊娠中の魚介類摂取状況調査を行なった。今後さらにサンプル数を増やすとともに毛髪中の水銀濃度測定を行ない、妊娠中の水銀曝露と小児発達との関連性を検討する。

D. 考察

メチル水銀の神経毒性は他の化学物質との相互作用によって強まることも示唆されており、ダイオキシン、PCBなど内分泌かく乱化学物質曝露評価においても水銀濃度の検討は必要である。

E. 参考文献

- 1) 原田正純: 胎児性水俣病. 周産期医学. 29(4):448-452, 1999.
- 2) Davidson PW, Palumbo D, Myers GJ et

al.: Neurodevelopmental outcomes of Seychellois children from the pilot cohort at 108 months following prenatal exposure to methylmercury from a maternal fish diet. Environ Res. 84(1):1-11, 2000.

- 3) Myers GJ, Davidson PW, Palumbo D et al.: Secondary analysis from the Seychelles Child Development Study: the child behavior checklist. Environ Res. 84(1):12-19, 2000.
- 4) Grandjean P, White RF, Weihe P et al.: Neurotoxic risk caused by stable and variable exposure to methylmercury from seafood. Ambul Pediatr. 3(1):18-23, 2003.
- 5) Grandjean P, Weihe P, White RF et al.: Cognitive performance of children prenatally exposed to "safe" levels of methylmercury. Environ Res. 77(2):165-172, 1998.

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 学会発表

日本疫学会(2004)発表予定

ADHD を含む発達障害児の児及び母親の甲状腺マスキングによる甲状腺機能
---後ろ向き研究の結果

主任研究者 岸玲子 北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野教授
研究協力者 加藤静恵 北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野
佐田文宏 北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野
玉置淳子 北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野
氏家武 北海道こども心療内科氏家医院
長沼睦雄 北海道立札幌肢体不自由児療育センター小児神経科
本間かおり、水島好清、藤田晃三 札幌市立衛生研究所

研究要旨

甲状腺機能と注意欠陥・多動（ADHD）及び学習障害（LD）など神経発達障害の関連の関係を明らかにする目的で、注意欠陥・多動（ADHD）及び学習障害（LD）の患者の母の妊婦、及び児の新生児甲状腺マスキング結果を過去にさかのぼって、35名の児と7名の母親で調査した。このうち新生児甲状腺機能異常を示し、再検対象となった児および甲状腺抗体陽性および甲状腺機能異常のある母親はいなかった。

A. 研究の目的

内分泌攪乱物質が甲状腺への作用を介しての神経発達への影響が危惧されている。

特に、サルにおいてPCB、鉛の曝露実験でADHD類似の行動上の問題が指摘されている1), 2), 3)。また長山らはバックグラウンドの曝露を受けている母親のダイオキシン類濃度が児の甲状腺刺激ホルモン（TSH）濃度と正の相関があると報告している4)。アリルトカカーボン（AhR）受容体を介して甲状腺へ働き、神経の髄鞘化に影響し、内分泌攪乱作用を引き起こすことがわかってきた。血液脳関門が未熟な胎児、新生児期の化学物質の曝露が神経発達へ及ぼす影響の大きさが懸念されている。

Koopmanらは母乳中のダイオキシン、PCBが高値であれば有意に母体血清中のT3, T4値が低値であり、児の生後2週目と

3ヶ月後の血清TSH値は高値であると報告している5)。Haddowらは妊娠中の診断のついていない甲状腺機能低下が胎児へ影響を及ぼし知能に影響を及ぼすのでスクリーニングが必要であると報告している6)。またAllanらは重大な周産期合併症として胎児死亡率の上昇とsecond trimester以降のTSHの上昇との関連を一般集団スクリーニングで報告している7)。松浦らは母乳のダイオキシンとPCBは乳児の甲状腺機能に大きな影響は認められないが、長期的な影響についての観察が必要であるとしている8,9)。Weissらは一般集団（<1%）に比してADHD患児で高率（5.4%に甲状腺異常が認められたと報告している10)。

札幌市では1986年6月より妊婦甲状腺マスキングを施行しており、発達障害児の母親の甲状腺マスキング結果と児の発達の間

連について検討するとともに、質問紙による曝露リスクについても明らかにすることを目的とした。

B. 研究の方法

対象：

2002年3月から10月に札幌市内の小児精神科2箇所及びADHD、LD親の会を通じて発達障害児の保護者に対して、妊婦又は新生児甲状腺機能検査を受けた母児と限定して調査研究への参加者を募った。札幌市内の3カ所の小児神経科に通院または通院歴があり、カルテの閲覧が可能で「注意欠陥・多動」を呈する発達障害児で、DMS-IV又はICD10により診断されているものを解析対象とした。

方法：

児のマススクリーニングTSH,フリーT4測定値を児31名(男29名、女2名)で、妊婦マススクリーニングのTSH,FT4,抗マイクロソーム抗体(AMC),抗チログロブリン抗体(ATG)測定値は妊婦8名で札幌市衛生研究所のデータを閲覧可能だった。ADHD症例群(31例)と、分娩年月日、性、分娩週数(±1週)をマッチさせた200名を対照群として甲状腺マススクリーニング結果のFT4、TSH値を解析した。

C. 研究結果

1. 新生児甲状腺マススクリーニング結果

16名が中枢神経刺激薬(リタリンなど)の投薬を受けていた。

ADHDの診断のほかに精神遅滞MR(15名)、自閉症Autism(8名)、高機能自閉症(2名)、広汎性発達障害PDD(6名)、てんかん(1名)、学習障害LD(7名)のアールトキアリ奇形(1名)の副診断名がある。知能検査はWISC-R(2名)、WISC-III(26名)または田中ビネー式(9名)が施行された。IQ85以下の

児は19名で、IQ70以下は10名であった(表1)。

ADHDを呈する発達障害例ではマススクリーニングのTSH,FT4等の結果から、新生児期甲状腺機能異常を呈する症例はなかった(表2)。

スクリーニング時の出生年月日、性、在胎週数をマッチさせた対照例と比較するとADHDを呈する発達障害児でTSHが低値の傾向があった。(図1、2)

6名が光線療法の必要な黄疸を呈し、5名は仮死、重度仮死は1名であり、周産期の因子の関与についても、さらに症例を増やし、検討が必要である。

2. 妊婦甲状腺マススクリーニング結果(表3)

検索しえた症例は8名と少ないが、母親の妊娠初期の甲状腺機能は正常であり、抗甲状腺抗体陽性者はいなかった。

児の出産後数年を経て、母親が甲状腺機能低下になった例が1例、父親がパセー病など甲状腺疾患の既往がある症例が3例あった。

D. 考察と今後の課題

ADHDと甲状腺機能の関係について検討することを、参加者を募る時点で保護者に説明したため、家族に甲状腺異常者のいる症例の参加が多かったことが考えられる。北海道での妊婦および新生児甲状腺機能マススクリーニング事業対象者が含まれているためこれらについては、北海道衛生研究所に依頼し、結果の閲覧をする。

ADHDは基本的には知能が正常であるため周産期の要因との関連は乏しく、仮に脳障害が発生したとしても部分的障害にとどまると考えられている。今後、症例数を増やし、知能が正常範囲の症例と境界症例、

精神遅滞症例に分けて層別に解析していく必要がある。

後ろ向きコホートでは、暴露評価が十分でなく、今後前向きコホート研究において、妊婦および新生児を対象に内分泌攪乱物質の胎児期暴露評価と甲状腺機能および神経発達の評価が必要である。妊婦での前向き研究で妊婦及び児の甲状腺機能および神経発達、認知機能について検討し、甲状腺抗体陽性例と陰性例での内分泌攪乱物質暴露状況や周産期の合併症についての違いがあるかの検討することにより、PCB やダイオキソンの Ah 受容体を介した甲状腺へ影響を及ぼす機序や、小児神経発達障害への関与を含めて解明していく必要がある。

E.倫理面への配慮

北海道大学の倫理委員会遺伝子解析審査小委員会の指針に従って実施する。2. 疫学調査におけるインフォームドコンセントはヘルシンキ宣言に基づいて行う。患者または家族が研究への参加を自発的に中止しても不利益を被らないよう配慮する。対象者のプライバシーの保持には細心の注意を払う。3. 両親の了解を得てから詳細な問診と理学所見の検討を行う。神経発達・免疫学的ならびに内分泌学的検査に関しては、研究への参加は保護者である両親の自由意志によるものであることを十分に説明し、すべて事前にインフォームドコンセントを得て行う。

すべての実験・研究は、北海道大学医学研究科及び北海道大学大学院獣医学研究科で規定されている、ヒト組織及び動物を用いた実験指針に準じ、また、北海道大学

の倫理委員会遺伝子解析審査小委員会の指針に従う。実験動物の飼育及び安楽死に関しては最大限の配慮をする。

E.参考文献

- 1) Rice DE
Parallels between attention deficit hyperactivity disorder and behavioral deficits produced by neurotoxic exposure in monkeys :Environ Health Perspect 2000 Jun ;108 Suppl 3 :405-8
- 2) Rice DE
Behavioral impairment produced by low-level postnatal PCB exposure in monkeys: Environ Res 1999Feb;80:S113-121
- 3) Arnold DL, Bryce F, Mes J, Tryphonas H, Hayward S, Malcom S: Toxicological consequences of feeding PCB congeners to infant rhesus (*Macaca mulatta*) and cynomolgus (*Macaca fascicularis*) monkeys :Food Chem Toxicol 1999 .37:153-67)
- 4) Nagayama, J., Okamura, K., Iida, T., Hirakawa, H., Matsueda, T., Tsuji, H., Hasegawa, M., Igarashi, H., Fukushima, J., Watanabe, T., 1998b. Perinatal exposure to chlorinated dioxins and related chemicals on thyroid hormone status in Japanese breast-fed infants. *Organohalogen Compd.* 37, 313-316
- 5) Corine Koopman-Esseboom, Dennis C. Morse, Nynke Weisglas-Kuperus, Ineke J. Lutkeschipholt, Cornelis G. Van Der Paauw, Louis G.M.T. Tuinstra, Abraham Brouwer,

Pieter J.J.Sauer: Effect of dioxins and Polychlorinated Biphenyls on Thyroid Hormone Status of Pregnant Women and Their

Infants :Ped.Reser.1994,vol36(4)468-473

6) J E. Haddow, G E. Palomaki, W C Allan, J R Williams, G J Knight, J Gagnon,

C E O'Heir, M L Mitchell, R J Hermos , S.E.Waisbren ,J D Faix, R Z Klein:

Maternal Thyroid Deficiency during Pregnancy and Subsequent Neuropsychological

Development of the Child:N Engl J Med1999;341549-555

7) WC Allan, JE Haddow , GE Palomaki , JR Williams ,ML Mitchell, RJ Hermos , JD Faix , RZ Klein

Maternal thyroid deficiency and pregnancy complications:implications for population screening.

J Med Screen 2000;7:127-130

8)Nobuo Matsuura, Tomoaki Uchiyama, Hiroshi Tada, Yosikazu Nakamura, Naomi Kondo, Masatoshi Morita, Masaru Fukushima : Effects of Dioxins and Polychlorinated Biphenyls(PCBs) on Thyroid Function in Infants Born in Japan: Report from Reserch

on Environmental Health :Clin Pediatr Endocrinol 2001;10(1)1-6

9) Matsuura N, Uchiyama T, Tada H, Nakamura Y, Kondo N, Morita M.

Fukushi M.

Effects of dioxins and polychlorinated biphenyls(PCBs) on thyroid function in infants born in Japan—the second report from research on environmental health

Chemosphere.2001Dec;45(8):1167-71
10)

Roy E Weiss, M A Stein, B Tromer, S Refetoff :Attention-deficit hyperactivity disorder and thyroid function :J Pediatr 1993;123:539-45

F 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 2003年1月25日：第13回日本疫学学術総会(福岡)：注意欠陥・多動(ADHD)を示す軽度発達障害児の現在および新生児マススクリーニング時の甲状腺機能……マススクリーニングデータとの比較
加藤静恵、倉橋典絵、西条泰明、佐々木成子、鶴野安希子、中島そのみ、近藤朋子、玉置淳子、佐田文宏、岸玲子、田島敏弘、水嶋好清、本間かおり、藤田晃三、氏家武、長沼睦雄

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質総合研究事業）
分担研究報告書

表 1：対象児の診断と IQ 及び投薬状況（現在の甲状腺機能検査採血対象児を含む）

		I Q	服薬状況
性	男：女 37：5		
年齢	4~6 歳 7 名 17~12 歳 29 名 12~17 歳 6 名		
診断	ADHD 11 名	60~135	5 名
	ADHD+LD 7 名	73~100	1 名
	ADHD+PDD 6 名	60~115	2 名
	ADHD+Autism 7 名	54~110	1 名
	ADHD+MR 15 名	40~83	0 名
	MR+Autism 3 名	47~80	0 名

表 2：新生児甲状腺マスキング結果

	症例 (31 名)	対照 (200 名)
TSH (μ U/ml)	1.7 (0~6.3)	2.7 (0~11.2) SD 1.9
FT4 (ng/dl)	1.9 (1.2~3.7)	2.1 (1.0~4.4) SD 0.5
生下時体重 (g)	3005 (1850~4435)	3175 (1910~4200) SD 342
在胎週数 (週)	39 (37~40)	39 (37~41)

図 1：症例および対照の TSH の分布

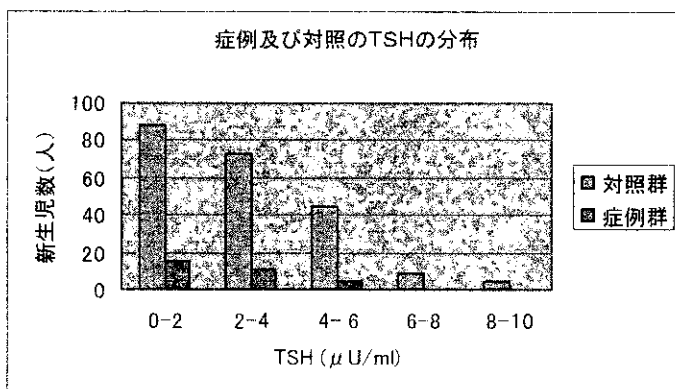


図 2：症例および対照の FT4 の分布

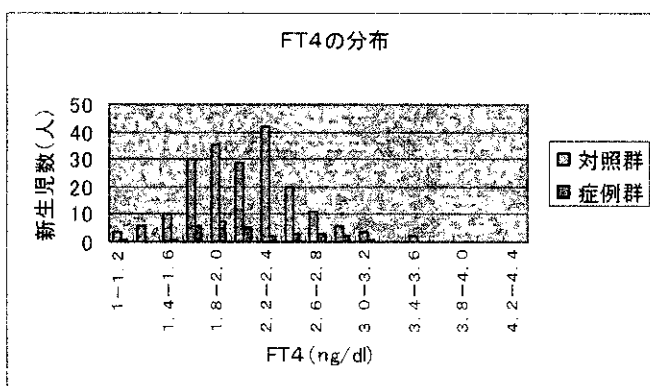


表 2：妊婦甲状腺マスキング結果

採血時妊娠週(週)	5~17
TSH (μU/ml)	0.5~2.6
FT4 (ng/dl)	0.79~1.71

注意欠陥障害多動症(attention-deficit hyperactivity disorder, ADHD)における 甲状腺機能の検討

分担研究者 田島 敏広 北海道大学大学院医学研究科病態制御学専攻生殖・発達医学講座
座助手

研究要旨

注意欠陥障害多動症(attention-deficit hyperactivity disorder, ADHD)の原因は生物学的なものと考えられているが、ADHD と甲状腺ホルモン不応症(以下 GRTH)あるいは ADHD と甲状腺機能低下症が関連するとの報告がある。

そこで今回 46 名の ADHD 患者について同意を得たのち甲状腺機能検査をおこなった。このうち 3 名に TSH の軽度上昇を認めた。他の 43 名の甲状腺機能は正常であった。この 3 名の甲状腺機能は第 2 次スクリーニング、TRH テストでは正常であった。

よって ADHD の症例中の甲状腺機能低下症、GRTH はまれと思われた。今後症例数を増やし検討する必要がある。

A 研究目的

注意欠陥障害多動症(attention-deficit hyperactivity disorder, ADHD)の原因は生物学的なものと考えられているが、その正確な成因は不明である。しかしいくつかの報告では ADHD と甲状腺ホルモン不応症(以下 GRTH)が関連していると報告されている。また ADHD と甲状腺機能低下症との関連も示唆する報告がある。

そこで今回 ADHD 症例において甲状腺機能低下症または GRTH が存在するかについて検討した。

B 研究方法

1. ADHD と診断された症例において甲状腺ホルモン (T4, T3, free T4, free T3), 甲状腺刺激ホルモン (TSH)を測定し、甲状腺機能との関連について検討する。T4, T3 は

RIA 法 (ガンマコート Total T4, T3, シェーリング社製)、free T4, free T3 も同じく RIA 法 (アマレックス free T4, T3 測定キット、TFB 社製) を用いて測定する。また TSH はスパック TSH キット (TFB 社製) を用いて RIA 法で測定する。

2. これらのなかで、甲状腺ホルモンの低値または TSH の軽度上昇が認められ、潜在的な甲状腺機能低下が疑われる症例については Thyrotropin-releasing hormone (TRH) 試験を行い、TSH を測定する。この試験でも異常が認められる場合には精密検査の対象とし、甲状腺機能低下の原因について検討する。

C 研究結果

46 名の ADHD 患者について同意を得たのち甲状腺機能検査をおこなった。このうち 3 名に TSH の軽度上昇を認めた。他の 43 名

の甲状腺機能は正常であった。

この3名の甲状腺機能は第2次スクリーニング、TRHテストでは正常であった。

D. 考案

今回の検討では ADHD 症例の中に GRTH、甲状腺機能低下症は見いだされなかった。さらに症例数を増やして検討する必要がある。

また ADHD と診断された患者でもその原因が多様と思われ、今後の課題であろう。

ADHD の症例中の甲状腺機能低下症、GRTH はまれと思われた。

E. 倫理面への配慮

疫学調査は北海道大学大学院医学研究科医の倫理委員会および遺伝子解析審査小委員会、同遺伝子病制御研究所の倫理規定に従って実施し、インフォームドコンセントはヘルシンキ宣言に基づいて行う。研究への参加は自由意志により、自発的に中止しても不利益を被らないよう配慮する。対象者のプライバシーの保持には細心の注意を払う。親の了解を得てから小児の詳細な問診と理学所見の検討を行う。神経発達・免疫学的ならびに内分泌学的検査に関しては、すべて事前にインフォームドコンセントを得て行う。すべての実験・研究は、北海道大学医学研究科及び遺伝子病制御研究所、北海道大学大学院獣医学研究科で規定されている、ヒト組織及び動物を用いた実験指針に従う。

F. 参考文献

1) Stein MA, Weiss RE.

Thyroid function tests and neurocognitive functioning in children referred for attention

deficit/hyperactivity disorder.

Psychoneuroendocrinology. 2003

Apr;28(3):304-16

2) Suresh PA, Sebastian S, George A, Radhakrishnan K.

Subclinical hyperthyroidism and hyperkinetic behavior in children.

Pediatr Neurol. 1999 Mar;20(3):192-4.

3) Toren P, Karasik A, Eldar S, Wolmer L,

Shimon I, Weitz R, Inbar D, Koren S,

Pariante C, Reiss A, Weizman R, Laor N.

Thyroid function in attention deficit and hyperactivity disorder.

J Psychiatr Res. 1997 May-Jun ;31

(3):359-63.

4) Valentine J, Rossi E, O'Leary P, Parry TS, Kurinczuk JJ, Sly P.

Thyroid function in a population of children with attention deficit hyperactivity disorder.

J Paediatr Child Health. 1997

Apr;33(2):117-20.

5) Spencer T, Biederman J, Wilens T, Guite J, Harding M.

ADHD and thyroid abnormalities: a research note.

J Child Psychol Psychiatry. 1995

Jul;36(5):879-85.

6) Elia J, Gulotta C, Rose SR, Marin G, Rapoport JL.

Thyroid function and attention-deficit hyperactivity disorder.

J Am Acad Child Adolesc Psychiatry. 1994

Feb;33(2):169-72.

結果

表1: 発達障害児42名の
現在の甲状腺機能

TSH(μ U/ml)	1.9 (1.2~2.6)
T4 (μ g/dl)	9.7 (6.5~16.9)
T3 (ng/dl)	185.4 (122.4~281.3)
FT4 (ng/dl)	1.3 (1.0~1.8)
FT3(pg/ml)	4.5 (3.0~5.8)

4名で甲状腺機能低下を疑い、RIA法により精密検査を施行したが正常であり、現時点で甲状腺機能異常を示す発達障害児はいなかった

ADHD を含む軽度発達障害児の乳幼児期から学齢期の発達 —後ろ向き研究—

分担研究者 仙石 泰仁 札幌医科大学保健医療学部・作業療法学科 講師
研究協力者 中島そのみ 札幌医科大学保健医療学部・作業療法学科 助手

研究要旨

本研究では軽度発達障害、特に学習障害(LD)および注意欠陥多動性障害(ADHD)をもつ保護者へのレトロスペクティブにみたアンケート調査から、周産期リスクおよびADHDあるいはLDと診断を受けている児の発達状況の違いを明らかにし、現在の生活・学習上の問題、合併疾患を明らかにすることを目的に調査を実施した。その結果、ADHD群とLD群における乳幼児期の発達状況に大きな違いは見られないが、幼児期に、ADHD群は触覚機能、排泄や睡眠に関連する問題、LD群は視覚機能、前庭機能に関連する問題が顕在化してくる傾向が伺われた。また、LD・ADHD児は診断名が確定していない場合も多く、また重複診断を受けている者がLD・ADHD共に50%近く存在していた。

A. 研究の目的

学習障害(LD)や注意欠陥多動性障害(ADHD)はその障害が軽度であるため乳幼児期には発達の個人差や個人間差の影響受け、診断が困難となることが多い^{1~2)}。しかし、できるだけ発達初期から医療・教育的援助を行っていることが症状の軽減だけでなく二次的に生じる情緒的な問題にも必要であることが指摘されている^{3~4)}。これまで、低出生体重児や早期出産児を対象とした縦断的な調査から乳幼児期の発達特性と障害の関連性について検討した報告^{5~6)}は散見されているものの、LDやADHDといった障害と明確に関連させた調査報告は少ない現状にある。そこで本研究では、LDもしくはADHD児の両親に対し、児の出生直後から現在までの状況についてレトロスペクティブな調査を行い、軽度発達障害、特にLDおよびADHD児の、周産期リスクおよび乳幼児期の発達特性、現在の児の抱えている生活・学習上の問題、合併疾患を明らかにすることを目的とした。また、本研究の結果から、乳幼児期からの早期診断を行う際の評価指針について検討を行った。

B. 研究の方法

本調査はLDおよびADHDの親の会3団体の会員、5医療施設で診療を受けているLDおよびA

DHD児の両親に調査協力を依頼し、同意を得られた者を調査対象としアンケート調査を行った。

アンケート調査は一般情報として記入者、家族構成、こどもの性別・年齢・通学先の5項目、現在像として診断名、各種検査結果、言葉の理解力に関する6項目、話し言葉に関する8項目、文字に関する11項目、計算に関する11項目、生活に関する4項目、運動に関する7項目、行動に関する11項目、社会性に関する8項目、更に服薬状況の69項目を設定した。こどもの発育状況に関しては周産期の状況、出生後1年間の健康状態および神経学的徴候、運動発達に関する36項目の質問項目を設けた。また、1歳から6歳までの発達状況を運動発達に関して12項目、前庭感覚系に関連した発達11項目、触覚に関する15項目、視覚系に関する8項目、聴覚・言語に関する7項目、嗅覚、味覚、排泄、睡眠に関する7項目、その他3項目の63項目を設定した。以上の調査から、①ADHDあるいはLDと診断を受けている児の周産期リスクおよび発達状況の違いについては、定額、一人歩き、2語文などを含む1歳までの発達状況7項目②運動発達(12項目)、前庭機能(11項目)、触覚機能(15項目)、視覚機能(8項目)、聴覚・言語機能(7項目)、嗅覚・味覚・排泄・睡眠(7項目)、その他(3項目)の6カテゴリ計63項目からなる1~6歳までの発達状況について比較した。

1才から6才までの発達状況に関してはフィッシャーの直接確率計算を用いて統計処理を行った。また、②ADHDあるいはLDと診断を受けている児の現在の生活・学習上の問題、合併疾患についても分析を行った。

C. 研究結果

1. 基本的情報

(1) 対象者の内訳：調査票の回答者数は112名、うち、診断ありの者は98名（男：74名、女：14名）、平均年齢11.3歳であった。

(2) 回答者の最終診断の内訳<図1>：診断名は診断の時期によって変化している者もあり、現在が一番近い時期に診断された診断名を基準に分析すると、ADHD：27名、LD：24名、LD+ADHD：10名、自閉症：9名、以下アスペルガー症候群、広汎性発達障害等、そしてそれらが重複して診断されているという結果であった。

2. LDとADHD児の周産期リスクおよび発達状況の違いについて

①1歳までの発達状況<表1>：各項目の平均到達月数はADHD群、LD群の順に以下の通りであった。定額：3.3ヶ月（SD=1.1）、3.4ヶ月（SD=0.7）／寝返り：5.8ヶ月（SD=1.5）、6.1ヶ月（SD=1.5）／一人座り：7.9ヶ月（SD=1.8）、7.3ヶ月（SD=1.4）／一人立ち：10.7ヶ月（SD=3.3）、10.9ヶ月（SD=1.9）／一人歩き：12.3ヶ月（SD=2.5）、13.1（SD=2.3）、／コップで水飲み：13.7ヶ月（SD=4.4）、15.6ヶ月（SD=6.6）／2語文：24.4ヶ月（SD=6.9）、25.2（SD=6.6）であった。

②1歳から6歳までの発達状況<図2>：両群の違いを比較した結果、ADHD群は嗅覚・味覚・排泄・睡眠に関連した項目の「3歳後も日中尿を漏らすことがあった」「3歳後も日中便をもらすことがあった」「睡眠リズムが不規則であった」（ $p < 0.01$ ）、触覚機能に関連した項目の「触られると非常に敏感に反応した」「列に並んでいると喧嘩することが多かった」「人やものによく触れたがった」「物を口の中に入れることが多かった」（ $p < 0.05$ ）、聴覚・言語

機能に関連する項目の「音に対して異常に気が散りやすかった」（ $p < 0.05$ ）で、LD群に比して有意に問題として挙げられた。一方、統計的にLD群に有意に多く見られる問題は存在しなかったが、視覚機能に関連する項目の「図形を対応させることが難しかった」「動いている物を追視するのが難しかった」、前庭機能に関連する項目の「回転などの動きを好んだ」「動く物や不安定なところでの遊びを嫌がった」「乗り物酔いをする方であった」に比較的多くの問題が挙げられていた。

更に、両群に共通して8割以上の高頻度で見られる問題を抽出した結果、聴覚・言語機能に関連した項目の「話をしても注意を向けることが難しかった」「2～3のことを同時に言うと混乱しやすかった」が挙げられた。以上の結果をまとめると、乳児期の発達状況に大きな違いは見られないが、幼児期に、ADHD群は触覚機能、排泄や睡眠に関連する問題、LD群は視覚機能、前庭機能に関連する問題が顕在化してくる傾向が伺われた。

3. ADHDあるいはLDと診断を受けている児の生活・学習上の問題、合併疾患について

①診断名の変化：単一診断・重複診断にかかわらず最初の診断から診断名が1回以上変化している者は40%を超え、2回以上変化している者は20%近く存在した。一度でもLDもしくはLDを含む重複診断を受けたことのある者は48%（47/98名）であった。また同様にADHDもしくはADHDを含む重複診断を受けたことのある者は52%（51/98名）であった。

②現在の日常生活上の問題：親が感じる日常生活上の問題点を比較するに当たり、小学生以下の者は分析の対象から外した。その結果、最終診断でLD児は24名（男：17名、女：7名）で、平均年齢は12.8歳であった。ADHD児は24名（男：22名、女2名）で、平均年齢は10.0歳であった。現在の日常生活上問題についてLD・ADHDそれぞれ50%以上問題ありとなっていた項目は、LDでは言語理解や話し言葉に関する項目が多く、ADHDでは行

動面と社会性の項目が多かった。また両群共に見られたものは、「集団場面での言葉の理解できない、複数の用事を頼んでもできない、筋道を立てて話す、作文・日記を書くのを嫌がる、計算問題の意味がわからない、特定の遊びにこだわる、相手がどう思っているか理解して行動できない」、と言った項目であった。

D. 考察

LDとADHD児の周産期リスクおよび発達状況の違いについては、ADHD群に特徴的に認められた排泄・睡眠に関連する問題は、自律神経系の制御に関わる中枢神経系の発達状態を反映していると考えられ、ADHD児の行動調整の問題を引き起こす前駆症状として捉えられる可能性がある。また、LD群に高頻度に認められた視覚機能、前庭機能に関連する問題は、皮質下の感覚調整能力とそのモダリティを必要とする認知機能の障害を背景としていることが考えられ、LD児の幼児期の特性として注目していく必要性が示唆された。一方で、1歳までの発達状況では両群とも明確な遅れは認められず、基準とした運動発達の一般的な指標ではなく、幼児期の発達特性として捉えられた発達課題をふまえた評価指標の確立が今後の課題として考えられた。また、本研究の結果からも、LD・ADHD児は診断名が確定していない場合も多く、重複診断を受けている者が少なくないことが解った。これは、子供達が示す臨床症状に変動性があることを示唆し、親の障害受容を遅らせる原因にもなり、将来像を見据えた親指導を行っていく上で問題となる可能性がある。診断のみならず、子どもの問題を捉え、援助を行っていくには、医療・学校・家庭に関わる者からの情報を継続的に、そして総合的に判断する必要がある。

E. 引用文献

- 1) 土田玲子：軽度発達障害児の評価－日本版ミラー幼児発達スクリーニング検査（JMAP）を利用して、作業療法ジャーナル，26(3)：202～214，1992
- 2) 中島そのみ・他：3歳幼児に対するLDリス

ク児の早期発見．北海道作業療法学会誌，10(1)：31～35，1993

3) 齊藤祐子：学習障害児への感覚統合訓練の実際．理・作・療法，15(3)：345～352，1981

4) 上村菊朗習：学習障害．医歯薬出版，1988

5) Vohr BR et al：Language development of low-birthweight infants at two years.Dev Med Child Neurol，30：608～615，1988

6) 齊藤久子・他：極小・超未熟児の学齢期．小児の精神と神経，34(1・2)：15～27，1994

G. 研究発表

1. 論文発表

仙石泰仁*、中島そのみ*、佐々木努**、須鎌康介**、岸玲子***、加藤静恵***. *札幌医科大学保健医療学部作業療法学科、**札幌医科大学大学院保健医療学研究科、***北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野：「軽度発達障害児のレトロスペクティブに見た発達状況について」日本小児神経学会機関誌「脳と発達」投稿予定(2003年6月)

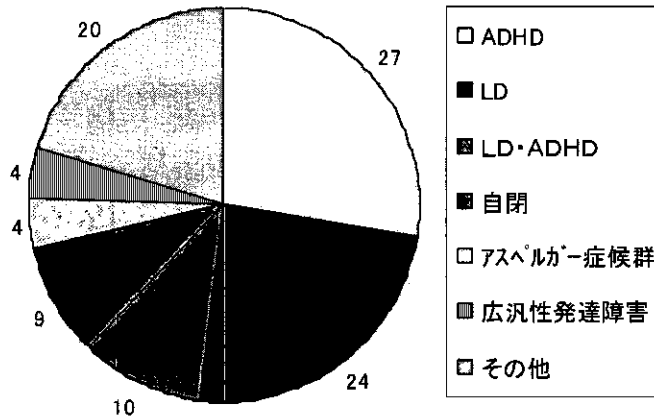
2. 学会発表

①中島そのみ*、仙石泰仁*、佐々木努**、須鎌康介**.*札幌医科大学保健医療学部作業療法学科、**札幌医科大学大学院保健医療学研究科：軽度発達障害児のレトロスペクティブに見た発達状況について－第1報 診断名と主訴との関連について－. 第37回日本作業療法学会発表予定(平成15年6月)

②佐々木努*、中島そのみ**、仙石泰仁**、須鎌康介**.*札幌医科大学大学院保健医療学研究科**札幌医科大学保健医療学部作業療法学科：軽度発達障害児のレトロスペクティブに見た発達状況について－第2報 ADHD児とLD児の乳幼児期の発達状況の相違－. 第37回日本作業療法学会発表予定(平成15年6月)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



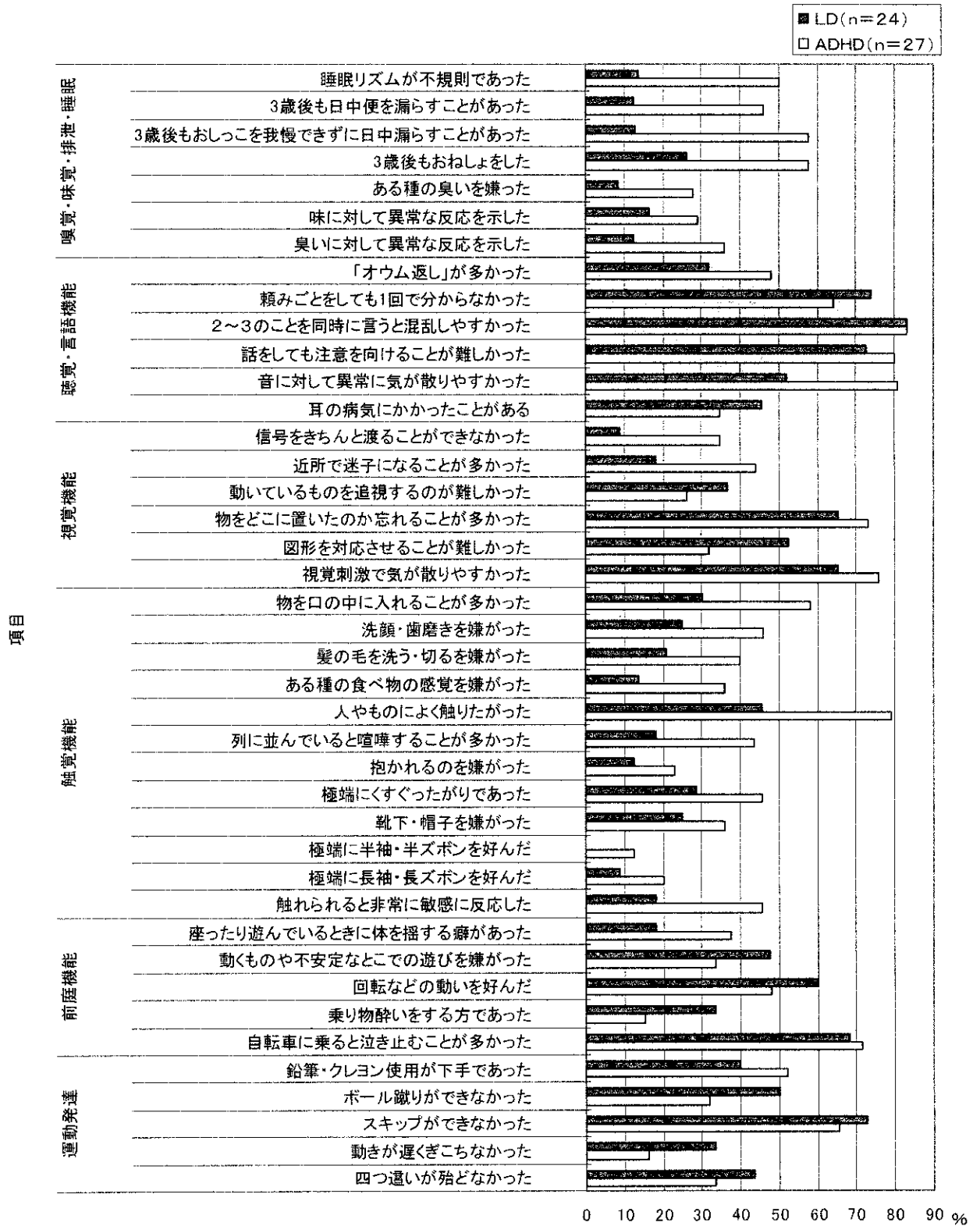
<図1> 最終診断の内訳

<表1> 1歳までの発達状況

	ADHD(n=27)	LD(n=24)
定額	3.3(1.1)	3.4(0.7)
寝返り	5.8(1.5)	6.1(1.5)
一人座り	7.9(1.8)	7.3(1.4)
一人立ち	10.7(3.3)	10.9(1.9)
一人歩き	12.3(2.5)	13.1(2.3)
コップで水飲み	13.7(4.4)	15.6(6.6)
2語文	24.4(6.9)	25.2(6.6)

数値は平均月数(SD)

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）
分担研究報告書



<図2> 1歳から6歳までの発達状況・ADHD群とLD群の比較

Th1/Th2 バランスを客観的に評価する方法の確立

分担研究者 西村 孝司 北海道大学遺伝子病制御研究所・免疫制御分野 教授

研究要旨

コホート内症例対照研究の形で、アトピー、喘息および化学物質過敏症の患者と対照に関する Th1/Th2 バランスの評価を行い、各種環境因子との関連を検討することを目的として、血液中の T 細胞における Th1/Th2 バランスを客観的に評価する方法の確立を行った。Th1、Th2 細胞に特異的に発現する遺伝子を同定し、T 細胞集団におけるそれぞれの遺伝子の発現を DNA アレイを用いて測定することにより、Th1/Th2 バランスを判定する新しい評価法をマウスの系を用いて確立した。これをヒトに応用することにより、Th1/Th2 バランスを迅速かつ客観的に評価することができる。

A. 研究目的

コホート内症例対照研究の形で、アトピー、喘息および化学物質過敏症の患者と対照に関する Th1/Th2 バランスの評価を行い、各種環境因子との関連を検討することを目的とする。このために、血液中の T 細胞における Th1/Th2 バランスを客観的に評価する方法の確立を目指して研究を行った。

B. 研究方法

まず Th1、Th2 細胞に特異的な遺伝子の発現を DNA アレイを用いて網羅的に解析することにより、生体内の Th1/Th2 バランスを判定することが可能かどうかを確認するために、マウスの系を用いて Th1/Th2 バランス判定用の DNA アレイフィルターの開発を試みた。

OVA 抗原に特異的な T 細胞レセプターを持つトランスジェニックマウス(DO11.10)の脾臓細胞から、CD4⁺CD45RB⁺のナイーブ T 細胞を FACS Vantage により単離し、Th1 条件下(IL-2 20U/mL、IL-12 20U/mL、IFN- γ 1ng/mL、抗 IL-4 抗体 50 μ g/mL)、あるいは Th2 条件下(IL-2 20U/mL、IL-4 1ng/mL、抗 IFN- γ 抗体 50 μ g/mL、抗 IL-12 抗体

50 μ g/mL)で、OVA₃₂₃₋₃₃₉ 抗原ペプチドと mitomycinC 処理脾細胞とともに培養して、純粋な Th1 細胞、Th2 細胞を得た。

これらの Th1、Th2 細胞を固相化抗 CD3 抗体で 2 時間刺激後、RNA を抽出して、約 8700 個の遺伝子が載せられている GEM マイクロアレイを用いて Th1、Th2 それぞれに特異的に発現する遺伝子を検索した。マイクロアレイで特異的と判断された遺伝子については RT-PCR により特異性を再確認した。

Th1、Th2 細胞に特異的な遺伝子の cDNA 断片をクローン化し、PCR で遺伝子断片を増幅してナイロンメンブラン上にスポットすることにより、Th1 あるいは Th2 細胞に特異的な遺伝子を載せた DNA アレイを作製した。

C57BL/6 マウス[H-2^b]の脾細胞を BDF1 マウス[H-2^{b/d}]注射することにより、急性 GVHD モデルマウスを作製した。注射後 7 日目において生体内の免疫バランスが Th1 側に傾いていることを、ELISA による血清 IFN- γ 量の測定、PE 標識抗 IFN- γ 抗体を用いた脾細胞の細胞内染色により確認し、同時に脾細胞を固相化抗 CD3 抗体で 2 時間刺激後に RNA

を抽出して DNA アレイ解析に用いた。

C. 研究結果

GEM マイクロアレイにより、81 個の遺伝子が Th1 に特異的、52 個が Th2 特異的と判定された。特異性の明らかなその他の遺伝子を加えて検討を重ね、最終的に Th1 に特異的な 40 個の遺伝子と Th2 に特異的な 32 個の遺伝子を載せた DNA アレイを作製した。

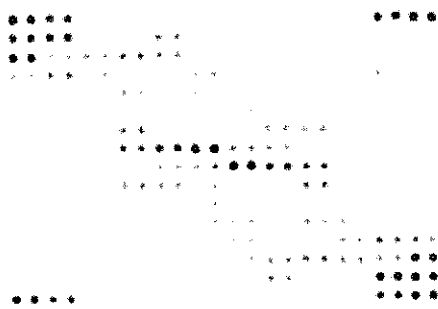


図 1. Th1 細胞の DNA アレイ解析

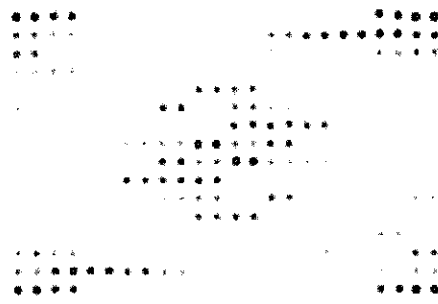


図 2. Th2 細胞の DNA アレイ解析

Th1 優位の急性 GVHD モデルマウスの脾細胞についてこのアレイを用いて解析した結果、このマウスの Th1/Th2 バランスが Th1 に傾いていることを DNA アレイを用いて判定することができた。

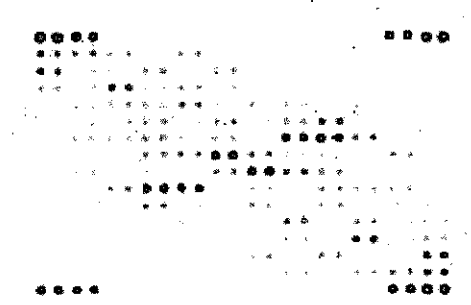


図 3. 急性 GVHD の DNA アレイ解析

さらに、個々の遺伝子の発現量から Th1 あるいは Th2 への偏向を数値化する方法を開発し、Th1/Th2 バランスの判定を客観的に行う方法を開発した。この方法によるスコアは、純粋な Th1 細胞で 16012、純粋な Th2 で -18859、GVHD モデルマウスで 2014 であった。

D. 結論

生体内の Th1/Th2 バランスが、DNA アレイを用いて客観的に判定できることが明らかとなった。現在、ヒト用の DNA アレイの作製に着手しており、この評価系を用いることにより、アトピー、喘息および化学物質過敏症の患者と対照における Th1/Th2 バランスと、各種環境因子との関連を検討することが可能であると考えられる。

E. 参考論文

1: Chamoto K, Nishimura T.

The critical role of DC for NKT cell response to α -GalCer.

Clin Immunol 37, 1-9 (2002)

2: Nishimura T

Tumor-vaccine cell therapy combined with DC1 and Th1 cells.

Clin Immunol 38, 363-369 (2002)

3: Tsuji T, Chamoto K, Funamoto H, Kosaka A, Matsuzaki J, Abe H, Fujio K, Yamamoto K,

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）
分担研究報告書

Kitamura T, Togashi Y, Koda T, Nishimura T.
An efficient methods to prepare T cell receptor
gene-transduced cytotoxic T lymphocytes Type
1 applicable to tumor gene cell-therapy.
Cancer Science 94 (2003) in press.

F. 知的財産の出願・登録状況

1: 免疫調節作用関連の新規遺伝子及び Th1
ヘルパーT細胞と Th2 ヘルパーT細胞のバラ
ンスを調べる検査方法、特願 2002-314957
(2002)

胎便中ダイオキシン類測定による胎内曝露評価および新生児異常との関連解析

分担研究者 水上 尚典 北海道大学大学院医学研究科 教授
研究協力者 山田 秀人 北海道大学大学院医学研究科

ダイオキシン・コプラナ PCB は、ヒト母乳、分娩時臍帯血、母体血、羊水に検出されることが近年明らかになってきた。早期新生児の胎便中のダイオキシン・コプラナ PCB を測定し、ヒト胎児の曝露状態を明らかにすることと、新生児異常（発育、神経学的所見）や内分泌学的、免疫学的所見との関連を明らかにすることを目的とした。授乳前に新生児から専用容器で胎便を採取した。分娩時臍帯血（n=4）および哺乳前の新生児期胎便（n=6）を採取保存し、ガスクロマトグラフィー法により検体中の PCDDs+PCDFs, co-PCBs の濃度測定を実施した。妊娠初期母体血と新生児血液の TSH, FT4 は濾紙血を用いて測定した。現在までに新生児 6 人から 5.7-15.6（中央値 10.3）g の胎便が採取可能であった。これら胎便の脂肪濃度は 15.3-39.9（30.1）mg/g であった。胎便中の PCDDs+PCDFs, co-PCBs および総ダイオキシン類濃度は、それぞれ 1.4-9.1（3.7）、0.7-5.7（3.0）、2.1-14.8（6.8）pg-TEQ/g-fat であった。このうち 4 人の臍帯血中 PCDDs+PCDFs, co-PCBs および総ダイオキシン類濃度は、0.8-11（3.0）、5-13（4.5）、2.6-24（7.3）pg-TEQ/g-fat であった。胎便の総ダイオキシン類濃度は、臍帯血濃度の 61.7-80.8%を示した。4 組の臍帯血と胎便中総ダイオキシン類濃度の比較でも、胎便中濃度は臍帯血中に比較して低値を示した（ $p=0.068$ ）。胎便中総ダイオキシン類濃度と新生児 FT4 値との間に相関を認めた（ $p<0.05$ ）。しかし、母体血 FT4, TSH, 新生児 TSH 値との間に関連を認めなかった。今後、胎児ダイオキシン曝露と内分泌学的異常、特に新生児甲状腺機能との関連を解明できる可能性があると考えられる。

A. 研究目的

ダイオキシン類（PCDDs, PCDFs, coplanar PCBs）は、生体内で aryl hydrocarbon receptor を介した肝毒性、発癌性、催奇性や免疫機能低下などの作用を有する。雌動物に対する影響として、子宮内膜症の発生、子宮内膜細胞の増殖促進、胸腺萎縮など、また、次世代への影響として外陰部奇形、膣の糸状構造化、膣尿道間の短小化、膣開口遅延、卵巣重量減少、排卵率減少、卵胞形成の抑制などが危惧されている。近年、母体血、臍帯血、臍帯組織、羊水や母乳中にダイオキシン類が検出されることが明らかとなった。しかしながら、胎便中のダイオキシン類濃度については、これまでに報告はない。ダイオキシン類は脂溶性が高いことが知られてい

るが、胎便は胎児が長期間にわたり腸管内に蓄積する細胞成分や粘液に富む物質で、脂肪成分を多く含む。胎便は、羊水や血液のように循環排泄されないため、環境ホルモンの胎内曝露評価の試料として有用かもしれない。

本研究では、早期新生児の胎便中のダイオキシン・コプラナ PCB を測定し、ヒト胎児の曝露状態を明らかにすることと、新生児異常（発育、神経学的所見）や内分泌学的、免疫学的所見との関連を明らかにすることを目的とした。臍帯血中ダイオキシン類濃度との比較や甲状腺機能との関連を調べた。