

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

表 3. 標準血清を用いた有機フッ素化合物濃度

	北大	NIST	CDC	3M	U. Toronto	Env. Canada	EPA	京都大学
	(ng/ml)	(ng/g)	(ng/g)	(ng/g)	(ng/g)	(ng/g)	(ng/g)	(ng/ml)
PFBA	ND	-	-	<0.05	-	-	-	-
PFPeA	ND	-	-	<0.05	-	-	-	-
PFHxA	ND	<0.093	-	<0.05	<0.05	-	NR	<0.05
PFHpA	ND	0.279	<0.4	0.277	0.33	<0.61	<1.0	0.27
PFOA	5.55	4.43	4.88	5.36	4.81	5.13	5.86	4.77
PFNA	0.474	0.762	0.833	0.97	-	0.934	0.869	0.96
PFDA	0.299	0.393	<0.2	0.285	0.327	0.53	<1.0	0.26
PFUnDA	0.359	0.176	<0.2	0.159	0.216	0.105	<0.5	0.174
PFDoA	ND	<0.073	<0.2	<0.05	<0.025	0.203	<0.25	0.16
PFBS	ND	<0.075	<0.1	<0.02	-	-	<0.25	<0.1
PFHxS	5.17	3.01	3.22	3.53	3.88	5.15	5.23	-
PFOS	22.0	21.0	19.8	23.6	21.0	21.9	19.5	-
PFOSA	-	0.116	<0.1	<0.1	-	-	-	-

Standard 血清: NIST standard reference material (SRM) 1957. Keller et al. 2010; Harada et al. 2011 を改変

表 4. 北海道スタディ対象者の血漿中有機フッ素化合物濃度

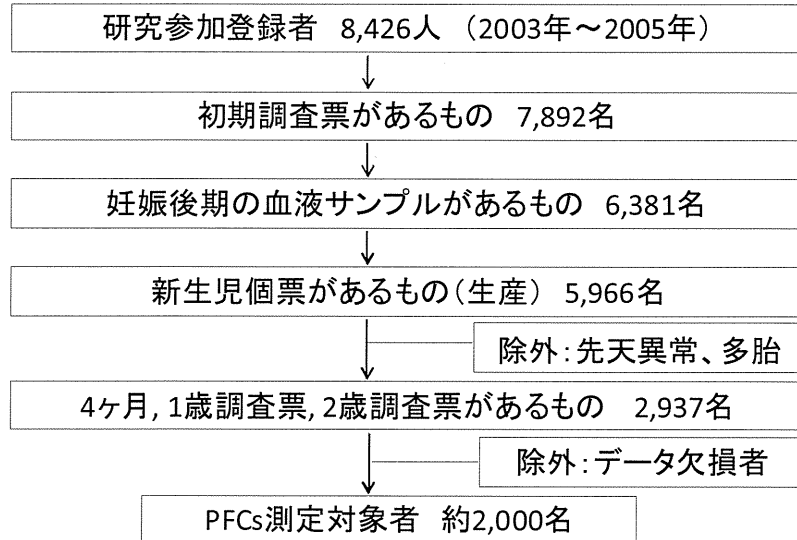
	PFOS	PFOA	PFNA	PFHxS	PFDA	PFUnDA
水Blank	ND	ND	ND	ND	ND	ND
北海道スタディ1	5.52	1.14	ND	ND	ND	0.28
北海道スタディ2	6.28	1.55	0.93	ND	0.43	1.50
北海道スタディ3	8.50	2.25	0.72	ND	0.53	1.44
北海道スタディ4	3.44	1.00	2.52	ND	0.81	4.43
北海道スタディ平均値	5.94	1.48	1.39	ND	0.59	1.91
東豊コホート中央値	5.20	1.30	-	-	-	-

Native / Internal standard 濃度比・面積比の検量線から濃度計算

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

参考表 1. 北海道スタディにおける児のアウトカム

調査票(月齢)	アウトカム	研究デザイン
新生児個票(出生時)	体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコーホート研究
	SGA: Small for Gestational Age (出生時体重が標準値の 10 パーセントイル未満)	Nested- ケースコントロール 研究 (case: n=224)
	LBW: Low Birth Weight (出生時体重が [§] 2500g 未満)	前向きコーホート
	早産(在胎週数が [§] 37 週未満)	Nested- ケースコントロール 研究 (case: n=195)
	先天異常	Nested- ケースコントロール 研究 (case: n=86)
4ヶ月調査票 (4ヶ月)	体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコーホート研究
1歳調査票 (12ヶ月)	1歳時の体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコーホート研究
	アレルギー・感染症	前向きコーホート研究
2歳調査票 (24ヶ月)	1歳6ヶ月時の体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコーホート研究
	アレルギー・感染症	前向きコーホート研究
4歳調査票(42ヶ月)	3歳時の体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコーホート研究
	アレルギー・感染症	前向きコーホート研究

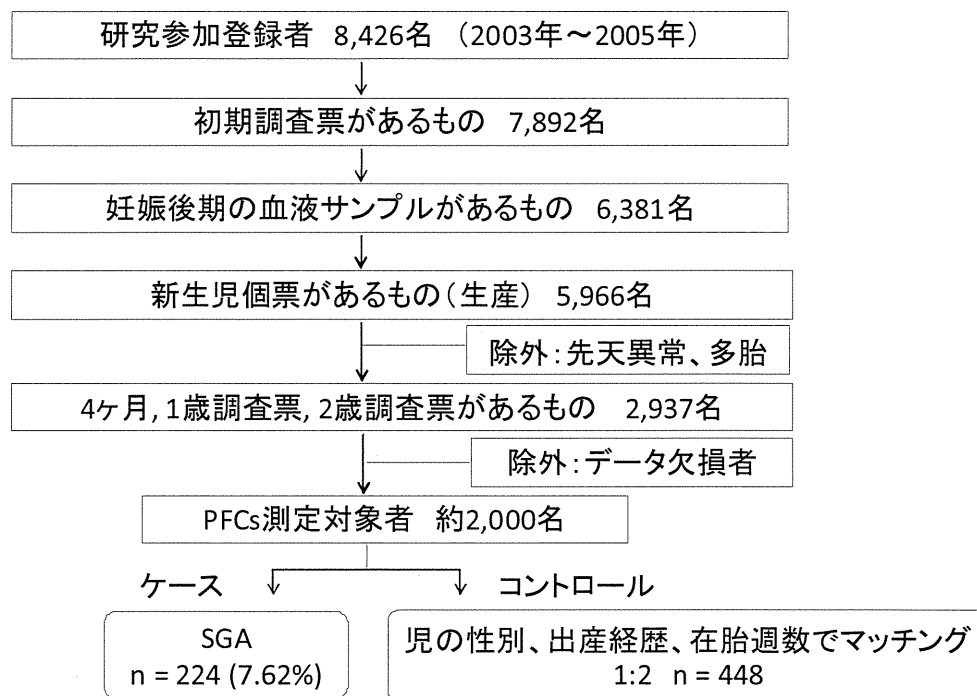


アウトカム

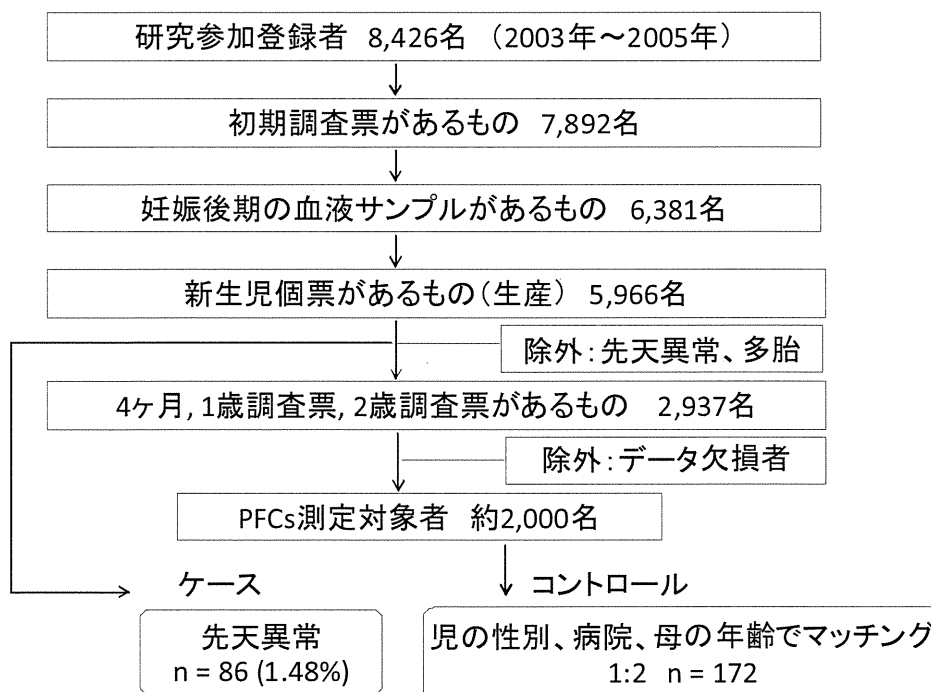
- ① 出生時: 体格(身長・体重・頭囲・胸囲)、LBW
- ② 1歳、1歳6ヶ月、3歳: 体格(身長・体重・頭囲・胸囲)
- ③ 1歳、1歳6ヶ月、4歳: アレルギー・感染症

参考図 1. 研究フロー：前向きコーホート研究

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書



参考図 2. 研究フロー：Nested-ケースコントロール研究(SGA がアウトカムの場合)



参考図 3. 研究フロー：Nested-ケースコントロール研究(先天異常がアウトカムの場合)

血液中のビスフェノール A(BPA)の分析

研究分担者 松村 徹 いであ株式会社 環境創造研究所 副所長

研究要旨

血液中のビスフェノール A(BPA)の測定分析方法を検討した。同位体希釈 LC-MS/MS 法を採用し、前処理方法と組合せて検討した結果、血中 BPA の分析方法を確立できた。確立した方法を用い、ヒト血液 70 検体に適用し結果を得た。

研究協力者

山本 潤
(いであ株式会社 環境創造研究所)

A. 研究目的

ビスフェノール A(BPA)はポリカーボネート製のプラスチックを製造する際、モノマーや、エポキシ樹脂の原料として使用されている化学物質であり、摂取によりエストロゲン受容体が活性化され、エストロゲンに類似した生理作用を表すことが報告されている。低用量仮説の提唱によって注目を受けたが、ヒトに対する健康影響評価に関しては現在も諸説の報告例があり継続して研究が行われているところである。

また、近年、BPA については尿道下裂との関連性について幾つか報告がなされているが、血中濃度は極低濃度であり、試料間の有意な濃度差を観測するためには精確な測定値が必要である。

BPA の体内負荷量を評価するにはヒト血液における濃度データが必要であるが、存在量は極低く測定分析が困難であり、現在のところ、確からしい結果を用いて議論されているとは言えない状況であることから、本研究ではヒト血液中の BPA を議論可能な濃度レベルで精確に測定する手法を開発することを目的とした。

B. 研究方法

開発した同位体希釈-液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計(ID-LC-MS/MS)をヒト血液試料 70 検体に適用した。内標準物質として、BPA-d₁₆をクリーンアップスパイク、BPA-2,2',6,6'-d₄(BPA-d₄)をシリンジスパイクとして用いた。また、固相充填済み樹脂製カートリッジカラムとして ISOLUTE マルチモード(500mg/3mL, Biotage 社製; 904-0050-B)を用いた。

分析フローを図 1 に LC-MS/MS の測定条件を表 1 に示す。

C. 研究結果

(1) 操作ブランク

試料 70 検体は、3 ロットにわけて分析を実施した(ロット 1: 試料 ID 1~21, ロット 2: 試料 ID 22~46, ロット 3: 試料 ID 47~70)。操作ブランク試験は各ロットについて 5 回実施した。操作ブランク試験の結果を表 2 に示す。操作ブランクの平均値は 1 回目 0.088ng/mL, 2 回目 0.038ng/mL 及び 3 回目 0.088ng/mL であり 0.1 ng/mL 未満であった。

(2) ヒト血液の分析

血液試料 70 検体の分析結果を表 3 に示す。なお、ロット毎のブランク試験とは別途、実試料の分析を行う前に、全操作

ブランク試験を行い、BPAの汚染が問題ないことを確認した。血液中のBPA濃度は、ND～0.153ng/mL(平均値0.058ng/mL, 中央値0.049ng/mL)であった。なお、表3における血液中のBPA濃度は、操作ブランク値を差し引いた値である。

分析した血液全試料について、BPA濃度分布を図2に示す。

(3)回収率

検体の測定における各試料の回収率(クリーンアップスパイク内標準物質(BPA d-16)/シリンジスパイク内標準物質(BPA d-4)の値を用い、回収率を計算した。結果を図3に示す。全試料の回収率は71～113%の範囲であった。

(4)装置の変動の確認

装置の変動について確認を行うため、濃度1.0ng/mLの標準溶液を測定試料3～5検体毎に測定し、その相対感度係数(RRF)を検量線作成時のRRFと比較して評価を行った。試料70検体を3回にわけて分析した各測定日別の結果を表4～6に示す。

各測定日におけるRRFは、検量線におけるRRFの±20%の範囲であった。また、各測定の平均値は、1.02, 1.05及び1.01であった。

D. 考察

本研究ではヒト血液中のBPAを議論可能な濃度レベルで精確に測定する手法を開発した。昨年度までに、固相抽出カラムを用いた前処理とそれに続く同位体希釈-液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計(ID-LC/MS/MS)法を検討した。さらに、血液中BPAの分析においてはブランク値の低減が最も重要であったため、試薬ブランク、個々の前処理段階におけ

るブランク、カートリッジからの溶出ブランク及び全操作ブランク、並びに前処理用カートリッジカラムのコンディショニング方法の検討を行い、最終的にブランク値を0.1ng/mL未満のレベルに安定して抑えることが可能となった。

E. 結論

血液中のビスフェノールA(BPA)の測定分析方法を検討した。同位体希釈LC-MS/MS法を採用し、前処理方法と組合せて検討した結果、血中BPAの分析方法を確立できた。確立した方法を用い、ヒト血液70検体に適用し結果を得た。

F. 研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

- (1)山本潤,羽山真介,佐藤修之,松村徹,岸玲子,佐々木成子,宮下ちひろ.生体試料中ビスフェノールA分析の検討.第20回環境化学討論会.熊本市. July 16-18, 2011.

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- (1)Schönfelder G, Wittfoht W, Hopp H, Talsness CE, Paul M, Chahoud I. Parent Bisphenol A Accumulation in the Human Maternal-Fetal-Placental Unit. *Environ. Health Perspectives* 2002;110:703-707
- (2)Kuroda N, Kinoshita Y, Sun Y, Wada M, Kishikawa N, Nakashima K, Makino T, Nakazawa H. Measurement of bisphenol A levels

in human blood serum and ascitic fluid by HPLC using a fluorescent labeling reagent. *J. Pharmaceutical and Biomedical Anal.*

2003;30:1743-1749

- (3)Chen M, Chang C, Shen Y, Hung J, Guo B, Chuang H, Mao I.
Quantification of prenatal exposure and maternal-fetal transfer of nonylphenol. *Chemosphere*
2008;73:239-245

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

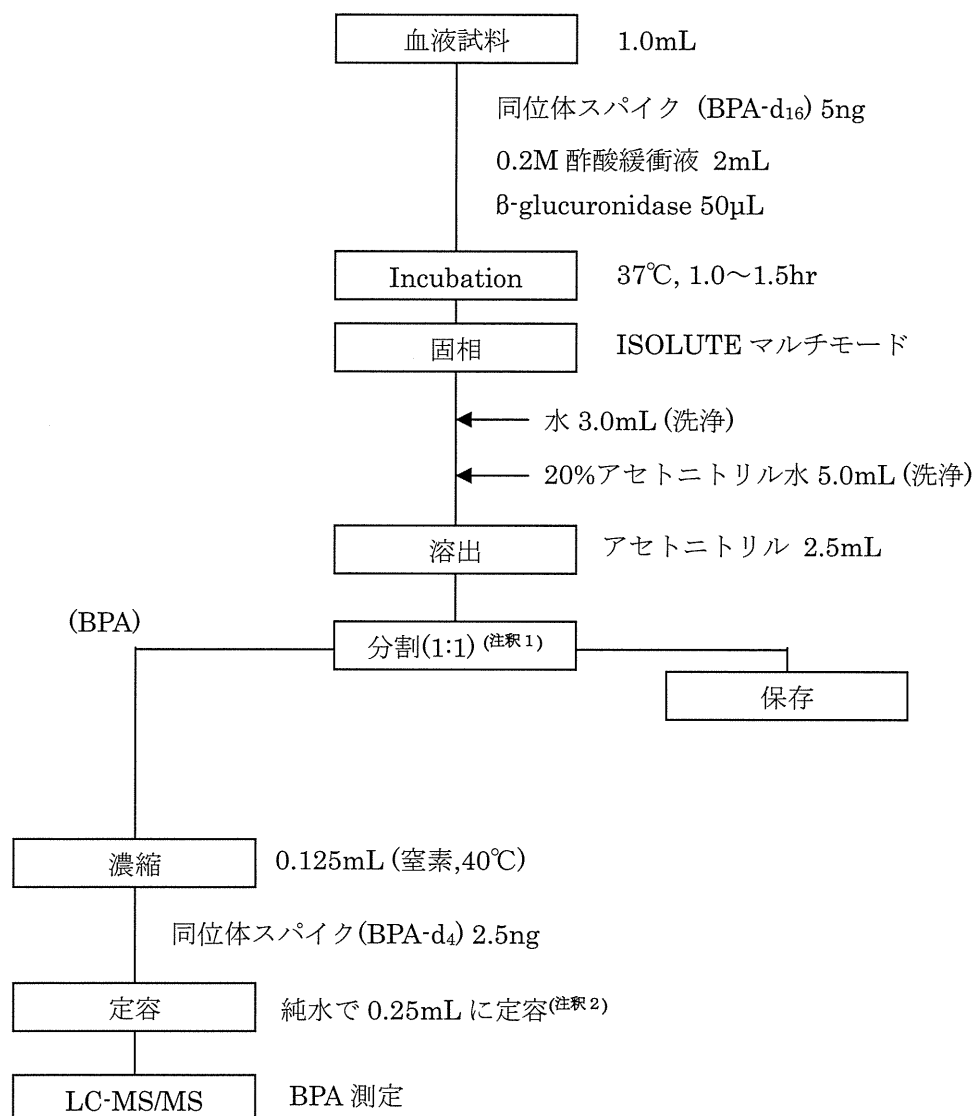


図 1. 血液中の BPA の分析フロー

(注釈 1) BPA のみの検討においては、分割操作を行っていない。

(注釈 2) BPA のみの検討においては、0.50mL に定容。したがって分割操作のありなしにかかわらず本検討における濃縮倍率は同じである。

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

表 1. BPA 分析における LC/MS/MS 測定条件

測定装置	LC : Agilent-1100 MS : API-4000 Q Trap
分析カラム	Agilent Eclipse XDB-C8 2.1×150mm,5μm
溶離液	A : 水 B : アセトニトリル
グラジエント (B)	20%(0min)→20%(1min)→100%(17min)→100%(23min)→ 20%(23.1min)→20%(31min)
注入量	20μL
カラム温度	40°C
モード	ESI-Negative
m/z	227.0 > 132.9(BPA) 241.0 > 142.0(BPA-d ₁₆) 231.0 > 134.9(BPA-d ₄)

表 2 操作ブランク試験の結果

試料名	ブランク値	ブランク値	ブランク値
	(ng/mL) 1 回目	(ng/mL) 2 回目	(ng/mL) 3 回目
試料 1	0.086	0.041	0.093
試料 2	0.074	0.030	0.081
試料 3	0.097	0.047	0.099
試料 4	0.096	0.044	0.092
試料 5	0.090	0.030	0.074
平均 (ng/mL)	0.088	0.038	0.088
標準偏差	0.00944	0.00758	0.01014
t 値(危険率 5%、片側)	2.132	2.132	2.132
MDL (ng/mL)	0.041	0.033	0.044

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

表 3 血液中の BPA 分析結果

試料 ID	血中の BPA 濃度 (ng/mL) (※)	回収率(%) (※)	試料 ID	血中の BPA 濃度 (ng/mL) (※)	回収率(%) (※)
試料 1	0.12	83	試料 36	0.035	83
試料 2	0.093	78	試料 37	0.071	75
試料 3	0.061	79	試料 38	0.052	89
試料 4	0.081	74	試料 39	0.046	87
試料 5	0.047	72	試料 40	0.043	76
試料 6	0.047	81	試料 41	0.063	75
試料 7	0.094	71	試料 42	0.048	76
試料 8	0.085	77	試料 43	ND	80
試料 9	0.080	83	試料 44	0.097	74
試料 10	0.12	77	試料 45	0.068	82
試料 11	0.11	77	試料 46	0.063	91
試料 12	0.072	80	試料 47	ND	79
試料 13	0.13	77	試料 48	ND	85
試料 14	0.12	80	試料 49	ND	78
試料 15	0.056	73	試料 50	ND	77
試料 16	0.048	80	試料 51	ND	82
試料 17	0.065	79	試料 52	ND	78
試料 18	0.061	88	試料 53	ND	79
試料 19	0.099	77	試料 54	ND	80
試料 20	0.091	78	試料 55	ND	79
試料 21	0.12	78	試料 56	ND	82
試料 22	ND	74	試料 57	ND	73
試料 23	0.092	89	試料 58	0.048	83
試料 24	0.044	84	試料 59	0.069	77
試料 25	ND	80	試料 60	0.081	80
試料 26	ND	79	試料 61	ND	113
試料 27	ND	80	試料 62	ND	85
試料 28	0.047	77	試料 63	0.072	85
試料 29	ND	73	試料 64	0.070	84
試料 30	0.048	77	試料 65	0.090	86
試料 31	ND	83	試料 66	0.15	90
試料 32	ND	80	試料 67	0.090	78
試料 33	ND	78	試料 68	0.054	86
試料 34	0.050	82	試料 69	0.091	84
試料 35	0.040	78	試料 70	0.14	79

備考 1) 試料 ID の欄は、緑色（ロット 1）、黄色（ロット 2）及びオレンジ色（ロット 3）における分析を示す。

備考 2) 報告値（血中の BPA 濃度）は、有効数字 2 桁で記載してある。

備考 3) 回収率は、クリーンアップスパイク内標準物質(BPA d-16)/シリンジスパイク内標準物質(BPA d-4)の値を用い、
(試料液) / (標準液の平均) ×100 で記載してある。

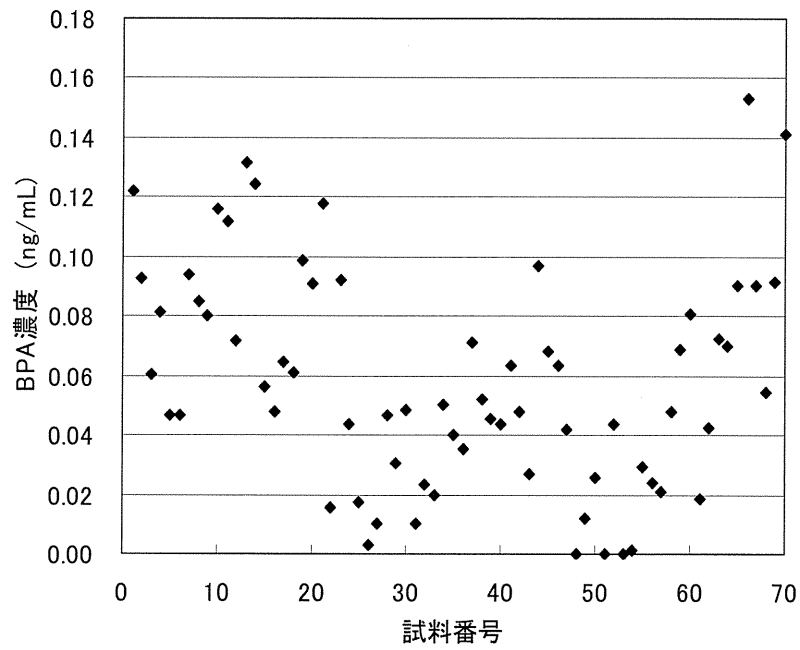


図.2 血液試料中の BPA 濃度

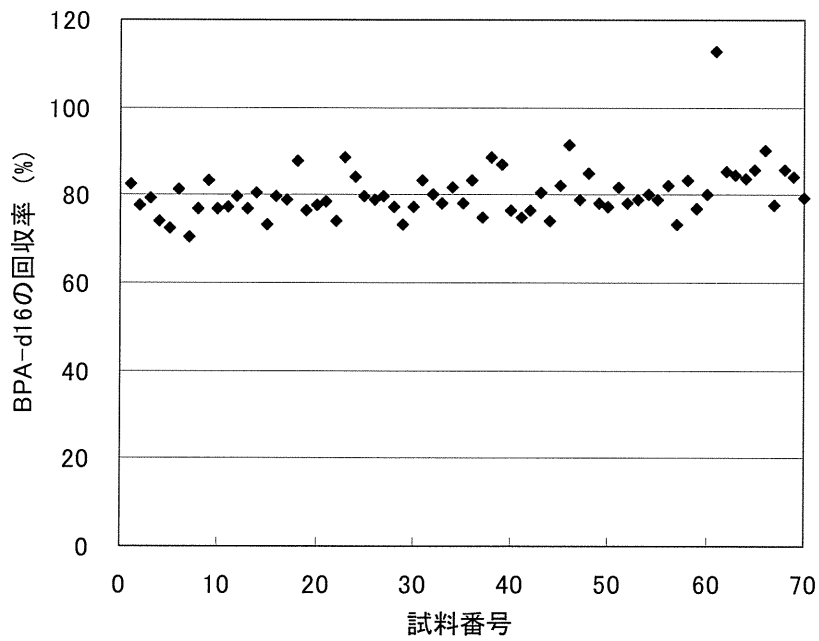


図.3 試料における内標準物質の回収率

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

表 4 装置の変動の確認（1回目の分析）

	RRF	相対比(%)(※)
検量線作成時	1.03	100
Check(1回目)	1.11	107
Check(2回目)	1.08	104
Check(3回目)	1.06	103
Check(4回目)	1.03	100
Check(5回目)	0.99	96
Check(6回目)	0.96	93
Check(7回目)	0.92	89
Check(8回目)	0.98	95
平均値	1.02	99
最大値	1.11	107
最小値	0.92	89

※相対比 (%) = RRF(測定した標準液の値) / RRF (検量線の平均値)。

表 5 装置の変動の確認（2回目の分析）

	RRF	相対比(%)(※)
検量線作成時	1.05	100
Check(1回目)	1.08	103
Check(2回目)	0.99	94
Check(3回目)	1.05	100
Check(4回目)	1.06	101
Check(5回目)	1.07	102
Check(6回目)	1.05	100
Check(7回目)	1.07	102
Check(8回目)	1.03	98
Check(9回目)	1.04	99
Check(10回目)	1.05	100
平均値	1.05	100
最大値	1.08	103
最小値	0.99	94

表 6 装置の変動の確認（3回目の分析）

	RRF	相対比(%)(※)
検量線作成時	0.95	100
Check(1回目)	1.04	109
Check(2回目)	0.99	104
Check(3回目)	1.01	105
Check(4回目)	1.04	109
Check(5回目)	1.01	105
Check(6回目)	0.98	103
Check(7回目)	1.03	108
Check(8回目)	1.04	109
平均値	1.01	106
最大値	1.04	109
最小値	0.95	100

注意欠損・多動性障害(ADHD)の発症に関わる脳内神経伝達物質と養育環境要因の関係

研究代表者 岸 玲子 北海道大学環境健康科学研究教育センター センター長・特任教授
研究分担者 佐々木 成子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教授
研究分担者 吉岡 英治 旭川医科大学医学部健康科学講座地域保健疫学分野 准教授

研究要旨

注意欠損・多動性障害(Attention-deficit/hyperactivity disorder: ADHD)の発症には脳内神経伝達物質の関係が示唆されているが、遺伝的素因だけでなく養育環境要因も関与すると考えられる。ADHDの化学物質リスク評価において、これら脳内神経伝達物質および化学物質以外の環境について明らかにしておく必要があると考え、本研究では先行研究を整理することを目的とした。方法はPubMedを用いて文献検索を行った。養育環境要因では、母性的暖かさや授乳期間、ダイエットがADHDの症状を緩和・改善する一方で、TVやDVDの視聴時間が発症リスクに影響していた。脳内神経伝達物質と養育環境の交互作用では9編の論文があり、ドーパミン系あるいはセロトニン系物質の候補遺伝子多型について検討していた。前向きコホート研究は4編と少なく、いずれも児の遺伝的解析のみだった。今後は、出生前後それぞれの養育環境要因と脳内神経伝達物質のADHD関連遺伝子の関連を明らかにする必要がある。

研究協力者

池野 多美子
(北海道大学環境健康科学研究教育センター)
小林 澄貴, 馬場 俊明
(北海道大学大学院医学研究科
予防医学講座公衆衛生学分野)

A. 研究目的

注意欠損・多動性障害(Attention-deficit/hyperactivity disorder: ADHD)は、注意持続の困難あるいは年齢にそぐわない衝動性や多動性を特徴とする行動障害で、児童期において自閉症スペクトラムや学習障害(LD)などに比べて頻度の高い疾患である。

ADHDの有病率は、DSM-IV-TRでは3~7%と報告されている。学童期に診断を受けた者の30~50%前後が成人期にも移行するとの報告があり¹⁾、児の学校生活適応だけ

でなく、成人期の就労や社会生活適応も含め社会的問題となっている。

ADHDは衝動性に対する薬物効果などから、前頭前野でのカテコールアミン系神経伝達物質の機能が十分に発揮されないことが示唆され、それらの物質のADHD関連遺伝子の研究が進んできた。Faraoneらはメタアナリシスにより、双生児研究において発症要因の76%を規定すること、ADHD関連遺伝子としてカテコールアミン系とセロトニン系の神経伝達物質が強く関与していることを報告している²⁾。また、Gizerらは、小児のADHD関連の候補遺伝子についてメタアナリシスにより分析した結果、神経伝達物質受容体のDRD4, DRD5, HTR1B, 神経伝達物質トランスポーターのDAT1, 5-HTT, セロトニン系のシナプトソーム関連タンパクのSNAP-25に有意な関連があったと報告している(図1)³⁾。しかし、遺伝的素因と環境の影響は、もともと

両親から受け継いだ遺伝的素因が強く影響しているものか、出生前後の環境要因が関連しているのか、相互に影響し合うものであるのか、完全に分離できるものではない。一般環境の化学物質リスク評価に際しては、これら神経伝達物質と環境要因の関与について明らかにしておく必要がある。

本研究では、ADHD 発症に関連する養育環境要因(喫煙、飲酒の曝露を除く)および脳内神経伝達物質の ADHD 関連遺伝子との交互作用について先行研究を整理することを目的とした。

B. 研究方法

英文の引用文献は、PubMed のデータベースを用いて検索した。検索キーワードは、[MeSH] を使い “Attention Deficit Hyperactivity Disorders” および “home or life or social environment” とした。脳内神経伝達物質との交互作用では、“genes”, “interaction” を追加して検索した。日本語論文は、医中誌データベースを用い、同一の検索キーワードを用いた。期間は 2011 年までの 10 年間とした。

C. 研究結果

海外の論文から、ADHD と養育環境要因の関連を検討したものは 4 編であった。養育環境要因と脳内神経伝達物質の交互作用を検討した報告は 9 編であった。日本における研究は見当たらなかった。

養育環境要因は、母親の温かさ(Tullu ら)⁴⁾ や授乳期間の長さ(Julvetz ら)⁵⁾ が ADHD 症状の緩和に関連していた。テレビやゲームの視聴時間は注意機能に関連しており、その影響は青年期も同様に認められた(Swing ら)⁶⁾。また、Pelsser らはダイエットと ADHD との関連について無作為化対照試験を実施し⁷⁾、ADHD 児への介入プロ

グラムとしての可能性を報告していた(表 1)。

養育環境と脳内神経伝達物質との交互作用では、夫婦間の葛藤・自己非難の曝露が、*DRD4* リスク型において ADHD の不注意症状と関連していた⁸⁾。経済状況に絡んでは 3 編の報告があった。Nikolas らは経済的困難と両親の不仲に関する自責感と *SLC4AC* との関連を⁹⁾、Lasky-Su らは経済状況と *BNTF10SNPs* との関連を¹⁰⁾、Nobile らは経済状況と *COMT Val158Met* との関連を報告していた¹¹⁾。母親のぬくもりや批判と言った愛情の曝露と遺伝交互作用では関連が認められなかった¹²⁾。社会認識能力と *OXTR5SNPs* との関連が¹³⁾、人生上の出来事と *NET*, *COMT*, *SERTPR* との関連が¹⁴⁾、心理的ストレスと *DAT1* との関連が¹⁵⁾、しつけの質と *DRD4VNTR* との関連が¹⁶⁾ 1 編ずつ報告されていた(表 2)。

D. 考察

養育環境では、母親の温かさ⁴⁾ や授乳期間⁵⁾ という養育態度そのものが、ADHD 症状を緩和あるいは改善することが明らかとなり、母児間の接触の重要性を示唆している。しかしながら、ADHD と養育環境の研究は少なく、報告された 4 編については遺伝的素因の検討がなされていない限界がある。一方ダイエットの RCT 研究から⁷⁾、食生活も症状に関連していたことは、ADHD 傾向を示す児童への介入方法としての可能性を示唆しているだろう。

養育環境と脳内神経伝達物質との交互作用の研究は 9 編であった。ドーパミン系あるいはセロトニン系物質を中心に候補遺伝子の多型について検討していたが、前向きコーホート研究は 4 編のみであること、環境曝露要因が様々な観点から設定されていること、すべて児の遺伝子多型しか調べていないことなど、交互作用について結論付

けることは難しい。特に経済状況のように胎児期から影響が考えられる環境要因は、前向きコホート研究で出生前後の経済状況を考慮する必要がある。また虐待など出生後の養育環境が二次的に ADHD 発症に影響しうる可能性を考えると、母児ペアの候補遺伝子と環境要因との関連を検討する必要がある。さらに、今後は ADHD 発症に関連する遺伝的素因を有していても発症を予防するあるいは症状を緩和する環境要因について研究を蓄積することが求められる。

E. 結論

ADHD と養育環境との関連については研究が少なく、脳内神経伝達物質と養育環境の交互作用についての研究が近年蓄積されてきている。しかし日本での研究は未だ報告がない。今後は、環境化学物質曝露の影響も含め、ADHD 発症と関連する出生前後の養育環境要因もさらに検討することで、ADHD 発症予防や症状を緩和できる要因が明らかになると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) 池野多美子, 小林澄貴, 馬場俊明, 岸玲子. 注意欠損/多動性障害(ADHD)の有病率と養育環境要因に関する文献 Review. 北海道公衆衛生学雑誌. In press.

2. 学会発表

(1) 池野多美子, 小林澄貴, 馬場俊明, 岸玲子. 注意欠損・多動性障害に関する文献 Review(1)-有病率と発生に関する要因. 第 82 回日本衛生学会学術総会. 京都市. Mar.24-26, 2012.

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- (1) Roy-Byrne, P., Scheele, L., Ward, N. et al. Adult attention-deficit hyperactive disorder. Assessment guideline based on clinical presentation to a specialty clinic.
- (2) Faraone, S.V., R.H. Perilis, et al. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*. 2005;57(11):1313-1323.
- (3) Gizer, I.R., C. Ficks, et al. Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review. *Hum Genet*. 2009;126(1):51-90.
- (4) Tully Lucy A, Arseneault, Avshalom et al. Does Maternal Warmth Moderate the Effects of Birth Weight on 'Twins' Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) Symptoms and Low IQ? *J of Consulting and Clinical Psychology*. 2004;72(2):218-226.
- (5) Jordi Julvez, Nuria Ribas-Fito, et al. Attention behaviour and hyperactivity at age 4 and duration of breast-feeding. *Acta Paediatrica*. 2007;96(6):842-847.
- (6) Swing, E. L., D. A. Gentile, et al. Television and video game exposure and the development of attention problems. *Pediatrics*. 2010;126(2):214-221.
- (7) Pelsser, Lidy M., Franken Klass, et al. Effects a restricted elimination diet on the behavior of children with attention-deficit hyperactivity disorder (INCA study): a randomized controlled trial. *Lancet*. 2011;377:494-503.
- (8) Martel MM, Nikolas M, Jarnigan K, et al. The dopamine receptor D4 gene (DRD4) moderates family

- environmental effects on ADHD. *J Abnorm Child Psychol.* 2011;39:1-10.
- (9) Nikolas M, Friderici K, Waldman I, et al. Gene x environment interactions for ADHD: synergistic effect of 5HTTLPR genotype and youth appraisals of inter-parental conflict. *Behav Brain Funct.* 2010;6:23.
- (10) Nobile M, Rusconi M, Bellina M, et al. COMT Val158Met polymorphism and socioeconomic status interact to predict attention deficit/hyperactivity problems in children aged 10-14. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2010;19:549-557.
- (11) Lasky-Su J, Faraone SV, Lange C, et al. A study of how socioeconomic status moderates the relationship between SNPs encompassing BDNF and ADHD symptom counts in ADHD families. *Behav Genet.* 2007;37: 487-497.
- (12) Sonuga-Barke EJ, Lasky-Su J, Neale BM, et al. Does parental expressed emotion moderate genetic effects in ADHD? An exploration using a genome wide association scan. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2008;147B: 1359-1368.
- (13) Park J, Willmott M, Vetuz G, et al. Evidence that genetic variation in the oxytocin receptor (OXTR) gene influences social cognition in ADHD. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010;34: 697-702.
- (14) Müller DJ, Mandelli L, Serretti A, et al. Serotonin transporter gene and adverse life events in adult ADHD. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2008;147B:1461-1468.
- (15) Laucht,M., M.H.Skowronek, et al. Interacting effects of the dopamine transporter gene and psychosocial adversity on attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms among 15-years-olds from a high-risk community sample. *Arch Gen Pstchiatry.* 2007;64(5):585-590.
- (16) Sheese BE, Voelker PM, Rothbart MK, et al. Parenting quality interacts with genetic variation in dopamine receptor D4 to influence temperament in early childhood. *Dev Psychopathol.* 2007;19:1039-1046.

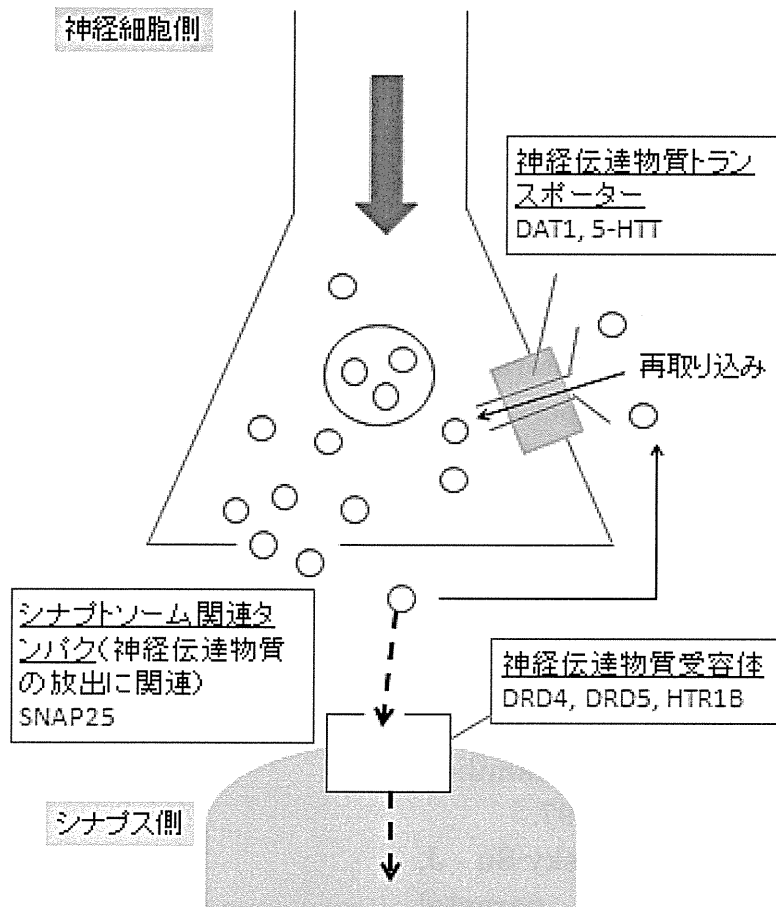


図1 神経伝達物質のADHD関連遺伝子
(Gizerら,2009:を改変)

表 1. 養育環境要因と ADHD(あるいは ADHD 関連症状)との関連

著者／国／年	研究デザイン	対象者	曝露評価	ADHD の評価	結果
Tully et al., 2004 UK	後ろ向き コーホー ト	低体重出生の 双子の 5 歳児 2232 組	母性的温かさ(ビデオ 撮影された子どもの 反応からコード化し た感情表現)	教員と養育者による ADHD 症状の調査 票	ADHD 得点において、児の体重と母性的 温かさの間に有意な交互作用があった。 IQ とは関係しなかった。
Jurvetz et al., 2007 Spain	前向き出 生コーホ ート	4 歳児 500 名 (2 箇所のコ ーホート)	授乳期間(聞き取り)	ADHD-DSM-IV に 基づく教員による調 査票 MCSA(神経心理学 検査) 教員による CPSCS	授乳 12 週以上は ADHD 得点と社会適 応の改善が認められた (ADHD RR=0.56;95%CI.0.37-0.85; 社会適 応 RR=0.57;95%CI.0.52-0.66)。 授乳 20 週以上は実行機能と関連があ った (RR=0.49;95%CI.0.6-9.2)。 交絡要因調整後も効果は維持した。
Swing et al., 2009 USA	縦断研究	6 歳から 12 歳 1323 名	テレビやビデオゲー ムの視聴時間(13 ヶ月 間)	教員による注意機能 の評価	テレビやビデオゲームの視聴は注意機能 と非常に関連している (OR=1.81, 95%CI.1.56-2.11)。
Pelsser et al., 2011 Netherlands	クロスオ ーバーの RCT	ADHD と診断 された 4~8 歳 児 100 名	ダイエット(厳格なダ イエットと健康的ダ イエットの指導を受 ける対照群)	小児科医による ADHD-RS と Conners、SDQ,SPI	ダイエット群は対照群に比べ、ADHD 症 状評価指標の ADHD-RS 得点が 23.7(95%CI 18.6-28.8; p<0.0001)差があ り、両群を交差した結果、30 人中 16 人 (63%)に症状のぶり返しが認められた。

表 2. 脳内神経伝達物質と養育環境要因の交互作用と ADHD(あるいは ADHD 関連症状)

著者/ 地域/ 出版年	対象者/ 対象者年齢/ 男児割合/ 研究デザイン	養育環境評価指標 対象/ 評価方法	遺伝評価指標 対象/ 遺伝子多型	結果
<葛藤・自己非難曝露(夫婦間)>				
Martel ら/ アメリカ/ 2011	548 名/ 6-18 歳/ 59%/ 前向きコーホート	父母/ インタビュー調査	児 / <i>DRD4</i> プロモーター VNTR	<i>DRD4</i> リスク型において、一貫したしつげがない群はある群と比べて ADHD の不注意症状が多い($t=2.26, P<0.025, R^2=0.04$)。 <i>DRD4</i> リスク型において、夫婦間葛藤自己非難が高い群は低い群と比べて ADHD の不注意症状が多い $t=2.82, P<0.01, R^2=0.07$ 。
<経済状況曝露(経済的困難さ・両親の不仲)>				
Nikolas ら/ アメリカ/ 2010	304 名/ 6-18 歳/ 56.6%/ 前向きコーホート	父母/ CPIC 調査	児 / <i>SLC4AC</i> プロモーター A>G	自己非難と <i>SLC4AC</i> 高活性遺伝子型をもつ ADHD との間に正相関 ($r=0.32, P<0.001$)。 自己非難と <i>SLC4AC</i> 低活性遺伝子型をもつ ADHD との間に正相関 ($r=0.40, P<0.001$)。
<経済状況曝露(社会的経済状況)>				
Lasky-Su ら/ アメリカ/ 2007	701 名/ 12 歳/ 60.9%/ 症例-対照研究	父母/ Hollingshead によって開発された 5 点スケール評価	児 / <i>BNTF</i> 10SNPs	低い社会的経済状況の中で不注意症状と rs1013442 A アレルとの交互作用による有意な増加が認められた($P=0.012$)。 不注意症状と rs1387144 C アレルとの交互作用による有意な増加が認められた($P=0.009$)。
Nobile ら/ イタリア/ 2010	575 名/ 10-14 歳/ 51.5%/ 横断研究	父母/ Hollingshead によって開発された 9 点スケール評価	児 / <i>COMT</i> Val158Met	親の社会的状況が低く、 <i>COMT</i> Val/Val の児のなかで、 <i>COMT</i> と社会的経済状況の交互作用が ADHD に影響を及ぼした ($F=5.693, P=0.004$)。
<愛情曝露(母のぬくもり・批判)>				
Sonuga-Barke ら/ ヨーロッパ7カ国/ 2008	958 名/ 5-17 歳/ 86.99%/ 横断研究	父母/ インタビュー調査	児 / 600,000 SNPs*	関連なし。

＜社会認識能力曝露＞				
Park ら/ イギリス, アイルランド/ 2010	450 名/ 16-70 歳/ 不明/ 横断研究	児/ CAPA を用いたインタビュー調査	児 / <i>OXTR</i> 5SNPs	ADHD 児において, rs53576 AA 遺伝子型は, AG 遺伝子型と比べて, 社会能力が高かった ($F=5.24, P=0.007$). ADHD 児において, rs13316193 CC 遺伝子型は, TT 遺伝子型と比べて, 社会能力が低かった ($F=3.09, P=0.05$).
＜有害な人生の出来事曝露＞				
Müller ら/ カナダ/ 2008	110 名/ 17-56 歳/ 64.5%/ 横断研究	児/ インタビュー調査	児 / <i>NET,</i> <i>COMT,</i> <i>SERTPR</i> (A>G)	<i>SERTPR</i> Long 型変異は, ADHD のうちの感情干渉の管理について有意な増加を示した ($\beta=0.97, P=0.001$).
＜強い心理社会的ストレス＞				
Laucht ら/ ドイツ/ 2007	305 名/ 15 歳/ 47.9%/ 前向きコーホート	父母/ the Rutter family adversity index	児/ <i>DAT1</i>	<i>DAT1 10-repeat allele</i> の発症リスクは, 不注意型と多動/衝動型に有意に高かった (不注意型 OR=3.28, CI 1.24-8.68; 多動/衝動型 OR=3.70, CI 1.32-10.40).
＜しつけの質曝露＞				
Sheese ら/ アメリカ/ 2007	45 名/ 4 歳/ 64.4%/ 前向きコーホート	児/ 10 分間介護士と交わせる(ビデオ撮影) 父母/ 児のビデオテープを見せた観察的評価方法を用いた調査	児 / <i>DRD4</i> VNTR	7-repeat アレルをもつ児はしつけの質に影響を及ぼし, 低いしつけの質は高い感情の探求と関連あり ($F(1.39)=6.63, P=0.01$).

*; 600,000 SNPs の遺伝子: *NR4A2, PER2, SLC6A1, DRD3, SLC9A9, HES1, ADRA2C, ADRB2, ADRA1B, DRD1, HTR1E, DDC, STX1A, ADRA1A, NFIL3, ADRA2A, ADRB1, SLC18A2, TPH1, BDNF, FADS1, FADS2, ADRBK1, ARRB1, DRD2, HTR3B, TPH2, SYT1, HTR2A, SLC6A2, ARRB2, PER1, PNMT, CHRNA4, COMT, ADRBK2, CSNK1E.*

注意欠損・多動性障害(ADHD)の発症に関わる環境化学物質(生活環境も含む)曝露とその代謝に関与する遺伝子多型と交互作用

研究代表者 岸 玲子 北海道大学環境健康科学研究教育センター センター長・特任教授
研究分担者 佐々木 成子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教
研究分担者 吉岡 英治 旭川医科大学医学部健康科学講座地域保健疫学分野 准教授

研究要旨

注意欠損・多動性障害(Attention-deficit/hyperactivity disorder: ADHD)発症には、遺伝要因だけでなく、環境要因も重要である。ADHD の発症には幾つかの環境化学物質の関与が報告されている。環境化学物質の曝露要因とその代謝に関与する遺伝子多型との交互作用と、ADHD の関連を中心に、現在までの知見を整理するために、PubMed を用いて文献検索を行った。環境要因には生活環境(喫煙, 飲酒), 環境化学物質(フタル酸エステル類, 有機フッ素系化合物, 有機塩素系化合物), 農薬(有機リン系, 有機ハロゲン系), 無機ヒ素が研究されていた。遺伝要因については、脳内神経伝達物質が関与する遺伝子多型の研究が中心だった。母の能動・受動喫煙については、26 編であった。環境化学物質の曝露要因については、これまで 13 編の論文があった。さらにその代謝に関わる遺伝要因については、有機リン系農薬曝露とその代謝酵素の遺伝子多型との交互作用を検討した研究が 1 編あったが、結果は有意でなかった。今後、ADHD の発症に関わる要因を明らかにするためには、その他の環境化学物質についても、環境化学物質の曝露要因とその代謝酵素や神経伝達物質の遺伝子多型、および家庭の養育環境要因との交互作用など総合的な研究を行う必要があると考えられた。

研究協力者

小林 澄貴, 馬場 俊明
(北海道大学大学院医学研究科
予防医学講座公衆衛生学分野)
池野 多美子
(北海道大学環境健康科学研究教育センター)

A. 研究目的

注意欠損・多動性障害(Attention-deficit/hyperactivity disorder: ADHD)は、発達年齢に比べて注意力障害、衝動性、多動性を示す児童期の神経行動障害である。欧米で ADHD に影響を与える要因について、家庭環境、生活スタイル、環境化学物質などの研究が進んでいる。例

えば、鉛中毒や鉄欠乏、食品添加物の摂取と ADHD 発症との関連が報告されている¹⁾。

一方、ADHD の発症には、家系内研究や双生児研究、養子縁組研究などから¹⁾、遺伝要因の関連も示唆されている。ADHD の発症要因について、遺伝要因は 79%との報告がある²⁾。ADHD の発症に関与する候補遺伝子の研究については、ドパミン系の関連遺伝子が中心だった¹⁾。

環境化学物質は体外から吸収されて体内に入った後、各組織に分布、そして代謝、排泄される。環境化学物質の曝露要因が、その代謝に関わる酵素やトランスポーターの遺伝子多型との交互作用(環境 - 遺伝交互作用)が ADHD の発症に影響するかもし