

令和4年2月19日(土)
子どもの毒性学:公開シンポジウム
日本学術会議 毒性学分科会

自閉スペクトラム症の環境要因

松崎 秀夫

福井大学 子どものこころの発達研究センター

自閉スペクトラム症とは

- 社会的コミュニケーション、対人的相互作用の障害、行動・興味・活動の限局された反復的様式(感覚の問題を含む)をもつ神経発達症である。
- およそ3歳までに症状が明らかとなり、生涯にわたり障害が続く。
- 圧倒的に男児に多く、米国児童の有病率は54人に1人(CDC, 2020)。我が国の5歳児における推定有病率は3.22%(Saito et al 2020)。
- 発症メカニズムが不明で、生物学的根拠のある診療技法がない。



耳をふさぐ
(大きい音、声に反応)



気に入ったものを
執着して並べる



ひとり言を
くり返ししゃべる



オウム返しの言葉

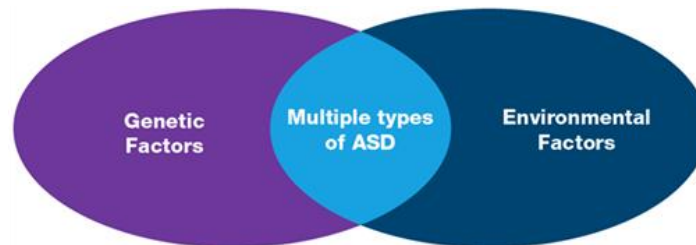


体を揺らしながら
奇声をあげる



理由不明の
かんしゃく

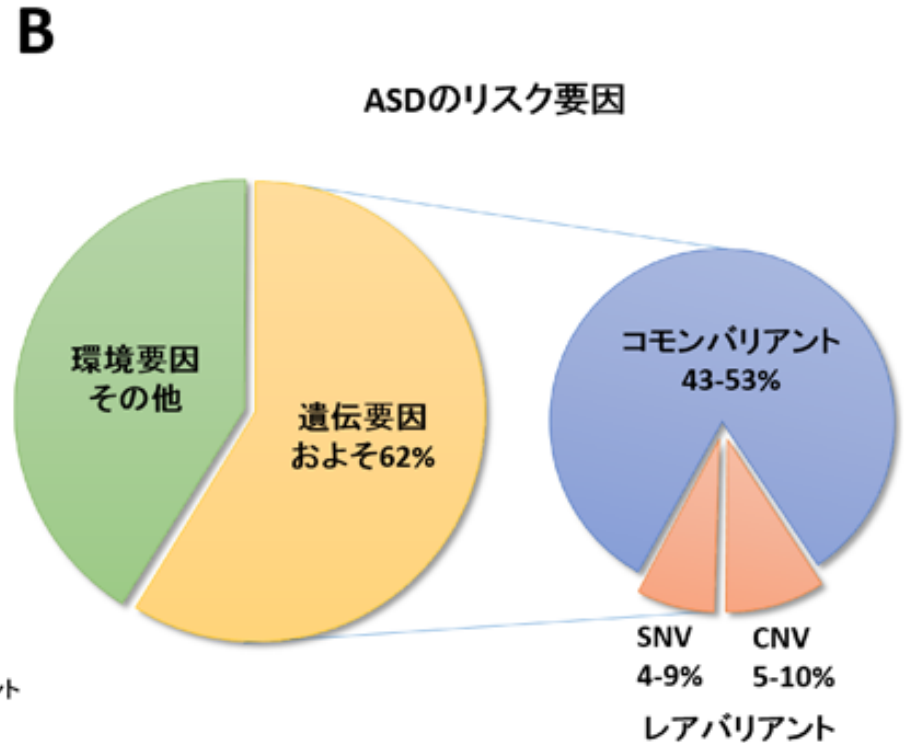
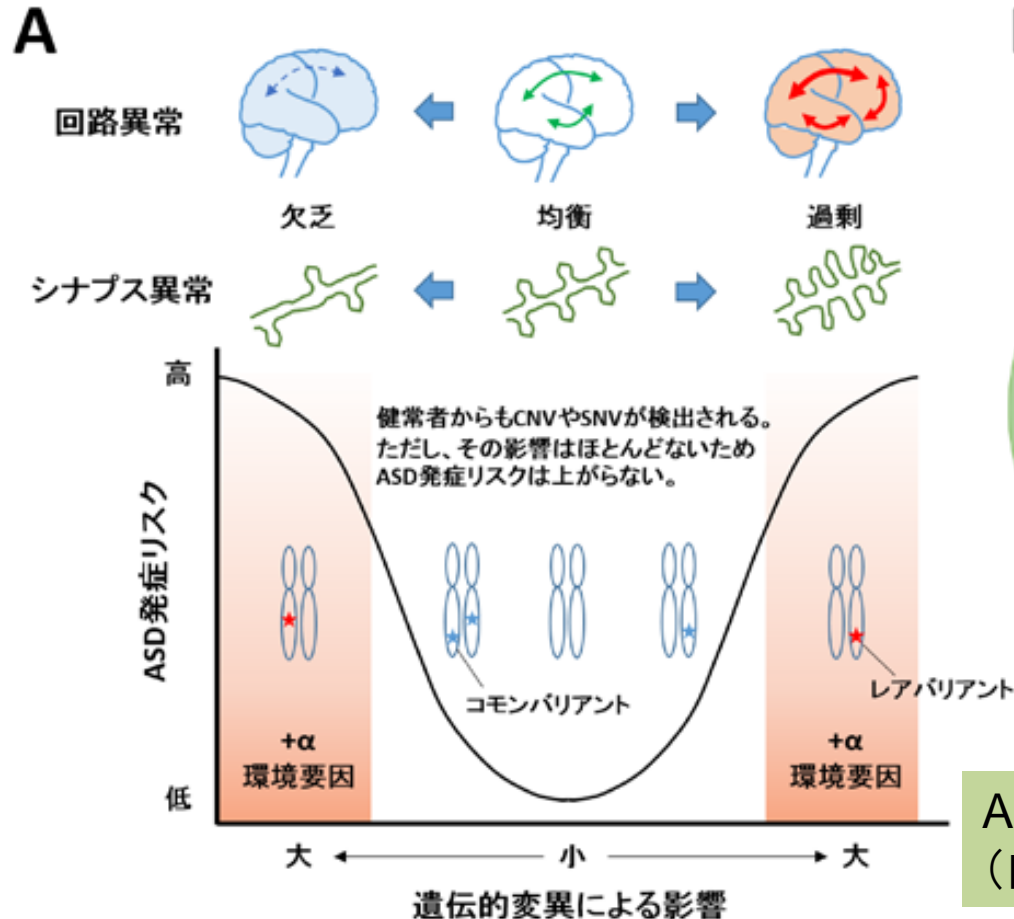
More than
1010 genes



Maternal immune activation
Viral infection
Drug exposure
Paternal and maternal age
Preterm birth

自閉症の要因

- 自閉症は、数多くの遺伝的要因または環境要因が脳内の共通の分子経路を攪乱するために生じる、病因論的には不均一な疾患と考えられている (Voineagu et al., 2011)。
- 一卵性双生児の一致率報告 (Folstein & Rutter, 1977) で遺伝的要因は大きく見積もられたが、遺伝的要因はそれほど大きくないとする報告 (Hallmayer et al, 2011) もある。



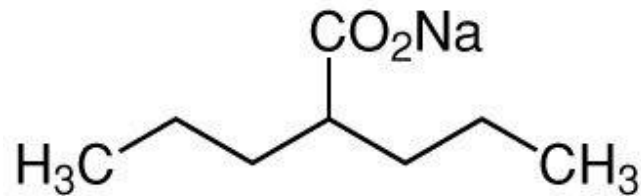
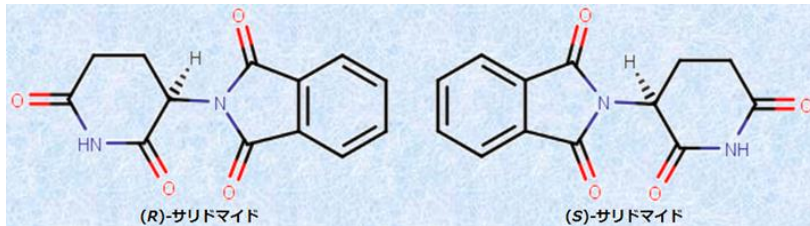
ASDの遺伝的多様性に基づく表現型への影響
(内匠透© 2018 公益社団法人日本生化学会)

自閉症の環境要因

1. 薬物
2. ウイルス感染
3. 両親の年齢・早産
4. 環境化学物質

自閉症と薬物

自閉症の環境要因として最も長く検証が進んでいる薬物は、胎生期のサリドマイドとバルプロ酸である。



Patricia Rodier
Univ. of Rochester

- 1960年代に起きたサリドマイド禍で生まれた犠牲者のうち約5%が自閉症を合併していた。この発症率は一般人の割合の約30倍（当時）にもなる（Strömmland et al, 1994）。
- 自閉症児童の死後脳では顔面神経核と上オリーブ核の低形成が認められる。サリドマイドやバルプロ酸を胎生仔の神経管が閉じる直後（妊娠初期）のラットに投与すると、同じ脳所見と自閉症様の行動が現れる。（Rodier et al, 1996 ; Rodier et al, 2000）
- 妊婦がバルプロ酸を妊娠初期に服用すると、出生子における自閉症発症の頻度が増加する。（Williams et al, 2001 ; Christensen et al, 2013 ; Coste et al, 2020）

自閉症とウイルス感染

- 妊婦の風疹感染後の出生子に自閉症を合併するリスクが報告されている（Desmond et al, 1967）。米国調査では先天性風疹症候群の未就学児童243人の10人に自閉症を合併した。発症率は一般人口の200倍に達した（Chess S. 1971）。
- 妊婦のサイトメガロウイルス感染後の出生子も自閉症を合併する（Stubbs EG. 1978; Sweeten et al, 2004）。メタ解析でも高い有病率が示された（Maeyama et al, 2018）。
- インフルエンザウイルスも自閉症発症への関与が疑われていたが、2000年代に生まれた米国の子ども20万人を対象にした疫学研究では、母親妊娠中のインフルエンザ感染と子どもの自閉症発症リスクには何ら関連がなかった（Zerbo et al, 2017）。



Murdina M. Desmond
Baylor College of Med



先天性風疹症候群

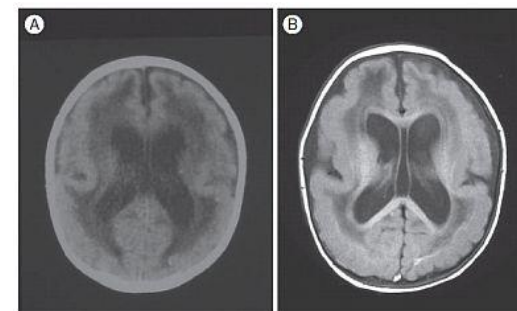
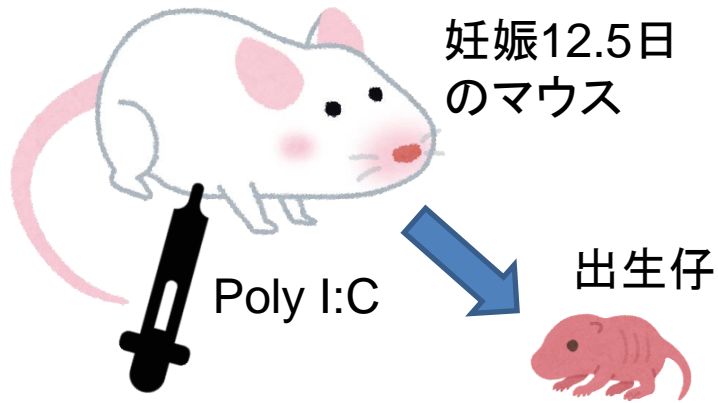
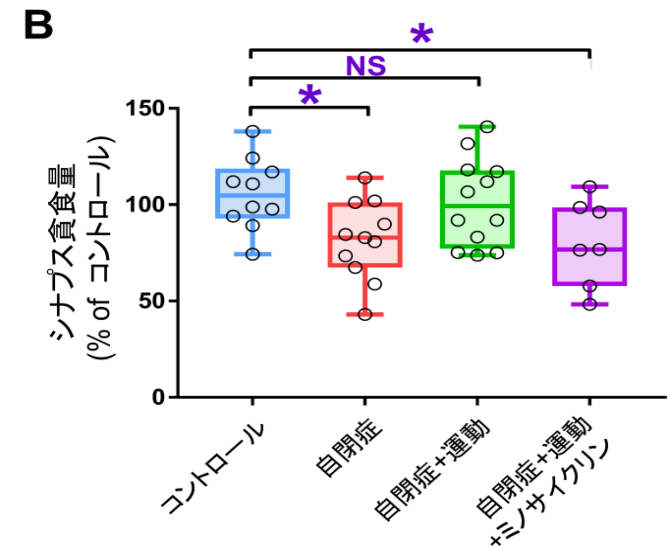
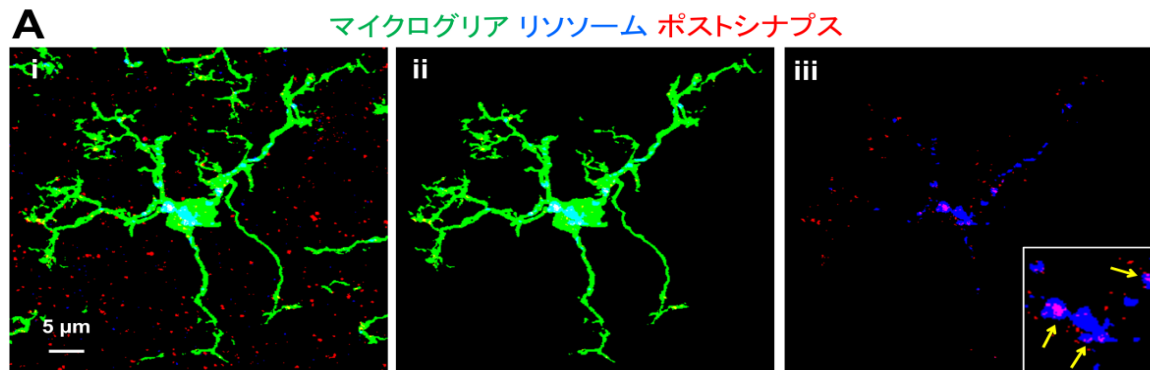
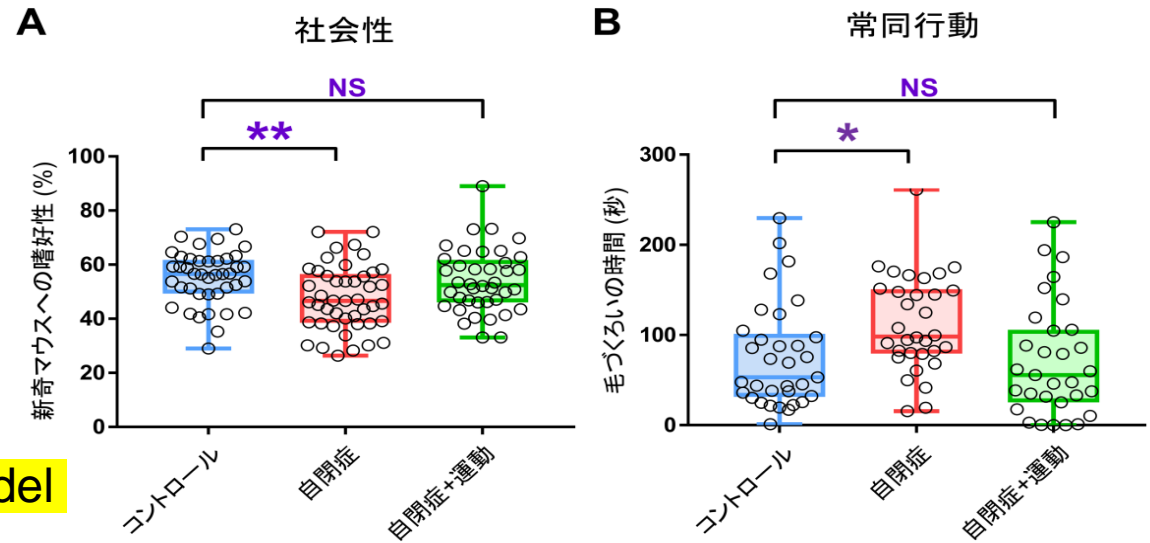


図1 先天性サイトメガロウイルス感染症の頭部画像所見

ウイルス感染を再現した自閉症モデル



Maternal Immune Activation (MIA) model



Andoh et al, Cell Reports. 27(10), 2019

MIAモデルは自閉症死後脳所見を再現

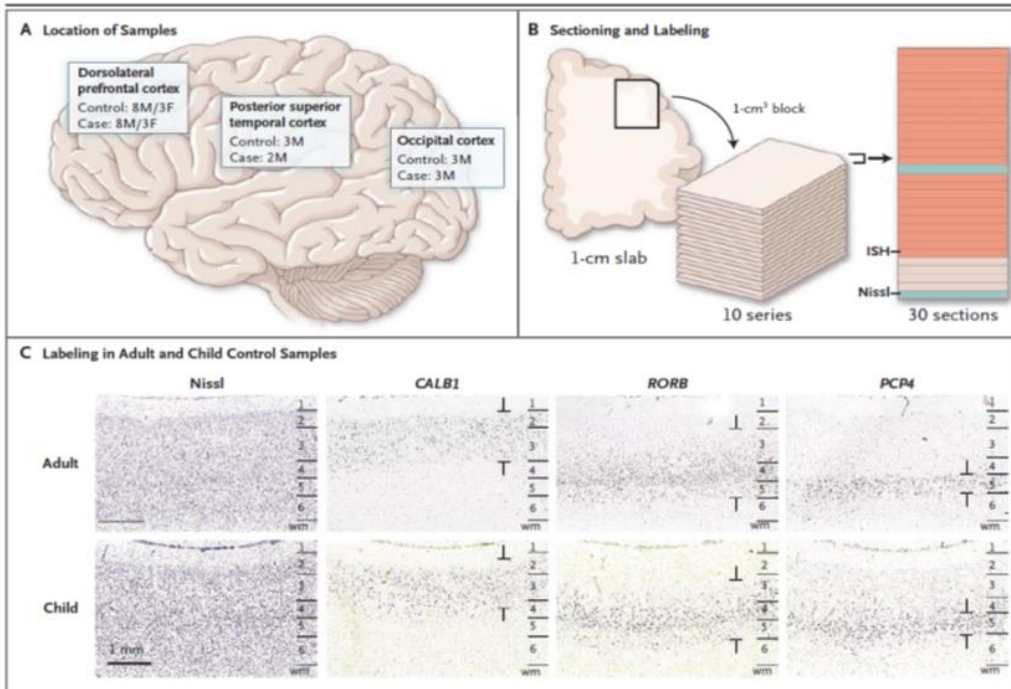
The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Patches of Disorganization in the Neocortex of Children with Autism

Rich Stoner, Ph.D., Maggie L. Chow, Ph.D., Maureen P. Boyle, Ph.D., Susan M. Sunkin, Ph.D., Peter R. Mouton, Ph.D., Subhojit Roy, M.D., Ph.D., Anthony Wynshaw-Boris, M.D., Ph.D., Sophia A. Colamarino, Ph.D., Ed S. Lein, Ph.D., and Eric Courchesne, Ph.D.

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

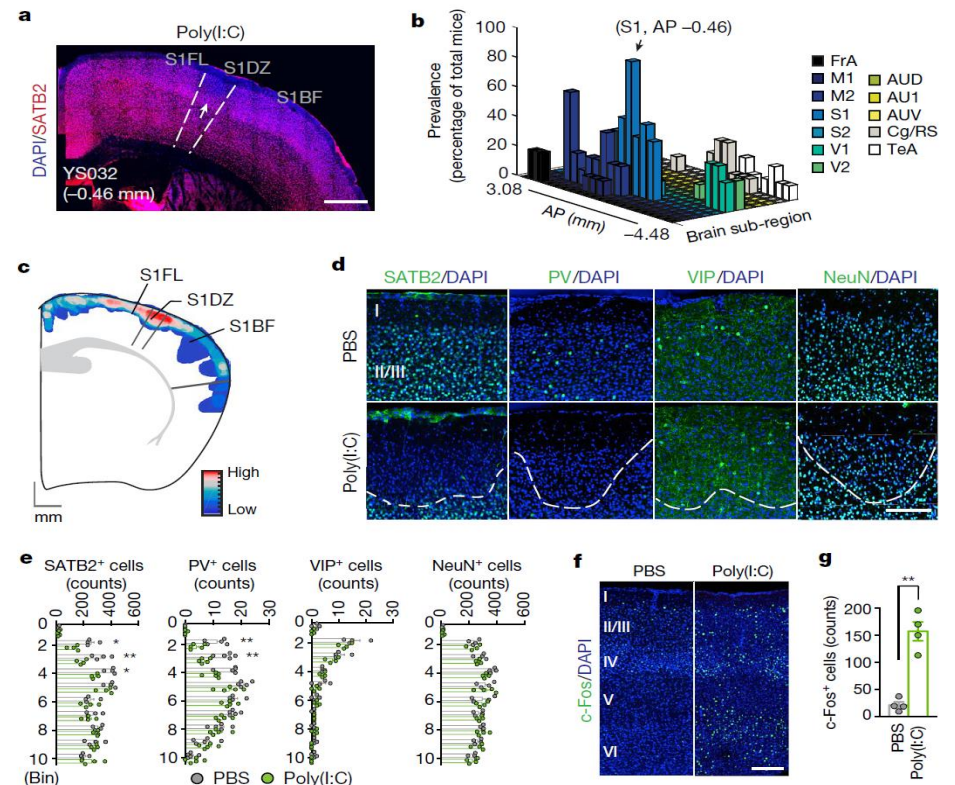


ARTICLE

doi:10.1038/nature23909

Reversing behavioural abnormalities in mice exposed to maternal inflammation

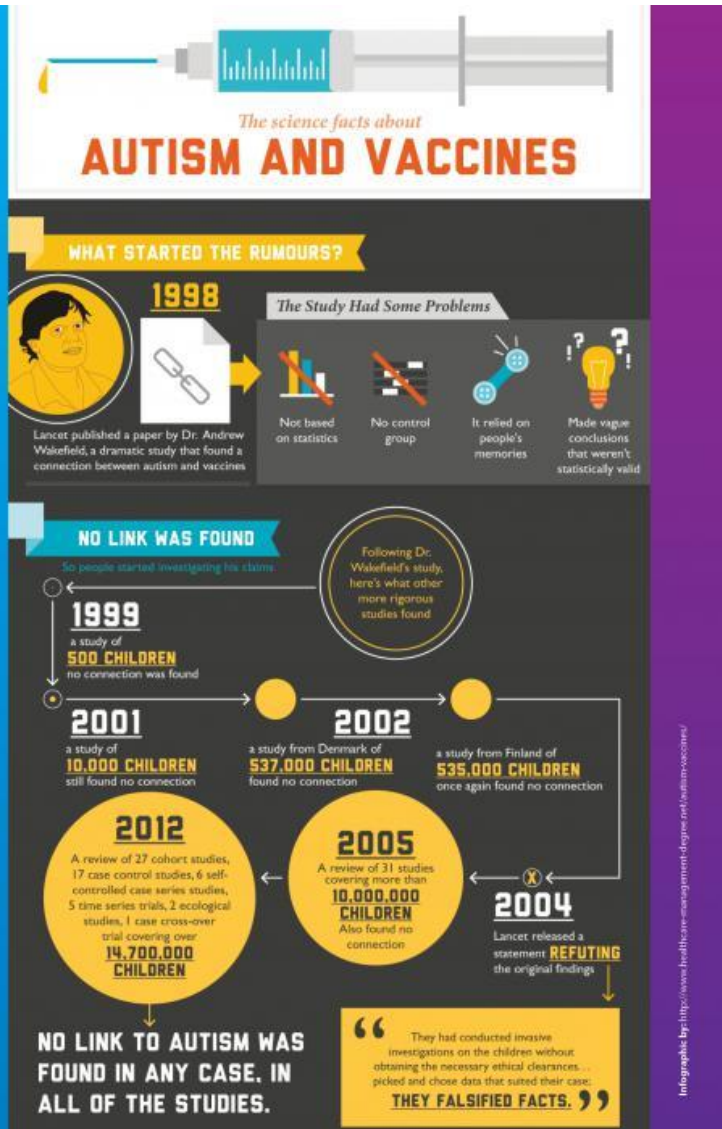
Yeong Shin Yim^{1,2}, Ashley Park^{1,2}, Janet Berrios^{1,2}, Mathieu Lafourcade^{1,2}, Leila M. Pascual^{1,2}, Natalie Soares^{1,2}, Joo Yeon Kim^{1,2}, Sangdo Kim³, Hyunju Kim³, Ari Waisman⁴, Dan R. Littman^{5,6}, Ian R. Wickersham¹, Mark T. Harnett^{1,2}, Jun R. Huh^{3†} & Gloria B. Choi^{1,2}



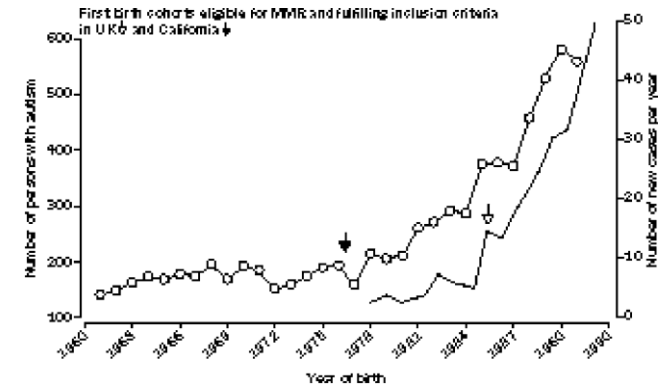
...observed in offspring of dams following

...Quantification of SATB2+, PV+, VIP+, and NeuN+ cells

自閉症とワクチン



Andrew Jeremy Wakefield



- Wakefieldらは自閉症児童の臨床研究で、12人のうち8例に麻疹・流行性耳下腺炎・風疹(MMR)混合ワクチンによる腸炎を合併するとLancetに報告した(Wakefield et al. 1998)。
- 以後、彼の「自閉症ワクチン説」は続き、自閉症とMMRワクチン、有機水銀を含む保存剤チメロサルとの関連を調べる研究が多くなされたが、ワクチン説を支持した報告はなかった。
- 2004年に米国のIOM、世界保健機構は「自閉症発症とMMRワクチン・チメロサルは無関係」とする声明を発表した。
- 2010年にLancetは、Wakefield論文の全撤回を決定した。
- のちDanishコホート研究でも、自閉症とMMRワクチンの関連は明確に否定された(Hviid et al. 2019)。

自閉症と両親の年齢・早産

- 父親の年齢が10歳上がるごとに自閉症のリスクは2倍以上となる(Reichenberg et al. 2006)。我が国でも父親の高年齢は高機能例のリスクになる(Tsuchiya et al. 2008)。メタ解析でも父親の高年齢は自閉症の明らかなリスクとされる(Hultman et al. 2011)。
- 母親の高年齢も自閉症のリスクと関連を指摘する報告がある。高齢の母親は子宮筋の機能障害や年齢による血液供給の減少から産科合併症のリスクが高い(Mason-Brothers et al. 1990)。母親の高年齢は（交絡変数を調整した分析でも）独立した危険因子であった(Eaton et al. 2001; Croen et al 2002; Glasson et al. 2004)。
- 在胎35 週未満での出産は自閉症のリスクの増加と関連がある。在胎期間に比して出生体重が小さい、あるいは成長が遅滞するケースで自閉症リスクが検討されているが、Larssonらは、低出生体重は自閉症リスクと関係なく、妊娠週数のみが関係していると報告している。ただ、Apgar スコアが7 未満だと自閉症の予測因子になる。また、帝王切開での出産は、自閉症の独立危険因子である。さらに流産歴や切迫流産も自閉症リスクを増大させる。

自閉症と環境化学物質

【The CHARGE study】 2歳から5歳までの児童を対象に、遺伝、感染症、食品、製品、大気など自閉症発症要因を比較した発症因子調査研究



DR Hertz-Picciotto, UC DAVIS

「発達期の胎児・小児が**農薬などの環境化学物質**に曝露すると、脳神経系に興奮性/抑制性のかく乱作用をおこし、神経回路形成の異常だけでなく、ミトコンドリア機能障害、酸化ストレス産生、甲状腺ホルモン低下を介して自閉症をおこすリスクがある」

References :

- ◆ Hertz-Picciotto et al.: Environ Health Perspect. 114(7):1119-25(2006).
- ◆ J. F. Shelton: Environ. Health Perspect., 120, 944 (2012)

自閉症と環境化学物質

リスクが疑われている環境化学物質

- クロルピリホス
- ダイアノジン
- マラチオン
- グリホサート
- ネオニコチノイド
- ポリ塩化ビフェニール (PCB)
- フタル酸エステル
- ビスフェノール A
- マイクロプラスチック

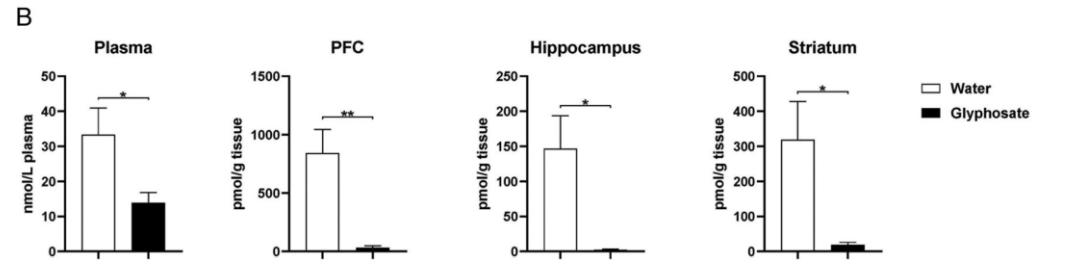
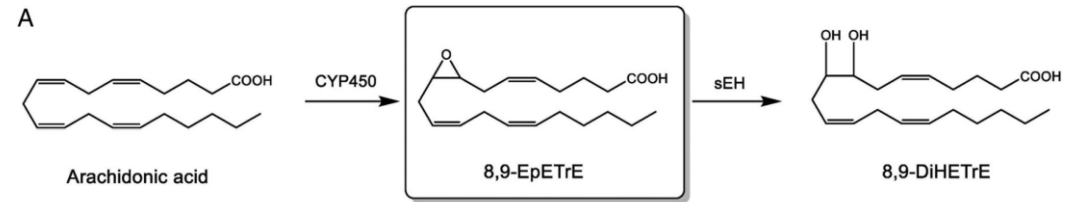
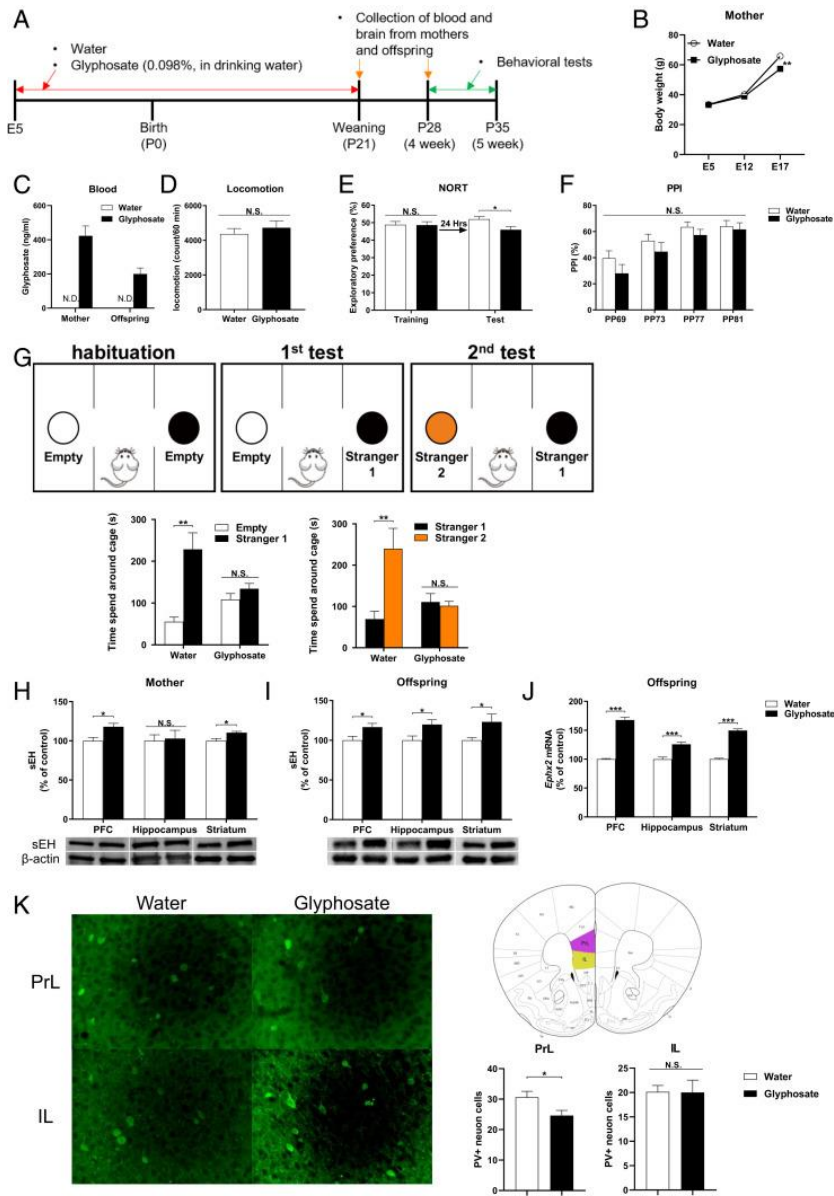


Ondine S. von Ehrenstein
UCLA



Barbara DeMeneix
CNRS

自閉症と環境化学物質

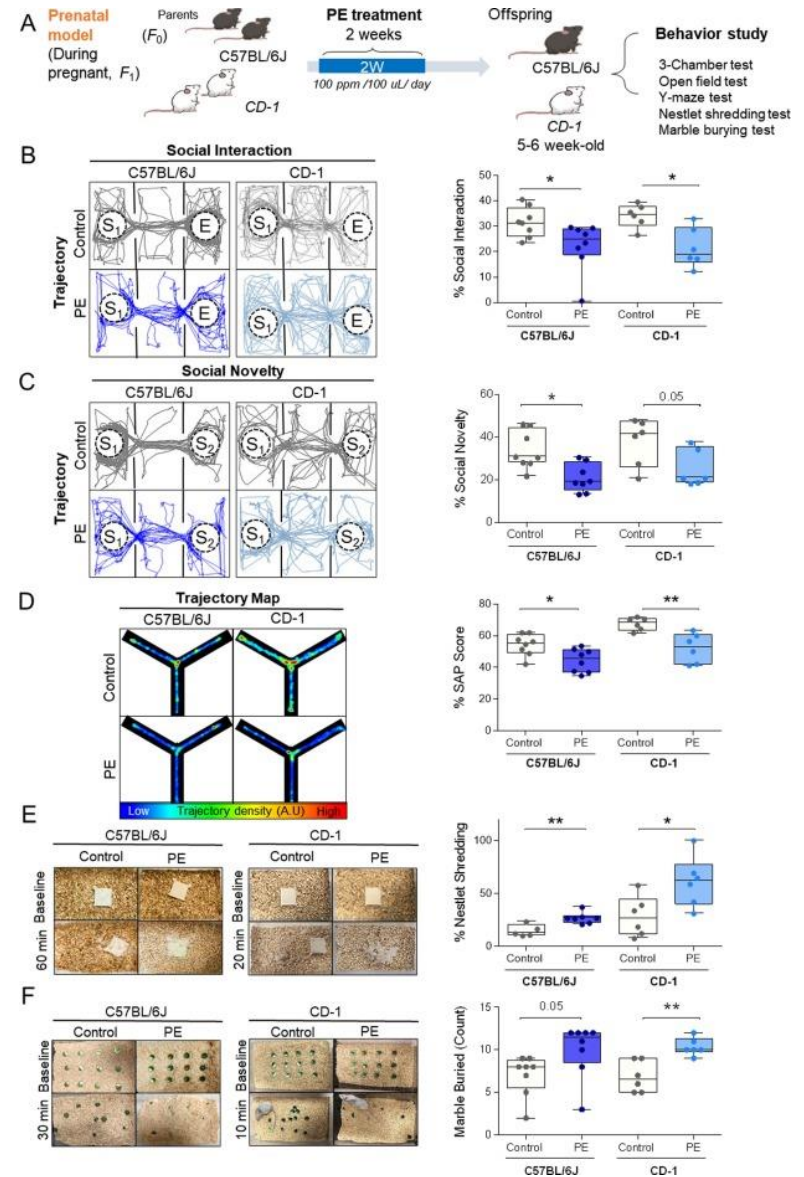
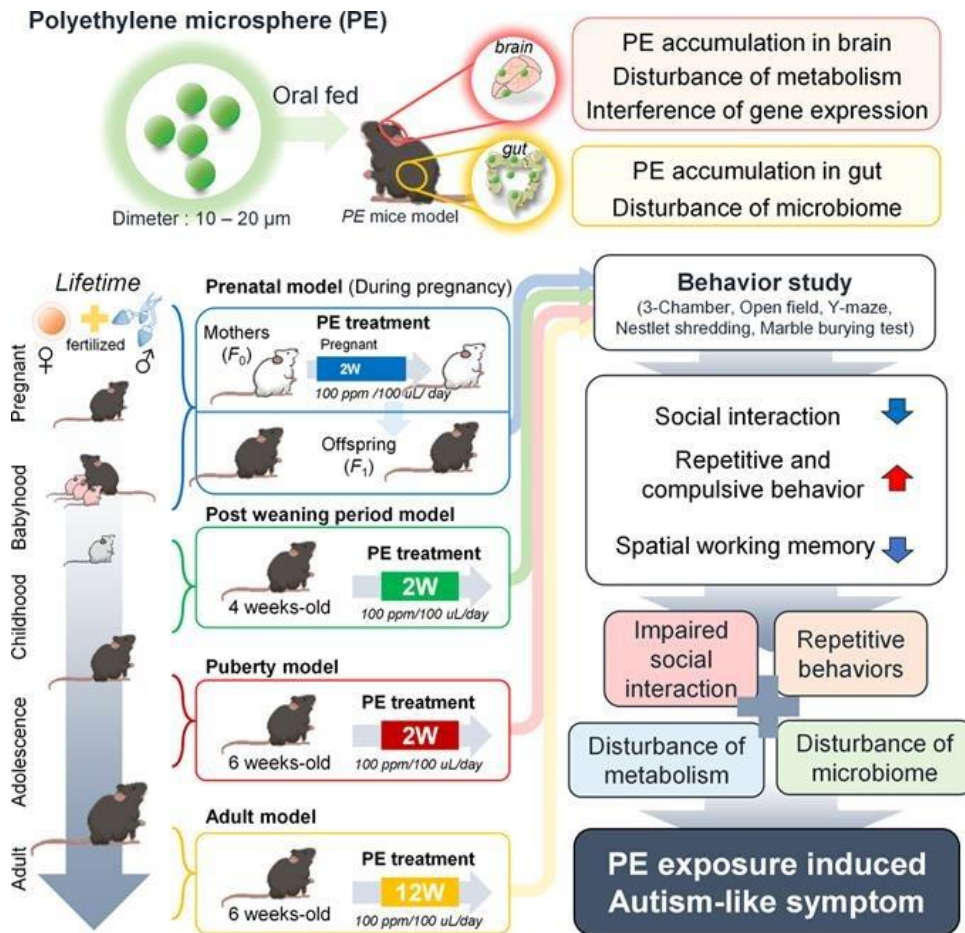


グリホサート



橋本謙二先生

自閉症と環境化学物質



「マイクロプラスチックをマウスに食べさせると、親も仔もASD様症状を示す」

Zaheer et al, Environ Int. 2022

自閉症の環境因子研究の限界

1. 動物実験の再現性

2. 動物研究と臨床研究の溝

3. 臨床研究では対照を設定しにくいケースが多い

(とくに環境化学物質の場合)

自閉症と酸化ストレス



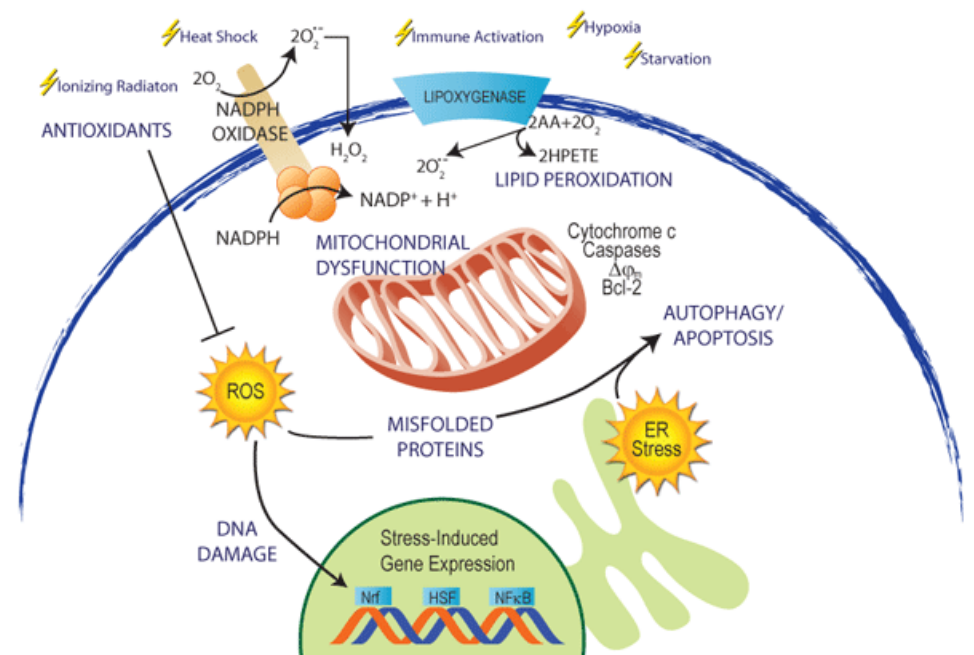
Dr. Hertz-Picciotto, UC DAVIS

「農薬などの環境化学物質に発達期の胎児・小児が曝露すると、脳神経系に興奮性/抑制性のかく乱作用をおこして神経回路形成が正常に行われないだけでなく、ミトコンドリア機能障害、酸化ストレス産生、免疫毒性、甲状腺ホルモン低下を介してASDをおこすリスクがある」

Hertz-Picciotto et al.: Environ Health Perspect. 114(7):1119-25(2006).

酸化ストレスとは「酸化反応により引き起こされる生体にとって有害な作用」のことで、活性酸素種(ROS)と抗酸化物質のバランスとして定義される。

自閉症でも酸化ストレスに着目した研究は多いが、ROSの動態は長く不明だった。



自閉症と酸化ストレス

MULTIS (Multiple Radical Scavenging Assay) 法

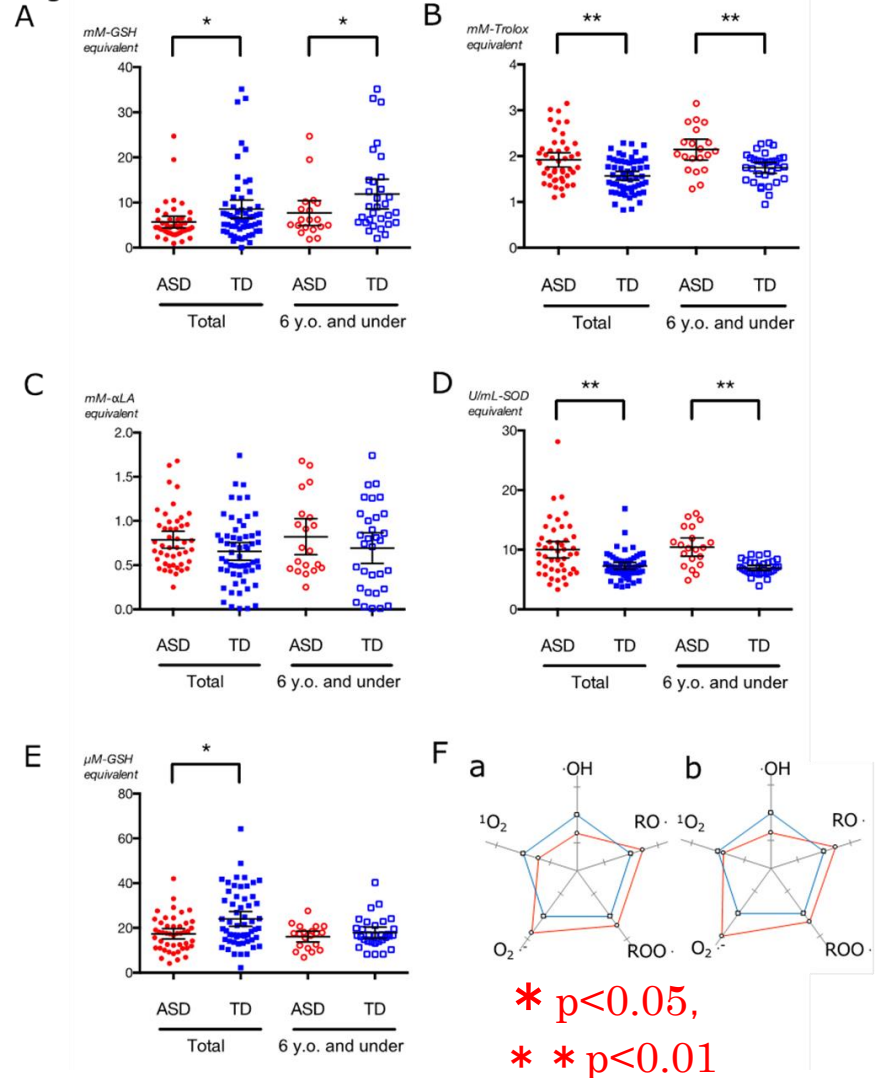


Electron Spin Resonance (ESR):

測定しようとする物質中の不対電子の動作を静磁場やマイクロ波を用いて観察し、その周囲物質の状態を調べる装置。

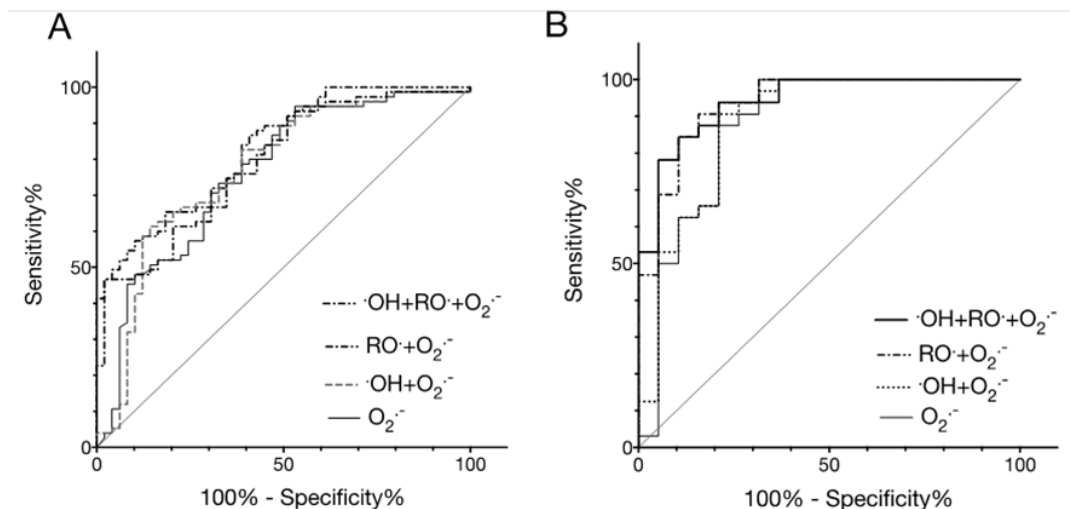
スピントラップ法: ニトロソ化合物などの溶剤とフリーラジカル($R\cdot$)を反応させ、共有結合によって安定なアミノオキシドラジカルを生じさせ、ESR分光装置で観測する方法。

Figure 1



自閉症と酸化ストレス

Figure 3



Total							
ROS activity	scavenging	OR	Sens	Spec	LR+	CC	AUC
·OH		1.85	0.74	0.40	1.22	0.53	0.61
RO·		1.90	0.53	0.63	1.42	0.59	0.65
O ₂ · ⁻		4.82	0.69	0.68	2.17	0.69	0.76
·OH+RO·		2.51	0.57	0.65	1.65	0.62	0.69
·OH+O ₂ · ⁻		4.82	0.69	0.68	2.17	0.69	0.77
RO·+O ₂ · ⁻		4.13	0.67	0.67	2.02	0.71	0.79
·OH+RO·+O ₂ · ⁻		6.92	0.67	0.78	2.97	0.73	0.83
·OH+RO·+O ₂ · ⁻ + ¹ O ₂		8.86	0.76	0.74	2.92	0.75	0.85

6 years old and younger							
ROS activity	scavenging	OR	Sens	Spec	LR+	CC	AUC
·OH		2.18	0.74	0.44	1.31	0.55	0.65
RO·		8.40	0.74	0.75	2.95	0.75	0.77
O ₂ · ⁻		27.10	0.74	0.91	7.86	0.84	0.87
·OH+RO·		6.64	0.72	0.72	2.57	0.72	0.79
·OH+O ₂ · ⁻		35.00	0.78	0.91	8.56	0.84	0.88
RO·+O ₂ · ⁻		32.50	0.68	0.94	10.90	0.84	0.94
·OH+RO·+O ₂ · ⁻		50.40	0.77	0.94	12.60	0.87	0.94
·OH+RO·+O ₂ · ⁻ + ¹ O ₂		31.40	0.68	0.94	10.60	0.84	0.95

自閉症と酸化ストレス

弘前の5歳児検診、浜松医科大学の臍帯血出生コホートと連携して、自閉症の血中・酸化ストレス所見の妥当性の大規模検証を進めます。

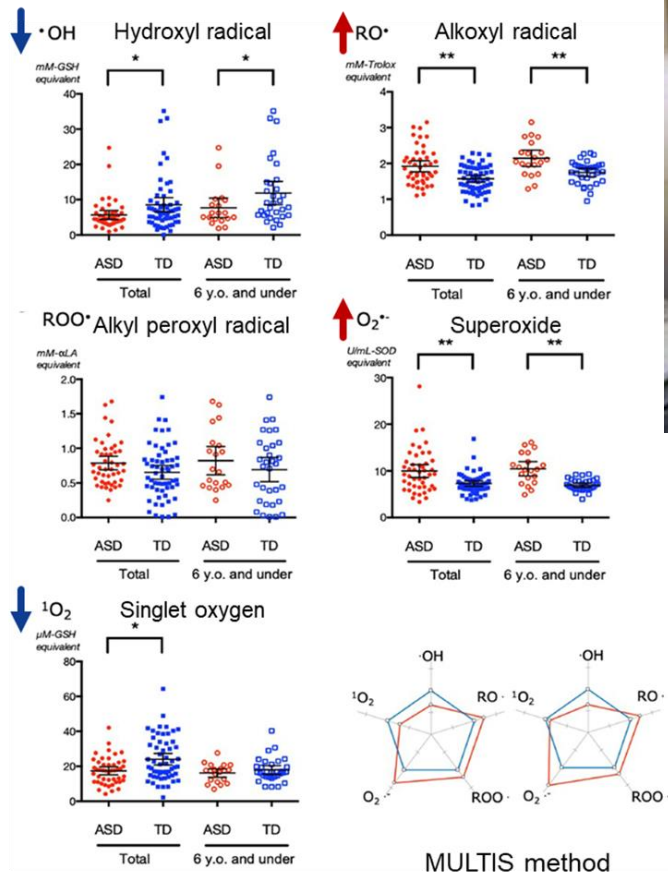


図1 ASD児童の血中フリーラジカル消去活性



図2 電子スピン共鳴装置(日本電子)と弘前市の5歳児健診

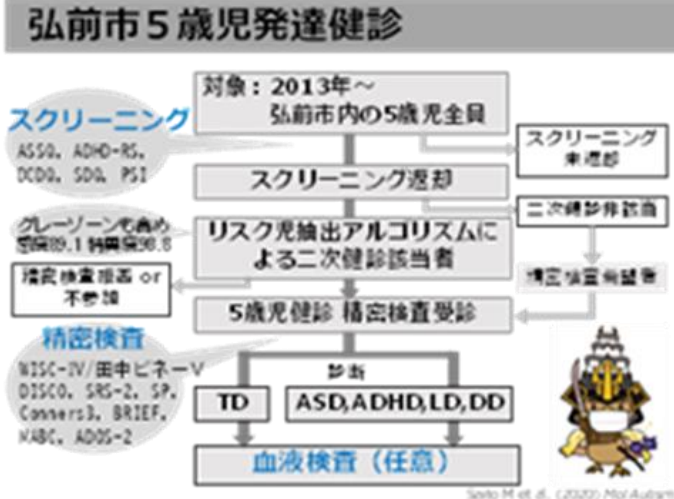


図3 ESR拠点:若狭湾エネルギー研究センターと筑波技術大学

本日のまとめ

- 自閉症は、遺伝要因と環境要因の複合によって発症が考えられる。
- 最も多く検証されている自閉症の環境要因は、妊娠初期の「薬物」と「ウイルス感染」である。その再現モデルが動物実験でよく用いられている。
- 自閉症とワクチン・チメロサールの関連は、完全に否定されている。
- 自閉症と環境化学物質の関連を示唆する報告は多いが、直接の関連を証明した報告はない。対照設定が困難なために、ヒトでの実証は難しい。
- 当研究室では、酸化ストレスの影響に着目した自閉症研究を進めている。