



環境ホルモンは未来を奪ったか？
～環境中の化学物質が生物に及ぼす影響～

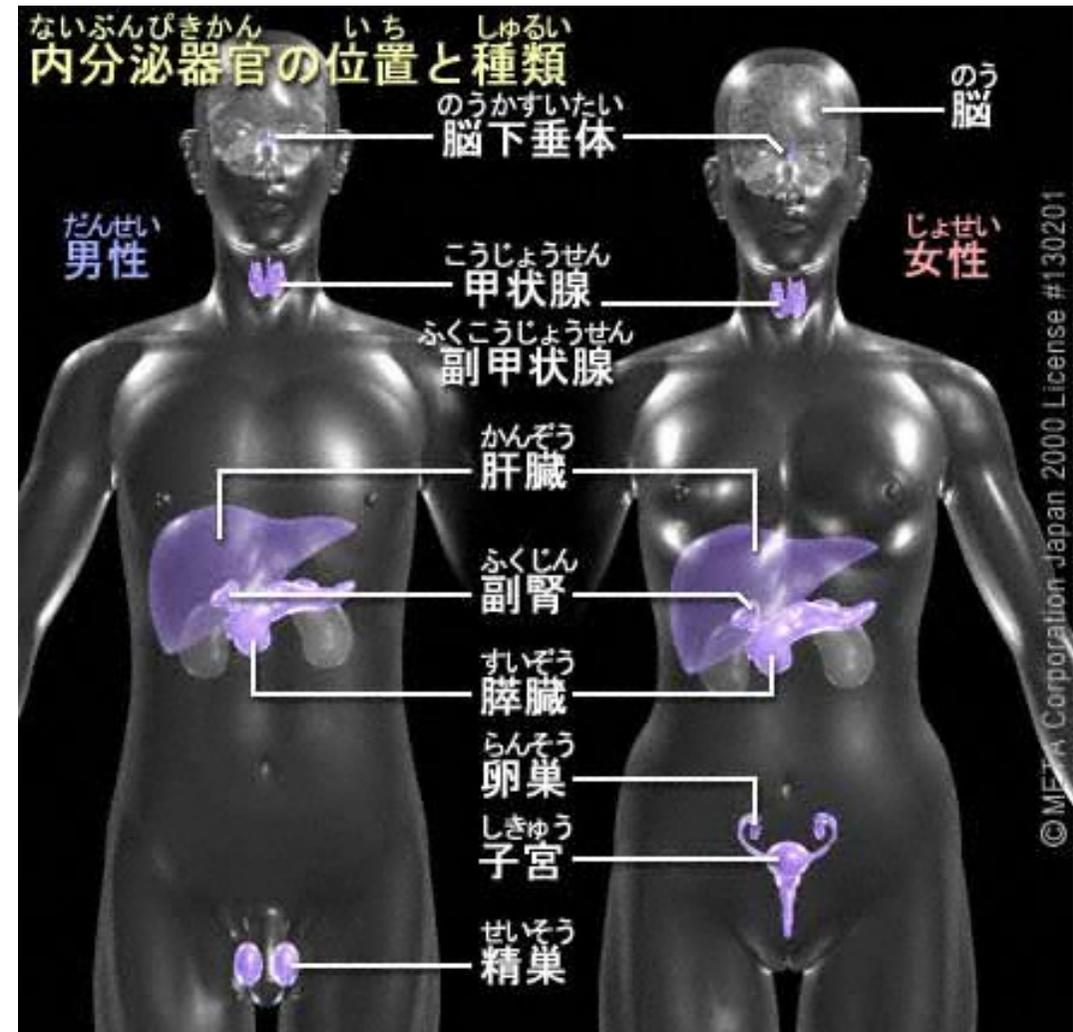
静岡大学理学部生物科学科
石原顕紀

環境ホルモンとは何か？

- 外因性内分泌攪乱化学物質の通称である。
- 「ホルモンと類似の」、あるいは「ホルモンの働きを阻害する」作用を有する。
- 内分泌腺（分泌細胞）から血液中などに放出される物質のことをホルモンとよぶ。
- ホルモンは生物の体内環境を維持する働きを持つ（ホメオスタシス：恒常性）。

ヒトの内分泌腺

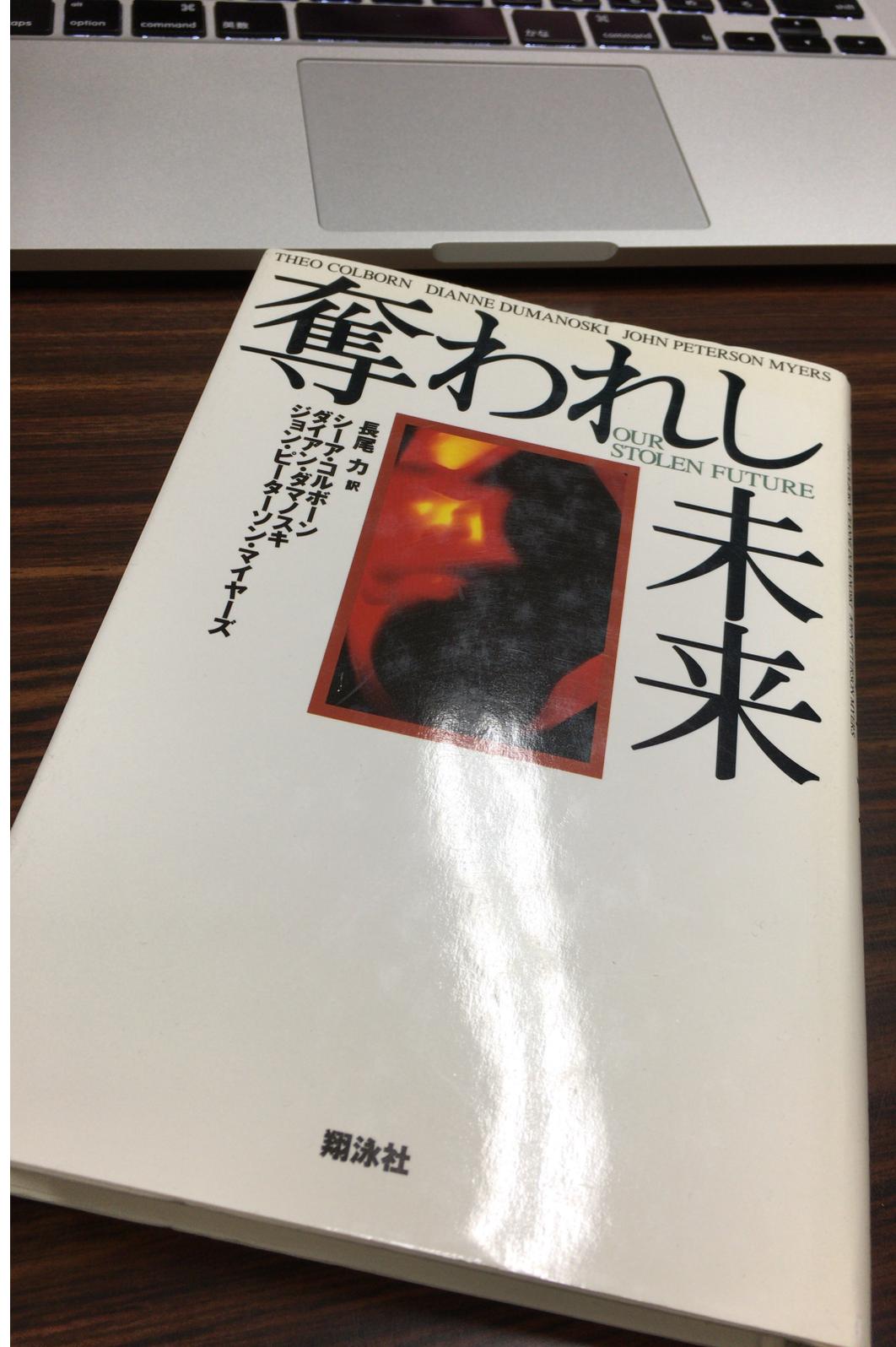
- ・ 視床下部：副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンなど
- ・ 脳下垂体前葉：副腎皮質刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、性腺刺激ホルモン、成長ホルモンなど
- ・ 脳下垂体中葉：メラニン細胞刺激ホルモン
- ・ 脳下垂体後葉：バソプレッシン、オキシトシン
- ・ 甲状腺：甲状腺ホルモン、カルシトニン
- ・ 副甲状腺：パラトルモン
- ・ 副腎：コルチコステロン、アルドステロン、アンドロゲン（副腎皮質）；アドレナリン、ノルアドレナリン（副腎髄質）
- ・ 膵臓：インスリン、グルカゴンなど
- ・ 卵巣：エストロゲン、プロゲステロン
- ・ 子宮：ゴナドトロピン
- ・ 精巣：アンドロゲン、テストステロン



IPA「教育用画像素材集サイト」 <https://www2.edu.ipa.go.jp/>

奪われし未来

- ・ シーア・コルボーン、ジョン・ピーターソン・マイヤーズ、ダイアン・ダマノスキによる著書である。
- ・ 環境の中にある化学物質、いわゆる環境ホルモンが内分泌を攪乱し生殖や成長に異常をもたらすと警鐘を鳴らした。
- ・ コルボーン博士は、環境ホルモンが人類や生物に及ぼす脅威を系統的な調査により明らかにし、その危険性を警告した業績を評価され、2000年にブループラネット賞を受賞した。



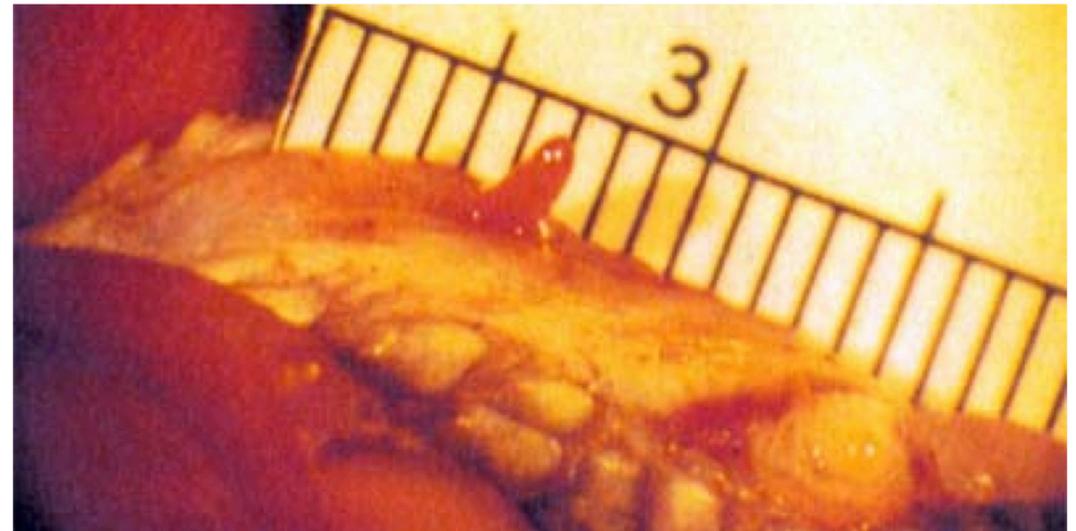
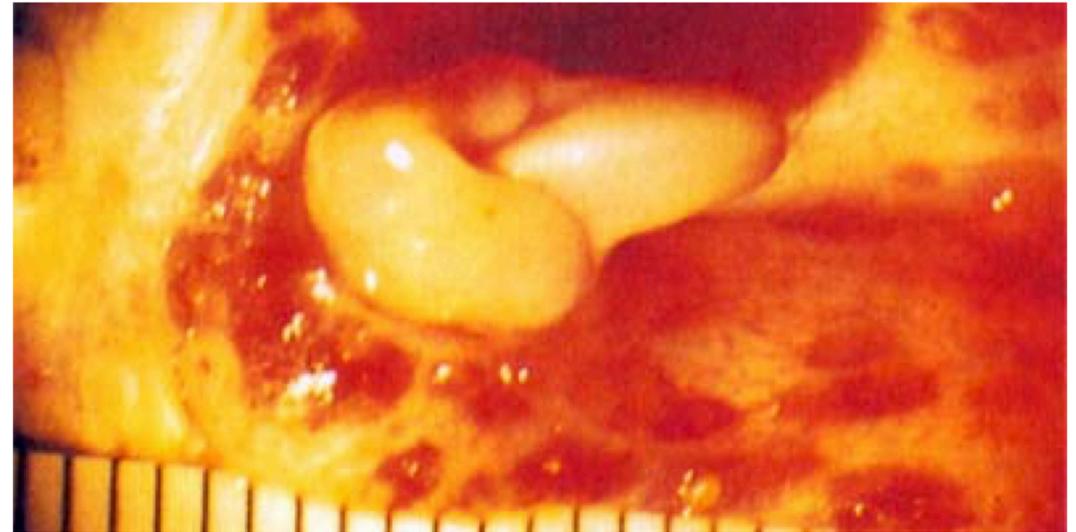
奪われし未来

- ・ フロリダのハクトウワシの生殖能力の欠如
- ・ フロリダのアポプカ湖におけるアリゲーターの生殖器の萎縮とアカミミガメの間性（オスでもなくメスでもない）
- ・ フロリダヒヨウの絶滅に近い激減とオスのメス化
- ・ ミシガン湖におけるミンクの減少と生殖異常
- ・ ミシガン湖やオンタリオ湖におけるセグロカモメの巣に異常に多い卵の数
- ・ ヨーロッパと英国におけるカワウソの激減
- ・ 北ヨーロッパにおけるアザラシの大量死
- ・ 地中海におけるイルカの大量死
- ・ 北極圏に生息するホッキョクグマと南極大陸に住むペンギンの体内からのPCBの検出
- ・ 世界各地におけるカエルの減少

フロリダのアポプカ湖 におけるアリゲーター の生殖器の萎縮

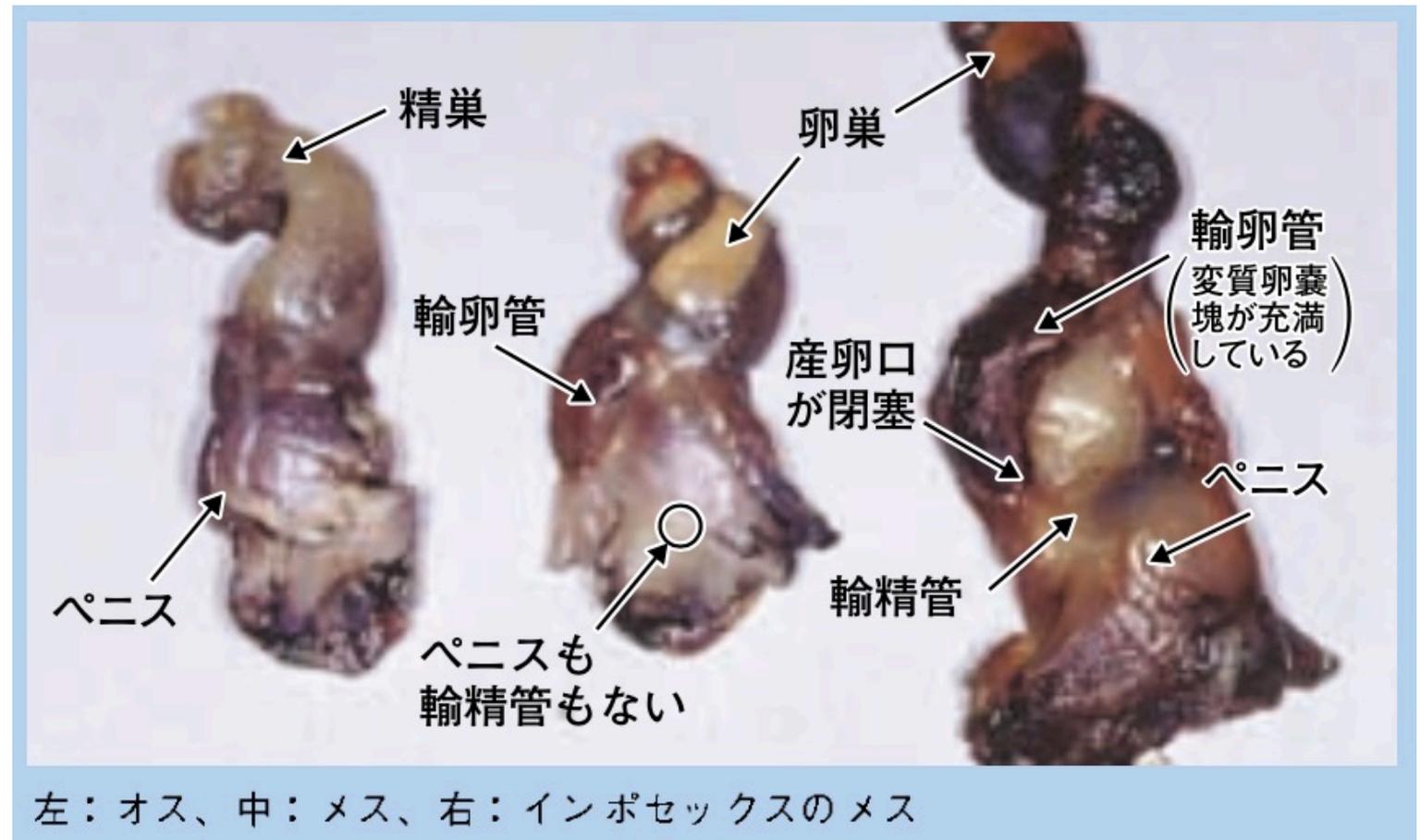
上図：正常なワニのペニス

下図：萎縮したワニのペニス



日本における内分泌攪乱物質の報告

- 有機スズ化合物によるイボニシ（巻貝）におけるインポセックス（Imposed sexual organ; 輸卵管を持っているにも関わらず、ペニスか輸精管の少なくとも一つをもっているもの）



出典：環境儀17号 2005年

日本における内分泌攪乱物質の報告

- カネミ油症事件（カネミゆしょうじけん）とは、1968年に、ポリ塩化ビフェニル（PCB）などが混入した食用油を摂取した人々に障害等が発生した、主として福岡県、長崎県を中心とした西日本一帯の食中毒事件である。
- 油を摂取した患者からは、皮膚に色素が沈着した状態の赤ちゃん（いわゆる「黒い赤ちゃん」）が生まれた。
- 胎盤を通してだけでなく、母乳を通じて新生児の皮膚が黒くなったケースもあった。



カネミ油症

ホルモンの作用機構（予備知識）

- ヒトの細胞の大きさは数十マイクロメートルである。
- 仮に50マイクロメートルの立方体だとすると、体積は $(50 \times 10^{-6})^3 = 1.25 \times 10^{-13}$ 立方メートル。ここにDNAが約2m収納されていると言われている。
- 細胞が500mlのペットボトルだとすると、この中に細い糸状のDNAが800万km分収納されている計算となる。これは地球200周分の長さである。
- では、どのように収納されているか？

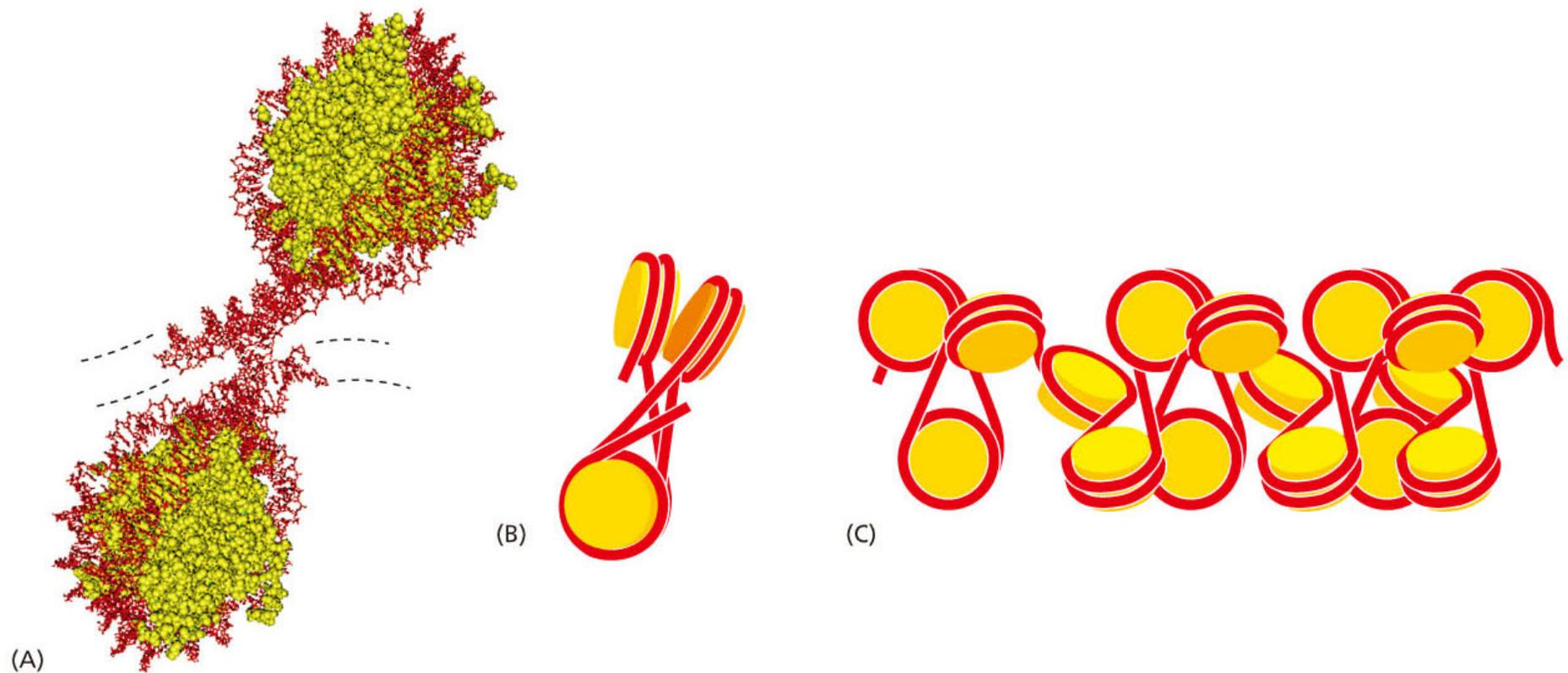
ホルモンの作用機構（予備知識）



ホルモンの作用機構 (予備知識)

- ・ クロマチン構造とは？

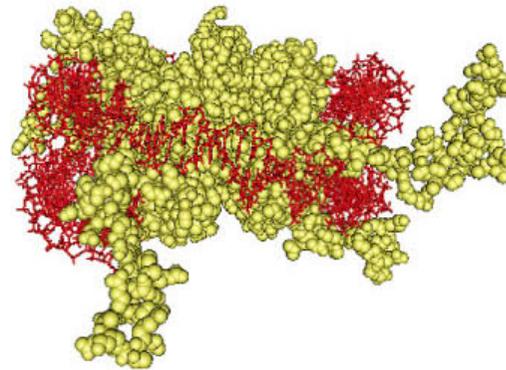
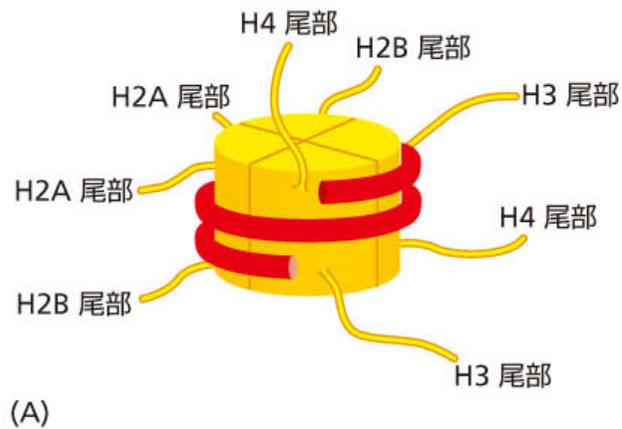
Molecular Biology of THE CELL 5th Edition
©2010 Newton Press / ©2008 Garland Science



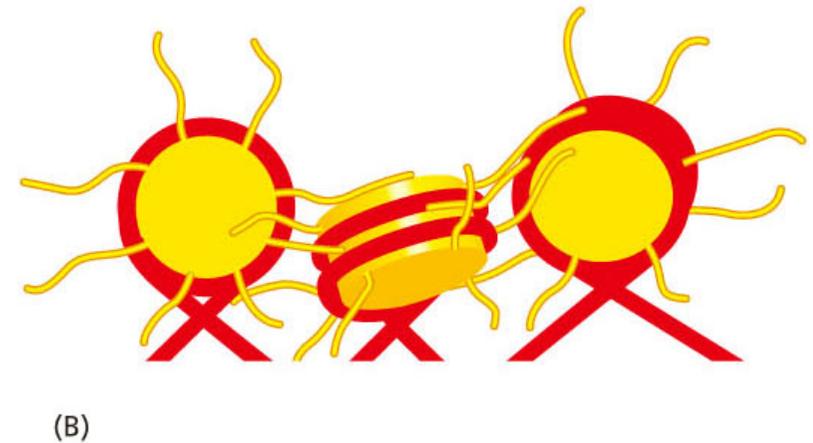
ホルモンの作用機構 (予備知識)

- ・ クロマチン構造とは？

Molecular Biology of THE CELL 5th Edition
©2010 Newton Press / ©2008 Garland Science



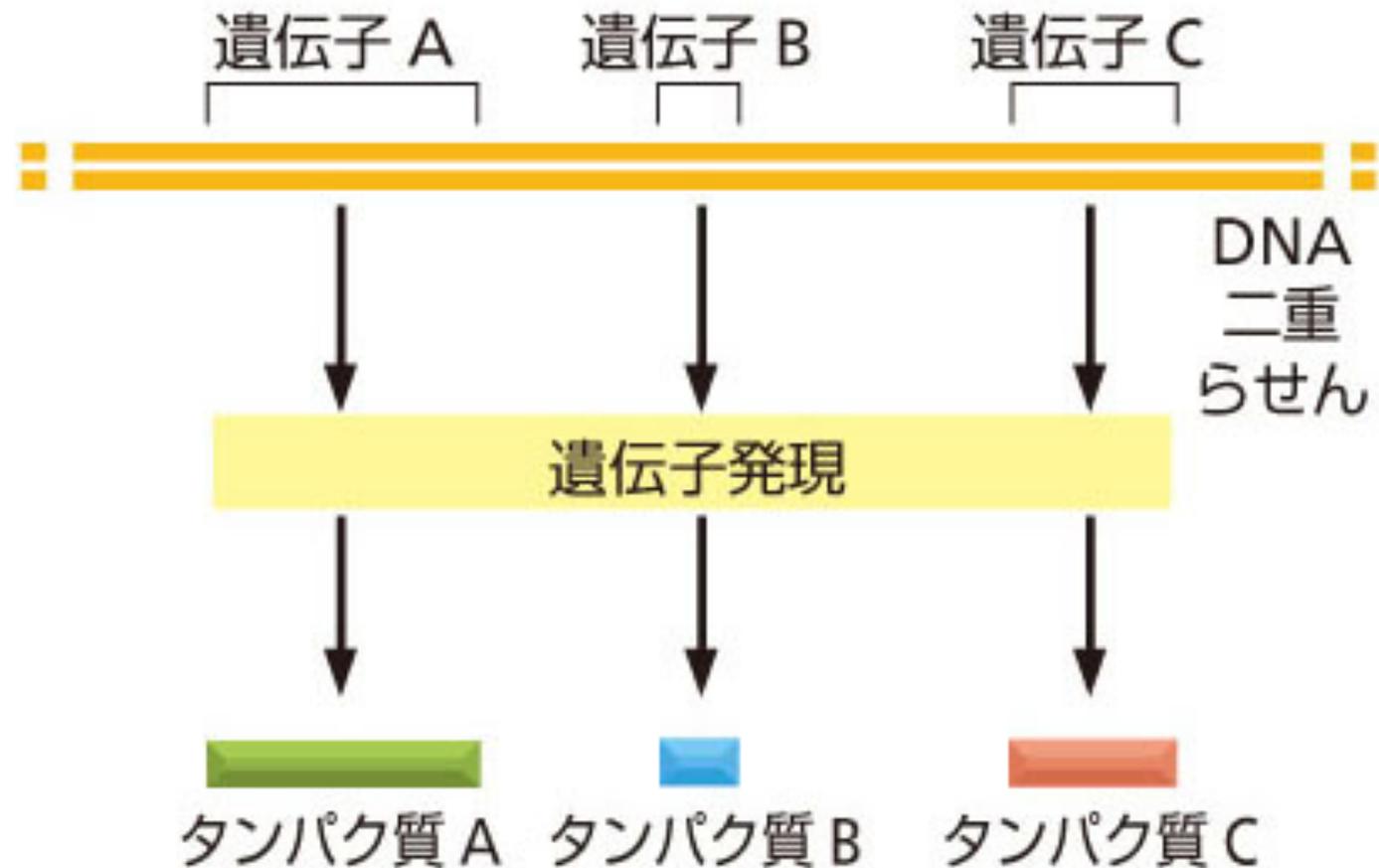
尻尾が出ているような構造になっている



ホルモンの作用機構 (予備知識)

- 遺伝子とは？

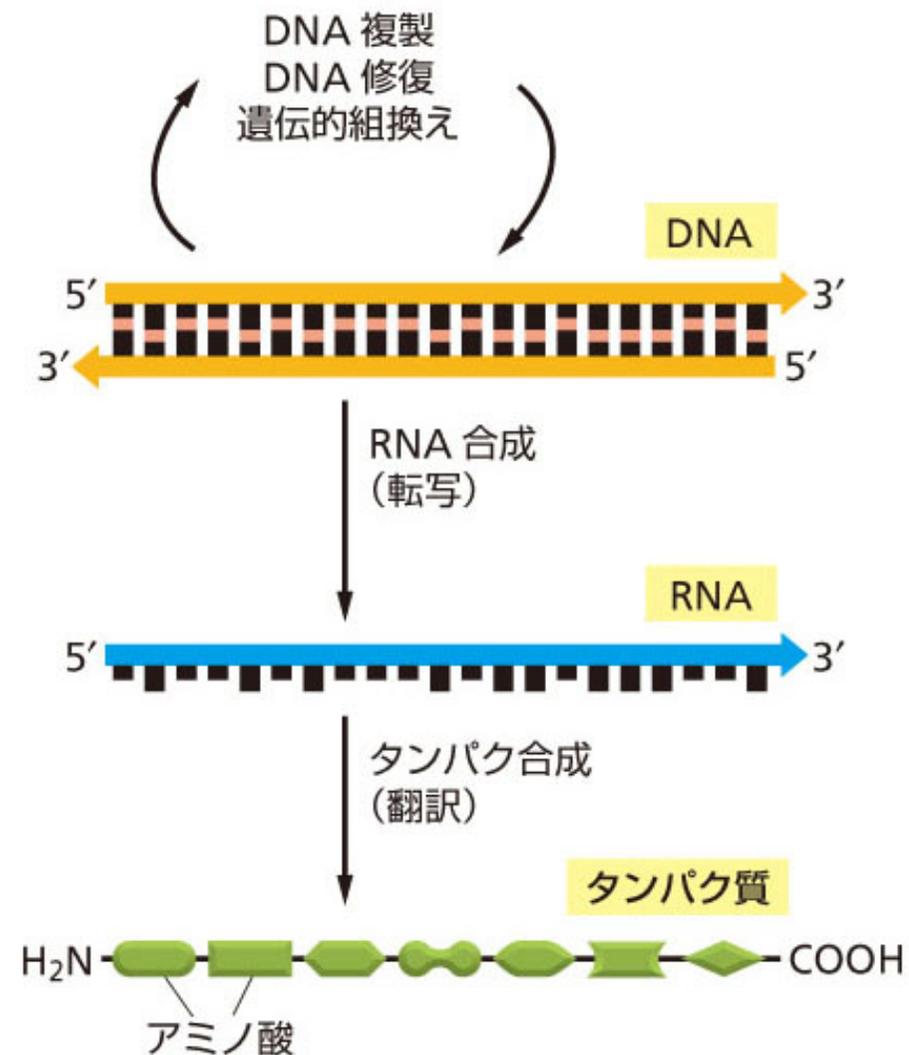
Molecular Biology of THE CELL 5th Edition
©2010 Newton Press / ©2008 Garland Science



ホルモンの作用機構 (予備知識)

- セントラルドグマとは？

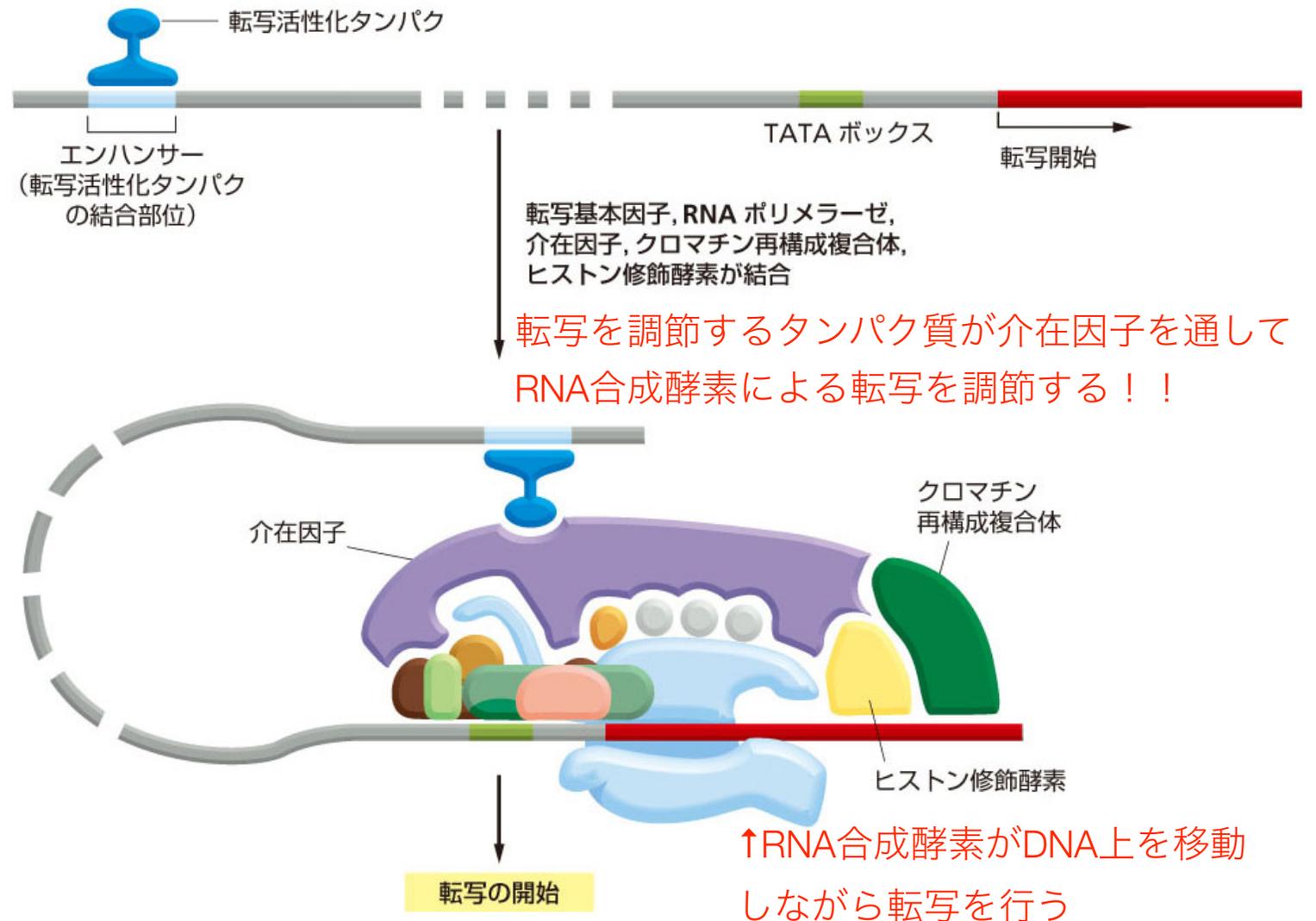
Molecular Biology of THE CELL 5th Edition
©2010 Newton Press / ©2008 Garland Science



ホルモンの作用機構 (予備知識)

- 転写の機構は？

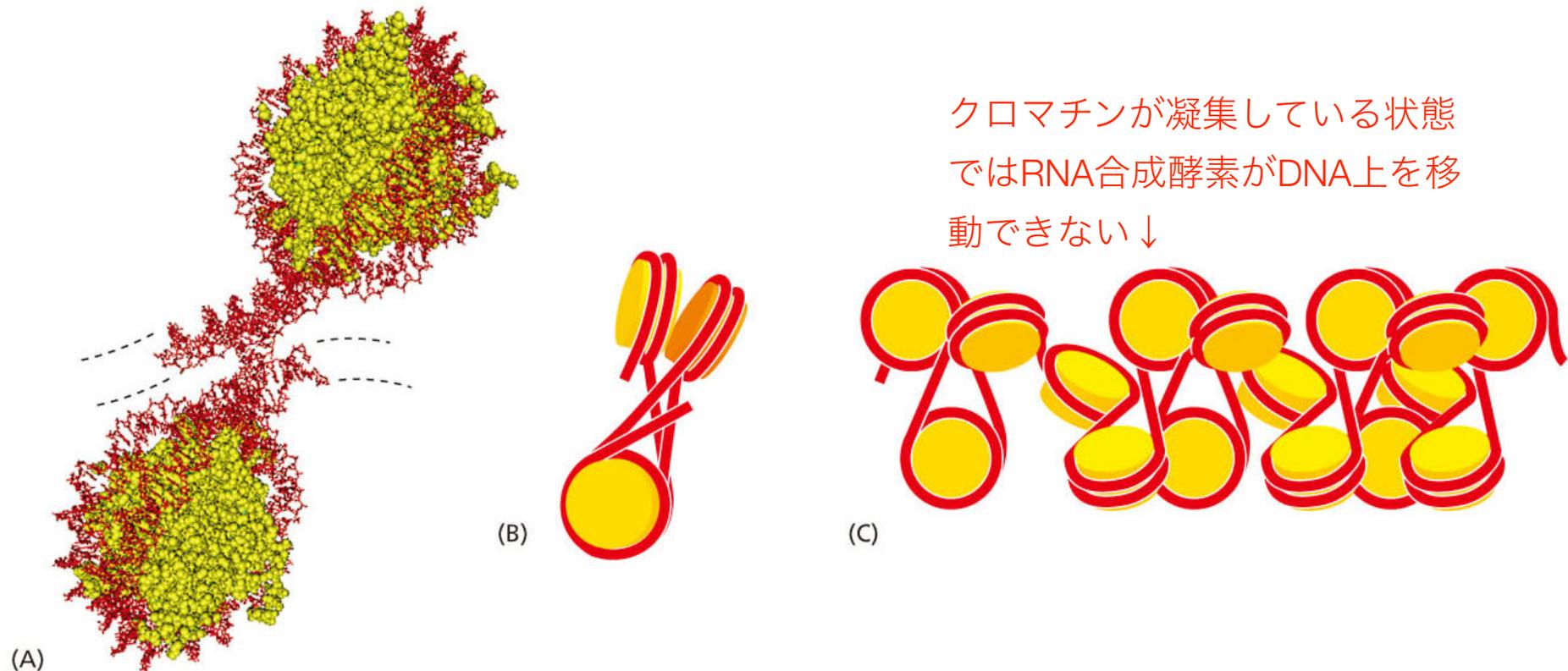
Molecular Biology of THE CELL 5th Edition
©2010 Newton Press / ©2008 Garland Science



ホルモンの作用機構 (予備知識)

- クロマチン構造とは？

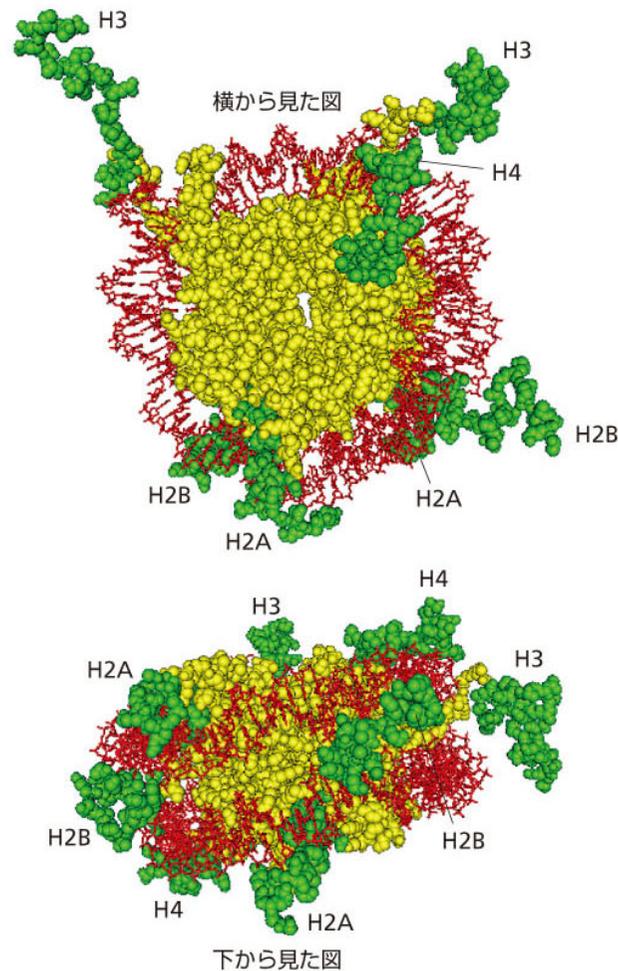
Molecular Biology of THE CELL 5th Edition
©2010 Newton Press / ©2008 Garland Science



ホルモンの作用機構 (予備知識)

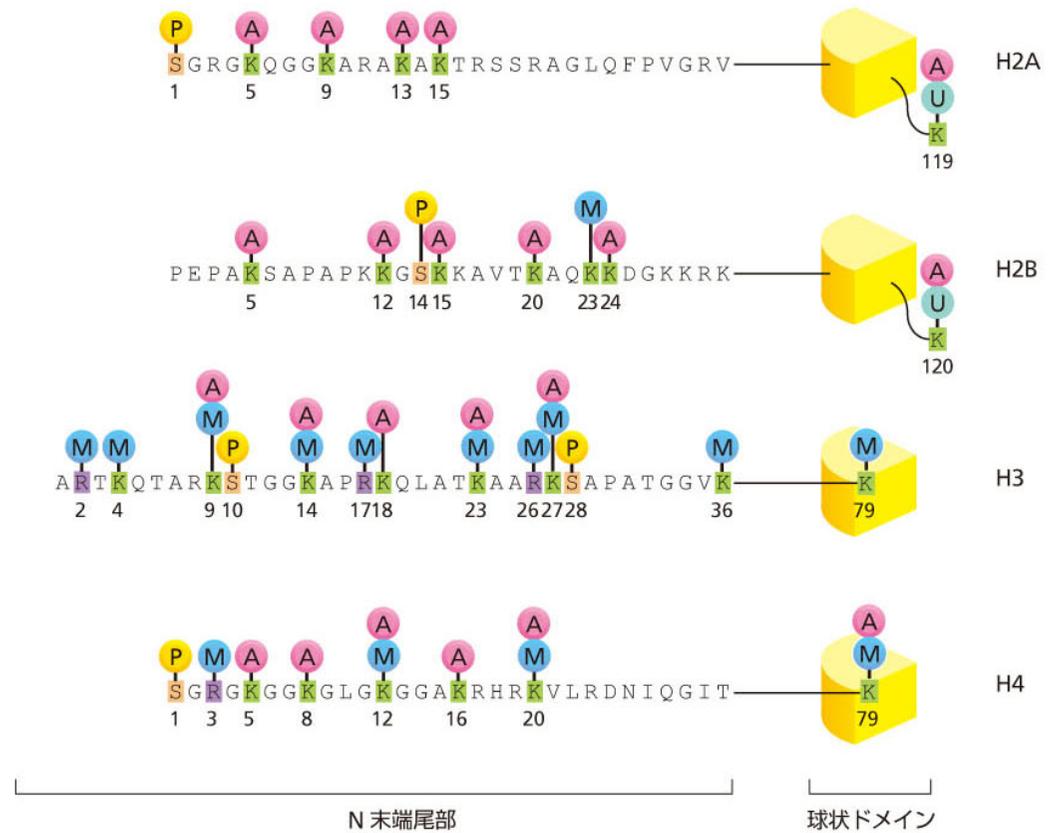
- クロマチン構造とは？

©2010 Newton Press / ©2008 Garland Science



(A)

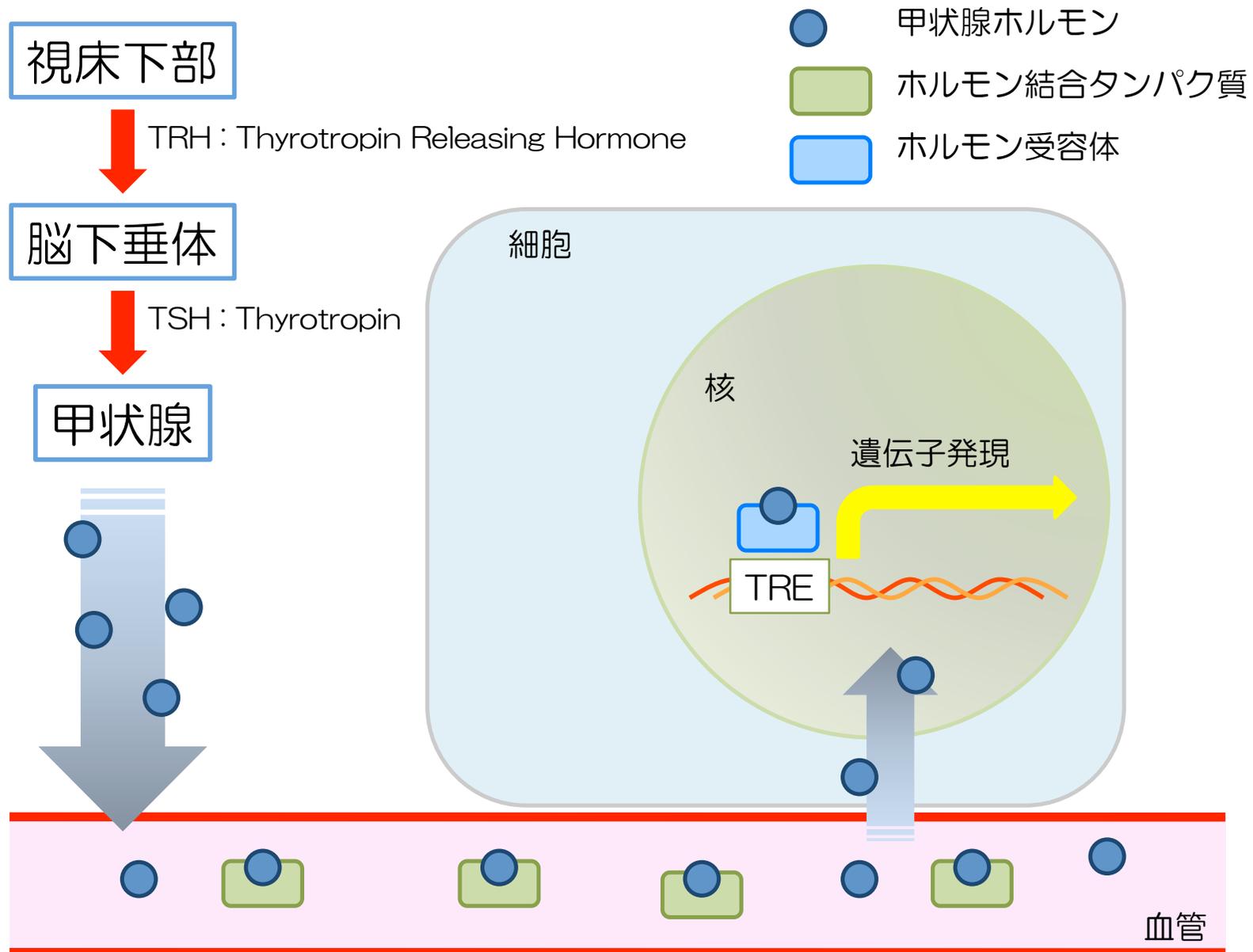
転写を調節するための目印 (尻尾の部分)



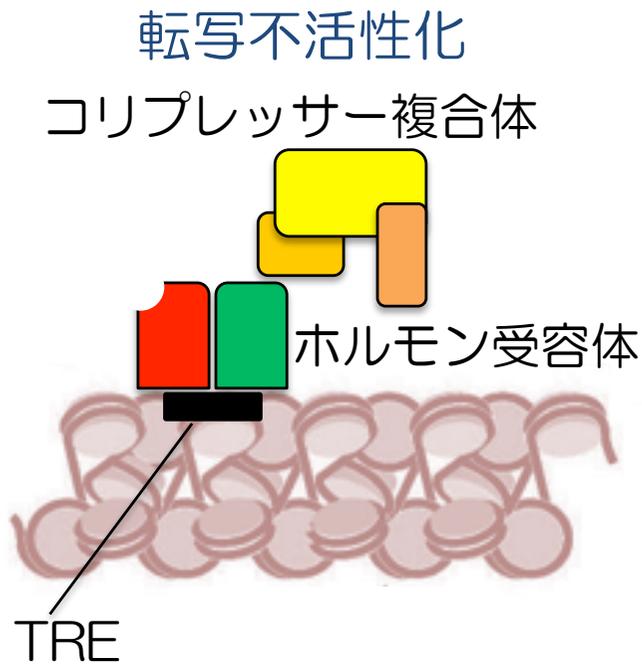
M メチル化
 P リン酸化
 A アセチル化
 U ユビキチン化

(B)

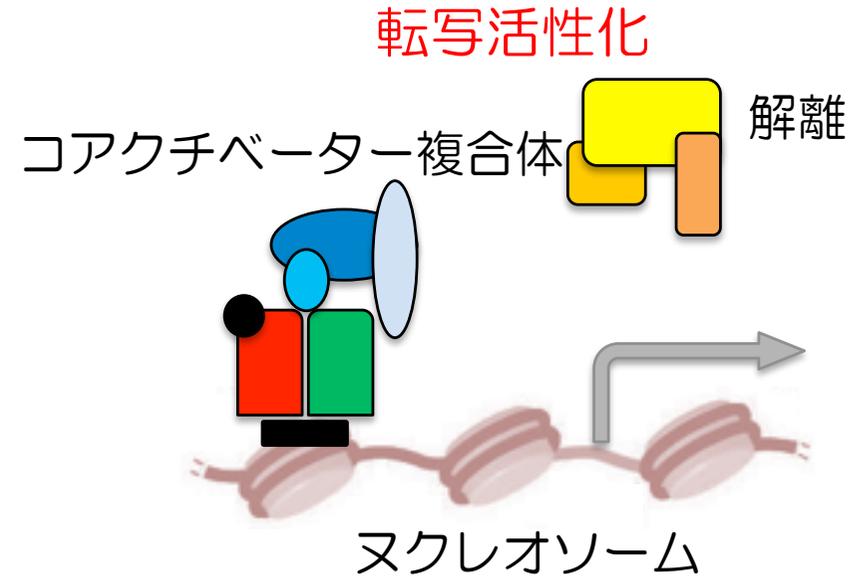
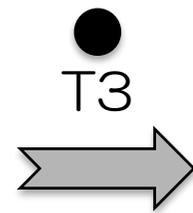
ホルモンの作用機構 (甲状腺系)



ホルモンの作用機構 (甲状腺系)

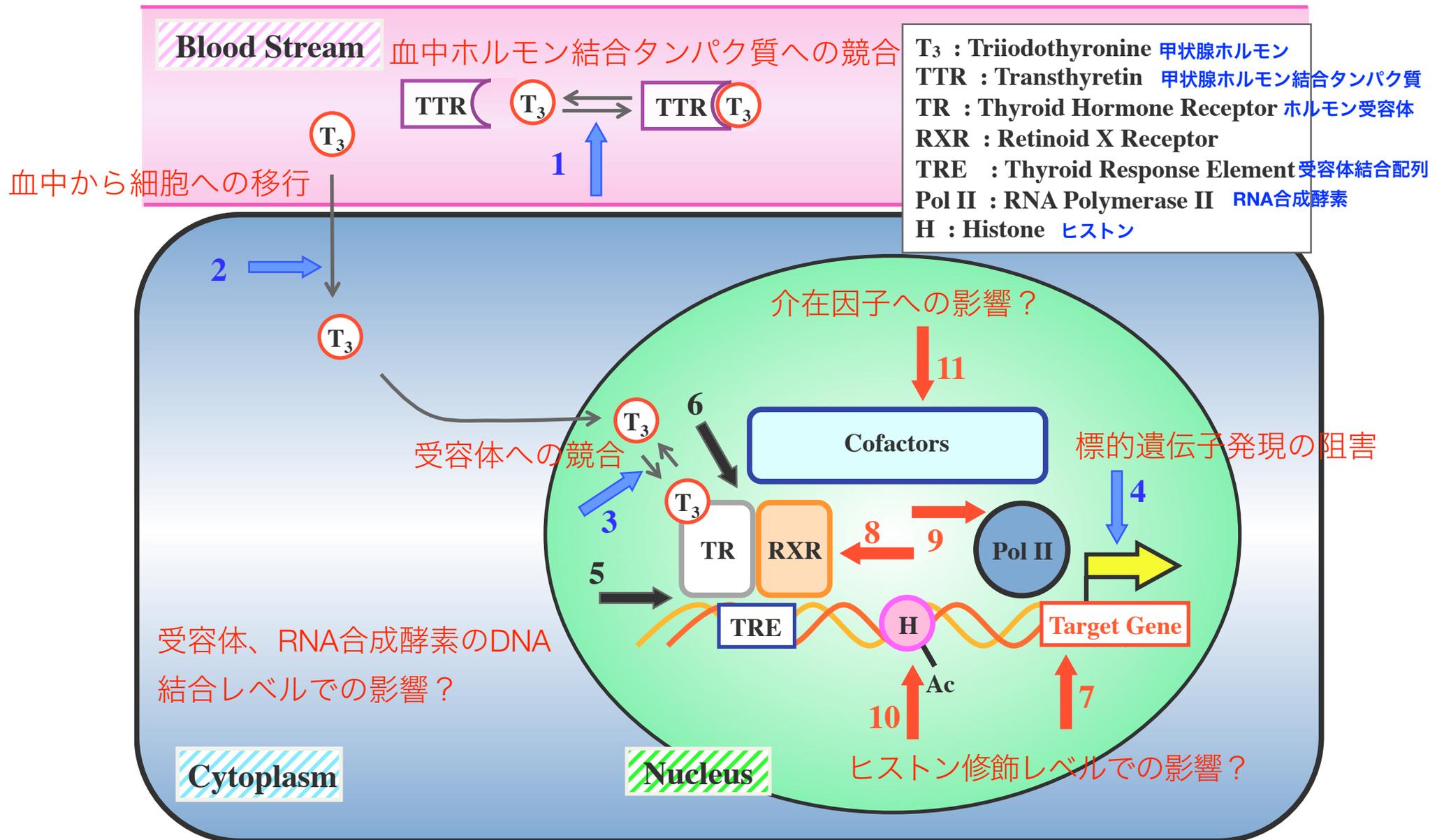


転写を抑制するための目印
(クロマチン凝集)



転写を活性化するための目印
(クロマチン弛緩)

環境化学物質が甲状腺系に及ぼす影響



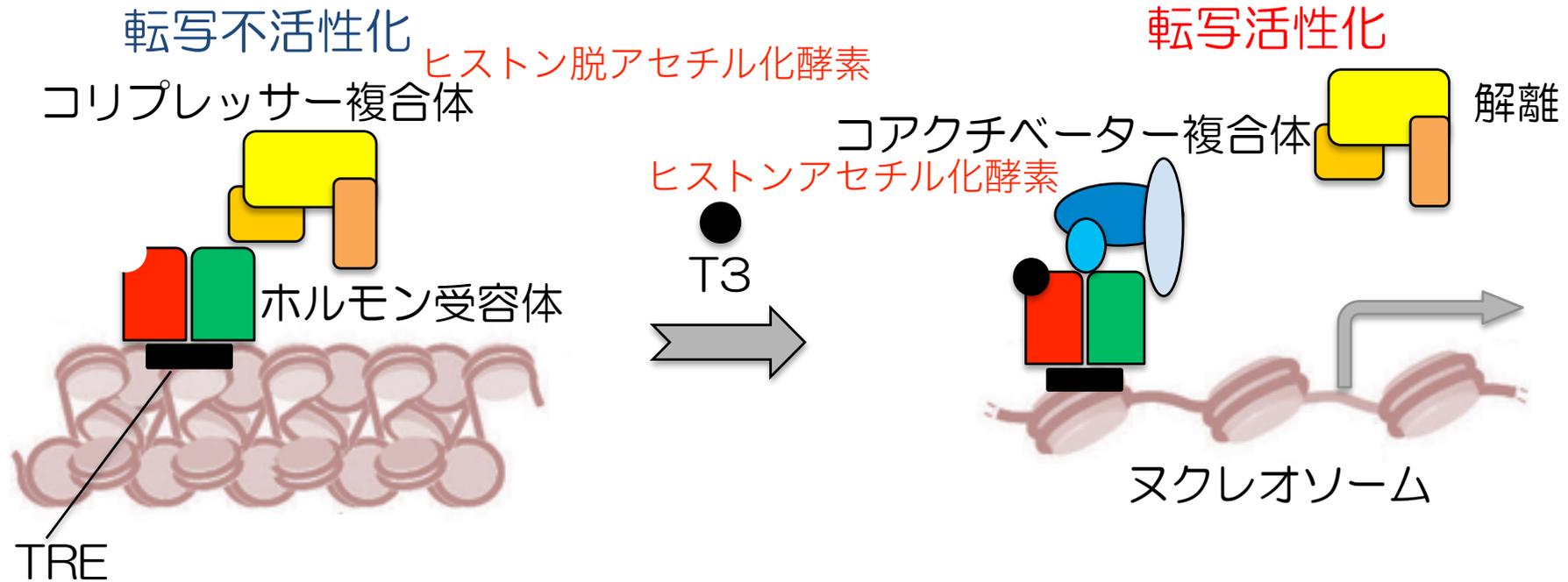
環境化学物質が生物に及ぼす影響

化学物質	性状	生物	影響	備考
TCDD	ダイオキシン	胎生期マウス肝臓	薬物代謝遺伝子領域DNAの低メチル化、およびその状態の維持	
カドミウム	重金属	ヒト	神経毒性、エピジェネティック変異原	イタイイタイ病
喫煙		ヒト 親-子	子のゲノムDNAの低メチル化	
水銀	重金属	ヒト	神経毒性、エピジェネティック変異原	水俣病
鉛	重金属	ヒト	ゲノムDNAのメチル化状態変化	
ビスフェノールA	樹脂の原料	母マウス-子マウス	神経細胞分化	
ビスフェノールA	樹脂の原料	マウス	DNAメチル化	
ビスフェノールA	樹脂の原料	マウス脳	脳内様々な領域におけるDNAメチル化状態に変化	
ヒ素	重金属	ヒト	ゲノムDNAのメチル化状態変化	
ビンクロゾリン	農薬	母ラット-子ラット	子の精子数が低下、遺伝子領域のメチル化	
有機スズ	重金属	カエル、マウス	生殖腺近傍の脂肪増加	
	有機リン系農薬	ヒト	ADHDのリスクが高まる	

エピジェネティクス

- エピジェネティクス（英語: epigenetics）とは、一般的には「DNA塩基配列の変化を伴わない細胞分裂後も継承される遺伝子発現あるいは細胞表現型の変化を研究する学問領域」である
- DNAメチル化：DNAメチル化あるいは脱メチル化により、塩基配列情報自体には変化なく遺伝子発現のオン/オフが切り替わる
- ヒストンの化学的修飾：メチル化・アセチル化・リン酸化などの修飾によってヌクレオソーム中のヒストンに物理化学的な変化がおき、遺伝子発現に直接的（シス型）あるいは間接的（トランス型）に影響する
- 非翻訳性RNAによる制御：RNA干渉 (RNAi) は、非翻訳性RNAによる転写後遺伝子サイレンシングである

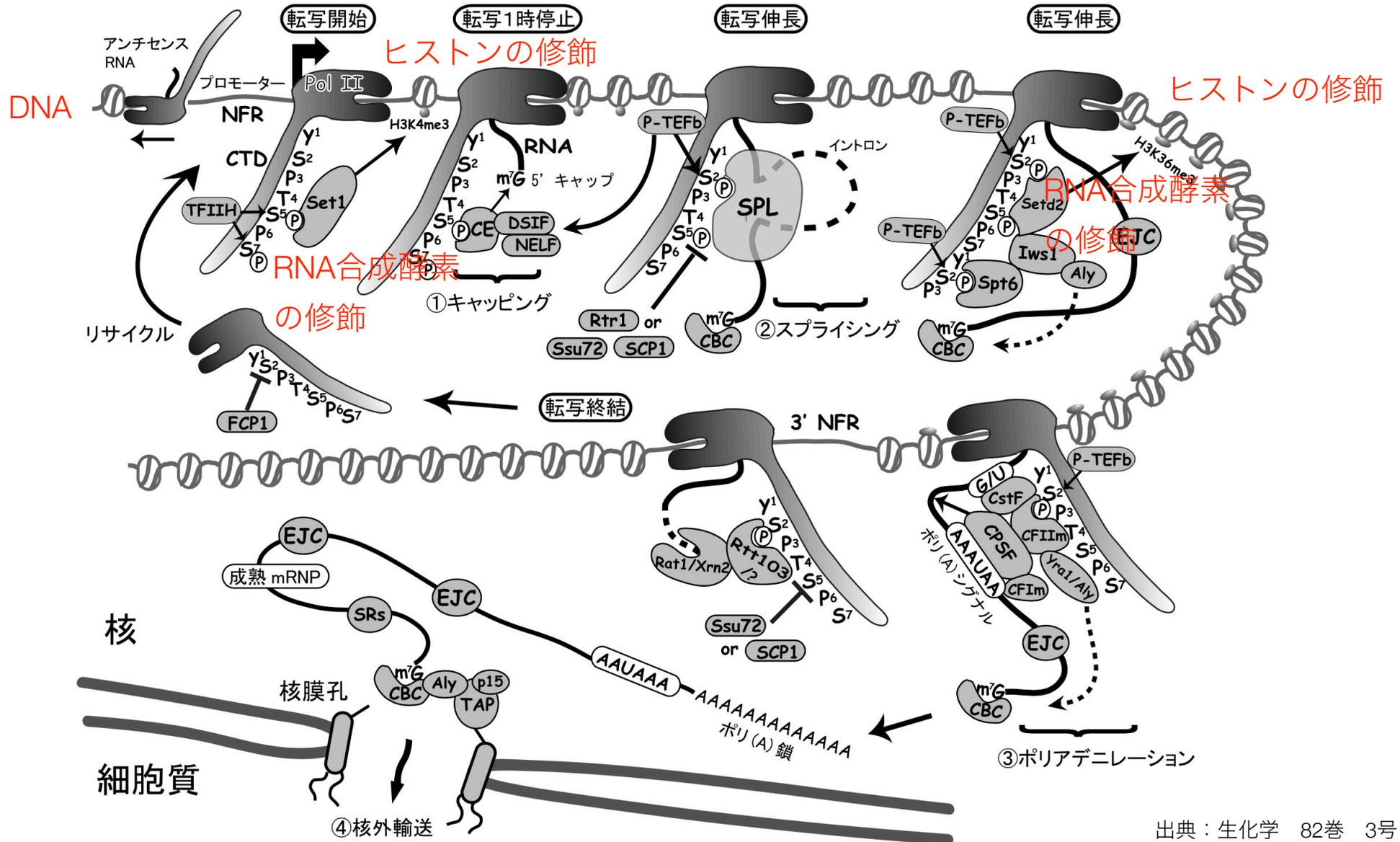
エピジェネティクス ～転写開始とヒストン修飾～



転写を抑制するための目印
(クロマチン凝集)

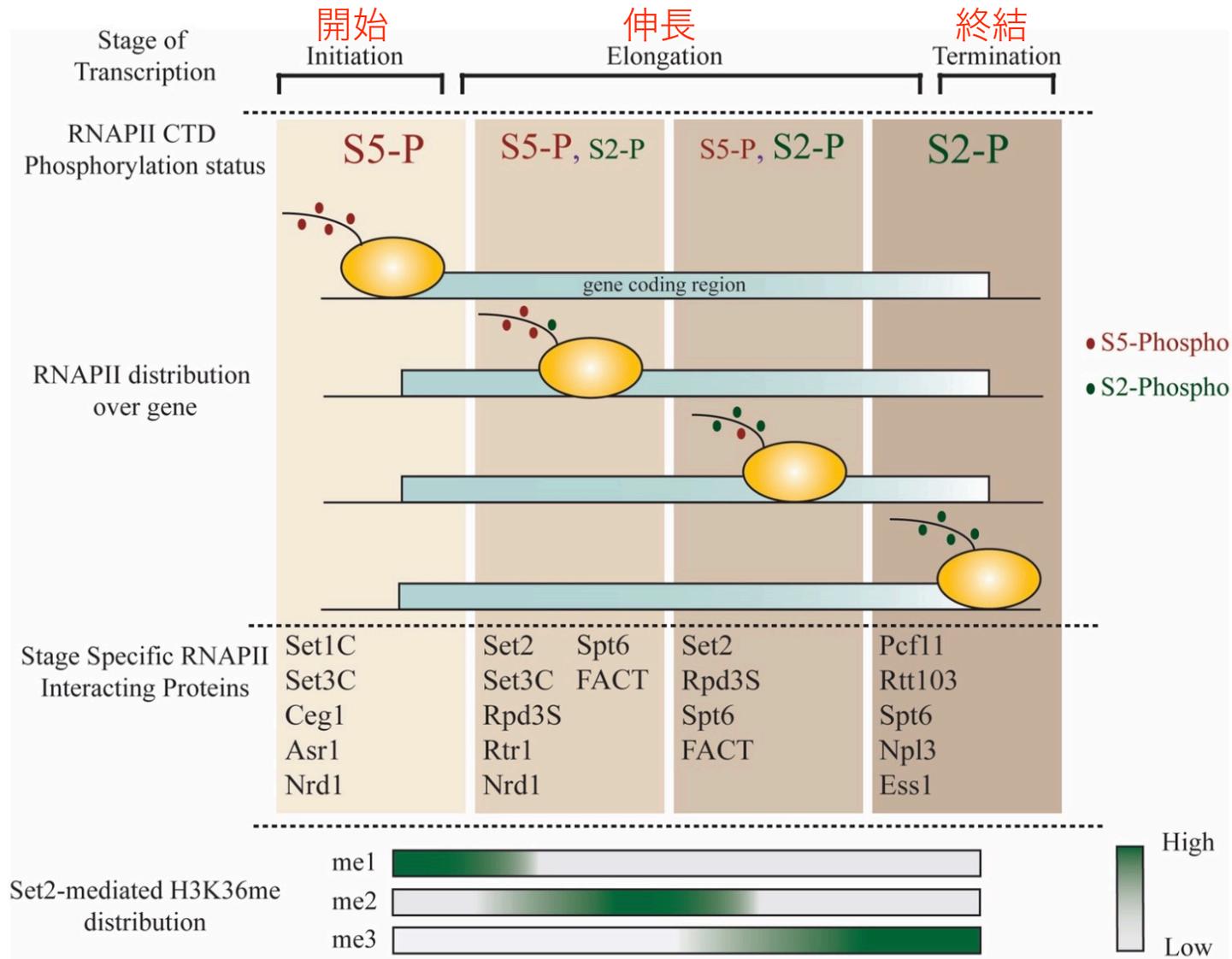
転写を活性化するための目印
(クロマチン弛緩)

エピジェネティクス ～転写伸長とヒストン修飾～



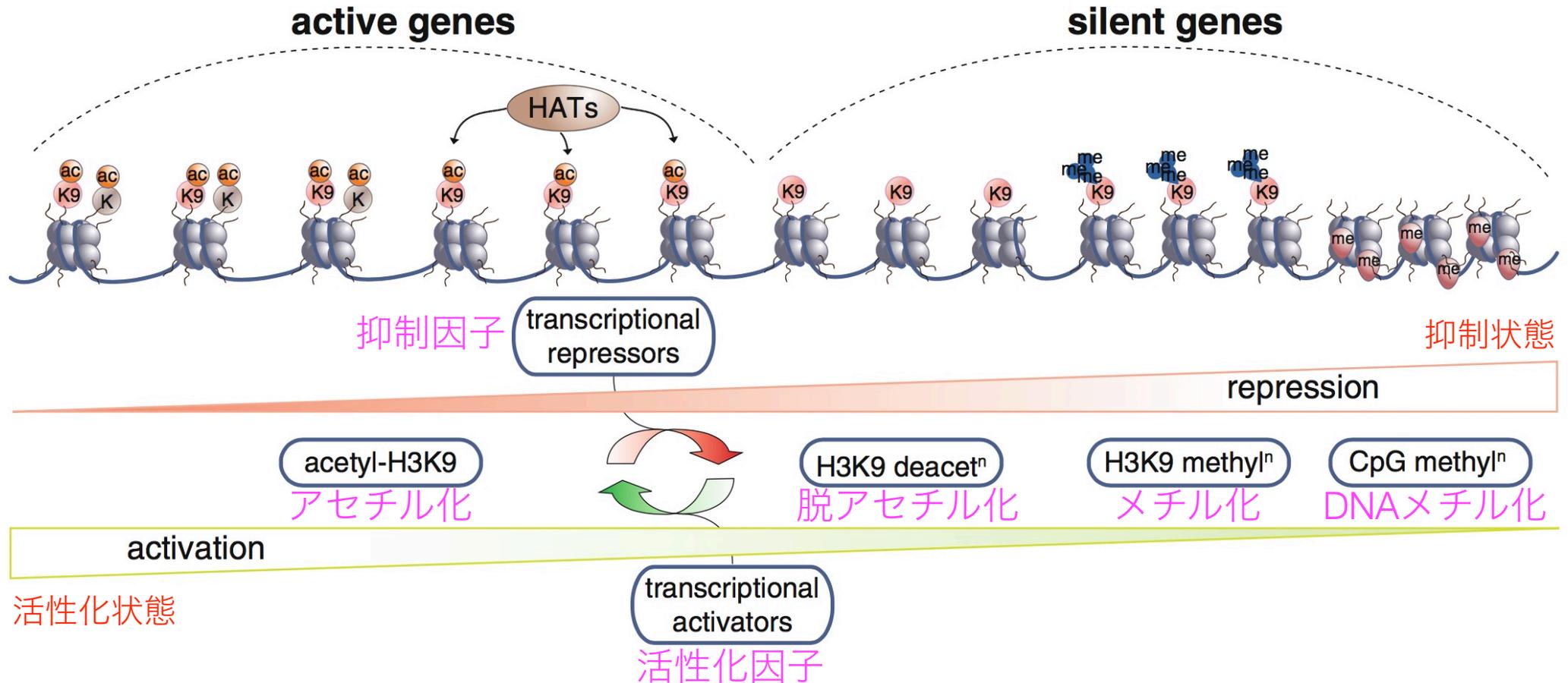
エピジェネティクス

～転写伸長とヒストン修飾～

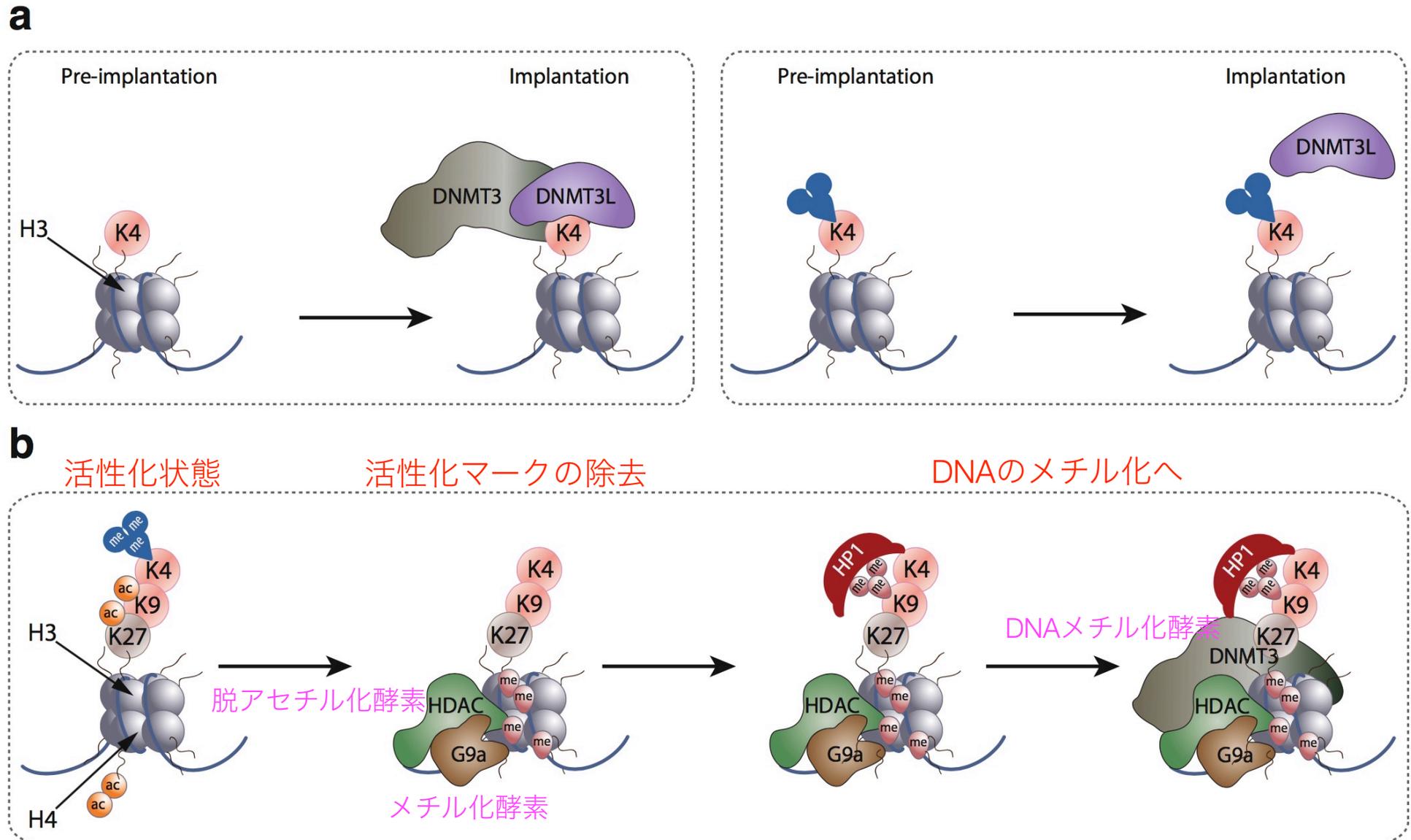


ヒストン修飾
の変化

エピジェネティクス ～活性化と抑制化～

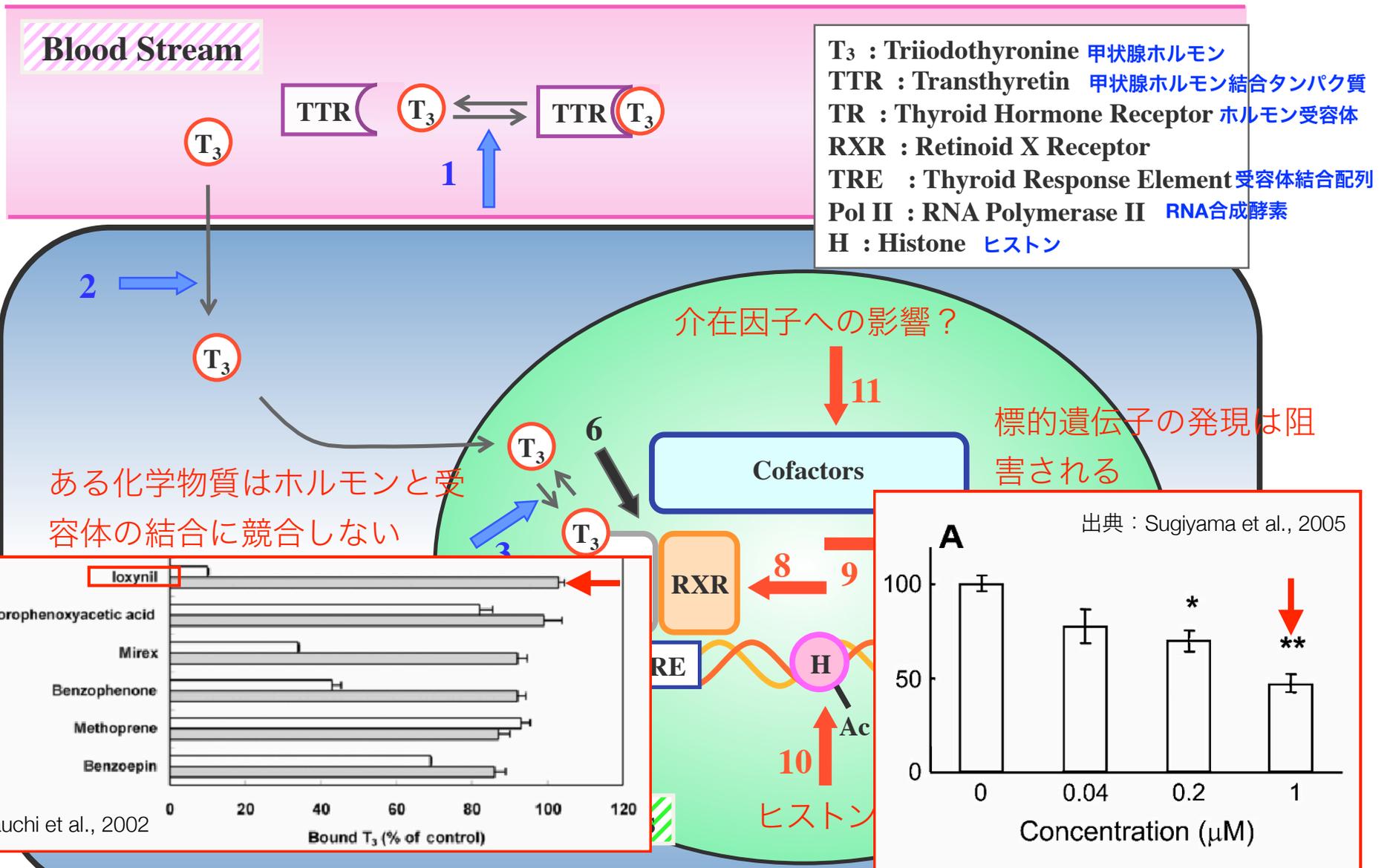


エピジェネティクス ～DNAメチル化～



環境化学物質が甲状腺系に及ぼすエピジェネティックな影響

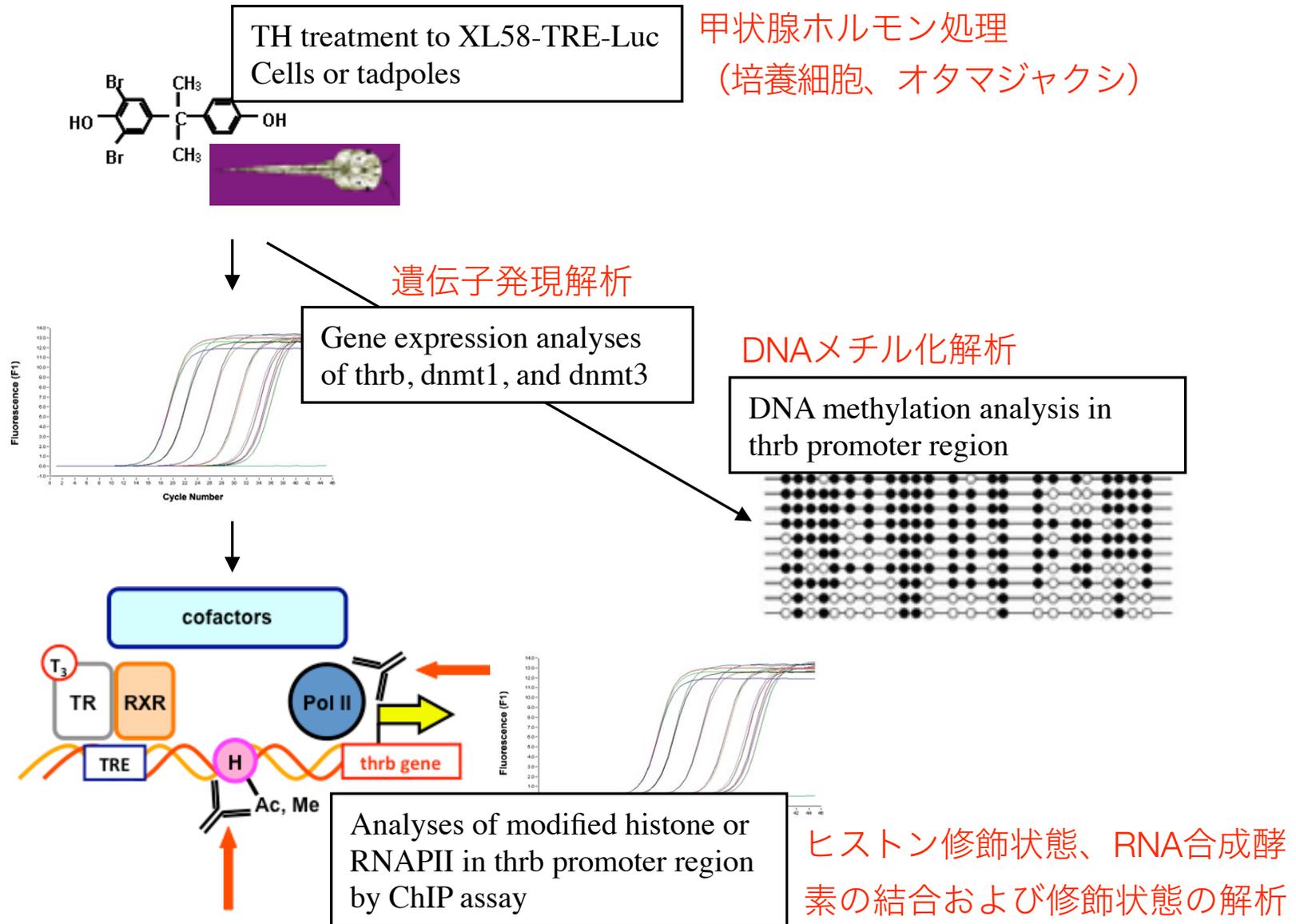
～実験を計画した背景～



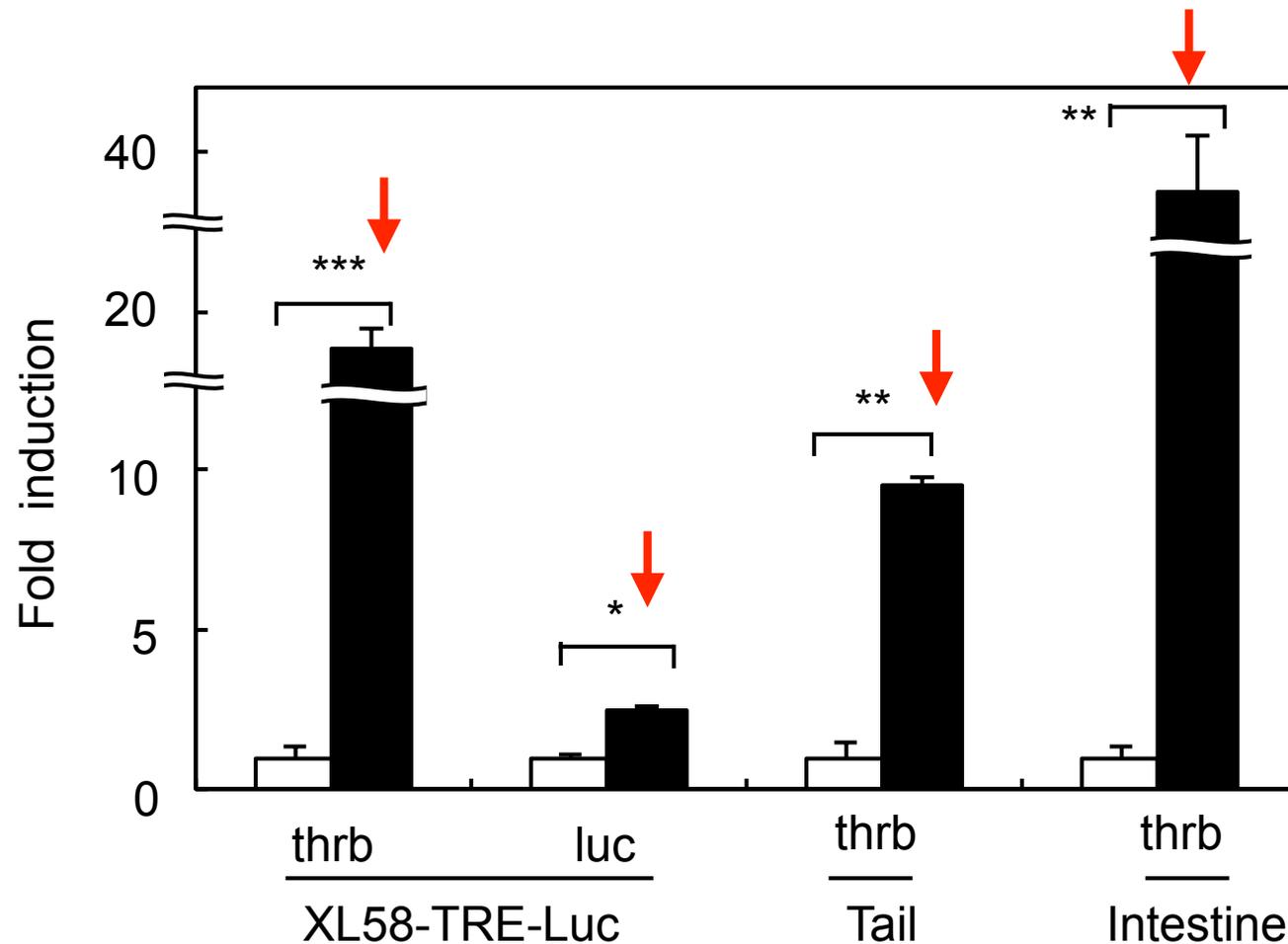
出典: Yamauchi et al., 2002

出典: Sugiyama et al., 2005

甲状腺ホルモンの転写調節におけるエピジェネティックな作用 ～実験計画～



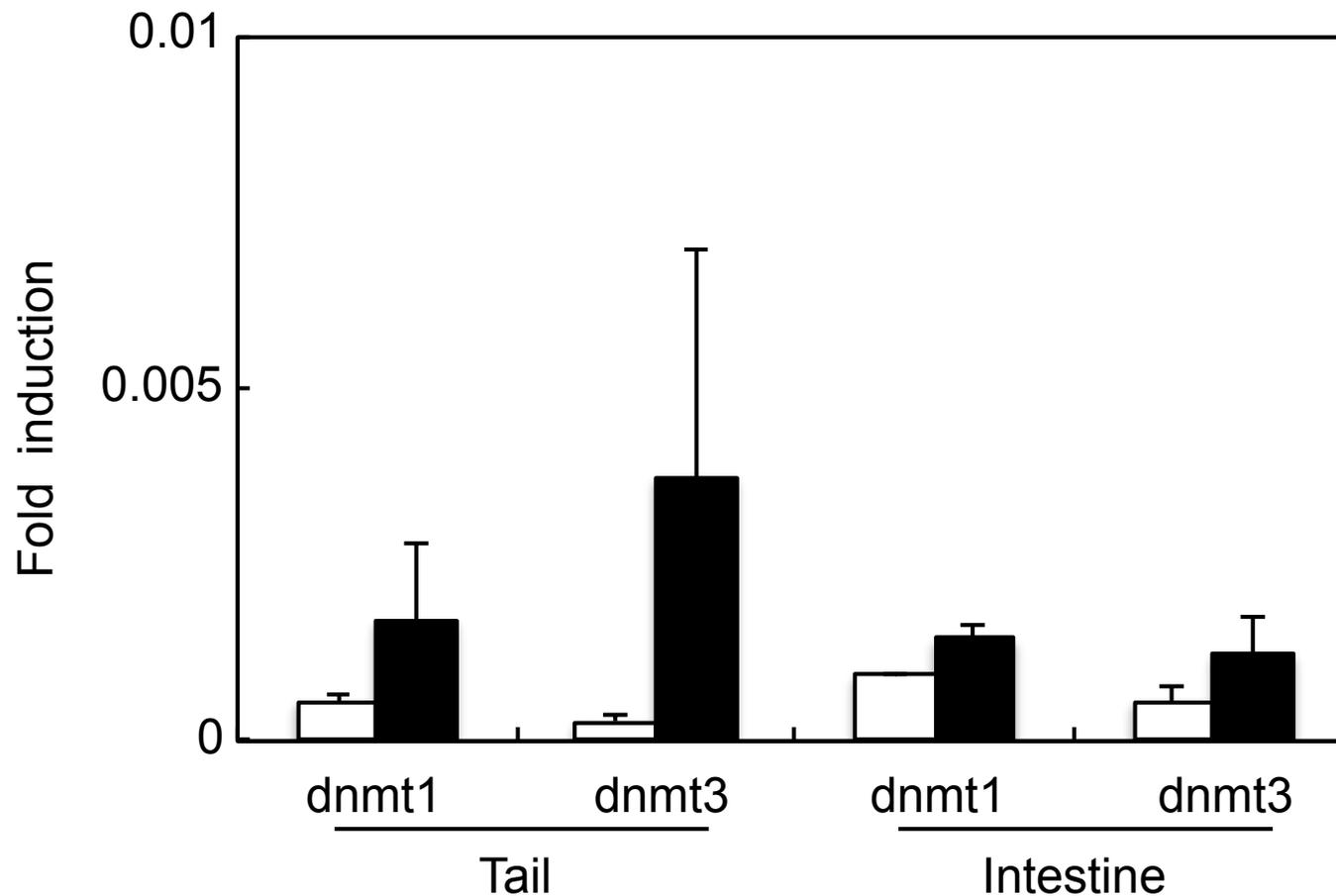
結果 — 遺伝子発現解析



Expression of thyroid hormone response genes. *Xenopus laevis* XL58-TRE-Luc cells or tadpoles at stage 53 were treated without (open bar) or with (closed bar) 2 nM 3,3',5-triiodothyronine (T3). Total RNA was extracted from the cultured cells or tadpole tissues (tails and intestines). Amounts of *thrb* transcript were analyzed by reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). The cell lysate from XL58-TRE-Luc cells was also assayed for luciferase activity (*luc*). The vertical axis represents the amounts of the *thrb* transcript or the luciferase activity as a magnitude of induction (fold induction). Each value is the mean \pm standard error of the mean (SEM, $n=3$). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$. The experiment was repeated 3 times, with similar results.

甲状腺ホルモン処理によってホルモン応答遺伝子の発現が上昇している

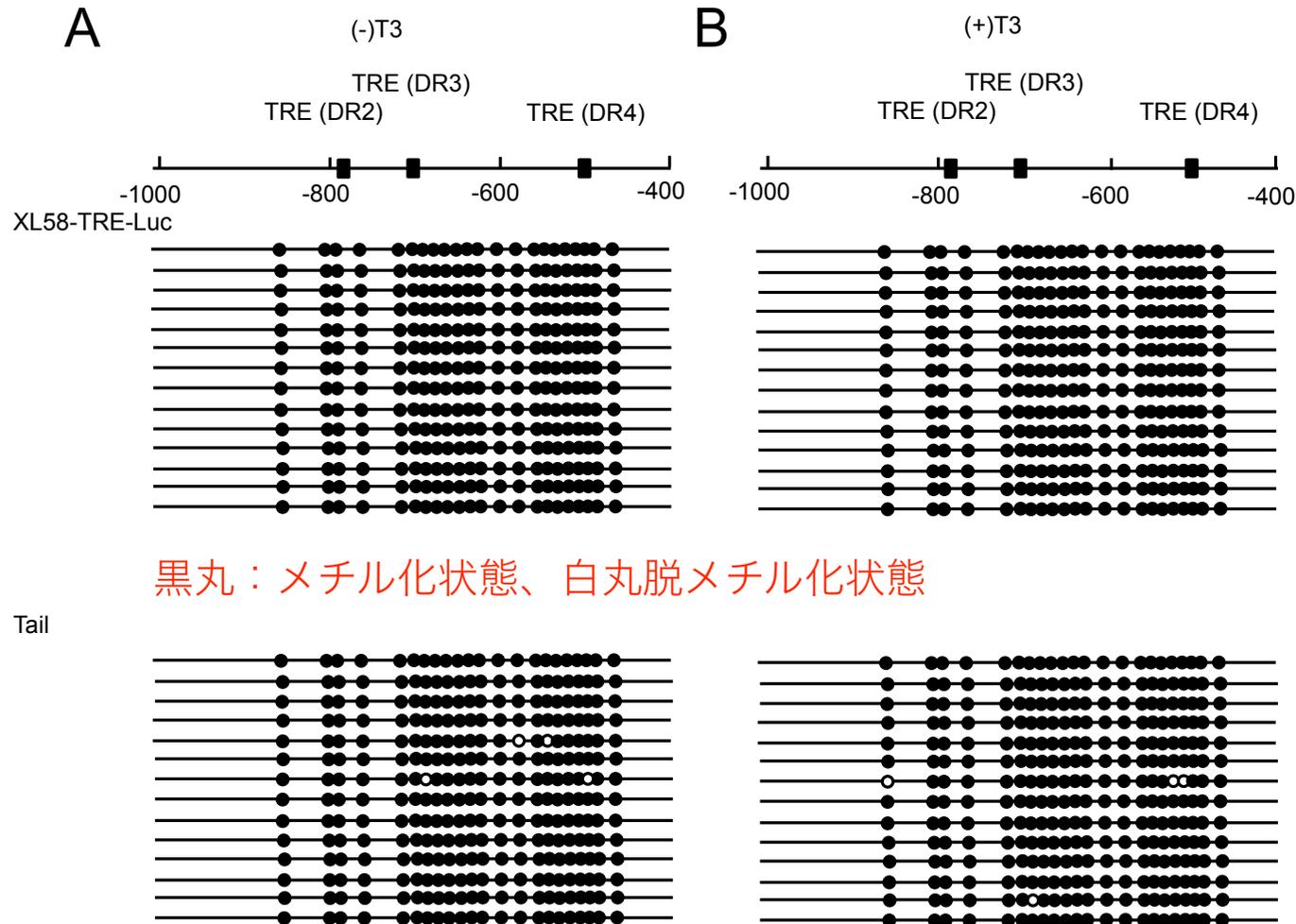
結果 — 遺伝子発現解析



Expression of DNA methyltransferase genes. *Xenopus laevis* tadpoles at stage 53 were treated without (open bar) or with (closed bar) 2 nM 3,3',5-triiodothyronine (T3). Total RNA was extracted from the cultured cells or tadpole tissues (tails and intestines). Amounts of dnmt1 or dnmt3 transcript were analyzed by reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). The vertical axis represents the amounts of the dnmt1 or dnmt3 transcript as a magnitude of induction (fold induction). Each value is the mean \pm standard error of the mean (SEM, $n=3$). The experiment was repeated 3 times, with similar results.

DNAをメチル化する酵素の遺伝子発現はホルモンの影響を受けない

結果 - DNAメチル化

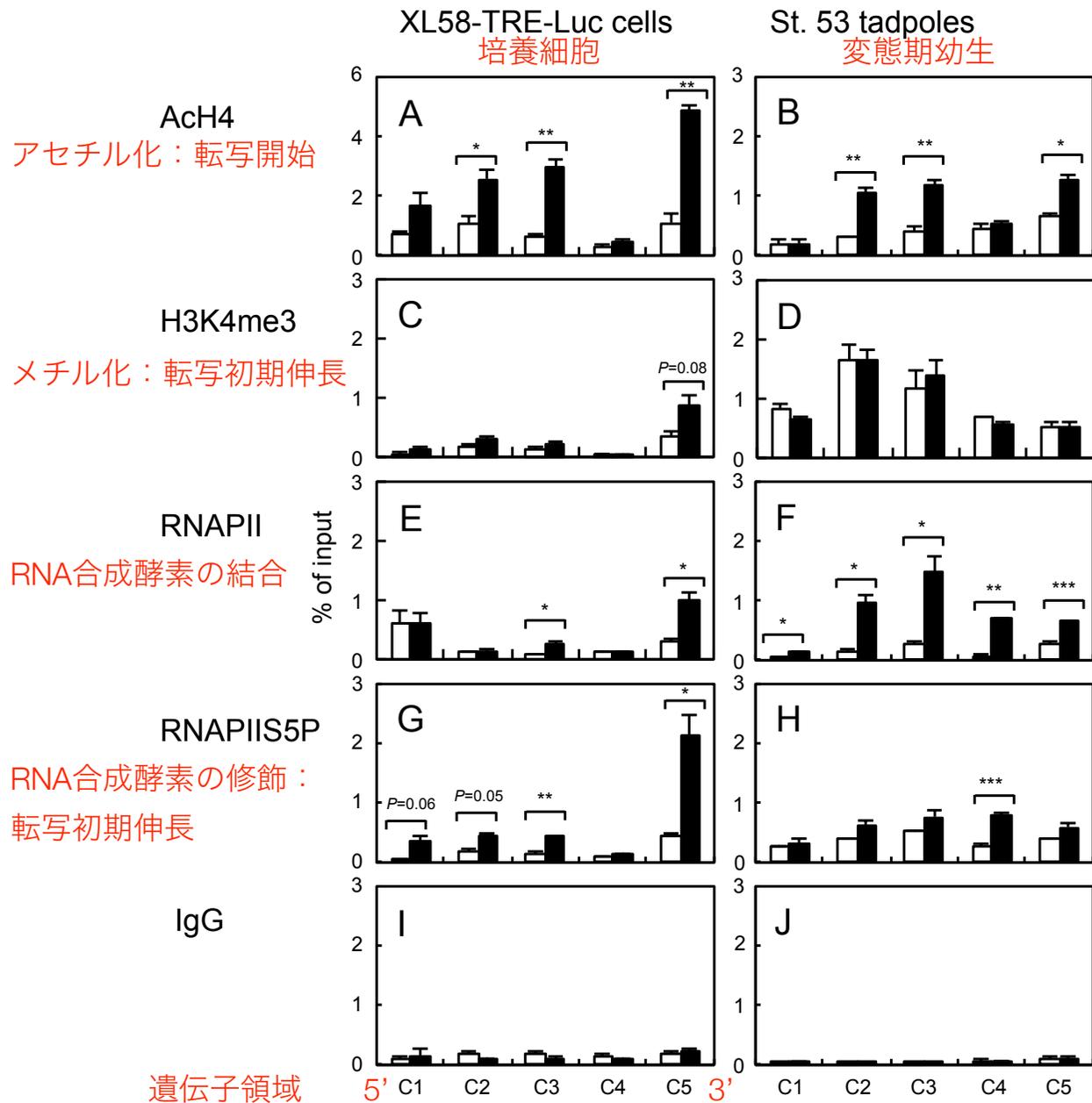


Effects of TH on methylation status of the thrb promoter in *Xenopus laevis* XL58-TRE-Luc cells or tadpole tissues. Total genomic DNA was extracted from *X. laevis* XL58-TRE-Luc cells or tadpole tails (stage 53), which were treated without or with 2 nM 3,3',5-triiodothyronine (T3). Polymerase chain reaction (PCR) amplicons obtained from bisulfite-modified DNA with primer sets were cloned into pMD20 or pGEM vector, and individual clones from each sample were sequenced. Closed circle, methylated CpG site; open circle, unmethylated CpG site; vertical arrow, developmentally specific unmethylated CpG site detected in TRE(DR3) and TRE(DR4).

甲状腺ホルモン処理によるDNAメチル化の影響はあまり見られない

結果 一

ヒストン修飾、RNA合成酵素の結合および修飾状態



Effects of exposure to 3,3',5-triiodothyronine (T3) on histone H4 acetylation, histone H3K4 trimethylation, recruitment of RNAPII and RNAPIIS5 phosphorylation in the *trhb* gene. *Xenopus laevis* XL58-TRE-Luc cells (A, C, E, G and I) or tadpoles tails at stage 53 (B, D, F, H and J) were treated without (open bar) or with (closed bar) 2 nM T3.

Signals of chromatin immunoprecipitation (ChIP) were detected by quantitative polymerase chain reaction (qPCR) following immunoprecipitation with antibodies against acetylated histone H4 (A and B), trimethylated histone H3K4 (C and D), RNAPII (E and F), phosphorylated RNAPIIS5 (G and H), and normal immunoglobulin G (I and J). Primers used in qPCR are primer sets C1, C2, C3, C4 and C5. Each value is the mean \pm standard error of the mean (SEM, $n=3$). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$. P values of several non-significant increases are also shown. The experiment was repeated 3 times for cultured cells and 4 times for tadpoles, with similar

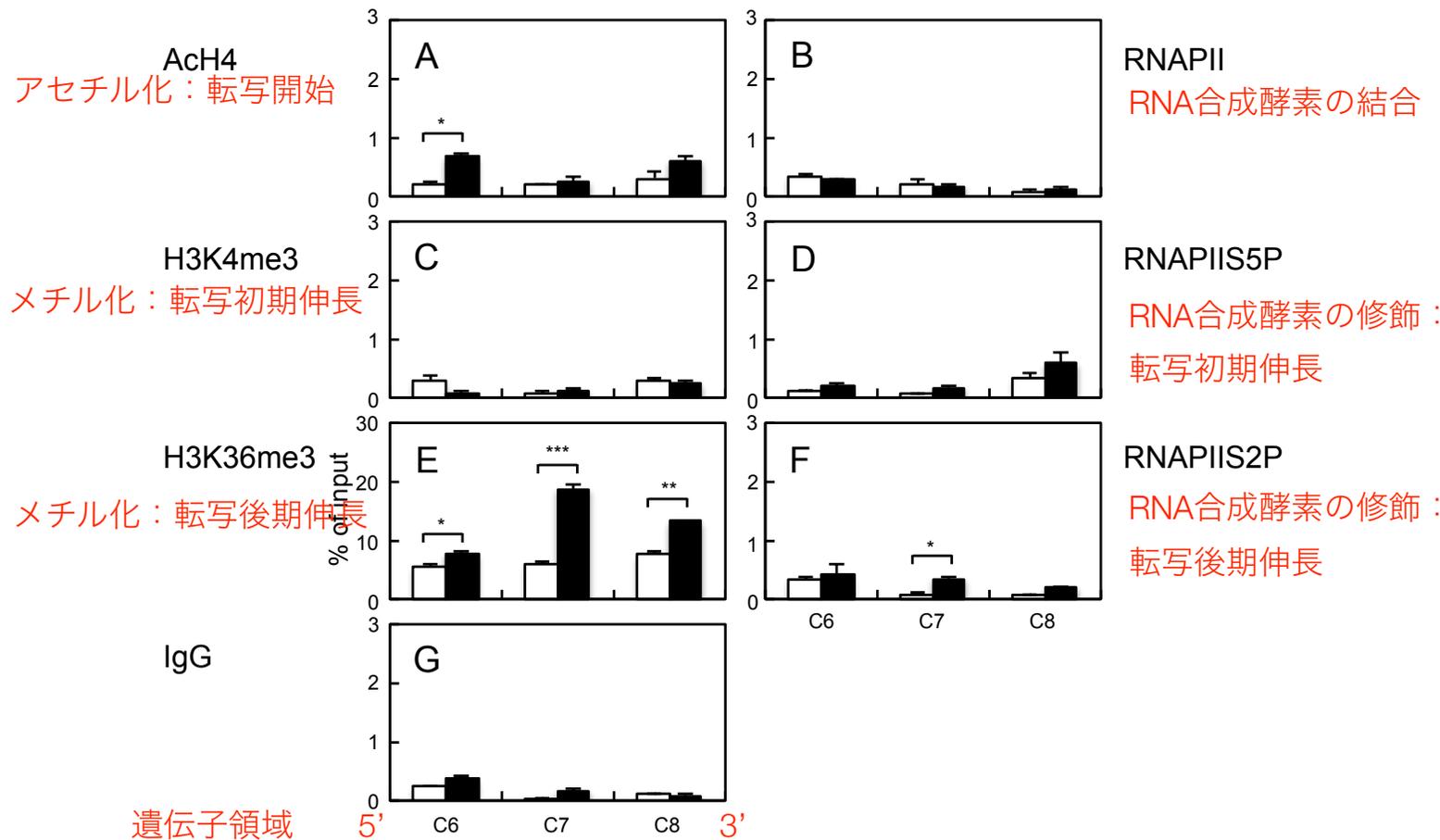
results.

甲状腺ホルモンによって、転写開始、初期伸長の目印が上昇し、クロマチン構造が緩むことによって転写が活性化した。

結果 一

ヒストン修飾、RNA合成酵素の結合および修飾状態

XL58-TRE-Luc cells



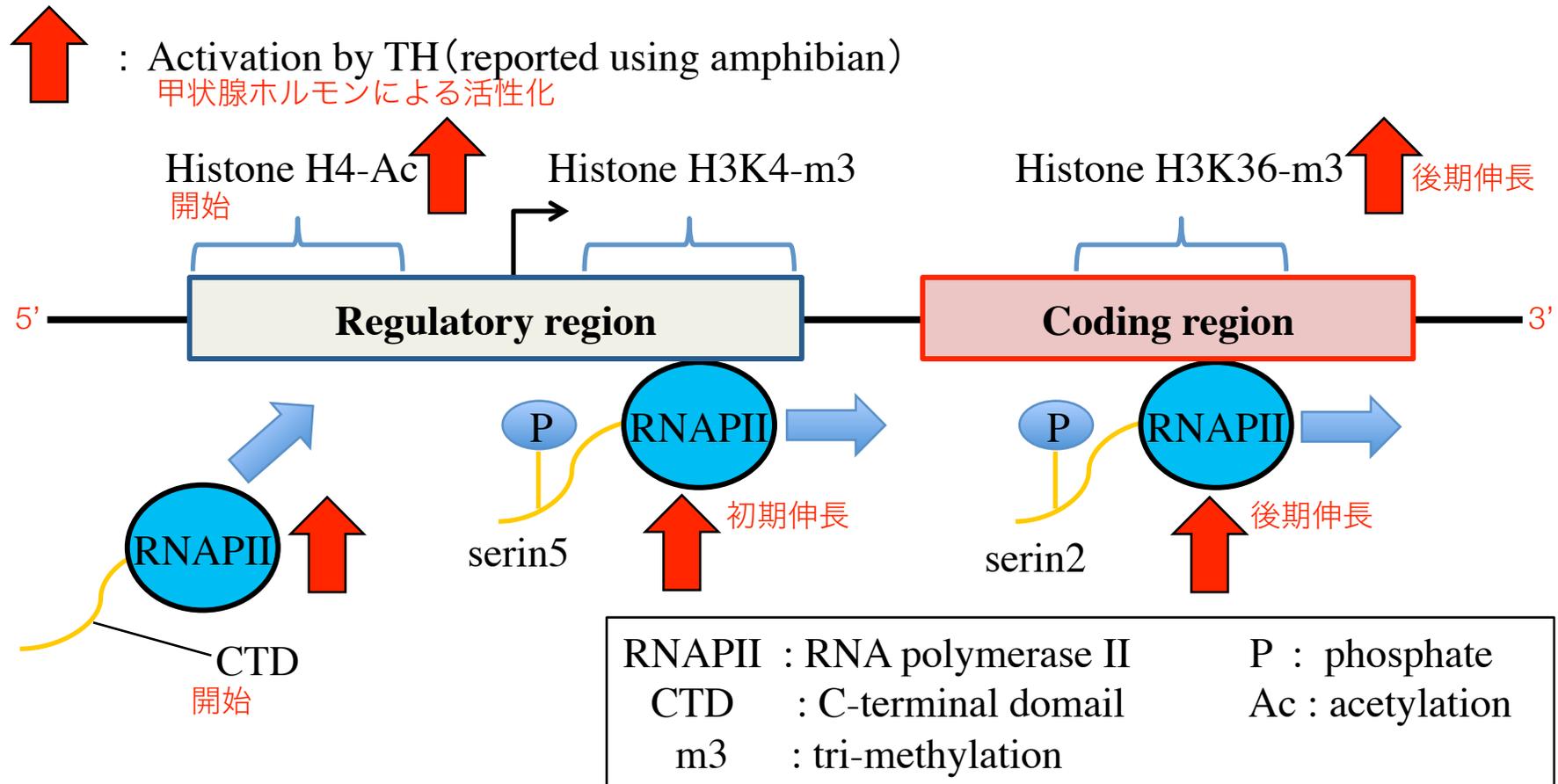
Effects of exposure to 3,3',5-triiodothyronine (T3) on histone H4 acetylation, histone H3K4 trimethylation, histone H3K36 trimethylation, recruitment of RNAPII, RNAPIIS5 phosphorylation and RNAPIIS2 phosphorylation in the CDS of thrb gene. *Xenopus laevis* XL58-TRE-Luc cells were treated without (open bar) or with (closed bar) 2 nM T3. Signals of chromatin immunoprecipitation (ChIP) were detected by quantitative polymerase chain reaction (qPCR) following immunoprecipitation with antibodies against acetylated histone H4 (A), RNAPII (B), trimethylated histone H3K4 (C), phosphorylated RNAPIIS5 (D), trimethylated histone H3K36 (E), phosphorylated RNAPIIS2 (F), and normal immunoglobulin G (G). Primers used in qPCR are primer sets C6, C7, and C8. Each value is the mean \pm standard error of the mean (SEM, n=3). *P < 0.05, **P < 0.01; ***P < 0.001. P values of several non-significant increases are also shown. The experiment was repeated 3 times for cultured cells and 4 times for tadpoles, with similar results.

甲状腺ホルモンによって、転写後期伸長の目印が上昇し、転写が活性化した。

結果の概要

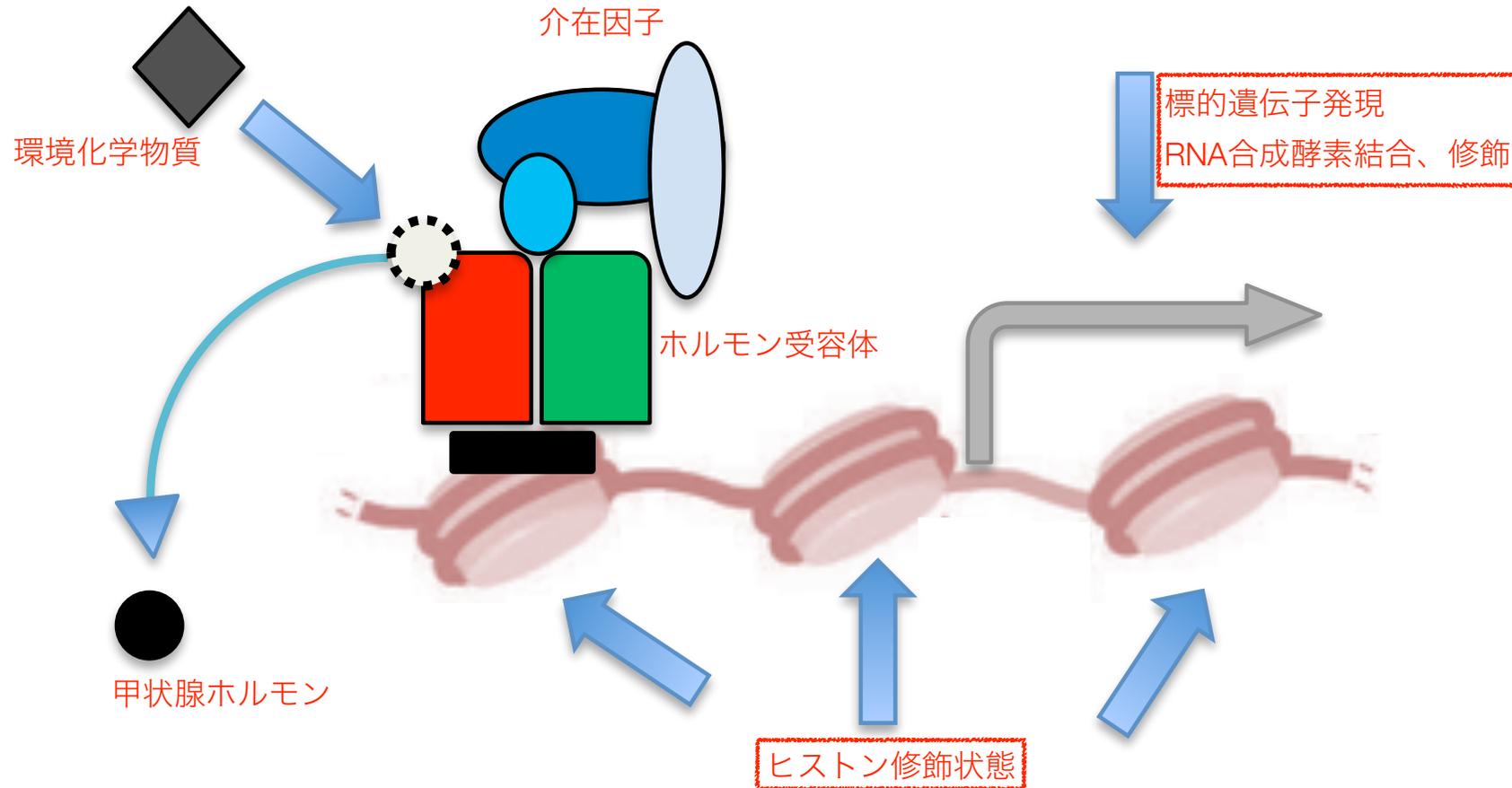
甲状腺ホルモン応答遺伝子の構造

Structure of TH-responsive gene



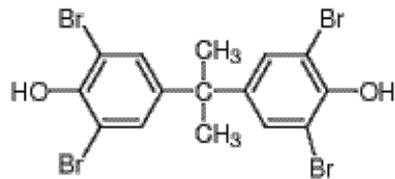
甲状腺ホルモンによって、転写開始、初期伸長、後期伸長の目印が上昇し、転写が活性化した。

環境化学物質が甲状腺系に及ぼす影響



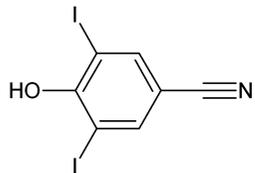
検討した化学物質

- TetraBromoBisphenol A (TBBPA)

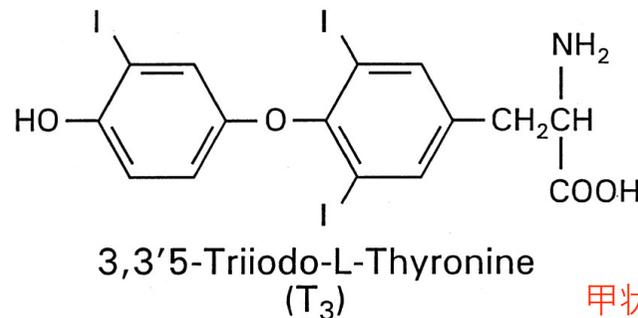


- テトラブロモビスフェノールA(TBBPA)は重要な**難燃剤**である。市販のTBBPAは、臭素化合物の難燃剤としては世界で最も多く生産されている。TBBPAとその誘導体に対する需要は年間6万トンに達する。**プラスチックに混合する。**

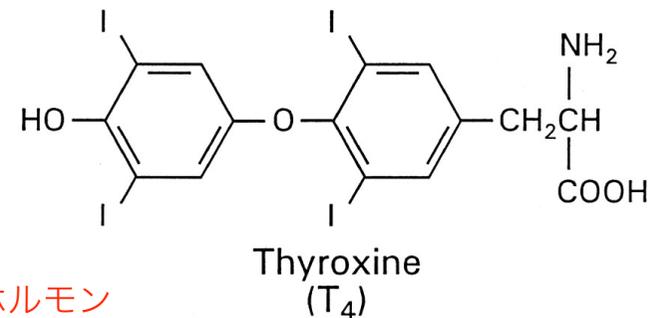
- ioxynil (IOX)



- 本剤は植物の茎葉から短時間のうちに吸収され、植物の電子伝達系に作用し、光合成及び呼吸を阻害することで**殺草効果**が現れると考えられている。茎葉から吸収された本剤は、植物体内他部への移行性はほとんどないため、雑草の幼小期に使用する必要がある。再生力のある大きな雑草や、多年生雑草に使用した場合、葉枯れ等を起こし生育が阻害されるが枯死には至らない。本剤は植物の生育期に処理すると、イネ科、ユリ科等単子葉植物に対してほとんど影響を与えず、**広葉植物に対しては非常に強い影響を与える**生理的選択性を有している。

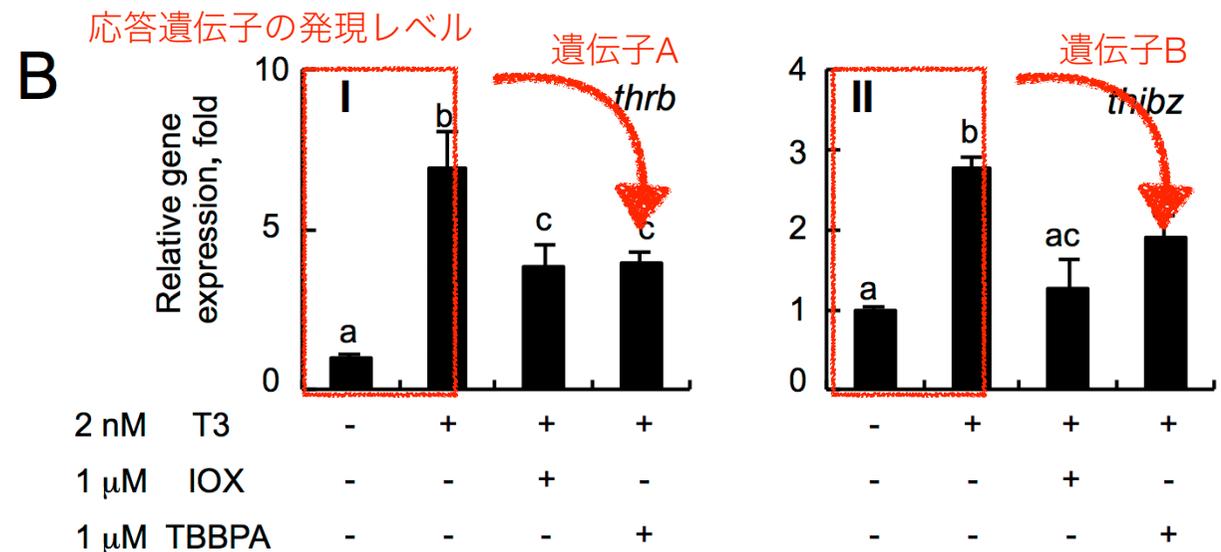
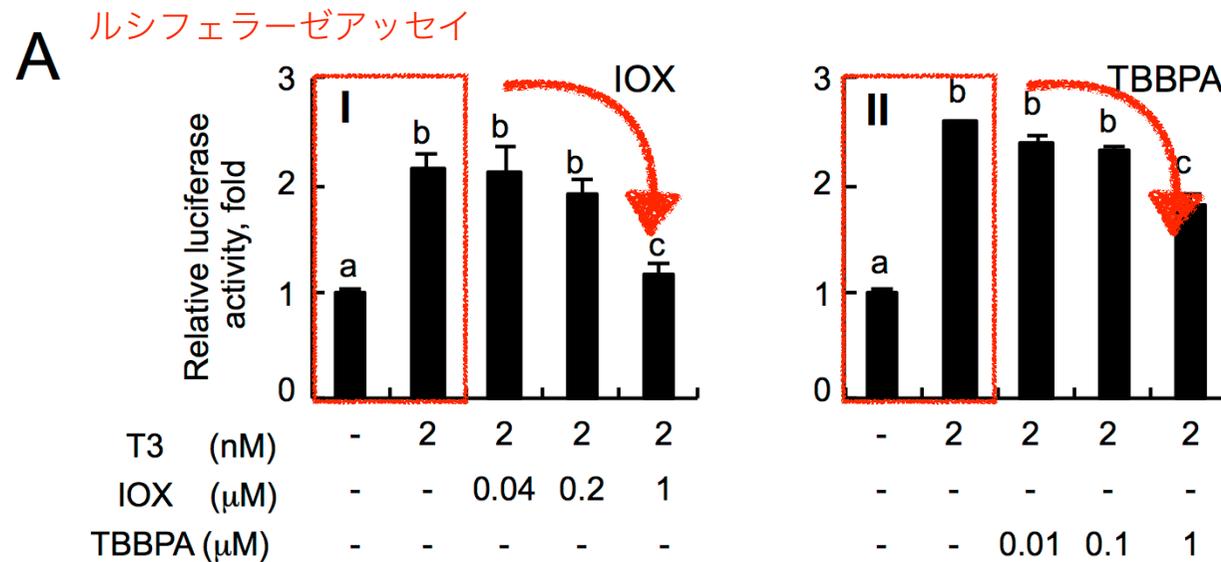


甲状腺ホルモン



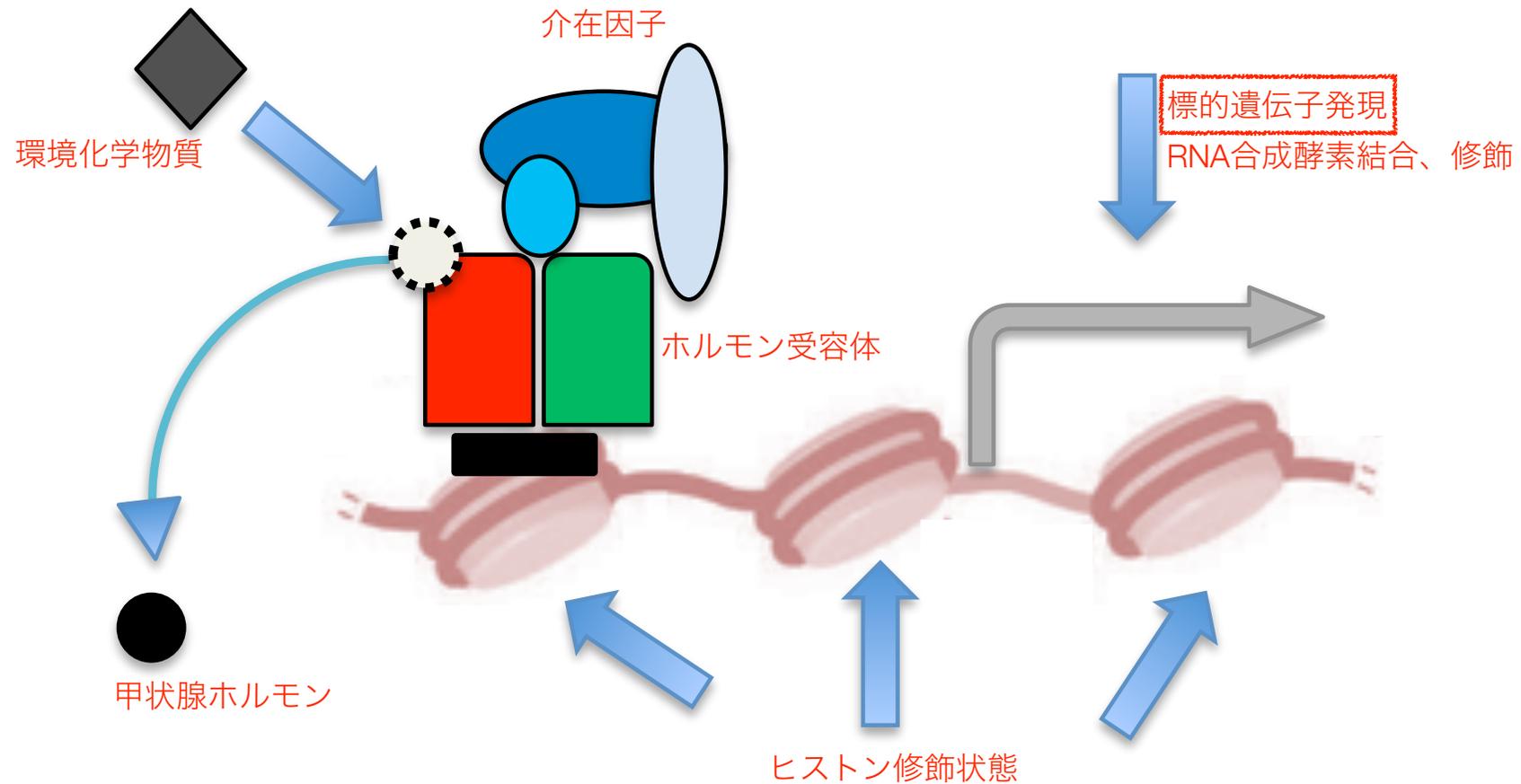
結果 一

環境化学物質が甲状腺ホルモン応答遺伝子の発現に及ぼす影響



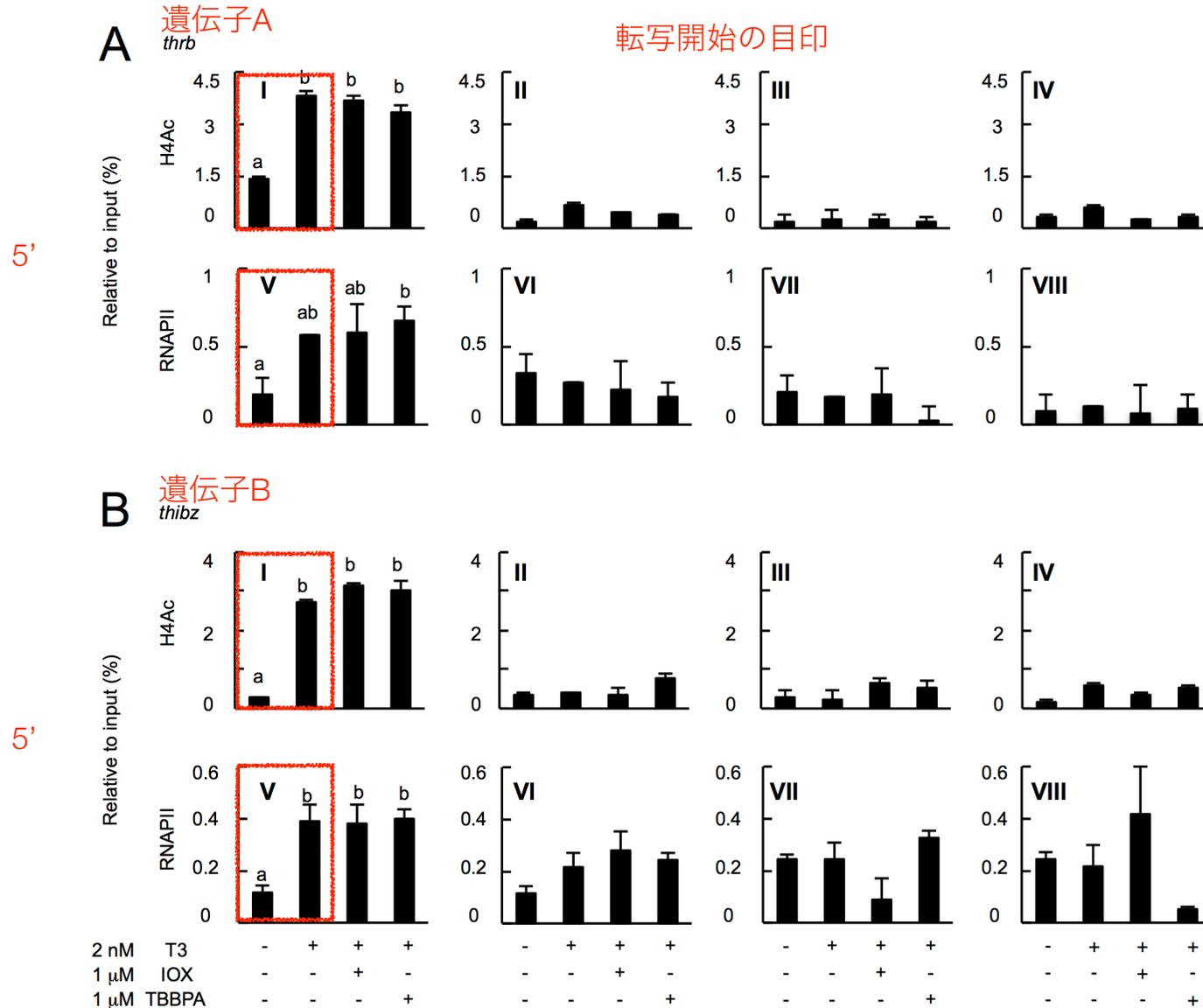
(A) TH-dependent luciferase assay was conducted with or without 2nM T3, in the presence or absence of indicated concentrations of IOX (I) or TBBPA (II). The vertical axes represent the luciferase activity as a magnitude of the induction (fold). (B) Amounts of T3-induced transcripts of the *thrb* (I) and *thibz* (II) genes were estimated by RT-qPCR as a magnitude of the induction (fold) after normalization with the *rp18* gene expression. Cells were treated with or without (vehicle control) 2nM T3, in the presence or absence of 1M chemicals. Each value is the mean \pm SEM ($n = 3$). Distinct letters denote significantly different means and were determined by a one-way analysis of variance and Fisher's least significant difference test for multiple comparisons ($p < 0.05$).

環境化学物質が甲状腺系に及ぼす影響



結果一

環境化学物質が甲状腺ホルモンによって誘導される転写開始の目印に及ぼす影響

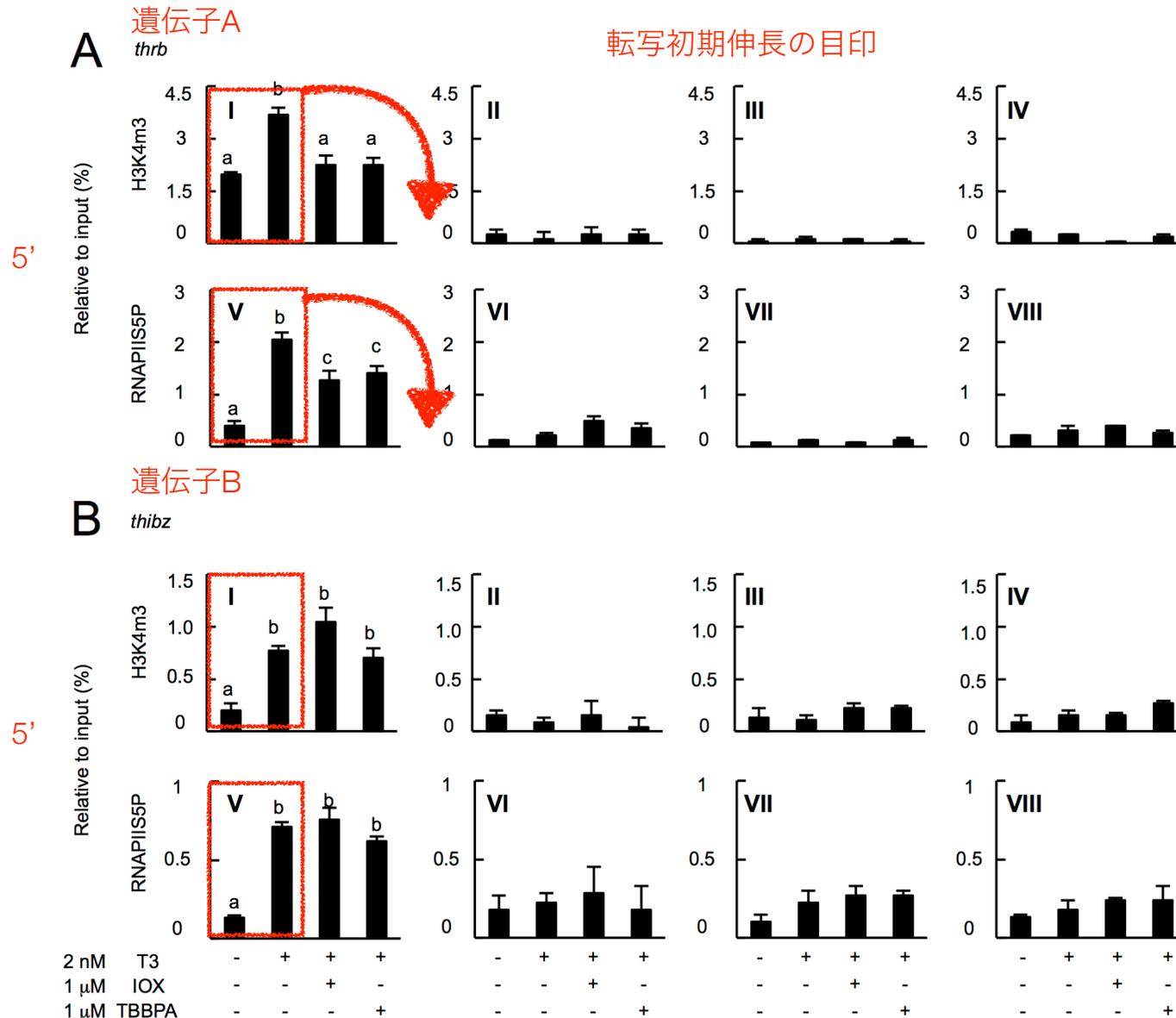


Cells were treated with or without 2nM T3, in the presence or absence of 1M IOX or TBBPA. Signals of ChIP were detected by qPCR following immunoprecipitation with antibodies against H4Ac (I-IV) and RNAPII (V-VIII). Primers used in qPCR are primer sets A1 and B1 (I and V), A2 and B2 (II and VI), A3 and B3 (III and VII), and A4 and B4 (IV and VIII; see Supplementary table 1 and Fig. 1) in Figures 3A and B, respectively. Each value is the mean \pm SEM (n = 3). Distinct letters denote significantly different means and were determined by a one-way analysis of variance and Fisher's least significant difference test for multiple comparisons (p < 0.05).

甲状腺ホルモンによって誘導される、転写開始の目印は環境化学物質による影響を受けない。

結果一

環境化学物質が甲状腺ホルモンによって誘導される転写初期伸長の目印に及ぼす影響

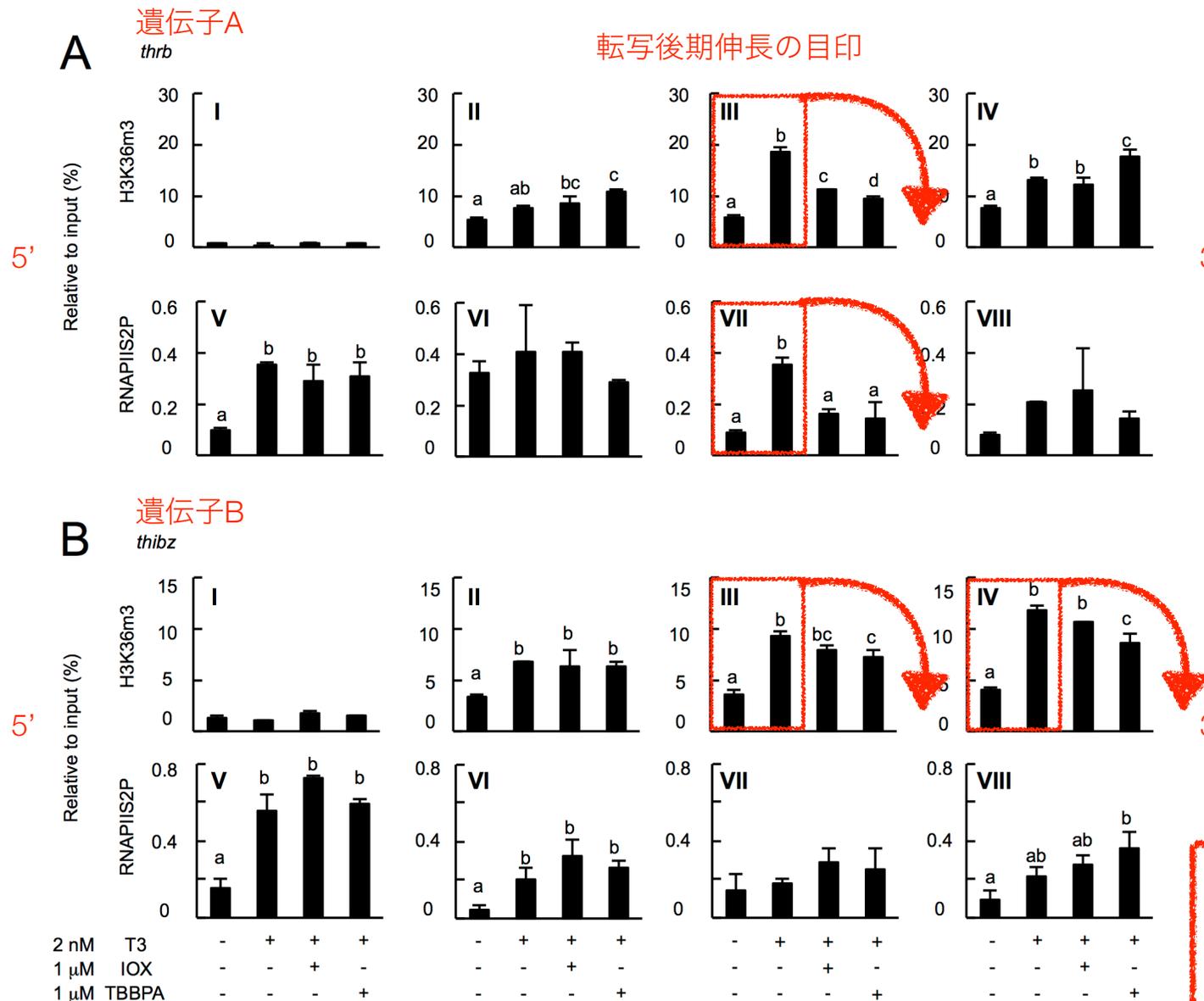


Cells were treated with or without 2nM T3, in the presence or absence of 1M IOX or TBBPA. Signals of ChIP were detected by qPCR following immunoprecipitation with antibodies against H3K4me3 (I-IV) and RNAPIIS5P (V-VIII). Primers used in qPCR are primer sets A1 and B1 (I and V), A2 and B2 (II and VI), A3 and B3 (III and VII), and A4 and B4 (IV and VIII); see Supplementary table 1 and Fig. 1) in Figures 4A and B, respectively. Each value is the mean \pm SEM (n = 3). Distinct letters denote significantly different means and were determined by a one-way analysis of variance and Fisher's least significant difference test for multiple comparisons (p < 0.05).

甲状腺ホルモンによって誘導される、転写初期伸長の目印は環境化学物質による影響を受ける（遺伝子によって影響が異なる）。

結果 一

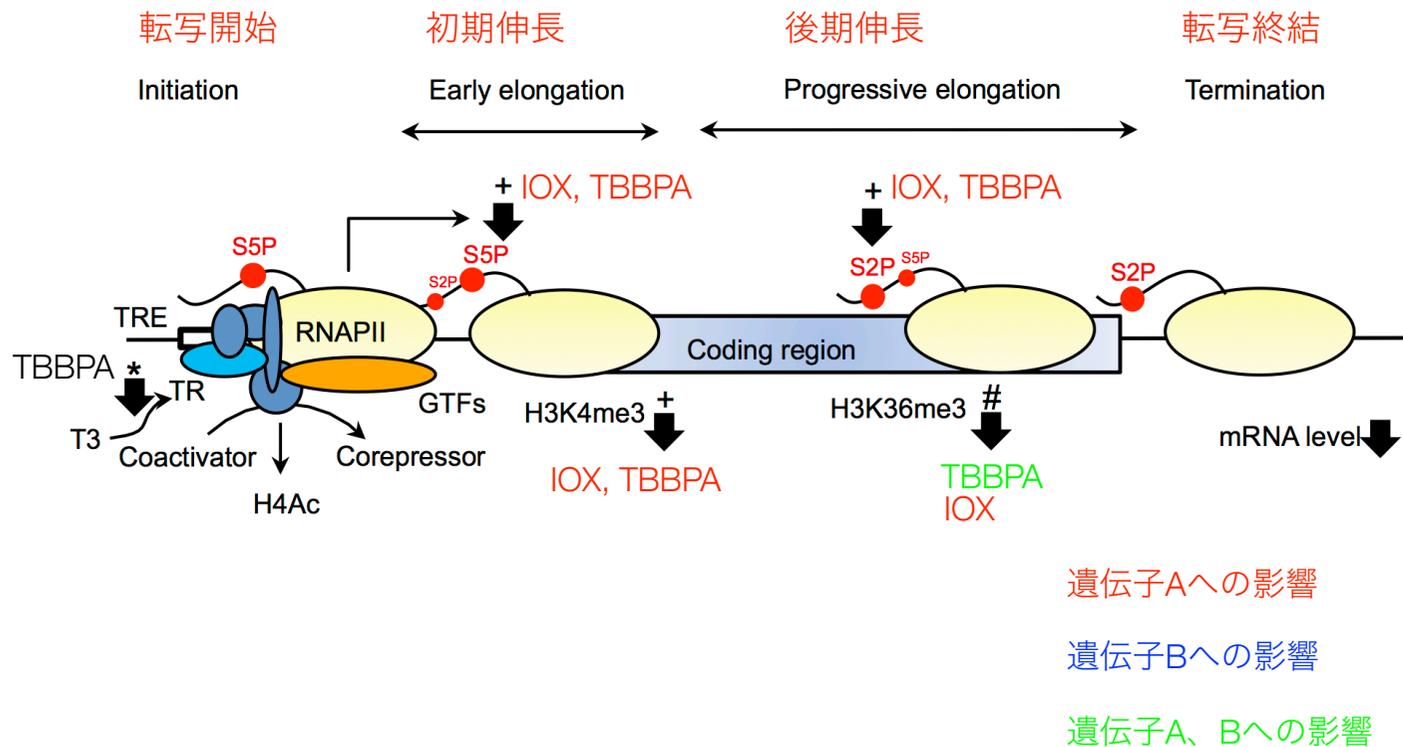
環境化学物質が甲状腺ホルモンによって誘導される転写後期伸長の目印に及ぼす影響



Effects of IOX and TBBPA on trimethylation of histone H3K36 and phosphorylation of RNAPIIS2 on the (A) *thrb* and (B) *thibz* genes. Cells were treated with or without 2nM T3, in the presence or absence of 1M IOX or TBBPA. Signals of ChIP were detected by qPCR following immunoprecipitation with antibodies against H3K36me3 (I–IV) and RNAPIIS2P (V–VIII). Primers used in qPCR are primer sets A1 and B1 (I and V), A2 and B2 (II and VI), A3 and B3 (III and VII), and A4 and B4 (IV and VIII); see Supplementary table 1 and Fig. 1) in Figures 5A and B, respectively. Each value is the mean \pm SEM (n = 3). Distinct letters denote significantly different means and were determined by a one-way analysis of variance and Fisher's least significant difference test for multiple comparisons ($p < 0.05$).

甲状腺ホルモンによって誘導される、転写後期伸長の目印は環境化学物質による影響を受ける（遺伝子によっても化学物質によっても影響が異なる）。

環境化学物質のエピジェネティックな影響



Post-translational modifications of histone and RNAPII occur during transcription including initiation, early elongation, progressive elongation, and termination. TH stimulates coregulator switch from corepressor complexes with histone deacetylase activity to coactivator complexes histone acetylase activity, which induces H4Ac and RNAPII recruitment in 5' regulatory regions of direct T3-response genes. TH also enhances the amounts of RNAPIIS5P with H3K4me3 in 5' regulatory regions and the amounts of RNAPIIS2P with H3K36me3 in coding regions. Anti-TH actions of the chemicals in the thrb and thibz genes represent as black downward arrows. *, TBBPA was effective, but IOX not; +, TBBPA and IOX were effective in the thrb gene, but not in the thibz gene; and #, TBBPA was effective in the thrb and thibz genes, but IOX was effective in the thrb gene alone. GTFs, general transcription factors; TR, TH receptor; and TRE, TH-response element.

遺伝子Aへの影響

遺伝子Bへの影響

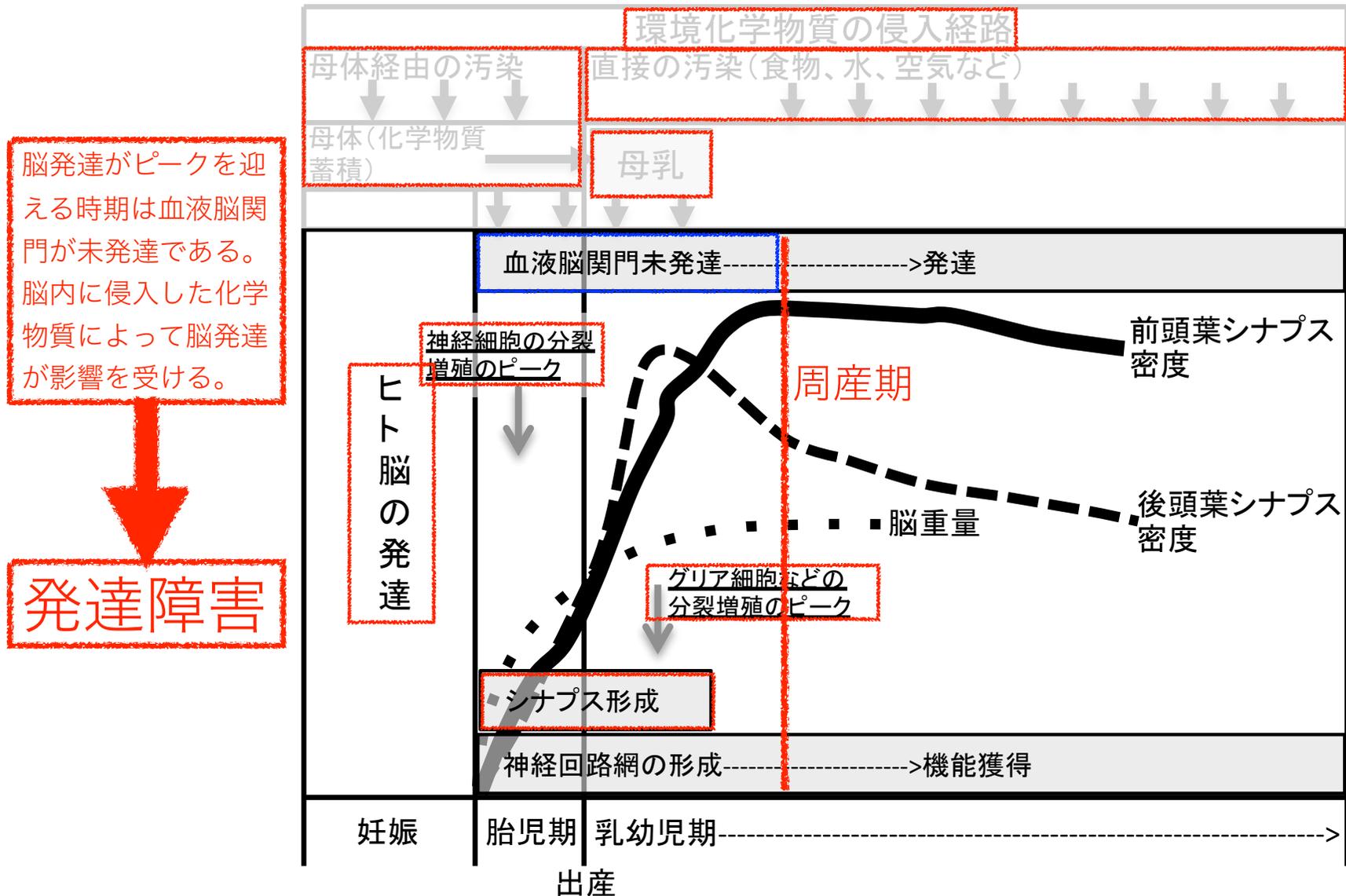
遺伝子A、Bへの影響

甲状腺ホルモンによって誘導される、転写開始の目印は環境化学物質による影響を受けない。初期伸長、後期伸長の目印への影響は、化学物質によっても、遺伝子によっても、領域によっても異なる。

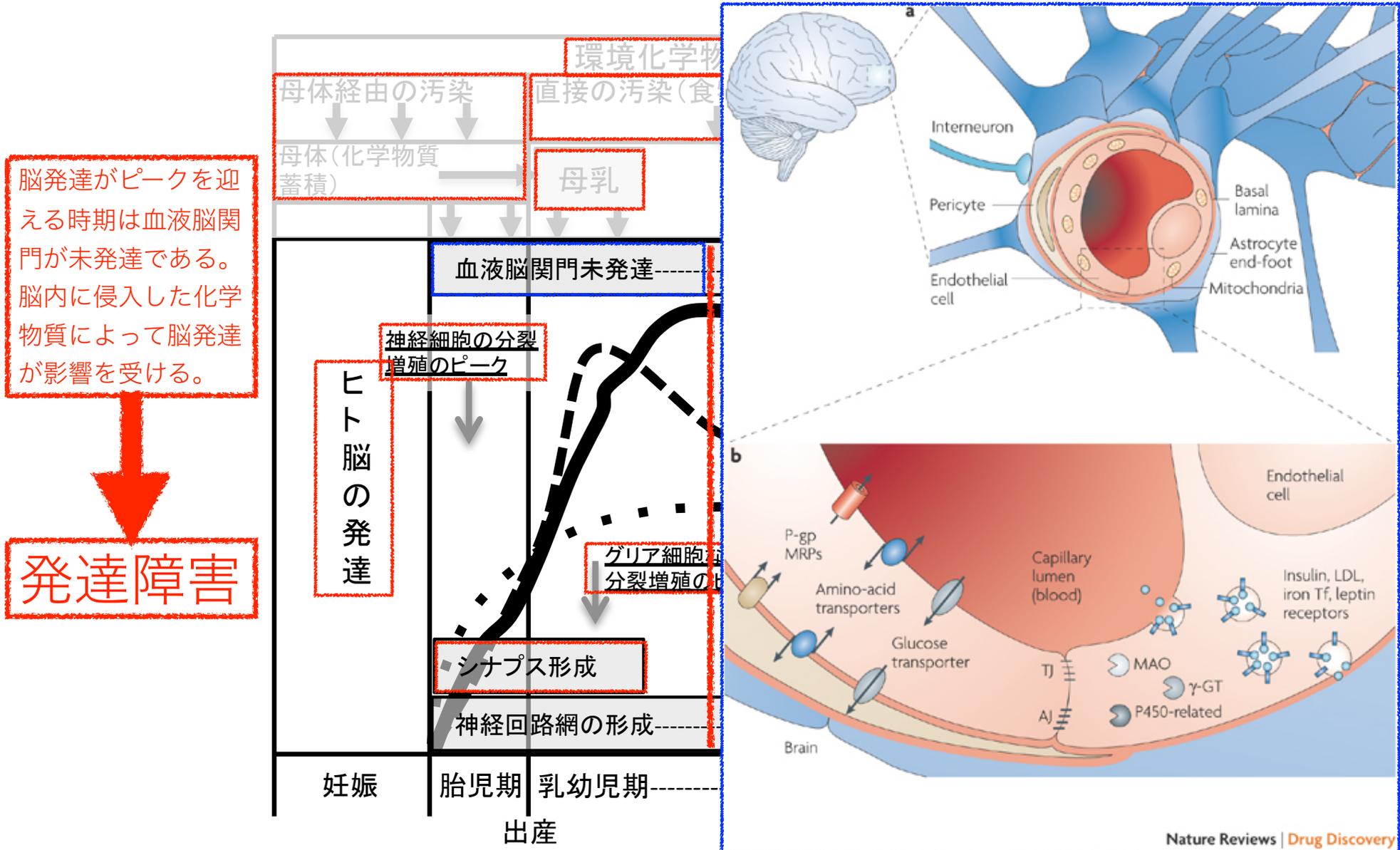
甲状腺系が攪乱される影響は？

- Thyroid hormones
 - THs exert biological effects in most tissues. In general, THs control metabolism (basic metabolic rate, lipid and carbohydrate metabolism, body heat production, and oxygen consumption), growth in children and young animals, and development (fetal and neonatal brain, and animal metamorphosis). THs affect cardiovascular, nervous and reproductive systems.
- 甲状腺ホルモン
 - 甲状腺ホルモンは、ほとんどの組織で生物学的作用を発揮する。一般に、甲状腺ホルモンは代謝（基礎代謝率、脂質および炭水化物代謝、体内の熱産生および酸素消費）、小児および年齢の若い動物の成長、および発育（胎児および新生児の脳および動物の変態）を制御する。甲状腺ホルモンは心血管系、神経系および生殖系にも影響する。

胎児・新生児期における脳発達

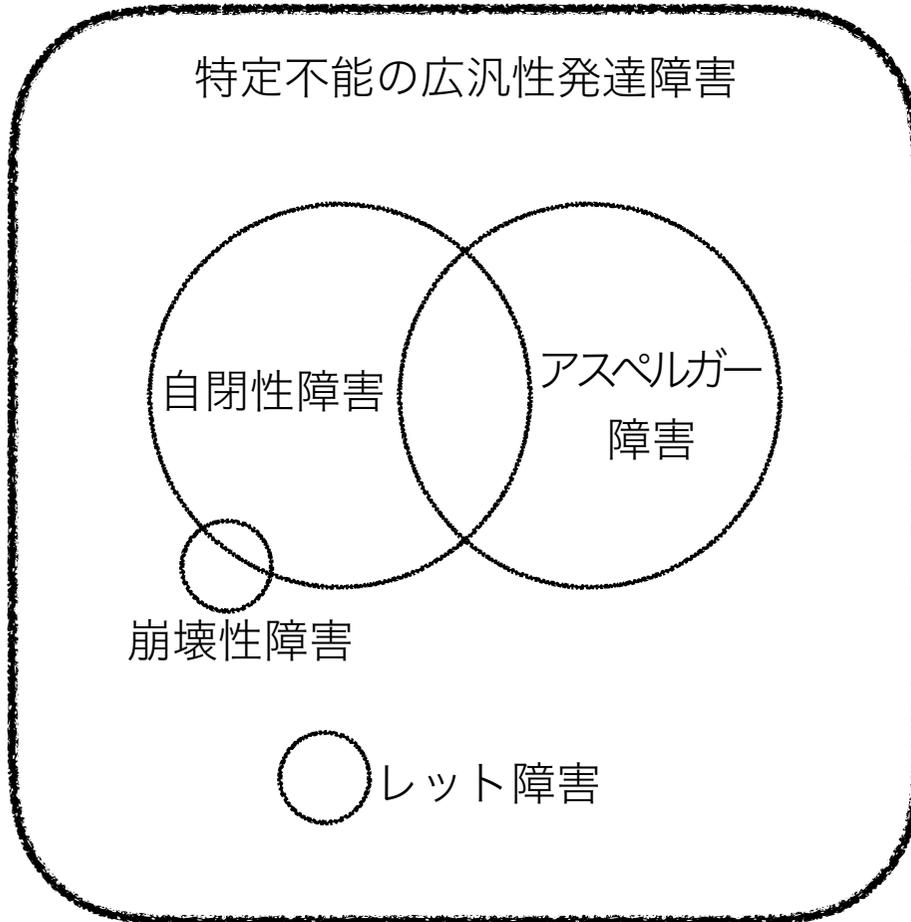


胎児・新生児期における脳発達



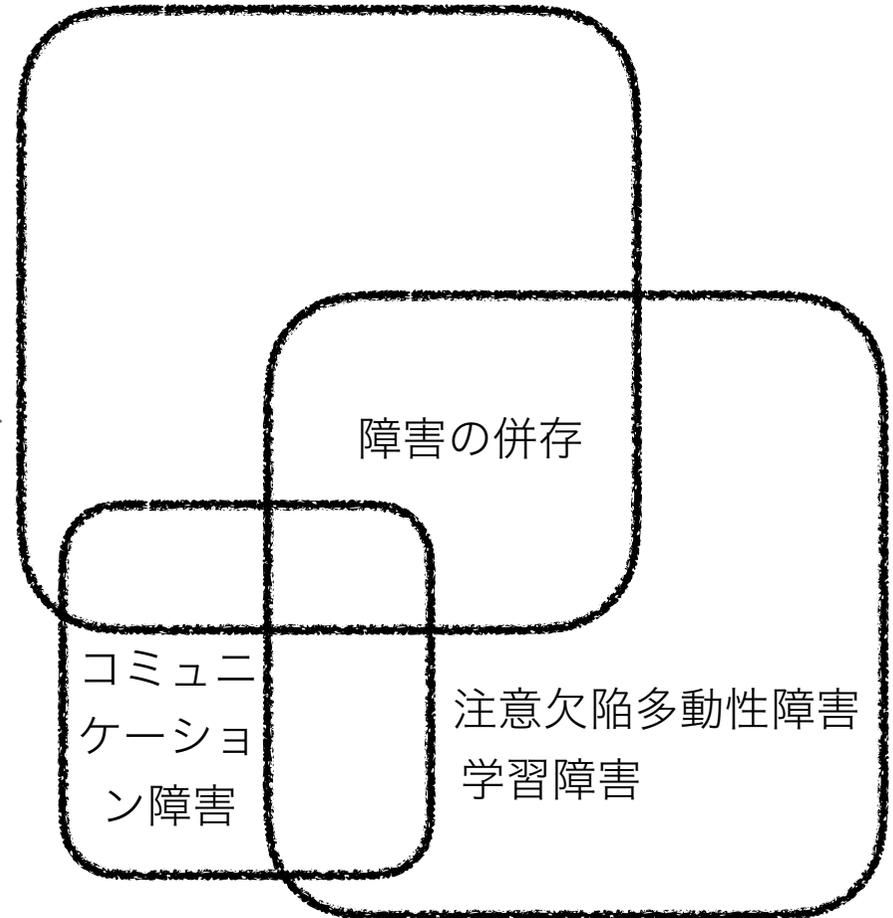
発達障害とは何か

広汎性発達障害



DSM-IV-TR

自閉症スペクトラム障害

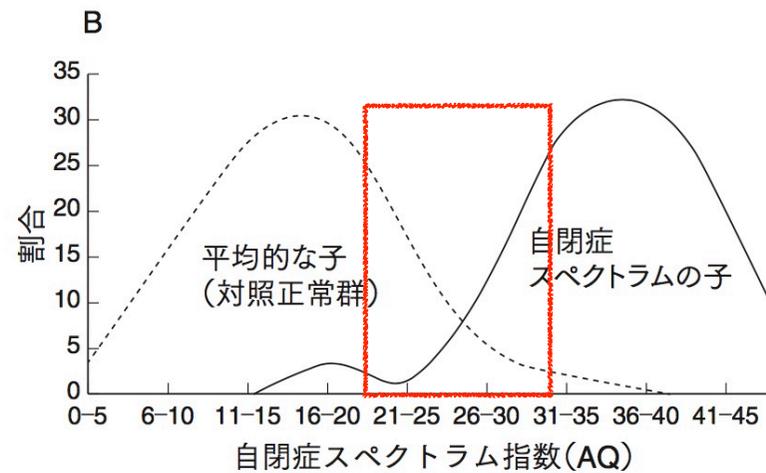
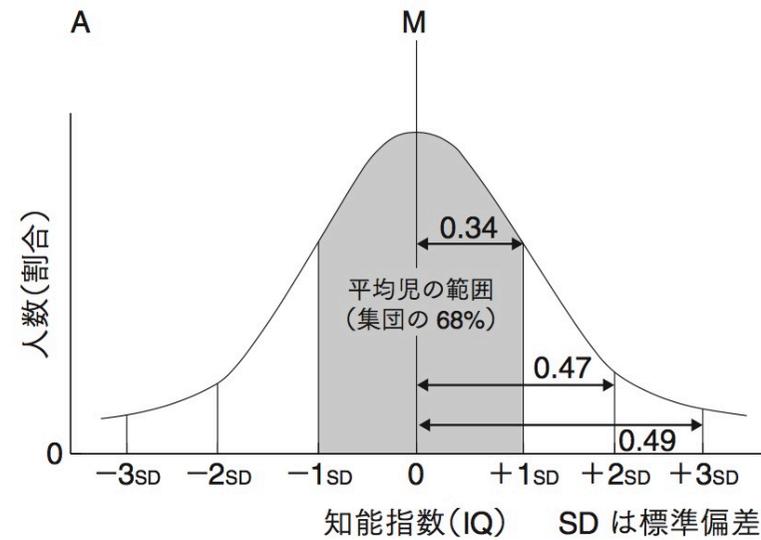


DSM-5

発達障害とは何か

- DSM-5における自閉症スペクトラム障害
- スペクトラムとは何か？
 - 「連続体」の意味であり、明確に境界を定めることができない。
- 様々な障害を併存するケースが多い。
 - 例えば、知的障害を伴う自閉症スペクトラム障害、など。

発達障害とは何か

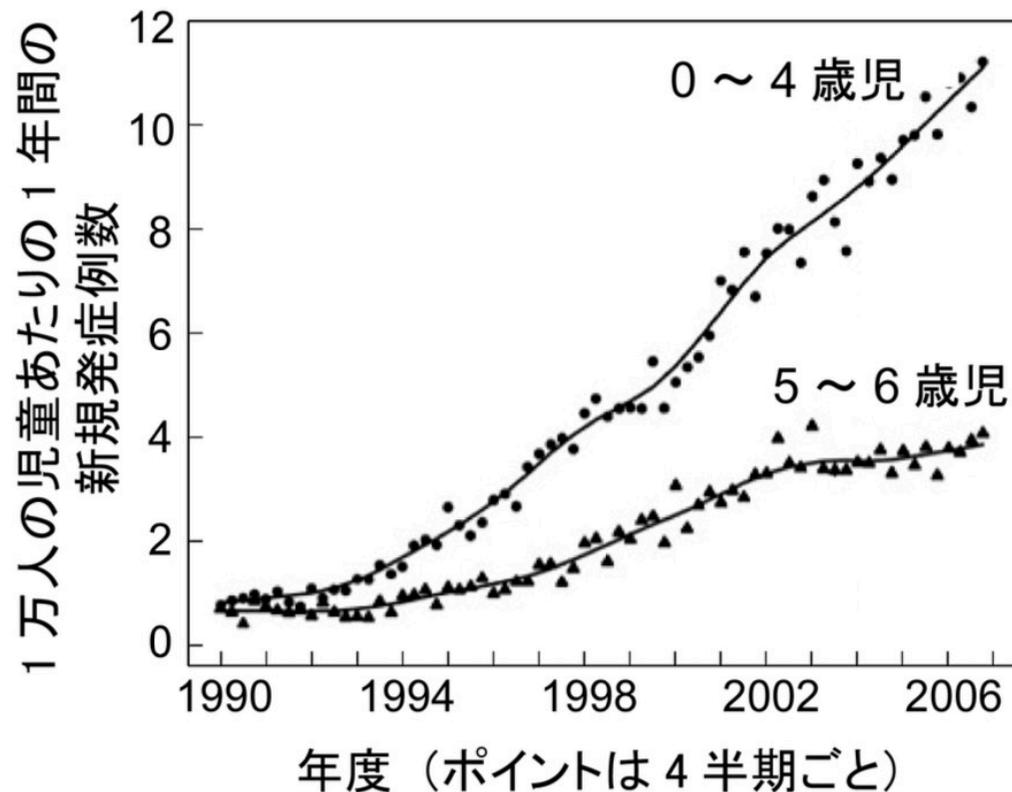


連続しているため明確に定型発達と自閉症を区別することができない領域

図2—A：知能指数(IQ)の正規分布曲線，B：自閉症スペクトラムと診断された子どもと平均的な子の自閉症スペクトラム指数

自閉症発生率は増加しているか

診断基準の変更、発達障害の一般認知が進んだことによる、受診率の増加などによって見かけ上増加している可能性もある。
しかし、それを明確に否定する論文が報告された。
つまり、発達障害は近年増加の一途をたどっている。

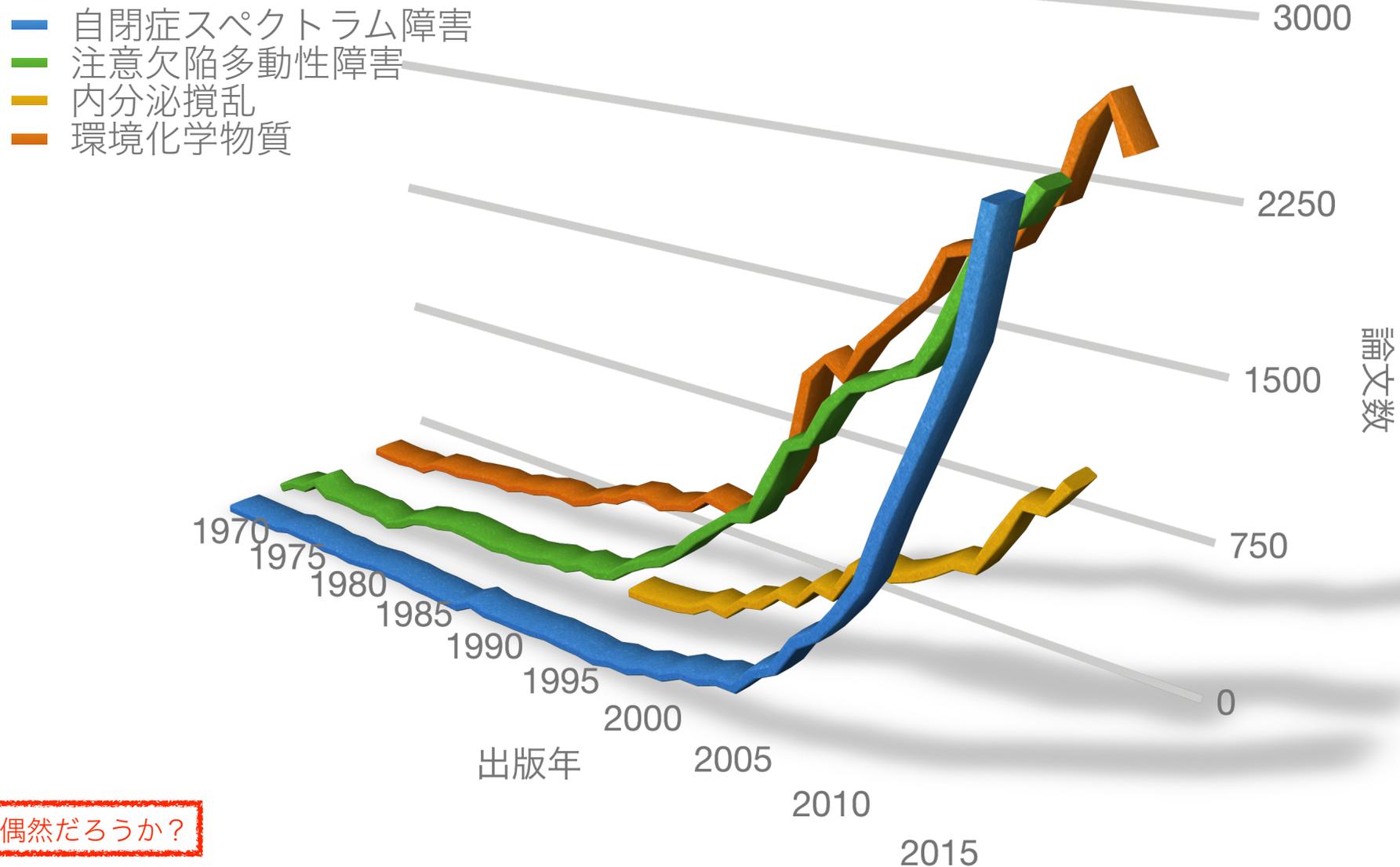


近年の日本における調査では、自閉症スペクトラム障害 (ASD)と診断された子供は、男子3.74%、女子1.47%、全体では2.64%である。

図1 カリフォルニアにおける自閉症発生率の増加 (文献7より改変)

発達障害に関する研究動向

～各年に発表される関連論文の数～



偶然だろうか？

胎児・新生児期における脳発達

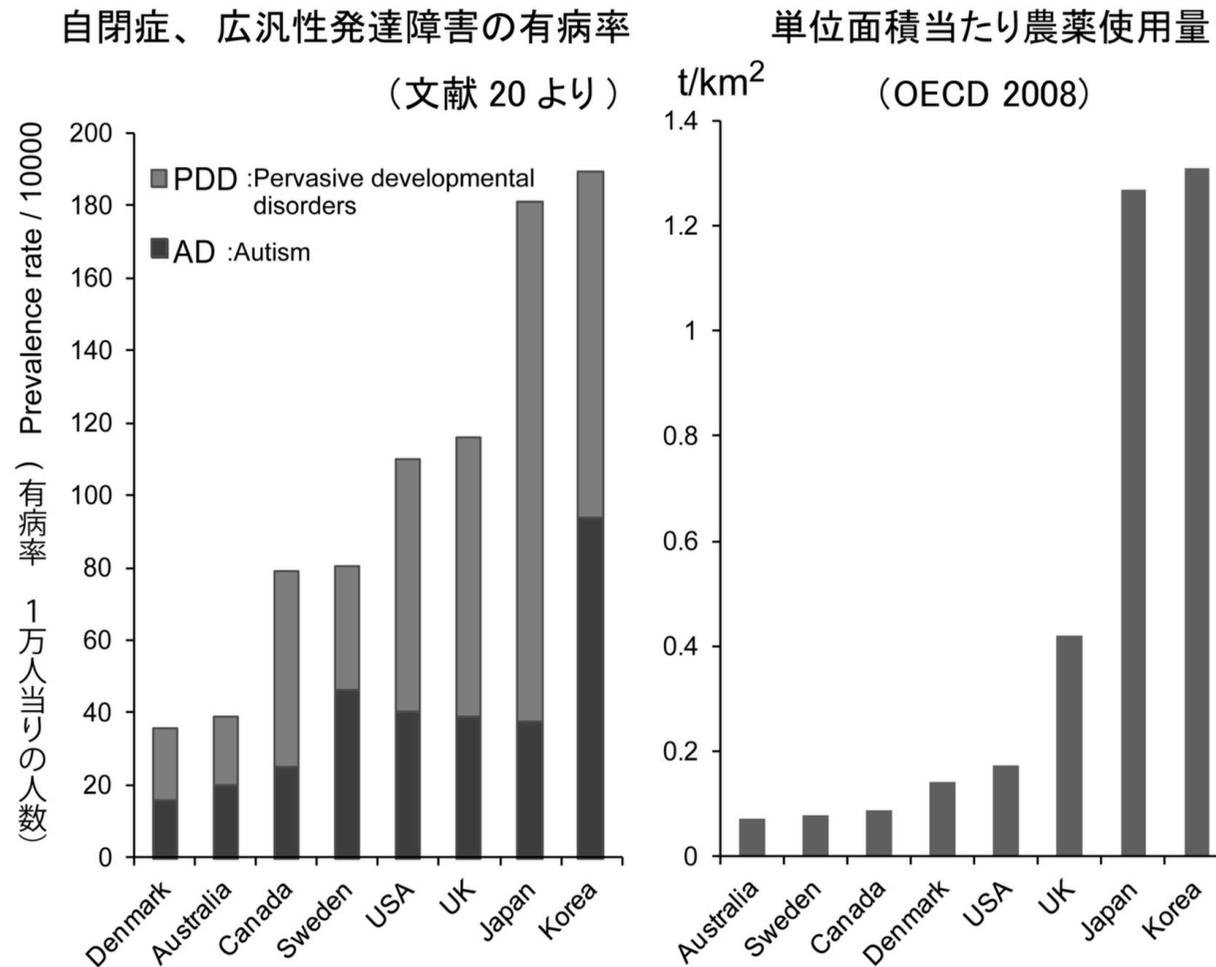
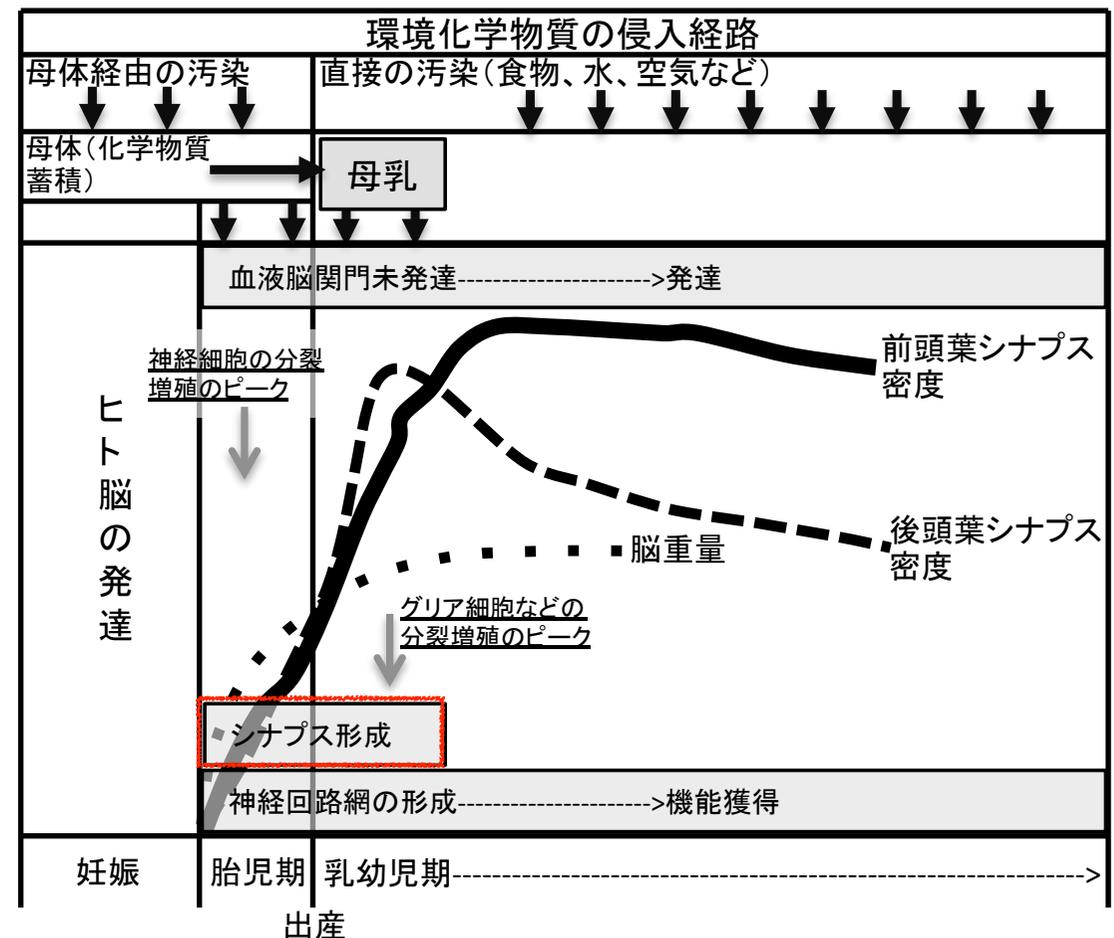


図3 日本の農薬使用の実態：単位面積当たりの国別農薬使用量

PDD は広汎性発達障害、AD は自閉性障害。日本は単位面積あたりでは、米国の約7倍も農薬を使用している。

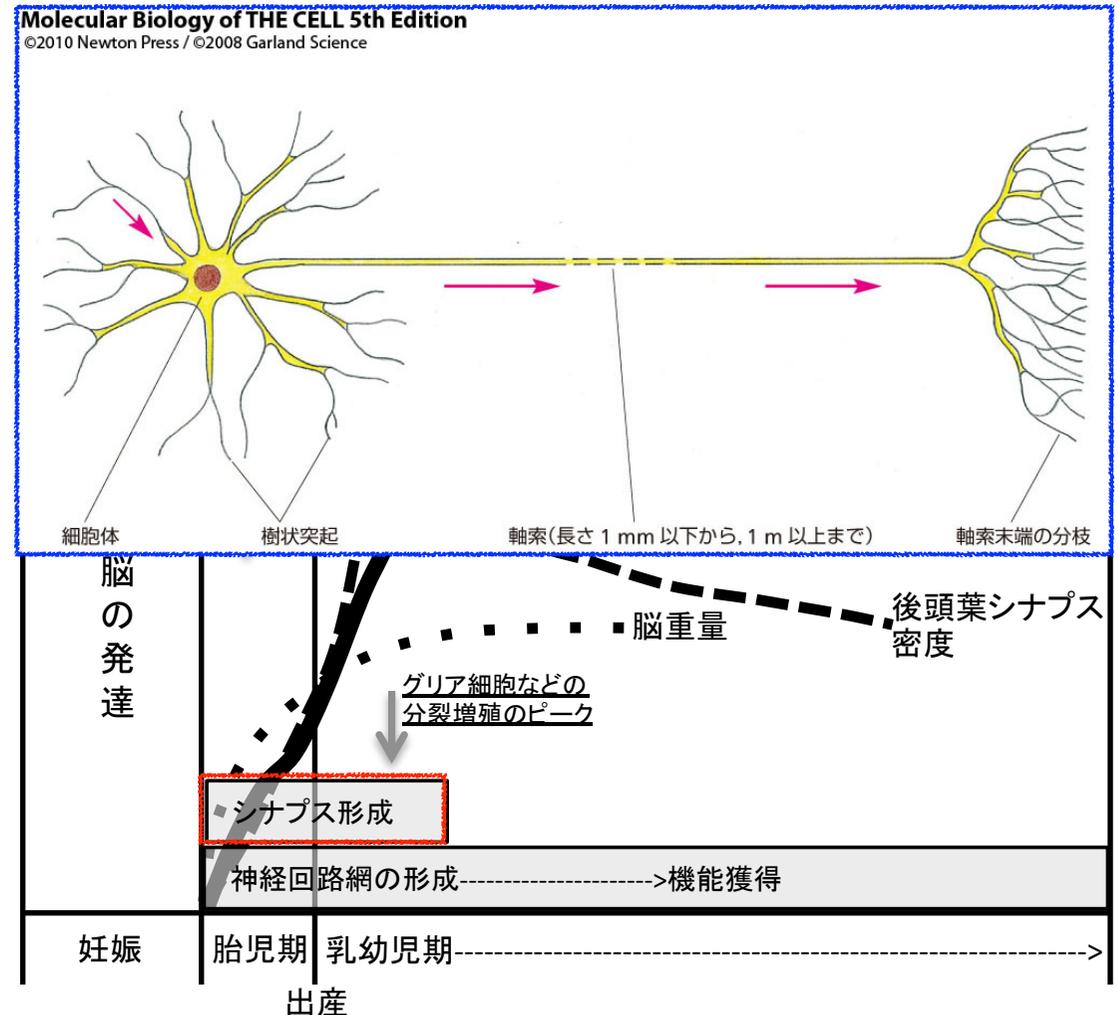
発達障害発症の原因は何か

- 周産期に脳は著しく発達する。
- 重要なのは、いかにシナプスが正常に形成されるか、である。異なるシナプス形成が阻害されると、異なる障害を誘起すると考えられている。
- このような脳発達は、脳内の環境とそれによって制御される遺伝子発現に大きく依存している。
- 環境と遺伝子発現の相互作用は、まさしくエピジェネティクスである。



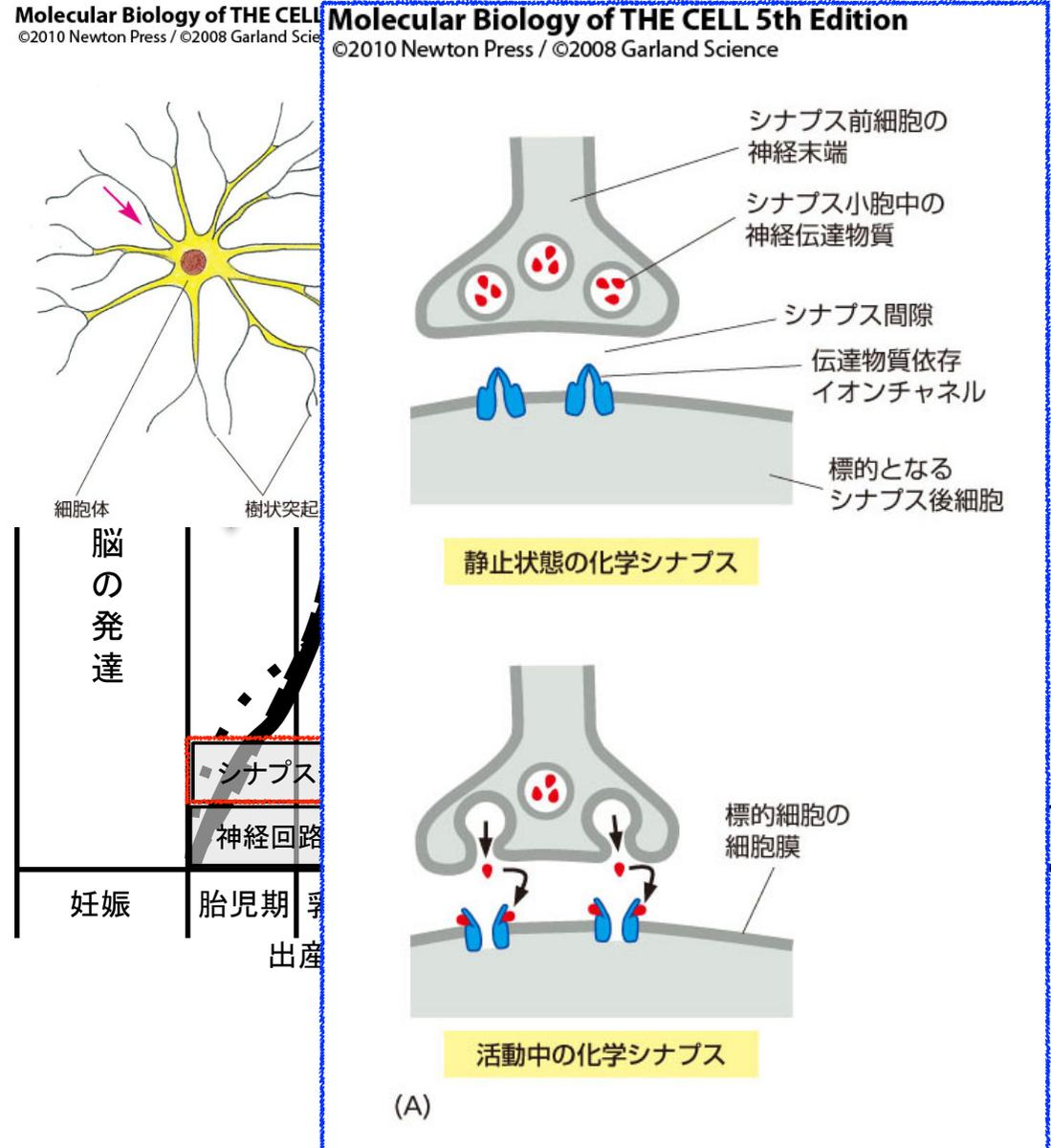
発達障害発症の原因は何か

- 周産期に脳は著しく発達する。
- 重要なのは、いかにシナプスが正常に形成されるか、である。異なるシナプス形成が阻害されると、異なる障害を誘起すると考えられている。
- このような脳発達は、脳内の環境とそれによって制御される遺伝子発現に大きく依存している。
- 環境と遺伝子発現の相互作用は、まさしくエピジェネティクスである。



発達障害発症の原因は何か

- 周産期に脳は著しく発達する。
- 重要なのは、いかにシナプスが正常に形成されるか、である。異なるシナプス形成が阻害されると、異なる障害を誘起すると考えられている。
- このような脳発達は、脳内の環境とそれによって制御される遺伝子発現に大きく依存している。
- 環境と遺伝子発現の相互作用は、まさしくエピジェネティクスである。



化学物質が高次脳機能に及ぼす影響 ～発達障害に関連すると思われる事例～

- ・ 親ラットにサリドマイド（抗てんかん薬）を投与すると仔ラットの学習能力が低下する。
- ・ バルプロ酸は知的障害を引き起こす（ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤）
- ・ 有機リン系農薬が自閉症、注意欠陥多動性障害（ADHD）、IQ低下による知的障害の原因となる。
- ・ 水銀化合物が自閉症、ADHD発症に関与している（血中の甲状腺ホルモン量と負の相関）。
- ・ PCBに暴露されると子のIQが6～7歳時で5ポイント低下する。知的障害、多動性の原因となる。
- ・ 血中PCB濃度が高いサルから産まれた子ザルは社会行動や母子間の行為に異常が生じる。
- ・ ネオニコチノイド系農薬によって働きバチに異常行動が生じる。

化学物質が高次脳機能に及ぼす影響 ～発達障害に関連すると思われる事例～

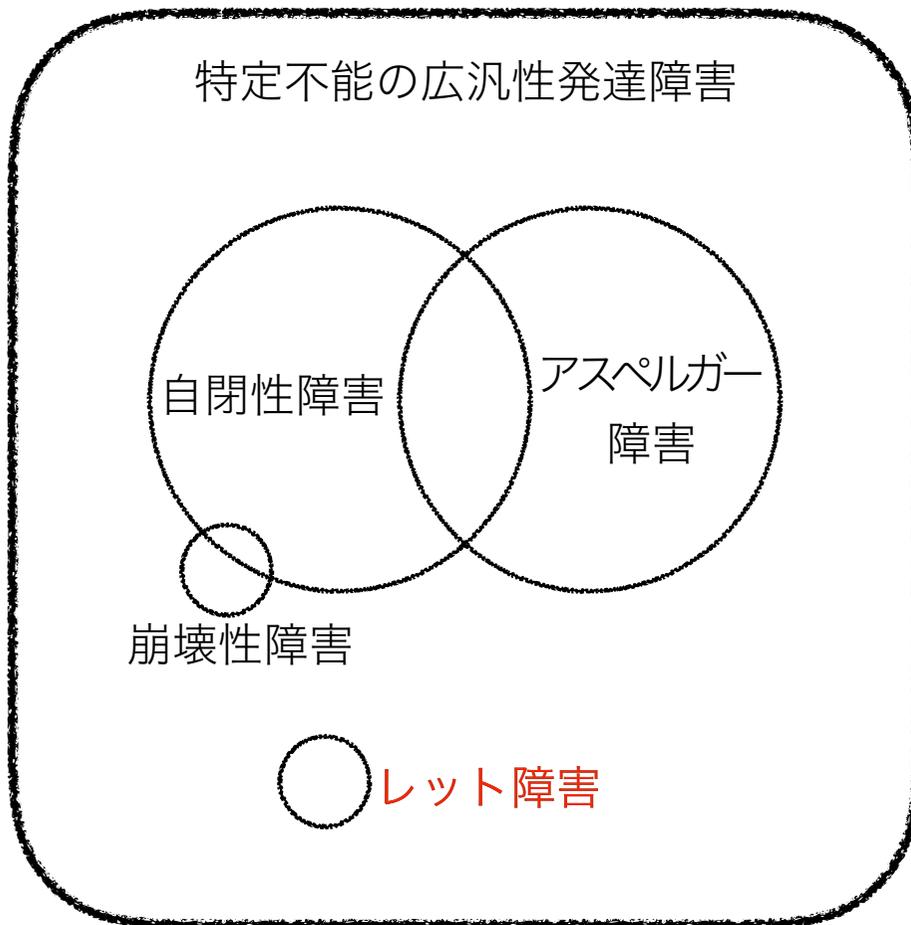
- ・ 親ラットにサリドマイド（抗てんかん薬）を投与すると仔ラットの学習能力が低下する。
- ・ このような影響が、エピジェネティクスを背景として起こることは重要な問題を孕んでいる。
- ・ バルプロ酸は知的障害を引き起こす（ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤）
- ・ 有機リン系農薬が自閉症、注意欠陥多動性障害（ADHD）、IQ低下による知的障害の原因となる。
- ・ DNAのメチル化やヒストンタンパク質のアセチル化、メチル化、リン酸化などのエピジェネティックな制御は、化学修飾であり、胎児期にいったん起こると多くが一生引き継がれるため影響が大きい。
- ・ 水銀化合物が自閉症、ADHD発症に関与している（血中の甲状腺ホルモン量と負の相関）。
- ・ PCBに暴露されると子のIQが6～7歳時で5ポイント低下する。知的障害、多動性の原因となる。
- ・ DNAのメチル化は領域によっては、さらに次世代まで引き継がれる可能性がある。
- ・ 血中の濃度が高い場合は、社会活動や子問の行動に異常が生じる。
- ・ 有機リン系農薬は多動性や異常行動が生じる。

発達障害が発症する原因は？

- 脳発達（シナプスの正常な形成など）が、遺伝子発現と脳内環境に依存するのならば、その原因となる遺伝子が存在するはずだろう。

発達障害が発症する原因は？

広汎性発達障害



DSM-IV-TR

- 自閉症様症状を併発するレット症候群の原因遺伝子は、DNAのメチル化を抑制して遺伝子発現を攪乱するエピジェネティックな異常に関係する遺伝子であることが明らかになった。
- 知的障害をおこす脆弱X症候群の原因遺伝子はシナプス形成に関わる遺伝子であることが明らかになった。
- では広い意味での発達障害の原因となる遺伝子は明らかになっているのか？

自閉症スペクトラム障害の原因遺伝子は？

- シナプス結合の接着や言語発達に関わるタンパク質をコードする遺伝子が有望とされた時期があったが、自閉症に普遍的ではなく、「原因」遺伝子とはいえなかった。
- 現在のところ、「原因」遺伝子だけでなく、有力な「関連」遺伝子も見つかっていない。
- 「関連」遺伝子の数は、数百から数千にのぼると考えられている。

自閉症スペクトラム障害の関連遺伝子は？

- 関連遺伝子などに関する情報を提供しているデータベースが存在する。
- SFARIには現在、約860種の関連遺伝子が登録されている。

✓	Unique ID	Gene Symbol	Gene Name	Chromosome Loc	Genetic Category	# of Reports	Primary Reference	Display
✓	GEN268	ABAT	4-aminobutyrate aminotransferase	16	Genetic Association	4	15830322	Edit
✓	GEN749	ABCA10	ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 10	17	Rare single gene variant	1	23352160	Edit
✓	GEN590	ABCA7	ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 7	19	Rare single gene variant	2	24360806	Edit
✓	GEN822	ACE	angiotensin I converting enzymeA	17	Rare single gene variant	2	27082837	Edit
✓	GEN771	ACHE	Acetylcholinesterase (Yt blood group)A	7	Rare single gene variant	4	26402605	Edit
✓	GEN672	ACTN4	Actinin, alpha 4	19	Rare single gene variant	3	25549968	Edit
✓	GEN573	ACY1	Aminoacylase 1	3	Syndromic	5	20480396	Edit
✓	GEN002	ADA	adenosine deaminase	20	Genetic Association	5	11354825	Edit
✓	GEN567	ADAMTS18	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif, 18	16	Rare single gene variant	1	23356391	Edit
✓	GEN407	ADARB1	Adenosine deaminase, RNA-specific, B1	21	Functional	2	22869036	Edit
✓	GEN470	ADCY5	Adenylate cyclase 5	3	Rare Single Gene variant	4	22495309	Edit
✓	GEN274	ADK	adenosine kinase	10	Rare Single Gene variant	1	21937992	Edit
✓	GEN471	ADNP	Activity-dependent neuroprotector homeobox	20	Rare Single Gene variant	17	22495309	Edit
✓	GEN003	ADORA2A	adenosine A2a receptor	22	Syndromic	7	19565319	Edit
✓	GEN562	ADORA3	Adenosine A3 receptor	1	Functional	2	23953133	Edit
✓	GEN004	ADRB2	adrenergic, beta-2-, receptor, surface	5	Genetic Association	10	17199132	Edit
✓	GEN005	ADSL	adenylosuccinate lyase	22	Rare Single Gene variant	5	15471876	Edit
✓	GEN289	AFF2	AF4/FMR2 family, member 2	X	Syndromic	13	9034011	Edit
✓	GEN006	AFF4	AF4/FMR2 family, member 4	5	Rare Single Gene variant	7	22495306	Edit
✓	GEN047	AGAP1	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 1	2	Rare Single Gene variant, Genetic Association	8	15892143	Edit
✓	GEN333	AGBL4	ATP/GTP binding protein-like 4	1	Rare Single Gene variant	3	20531469	Edit
✓	GEN253	AGMO	alkylglycerol monooxygenase	7	Genetic Association	5	17363630	Edit
✓	GEN007	AGTR2	angiotensin II receptor, type 2	X	Rare Single Gene variant	3	12089445	Edit
✓	GEN824	AHDC1	AT-hook DNA binding motif containing 1	1	Syndromic	6	25363768	Edit
✓	GEN008	AHI1	Abelson helper integration site 1	6	Rare Single Gene variant	17	18782849	Edit
✓	GEN761	AKAP9	A kinase (PRKA) anchor protein 9A	7	Rare single gene variant	4	26402605	Edit
✓	GEN510	ALDH1A3	Aldehyde dehydrogenase 1 family, member A3	15	Syndromic	5	23312594	Edit
✓	GEN009	ALDH5A1	aldehyde dehydrogenase 5 family, member A1 (succinate-semialdehyde dehydrogenase)	6	Syndromic	8	12743223	Edit
✓	GEN830	ALG6	ALG6, alpha-1,3-glucosyltransferase	1	Syndromic	1	27287710	Edit
✓	GEN010	ALOX5AP	arachidonate 5-lipoxygenase-activating protein	3	Functional	4	16709250	Edit
✓	GEN631	AMPD1	Adenosine monophosphate deaminase 1	1	Genetic association	3	24189344	Edit
✓	GEN526	AMT	Aminomethyltransferase	3	Rare single gene variant	1	23352163	Edit
✓	GEN587	ANK2	Ankyrin 2, neuronal	4	Rare Single Gene variant	9	22542183	Edit
✓	GEN406	ANK3	Ankyrin 3, node of Ranvier (ankyrin G)	10	Genetic Association	19	22865819	Edit
✓	GEN011	ANKRD11	ankyrin repeat domain 11	16	Rare Single Gene variant	26	18252227	Edit
✓	GEN673	ANKS1B	Ankyrin repeat and sterile alpha motif domain containing 1B	12	Rare single gene variant	1	25549968	Edit
✓	GEN609	ANXA1	Annexin A1	9	Rare single gene variant	2	24720851	Edit

Funding Opportunities



SFARI Explorer Awards - Applications

Cohorts



SFARI Gene

Autism Models



Autism BrainNet

自閉症スペクトラム障害の関連遺伝子は？

- シナプス関連因子
 - 細胞接着因子
 - シナプス接着因子
- 神経伝達・ホルモン関連因子
 - 神経伝達物質受容体
 - ホルモン受容体（甲状腺ホルモン受容体、オキシトシン受容体含む）
- 細胞内シグナル伝達・代謝系因子
 - 細胞増殖関連因子
- エピジェネティック・転写調節因子
 - DNAメチル化関連因子

自閉症スペクトラム障害の関連遺伝子は？

• CHD8

- 胎児期にクロマチン構造を制御する役割を持つタンパク質である。
- ヒトの自閉症患者で変異が多い。
- マウスでこの遺伝子に変異を起こすと自閉症とよく似た症状を呈する。

LETTER

doi:10.1038/nature19357

CHD8 haploinsufficiency results in autistic-like phenotypes in mice

Yuta Katayama¹, Masaaki Nishiyama¹, Hiroataka Shoji², Yasuyuki Ohkawa³, Atsuki Kawamura¹, Tetsuya Sato⁴, Mikita Suyama⁴, Toru Takumi⁵, Tsuyoshi Miyakawa² & Keiichi I. Nakayama¹

Autism spectrum disorder (ASD) comprises a range of neurodevelopmental disorders characterized by deficits in social interaction and communication as well as by restricted and repetitive behaviours¹. ASD has a strong genetic component with high heritability. Exome sequencing analysis has recently identified many *de novo* mutations in a variety of genes in individuals with ASD^{2,3}, with *CHD8*, a gene encoding a chromatin remodeller, being most frequently affected⁴⁻⁸. Whether *CHD8* mutations are causative for ASD and how they might establish ASD traits have remained unknown. Here we show that mice heterozygous for *Chd8* mutations manifest ASD-like behavioural characteristics including increased anxiety, repetitive behaviour, and altered social behaviour. *CHD8* haploinsufficiency did not result in prominent changes in the expression of a few specific genes but instead gave rise to small but global changes in gene expression in the mouse brain, reminiscent of those in the brains of patients with ASD. Gene set enrichment analysis revealed that neurodevelopment was delayed in the mutant mouse embryos. Furthermore, reduced expression of *CHD8* was associated with abnormal activation of RE-1 silencing transcription factor (REST), which suppresses the transcription of many neuronal genes. REST activation was also observed in the brains of humans with ASD, and *CHD8* was found to interact physically with REST in the mouse brain. Our results are thus consistent with the notion

macrocephaly of ASD patients with *CHD8* mutations^{7,8}. In addition, mutant mice had a shorter intestine and tended to manifest slower intestinal transit (Extended Data Fig. 3d), consistent with gastrointestinal defects in humans and zebrafish with *CHD8* mutations⁸.

A range of behavioural tests (Supplementary Tables 1, 2) revealed that the mutant mice manifested increased anxiety (Fig. 1c-f), similar to findings with patients with ASD and other ASD model mice¹⁵⁻¹⁸, whereas they showed no apparent change in general health (Extended Data Fig. 3e-h) and motility (Fig. 1g).

We examined the acoustic startle response and prepulse inhibition (PPI). Both of the *Chd8* mutant mice showed a lower acoustic startle response (Extended Data Fig. 4a) as well as increased PPI for 74- or 78-dB prepulses before a 120-dB startle stimulus (Extended Data Fig. 4b), revealing that *Chd8* mutation affects both sensorimotor arousal and gating.

We next evaluated learning and memory in *Chd8* mutant mice. The T-maze forced-alternation test revealed that *Chd8*^{+/-ΔL} mice did not show any change in memory compared with wild-type mice (Fig. 2a, b). The T-maze left-right discrimination test showed that the percentage of correct responses was reduced for *Chd8*^{+/-ΔL} mice after directional reversal compared with control animals (Fig. 2c), suggesting that the mutant mice exhibit increased persistence reminiscent of ASD in humans and other model mice^{15,19}.

出典：Katayama et al., 2016 Nature

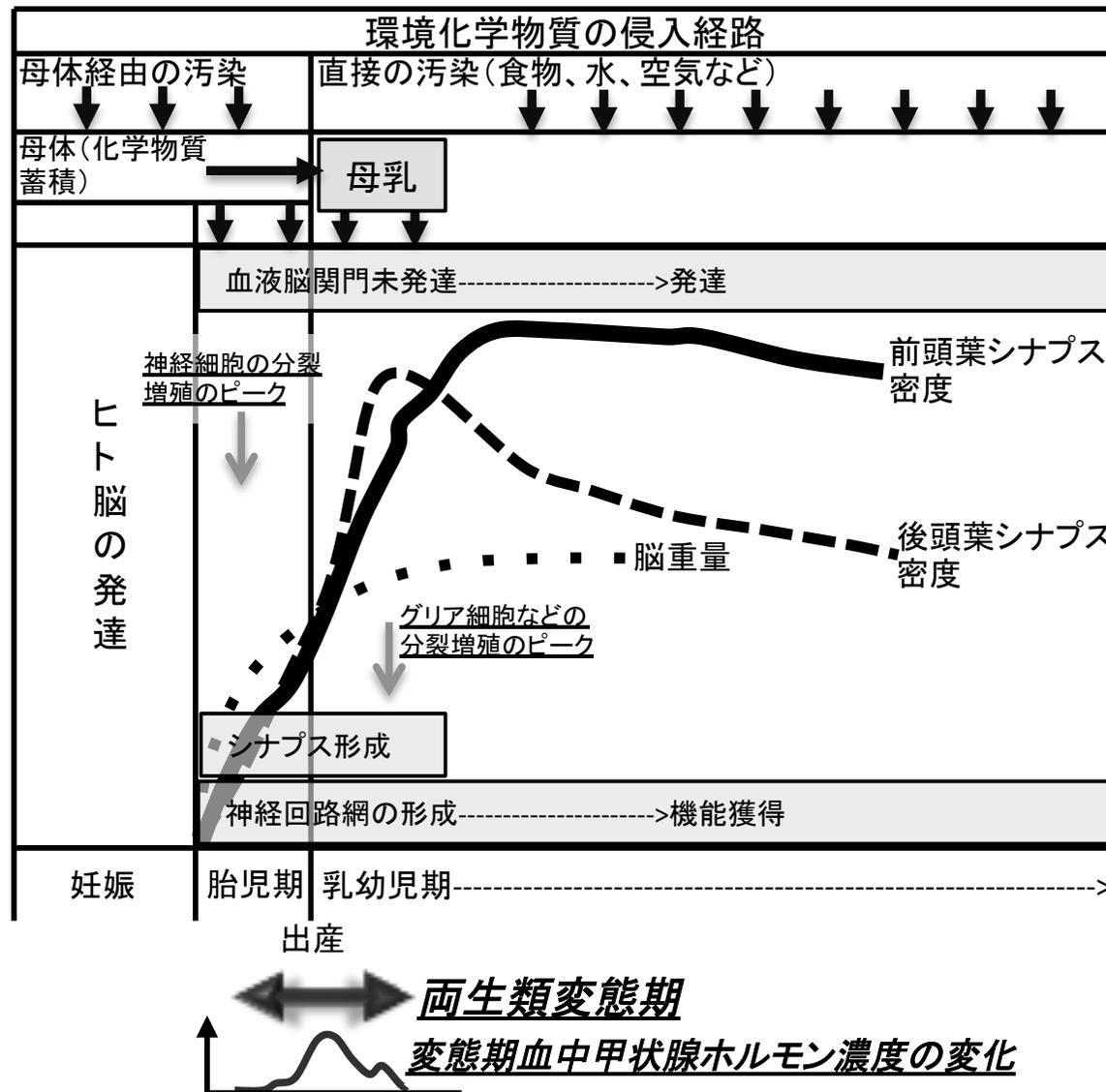
自閉症スペクトラム障害の関連遺伝子は？

- ・ シナプス関連因子
 - ・ 細胞接着因子
 - ・ シナプス接着因子
- ・ 神経伝達・ホルモン関連因子
 - ・ 神経伝達物質受容体
 - ・ ホルモン受容体（甲状腺ホルモン受容体、オキシトシン受容体含む）
- ・ 細胞内シグナル伝達・代謝系因子
 - ・ 細胞増殖関連因子
- ・ エピジェネティック・転写調節因子
 - ・ DNAメチル化関連因子

シナプス関連因子、神経伝達・ホルモン関連因子、細胞内シグナル伝達・代謝系因子、いずれの遺伝子群も「ある因子」によって転写の調節を受けていると考えられる。

エピジェネティック・転写調節因子は、発症メカニズムを考えたとき最も上位の階層に位置し、その他の因子を調節しているのではないか？
今後の研究に期待がかかる。

両生類を用いた研究の可能性



- 両生類の変態期は哺乳類の周産期に相当する。
- 変態は甲状腺ホルモンによって容易に誘起可能であるため、ホルモン作用、ホルモン攪乱作用を検討しやすい。
- 水槽にホルモンや化学物質を添加することで容易に曝露が可能である（哺乳類の場合、胎生であるので、仔に対する直接的な評価は難しい）。
- 実際に以前の研究で、変態期両生類の脳内で、ホルモンによって変動する遺伝子発現を水酸化PCBが攪乱したことを報告した（細胞の分化や移動、接着、つまり脳発達に関与する遺伝子群など）。

治療・予防の可能性

- ・ クレチン症（先天性甲状腺機能低下症）
 - ・ 甲状腺ホルモンが生まれつき不足して起きる疾患である。
 - ・ 母親のヨウ素摂取不足が原因？
 - ・ 放置すると知的障害を併発する。
 - ・ 甲状腺ホルモンを投与（内服）することによって治療が可能である。

治療・予防の可能性

- クレチン症：ヨード（ヨウ素）剤の投与によって予防が可能。
- 毒性を持つ化学物質の摂取を避けることによる予防：農薬など（日本は農薬の規制が甘い）
- PCBやダイオキシンなど残留性の高いものは注意：クジラやイルカの肉（特に脂身）は要注意

環境ホルモンは未来を奪ったか？

- 当初は生殖系に影響を及ぼすものとして注目された。
- 野外生物において、そういった実例が多く報告された
- 「内分泌攪乱」作用を有するとして命名された環境ホルモンであるが、近年あまり耳にしなくなった。
- そういった化学物質が内分泌を攪乱する作用だけではないことが明らかになってきた。

環境ホルモンは未来を奪ったか？

- エピジェネティックな攪乱作用が注目されるようになってきた。
- 発達障害など、直接的な原因を探りにくいところに影響を及ぼしている可能性がある。
- エピジェネティックな作用は世代をまたぐ可能性がある。

環境ホルモンは未来を奪ったか？（私見）

- 人々の気づきにくいところで、ひっそりと未来を奪いつつある、次のフェーズに移行している。
- 環境要因（特に環境中の化学物質や喫煙などの生活習慣）に左右されるのであれば、自己防衛できる部分もある。

誰もが生きやすい社会に

- 2016年7月26日 相模原障害者施設殺傷事件
- 津久井やまゆり園：知的障害者福祉施設
- 19人が死亡、26人が重軽傷
- 第二次世界大戦後の日本で発生した殺人事件としては犠牲者が最も多い
- 犯人は「障害者なんていなくなればいい」と供述（優生思想）

誰もが生きやすい社会に

障害を持つ息子へ

～息子よ。そのまま、いい。～

息子よ。
そのまま、いい。
それで、うちの子。
それが、うちの子。
あなたが生まれてきて
くれてよかった。

神戸金史
Kanbe Kanetsumi

「障害者なんていなくなればいい」
犯人はそう言った。
相模原殺傷事件に、障害児の親は、
兄弟は何を思ったのか。
感動を呼んだ父の詩と、
自閉症の息子をめぐる愛の物語。

「この本が、この時代の日本に
『ある』ということが嬉しい」

——重松清氏推薦!

ブックマン社