

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19719

研究課題名(和文) 実用的な診断および薬物治療反応性評価を可能とするADHDの新規バイオマーカー探索

研究課題名(英文) Development of new biomarker for diagnosis and pharmacological treatment response prediction of ADHD

研究代表者

篠山 大明(SASAYAMA, Daimei)

信州大学・学術研究院医学系・准教授

研究者番号：90447764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、衝動性、多動性を特徴とする神経発達症である注意欠如・多動症(ADHD)の診断や病態機序の解明に有用なバイオマーカーの探索を目的とした。ADHDがある子どもとADHDがない子どもに対し、各種心理検査、症状評価スケール、注意機能検査(IVA-CPT)などによる臨床評価を行い、さらに唾液を採取し唾液中サイトカインおよびコルチゾールの測定を行った。その結果、小児における唾液中サイトカイン濃度の日内変動の特徴などの新たな知見が得られ、さらに、衝動統制力および注意集中力が起床時コルチゾール値と負の相関を示す可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed to develop a new biomarker for diagnosing and understanding the pathogenesis of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD). Children with and without ADHD were administered psychological tests, symptom rating scales, and IVA-CPT. Salivary cytokine and cortisol levels were measured. Our results showed that many of the salivary cytokines in children exhibit diurnal variation. Furthermore, we showed that response control and attention were significantly negatively correlated with awakening cortisol levels.

研究分野：精神医学

キーワード：注意欠如・多動症 サイトカイン コルチゾール 唾液

### 1. 研究開始当初の背景

注意欠如・多動症(ADHD)は不注意、衝動性、多動性を特徴とする神経発達症で、学齢期の子どもの有病率は3-7%といわれている。ADHDを有する子どもは学校生活や社会生活においてしばしば困難が生じるため、支援体制の充実が喫緊の課題である。通常の学級に在籍しつつも特別な教育的支援を必要とする児童生徒も多く、近年、社会的な関心が高まっている。

ADHDの診断の客観的な指標は存在しないため、診断は行動観察や保護者等から情報を得ることで行われている。不注意、多動・衝動性が複数の場面で日常生活に困難を来す場合に診断される。

治療は薬物療法と教育・療育的支援の併用が一般的である。とくに学齢期のADHD患者に対するメチルフェニデート治療は中核症状の劇的な改善をもたらすことがあり、メタ解析でも1.5以上の非常に大きな効果量が得られている。一方で、一部の患者ではメチルフェニデートが無効であり、また、消化器症状、頭痛、不眠などの有害事象により内服継続が困難な症例もある。従って、臨床現場では症例ごとに薬物療法の必要性を見極めることが極めて重要である。

精神疾患のバイオマーカーを特定するための研究は世界中で行われているが、診断補助に有用な再現性のある臨床バイオマーカーはほとんどみつかっていない。同じ診断を受けている患者群の中でも、特定のマーカーに変化がみられる患者は一部に過ぎないため、臨床応用にはなかなか至らないのが現状である。

精神疾患のバイオマーカー探索を困難にする大きな要因は、既存の精神障害の分類が臨床像の記述による操作的診断にて行われるため、生物学的に多様なものが一つの障害として一括りにされていることである。同じ精神科的診断であっても生物学的には多様であるため、発症機序は多様であり薬物治療への反応も多様である。従って、既存の精神障害の分類では、同じ診断を受けた群であっても共通のバイオマーカーは見出せない可能性が高い。それ故に、精神疾患バイオマーカーの開発は容易ではない。

一方で、上述したように、大部分のADHD患者はメチルフェニデートによる薬物治療に極めて良好な反応を示す。メチルフェニデートに良好な反応を示す一群は共通の機序がADHDの要因となっていると考えられ、生物学的には比較的均一な群であることが示唆されるため、バイオマーカー開発には適した対象であると考えられる。ADHDにはすでにいくつかの末梢バイオマーカー候補が報告されている。しかし、いずれも現在は臨床応用に至っていないため、実際の診断は行動観察や保護者等から情報を得ることで行われている。有用なバイオマーカーを特定し診断の客観的な指標とすることができれば、よ

り的確な診断と薬物治療対象者の選択が可能となる。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、ADHDがある子どもの(1)新規診断法の開発、(2)治療反応性の予測、(3)病態機序の解明に有用なバイオマーカーの探索である。ADHDがある子どもに対し、薬物治療開始前後でバイオマーカー候補物質を測定し、臨床的特徴及び治療反応性との関連と薬物投与による影響を調べることを目指した。

### 3. 研究の方法

#### (1) 概要

ADHDの診断基準を満たす子ども(6歳~19歳)を対象に、各種心理検査、ADHD評価スケール(ADHD-RS)、注意機能検査(Integrated Visual and Auditory Continuous Performance Test; IVA-CPT)を実施し、一部の対象者に対してメチルフェニデートが行われ、効果判定が実施された。当初予定していたプロトコルである複数回の血液採取には抵抗が強い子どもが多く、研究目的である実用的なバイオマーカーの開発という主旨からは、より採取が容易である検査の必要性が考えられた。そこで、プロトコルの変更を行い、採取が容易な唾液サンプルを用いて薬物治療反応性評価を可能とするバイオマーカー探索を行うこととし、新プロトコルを作成し唾液検査を実施できる検査体制を整えた。唾液中コルチゾール、サイトカインなど、発達障害との関連が言われている物質に加え、ストレスの軽減という視点でのメチルフェニデートの治療効果を評価するプロトコルを作成した。ADHDがある子どもおよび比較対象群としてADHDがない子どもの唾液を採取し、唾液中コルチゾールおよび各種サイトカインの濃度の測定を行った。

#### (2) 対象

ADHD群：

- ・ADHDの診断基準を満たす。
- ・年齢が満6歳から満19歳である。

対照群：

- ・ADHDの診断基準を満たさない。
- ・年齢が満6歳から満19歳である。

#### (3) 臨床評価

- ・症状評価(ADHD-RS, 各種心理検査)
- ・注意機能検査(IVA-CPT)

#### (4) 唾液採取

IVA-CPT 施行日の朝起床後および10 - 11時の計2回、それぞれ約1ml採取した。

#### (5) 測定

唾液中コルチゾールの測定は市販のELISAキットにて行った。唾液中サイトカインは、マルチプレックススィムノアッセイにて27種

類( FGF basic, Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70) , IL-13, IL-15, IL-17, IP-10, MCP-1 (MCAF) , MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , PDGF-BB, RANTES, TNF- $\alpha$ , VEGF ) を同時測定した。

#### 4. 研究成果

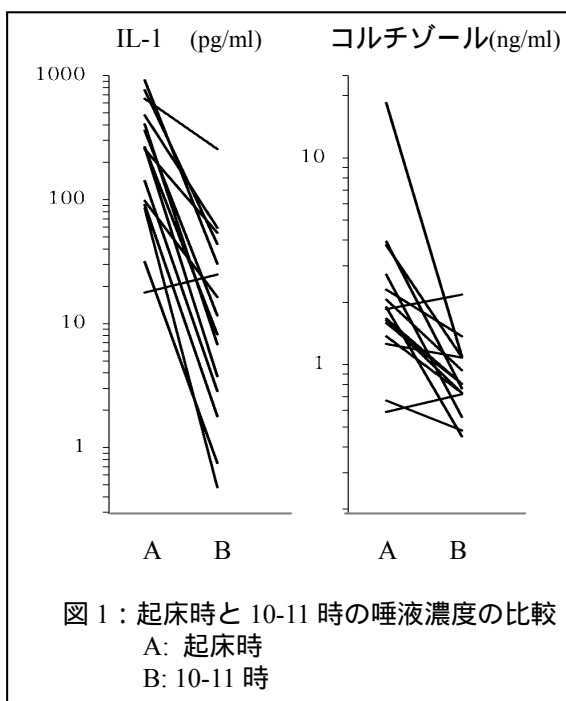
##### (1) 結果

これまでに ADHD 群 11 名 ( 男児 7 名、女児 4 名 ; 平均年齢 ( 標準偏差 ) 10.6 ( 2.3 ) ; ADHD-RS 23.6 ( 8.4 ) ) , 非 ADHD 群 4 名 ( 男児 1 名、女児 3 名 ; 平均年齢 ( 標準偏差 ) 7.8 ( 2.9 ) ; ADHD-RS 11.0 ( 6.7 ) ) の唾液を、それぞれ起床後と午前 10-11 時に採取し、そこに含まれるサイトカイン及びコルチゾールの分析を行った。また、一部の対象者においては縦断的な変化を調べるために複数日に渡り唾液採取を行った。

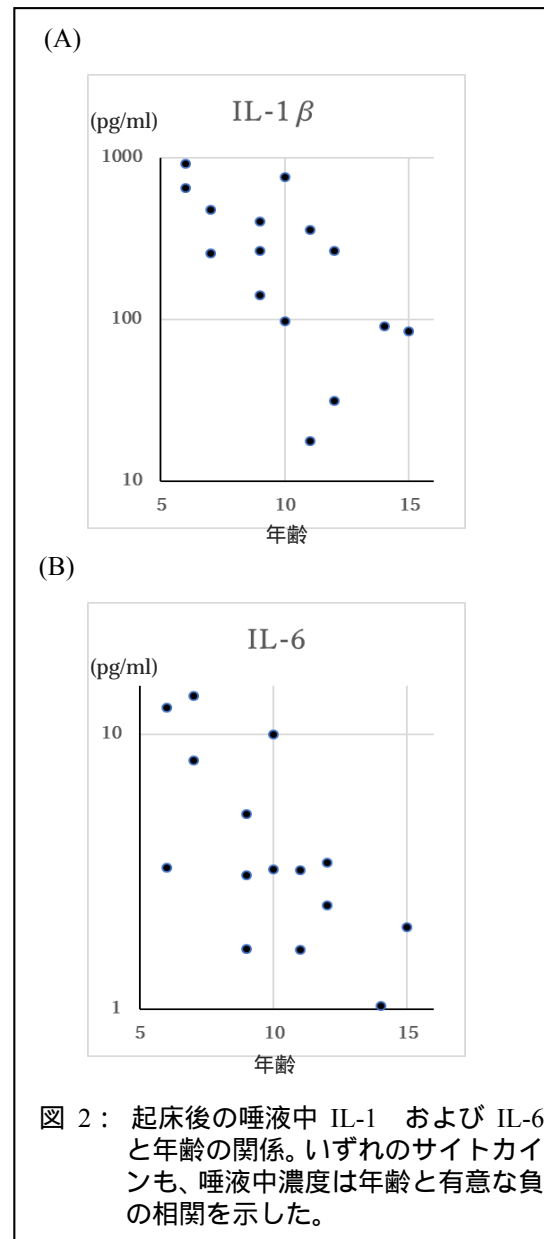
27 種類のうち 23 種類のサイトカインにおいて、50%以上のサンプルで濃度を検出できた。23 種類中 18 種類のサイトカインは起床時に採取した唾液と比較して 10-11 時に採取した唾液で有意に濃度が低下していた ( Wilcoxon の順位和検定にて  $P < 0.05$  ) 。また 16 種類のサイトカインにおいて、唾液濃度と年齢との間に有意な負の相関を認めた ( Spearman 順位相関検定にて  $P < 0.05$  ) 。性別による有意な差は認めなかった。

コルチゾールも起床時に採取した唾液と比較して 10-11 時に採取した唾液で有意に濃度が低下していた ( Wilcoxon の順位和検定にて  $P = 0.002$  ) 。10-11 時に採取した唾液では、コルチゾール濃度と年齢との間に有意な正の相関を認めた ( Spearman 順位相関検定にて  $P = 0.031$  ) 。

図 1 に全被検者における IL-1 とコルチゾールの起床時と 10-11 時の唾液濃度を示す。



年齢と IL-1 および IL-6 濃度との関係を図 2 に示す。



ADHD 群と非 ADHD 群の比較では、多重検定の補正後も有意な濃度差を示すサイトカインは認めなかった。コルチゾール濃度も ADHD 群と非 ADHD 群の間に有意な相関は認めなかった。また、IVA-CPT で測定した反応統制力と注意集中度に関して、多重検定の補正後も有意な相関を示すサイトカインは認めなかった。一方で、起床時のコルチゾール値は、反応統制力と有意な負の相関を認め ( Spearman 順位相関係数  $\rho = -0.72$ ,  $P = 0.004$  ) 。また、注意集中度とも有意ではないが負の相関を認めた ( Spearman 順位相関係数  $\rho = -0.49$ ,  $P = 0.074$  ) 。年齢の影響を取り除くため、コルチゾール値が正規分布に近づくように Log 変換した後、年齢を調整した偏相関解析を行ったところ、反応統制力、注意集中度とも起床時のコルチゾール濃度と有意な負の相関を

示した（反応統制力:  $r = -0.81, P < 0.001$ ; 注意集中力:  $r = -0.64, P = 0.018$ ）、起床時のコルチゾール濃度と反応統制力および注意集中力との関係を、図3に示す。

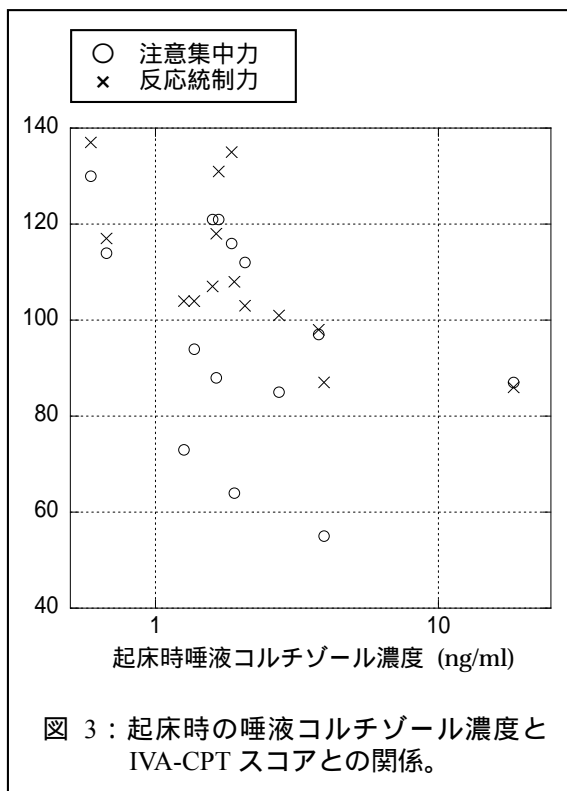


図3：起床時の唾液コルチゾール濃度とIVA-CPTスコアとの関係。

Oda, Takehiko Yasaki, Yoshiyuki Yamada, Nobuhiro Sugiyama, Yuji Inaba, Yuzuru Harada, Shinsuke Washizuka, Hideo Honda. Association between peripheral cytokine levels and cognitive abilities in children with autism spectrum disorder. CINP 2016 Seoul World Congress, Seoul, Republic of Korea, July 4, 2016

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

篠山 大明 (SASAYAMA, Daimei)

信州大学・学術研究院医学系・准教授

研究者番号：90447764

## (2) 結論

サンプル数が不十分であったため、ADHD群とコントロール群、メチルフェニデート使用群と未使用群の比較における統計的な有意差は得られていないが、本研究によって小児における唾液中サイトカイン濃度の日内変動の特徴などの新たな知見が得られた。また、客観的な衝動統制力および注意集中力の指標が起床時コルチゾール値に相関することを示唆する結果が得られた。今後、サンプル数を増やして評価を行うことによって、ADHDの診断や臨床評価を可能とする唾液バイオマーカーの開発につながる成果を得られることが期待できる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

1. Sasayama D, Kurahashi K, Oda K, Yasaki T, Yamada Y, Sugiyama N, Inaba Y, Harada Y, Washizuka S, Honda H. Negative Correlation between Serum Cytokine Levels and Cognitive Abilities in Children with Autism Spectrum Disorder. J Intell. 2017 May;5(2):19. (査読あり)

〔学会発表〕(計1件)

1. Daimei Sasayama, Kana Kurahashi, Kayoko