

(様式1)

「連合小児発達学研究所連5大学子どものこころの研究センターによる国際拠点形成とOUエ
コシステムアジア展開」関連事業 若手人材育成部会 報告書 (令和5年度)

令和 6 年 5 月 10 日

採択者	
ふりがな	はた なつき
氏名	畑 菜都希
所属	大阪大学連合小児発達学研究所 福井校
職名	大学院生
学位取得年	2023年3月31日 (修士)
連絡先E-mail	hatana@u-fukui.ac.jp
研究題目と研究実績の概要	
研究題目名：臍帯血中可溶性エポキシド加水分解酵素と出生後自閉スペクトラム症特性の相関解析 (Correlation Analysis of Soluble Epoxide Hydrolase in Cord Blood and Postnatal Autism Spectrum Disorder)	
実績概要： 自閉スペクトラム症 (autism spectrum disorder: ASD) は社会的コミュニケーションの障害、興味 の限局と常同的・反復的行動を特徴とする神経発達症である。有病率は高まっているが、病態は不明 であり、ASD早期診断に資する生物学的指標は未だ存在しない。近年、ASD特性に関連する分子と して可溶性エポキシド加水分解酵素 (soluble epoxide hydrolase: sEH) が注目されている。多価 不飽和脂肪酸由来の代謝物であるエポキシ脂肪酸 (epoxy fatty acid: EpFA) は強力な抗炎症・抗 酸化作用を有するが、sEHは炎症・酸化ストレスの誘因となる。ASDの病態には母体免疫活性化 (mate rnal immune activation: MIA) が関与する。MIAモデルマウスの前頭皮質で、sEH濃度の増加とEpFA の低下が報告されている。また、このモデルマウスにsEH阻害薬を飲ませると、出生仔マウスのASD 症状に関連する行動の抑制が認められた。以上より、ASDの病因に、多価不飽和脂肪酸の代謝に関わ るsEHの異常が関与している可能性がある。そこで、浜松母と子の出生コホート研究で得られた臍帯 血検体を利用して、出生時の炎症刺激を反映する臍帯血中のsEH濃度を測定し、出生子の発達指標と の相関を解析することを目的とした。 共同研究先である米国UC DAVISの研究室より提供されたsEH ELISA試薬 (polyclonal antibody・s EH protein・Biotin VHH・SA-PolyHRP) を元に、簡便性の高い酵素免疫測定法ELISAにて臍帯血から sEH濃度の測定を行った。しかし、sEH濃度の定量に必要な標準曲線の再現性が得られなかった。特 に、標準曲線の算出に必要なsEHタンパク質の濃度値にバラツキがあったことや、試料以外の非特異 的な干渉を減少させるためのブランク値の吸光度が高いといった技術的問題が確認された。再現性 の高い標準曲線を確立するために、研究期間中にはELISA実験のプロトコルの改善や第三者による手 技の確認など技術的向上および原因の探索を行った。その結果、ウェル内の洗浄が不十分であるこ とが主な問題であることが明らかとなった。洗浄操作を改善することで、再現性の高い標準曲線が 確立され、臍帯血中の sEH濃度の定量が可能となった。現在、約200例のサンプルを測定している。	

研究期間	令和 5年 7 月 1 日 ~ 令和 6 年 3 月 31 日
------	---------------------------------

現在までの進捗状況

臍帯血中の sEH 濃度の定量に必要な再現性のある標準曲線が確立された。そのため現在、1258 例の臍帯血サンプルのうち 240 例の sEH 濃度の測定を行った。臍帯血サンプル 240 例のうち臍帯血血漿を除く臍帯血血清 220 例を用いて、sEH 濃度と出生子の発達指標との相関を解析した。出生子の発達指標として、ASD 評価の世界的ゴールドスタンダードとされる自閉症診断観察検査 (Autism Diagnostic Observation Schedule: ADOS) を用いた。相関解析の結果、臍帯血中の sEH 濃度と ASD の特性 (社会性障害、興味の限局と常同的・反復的行動) との間で有意な差は認められなかった。最終的に 1258 例の臍帯血サンプルの定量を目指すため、共同研究先である米国 UC DAVIS の Bruce Hammock 研究室より提供された sEH ELISA 試薬を元に、正確なデータを取得できるように測定を進めている。

今後の見通しについて

引き続き 1258 例の臍帯血中の sEH 濃度を測定する予定である。すべてのサンプル測定が完了次第、測定した臍帯血血清中の sEH が ASD の超早期診断指標として有用となるかの検証を行う予定である。出生児の発達特性データと sEH 濃度の関連性を統計的に解析する。なお、ASD 症状の評価においては、ADOS を用いる。適応機能の評価は、コミュニケーション・日常生活スキル・社会性・運動スキルの領域を適応行動尺度 (Vineland Adaptive Behavior Scales Second Edition, Vineland-II) を用いる。

研究成果 (論文発表、学会発表等)

2025 年度の日本脳科学会、日本神経化学会にて発表予定である。