

自閉症スペクトラムと腸内細菌との関連

(中間報告)

京都大学霊長類研究所	後藤幸織
京都大学大学院人間・環境学研究科	小川詩乃
大邱カトリック大学食品栄養学科	李英娥
京都大学霊長類研究所	柴田柚香

Relationship between gut microbiota and autism spectrum disorder

Kyoto University Primate Research Institute, GOTO, Yukiori
Graduate School of Human and Environmental Studies,
Kyoto University, OGAWA, Shino
Department of Food Science and Nutrition,
Catholic University of Daegu, LEE, Young-A
Kyoto University Primate Research Institute, SHIBATA, Yuka

要約

近年、腸内細菌が認知機能やその他の脳機能に強い影響を及ぼすことが見出され、話題となっている。一方、自閉症スペクトラム(ASD)は「対人的コミュニケーションと相互作用の障害」ならびに「限局された反復する行動や興味」を伴う脳機能発達障害の1つであるが、とりわけ、同一性へのこだわり、著しく限局された興味、感覚刺激の反応亢進または定反応といった症状から、ASD児では、偏食が健常児よりも強いことが知られている。したがって、ASD児での偏食による食物摂取の偏りによる腸内細菌叢の変化が社会性認知機能の障害に関わっている可能性が考えられる。本研究では、ASD児を対象に、認知機能障害と偏食による腸内細菌叢の偏りとの関連性の調査を行っている。

【キー・ワード】自閉症スペクトラム, 腸内細菌, 認知機能, 偏食

Abstract

Recent studies have reported that gut microbiota significantly influence cognitive and affective function of animals and humans. Autism spectrum disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder that involves deficits on social interaction with others and repetitive stereotyped behavior and interests. Due to ASD symptoms such as obsessiveness toward identity, restricted interests to others, and augmented sensitivity to sensory stimuli, children with ASD have been known to exhibit highly biased food preference, resulting in distinct composition of gut

microbiota than typically developing children. In this study, we have been investigating a potential relationship between altered gut microbiota associated with biased food consumption and cognitive and affective dysfunction in ASD.

【Key words】 autism spectrum disorder, gut microbiota, cognitive function, biased nutrition

はじめに

ASD は「対人的コミュニケーションと相互作用の障害」ならびに「限局された反復する行動や興味（こだわり）」を伴う発達障害の1つである(APA, 2014)。とりわけ、同一性へのこだわり、著しく限局された興味、感覚刺激の反応亢進または定反応といった症状から、ASD 児では、偏食が健常児よりも強いことが知られている(Mari-Bauset et al., 2014)。Hubbard らによると(Hubbard et al., 2014)、ASD 児では、健常児と比較して、歯ごたえ/堅さ、味/匂い、混合、ブランド名、形などにより強い拘りが見られ、温度、色、食べ物同士が接触していること、に対してのこだわりは健常児と同程度、と報告している。

ASD では多様な認知機能障害が見られることが報告されている(Hughes et al., 1994; Leung et al., 2015; Frith, 2012; Hill, 2004)。例えば、そのような認知機能障害の1つに作業記憶（ワーキングメモリ）があるが、この機能障害が認められるとする研究報告例(Bennetto et al., 1996)と認められないとする研究報告例(Russell et al., 1996)が混在しており、結論が一致していない。このような研究結果の不一致は、ASD の病理生理学的変化の多様性、認知機能検査手法の相違、被験者の年齢や性別、など、様々な要因が寄与している可能性が考えられるが、それらに加えて、ASD に見られる認知機能障害は、ASD に直接関連する一次的な病理生理学的変化によるものではなく、二次的要因によるものではないか、という説が提唱されている(Dawson et al., 1998; Dawson et al., 2002; Griffith et al., 1999; Yerys et al., 2007)。

近年、腸内細菌が認知機能やその他の脳機能に強い影響を及ぼすことが見出され、話題となっている(Mayer et al., 2014)。なかでも、ASD の動物モデルを用いた研究では、社会性行動と腸内細菌叢に関連があることが見出され(Hsiao et al., 2013)、ASD 症状と腸内細菌叢との密接な関係が示唆されている(Mayer et al., 2014; van De Sande et al., 2014)。また、ヒトにおいても、健常成人女性では、継続してプロバイオティクス(例えばヨーグルトや納豆などの腸内細菌叢に影響を与える食物)を摂取することで、情動機能に関連する脳活動が抑制されることなどが見出されている(Tillisch et al., 2013)。

ASD 児の腸内細菌叢の変化を調査した研究がいくつかあり、それらによると、ASD 症状と腸内細菌叢の種類の高さに負の相関関係(腸内細菌の種類が少ないほど、ASD 症状が強い)があり(Kang et al., 2013)、また、偏性嫌気性桿菌の1つであるビフィズス菌(*Bifidobacillus*)が健常児よりも有意に低下していることが見出されている(De Angelis et al., 2013; Adams et al., 2011)。

以上から、ASD 児での偏食による食物摂取の偏りには様々なものが考えられるが(例えば、ミネラル等も脳機能に必要な不可欠な成分であるが)、なかでも、偏食による腸内細菌叢の変化が社会性認知

機能の障害に関わっていることが考えられる。本研究では、自閉症スペクトラム(ASD)児での認知機能障害と偏食による腸内細菌叢の偏りとの関連性を調査することを目的とする。

方 法

1. 被験者

京都大学こころの未来研究センター「発達障害の学習支援・コミュニケーション支援プロジェクト」で支援を受けている ASD 児(6~15 歳)ならびに年齢、性別等を合わせた定型発達(健常)児、各 20 名程度を対象に実験を行う。自閉症スペクトラム指数(Autism quotient)ならびに全検査知能指数(Full scale intelligence quotient)といった書面による調査を行う。

2. 偏食調査

偏食を詳しく調査するために、以下の組み合わせの書面調査を行う。

(1) Youth/Adolescent Food Frequency Questionnaire (FFQ; Rockett et al., 1997)

(2) Brief Autism Mealtime Behavior Inventory (BAMBI; Lukens & Linscheid, 2008)

(3) 保護者からの聞き取りならびに 7 日間の食事記録

また、上記 3 つの書面調査に加え、Gastrointestinal Symptoms Rating Scale (GGRS; Harris & Card, 2012)を用いて、胃腸症状についての調査も行う。

3. 特定食物摂取による認知機能への影響の調査

偏食による腸内細菌の変化ならびにその認知機能への影響に加え、プロバイオティクス食品の継続摂取による腸内細菌変化が認知機能改善につながるかを加えて調査を行う。被験者に、以下の食品を 30 日間継続して摂取してもらい、摂取の前後での変化を調査する。

(1) ビフィズス菌入りヨーグルト

(2) 乳酸菌入りヨーグルト

プラセボ効果を排除するため、被験者ならびにその保護者には食物摂取の予想される効果は事前に通知しないこととする。

4. 腸内細菌調査

糞便を採取し、定量的 PCR (quantitative real-time PCR) 法を用いて、各被験者の腸内細菌の種類と量を調査する。腸内細菌の調査は、下記#5 の特定食物摂取の前後 2 回行うことにより、腸内細菌の変化を調査する。

5. 認知機能課題

社会性ならびに非社会性認知機能検査課題を行ってもらい、認知機能障害を調査する。以下の 4 課題を用いて調査する。

(1) 空間・物体(非空間)ワーキングメモリ課題 (非社会性認知課題)

(2)Wisconsin Card Sorting Test (WCST: 行動柔軟性・非社会性認知課題)

(3)まなざし課題 (Reading the Mind in the Eye Test: 社会性認知課題)

(4)Mayer-Salovey-Caruso Emotional Intelligence Test (社会性認知課題)

課題は、特定食物摂取の前後 2 回行うことにより、改善効果の有無を調査する。

6. データ解析

AQ, FFQ, BAMBI 等の書面調査のスコア、各腸内細菌種の検出量、各認知課題成績との相関関係を多重線形回帰解析等を用いて解析する。また、これらの相関関係を、プロバイオティクス食品を普段から常食している被験者とそうでない被験者とで比較をする。AQ スコア、各腸内細菌種の検出量、各認知課題成績の特定食物摂取前後での変化を分散分析等を用いて解析する。

結 果

本研究では、ASD 児と定型発達(Typically developing, TD)児を対象に、(1)偏食と社会性認知機能障害との間に相関関係が見られるか、また(2) ビフィズス菌入りプロバイオティクス食品の継続摂取により社会性認知機能障害改善効果が見られるか、の 2 つの課題について調査中である。ASD 児のなかでも、プロバイオティクス食物に対する偏食が強い児童ほど、ASD 症状や社会性認知機能障害が強く見られ、ビフィズス菌を有するプロバイオティクス食品の継続摂取により改善されると予想される。

現段階では、本研究に参加可能な ASD 児ならびに TD 児の募集を募った後、FFQ や BAMB 等のアンケート調査を行い、参加児童の偏食の程度に関する調査を行っている段階である。

考 察

現在までに、ASD での認知機能障害は多数報告されている。しかし、これらの研究報告では、結果に再現性がないことが指摘されている。その原因の 1 つに、ASD での認知機能障害は一次的な病理生理学的要因よりも、二次的要因が関与している可能性が示唆されている。しかし、そのような二次的要因が関わっている可能性を調査した研究は、我々が知る限りでは存在しなかった。このような国内外の研究状況において、我々は、先行研究において、ASD 児に見られる空間ワーキングメモリの障害が慢性ストレスと強い相関関係があることから、ASD に見られる認知機能障害の一部は、ストレス等の二次的環境要因によるところが大きいことを見出した(現在、結果をまとめた論文を専門誌に投稿中)。本研究では、ASD での認知機能障害に影響を及ぼす、ストレス以外の二次的要因として、偏食とそれによる腸内細菌叢の偏りとの関連性を調査する。ストレスと同様、腸内細菌という二次的要因が ASD で示唆されている脳機能不全に影響を及ぼしていることが考えられる。とりわけ、脳機能と腸内細菌との関連の研究は、ここ数年で急激に増加し、脚光を浴びている研究領域であることから、ASD に見られる認知機能障害の二次的要因を調査、解明することは、従来の研究結果に新しい

知見をもたらすと期待される。

引用文献

- Adams JB, Johansen LJ, Powell LD, Quig D, Rubin RA (2011) Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism--comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterol.* 11, 22.
- American Psychiatric Association (2014) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (5th ed.). Washington, DC.
- Bennetto L, Pennington BF, Rogers SJ (1996) Intact and impaired memory functions in autism. *Child Dev.* 67, 1816-35.
- Dawson G, Meltzoff AN, Osterling J, Rinaldi J (1998) Neuropsychological correlates of early symptoms of autism. *Child Dev.* 69, 1276-85.
- Dawson G, Munson J, Estes A, Osterling J, McPartland J, Toth K, Carver L, Abbott R (2002) Neurocognitive function and joint attention ability in young children with autism spectrum disorder versus developmental delay. *Child Dev.* 73, 345-58.
- De Angelis M, Piccolo M, Vannini L, Siragusa S, De Giacomo A, Serrazzanetti DI, Cristofori F, Guerzoni ME, Gobbetti M, Francavilla R (2013) Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified. *PLoS One.* 8, e76993.
- Frith U (2012) Why we need cognitive explanations of autism. *Q J Exp Psychol (Hove).* 65, 2073-92.
- Griffith EM, Pennington BF, Wehner EA, Rogers SJ (1999) Executive functions in young children with autism. *Child Dev.* 70, 817-32.
- Harris C1, Card B (2012) A pilot study to evaluate nutritional influences on gastrointestinal symptoms and behavior patterns in children with Autism Spectrum Disorder. *Complement Ther Med.* 20, 437-40.
- Hill EL (2004) Executive dysfunction in autism. *Trends Cogn Sci.* 8, 26-32.
- Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, Codelli JA, Chow J, Reisman SE, Petrosino JF, Patterson PH, Mazmanian SK (2013) Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell.* 155, 1451-63.
- Hubbard KL, Anderson SE, Curtin C, Must A, Bandini LG (2014) A comparison of food refusal related to characteristics of food in children with autism spectrum disorder and typically developing children. *J Acad Nutr Diet.* 114, 1981-7.
- Hughes C1, Russell J, Robbins TW (1994) Evidence for executive dysfunction in autism. *Neuropsychologia.* 32, 477-92.

- Kang DW¹, Park JG, Ilhan ZE, Wallstrom G, Labaer J, Adams JB, Krajmalnik-Brown R (2013) Reduced incidence of *Prevotella* and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PLoS One*. 8, e68322.
- Leung RC¹, Vogan VM, Powell TL, Anagnostou E, Taylor MJ (2015) The role of executive functions in social impairment in Autism Spectrum Disorder. *Child Neuropsychol*. 3, 1-9.
- Lukens CT¹, Linscheid TR (2008) Development and validation of an inventory to assess mealtime behavior problems in children with autism. *J Autism Dev Disord*. 38, 342-52.
- Marí-Bauset S, Zazpe I, Mari-Sanchis A, Llopis-González A, Morales-Suárez-Varela M (2014) Food selectivity in autism spectrum disorders: a systematic review. *J Child Neurol*. 29, 1554-61.
- Mayer EA, Knight R, Mazmanian SK, Cryan JF, Tillisch K (2014) Gut microbes and the brain: paradigm shift in neuroscience. *J Neurosci*. 34, 15490-6.
- Mayer EA¹, Padua D, Tillisch K (2014) Altered brain-gut axis in autism: comorbidity or causative mechanisms? *Bioessays*. 36, 933-9.
- Rockett HR¹, Breitenbach M, Frazier AL, Witschi J, Wolf AM, Field AE, Colditz GA (1997) Validation of a youth/adolescent food frequency questionnaire. *Prev Med*. 26, 808-16.
- Russell J¹, Jarrold C, Henry L (1996) Working memory in children with autism and with moderate learning difficulties. *J Child Psychol Psychiatry*. 37, 673-86.
- Tillisch K¹, Labus J, Kilpatrick L, Jiang Z, Stains J, Ebrat B, Guyonnet D, Legrain-Raspaud S, Trotin B, Naliboff B, Mayer EA (2013) Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology*. 144, 1394-401.
- van De Sande MM, van Buul VJ, Brouns FJ (2014) Autism and nutrition: the role of the gut-brain axis. *Nutr Res Rev*. 27, 199-214.
- Yerys BE¹, Hepburn SL, Pennington BF, Rogers SJ (2007) Executive function in preschoolers with autism: evidence consistent with a secondary deficit. *J Autism Dev Disord*. 37, 1068-79.