

平成30年6月8日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09805

研究課題名(和文) 幼少期ストレスが成体海馬神経細胞新生に及ぼすエピジェネティクス作用の解析

研究課題名(英文) Epigenetic effects of early life stress on adult hippocampal neurogenesis

研究代表者

朴 秀賢 (Boku, Shuken)

神戸大学・医学研究科・講師

研究者番号：60455665

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：1. 幼少期ストレスが成体海馬神経幹細胞においてDNAメチル化を増加させるメカニズムを検討し、miRNAの成熟に関与する複数の分子が関与している可能性を見出した。
2. ゲノム網羅的なDNAメチル化解析を行い、幼少期ストレスがDNAメチル化を顕著に増加させるゲノム上の領域Xを見出した。また、領域XのDNAメチル化の程度とストレス感受性が相関している可能性を示した。
3. 領域XのDNAメチル化の程度とヒト患者の幼少期ストレスのスコアの間に相関が存在する可能性を示しつつある。

研究成果の概要(英文)：1. We showed that some miRNA-related molecules may be involved in early life stress-induced increase of DNA methylation in adult hippocampal neural stem cell.
2. We showed that early life stress remarkably increased DNA methylation of gene region X with genome-wide analysis of DNA methylation. In addition, we showed that DNA methylation of gene region X may be associated with stress sensibility with behavioral analysis.
3. We are showing that DNA methylation may be associated with the assessment scale for early life stress in human subjects.

研究分野：精神医学、神経科学、精神神経薬理学

キーワード：幼少期ストレス DNAメチル化 成体海馬神経細胞新生

1. 研究開始当初の背景

幼少期の強いストレスが成人後に気分障害の発症や重症化・難治化のリスクを高めることが既に知られており、更に、社会の発展・変化に伴って幼少期に強いストレスを受けるケースが増加傾向にある。また、幼少期ストレスに関する情報を得られないことが多いため、その影響を考慮されないまま経過した結果、気分障害の発症や重症化・難治化のリスクが増加する可能性も懸念される。しかし、幼少期ストレスが成人後の気分障害の発症脆弱性や重症化・難治化を増加させるメカニズムは全く不明である。従って、幼少期ストレスによる気分障害の発症脆弱性や重症化・難治化のメカニズムの解明による新規治療標的や幼少期ストレスの影響の有無、気分障害の発症脆弱性及び重症化・難治化と相関するバイオマーカーの同定が必要であると考えられる。

近年、幼少期ストレスを含む種々のストレスや気分障害の動物モデルで成体海馬神経細胞新生が減少し、気分障害治療薬が成体海馬神経細胞新生を増加させるという報告が相次いでいる。また、ストレスホルモンであるグルココルチコイド (GC) が成体海馬神経細胞新生を減少させる。更に、成体海馬神経細胞新生を減少させると、ストレス応答回路である HPA axis の負のフィードバックが阻害されることにより血中 GC 濃度が大幅に上昇し、抑うつ症状を呈しやすくなるなど、成体海馬神経細胞新生はストレス反応と気分障害の疾患脆弱性に関与する可能性も示されている。従って、ストレス、気分障害の発症脆弱性、気分障害治療薬の作用、そして成体海馬神経細胞新生の間に強い関連があることが示唆されている。

ストレス負荷の持続的な影響のメカニズムとして近年注目されているのがエピジェネティクス (DNA メチル化・ヒストン修飾

による後天的遺伝子発現調節) である。近年、慢性緩性ストレス負荷動物において BDNF 遺伝子の、母子分離ストレス負荷動物において GC 受容体 (GR) 遺伝子の、それぞれプロモーター領域にエピジェネティックな変化が生じるという報告が最近相次いで成されている。従って、幼少期ストレスが成人後に至るまで脳に及ぼす持続的な変化に成体海馬神経細胞新生およびエピジェネティクスが関与している可能性が考えられるが、幼少期ストレス・成体海馬神経細胞新生抑制・エピジェネティクスの三者間に関係があるのかは全く不明である。

応募者は成体ラット海馬由来神経幹細胞培養系を確立し、気分障害治療薬が神経幹細胞に及ぼす直接作用とそのメカニズムを明らかにしてきた (Boku et al *Neuropsychopharmacology*, 2009 など)。この培養系により幼少期ストレスが成体海馬神経細胞新生を抑制するメカニズムを明らかにできると考え、幼少期ストレスの代表的な動物モデルである母子分離ストレスが成体海馬神経幹細胞に及ぼす作用の検討を行った (Figure 1)。その結果、まず母子分離ストレスにより神経幹細胞から神経細胞への分化能が減弱することを明らかにした。続いてそのメカニズムを検討した結果、母子分離ストレスがレチノイン酸受容体 α (RAR α) のプロモーター領域の DNA メチル化を増加させてその発現を減少させていること、その背景に DNA methyltransferase 1 (DNMT1) の発現増加が存在していることを明らかにした (Figure 2)。従って、幼少期ストレスが長期に亘るエピジェネティックな変化を成体海馬神経幹細胞に及ぼし、その性質を変化させることが示唆された (Boku et al, *Biol Psychiatry*, 2014)。

2. 研究の目的

幼少期ストレスが気分障害の発症脆弱性や重症化・難治化を引き起こすメカニズムを、動物モデルを用いて成体海馬神経細胞新生やDNAメチル化の観点から解明する。更に、動物モデルにおいて幼少期ストレスがDNAメチル化を変化させる遺伝子のDNAメチル化が、ヒトにおいても幼少期ストレスや気分障害の発症や重症度・難治性と相関があるかどうかを、末梢血サンプルを用いて検討し、幼少期ストレスや気分障害の発症脆弱性や重症化・難治化のバイオマーカーを同定する。これらの研究は、気分障害の病態解明や新規治療標的の同定、更には気分障害の発症や重症化・難治化の予防に大きく寄与することが期待される。

3. 研究の方法

- 1) 成体マウス海馬神経幹細胞特異的DNMT1強制発現が神経細胞新生や行動に及ぼす影響を検討し、母子分離ストレスによる成体海馬神経幹細胞でのDNMT1発現増加の機能的意義を明らかにする。また、それらの影響が良い環境や薬物により消失するかどうかを検討する。
- 2) 母子分離ストレスがDNMT1の発現を増加させる詳細な分子メカニズムを、成体マウス海馬由来神経幹細胞の培養系を用いて明らかにする。
- 3) 母子分離ストレスがDNAメチル化を増加させる遺伝子を神経幹細胞の培養系でゲノム網羅的な解析で同定する。その遺伝子が実際にヒトで幼少期ストレスの有無や気分障害の発症脆弱性や重症化・難治化と相関するかどうかを、気分障害患者の末梢血サンプルを用いて検討する。

4. 研究成果

- 1) 母子分離ストレスが神経幹細胞においてDNAメチル化を増加させる分子メカニズムについて検討を行った。具体的には、母子分離ストレスにより増加するグルココルチコイドホルモンのアナログであるdexamethasone (DEX) をマウス海馬由来神経幹細胞に作用させ、DNMTおよびDNMTの発現調整に關与する可能性のある遺伝子の発現量変化を定量RT-PCRにより検討を行った。その結果、DEXはDNMT1, 3a, 3b全ての発現を増加させた。加えて、miRNAの成熟に関わる複数の遺伝子がDEXによるDNMT発現増加に關与している可能性が示された。
- 2) 母子分離ストレスがDNAメチル化を増加させる遺伝子をラット海馬組織由来ゲノムDNAを用いて、ゲノム網羅的に検討した。その結果、遺伝子領域XのDNAメチル化が母子分離ストレスにより著しく増加することを見出した。更に、遺伝子領域XのDNAメチル化の程度とストレス感受性の間に相関があることを、DNAメチル化解析と行動解析の組み合わせにより示しつつある。
- 3) 気分障害の患者の血液由来DNAサンプルを用いて、遺伝子領域XのDNAメチル化の程度と幼少期ストレスの評価尺度のスコアが相関することを示しつつある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

朴 秀賢 (Shuken Boku)
神戸大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号：60455665

(2) 研究分担者

菱本 明豊 (Akitoyo Hishimoto)
神戸大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：50529526

(3) 連携研究者

村井 俊哉 (Toshiya Murai)
京都大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：30335286

古屋敷 智之 (Tomoyuki Furuyashiki)
神戸大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：20362478

泉 剛 (Takeshi Izumi)
北海道大学大学院医学研究科・講師
研究者番号：60312360

戸田 裕之 (Hiroyuki Toda)
防衛医科大学校・医学部・助教
研究者番号：00610677

(4) 研究協力者

廣井 昇 (Noboru Hiroi)
アルバートアインシュタイン医科大学・教授