

## 虐待的養育環境の気分障害を引き起こす病態の解明

戸田裕之

防衛医科大学校 精神科学講座

### 【研究の背景】

虐待的養育環境 (Early Life Stress: ELS) の精神障害を引き起こす重要なメカニズムの一つとして、ELS によるストレスホルモン (Glucocorticoid: GC) の過剰な分泌による成人後も続くストレス応答回路 (Hypothalamic-pituitary-adrenal axis: HPA 系) の持続的な障害が知られている。これにより、気分障害などの発症脆弱性との関連が指摘されている。また、HPA 系機能調節に関わる因子として *FKBP5* が存在し、*FKBP5* 遺伝子のリスクアレルや低メチル化による *FKBP5* 遺伝子の発現上昇を介した GC の過剰な放出とストレス脆弱性との関係が示されている。<sup>1)</sup> 筆者らが行った ELS のモデルである母子分離ストレス (Maternal separation: MS) 負荷ラットを使用した検討では、ELS が将来的なストレスに対してコルチコステロンの異常な放出を引き起こし、HPA 系の非抑制パターンを生じた。<sup>2)</sup>

### 【目 的】

*FKBP5* は heat shock protein 9 に結合する GC receptor (GR) のコシャペロンであり、GR と GC の親和性を低下させ GR の核内移行を妨げることで HPA 系を調節する。*FKBP5* は *FKBP4* に置換されたのち *FKBP4-GR* 複合体が核内に移行して、DNA 上の Glucocorticoid receptor elements (GREs) に結合し *FKBP5* を含む様々な遺伝子の転写を制御する。*FKBP5* のリスクアレルや GREs 領域の低メチル化によって *FKBP5* の転写は促進される。その結果、GC の GR への感受性が低下するため、ストレス負荷後の HPA 系の非抑制や GC の過剰な上昇を生じストレス脆弱性に繋がる。<sup>3)</sup> 我々は ELS が核内に移行した GR による *Fkbp5* の転写に影響を与えているとの仮説をたてて、ChIP assay により検証した。また、*Fkbp5* はマイクログリアに豊富に存在するため<sup>4)</sup>、ELS がマイクログリアの発現量や活性化に影響を与えるかについて検証した。

### 【方 法】

ELS のモデルとして MS ラットを用いた。生後 2 日目～14 日目、1 日 3 時間母ラットから分離した仔ラットを MS ラット、通常飼育したラットを animal facility rearing (AFR) ラットとした。行動実験としては、生後 9 週令のラットに対して、Open field test (OFT)、Tail suspension test (TST) を施行した。行動実験終了後、海馬組織を採取して Western blot、全脳を還流固定して免疫組織染色を行った。また、9 週令のラットに 30 分の拘束ストレスを負荷し、拘束開始後、30 分、60 分、120 分、180 分の時点の海馬組織を採取して ChIP assay を実施した。ChIP assay には SimpleChIP® Plus Enzymatic Chromatin IP Kit (Cell signaling technology, Beverly, MA, USA) を使用した。Western blot には PBR 抗体、ChIP assay には GR 抗体、免疫染色には IBA1、GFAP 抗体を使用した。

### 【結 果】

OFT における総移動距離、中央滞在時間、TST における無動時間に AFR 群、MS 群で有意な差はなかった。免疫組織染色では、前頭前野で IBA1 は MS 群で増加していたが、GFAP では差がなかった (図 1)。Western blot では、PBR の発現に両群間での差は認めなかった。ChIP assay では、*Fkbp5*、*Per1*、*Sgk1* の遺伝子の GREs 領域の GR との結合度は拘束ス

トレスによる経時的な変化を認めたが ( $p < 0.001 \sim 0.01$ )、AFR 群と MS 群では統計学的な有意差は認めなかった (図 2)。

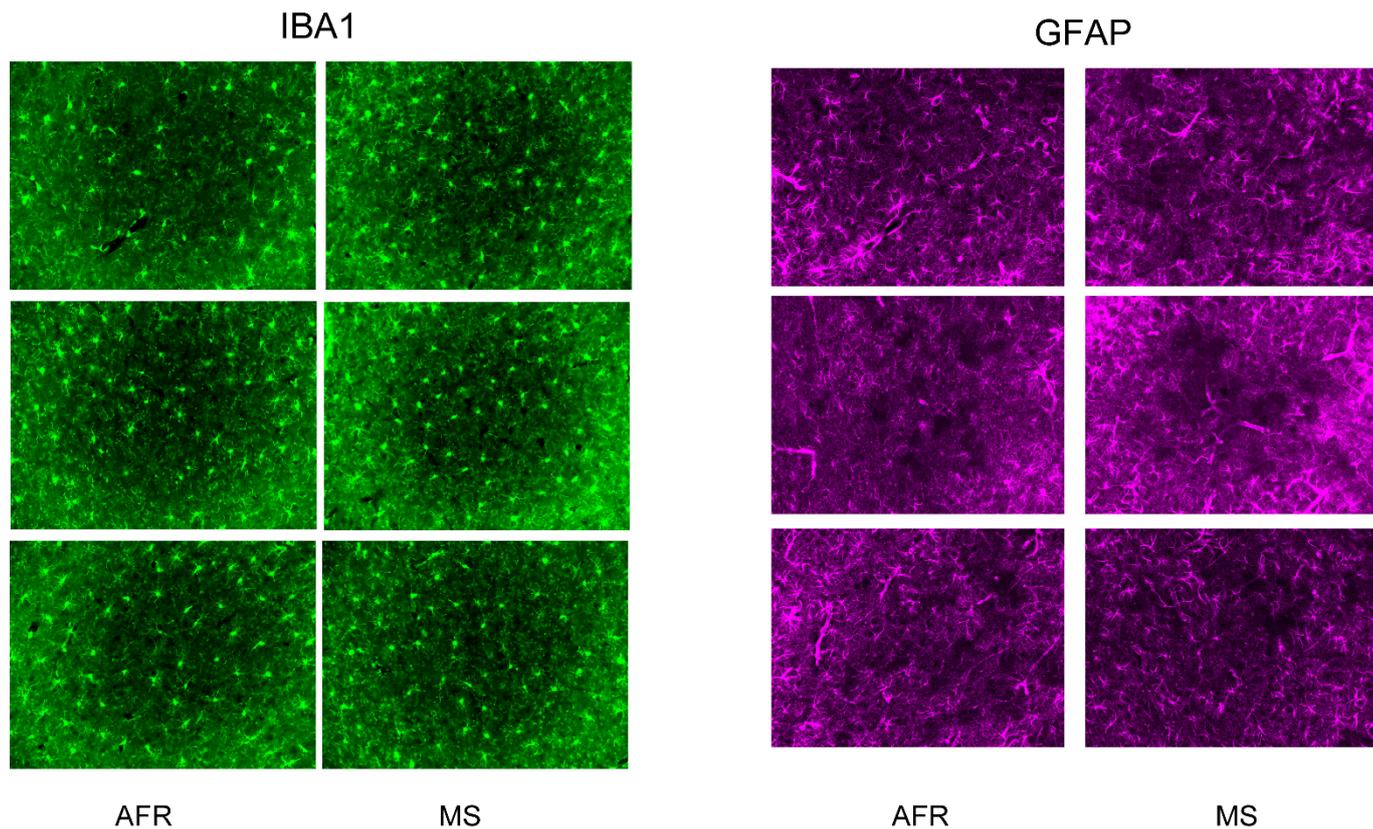


図 1: AFR 群と MS 群における IBA1 と GFAP の発現

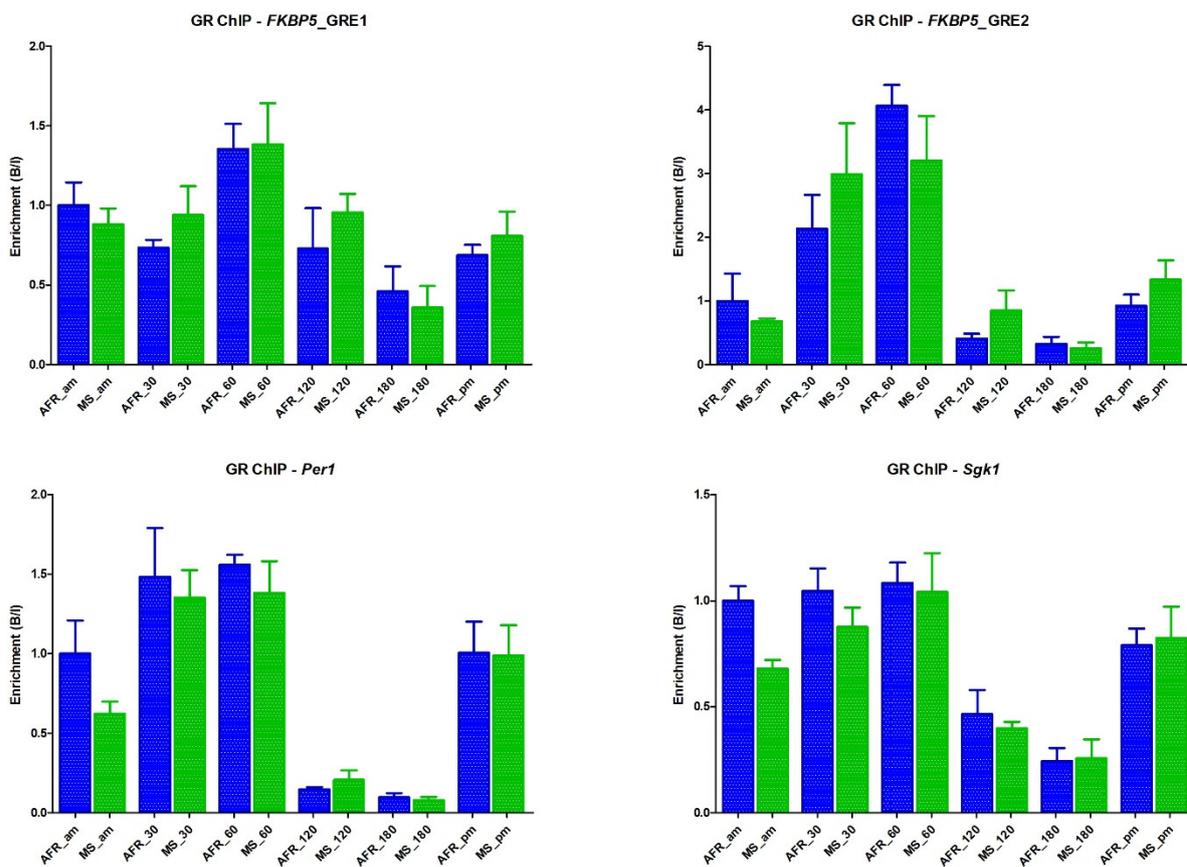


図 2: AFR 群と MS 群における拘束ストレス後の Fkbp5、Per1、Sgk1 遺伝子の GREs 領域への GR の結合度の推移

## 【考 察】

今回実施した行動実験の結果からは、MS のみのストレスではうつ行動を示さなかった。免疫組織染色で IBA1 が増加していたことから、MS によってマイクログリアが数的には増加しており、これは先行研究と一致していた。<sup>5)</sup>しかしながら PBR は増加していなかったため、MS のストレスではマイクログリアの活性化には変化がなかった。ChIP assay によって、拘束ストレスで GR がターゲットとする遺伝子への GR の結合度は増加しこれは先行研究と一致していたが<sup>6)</sup>、母子分離ストレスによる効果は示せなかった。マイクログリアには *Fkbp5* が豊富に発現していることが知られており、マイクログリアはシナプス可塑性に関与していることから、*Fkbp5* はマイクログリアの変化を介してシナプス可塑性に関与している可能性が示唆される。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本邦の児童相談所への児童虐待の年間相談件数は急増している。そのため、虐待の引き起こす生物学的なメカニズム、治療法や予防法を解明することは我々精神科医にとって急務である。ELS を背景に PTSD 等の精神障害を発症した患者の少なくとも一部の集団は、*FKBP5* を中心とした HPA 系の機能異常が病態に深く関与している可能性が指摘されており、本研究をさらに進めることによって、児童虐待の結果生じた精神障害患者の一群に対してより有効で精密な医療を提供できる一助になると考える。

## 【参考・引用文献】

1. Binder EB. The role of FKBP5, a co-chaperone of the glucocorticoid receptor in the pathogenesis and therapy of affective and anxiety disorders. *Psychoneuroendocrinology* 2009; **34 Suppl 1**: S186–95.
2. Toda H, Boku S, Nakagawa S, et al. Maternal separation enhances conditioned fear and decreases the mRNA levels of the neurotensin receptor 1 gene with hypermethylation of this gene in the rat amygdala. *PLoS One* 2014; **9**(5): e97421.
3. Saito T, Shinozaki G, Koga M, et al. Effect of interaction between a specific subtype of child abuse and the FKBP5 rs1360780 SNP on DNA methylation among patients with bipolar disorder. *J Affect Disord* 2020; **272**: 417–22.
4. Matosin N, Halldorsdottir T, Binder EB. Understanding the Molecular Mechanisms Underpinning Gene by Environment Interactions in Psychiatric Disorders: The FKBP5 Model. *Biol Psychiatry* 2018.
5. Giridharan VV, Reus GZ, Selvaraj S, Scaini G, Barichello T, Quevedo J. Maternal deprivation increases microglial activation and neuroinflammatory markers in the prefrontal cortex and hippocampus of infant rats. *J Psychiatr Res* 2019; **115**: 13–20.
6. Mifsud KR, Reul JM. Acute stress enhances heterodimerization and binding of corticosteroid receptors at glucocorticoid target genes in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2016.