

グラントNo. : L S I 2 0 3 0 5

ライフサイエンスイノベーションセンター
「令和2年度重点プロジェクト研究および学内共同研究等研究費助成」

子ども虐待エピゲノム・マーカー同定の為のトランスレーショナル研究

研究代表者： 西谷 正太 (子どものこころの発達研究センター・特命助教)
共同研究者： 友田 明美 (子どものこころの発達研究センター・教授)、藤澤 隆史 (子どものこころの発達研究センター・准教授)

概 要	
マルトリートメント児 (以下 Mal 児) の早期介入・治療は望まれながらも、未成年である Mal 児の親権者からの研究同意 (法律上、定められているため) を得難いジレンマ等、研究実施が極めて困難なことから、Mal 児当事者の研究は殆ど行われず、治療の標的分子機序が定まっていない。近年、マルトリートメントが DNA メチル化のエピジェネティックな変化を刻み、それが生涯に渡る程の脳の脆弱性に関連することが示唆されてきたが、元 Mal 児の成人が主で、保護されて間もない Mal 児当事者の研究はごく僅かである。そこで、本研究では、Mal 児を対象に、対照児との比較から、剖検脳・頬粘膜・唾液メチル化のエピゲノムワイド解析によるマルトリートメント関連候補遺伝子メチル化同定による Mal 児脆弱脳関連バイオマーカーの同定を行う。	
関連キーワード	マルトリートメント、DNA メチル化、マイクロアレイ、MRI、データサイエンス

研究の背景および目的

本研究の目的は、虐待 (身体的、心理的、性的) あるいはネグレクトを受け育った児 (マルトリートメント児: Mal 児) を生物学的証拠に基づき、早期に介入を開始するためのエピゲノム・マーカーを同定することである。Mal 児は、脳に生涯消えない程の脆弱性が刻まれ、多数の精神疾患罹患リスク増・重症化、自殺率増が懸念され、一刻も早い介入や治療が必要である。しかし、介入を決定付ける客観的バイオマーカーはなく、現状は司法面接等を始め様々な対策が行われているが、それでもマルトリートメントによる死を見過ごすケースが少なくない。また、Mal 児への治療はトラウマ焦点型心理療法と薬物療法の組み合わせであるが、Mal 児の脳の脆弱化機序解明の研究自体が極めて少なく、治療の根幹をなす標的分子機序も定まっていない為、対症療法に留まっている。

一方、子どもの脳は、思春期にかけてメジャー・アップデートとも言える構造的・機能的再編が生じ、大脳皮質/皮質下の均衡の取れた成人型脳へと発達・成熟を遂げる (Giedd JN ら)。多くの精神疾患の好発時期は思春期～青年期以降にかけてであることを考え合わせると、Mal 児では、この脳再編のミスリードが成人後の脆弱性を残す原因である可能性が高い。このような時間的制限があるとす

れば、成人後では根本的治療の有効時期を逃すとも考えられる。

一方、エピゲノム変化の内、DNA メチル化 (以下、メチル化) は、DNA の塩基配列を変えずに、養育環境を含む生後の環境要因によって変化を生じ、それが長期的に遺伝子機能を制御し得ることから、マルトリートメント研究において注目されている。McGowan PO ら (*Nat Neurosci*, 2009) は、幼少期の虐待経験を持つ成人の海馬死後脳組織を用い、Weaver IC ら (*Nat Neurosci*, 2004) がげっ歯類ネグレクトモデルで見つけた海馬 *NR3C1* 遺伝子メチル化増加を、ヒトで再現し、これを発端に他のストレス関連遺伝子メチル化との関連研究に火が着いた。しかし、McGowan PO らを含む多くの研究は、かつて虐待を受けた成人を対象で、実に数十年前のトラウマ体験が遺伝子上に刻まれていたという意味では学術的に興味深い。一方、成人が対象である以上、思春期前の Mal 児への介入・治療標的を決める為の研究にはならない。

そこで、本研究では、A.法医剖検試料 (広島大学医学部法医学との共同研究)、B.児童相談所の介入後間もない施設入所中の Mal 児を対象に、そのエピジェネティックな特徴を明らかにすることを第一の目的に研究を行った。

研究の内容および成果

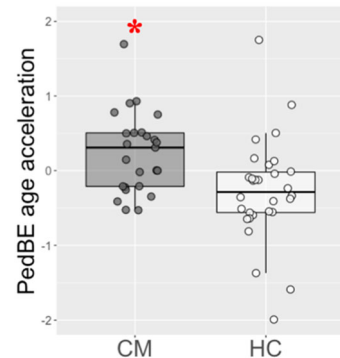
A. 本学、広島大学の倫理委員会承認の下、被虐待児 15 例、対照児（病死／事故死）7 例のホルマリン浸漬保存脳検体から、メチル化のマイクロアレイに足る DNA の抽出を試みている。しかし、保存検体が長期に渡るホルマリン浸漬状態であったため、特殊な条件下で DNA を抽出する方法を予備検討した。その結果、方法論としては安定したものを確立できたが、検体の保存状態に依存して収量や品質が悪いことがわかった。予備試料での検討を済ませ、実試料を使った解析を行う予定である。

B. 平均年齢 5 歳の Mal 児 25 人、比較対照 (HC) 児 31 人を対照に、メチル化アレイを行った。N 数が少なく、ゲノムワイド解析の結果にはまだ結論を出せていないが、メチル化データから算出するメチル化年齢が、Mal 児で有意に加速していたことを見出した【右図、業績 1】。一方、脳 MRI データを持つ、平均年齢 12 歳の Mal 児 38 人、HC 児 31 人を対象に、メチル化アレイを行った。その結果、マルトリートメントに有意に関連するメチル化部位を複数同定した。現在、これらメチル化と脳 MRI 構造・機能が関連しているかを調べている。

また、マルトリートメントとオキシトシン受容体 (*OXR*) 遺伝子を調べた我々の先行研究を踏まえ、今度は、オキシトシン (*OXT*) 遺伝子に絞った解析を行ったところ、同遺伝子プロモーター領域がマルトリートメントに有意に関連していた。現在、この成果の論文を投稿予定である。

今後、最終的に同定したメチル化部位、遺伝子を標的に、被虐待児由来リンパ芽球（作成済）を用いた *in vitro* 試験を行うことや、CRISPER-Case9 によるエピゲノム編集マウスでの機能評価を行い、さらなるレベルでの検証を行っていく予定である。

図. Mal 児 (CM) のメチル化年齢の加速化 (*: $P < 0.005$)



本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

「主な発表論文等」

1. **Nishitani S**, Suzuki S, Ochiai K, Yao A, Fujioka T, Fujisawa TX, Tomoda A, Accelerated epigenetic clock in children exposed to maltreatment, *Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 2021, 75(3):110-112.
2. **Nishitani S**, Kasaba R, Hiraoka D, Shimada K, Fujisawa TX, Tomoda A, Epigenetic clock deceleration and maternal parity: Associations with increasing grey matter volume of the precuneus, preprint として公開されているが、査読付き国際誌に投稿予定.
3. **Nishitani S**, Fujisawa TX, Hiraoka D, Makita K, Takiguchi S, Hamamura S, Yao A, Shimada K, Smith AK, Tomoda A, A multi-modal MRI analysis of brain structure and function in relation to OXT methylation in maltreated children and adolescents (仮), 投稿予定.

「特記事項」

なし

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

1. 科研費学術変革 B: 社会環境適応の分子メカニズムの解明 (計画研究: 代表、総括班: 分担) 【不採択・A 判定】
2. 次世代卓越研究者 (継続): 子ども Maltreatment エピジェネティック療法の創薬開発に資するエピゲノム・マーカーの同定

(代表) 【採択】 100 万円

3. 研究推進支援 (共同研究スタート支援): Maltreatment 児の脳-腸-腸内細菌叢 (BGM) 軸への介入による新規・脳・脆弱性治療法の確立及び治療効果のエピゲノム機序解明 (代表) 【採択】 40 万円
4. 内藤記念科学奨励金: 被虐待児の脳網膜画像エピゲノム解析によるバイオマーカーの同定 (代表) 【不採択】
5. SIMONS FOUNDATION 2020 Pilot Award: Epigenetics and sperm centrioles as biomarkers for paternal risk of autism spectrum disorder (分担) 【不採択】
6. JSPS 課題設定による先導的人文学・社会科学研究推進事業: 審美的感情による心身の変容過程: 人間本性と深層学習に関する融合研究 (分担) 【不採択】
7. 令和 2 年度 文部科学省共通政策課題事業「子どものこころの研究センターから展開する国際研究拠点の形成と社会実装」海外共同研究支援 支援プロジェクト 【採択】 15 万円
8. 公益財団法人武田科学振興財団ビジョナリーリサーチ助成 (スタート) 【申請中】
9. AMED 双方向性睡眠啓発スマートフォンアプリによる睡眠習慣改善法の開発研究 (分担) 【申請中】
10. 科研費学術変革 B: 社会環境適応の分子メカニズムの解明 (計画研究: 代表、総括班: 分担) 【申請中】