

Abstract

Project Code: RSA5780016

Project Title: Fetal Programming of Brain Development by Maternal Glucocorticoids: the Possibility for Reprogramming

Investigator: Nuanchan Chutabhakdikul, et al.

Institute: Institute of Molecular Biosciences, Mahidol University

E-mail: nuanchan.chu@mahidol.edu

Project Period: 2014-2016

Stress exposure during pregnancy is an important factor for programming the fetal brain and contribute to an emergence of psychiatric symptoms in the offspring later in life. Maternal stress hormone can pass to the fetus directly via placenta and trigger fetal stress with programming consequences. Thus, early life impact of stress hormone on brain development and the possibility to reprogrammed is considered as one of the high priorities for neuroprotective research stemming from the fetal programming hypothesis.

We demonstrated the prenatal programming effects of maternal restraint stress on the following; 1) Prenatal stress (PS) programming the development of GABAergic synapse in the pup's hippocampus. For examples, PS delay maturation of the GABAergic system by altering the expression of NKCC1, KCC2 and GABAA receptor $\alpha 1$ and $\alpha 5$ subunits at adolescence. These changes indicated that dysregulation of inhibitory neurotransmission that might underlie the pathogenesis of psychiatric diseases at adolescence. Moreover, PS also induced biphasic changes in the level of Neuroligin-2, β -Neurexin and Gephyrin in the hippocampus of rat pups, in which the levels increased during the first and the second postnatal week, but decreased during pre-adolescence to adolescence period as compare to control. In contrast, GABAA receptor $\alpha 1-6$ subunits decreased during the third postnatal week, but increased during adolescence period. These results indicate that the synaptic adhesion molecules and scaffolding protein of GABAergic synapse are highly vulnerable to stress hormone when exposed to stress *in utero*. 2) PS programing the neuroimmune response by increase of IL-6 and IL-10, but decrease in the autophagic marker, LC3B-II, in the hippocampus of rat pups from P7-60. The same responses have been observed in the *in vitro* model of CORT-treated SH-SY5Y human neuroblastoma cell lines and the JEG-3 human choriocarcinoma cell lines culture. It is

interesting that when we modulate the placental barrier by using an 11β -HSD1 inhibitor, PFI, it could reverse the effects of CORT on neuroimmune response and the autophagic biomarker in the *in vitro* model of SH-SY5Y and JEG-3 co-culture. Our results indicated that maternal stress induced immune dysregulation in the pup's brain could be mediated by maternal CORT pass through the fetus via the placenta, and subsequently might interrupt autophagy in the developing hippocampus. In summary, our result provided important evidence for the possibility that modulating placental enzyme activity might be a novel target for reprogramming the negative effects of maternal stress on fetal brain development.

Keywords: Prenatal stress, Corticosterone, 11β -HSD1 inhibitors, GABA receptor, neuroinflammation, autophagy, hippocampus

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RSA5780016

ชื่อโครงการ: การตั้งโปรแกรมทารกในครรภ์โดยฮอร์โมนเครียดที่ได้รับจากแม่:แนวทางในการป้องกัน

ชื่อนักวิจัย: นวลจันทร์ จุฑาภักดีกุล และคณะ

สถาบัน: สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail: nuanchan.chu@mahidol.edu

ระยะเวลาโครงการ: กรกฎาคม 2557- มิถุนายน 2559

ความเครียดในช่วงตั้งครรภ์เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้สมองของทารกในครรภ์ถูกโปรแกรมไปในทางที่นำไปสู่โรคทางจิตเวชในภายหลัง ฮอร์โมนเครียดจากมารดาสามารถส่งผ่านไปยังทารกในครรภ์ได้โดยตรงผ่านทางรกและส่งผลกระทบต่อพัฒนาสมองของลูก งานวิจัยที่ค้นหาแนวทางในการย้อนโปรแกรมเพื่อหยุดยั้งผลกระทบของฮอร์โมนเครียดในช่วงต้นของชีวิตต่อการพัฒนาสมองจึงเป็นหนึ่งในงานวิจัยด้านประสาทวิทยาศาสตร์ที่มีความสำคัญอย่างมากเพราะจะช่วยให้ค้นพบแนวทางในการลดความเสี่ยงที่เป็นผลจากการตั้งโปรแกรมสมองของทารกในครรภ์โดยฮอร์โมนเครียดที่ได้รับจากแม่

งานวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้แสดงให้เห็นผลจากความเครียดในมารดาต่อการตั้งโปรแกรมพัฒนาการสมองของลูกดังนี้ 1) ความเครียดในแม่ตั้งครรภ์ส่งผลเสียต่อการพัฒนา GABAergic synapse ในสมองส่วน hippocampus ของลูก เช่น ทำให้เกิดความล่าช้าทางพัฒนาการของ GABAergic synapses จากการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของโปรตีนที่ควบคุมการทำหน้าที่ของ GABAA receptor เช่น NKCC1, KCC2 รวมทั้ง GABAA receptor $\alpha 1$ และ $\alpha 5$ subunits ในสมองลูกหนูช่วงวัยรุ่น การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการทำหน้าที่ของ GABAergic synapse ขาดความสมดุลในสมองของลูกหนูที่เกิดจากแม่เครียด ซึ่งอาจมีความเกี่ยวข้องกับสาเหตุของการเกิดโรคทางจิตเวชในช่วงวัยรุ่น นอกจากนี้ความเครียดในแม่ตั้งครรภ์ยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของโปรตีน Neuroligin-2, β -Neurexin และ Gephyrin ในสมองส่วน hippocampus ของลูกหนู โปรตีนเหล่านี้เพิ่มขึ้นในช่วงสัปดาห์ที่ 1-2 หลังคลอด แต่ลดลงในช่วงก่อนวัยรุ่นจนถึงวัยรุ่น ในทางตรงกันข้ามตัวรับชนิด GABAA receptor $\alpha 1-6$ ลดลงในช่วงสัปดาห์ที่ 3 หลังคลอด แต่เพิ่มขึ้นในช่วงวัยรุ่น ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าโปรตีนที่ทำหน้าที่ยัดเกาะ GABAA receptor รวมทั้ง synaptic โปรตีนที่เกี่ยวข้องในสมองของลูกหนูที่เกิดจากแม่เครียด ถูกโปรแกรมให้แสดงออกลดลงในช่วงที่เป็นวัยรุ่น ส่งผลให้เกิดความอ่อนแอของ GABAergic synapses ในสมองของลูกหนูที่เกิดจากแม่เครียด 2) ความเครียดในแม่ตั้งครรภ์ตั้งโปรแกรมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในสมองของลูกโดยเพิ่มการผลิต IL-6 และ IL-10 ใน hippocampus ของลูกหนูอายุ 7-60 วัน แต่ลดการแสดงออกของโปรตีนที่เป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพของกระบวนการ autophagy (หรือ LC3B-II) ซึ่งมีความสำคัญต่อกระบวนการ pruning ในระหว่างการพัฒนาสมอง งานวิจัยนี้พบการตอบสนองแบบเดียวกันด้วยในเซลล์เพาะเลี้ยง SH-SY5Y ที่ได้รับฮอร์โมนเครียดปริมาณสูง

ที่น่าสนใจคือเมื่อศึกษาใน *in vitro* model ที่เลียนแบบสิ่งแวดล้อมในครรภ์โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ร่วม (co-culture) ระหว่างเซลล์ SH-SY5Y human neuroblastoma cell lines และ JEG-3 human choriocarcinoma cell lines พบว่าเมื่อให้สารสังเคราะห์ PFI (ทำหน้าที่ยับยั้งเอนไซม์ 11β -HSD1) ทำให้เพิ่มการสกัดกั้นฮอร์โมนเครียดในเซลล์รก พบว่าช่วยยับยั้งผลของฮอร์โมนเครียดจากแม่ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันและดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ LC3B-II ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลจากงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในสมองของลูกที่เป็นผลจากความเครียดในมารดาตั้งครรภ์เป็นผลโดยตรงจากฮอร์โมนเครียดของแม่ผ่านทางรกไปสู่ทารกในครรภ์ โดยไปเพิ่มการอักเสบและยับยั้งกระบวนการ autophagy ในสมองส่วน hippocampus ของลูกหนูที่กำลังพัฒนา

ผลการวิจัยนี้เสนอหลักฐานสำคัญที่มีความเป็นไปได้ในการย้อนโปรแกรมที่เป็นผลของฮอร์โมนเครียดในแม่ตั้งครรภ์โดยการยับยั้งเอนไซม์ 11β -HSD1 ในเซลล์รก งานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่ายาที่ช่วยสกัดกั้นฮอร์โมนเครียดจากแม่ไปสู่ลูกในครรภ์อาจเป็นเป้าหมายยาตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการย้อนโปรแกรมที่เป็นผลจากฮอร์โมนเครียดในแม่ตั้งครรภ์ต่อการพัฒนาสมองของลูกได้

คำหลัก : ความเครียดในแม่ตั้งครรภ์, สารยับยั้งเอนไซม์ 11β -HSD1, ตัวรับ GABAA, ระบบประสาทเกี่ยวกับการอักเสบ, การกลืนกินตัวเอง, อีปโปแคมปัส