

研究・調査報告書

分類番号	報告書番号	担当
B-210	17-238	元高崎健康福祉大学 八田慎一
題名(原題/訳)		
Ethanol exposure regulates <i>Gabral</i> expression via histone deacetylation at the promoter in cultured cortical neurons. 培養皮質神経細胞でエタノール曝露はプロモーター領域でのヒストン脱アセチル化を介して <i>Gabral</i> 発現を調節している		
執筆者		
Bohnsack JP, Patel VK, Morrow AL.		
掲載誌		
J Pharmacol Exp Ther. 2017; 363(1):1-11. doi: 10.1124/jpet.117.242446.		
キーワード		PMID:
エタノール、GABA _A 受容体、 $\alpha 1$ サブユニット、 <i>Gabral</i> 、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)、dCas9-P300		28798030
要旨		
<p>目的: γ-アミノ酪酸 A 受容体(GABA_A-R)は、脳の抑制性神経伝達を仲介する主要な受容体である。GABA_A-R は異なるサブユニットからなるヘテロ 5 量体で構成されており、$\alpha 1$ サブユニット($\alpha 1$)を含む GABA_A-R は脳で最も主要な亜型で、脳の恒常性機能とアルコール依存症やてんかん、ストレスなど、いくつかの疾患の病理として重要である。エタノール(EtOH)の曝露が、$\alpha 1$ 遺伝子 <i>Gabral</i> の転写と$\alpha 1$ タンパク質の発現を <i>in vivo</i> および <i>in vitro</i> で低下することが報告されているが、その転写調節の機序は不明である。EtOH は遺伝子発現のエピジェネティックな調節を活性化することから、本研究は、ヒストンの修飾を介した EtOH による$\alpha 1$ 発現の調節について検討した。</p> <p>方法: 大脳皮質細胞は Sprague-Dawley 系ラット胎仔から調製し、初代培養系で使用した。エタノール(50 mM)と薬物は培養細胞に 4 時間処置した。mRNA は定量 RT-PCR 法で、タンパク質はウエスタンブロット法で、転写因子と DNA の相互作用は ChIP アッセイで測定した。クラス I ヒストン脱アセチル酵素(HDAC1-3)の発現抑制は、RNA 干渉法で行った。ヒストンのエピジェネティックな修飾は dCas9-P300[ヒストンのアセチル化]、dCas9-P300(D1399Y)[HDAC 変異体の誘導]、dCas9-KRAB[ヒストンのメチル化]を神経細胞に導入して行った。HDAC 活性の阻害は、トリコスタチン A (500 nM)、SAHA (3 μM)、RGFP966 (80 nM)で行った。</p> <p>結果: EtOH の曝露で、$\alpha 1$ 発現と <i>Gabral</i> 転写は低下し、この低下は HDAC1-3 の薬理的阻害と RNA 干渉による発現抑制で阻止された。このことは、クラス I HDAC は$\alpha 1$ 遺伝子とタンパク質発現を調節していることを示している。dCas9-P300 によるヒストンアセチル化の増加で、EtOH による <i>Gabral</i> 発現の低下は阻止された。対照的に、HDAC の変異体(HDAC 不活体)の誘導では EtOH の作用に影響しなかった。また、dCas9-KRAB によるヒストンのメチル化は、EtOH によるヒストンの脱アセチル化の誘導に影響しなかった。</p> <p>結論: 本研究の結果は、EtOH はクラス I HDAC を介して <i>Gabral</i> プロモーターに関連したヒストンを脱アセチル化し、<i>Gabral</i> の転写を低下させることと、大脳皮質神経細胞の薬理的、遺伝学的、エピジェネティックな修飾で EtOH による$\alpha 1$ 発現の減少を阻止できることを示している。HDAC 阻害剤はアルコール使用障害の治療的介入で有効であると考えられる。</p>		