

研究・調査報告書

分類番号	報告書番号	担当
B-190	20-231	元高崎健康福祉大学 八田慎一
題名(原題/訳)		
Higher sensitivity of female cells to ethanol: methylation of DNA lowers Cyp2e1, generating more ROS. エタノールに対する雌性細胞の高感受性: DNA メチル化はチトクローム P450 アイソザイム Cyp2e1 を低下し、より多くの ROS を産生する		
執筆者		
Penaloza CG, Cruz M, Germain G, Jabeen S, Javdan M, Lockshin RA, Zakeri Z.		
掲載誌		
Cell Commun Signal. 2020; 18(1):111. doi: 10.1186/s12964-020-00616-8.		
キーワード		PMID:
アルコール毒性、性的二型性、細胞死、Cyp2e1、DNA メチル化、チトクローム P450		32653010
要旨		
<p>目的: 性別の異なる胎仔の同じ臓器から調製した細胞でも、毒性刺激に対して性に依存した様式で応答する。解毒に働くチトクローム P450 (CYP) 酵素ファミリーのなかで、いくつかの CYP の遺伝子発現と応答が培養細胞の性別に依存し、性特異的な変化があることが示されており、この性的二型性が疾患の徴候に影響を与えている可能性がある。Cyp2e1 は、エタノール (EtOH) による酸化ストレスに関与し、EtOH 酸化の副経路による分解を行っている。Cyp2e1 はその触媒サイクルで ROS を産生し、慢性 EtOH 処置が Cyp2e1 発現を増加することから、Cyp2e1 は EtOH による酸化ストレスと肝障害に関与することが推測される。我々は先に、EtOH が Cyp2e1 の発現を細胞の性別で異なって性依存的に誘導すること、および、この発現での違いは DNA メチル化によって変化することを示した。本研究は、EtOH に対する応答調節での性的二型性について、性的分化前の胎仔から調製した細胞を使って検討した。</p> <p>方法: 雌雄 Swiss Webster マウスを使用した。妊娠 10.5 日の胎仔から、培養細胞を調製した。細胞の性別は可視できる生殖腺がないため、性別鑑別を性染色体 Zfy/Zfx 遺伝子解析で雌雄を決定した。細胞へ EtOH (400 μM, 24 時間) と各試薬を処置し、その後解析を行った。細胞生存はトリパンブルー色素排除試験、MTT 試験、WST-1 試験 [ミトコンドリア活性を反映] で評価した。ROS と総グルタチオン (GSH) レベルはアッセイキットで、mRNA は qRT-PCR 法で測定した。</p> <p>結果: 雌性細胞 (FC) は EtOH に対して高い感受性 (EtOH による細胞死が雄性細胞 (MC) より FC で多い) を示した。アルコール脱水素酵素 (ADH) 阻害剤ジスルフィラムは MC の細胞死を増加し、EtOH 細胞死に対する性的二型性を消失した。ADH とアルデヒド脱水素酵素の発現で性差は見られなかった。しかし、Cyp2e1 発現では、EtOH による FC での発現が MC より 8 倍多かった。また、FC は MC より 15% 多く ROS を産生したが、一方、GSH 量では MC が FC より 2 倍多かった。N-アセチルシステイン [RO 捕捉剤] の処置で、EtOH による細胞死は低下し、性差が消失した。メチル基転移酵素阻害剤 5-アザ-2'-デオキシシチジン処置 [DNA メチル化の阻害] で、Cyp2e1 発現と細胞死で見られた性差が消去された。</p> <p>結論: 本研究の結果は、EtOH で生じる細胞死での性差は、結果としてより多くの ROS の産生を生じる Cyp2e1 遺伝子メチル化の (染色体性別に従った) 性的二型性に由来することを示している。DNA メチル化は、EtOH に対する性的二型性応答で、最初の仲介因子として作用することが示唆される。</p>		