

研究・調査報告書

分類番号		報告書番号	担当
B-142	B-210	22-211	元高崎健康福祉大学 八田慎一
題名(原題/訳)			
Targeted epigenomic editing ameliorates adult anxiety and excessive drinking after adolescent alcohol exposure. 標的エピゲノム編集は青年期アルコール曝露後の成体での不安と過剰飲酒を改善する			
執筆者			
Bohnsack JP, Zhang H, Wandling GM, He D, Kyzar EJ, Lasek AW, Pandey SC.			
掲載誌			
Sci Adv. 2022; 8(18):eabn2748. doi: 10.1126/sciadv.abn2748.			
キーワード			PMID:
青年期アルコール、扁桃体、Arc、CRISPR/dCas9、エピジェネティクス			
要旨			
<p>目的: 青年期の過剰飲酒は、後年に生じるアルコール使用障害(AUD)などの精神疾患の主要な危険要因である。青年期のアルコール消費は不安やAUDに対する感受性を亢進する。青年期アルコール曝露(AAE)は、SARE(シナプス活動応答性エレメント、synaptic activity response element)として知られるArc(activity-regulated cytoskeleton-associated protein)最初期遺伝子のエンハンサー領域でエピジェネティック(Epg)なリプログラミングを誘導し、齧歯類とヒトの扁桃体でのArc発現を減少する。Arcはシナプス可塑性や組織化を調節している。しかし、AAE後の成体期での不安や飲酒におけるArc SAREでの扁桃体Epg調節の役割は不明である。本研究はこの点について、CRISPR/dCas9構築物によるEpg編集を用いて検討した。</p> <p>方法: Sprague-Dawley系ラットを使用した。青年期(PND28)ラットの間欠的アルコール曝露(AIEE)(2g/kg、腹腔内投与、2日間隔)をPND41まで行い、PND92日でKRAB[転写抑制因子]を融合したdCas9-KRABおよびP300[ヒストンアセチル基転移酵素の触媒部位]を融合したdCas9-P300の扁桃体発現処置を行った。成体ラットのエタノール(3%)消費は2ボトル選択的法で解析した。ラットの不安様行動は高架十字迷路試験と明暗箱試験で評価した。ArcプロモーターとArc遺伝子の会合はChIPアッセイで解析した。RNAはRT-qPCR法で測定した。</p> <p>結果: dCas9-P300 + sgRNA(single-guide RNA)[Cas9を標的DNA配列に導くRNA]はArc SAREのヒストンアセチル化[遺伝子発現を促進](H3K27ac)を増加して、ラットのAIEE後、成体期で生じたArc発現の障害を改善し、不安と過剰なアルコール摂取を抑制した。反対に、dCas9-KRAB + sgRNAはArc SAREでの遺伝子発現抑制的ヒストンメチル化(H3K27me3)を増加してArc発現を減少し、対照ラットで不安とアルコール摂取を誘導した。Arc SAREはArcの発現をeRNA(enhancer RNA)[エンハンサーの活性化に関与するRNA]発現を介して調節する。eRNAは遺伝子発現を促進的と抑制的の2方向に転写される。dCas9-P300 + sgRNAは、AIEE後のeRNA発現変化を回復し、Arc SAREとプロモーター部位との会合を増加してAIEEによる低下を回復した。dCas9-KRAB + sgRNAはeRNA発現を抑制し、ArcプロモーターでのNELF(negative elongation factor)会合を増加した。</p> <p>結論: 本研究の結果は、扁桃体Arc SAREの標的Epg編集(dCas9-P300とCas9-KRAB)はAIEEによる行動変化を2方向性に修飾することを示し、これらの変化は、Arc SAREからのeRNA転写に関与するEpg回路(ArcプロモーターのEpgなリモデリング)に由来している。AAE後の扁桃体のEpgな修飾はAUDや不安の発生で重要であり、扁桃体Epg編集は、AAE後の成体期で生じる精神病理を改善することを示唆している。</p>			