研究・調査報告書

分類番号		報告書番号	担当
B-135	B-210	20-261	元高崎健康福祉大学　八田愼一

題名（原題／訳）

Sulforaphane protects against ethanol-induced apoptosis in human neural crest cells through diminishing ethanol-induced hypermethylation at the promoters of the genes encoding the inhibitor of apoptosis proteins.

スルフォラファンはアポトーシスタンパク質の阻害因子をコードする遺伝子プロモーターのエタノールによる過剰メチル化を低下することでヒト神経堤細胞のエタノールによるアポトーシスを防御する

執筆者

Li Y, Fan H, Yuan F, Lu L, Liu J, Feng W, Zhang HG, Chen SY.

掲載誌

Front Cell Dev Biol. 2021; 9:622152. doi: 10.3389/fcell.2021.622152.

キーワード	PMID:
エタノール、スルフォラファン、アポトーシス、DNA メチル化、抑制タンパク質 神経堤細胞	33634123

要　旨

目的：神経堤細胞（NCC）は多能性前駆細胞に属し、アルコールに対して感受性が高く、胎児性アルコールスペクトラム障害（FASD）に関係している。スルフォラファン（SFN）が、エタノール（EtOH）で生じる NCC のアポトーシス（Apot）を抑えることが示されている。EtOH による NCC の Apot には、Bcl2 ファミリーなどの多様な情報経路が関与している。しかし、EtOH による NCC Apot での Apot タンパク質阻害因子（IAP）の役割は明らかでない。IAP 遺伝子プロモーターの DNA メチル化と IAP 遺伝子発現との関連が示されており、一方、DNA のメチル化には DNMT1 や DNMT3a などの DNA メチル基転移酵素（DNMT）が関与している。また、SFN が DNMT 活性を阻害して遺伝子発現を調節することが報告されている。本研究は、EtOH 曝露によるヒト NCC（hNCC）の Apot の誘導に、抗 Apot 遺伝子（NAIP、XIAP）発現のエピジェネティックな抑制が関与するかどうか、そして、SFN が抗 Apot 遺伝子発現を回復し、hNCC での EtOH による Apot を阻止するかどうか検討した。

方法：hNCC はヒト胚性幹細胞 H9 株から分化させて調製した。EtOH 処置は 50 mM、24 時間行い、また、SFN 処置は 1 mM、24 時間行い、その後、EtOH と共に 24 時間曝露した。DNMT 活性は、hNCC から核抽出液を調製して、EpiQuik DNA メチル基転移酵素アッセイキット（Epigentek）を用いて測定した。NAIP と XIAP のプロモーターCpG アイランドのメチル化は、メチル化特異的 PCR 法で解析した。細胞生存率は MTS アッセイで、Apot はカスパーゼ 3 開裂解析と FICT アネキシン V 検出キットで測定した。タンパク質はウエスタンブロット法で、mRNA は RT-PCR 法で測定した。

結果：hNCC の EtOH 曝露で DNMT3a 発現と DNMT 活性が増加し、SFN 前処置はこれらの EtOH による変化を抑制した。また、EtOH 曝露は NAIP と XIAP のプロモーター領域での過剰なメチル化を誘導し、これは SFN の共処置で阻止された。さらに、SFN 処置は、hNCC での EtOH による NAIP と XIAP の発現低下を抑制した。RNA 干渉による hNCC の DNMT3a 欠損は、EtOH による NAIP と XIAP の発現抑制と Apot に対する SFN の抑制効果を増強した。

結論：本研究の結果は、EtOH による DNMT3 の発現増加、NAIP と XIAP のプロモーター領域での過剰メチル化、それに続く NAIP と XIAP の発現低下が、EtOH による hNCC の Apot に関与していることを示している。SFN は EtOH による IAP タンパク質コード遺伝子プロモーター領域の過剰メチル化と NAIP と XIAP の発現低下を、DNMT3a 発現と DNMT 活性の調節を介して抑制して hNCC の EtOH 誘導性 Apot を防いでいる。SFN は EtOH による Apot と FASD を防御する効果的な物質であると考えられる。