

Histon-Acetylierung nach frühkindlichem Stress korreliert mit Aktivierung der plastizitätsrelevanten Gene Arc und Egr1 im Gehirn der Maus

Vorgelegt von Msc. Lan Xie

Zusammenfassung

Stress, besonders wenn er im Kindesalter erlebt wird, hat lang anhaltende Konsequenzen für den Organismus, sowohl auf Verhaltensebene, als auch auf molekularer Ebene, die die Entwicklung des Gehirns betreffen. In Abhängigkeit von Qualität, Dauer und Zeitpunkt des Stressors, kann dies das Risiko für psychische Krankheiten erhöhen oder aber zu Resilienz und erfolgreicher Stressbewältigung im Erwachsenenalter führen. In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von Histon-Acetylierung auf die Expression plastizitätsrelevanter Gene, die an der neuronalen und synaptischen Reifung emotionsrelevanter Gehirnregionen beteiligt sind, untersucht.

Mutterseparation (MS) von Postnataltag 14 – 16 diente als früher Stressor, dessen Einfluss auf zwei Schlüsselgene der synaptischen Plastizität, Arc und Egr1, untersucht wurde. In Genexpressionsanalysen unmittelbar nach dem letzten Stressor wurden erhöhte mRNA-Levels von Arc und Egr1 im Hippokampus jedoch nicht im präfrontalen Kortex (PFC) von gestressten Mäusen im Vergleich zu ungestressten Kontrolltieren gemessen. Weiters konnte durch Immunoblotting ein signifikanter Anstieg der Acetylierung der Histone H3 und H4 im Hippokampus Stress-exponierter Tiere nachgewiesen werden., während im PFC lediglich eine Erhöhung der Acetylierung von Histon H3 auftrat. Mit Hilfe der nativen Chromatin Immunopräzipitation-quantitativen Polymerase Kettenreaktion (ChIP-qPCR) konnte nachgewiesen werden, dass die erhöhte H4-Acetylierung im Hippokampus gestresster Mäuse mit den Promoterregionen von Arc und Egr1 assoziiert ist. Dies deutet darauf hin, dass die beobachteten Histon-Modifikationen direkt mit der erhöhten Expression der beiden Gene in Zusammenhang stehen. Obwohl mittels Immunoblot nur eine allgemein erhöhte Histon H3 Acetylierung im PFC gemessen wurde, konnte mittels nChIP-qPCR eine spezifisch erhöhte Acetylierung von H3 und H4 an den Promotoren von Arc und Egr1 nachgewiesen werden.

Zu späteren Entwicklungszeitpunkten konnte zudem eine Zunahme der Komplexität der Dendriten von hippocampalen CA3-Pyramidenzellen nachgewiesen werden. Dies ging mit einer Reduktion des Passivverhaltens im Forced Swimming Test (FST) und einer Verbesserung räumlichen Lernens einher.

Zusammenfassend legen meine Ergebnisse den Schluss nahe, dass sich wiederholtes Erleben von relativ geringem Stress in der frühen Entwicklung positiv auf Hirnentwicklung und Verhalten auswirkt. Es wird spekuliert, dass die Stress-induzierte Transkription von Arc und Egr1, reguliert durch Histonacetylierung, einer der ersten Schritte in neuronaler Plastizität und der Anpassung neuronaler Netze an eine Stress-induzierende Umwelt ist.

Early Life Stress-induced Histone Acetylations Correlate with Activation of the Synaptic Plasticity Genes Arc and Egr1 in the Mouse Brain

Submitted by Msc. Lan Xie

Abstract

Early-life stress programs the developing organism and influences the development of brain and behavior. Depending on the type of stressor and the duration and timing of stress-exposure this can be a critical factor for the development of behavioral dysfunctions and mental disorders but also for a positive adaptation regarding stress coping later in life. Here the hypothesis tested was that histone acetylations result in alterations of synaptic plasticity-related genes, which are critically involved in the neuronal and synaptic development of emotionally relevant brain circuits and behaviours.

Using repeated maternal separation (MS) from PND 14-16 as an early life stressor, two immediate early genes underlying experience-induced synaptic plasticity were analyzed, Arc and Egr1. Gene expression analysis immediately after the last stress exposure revealed elevated Arc and Egr1 mRNA in the hippocampus but not in the PFC of stressed animals compared to unstressed controls. Additionally, immunoblotting revealed an immediate significant increase in the levels of acetylated histone H3 and H4 in the hippocampus of stressed animals, whereas in the PFC only acetylated histone H3 was increased. Using native chromatin immunoprecipitation-quantitative polymerase chain reaction (n-ChIP-qPCR) it was found that the increased acetylation of H4 in the hippocampus of stressed mice was associated with the promoter regions of Arc and Egr1 genes, indicating that the observed histone modifications are directly correlated to the increased gene expression. In the PFC of stressed animals, increased acetylation of both histone H3 and H4 were observed specifically at the promoter regions of Arc and Egr1. Moreover, at later developmental time points, an increase of dendritic complexity and number of spines in CA3 pyramidal neurons was observed in the stressed animals, which was paralleled by a reduction of depressive-like behaviour in forced swimming test (FST) and an improvement of spatial learning.

We demonstrate for the first time that early life stress up-regulates histone acetylation levels around the promoter regions of the synaptic plasticity genes Arc and Egr1 using n-ChIP-qPCR, resulting in an increased expression of these genes in the hippocampus. It is tempting to speculate that these epigenetic mechanisms interfere with the establishment and “formatting” of hippocampal circuits and thereby induce long-lasting structural changes in hippocampal synaptic connectivity and behavioural changes.