研究・調査報告書

分類番号		報告書番号	担当
B-540		21-240	元高崎健康福祉大学　八田愼一

題名（原題／訳）

SIRT2-mediated deacetylation and deubiquitination of C/EBPβ prevents ethanol-induced liver injury.
C/EBPβ の SIRT2 仲介性脱アセチル化と脱ユビキチン化はエタノールによる肝障害を阻止する

執筆者

Zhang Y, Long X, Ruan X, Wei Q, Zhang L, Wo L, Huang D, Lin L, Wang D, Xia L, Zhao Q, Liu J, Zhao Q, He M.

掲載誌

Cell Discov. 2021; 7(1):93. doi: 10.1038/s41421-021-00326-6.

キーワード	PMID:
アルコール性肝疾患 ALD、SIRT2、C/EBPβ 、LCN2、脱アセチル化	34642310

要　旨

目的：NAD^+ 依存性脱アセチル化酵素のサーチュイン 2（SIRT2）は、加齢や代謝、ストレスの調節に関与している。アルコール性肝疾患（ALD）で脱アセチル化はアルコール代謝の調節で重要な役割を果たしているが、ALD での SIRT2 の役割は不明である。一方、C/EBPβ は脂質生成、糖新生経路、肝再生、造血、アポトーシスなどに関連する遺伝子の発現を制御している転写因子で、その活性と安定性はアセチル化などの転写後修飾で調節されている。ALD での C/EBPβ の調節不全やアセチル化の役割は良く分かっていない。これらの観点から、本研究は、ALD での SIRT2 と C/EBPβ の機能と役割について検討を加えた。

方法：ヒトでの研究には、102 名の ALD 患者と 12 名の対照健常者からの生検試料を使用した。動物実験は、肝特異的に *SIRT2* あるいは *C/EBPβ* を欠損（KO）させたマウスと関連タンパク質を肝特異的に過剰発現（OE）（*SIRT2*、*LCN2*、*C/EBPβ*）あるいは変異（*SIRT2-H187A*、*C/EBPβ-K102R*、*C/EBPβ-K211R*）させたマウスを作成して使用した。マウスへのエタノール負荷は、Gao-binge 投与法［NIAAA モデル］で行った。*In vitro* の実験では、HEK293T 細胞と AML12 細胞を使用した。肝臓組織のタンパク質発現は免疫組織化学法で、アポトーシスは TUNEL アッセイで、脂質過酸化は 4-HNE、MDA を指標に評価した。C/EBPβと LCN2 の相互作用は ChIP-seq で解析し、LCN2 の転写活性は二重ルシフェラーゼレポーターアッセイで評価した。mRNA は qRT-PCR 法で、タンパク質はウエスタンブロット法で測定した。

結果：ALD 患者肝臓での肝 SIRT2 タンパク質発現は肝障害重篤度と逆相関した。マウスの *SIRT2*-KO は ALD に対して感受性を亢進し、一方、*SIRT2*-OE はエタノールによる肝脂肪症、脂質過酸化、肝細胞アポトーシスを正常化して、肝障害を阻止した。同様に、AML12 細胞の *SIRT2* 欠乏で、エタノールによる肝細胞アポトーシスと脂質過酸化が亢進し、*SIRT2*-OE でエタノールによる肝障害が抑制された。ALD *SIRT2*-KO マウスの RNA-seq 解析で LCN2 発現が変化していることが示された。転写因子結合予測プログラムによる機能的解析で、C/EBPβ が ALD に関係している SIRT2 の基質として同定された。SIRT2 による C/EBPβ のリジン 102 と 211 の脱アセチル化は C/EBPβのユビキチン化を減少し、結果として C/EBPβ のタンパク質安定化を上昇し、C/EBPβ の標的遺伝子である *LCN2* の転写活性を増加した。マウスで、肝脱アセチル化 C/EBPβ と LCN2 の増加は SIRT2 欠損による ALD 悪化を回復した。さらに、ALD 患者肝臓での C/EBPβ タンパク質発現は、SIRT2 と LCN2 の発現と正の相関を示し、一方、ALD 重篤度と逆相関を示した。

結論：本研究の結果は、SIRT2−C/EBPβ−LCN2 系はアルコール性肝障害を抑制することを示し、SIRT2−C/EBPβ−LCN2 はエタノールによる肝障害に対する防御系として重要であることを示唆している。SIRT2−C/EBPβ−LCN2 系を標的とした介入は ALD の治療で有効であると考えられる。