研究・調査報告書

分類番号		報告書番号	担当
B-540		21-255	元高崎健康福祉大学　八田愼一

題名（原題／訳）

AMPK protects against alcohol-induced liver injury through UQCRC2 to up-regulate mitophagy.
AMPK はマイトファジーを増大する UQCRC2 を介してアルコール性肝障害を防御する

執筆者

Lu X, Xuan W, Li J, Yao H, Huang C, Li J.

掲載誌

Autophagy. 2021; 17(11):3622-3643. doi: 10.1080/15548627.2021.1886829.

キーワード	PMID:
アルコール性肝障害 ALD、AMPK、UQCRC2、ミトコンドリア、マイトファジー	33719895

要　旨

目的：アルコール性肝障害（ALD）の進展に関与している機序は、まだ十分に理解されていず、アルコール性肝疾患を軽減する次世代の治療法のために ALD 病理の機序を解明する必要がある。オートファジーは障害された組織やタンパク質の凝集を除去し、細胞死や組織障害を防ぐ。マイトファジー（Mpg）が、損傷したミトコンドリア（Mit）の除去を助け、ROS の蓄積を低下して、ALD を防御することが示されている。一方、AMPK 情報伝達が FIS1［Mit 外膜タンパク質で Mpg への関与が示されている］の活性化による代謝ストレスや Mit ストレス下での Mpg の調節に応答することが報告されている。本研究は、ALD での Mpg における AMPK の関与について検討した。

方法：ALD 患者組織マイクロアレイと GFP 発現 C57BL/6J マウス、AML-12 細胞および 3T3-L1 細胞を使用した。ALD マウスモデルは、Gao-binge（NIAAA モデル）法でエタノールを投与して作成し、肝臓組織を採取した。Mit の ROS は蛍光色素 MitoTracker Red CMXRos で、Mit 膜電位は陽イオン蛍光色素 JC-1 で、Mpg は MitoTimer で、Mit 生合成は MitoTracker Deep Red を使用して測定した。細胞での Mpg は蛍光タンパク質 mtKeima とフローサイトメトリー法で、タンパク質と DNA の相互作用は ChIP アッセイで、転写因子による遺伝子発現はルシフェラーゼレポーターアッセイ（LRA）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 マウスで肝障害が生じ、肝臓 Mit 数の減少と Mit の膨張化が生じた。AMPK 作動薬のメトホルミン（METF）前処置で、AMPK が活性化され、アルコールによる肝障害と Mit の変化は抑制された。AML-12 細胞のエタノール処置で Mit の ROS レベルが上昇し、METF 処置は ROS 蓄積を低下した。AML-12 細胞で、METF は AMPK を活性化し、Mpg レベルを上昇した。ALD マウスとエタノール処置 AML-12 細胞で、UQCRC2（ユビキノール−チトクローム c レダクターゼ複合体コアタンパク質 2）の発現が低下し、METF はこの低下を回復した。同様に、ALD 患者肝組織でも UQCRC2 が低下していた。マウスと AML-12 細胞で、UQCRC2 の発現抑制は Mpg を障害したが、UQCRC2 の過剰発現で Mpg は増加し、肝障害が軽減された。RNA-seq、ChIP アッセイ、プロモーター解析、LRA の結果から、AMPK は転写因子 NFE2L2 を活性化して *UQCRC2* 遺伝子の転写を増加し、間接的に UQCRC2 タンパク質発現を増加していることが示された。

結論：本研究の結果は、AMPK は Mpg の亢進に働く UQCRC2 を介して ALD から肝臓を防御していることを示し、UQCRC2 を制御している AMPK は Mit での Mpg で重要であり、AMPK-NFE2L2-UQCRC2 系は肝臓での Mpg 調節おける新たな情報経路であることを同定した。また、本研究の知見は ALD の進展を改善する治療標的として UQCRC2 の薬理的活性化の可能性を提示するものである。