

1 グレーヴス病患者の末梢血における SIRT1 の発現低下

Journal of Endocrinology 誌で発表

著者:Qinglei Yin¹,Liyun Shen¹,Yicheng Qi²,Dalong Song³,Lei Ye¹,Ying Peng¹,Yanqiu Wang¹,Zhou Jin¹,Guang Ning¹,Weiqing Wang¹,Dongping Lin⁴,王述¹

詳細を見る

連絡の宛先は D Lin および S Wang とする:lindongping2005@126.com または shuwang999@hotmail.com

*(本研究には Q Yin と L Shen が等しく貢献した)

土井:

<https://doi.org/10.1530/JOE-19-0501>

量/課題:

[Volume 246:Issue 2](#)

ページ範囲:

161~173 年

記事の種類:

研究論文

オンライン公開日:

2020 年 8 月

著作権:

©2020 著者 2020

オープンアクセス

- [PDF のダウンロード](#)

更新を確認する

- [アクセス許可の取得](#)

- [抄録/抜粋](#)
- [全文](#)
- [PDF 形式](#)
- [補足資料](#)

2 抄録

クラス III ヒストン/タンパク質脱アセチル化酵素(HDAC)である SIRT1 は、自己免疫疾患との関連が報告されている。グレーヴス病における SIRT1 の役割に関するデータは不足している。本研

究の目的は、GD の発生機序における SIRT1 の役割を検討することであった。今回の研究では、GD 患者において SIRT1 の発現と活性が健常対照者と比較して有意に低下していることが示された。GD 患者の末梢血では NF- κ B 経路が活性化されており、SIRT1 濃度の低下は臨床パラメータと強く相関していた。甲状腺機能が正常な患者では SIRT1 の発現が著明に亢進しており、下流の標的遺伝子である NF- κ B の発現が有意に低下していた。SIRT1 は P65 を脱アセチル化することにより NF- κ B 経路の活性を阻害していた。これらの結果から、SIRT1 の発現と活性の低下が NF- κ B 経路の活性化に寄与し、GD の発生機序に関与している可能性があることが示された。

キーワード:甲状腺;グレーヴス病;SIRT1;NF- κ B

3 Introduction

グレーヴス病(GD)は甲状腺機能亢進の最も一般的な原因であり、GD ではリンパ球浸潤、サイログロブリン、サイロキシンペルオキシダーゼ、および甲状腺刺激ホルモン受容体(TSHR)に対する自己抗体の存在などの抗甲状腺自己免疫応答が発現する(Weetman 2000)。遺伝的および環境的因子に加えて、免疫機能不全も GD の発生に関与している可能性がある。抗原提示細胞、Weetman 濾胞細胞、および自己反応性 T 細胞の相互作用により、甲状腺抗原に対する自己免疫応答が引き起こされることが示唆されている(甲状腺疾患 2004)。適応免疫系の興奮と自己寛容の破壊が観察されているが、基本的な機序は依然として不明である。

SIRT1 はクラス III ヒストン/タンパク脱アセチル化酵素(HDAC)であり、サイレント情報調節因子(Sir2)ファミリーの一員である。哺乳類のサーチュイン SIRT1 は、代謝の調節や加齢関連疾患の予防に果たす役割が注目されている(Haigis&Sinclair 2010)。細胞レベルでは、SIRT1 は自食作用(サルミネン&Kaarniranta 2009)、エネルギー恒常性(Rodgers et al.2005)、ミトコンドリア生合成(Scarpulla 2011)、アポトーシス(Luo et al.2001,Son et al.2019)など、様々なプロセスを調節している。

最近、SIRT1 遺伝子の多型が甲状腺自己抗体の産生増加に関連することが報告された(Sarumaru et al.,2016)。さらに、SIRT1 は、炎症を抑制したり免疫細胞の活性化を調節したりすることで作用する重要な免疫調節薬として出現した。抗原提示細胞において、SIRT1 は炎症性サイトカインの産生を阻害する(Yang et al.,2015)。SIRT1 は抗腫瘍免疫における MDSC の分化を指揮する(Liu et al.,2014a),.a)。また、SIRT1 はプロモーター領域の脱アセチル化を介して T 細胞の活性化を負に調節し、Bclaf1 の転写を阻害する可能性もある(Zhang et al.,2009,Gao et al.,2012,Kong et al.,2011)。さらに、SIRT1 は T 細胞免疫の重要なサプレッサーであり、活性化 B 細胞の核内因子 κ 軽鎖エンハンサー(NF- κ B)や AP-1 などの転写因子の活性を抑制することで作用する(Fei et al.,2015)。

NF- κ B は最初、NF- κ B 阻害薬である κ B 阻害薬(I κ B)と複合体を形成した不活性型の状態で細胞質内に存在する。細胞刺激後に I κ B タンパク質は I κ B キナーゼ(IKK)によってリン酸化され、

続いて IKK が 26S プロテアソームを介した I κ B のユビキチン化および分解を標的とするようになる(Ghosh et al.2002)。その結果、NF- κ B は翻訳後修飾(PTM)によって調節される(Perkins 2009)。PTM は遺伝子発現プログラムの不可欠な構成要素であり、現在までに 200 を超える PTM が同定されており、シグナル伝達調節の多様な側面に影響を及ぼすことが示されている(Hirsch et al.2016)。PTM は、免疫応答時の細胞情報伝達の重要な調節因子としても作用する(Deribe et al.2010,Liu et al.2016)。細胞のシグナル伝達経路で広範に解明されているリン酸化やユビキチン化などの従来の PTM に加えて、アセチル化やメチル化などの他の非従来型 PTM も免疫応答や炎症反応を制御することが次第に示されつつある(Moowen&David 2014,Cao 2016,Li et al.2016,Chen et al.2017)。蛋白のアセチル化には、酵素活性、蛋白間相互作用、核酸結合、蛋白安定度、細胞内局在などの調節を含む様々な作用がある(Moowen&David 1997,Cao-Ishihara et al.2013,Wang et al.2016)。蛋白のアセチル化には、酵素活性、蛋白-蛋白相互作用、核酸結合、蛋白安定度、細胞内局在などの調節を含む様々な作用がある(Moowen&David,Jane-Ishihara et al.310,Wang et al.)。蛋白のアセチル化には、酵素活性、蛋白-蛋白相互作用、核酸結合、蛋白安定度、細胞内局在などの調節を含む 5 つの主要なアセチル化部位が特定されており、P65 の完全な転写活性のためには Lys 2004 のアセチル化が必要であり、その結果、NF- κ B 依存性のトランス活性化は、NF- κ 2004 2006 ローダー上ケ田 SIRT1 による P65 の脱アセチル化は、疾患の発生に重要な役割を果たしている。これまでの研究では、SIRT1 が糖尿病性腎疾患(Liu et al.2014b)および関節リウマチ(Li et al.2018)に関与していることが示されており、さらに、SIRT1 アクチベーターであるレスベラトロールは、正常では非肥満糖尿病(NOD)マウスで発症する 1 型糖尿病を予防および治療することが示されている(Lee et al.2011)のに対し、GD の発生機序における SIRT1 の役割に関する研究は不足している。今回、GD 患者および健常対照者から抽出した末梢血単核細胞(PBMC)における SIRT1 の発現、活性化および抑制について検討したところ、SIRT1 の欠損が GD の発生機序における NF- κ B の活性化に重要な役割を果たしていることが明らかになった。SIRT1 の遮断は炎症反応を増悪させるが、SIRT1 の活性化は NF- κ B の標的遺伝子の発現を回復させる。本研究の知見は、GD 治療の新たな治療標的となる可能性がある。

4 材料および方法

5 被験者

GD 患者 51 名、橋本甲状腺炎(HT)患者 17 名、年齢と性別を一致させた健康対照 30 名から新鮮血を採取した。GD は臨床症状、甲状腺機能亢進の生化学的指標、抗甲状腺刺激ホルモン受容体抗体(TRAb)陽性に基づいて診断された。HT は抗甲状腺ペルオキシダーゼ抗体陽性、抗サイログロブリン抗体陽性、超音波検査の変化に基づいて診断された。全患者は上海交通大学医学院附属病院の Department of Endocrinology から募集された。慢性疾患、感染疾患、癌、

糖尿病または糖尿病の家族歴を有する患者は本研究から除外された。甲状腺ペルオキシダーゼ (TSH),遊離 T3(FT3),遊離 T4(FT4),4(FT4),甲状腺ペルオキシダーゼ抗体(TPOAb),サイログロブリン抗体(TgAB),甲状腺刺激ホルモン受容体抗体(TRAb)などの臨床パラメータがルーチンの臨床検査法により測定された。GD の被験者特性と臨床情報は表 1 に、HT の被験者特性と臨床情報は補足表 1 に記載されている。末尾の補足資料の項を参照のこと。抗甲状腺療法を受けた GD 患者 15 名のフォローアップ解析が実施された。メチマゾール(MMI)療法を受けていた患者には第 1 相で 20-30 mg/日が投与されたが、寛解が得られた時点で 5-15 mg に減量された。全患者が 3 カ月以上の治療を受けており、甲状腺機能が正常に回復した時点で末梢血液検体が採取された。これらのフォローアップ患者の主な臨床データは補足表 2 に記載されている。参加者全員がヘルシンキ宣言に従って書面によるインフォームド・コンセントを得た。本研究は Ruijin Hospital の研究倫理委員会(Research Ethics Board)の承認を受けた。

表 1

グレーヴス病患者と健常対照者の臨床的特徴

変数	HC	GD	正常範囲
<i>n</i>	30	51	-
年齢(歳)	35±12	36±14	-
性別(M/F)	8 月 22 日	12 月 39 日	-
FT3(pmol/L)	4.2±0.5	30.6±14.0	2.63~5.70 年
FT4 値(pmol/L)	12.6±2.8	42.7±12.3	9.01~19.04 年
TSH(μIU/mL)	2.19±0.85	0.0012±0.002	0.3500~4.9400 年
TRAb(IU/L)	-	15.1±8.8	1.75
TPOAb(IU/mL)	1.30±1.71	336.65±356.21	<5.61
TGAb(IU/mL)	0.79±1.19	194.67±307.15	<4.11

データは分布に従い平均±s.d.で示す。

F:女性、GD:グレーヴス病、HC:健康対照、M:男性

「-」は試験が実施されなかったこと又はデータが得られていないことを示す。

6 細胞の分離

ヘパリン処理した試験管に新たに採取した血液からヒト PBMC を採取し、Ficoll-Isoopaque 密度勾配遠心法(Sigma-Aldrich 社)により分離した後、ペレットを洗浄して血小板及び Ficoll を除去し、分離した細胞をさらなる研究に用いた。

7 RNA 分離および RT-PCR

全 RNA を TRIzol 試薬(Invitrogen)を用いて抽出した後、1 μ g の RNA からオリゴ dT-アダプタープライマーを用いて逆転写酵素(TaKaRa)により cDNA を合成し、定量 PCR 用の 2 回の試料を ICycler(ABI)で測定した。ハウスキーピング遺伝子 GAPDH で標準化した後、 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ を用いて、対照と比較した相対 mRNA レベルで表された遺伝子発現量を定量し、プライマー配列を別表 3 に示す。

8 免疫組織化学検査

免疫組織化学検査が実施された。治療のために甲状腺摘出術が施行された GD 患者 3 例から採取した甲状腺組織と、単純甲状腺腫患者 3 例から採取した甲状腺組織を対照とした。免疫組織化学検査は前述(Hasegawa et al.,2010)の記載に従って実施された。まず、4%パラホルムアルデヒド液で 4 $^{\circ}$ Cで一晩固定した後、パラフィンに包埋して厚さ 5 μ m の切片を作製し、全切片をウサギ抗 SIRT 1 多クローン性抗体(Abcam,ab220807)を用いて 1:200 に希釈した 4 $^{\circ}$ Cで一晩培養した。次に、ビオチン標識したヤギ抗ウサギ IgG(Maixin・バイオテック社、中国福州)で染色した後、ストレプトアビジン-ペルオキシダーゼ複合体(Maixin・バイオテック社)で染色した。次に 3,3'-ジアミノベンジジン(DAB;Maixin・バイオテック社)を加えた。最後に、スライスした切片を対比染色し、脱水、洗浄した後、中性ガムに包埋した。

9 蛍光抗体法

PBMC は細胞遠心分離装置 7620(WESCOR,Logan,UT,USA)を用いて 230 g で 5 分間遠心分離し、スライドガラス上にスピンさせた後、SIRT1(Abcam,ab220807)抗体または P65(Cell Signaling Technology)抗体で染色した。蛍光二次抗体は Invitrogen から購入した。スライドには DAPI を含む Vectatashield(SouthernBiotech,Birmingham,AL,USA)を装着した。蛍光顕微鏡検査では、蛍光色素の減衰の変動によるアーチファクトを除外するため、全ての切片を同時に染色して分析した。画像は Olympus システムを用いて取得した。

10 ウェスタンブロット法

SIRT1(Abcam,ab220807),アセチル-P 65(Abcam)及び I κ B α (Cell Signaling Technology)に対する一次抗体(GAPDH(Cell Signaling Technology))を対照とし、次に西洋ワサビペルオキシダーゼを結合させた二次抗体(Cell Signaling Technology)を用いて膜を 4°Cで一晩培養した後、蛍光発色基質(Millipore)を用いて発色させ、LAS-4000(GE Healthcare)を用いて検出を行った。

11 SIRT1 デアセチラーゼ活性測定

SIRT1 活性測定用キット(Genmed 社、Shanghai,China)を用いて、製造業者のプロトコールに従って in vitro における SIRT1 デアセチラーゼ活性を測定したところ、PBMC を合成基質(Arg-His-Lys-Lys(Ac))と反応させた後、SIRT1 が活性化されるとアセチル化された基質が脱アセチル化されて吸光度が変化し、プレートリーダー(Biotek)により検出された。

12 ELISA

血清中及び細胞上清中の TNF- α 、IL-6,IL-8 及び MCP1 濃度は、それぞれ市販の ELISA キット(R&D Systems 社製)を用いて測定され、各操作は製造業者の指示に従って行われ、マイクロプレートリーダーを用いて波長 450 nm における吸光度を測定し、各ウェルの発色強度を分析した。

13 細胞および治療

PBMC は、10%ウシ胎児血清、2 mM L-グルタミン、100 IU/mL ペニシリンおよび 100 μ g/mL ストレプトマイシンを添加した RPMI 1640 培地を用い、37°C、5%炭酸ガス加湿下、37°Cで培養した。これらの成分は全て Gibco 社から購入した。細胞は完全培地で 1 \times 10⁶/mL の濃度に希釈された。次に PBMC を 12 ウェルプレートに播種し、12 時間血清飢餓条件下で培養した後、SIRT1 阻害因子 Ex527(40 μ M;米国テキサス州 Selleckchem)および SIRT1 活性化因子と推定される SRT1720(2 μ M;Selleckchem)で処理し、リポ多糖体(LPS;E.coli 0111:B4,Sigma-Aldrich)を 50 ng/mL の濃度で細胞に投与し、5 時間後に細胞を採取した。

P 65 特異的 siRNA 及びスクランブル siRNA は、Shanghai Co.Ltd.(Shanghai,China)により設計・製造され、Lipofectamine 3000(Invitrogen)に付属の説明書に従って PBMC にトランスフェクトされた。Genomeditech

14 ルシフェラーゼアッセイ

HEK 293T 細胞を 24 の 24 時間前に 24 ウェルプレートに播種し、細胞の融合率が 40-50%に達した時点で、Lipofectamine 3000 transfection reagent(Invitrogen)を用いて NF- κ B のプロ

モーター配列を含むプラスミドを導入した。Ex527(40 μ M; Selleckchem)と SRT1720(2 μ M; Selleckchem)を同時に添加し、24 時間後に細胞を 1 \times PLB に溶解し、製造業者の推奨に従って Dual-Luciferase Reporter Assay System(Promega)を用いてルシフェラーゼアッセイを実施した。ルシフェラーゼアッセイはすべて 3 回実施した。

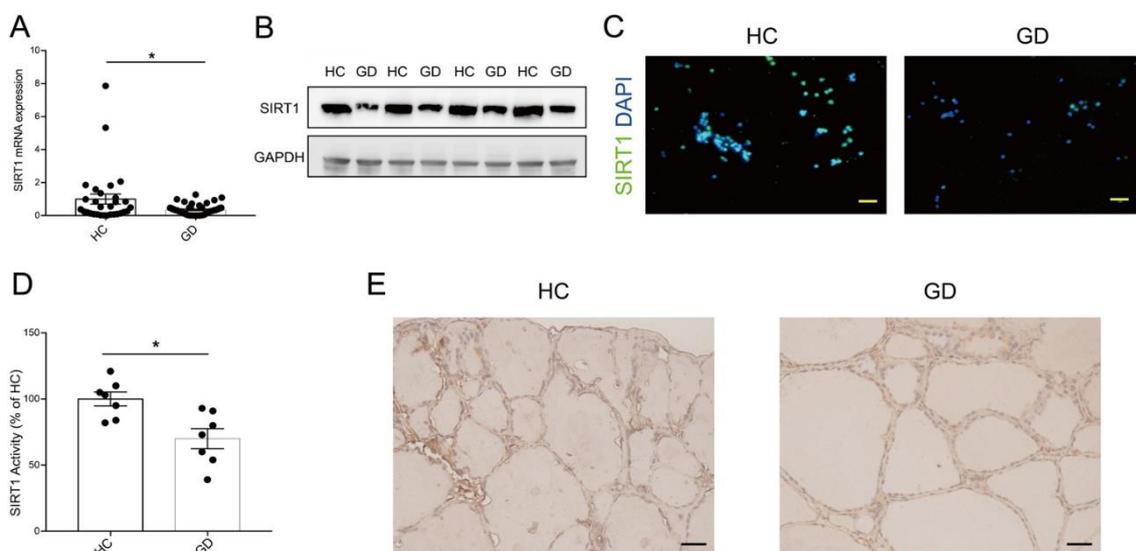
15 データ解析

統計解析の統計解析は SPSS Software 19.0(SPSS Statistics Inc.)を用いて実施された。正規分布データは独立標本 t 検定、異常分布データは Kruskal-Wallis 検定に続いて Mann-Whitney U 検定を用いて解析された。関連性は Spearman 相関検定を用いて解析された。対応するデータセットを比較するために paired t 検定が用いられた。すべてのグラフは GraphPad Prism 7.0 を用いて作成された。0.05 未満の P 値は統計学的に有意とみなされた。

16 結果

17 GD 患者における SIRT1 の発現および活性の低下

SIRT1 が GD の病因に関与しているかどうかを検討するため、まず PBMC の主な構成要素である CD4+T, CD8+T, B リンパ球、単球の SIRT1 陽性の有無を測定したところ、いずれも SIRT1 陽性であった(補足図 1)。次に、GD 患者 51 名と健常対照(HC)30 名から採取した PBMC を用いて qRT-PCR 法により SIRT1 mRNA の発現量を検討した。興味深いことに、SIRT1 mRNA の発現量は、HC と比較して GD 患者で有意に減少していた($P < 0.05$, 図 1A)。興味深いことに、橋本甲状腺炎患者においても SIRT1 の発現量が減少していた(補足表 1, 補足図 2)。このことは、SIRT1 の減少が自己免疫性甲状腺炎(AITD)でよくみられる現象であることを示している。さらに、PBMC 中の SIRT1 蛋白レベルは、HC と比較して GD 患者では減少していた(図 1B)。さらに、PBMC 中の SIRT1 活性を PBMC 中の蛍光抗体法で確認した(図 1C)。次に、GD 患者と HC 患者から採取した PBMC 中の SIRT1 活性を比較したところ、GD 患者の PBMC では SIRT1 活性が低下していた(図 1D)。3 名の GD 患者と 3 名の HC から採取した甲状腺組織中の SIRT1 蛋白の発現量を免疫組織化学染色を用いて測定したところ、実際に GD 患者の甲状腺細胞中に SIRT1 の発現低下が検出された(図 1E)。



フルサイズで表示

図 1

GD 患者で SIRT1 の発現と活性が低下した。(A)GD 患者 51 例と HC 30 例の qRT-PCR により PBMC 中の SIRT1 mRNA レベルが検出された。(B)GD 患者と HC の PBMC における SIRT1 発現のウェスタンブロット法解析(n=4)。(C)GD 患者と HC の PBMC における SIRT1 の蛍光抗体法の代表的な画像(緑)。核は DAPI(青)で染色(n=5)。20 μ m のスケールバー。(D)GD 患者と HC の PBMC における SIRT1 の総活性が測定された。(E)GD 患者と HC の PBMC における SIRT1 の代表的な免疫組織化学染色(n=3)。20 μ m のスケールバー。GD はグレーヴス病、HC は健康対照。データは平均値 \pm s.e.m.*P<0.05。

引用:Journal of Endocrinology 246,2;10.1530/JOE-19-0501

- [図のダウンロード](#)
- [図を PowerPoint スライドとしてダウンロードする](#)

GD 患者では、TRAb は TSHR に結合する典型的な自己抗体であり、それにより甲状腺ホルモンの合成・分泌および甲状腺の成長を刺激する(Weetman 2000)。表 2 に示すように、51 名の GD 患者において、SIRT1 の発現量と TRAb の発現量との間に負の相関が認められ($r=-0.512, P=0.000$, 表 2), また、FT3($r=-0.514, P=0.000$, 表 2)と FT4($r=-0.394, P=0.004$, 表 2)との間には負の相関が認められた。これらのデータから、SIRT1 の発現量の減少が GD の臨床変数と関連していることが明らかになり、総合すると、SIRT1 の発現量の減少が GD において何らかの役割を果たしている可能性が示唆される。

表 2

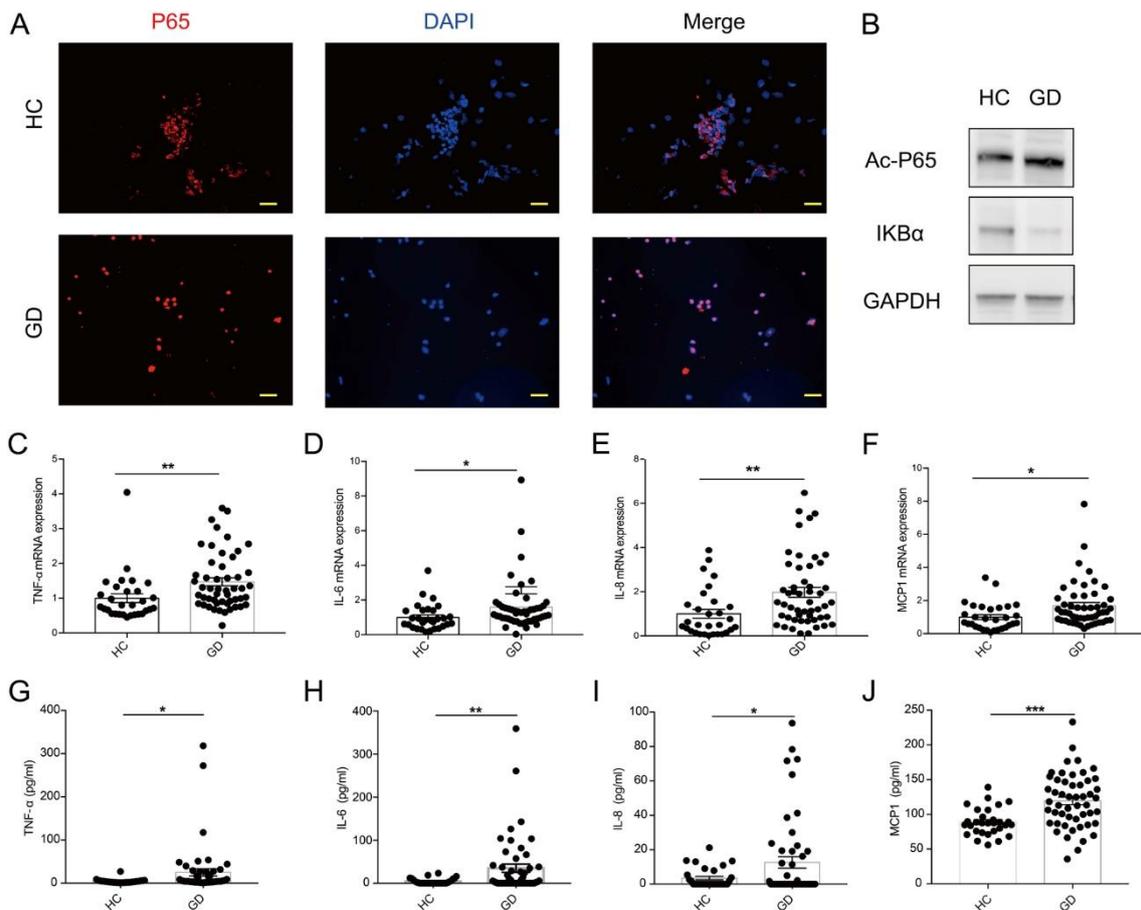
スピアマン相関法による SIRT1 mRNA 発現とグレーヴス病の臨床パラメータとの関連性。

GD のパラメータ	<i>r</i>	リン
FT3 試験	-0.514	0.000
FT4 値	-0.394	0.004
TSH	0.211	0.137
TRAb 試験	-0.512	0.000
TPOAb 型	0.040	0.779
TGAB	-0.047	0.745

r:相関係数

18 NF-κB シグナル伝達経路は GD 患者で活性化される

NF-κB ファミリーは SIRT1 の基質であり、炎症との関連が報告されており、P65 の完全なトランス活性化にはリジン残基(特に 310)における P65 のアセチル化が必要であることが多くのエビデンスから示されており、SIRT1 の発現が GD 患者で低下していることから、GD 患者において NF-κB 経路が活性化されるかどうかを検討した。興味深いことに、GD 患者では P65-NF-κB の発現が核に局在していることが判明し、GD 患者から分離された PBMC において NF-κB シグナル伝達が活性化されていることが確認された(図 2A)。次にウェスタンブロット法を用いて GD 患者と HC における NF-κB シグナル伝達経路の主要な調節因子を特定したところ、GD 患者ではアセチル化-P65(ac-P65)の濃度が上昇していた。さらに、NF-κB の阻害因子である IκB の発現が GD 患者で低下していた(図 2B, 補足図 3)。最後に、NF-κB 経路が GD の病因に関与しているかどうかをさらに確認するために、GD 患者の末梢血における TNF-α、IL-6、IL-8 および MCP1 の濃度を調べたところ、GD 患者では TNF-α(図 2C)、IL-6(図 2D)、IL-8(図 2E)および MCP1(図 2F)の mRNA 濃度が HC よりも有意に高かった。さらに、GD 患者では TNF-α(図 2G)、IL-6(図 2H)、IL-8(図 2I)および MCP1(図 2J)の血清タンパク質濃度が GD 患者で有意に高値を示した。これらの知見は、NF-κB シグナル伝達経路が GD 患者で活性化されているようであることを示している。



フルサイズで表示

図 2

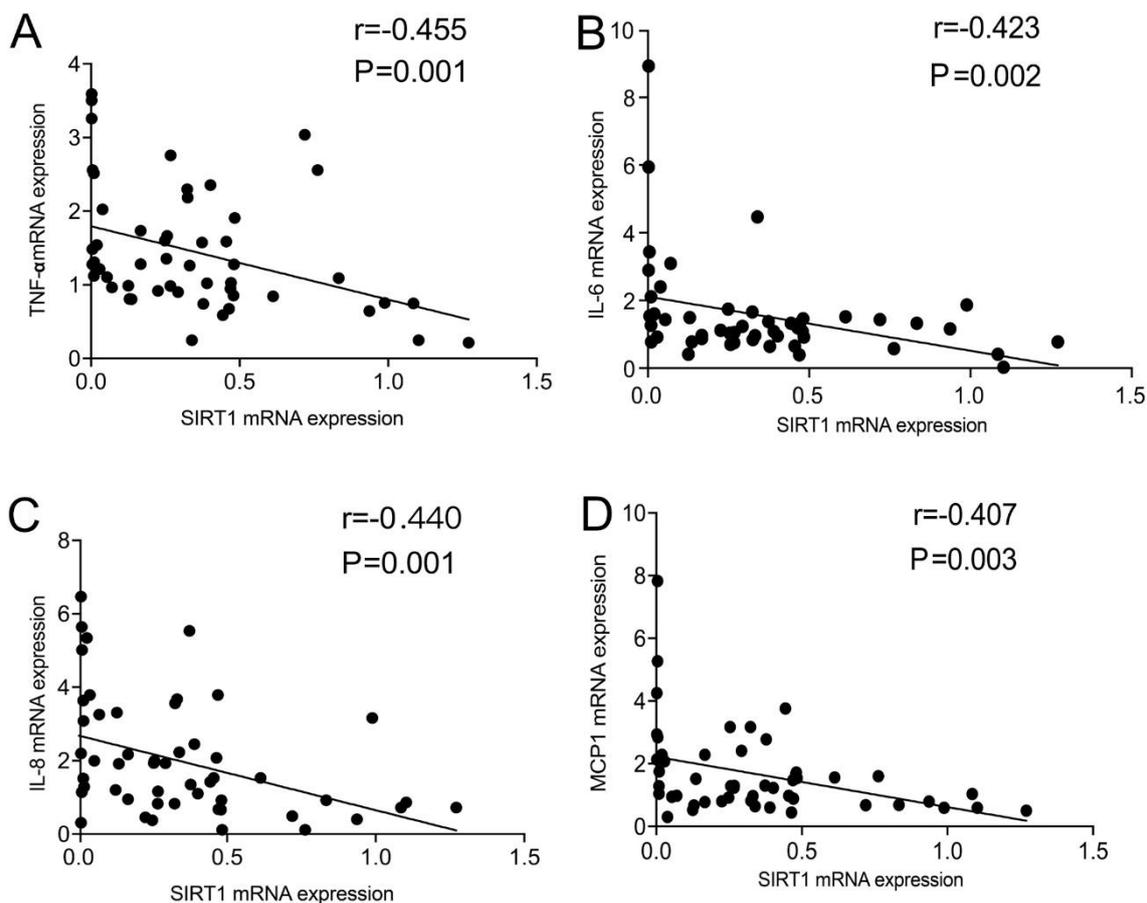
NF-κB シグナル伝達経路は GD 患者で活性化されている。(A)PBMC に P65(赤)及び DAPI(青)を添加した蛍光抗体法(n=5)。20μm のスケールバー。(B)GD 患者及び HC 患者の PBMC における NF-κB 経路の鍵となる分子のウェスタンブロット法解析(C-F)TNF-α(C),IL-6(D),IL-8(E)及び MCP1(F)の mRNA 発現が qRT-PCR 法により GD 患者(n=51)及び HC 患者(n=30)の PBMC において測定された。(G-J)TNF-α(G),IL-6(H),IL-8(I)及び MCP1(J)の血清中濃度が ELISA 法により GD 患者(n=51)及び HC 患者(n=30)の TNF-α(G),IL-6(H),IL-8(I)及び MCP1(J)の mRNA 発現が ELISA 法により GD 患者(n=51)及び HC 患者(n=30)の TNF-α(G),IL-6(H),IL-8(I)及び MCP1(J)の血清中濃度が

引用:Journal of Endocrinology 246,2;10.1530/JOE-19-0501

- [図のダウンロード](#)
- [図を PowerPoint スライドとしてダウンロードする](#)

19 末梢血中の SIRT1 と NF-κB 関連炎症性サイトカインおよびケモカインの濃度との相関

以前の研究では、SIRT1 が P65 を脱アセチル化し、非小細胞肺癌(NSCLC)細胞株におけるそのトランス活性化を阻害することが報告されている(Yeung et al.,2004)。GD 患者におけるこれらの知見の妥当性を確立するために、末梢血中の SIRT1 レベルと NF- κ B 関連炎症性サイトカインおよびケモカインとの関係が検討された。SIRT1 mRNA の発現と TNF- α ($r=-0.455, P=0.001$, 図 3A), IL-6($r=-0.423, P=0.002$, 図 3B), IL-8($r=-0.440, P=0.001$, 図 3C)および MCP1($r=-0.407, P=0.003$, 図 3D)mRNA の発現との間に逆相関が認められたことから、SIRT1 が GD 患者の NF- κ B 経路を調節しているという仮説が支持された。



フルサイズで表示

図 3

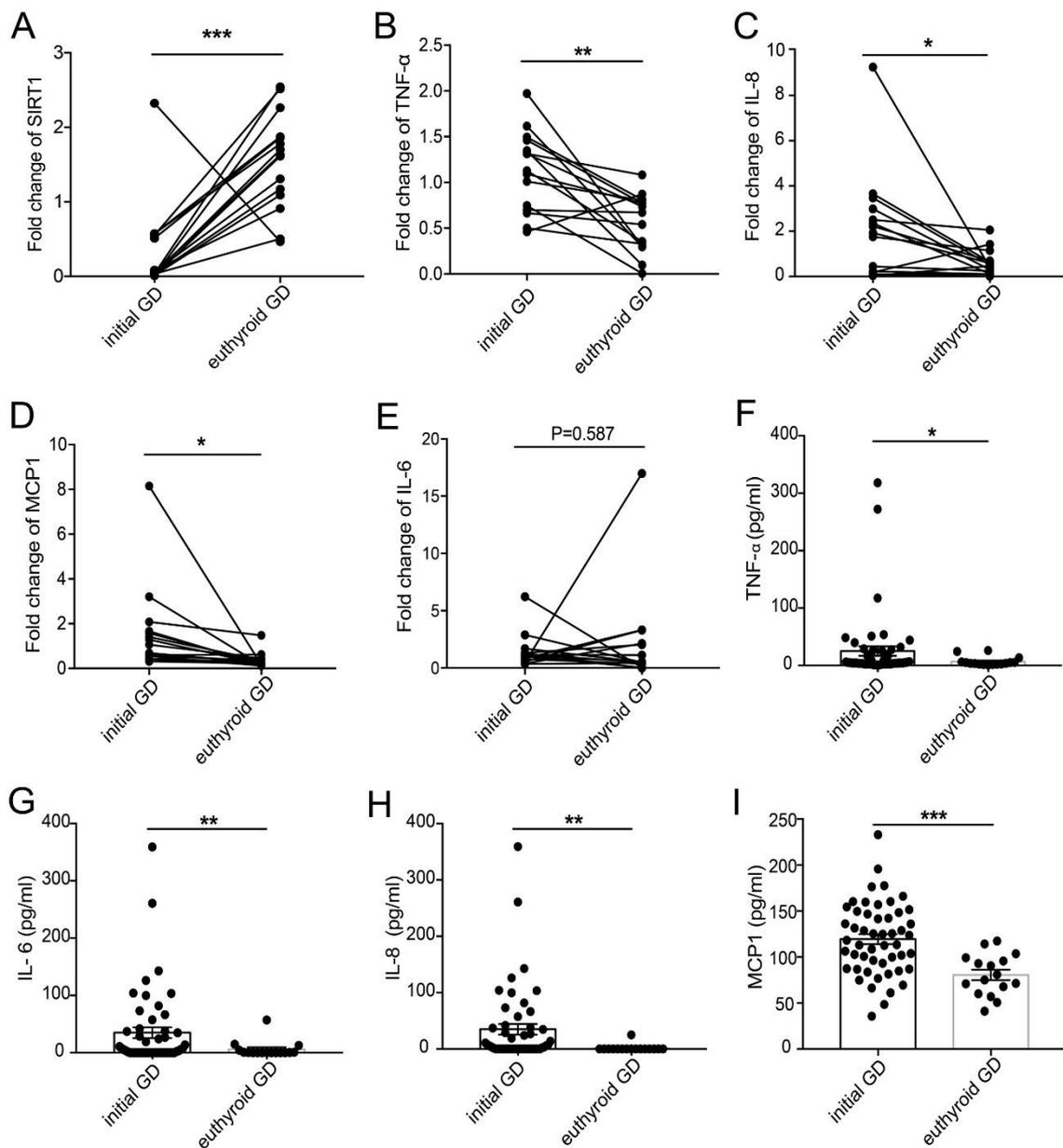
末梢血中の SIRT1 と NF- κ B 関連炎症性サイトカインおよびケモカインのレベルとの相関。(A-D)51 人の GD 患者における TNF- α (A), IL-6(B), IL-8(C), MCP1(D)および SIRT1 の mRNA 発現との相関。GD, グレーヴス病。

引用:Journal of Endocrinology 246,2;10.1530/JOE-19-0501

- [図のダウンロード](#)
- [図を PowerPoint スライドとしてダウンロードする](#)

20 治療後に一部の GD 患者で SIRT1 の発現が増加し、NF- κ B 関連炎症促進因子の発現が減少した

メチマゾール治療を受けた GD 患者 15 名の追跡分析を実施したところ、3 カ月以上の治療後に患者の甲状腺機能の臨床変数は正常値に回復した。SIRT1 の mRNA レベルは、当初の GD 患者と比較して、甲状腺機能が正常な GD 患者では有意に上昇していた(図 4A)が、TNF- α (図 4B),IL-8(図 4C),MCP1(図 4D)などの NF- κ B 関連炎症促進因子の発現は著明に減少していた。IL-6 の mRNA レベルは治療前と治療後の検体で同程度であったが、10 名の患者で IL-6 の発現低下が認められた(図 4E)。循環血中の TNF- α (図 4F),IL-6(図 4G),IL-8(図 4H),MCP1(図 4I)のタンパク質レベルは、当初の GD 患者と比較して甲状腺機能が正常な GD 患者で有意に低下していた。



フルサイズで表示

図 4

治療後の GD 患者の一部では、SIRT1 の発現が増加し、NF- κ B 関連炎症促進因子の発現が減少した。(A)GD 患者における治療前と治療後の PBMC における SIRT1 の mRNA 発現量の変化、(B)GD 患者における治療前と治療後の PBMC における TNF- α の mRNA 発現量の変化、(D)GD 患者における治療前と治療後の PBMC における IL-8 の mRNA 発現量の変化、(D)GD 患者における治療前と治療後の PBMC における IL-6 の mRNA 発現量の変化、(E)GD 患者における治療前と治療後の PBMC における IL-6 の mRNA 発現量の変化、(F)GD 患者における治療前後の TNF- α の血清中濃度、(G)抗甲状腺薬を投与した GD 患者における IL-6 の血清中

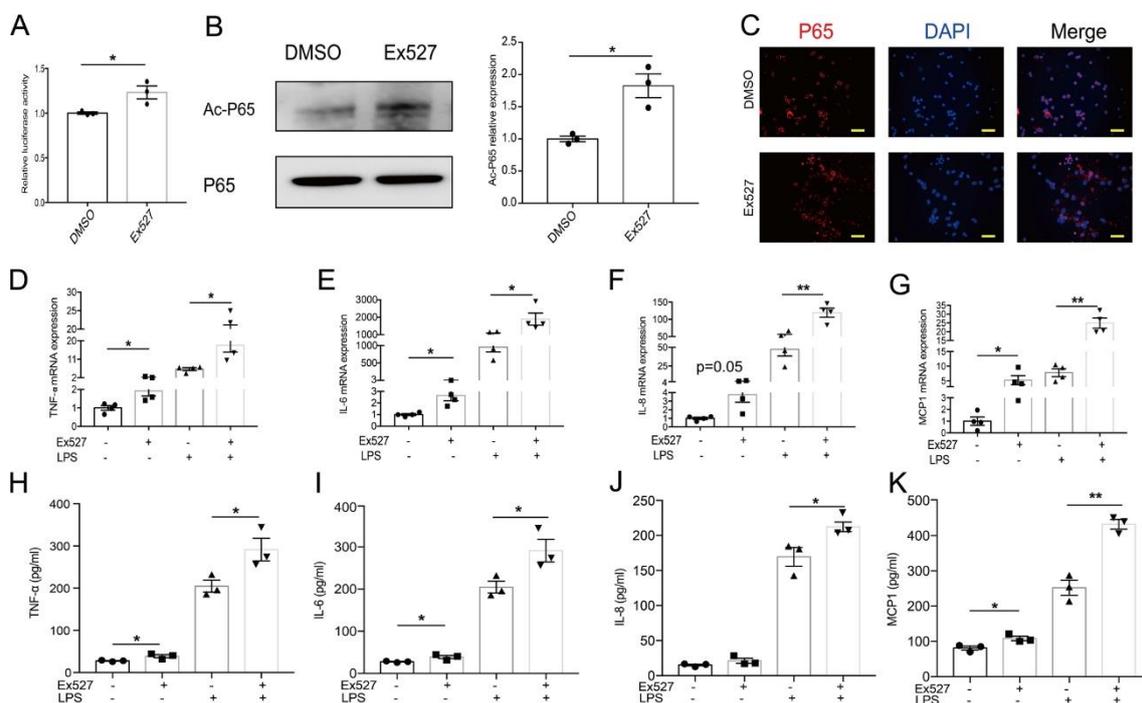
濃度、(H)抗甲状腺薬を投与した GD 患者における IL-8 の血清中濃度、(I)GD 患者における治療前後の MCP1 の血清中濃度、GD, $p<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ を表す。

引用:Journal of Endocrinology 246,2;10.1530/JOE-19-0501

- [図のダウンロード](#)
- [図を PowerPoint スライドとしてダウンロードする](#)

21 SIRT1 の阻害は PBMC の炎症反応を増悪させる

先に説明したように、SIRT1 の発現低下が GD の発症に関与している可能性がある。炎症反応に対する SIRT1 の影響を検討するため、PBMC 中の SIRT1 の阻害が炎症反応に影響を及ぼすか否かを検討するため、インヒビターである Ex527 を用いて DMSO と比較したところ、Ex527 は SIRT1 の活性を阻害した(Supplementary Fig.4A)。SIRT1 は P53 などいくつかの転写因子の転写活性を抑制することが判明していることから、SIRT1 の減少が NF- κ B の転写活性を介して NF- κ B 経路の活性を誘導するか否かを検討したところ、ルシフェラーゼ NF- κ B レポーターシステムを用いて、Ex527 による処理が NF- κ B の転写活性を亢進させることが明らかにされた(Fig.5A)。さらに、Ex527 による処理 PBMC では P65 のアセチル化レベルが有意に上昇した(Fig.5B)。NF- κ B シグナル伝達経路の活性化も蛍光抗体法により確認された(Fig.5C)。興味深いことに、Ex527 で処理した PBMC では、SIRT1 の活性阻害に炎症性サイトカインおよびケモカインの発現が伴っており、LPS の添加の有無にかかわらず、DMSO で処理した細胞よりも発現が亢進していた(Fig.5D-G)。これと一致して、培養上清中の TNF- α (図 5H),IL-6(図 5I),IL-8(図 5J) および MCP1(図 5K)のレベルも Ex527 による刺激後に有意に上昇したことから、SIRT1 の活性阻害が炎症反応を増悪させることが示された。



フルサイズで表示

図 5

SIRT1 の阻害は PBMC における炎症反応を増悪させる。(A)NF-κB の転写活性をルシフェラーゼレポーターアッセイにより解析(n=3)、(B-K)PBMC を DMSO 又は SIRT1-インヒビター Ex527(40μM)で 24 時間処理、(B)K310 における P65 のアセチル化をウェスタンブロット法により判定(n=3)、対応する P65 の強度に対して規格化した Ac-P65 のバンド強度を算出(n=3)、(C)PBMC を Ex527 で処理した場合に P65 の核転座(赤色)が免疫染色により確認(n=3)、20μm のスケールバー(D-G)PBMC を LPS(50 ng/mL)で最後の 5 時間培養したときの TNF-α(D)、IL-6(E)、IL-8(F)及び MCP1(G)の mRNA 発現量を qRT-PCR により定量(n=4)、(H-K)Ex527 で処理した PBMC を 50 ng/mL の LPS で最後の 5 時間培養したときの TNF-α(H)、IL-6(I)、IL-8(J) 及び MCP1(K)の濃度を ELISA により解析(n=3)、データは平均値±s.e.m.*P<0.05、**P<0.01。

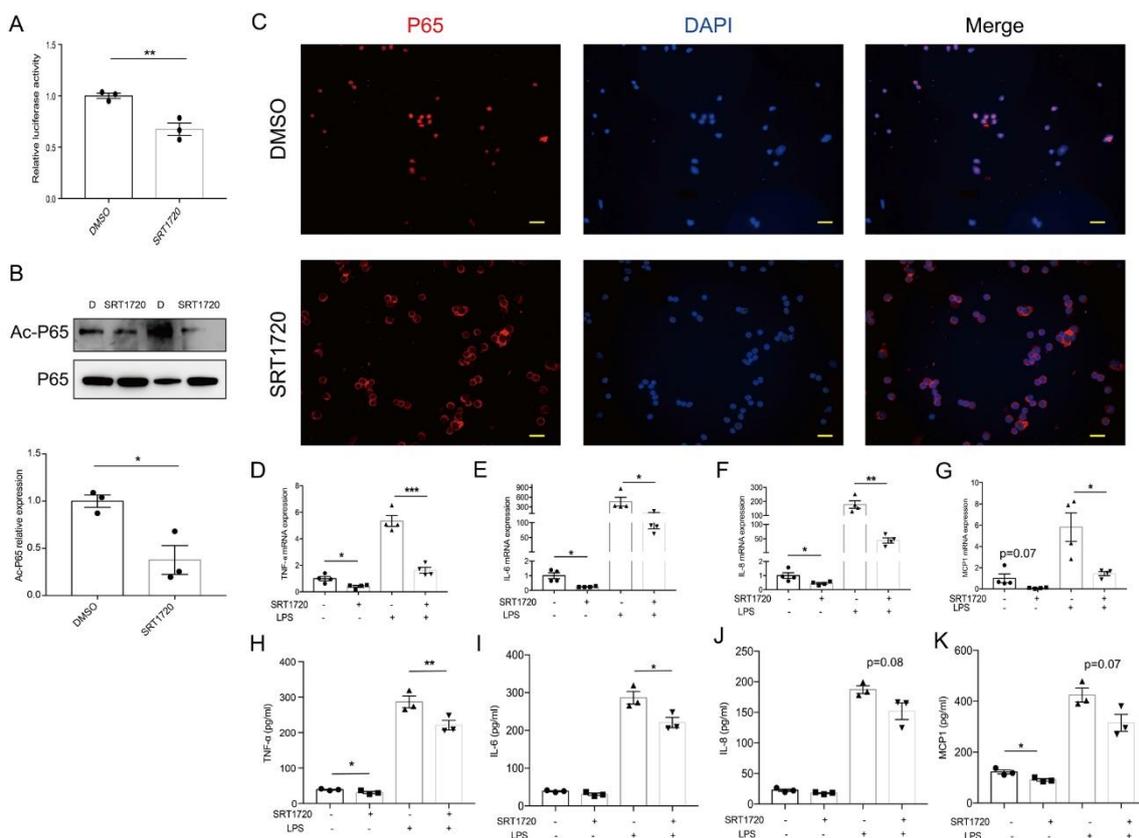
引用:Journal of Endocrinology 246,2;10.1530/JOE-19-0501

- [図のダウンロード](#)
- [図を PowerPoint スライドとしてダウンロードする](#)

22 SIRT1 の活性化は GD 患者の PBMC における炎症反応を軽減する

次に、SIRT1 の活性化が GD 患者の PBMC における炎症反応を軽減するかどうかを検討した。SIRT1 アクチベーターと推定される SRT1720 を用いたところ、SRT1720 で処理した PBMC における SIRT1 活性は、DMSO で処理した PBMC よりも有意に高かった(補足図 4B)。SRT1720 で処理した細胞では、ルシフェラーゼレポーターアッセイにより NF-κB 転写活性の低下が示された

(図 6A)。さらに、ウェスタンブロット法により、SRT1720 で処理した GD 患者の PBMC における ac-P65 の低下が確認され(図 6B)、蛍光抗体法により確認された NF- κ B 経路の活性化の低下も確認された(図 6C)。さらに、SRT1720 で処理した PBMC では、NF- κ B 標的炎症促進遺伝子の発現低下も認められた(図 6D-G)。さらに、SRT1720 で処理した PBMC では、TNF- α (図 6H)、IL-6(図 6I)、IL-8(図 6J)および MCP1(図 6K)の培養上清中のタンパク質レベルも SRT で処理した PBMC で有意に低下していた。以上の結果から、SIRT1 の活性化が炎症反応の軽減に有益であることが示された。



フルサイズで表示

図 6

SIRT1 の活性化は GD 患者の PBMC における炎症反応を軽減する。(A)NF- κ B の転写活性をルシフェラーゼレポーターアッセイにより解析(n=3)、(B-K)PBMC を DMSO 又は SIRT1-アクチベーターSRT1720(2 μ M)で 24 時間処理、(B)K310 における P65 のアセチル化をウェスタンブロット法により判定(n=3)、対応する P65 の強度に対して正規化した Ac-P65 のバンド強度を算出(n=3)、(C)GD 患者の PBMC を SRT1720 で処理したときの P65(赤色)の細胞質転座を免疫染色により確認(n=3)、20 μ m のスケールバー(D-G)GD 患者の PBMC を LPS(50 ng/mL)で最後の 5 時間刺激したときの TNF- α (D)、IL-6(E)、IL-8(F)及び MCP1(G)の mRNA 発現量を qRT-PCR により定量(n=4)、(H-K)SRT1720 で処理した PBMC を 50 ng/mL の LPS で最後の 5 時間培養

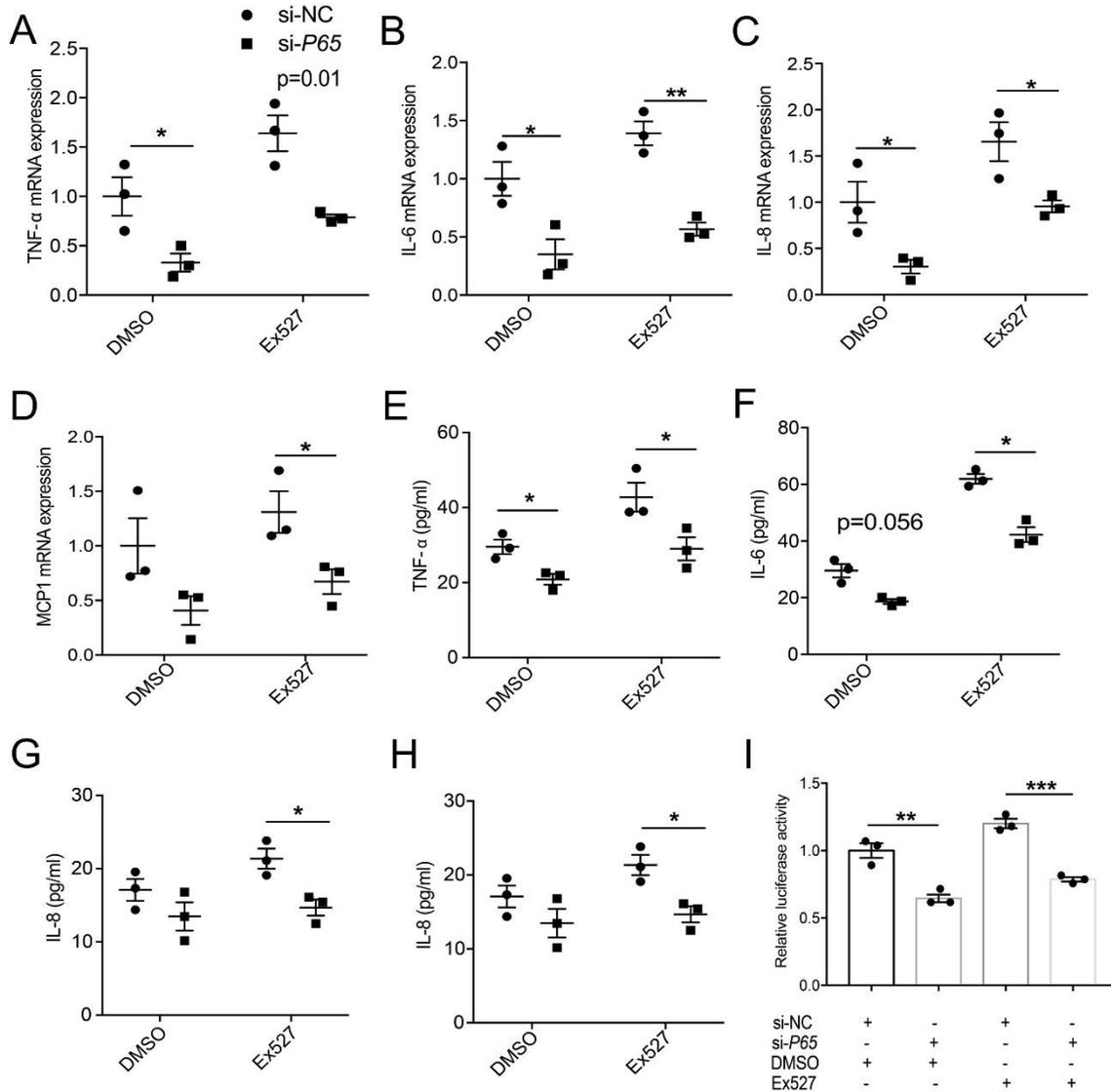
したときの TNF- α (D),IL-6(I),IL-8(J)及び MCP1(K)の mRNA 発現量を ELISA により解析(n=3)、GD-Graves 病。データは平均 \pm s.e.m.*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001 を表す。

引用:Journal of Endocrinology 246,2;10.1530/JOE-19-0501

- [図のダウンロード](#)
- [図を PowerPoint スライドとしてダウンロードする](#)

23 SIRT 1 誘導性炎症の阻害は、PBMC 中の P65 をノックダウンすることで部分的に減少する

SIRT1 と NF- κ B との関係をさらに検討するために、P65 に対する siRNA が用いられ、siRNA によるトランスフェクションの有効性が qRT-PCR により確認された(補足図 5)。PBMC 中の P65 を siRNA を介してノックダウンすると、TNF- α (図 7A),IL-6(図 7B),IL-8(図 7C)および MCP1(図 7D)の mRNA レベルが低下した。さらに、Ex527 によって誘導されたこれらの NF- κ B 標的炎症遺伝子の発現増加は P65 のノックダウンによって遮断された(図 7A-D)。これらの結果と一致して、培養上清中の TNF- α (図 7E),IL-6(図 7F),IL-8(図 7G)および MCP1(図 7H)の mRNA レベルも P65 siRNA の存在下で有意に低下した。さらに、Ex527 によって TNF- α (図 7E),IL-6(図 7F),IL-8(図 7G)および MCP1(図 7H)の蛋白レベルも上昇したが、これらの変化は si-P65 のトランスフェクションによって遮断された。HEK 293T 細胞における siRNA を介した P65 のノックダウンは、Ex527 の添加の有無にかかわらず、NF- κ B の転写活性を低下させたことが、ルシフェラーゼレポーターアッセイによって示された(図 7I)。これらの結果から、SIRT1 は NF- κ B を介した炎症反応を阻害することが示唆される。



フルサイズで表示

図 7

SIRT 1 が誘導する炎症の抑制は、PBMC において P65 ノックダウンにより部分的に減少する。PBMC に P65 siRNA 又は対照 siRNA を導入した後、ノックダウン細胞及び対照細胞を Ex527(40 μ M)又は DMSO で処理し、TNF- α (A),IL-6(B),IL-8(C)及び MCP1(D)の発現量を qRT-PCR 法(n=3)により検討した。(E-H)培養上清中の TNF- α (E),IL-6(F),IL-8(G)及び MCP1(D)濃度を ELISA 法(n=3)により解析した。(I)HEK-293T 細胞に P65 siRNA 又は対照 siRNA を一過性に導入した後、Ex527 及び NF- κ B プロモーターベクターを細胞採取 24 時間前に添加した後、NF- κ B の転写活性をルシフェラーゼレポーターアッセイ法(n=3)により解析した。データは平均値 \pm s.e.m.*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001 を表す。

引用:Journal of Endocrinology 246,2;10.1530/JOE-19-0501

- [図のダウンロード](#)

- [図を PowerPoint スライドとしてダウンロードする](#)

24 討論

GD は自己免疫疾患の中で最も頻度の高い疾患の 1 つであり、ヨードが十分に存在する地域では甲状腺中毒症の全症例の 70-80%を占める(Abraham-Nordling et al.,2011)。抗甲状腺薬は全ての患者の甲状腺機能を正常化するために使用できるが、患者に負の副作用を引き起こすことが多い(David 2005,デフロート et al.,2012)。

今回の研究結果は、SIRT1 が NF- κ B 経路を介した GD の発生に関与する重要な調節因子であることを初めて示した。このことは、いくつかの一連のエビデンスから示唆されている。第 1 に、SIRT1 は PBMC の主な構成要素である CD4+T,CD8+T,B リンパ球および単球で発現しており、SIRT1 の発現は GD 患者の PBMC(特に CD14+単球)ではダウンレギュレーションされている。第 2 に、NF- κ B 経路の活性化が GD 患者で観察されている。第 3 に、SIRT1 の低発現は GD 患者の臨床変数と関連し、IL-6,IL-8,TNF- α 、MCP1 および SIRT1 の間には mRNA レベルで有意な相関が認められる。第 4 に、SIRT1 の阻害は健常対照 PBMC における炎症反応を増悪させるが、SIRT1 の活性化は GD 患者の PBMC における炎症反応を改善する。最後に、我々の知見は、P65 が SIRT1 の直接の標的であり、SIRT1 が GD における NF- κ B を介した炎症反応を媒介することを示唆している。

SIRT1 は、抗炎症作用を有するいくつかの重要な転写因子の機能を調節している(Park et al.2016,Hah et al.2014)。多数のエビデンスから、SIRT1 は関節リウマチ(Li et al.2018)、動脈硬化(Sosnowska et al.2017)、インスリン感受性(Hui et al.2017)、腎疾患(He et al.2010,Hasegawa et al.2010)などの様々な疾患において主要な役割を果たしていることが示唆されているが、PBMC である SIRT1 が GD の発生機序に関与しているかどうかは依然として不明である。今回の研究では、qRT-PCR 法、ウェスタンブロット法、蛍光抗体法により、SIRT1 の発現がダウンレギュレートされていることが確認された。さらなる研究により、SIRT1 の発現が FT3 や FT4 などの臨床 GD パラメータ、特に TRAb 値と強く相関することが確認された。また、限界についても言及すべきである。眼窩疾患を併発している GD 患者では高い TRAb 値がしばしば認められるものの、Graves 病患者 51 例では甲状腺性眼症を発症した患者はおらず、SIRT1 値と眼窩疾患との関連性を解析することはできない。SIRT1 値と眼窩疾患との関連性を検討するには、眼窩疾患を有する GD 患者のさらなる募集が必要となるであろう。MMI 治療後、SIRT1 の発現は甲状腺機能正常の患者でアップレギュレートされた。以前の研究では SIRT1 の mRNA レベルは変化しなかったが(Yan et al.2015)、我々の研究におけるこの差は、より厳しい登録基準によるものである可能性があり、SIRT1 の発現に影響を及ぼす可能性のある他の因子を有する被験者は除外されたと考えられる。さらに、著者らの論文では、SIRT1 mRNA レベルは健康対照と比較して GD 患者からの PBMC が減少する傾向を示したが、統計学的に有意ではなかった(Yan et al.2015)

最近のエビデンスから、SIRT1 はヒストンの脱アセチル化だけでなく、P53,FOXO,P65,STAT3,PGC1 α 、PPAR- γ などの様々な転写因子の脱アセチル化を介して生物学的効果を発揮し(Nakagawa&Guarente 2011),SIRT1 は NF- κ B 経路の阻害を介して抗炎症作用を発揮する可能性がある。核の NF- κ B 活性の持続期間は可逆的なアセチル化によって高度に調節され(Senftleben et al.2001),SIRT1 は P65 の脱アセチル化を介して NF- κ B シグナル伝達経路を阻害することが示されており(Yang et al.2010),NF- κ B の機能は炎症反応の調節であることが十分に認識されている。自然免疫細胞における様々な炎症促進遺伝子の発現誘導を媒介することに加えて、NF- κ B は炎症 T 細胞の活性化、分化およびエフェクター機能も調節している (Zhong et al.2016,Afonina et al.2017)。最近のエビデンスから、NF- κ B は炎症 T 細胞の活性化、分化およびエフェクター機能も調節している(Lawrence 2009,Tak&Firestein 2001)。今回の研究では、GD 患者では P65 が核に転座しているのに対し、HC では P65 が細胞質内に封入されていることが明らかにされた(Zhong et al.,Tak&Firestein,)。ウェスタンブロット法により、NF- κ B 阻害因子である I κ B α の濃度が HC と比較して GD 患者で低下しており、P65 の急速かつ一過性の核移行とそれに続く炎症性サイトカインおよびケモカインの活性化が引き起こされていることが確認された。IL-6,IL-8,TNF- α および MCP1 の上昇は、GD 患者では mRNA レベルとタンパク質レベルの両方で確認された。

SIRT1 が GD 患者において NF- κ B を調節するかどうかを確立するために、SIRT1 の発現と NF- κ B 標的炎症性サイトカインおよびケモカインの発現との関連性をさらに確認した。SIRT1 の発現は IL-6,IL-8,TNF- α および MCP1 の発現と負の相関を示した。さらに、甲状腺機能が正常な GD 患者では SIRT1 の発現量が増加したことから、PBMC における SIRT1 の発現と活性の抑制が、GD の発症に対する感受性の増大または病因の初期変化の前提条件である可能性が示唆された。次に、健常対照の PBMC を SIRT1 インヒビター Ex527 で処理し、GD 患者の PBMC を SIRT1 アクチベーター SRT1720 で処理したところ、Ex527 処理により K310 での P65 のアセチル化がアップレギュレートされ、NF- κ B P65 の核移行が増加したことが明らかになった。これは以前の報告(Yeung et al.2004,Ghisays et al.2015)と一致している。さらに、NF- κ B が調節する炎症性サイトカインおよびケモカインの発現は Ex527 処理に反応して増加した。対照的に、SRT1720 処理は炎症性サイトカインおよびケモカインの産生と P65 の核移行を抑制し、P65 を細胞質内に戻した。さらに、P65 のアセチル化は減少した。重要なことに、siRNA を介した P65 のノックダウンと Ex527 処理の結果から、SIRT1 が NF- κ B 経路を介して炎症反応を調節するという結論がさらに確認された。これらの結果はまた、NF- κ B が調節する炎症性サイトカイン(TNF- α 、IL-1 β および IL-6)の PMA 誘導性の転写活性化および分泌がレスベラトロール処理によって抑制されることを示した Park らの結果とも一致している。さらに、NF- κ B の転写活性の抑制は、対照の C57BL/6 マウスと比較して、SIRT1 トランスジェニックマウスにおける TNF- α 、IL-1 β および IL-6 の mRNA およびタンパク質レベルの大幅な低下と関連している(Park ら 2016)

以上の結果から、SIRT1 は NF- κ B 経路を調節することにより GD の発生機序に関与しており、SIRT1 は GD に関連する炎症過程の負の調節因子としておそらく作用することが示された。SIRT1 の調節は GD 炎症の治療に有望な戦略を提供すると結論した。

25 補足資料

本論文のオンライン版(<https://doi.org/10.1530/JOE-19-0501>)にリンクされている。

26 利益の申告

著者らは、報告された研究の公平性を損なうと考えられる利益相反がないことを宣言する。

27 資金源

本研究は National Natural Sciences Foundation of China Grants(81873637 年、81570707 年、81800693 年)の支援を受けた。

28 著者の貢献に関する声明

S W、Q Y、D L が実験を計画し、Q Y、L S、Y Q、Y P、Q W 及び Z J が実験を実施し、D S、L Y、G N 及び W W が有益な議論を行い、S W、Q Y 及び L S がデータを分析して論文を執筆し、S W は研究の監督、調整及び戦略を担当した。

29 謝辞

著者らは有益な議論を行ってくれた Canqi Cui と Tingting Li に感謝している。

30 参考文献

- Abraham-Nordling M, Byström K, Törring O, ランツ M, Berg G, Calissendorff J, Nyström HF, ヤンソン S, Jörneskog G, カールソン F, et al., 2011 Incidence of Hyperthyroidism in Sweden. *European Journal of Endocrinology* 165 899-905. (<https://doi.org/10.1530/EJE-11-0548>) (Glasgow Coma Scale of Hyperthyroidism)
 - [Google Scholar](#) で検索
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Afonina IS, Zhong Z, Karin M & Beyaert R 2017 Limiting inflammation—the negative regulation of NF- κ B and the NLRP3 inflammasome. *Nature Immunology* 18 861-869. (<https://doi.org/10.1038/ni.3772>)

- [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- 上ヶ田-石原 N,宮田 T,大島 C,渡辺 M,佐藤 Y,浜村 Y,東山 T,Mazitschek R,尾藤 H および木下 M 2013 セプチンは、HDAC 6 媒介性の脱アセチル化を介して微小管安定化を負に制御することにより、樹状突起および軸索の発達を促進する。Nature Communications 4 1-11.(<https://doi.org/10.1038/ncomms3532>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Cao X 2016 Self-regulation and cross-regulation of pattern-recognition receptor signaling in health and disease.Nature Reviews Immunology 16 35-50.(<https://doi.org/10.1038/nri.2015.8>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Chen K,Liu J,Liu S,Xia M,Zhang X,Han D,Jiang Y,Wang C&Cao X 2017 メチルトランスフェラーゼ SETD 2 を介した STAT1 のメチル化は、インターフェロンの抗ウイルス活性にとって極めて重要である。Cell 170 492-506.e14.(<https://doi.org/1.1016/j.cell.2017.06.042>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- David SC 2005 Antithyroid drugs.New England Journal of Medicine 352 905-917.(<https://doi.org/10.1056/NEJMra042972>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Deribe YL,Pawson T&Dikic I 2010 Post-translational modification in signal integration.Nature Structural and Molecular Biology 17 666-672.(<https://doi.org/10.1038/nsmb.1842>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Fei Y,Shimiki E,McBurney MW&Partridge NC 2015 Ulation 1 は骨芽細胞におけるマトリックスメタロプロテアーゼ 13 の発現に対する副甲状腺ホルモン刺激の負の調節因子である:骨芽細胞に対する PTH の作用におけるサーチュイン 1 の働き。Journal of Biological Chemistry 290 8373-8382.(<https://doi.org/10.1074/jbc.M114.602763>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)

- Gao B, Kong Q, Kemp K, Zhao Y-S & Fang D 2012 サーチユイン 1 発現の解析により、IL-2 を介した T 細胞寛容の逆転の分子的解释が明らかになった。PNAS 109 899-904. (<https://doi.org/10.1073/pnas.1118462109>.)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Ghisays F, Brace CS, Yackly SM, Kwon HJ, Mills KF, Kashentseva E, ドミトリエフ IP, Curiel DT, Imai S & Ellenberger T 2015 SIRT1 の N 末端ドメインは、内因性 SIRT1 依存性の脱アセチル化および転写産物の正の調節因子である。Cell Reports 10 1665-1673. (<https://doi.org/10.1016/j.imaj.2015.02.036>) celrep
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Ghosh S, Karin M & Haven N 2002 Missing piece in the NF- κ B puzzle. Cell 109(Supplement)S81 S96. ([https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00703-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00703-1))
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- デフロート L, Abalovich M, アレキサンダー EK, アミノ N, バーバー L, コビン RH, イーストマン CJ, ラザロ JH, ルートン D, マンデル SJ, et al., 2012 Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum: an endocrine society clinical practice guideline. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 97 2543-2565. (<https://doi.org/10.1210/jc.2011-2803>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Gu W & ローダー RG 1997 p53 C 末端ドメインのアセチル化による p53 配列特異的 DNA 結合の活性化 Cell 90 595-606. ([https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80521-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80521-8))
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Hah Y-S, Cheon Y-H, Lim HS, Cho HY, Park B-H, Ka S-O, Lee Y-R, Jeong D-W, Kim Han H-O, et al. 2014 SIRT1 の骨髄系細胞欠失は、核内因子 κ B の活性化を介してマウスの血清関節炎を悪化させる。PLoS ONE 9 e87733. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087733>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Haigis MC & Sinclair DA 2010 Mammalian circumstances: biological insights and disease relevance. Annual Review of Pathology 253-

295.(nutrition.pathol.4.110807.092250)(<https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.>)

- [Google Scholar で検索](#)
- [引用文献のエクスポート](#)
- 長谷川 K,脇野 S,吉岡 K,立松 S,原 Y,水口 H,末安 K,NAOKI-T,徳山 H,Tzukerman M,et al.,2010 腎特異的な sirt1 の過剰発現は、ペルオキシソーム機能を保持することにより急性腎障害を予防する。Journal of Biological Chemistry 285-13045-13056.(<https://doi.org/10.1074/jbc.m109.067728>).
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- He W,Breyer MD,Hao C,He W,Wang Y,Zhang M,You L,Davis LS&Fan H 2010 Sirt1 の活性化がマウス腎髄質を酸化傷害から保護する最新版を入手する :Sirt1 の活性化がマウス腎髄質を酸化傷害から保護する。Journal of Clinical Investigation 120 1056-1068.(<https://doi.org/10.1172/JCI41563.1056>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Hirsch CL,Wrana JL&Dent SYR 2016 KATapulting Journal of Molecular Biology 48 607-616.(<https://doi.org/10.1038/ng.3564.Distinct>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Hui X,Zhang M,Gu P,Li K,Gao Y,Wu D,Wang Y&Xu A 2017 脂肪細胞 SIRT1 は、脂肪組織内のマクロファージを調節することにより、全身のインスリン感受性を制御する。EMBO 報告書 18 645-657.(<https://doi.org/10.15252/embr.201643184>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Kong S,Kim S-J,Sandal B,Lee S-M,Gao B,Zhang DD&Fang D 2011 Type III histone deacetylase Sirt1 タンパクは、Bclaf1 プロモーターにおける p 300 を介したヒストン H3 リジン 56 のアセチル化を抑制し、T 細胞活性化を阻害する。Journal of Biological Chemistry 16967-16975.(<https://doi.org/10.1074/jbc.m111.218206>).
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Lawrence T 2009 The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation.ワールドスプリング・ハーバー 駅 Perspectives in Biology 1 1-10.(<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001651>)
 - [Google Scholar で検索](#)

- [引用文献のエクスポート](#)
- Lee S, Luo X, Yang H, Zaghoulani H, Ye SQ, Gao B, Fang D & Tartar DM 2011
Prevention and treatment of diabetes with a non-obese mouse model of
1 型糖尿病。Diabetologia 54 1136-1146. (<https://doi.org/10.1007/s00125-011-2064-1>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Li X, Zhang Q, Ding Y, Liu Y, Zhao D, Zhao K, Shen Q, Liu X, Zhu X, Li N, et
al. (2016) Methyltransferase Dnmt3a は HDAC9 をアップレギュレートして、抗ウ
イルス自然免疫の活性化のためにキナーゼ TBK1 を脱アセチルする。Nature
Immunology 17 806-815. (<https://doi.org/10.1038/ni.3464>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Li G, Xia Z, Liu Y, Meng F, Wu X, Fang Y, Zhang C & Liu D 2018 Sirt1 は、nf-kb 経路
の抑制を介して、RA 線維芽細胞様滑膜細胞の攻撃性および炎症反応を阻害す
る。Bioscience Reports 38
BSR20180541. (<https://doi.org/10.1042/BSR20180541>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Liu G, Bi Y, Shen B, Yang H, Zhang Y, Wang X, Liu H, Lu Y, Liao J, Chen X, et
al., 2014a SIRT1 は、HIF-1 α 依存性解糖系を調整することにより、腫瘍内の骨髓系
由来抑制細胞の機能と運命を制限する。Cancer Research 74 727-
737. (<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-2584>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Liu R, Zhong Y, Li X, Chen H, Jim B, Zhou MM, Chuang PY & He JC 2014b Role of
transcription factor acetylation in diabetic kidney disease. Diabetes 63
2440-2453. (<https://doi.org/10.2337/db13-1810>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Liu J, Qian C & Cao X 2016 Post-translational modification control of congenital
immunity. Immunity 45 15-
30. (<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.06.020>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)

- Luo J,ニコラエフ AY,Imai SI,Chen D,Su F,Shiloh A,Guanente L&Gu W 2001 Sir2α による p53 の負の制御はストレス下での細胞の生存を促進する。Cell 107 137-148.([https://doi.org/1.1016/S0092-8674\(01\)00524-4](https://doi.org/1.1016/S0092-8674(01)00524-4))
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Moowen KA&David M 2014 Unconventional post-translational modifications in immunological signaling.Nature Immunology 15 512-520.(<https://doi.org/10.1038/ni.2873>)(仮訳)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Nakagawa T&Guarente L 2011 Circumstances at a glance.Journal of Cell Science 124 833-838.(<https://doi.org/10.1242/jcs.081067>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Park SY, Lee SW, Kim HY, Lee SY, Lee WS, Hong KW&Kim CD 2016 SIRT1 は、単球からマクロファージへの分化を阻害する:rheumatoid arthritis における滑膜の炎症の改善。Journal of Molecular Medicine 94 921-931.(<https://doi.org/10.1007/s00109-016-1402-7>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Perkins ND 2006 Post-translational modifications regulations the activity and function of the nuclear factorκβpathway.Oncogene 25 6717-6730.(<https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209937>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Rodgers JT,レリン C,Haas W,Gygi SP,Spiegelman BM&Puigserver P 2005 Nutrient control of glucose homeostasis through complex of PGC-1αand SIRT1.Nature 434 113-118.(<https://doi.org/10.1038/nature03354>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- サルミネン A&Kaarniranta K 2009 SIRT1:自己貪食による寿命の調節。Cellular Signalling 21 1356-1360.(<https://doi.org/1.1016/j.chinese.2009.02.014>)(https://doi.org/1.1016/j.chinese.
 - [Google Scholar で検索](#)

- [引用文献のエクスポート](#)
- 猿丸 M, 渡邊 M, 井上 N, 久本 Y, 盛田 E, 荒川 Y, 日高 Y & 岩谷 Y 2016 機能的 SIRT1 多型と自己免疫性甲状腺疾患患者の臨床的特徴との関連。自己免疫 49 329-337. (<https://doi.org/10.3109/08916934.2015.1134506>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Scarpulla RC 2011 Metabolic control of mitochondrial biogenesis through the PGC-1 family regulatory network. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Cell Research* 1813 1269-1278. (<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2010.09.019>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Senftleben U, Cao Y, Xiao G, Greten FR, Krähn G, Bonizzi G, Chen Y, Hu Y, Fong A, Sun SC, et al. 2001 Activation by IKKα of the second, evolutionary conserved, NF-κB signaling pathway. *Science* 293 1495-1499. (<https://doi.org/10.1126/science.1062677>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Son DO, Liu W, Li X, Prundome GJ & Wang Q 2019 Combined effect of GABA and glucagon-like peptide-1 receptor agonist on cytokine-induced apoptosis in pancreatic β-cell line and isolated human islet. *Journal of Diabetes* 11 563-572. (<https://doi.org/10.1111/1753-0407.12881>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Sosnowska B, Mazidi M, Penson P, Gluba-Brzózka A, Rysz J & Banach M 2017 The sirtuin family members SIRT1, SIRT3, SIRT6: their role in vascular biology and atherogenesis. *Atherosclerosis* 265 275-282. (<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.08.027>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Tak PP & Firestein GS 2001 NF-κB: 炎症性疾患における重要な薬剤。 *Journal of Clinical Investigation* 107 7-11. (<https://doi.org/10.1172/JCI11830>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Wang D, Kon N, Lasso G, Jiang L, Leng W, Zhu W, Qin J, ヘーニヒ B, Gu W, Biology C, et al. (2016) p53 と SET との間のアセチル化により調節される相互作用により、

広範な調節様式が明らかにされている。Nature 538 118-122.(<https://doi.org/10.1038/nature19759>)

- [引用文献のエクスポート](#)
- Weetman AP 2000 グレーヴス病。New England Journal of Medicine 343 1236-1248.(<https://doi.org/10.1056/NEJM200010263431707>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Weetman AP 2004 Cellular immune responses in autoimmune thyroid disease.Clinical Endocrinology 61 405-413.(<https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2004.02085.x>)(以下、「ICH-AP」という。)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Yan N,Zhou J,Zhang J,Cai T,Zhang W,Wang Y,Muhali F-S,Guan L&Song R 2015 グレーヴス病患者由来の末梢血単核細胞におけるヒストン低アセチル化およびヒストン脱アセチル化酵素の増加。Molecular and Cellular Endocrinology 414 143-147.(<https://doi.org/1.1016/j.mce.2015.05.037>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Yang XD,Tajkhorshid E&Chen LF 2010 Functional Interplay between Acetation and Methylation of the RelA Subunit of NF-B Molecular and Cellular Biology 30 2170-2180.(<https://doi.org/10.1128/mcb.01343-09>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Yang H,Bi Y,Xue L,Wang J,Lu Y,Zhang Z,Chen X,Chu Y,Yang R,Wang R,et al.,2015 Multispective modulation of SIRT1 in cancer and inflammation.Critical Reviews in Oncogenesis 20 49-64.(<https://doi.org/10.1615/CritRevOncog.2014012374>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Yeung F,Hoberg JE,Ramsey CS,Keller MD,Jones DR,Frye RA&Mayo MW 2004 Modulation of NF-κB-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase.EMBO Journal 23 2369-2380.(<https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600244>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)

- Zhang J, Lee S, Shannon S, Gao B, Chen W, Chen A, Divekar R, Mcburney MW & Braley-Mullen H 2009 III 型ヒストン脱アセチル化酵素 Sirt1 は、マウスにおける T 細胞寛容の維持に不可欠である。Journal of Clinical Investigation 119. (<https://doi.org/10.1172/JCI38902DS1>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)
- Zhong Z, 梅村 A, Sanchez-Lopez E, Liang S, Shalpour S, Wong J, He F, Boassa D, Perkins G, Ali SR, et al. 2016 NF-κB は、損傷したミトコンドリアの除去を介してインフラマソームの活性化を制限する。Cell 164 896-910. (<https://doi.org/1.1016/j.cell.2015.12.057>)
 - [Google Scholar で検索](#)
 - [引用文献のエクスポート](#)