

学位論文要旨

学位授与申請者

氏名 吉村 亮二

題目 : Study of branched chain amino acids as physiologically active substances  
(生理活性物質としての分岐鎖アミノ酸に関する研究)

本研究は、分岐鎖アミノ酸 (ロイシン、イソロイシン、バリン) であるロイシンの過剰摂取による成長阻害へのアミノ酸代謝酵素の発現変化の影響とロイシン過剰摂取による摂食抑制への迷走神経の関与、ロイシンによるタンパク質翻訳促進機構、分岐鎖アミノ酸摂取による持久運動能力増加機構を明らかにするために行った。

Chapter 1: General introduction (序論)

必須アミノ酸であるロイシン、イソロイシン、バリンは分子内に分岐構造をもつため分岐鎖アミノ酸 (BCAA) と総称される。

アミノ酸栄養において各アミノ酸のバランスは重要であり、低タンパク質食にロイシンを過剰添加することで成長阻害や摂食抑制が生じる。しかし、発生機構は解明されていない。一方、ロイシンは肝臓のアミノ酸代謝酵素発現を変化させることが報告されている。そこで、Chapter 2 ではロイシン過剰摂取による成長阻害はアミノ酸代謝酵素 (アスパラギン合成酵素 (AS)・3-ホスホグリセリン酸脱水素酵素 (PHGDH)) の発現変化により生じているか検討した。また、Chapter 3 では消化管から脳へ摂食抑制シグナルを伝達している迷走神経がロイシンの摂食抑制作用を媒介しているか解析した。

ロイシンは哺乳類ラパマイシン標的タンパク質 (mTOR) の活性化を介したタンパク質翻訳を促進することが知られている。また、BCAA は運動時の骨格筋において重要なエネルギー源であり、BCAA 摂取は持久運動能力を増加させることが報告されている。しかし、それら作用の分子機構は明らかにされていない。一方、ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体  $\gamma$  転写共役因子 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) は、mTOR と複合体を形成することやBCAA代謝を調節していることが示唆されている。そこで、Chapter 4 ではロイシンによる mTOR 活性化に PGC-1 $\alpha$  が寄与するか検討した。また、Chapter 5 では BCAA 摂取による持久運動能力増加には PGC-1 $\alpha$  が必要であるか検討した。

Chapter 2: Downregulation of asparagine synthetase and 3-phosphoglycerate dehydrogenase in rat liver caused by excess leucine intake is not associated with leucine-caused growth retardation (ロイシン過剰摂取によるラット肝臓のアスパラギン合成酵素・3-ホ

スホグリセリン酸脱水素酵素の発現低下はロイシンによって引き起こされる成長阻害に関与しない)

肝臓はアミノ酸代謝において重要な組織である。AS・PHGDHは、それぞれアスパラギン・セリン合成に必要であり、アスパラギンやセリンは生体の成長に不可欠である。ラット肝臓のアミノ酸合成酵素の中でAS・PHGDHの発現は、低タンパク質食摂取で増加することが報告されている。この発現増加は、肝臓でアスパラギン、セリンを合成しアミノ酸欠乏へ適応しようとする反応と考えられている。アミノ酸欠乏により増加するASの発現は、ロイシン添加により減少することがin vitroにおいて報告されている。このため、低タンパク質食摂取時、ロイシン過剰摂取によりAS・PHGDHの発現が減少するかラットを用いて検討した。ロイシンを餌に混ぜて摂取させると肝臓でのAS・PHGDHの発現は減少し、ラットの摂食抑制と成長阻害が確認された。次にロイシンを餌に混ぜて摂食と同時に与えるのではなく、摂食が通常に行われた後の時間帯に、ロイシンを強制経口投与した。すると、摂食抑制ならびに成長阻害は見られなかったが、AS・PHGDHの発現は減少した。このため、ロイシンによる成長阻害の発生とAS・PHGDHの発現減少には相関がなく、摂食抑制が成長阻害を起こしている可能性が考えられた。

Chapter 3: The vagotomy alleviates the anorectic effect of an excess amount of dietary leucine on rats fed a low-protein diet (迷走神経切除は低タンパク質食摂取ラットにおいて食餌性過剰ロイシンの摂食抑制作用を軽減する)

迷走神経は消化管からの摂食抑制シグナルを脳に伝達していることが報告されている。そこで、ロイシン過剰摂取による摂食抑制について迷走神経が関与する可能性を迷走神経切除術を用いて検討した。その結果、無処置ラットの摂食量はロイシン食摂取により大きく減少するのに対し、迷走神経切除ラットではその減少がほとんど起こらなかった。このためロイシンによる摂食抑制は迷走神経を介していることが明らかとなった。

Chapter 4: Phosphorylation of 4EBP by oral leucine administration was suppressed in the skeletal muscle of PGC-1 $\alpha$  knockout mice (ロイシンの経口投与による4EBPのリン酸化は骨格筋特異的PGC-1 $\alpha$ 欠損マウスにおいて抑制された)

ロイシンはリン酸化酵素であるmTORを活性化し、その下流にある真核生物翻訳開始因子4E結合タンパク質(4EBP)のリン酸化を増加させる。これによりタンパク質翻訳は促進される。また、mTORはPGC-1 $\alpha$ と複合体を形成することが報告されている。そこで、ロイシンによるmTORの活性化(4EBPのリン酸化)にPGC-1 $\alpha$ が寄与している可能性を検討した。野生型マウスの骨格筋ではロイシン投与により4EBPのリン酸化が増加した。しかし、骨格筋特異的PGC-1 $\alpha$ 欠損マウス(PGC-1 $\alpha$  KO)

の骨格筋では、4EBP のリン酸化はほとんど増加していなかった。このことから、PGC-1 $\alpha$  がロイシンによる mTOR の活性化に寄与していることが示唆された。

Chapter 5: Enhanced exercise performance through the intake of branched chain amino acids requires PGC-1 $\alpha$  in murine skeletal muscle (BCAA 摂取による運動能力の増加はマウス骨格筋の PGC-1 $\alpha$  を必要とする)

BCAA は運動時の骨格筋において重要なエネルギー源であり、BCAA 摂取は持久運動能力を増加させることが知られている。また、骨格筋特異的 PGC-1 $\alpha$  過剰発現マウスでは持久運動能力が増加し、同時に BCAA 分解酵素の発現増加と骨格筋・血中 BCAA 濃度の低下が報告されている。しかし、BCAA 摂取による持久運動能力増加には PGC-1 $\alpha$  が必要であるかは解明されておらず、それについて検討した。野生型マウスにおいて BCAA 摂取により持久運動能力が増加した。一方、PGC-1 $\alpha$  KO において BCAA 摂取による持久運動能力の増加は見られなかった。さらに野生型マウスに比べ PGC-1 $\alpha$  KO では BCAA 分解酵素の発現が低下し、血中 BCAA 濃度が増加していた。これらは、BCAA 摂取による持久運動能力増加には PGC-1 $\alpha$  が必要であり、PGC-1 $\alpha$  による BCAA 分解経路の制御が寄与していることを示唆している。

Chapter 6: General discussion and Conclusion (総括と結論)

本論文の Chapter 2 では、ロイシン過剰摂取による成長阻害は、アミノ酸代謝酵素である AS・PHGDH の発現減少によるものではなく、摂食抑制によるものであることが示唆された。Chapter 3 ではロイシン過剰摂取による摂食抑制は迷走神経を介して生じていることを見出した。Chapter 4、5 では、それぞれ、ロイシンによる mTOR 活性化と、BCAA 摂取による持久運動能力増加への PGC-1 $\alpha$  の寄与が示唆された。

以上の結果は、ロイシンをはじめとする BCAA が遺伝子発現、摂食、タンパク質翻訳、持久運動能力を調節する機構の一端を解明したものであり、生理活性物質としてのアミノ酸の機能の理解に貢献するものである。