

アミノ酸による膵タンパク質合成翻訳開始を制御する

細胞内シグナル伝達経路の解明

瀬戸菜実子

食品安全・機能性開発学講座 機能性食品健康科学分野

背景と目的

高タンパク質食摂取により膵腺房細胞ではタンパク質合成が著しく亢進する。これには、①タンパク質刺激により分泌された消化管ホルモン Cholecystokinin (CCK)、②タンパク質が消化吸収されたアミノ酸、が寄与していると考えられる。CCK はタンパク質合成翻訳開始を制御する主要な細胞内シグナル因子 mammalian target of rapamycin (mTOR) を介して翻訳開始を亢進する。一方アミノ酸については、当研究室において、Leucine (Leu) と Arginine (Arg) がラット膵腺房細胞株 AR42J のタンパク質合成を亢進することが明らかにされたが、その機構は未だ不明である。本研究では、Leu と Arg による膵タンパク質合成翻訳開始活性の制御機構を、ラットと培養細胞を用いて検討した。

方法

Wistar-ST 系雄ラットを Leu (0.75 mmol/kgBW) ないし CCK (1 nmol/kgBW) あるいは両方を腹腔内投与し 30 分後に、または Arg (0.3, 0.6 mmol/kgBW) を腹腔内投与し 30 分及び 2 時間後に、エーテル麻酔下で腹部大動脈血採取により屠殺した。ただちに膵臓を摘出、Western blot 法により翻訳開始に関係する細胞内シグナル因子 4EBP1、S6K1 のリン酸化を評価した。mTOR 阻害剤 rapamycin は Leu 投与 20 分前に腹腔内投与した。分化させた AR42J 細胞は、アミノ酸濃度を MEM 培地の 1/5 にした低アミノ酸培地で 2 時間培養後、MEM 培地濃度の Leu (400 μ M)、Arg (600 μ M)、あるいは CCK (100 μ M) に 40~60 分暴露した。mTOR 阻害剤、NOS 阻害剤 (L-NMMA) をアミノ酸添加の 20 分前に添加した。細胞溶解物を回収し、Western blot 法により解析した。細胞内外のアミラーゼ量は酵素法により測定した。

結果及び考察

[Leu] ラットでは、Leu は 4EBP1、S6K1 のリン酸化を亢進し、CCK との同時投与ではリン酸化をさらに亢進したが、mTOR 阻害剤投与でこれらは完全に消失した。AR42J 細胞でも Leu は両リン酸化を亢進し、CCK との同時添加でさらに増加した。また Leu と CCK の間には‘交互作用’があった。これらより、Leu は mTOR シグナル伝達経路を介して CCK と“相乗的に”膵タンパク質合成翻訳開始を制御することが示唆された。

[Arg] ラット及び培養細胞で、Arg は 4EBP1 のリン酸化を強く亢進したが、S6K1 のリン酸化は変化しなかった。細胞内外を合わせたアミラーゼ量は Arg 添加後 1 時間で増加し、Arg でタンパク質合成が実際に亢進していることが示唆された。mTOR 阻害剤存在下で Arg が 4EBP1 リン酸化を亢進したこと、NOS 阻害下でも 4EBP1 リン酸化亢進作用は消失しないことから、Arg の作用に未知の細胞内シグナル伝達経路の関与が示唆された。