

ロイシンとアルギニンによる膵臓タンパク質翻訳開始の促進作用と その機構解明

食資源科学講座 食品健康科学分野

河崎 さほり

【背景と目的】

アミノ酸の中でロイシン(Leu)は、mammalian target of rapamycin(mTOR)の活性化を介してタンパク質翻訳を亢進することが肝臓や骨格筋でよく知られている。私どもは、膵臓においてアルギニン(Arg)にも翻訳開始因子を活性化する作用があることを報告し、Leu と Arg は mTOR、その下流のシグナル因子である4E-BP1、S6K1 のリン酸化を相加的に促進することを明らかにした。しかし、mTORの上流がこれらアミノ酸によりどのように調節されるのか、あるいは4E-BP1やS6K1のリン酸化はmTORに完全に依存しているのかは明らかでない。そこで本研究では、各種細胞内情報伝達因子の阻害剤やArgの代謝物・類縁体を用い、Leu、Argによる4E-BP1とS6K1の活性化経路を調べた。

【方法】

ラット膵腺房細胞株AR42Jを48時間MEM培地で培養し、分化させた後、実験を行った。実験①：アミノ酸の濃度をMEM培地の1/5にした低アミノ酸培地で2時間培養した。その後、Leu、Arg単独、または両方の濃度を変えて添加し、30分後に細胞を回収した。実験②：アミノ酸添加20～60分前に各種阻害剤(PI3K阻害剤;LY294002、PI3KⅢ型阻害剤;3-methyladenine、mTOR阻害剤;Rapamycin、NO合成阻害剤;L-NMMA、ERK経路阻害剤;U0126)を添加した。実験③：Arg代謝物及び類縁体を添加した。サンプル調製後、Western blot法により、mTOR、4E-BP1、S6K1のリン酸化の程度を測定した。

【結果と考察】

最大活性を示す高濃度LeuにArgを添加したときにも、相加的なシグナル因子のリン酸化促進作用がみられた。PI3K阻害剤により、4E-BP1、S6K1リン酸化の程度は全群で大きく低下したが、Leu、Argによるリン酸化の促進、およびこれらのアミノ酸の相加作用は消失せず、PI3K以外の促進経路の存在が示唆された。mTOR阻害剤では、アミノ酸によるS6K1のリン酸化は完全に抑えられたが、4E-BP1リン酸化の抑制は部分的であり、4E-BP1リン酸化にはmTORを介さない経路の存在が考えられた。NOS阻害剤、ERK経路阻害剤の影響は見られなかった。これらの結果から、Leu、Argの4E-BP1リン酸化にはmTOR非依存の経路があり、それはERK、NO以外の因子であることが示唆された。Argの代謝物による影響はほとんどみられなかった。グアニジル基をもつArg類縁体では部分的な促進がみられたが、Argより作用は低く、mTOR経路活性化作用はArg自身が活性本体であると思われた。