

アルギニンペプチドによる膵タンパク質翻訳開始の促進機構

応用生物科学専攻 食資源科学講座 食品健康科学 豊岡 美穂

1. 背景

膵腺房では、食事たんぱく質に応答した消化酵素の合成が活発に行われている。そのメカニズムの一つとして、タンパク質翻訳開始因子である mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) が、アルギニン (Arg) によって活性化する事が挙げられる。先行研究より、ラット膵腺房細胞株 AR42J において、Arg 高含有ペプチドであるプロタミンが、Arg を上回る mTORC1 経路活性化作用を持つ事が明らかとなった。またプロタミンの作用について、細胞膜上タンパク質の関与が示唆されている。そこで本研究では、細胞膜上におけるプロタミンの作用部位探索を目的とし、実験 1: FGF 受容体の関与 実験 2: ヘパラン硫酸プロテオグリカンの関与 実験 3: Toll like receptor (TLR) の関与 を検討した。

2. 方法

AR42J を 48 時間 MEM 培地で培養、分化させた後、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 時間培養した。その後、各種添加群に分け、30 分後に細胞を回収し、Western blot 法によって mTOR, 4EBP1, S6K1 リン酸化割合を測定した。実験 1: AR42J を分化させた後、FGF 受容体阻害剤 (NVP-BGJ398, 100 nM, 1 μ M, 5 μ M) を含む MEM 培地で 22 時間培養した。その後、同濃度の阻害剤を含む低アミノ酸培地で 2 時間培養した後、対照群 (低アミノ酸培地) とプロタミン群 (0.029 mM) に分けた。実験 2: AR42J を分化させた後、Heparinase III (30 mU/ml, 300 mU/ml) を含む MEM 培地で 5 時間培養した。その後低アミノ酸培地で 2 時間培養し、対照群とプロタミン群 (0.029 mM) に分けた。実験 3: 低アミノ酸培地で培養後、対照群、プロタミン群 (0.029 mM), LPS 群 (1 μ g/ml, 10 μ g/ml), ヒストン群 (0.15 mg/ml, 0.75 mg/ml, 1.5 mg/ml) に分けた。

3. 結果

実験 1: FGF 受容体の阻害はプロタミンによる mTORC1 経路活性化作用に影響を与えなかったことから、プロタミンの作用に FGF 受容体は関与しない事が示唆された。実験 2: 細胞表層のヘパラン硫酸を破壊した条件下においても、プロタミンの作用は消失しなかった。よってプロタミンの作用に、ヘパラン硫酸プロテオグリカンは関与しない可能性が示された。実験 3: TLR4 のリガンドである LPS 添加は、膵 mTORC1 経路活性化を誘導しなかった。このことから、ラット膵腺房細胞株 AR42J において、TLR4 シグナルは mTORC1 経路活性化に寄与しない事が明らかとなった。よってプロタミンの作用に TLR4 は関与しない事が示唆された。その一方、TLR2 または 4 の活性化因子として知られるヒストン添加により、mTORC1 経路活性化作用が確認された。TLR4 シグナルの mTORC1 経路活性化への寄与は既に否定されているため、TLR2 シグナルが mTORC1 経路活性化に寄与する可能性がある。

4. まとめ

プロタミンの作用について、FGF 受容体およびヘパラン硫酸プロテオグリカンは関与しない事が示唆された。また同様に、TLR4 の関与についても否定された。一方、TLR2 シグナルは mTORC1 経路活性化に寄与する可能性が示された。今後、より選択的な TLR2 アゴニストを添加する事で、mTORC1 経路活性化における TLR2 シグナルの寄与、およびプロタミンの作用における TLR2 シグナルの関与を検討する。