



タンパク質栄養状態の悪化によって稼働する肝脂質蓄積機構に関する研究

お茶の水女子大学ヒューマンライフイノベーション研究所 豊島由香

はじめに

動物は、栄養状態の変化に応じて、体内の物質代謝を調節して、恒常性を維持している。

「タンパク質栄養状態の悪化」とは、必要な量のタンパク質やアミノ酸を摂取できていない状態のことである。タンパク質栄養状態が悪化すると、肝臓に過剰な中性脂肪 (TG) が蓄積して脂肪肝になることが知られている。この現象は、肝臓からの TG の放出が抑制されるために起こると考えられていた^{1,2)}。しかし、近年、タンパク質栄養状態の悪化による脂肪肝の形成には、肝臓におけるインスリンの細胞内シグナルの変化やそれを介した物質代謝の変化が関与していることがわかってきた。

ここでは、摂取するタンパク質の量の不足によって肝臓に過剰な脂質蓄積が起こるメカニズムについて、我々が検討して得た知見について紹介する。

1. タンパク質栄養状態の悪化によって起こる肝臓のインスリンシグナル増強と脂質蓄積

1-1. タンパク質栄養状態の悪化によって肝臓のインスリンシグナルが増強する

タンパク質栄養状態が悪化すると、インスリンの感受性が上昇する。我々は、体内のどの臓器でインスリン感受性が上昇するかを明らかにするために、無タンパク質食もしくは低タンパク質食を摂取させたラットを用いて、インスリンの標的臓器における細胞内シグナルの変化を検討した。

一般に、インスリンは細胞膜上の受容体に結合すると、受容体が活性化し、これがインスリン受容体基質 (IRS) をチロシンリン酸化する。引き続き、チロシンリン酸化された IRS に PI3 キナーゼ (PI3K) p85 制御サブユニットが結合することで、PI3K 経路が活性化され、インスリン特有の生理作用を発揮する。

検討の結果、対照食摂取ラットの肝臓と比べて、無タンパク質食もしくは低タンパク質食摂取ラットの肝臓では、IRS-1 および IRS-2 の量が増加し、インスリン刺激に反応したこれらのチロシンリン酸化、PI3K p85 制御サブユニットとの結合量が増加していた。特に、IRS-2 のチロシンリン酸化、PI3K p85 制御サブユニットとの結合量は、インスリン無刺激時の定常状態においても増加していた。さらに、PI3K の下流に存在する、Akt や S6K などのインスリン依存的なリン酸化も増加していた³⁻⁵⁾。

これらの結果から、タンパク質栄養状態の悪化は肝臓のインスリンシグナルを増強させることが明らかとなった。

1-2. タンパク質栄養状態の悪化によって肝臓の脂質合成が促進する

インスリンには、肝臓で脂質合成を促進させる働きがある。したがって、タンパク質栄養状態が悪化した際に起こる肝 TG

量の増加に、肝臓インスリンシグナルの増強による脂質合成の促進が関与しているのではないかと考えられた。そこで、低タンパク質食摂取ラット由来の肝細胞を用いて、インスリン刺激に反応した脂質合成活性の変化を検討した。まず、脂質合成調節酵素であるアセチル CoA カルボキシラーゼ 1 (ACC1) や脂肪酸合成酵素 (FAS) の mRNA 量を測定した。これらの mRNA 量は、インスリン刺激によって増加することが知られている。検討の結果、対照食摂取ラットと低タンパク質食摂取ラットのいずれの肝細胞においても、ACC1 と FAS の mRNA 量は、インスリン刺激依存的に増加した。しかし、これらは、インスリン刺激の有無に関わらず、両群間で差は観察されなかった⁵⁾。また、これらのタンパク質量は、対照食摂取ラットの肝細胞に比べて、低タンパク質食摂取ラットの肝細胞で増加していたが、両群ともにインスリン刺激によって増加しなかった⁵⁾。さらに、単位時間当たりの TG 合成量を測定した。その結果、対照食摂取ラットの肝細胞に比べて、低タンパク質食摂取ラットの肝細胞で、単位時間当たりの TG 合成量は多かったが、両群ともにインスリン刺激によって増加しなかった⁵⁾。これらの結果から、低タンパク質食摂取ラットの肝臓では、インスリン刺激の有無に関わらず、TG 合成が促進することが明らかとなった。

以上の結果をまとめると、タンパク質栄養状態の悪化によって起こる肝臓での IRS 量の増加やインスリンシグナルの増強が、インスリン刺激の有無にかかわらず、TG 合成を促進させて、肝臓に脂質を蓄積させると考えられた。

2. タンパク質栄養状態の悪化によって起こる肝臓の 4E-BP1 量増加と脂質蓄積

タンパク質栄養状態の悪化が肝臓のインスリンシグナルに及ぼす影響を検討する過程で、低タンパク質食を与えたラットの肝臓で翻訳抑制因子 4E-BP1 (eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1) の量が増加することを見出した^{3,4)}。

一般的に、4E-BP1 は、翻訳開始因子 eIF4E と複合体を形成し、タンパク質翻訳を抑制する。また、4E-BP1 は mTORC1 (mechanistic target of rapamycin complex 1) の基質であり、活性化された mTORC1 によってリン酸化されると、eIF4E から解離して、タンパク質翻訳を活性化する。つまり、mTORC1-4E-BP1 経路はタンパク質合成を翻訳開始段階で調節する。ところが、近年、4E-BP1 を含めた mTORC1 経路がタンパク質代謝だけでなく、糖・脂質代謝を調節することが注目され始めてきた。

そこで、低タンパク質食摂取ラットの肝臓で起こる 4E-BP1 量の増加が肝 TG 量の増加に直接的に関与しているか調べるために、*4e-bp1* に対する shRNA を発現するアデノウイルスを作

製し、これを尾静脈より投与して、肝臓の4E-BP1をノックダウンしたラットを用意した。そして、このラットに低タンパク質食を与えた際の肝TG量の変化を検討した。その結果、肝4E-BP1をノックダウンしたラットでは、正常ラットと比べて、低タンパク質食によって起こる肝TG量の増加が抑えられた⁶⁾。したがって、タンパク質栄養状態が悪化した際に起こる肝TG量の増加には、肝4E-BP1量の増加が必要であることが明らかとなった。

また、この4E-BP1を介した肝TG量の調節機構に、どのような脂質代謝調節因子が関わっているか検討した。その結果、脂肪酸酸化の調節酵素であるCPT1A (carnitine palmitoyl-transferase 1A) 量が、低タンパク質食と4E-BP1ノックダウンの両方の影響を受けて変化し、低タンパク質食を与えた肝4E-BP1ノックダウンラットの肝臓で増加していた。そして、この増加はmRNAレベルではなく、タンパク質レベルで起こっていた⁶⁾。これらの結果から、タンパク質栄養状態の悪化にตอบสนองして肝臓では脂肪酸酸化が抑制されること、そのメカニズムには4E-BP1による翻訳調節が関与することが考えられた。

一連の知見は、肝臓において、4E-BP1がタンパク質・アミノ酸の栄養シグナルと脂質代謝とを結びつける重要な因子であることを示唆している。

おわりに

以上の研究成果を総合して、「タンパク質栄養状態が悪化すると、肝臓では、IRSや4E-BP1量の増加を介した糖・脂質代謝調節システムが働く。特に4E-BP1を介した調節では、特定のタンパク質の量が翻訳抑制を受けて減少し、糖・脂質代謝が変動する。その結果、肝臓に脂質が蓄積する」といったタンパク質栄養状態の悪化にตอบสนองした肝脂質蓄積機構の仮説を立てるに至っている(図1)。

脂肪肝は、生活習慣病の発症リスクを高める要因の一つである。脂肪肝の症例は、過栄養による肥満を伴っているものが多

いが、肥満を伴わない脂肪肝の症例数も少なくなく、その原因の一つは、必要な栄養素を十分に摂取できていない低栄養である。低栄養は、現代の我が国の健康問題の一つであり、特に高齢者の間で問題となっている。過栄養による脂肪肝の発症機序に加えて、タンパク質栄養状態の悪化に着目した研究を含めた、低栄養による脂肪肝の形成機構に関する知見が増えれば、生活習慣病の治療法・予防法の確立に貢献するだけでなく、超高齢化社会における健康寿命延伸のためにも役立つと考えている。

(引用文献)

- 1) Truswell AS, Hansen JD, Watson CE, Wannenburg P. Relation of serum lipids and lipoproteins to fatty liver in kwashiorkor. *Am J Clin Nutr*, 22, 568-576 (1969)
- 2) Flores H, Pak N, Maccioni A, Monckeberg F. Lipid transport in kwashiorkor. *Br J Nutr*, 24, 1005-1011 (1970)
- 3) Toyoshima Y, Tokita R, Ohne Y, Hakuno F, Noguchi T, Minami S, Kato H, Takahashi S. Dietary protein deprivation up-regulates insulin signaling and inhibits gluconeogenesis in rat liver. *J Mol Endocrinol*, 45, 329-340 (2010)
- 4) Toyoshima Y, Tokita R, Taguchi Y, Akiyama-Akanishi N, Takenaka A, Kato H, Chida K, Hakuno F, Minami S, Takahashi S. Tissue-specific effects of protein malnutrition on insulin signaling pathway and lipid accumulation in growing rats. *Endocr J*, 61, 499-512 (2014)
- 5) Taguchi Y, Toyoshima Y, Tokita R, Kato H, Takahashi SI, Minami S. Triglyceride synthesis in hepatocytes isolated from rats fed a low-protein diet is enhanced independently of up-regulation of insulin signaling. *Biochem Biophys Res Commun*, 490, 800-805 (2017)
- 6) Toyoshima Y, Yoshizawa F, Tokita R, Taguchi Y, Takahashi SI, Kato H, Minami S. A translation repressor, 4E-BP1, regulates the triglyceride level in rat liver during protein deprivation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 318, E636-E645 (2020)

謝辞 本研究は、東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命科学専攻栄養化学研究室で始められたものであります。本研究で得られた成果の大部分は、東京大学大学院農学生命科学研究科と日本医科大学先端医学研究所で行われたものであります。学生時代から現在に至るまでご指導いただきました加藤久典特任教授(東京大学大学院農学生命科学研究科)、高橋伸一郎教授(東京大学大学院農学生命科学研究科)に心より感謝申し上げます。また、ウイルスを用いたラットへの遺伝子導入実験を立ち上げるにあたり、共に戦ってくださった南史朗名誉教授、田口雄亮博士、八木孝博士、時田玲子氏、大木佳奈子氏(日本医科大学先端医学研究所)に深く感謝申し上げます。さらに、本研究に多大なるご助力・ご助言を賜りました竹中麻子教授(明治大学農学部)、吉澤史昭教授(宇都宮大学農学部)、伯野史彦助教(東京大学大学院農学生命科学研究科)に厚く御礼申し上げます。最後に、今回の受賞に際し、ご推薦いただきました藤原葉子教授(お茶の水女子大学基幹研究院自然科学系)をはじめ、選考委員の先生方ならびに関係各所の先生方に厚く御礼申し上げます。

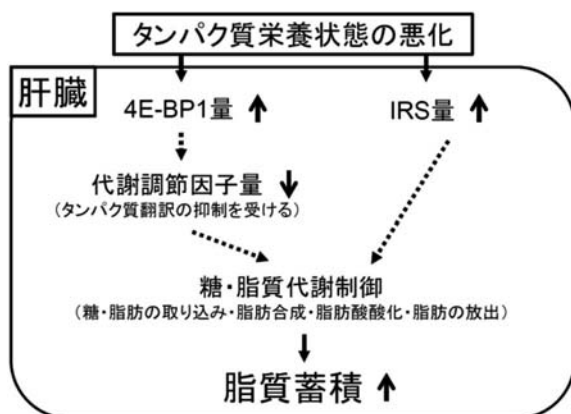


図1. タンパク質栄養状態の悪化によって稼働する肝脂質蓄積機構(作業仮説)