

方策を得る手がかりになると期待している。

伊福 健太郎

(京都大学大学院生命科学研究科統合生命科学専攻/
JST さきがけ「光エネルギーと物質変換」領域)

謝辞

筆者らの研究は、所属する京都大学大学院生命科学研究科全能性統御機構学分野で主に行ったものである。ご指導いただいた佐藤文彦教授をはじめ、多くの共同研究者に感謝する。

- 1) Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J.R., & Kamiya, N. (2011) *Nature*, 47, 55–60.
- 2) Ifuku, K., Ishihara, S., Shimamoto, R., Ido, K., & Sato, F. (2008) *Photosynth. Res.*, 98, 427–437.
- 3) Ifuku, K., Nakatsu, T., Kato, H., & Sato, F. (2004) *EMBO Rep.*, 5, 362–367.
- 4) Tomita, M., Ifuku, K., Sato, F., & Noguchi, T. (2009) *Biochemistry*, 48, 6318–6325.
- 5) Calderone, V., Trabucco, M., Vujčić, A., Battistutta, R., Giacometti, G.M., Andreucci, F., Barbato, R., & Zanotti, G. (2004) *EMBO Rep.*, 4, 900–905.
- 6) Kakiuchi, S., Uno, C., Ido, K., Nishimura, T., Noguchi, T., Ifuku, K., & Sato, F. (2012) *Biochim. Biophys. Acta*, 1817, 1346–1351.
- 7) Nagao, R., Suzuki, T., Okumura, A., Niikura, A., Iwai, M., Dohmae, N., Tomo, T., Shen, J.R., Ikeuchi, M., & Enami, I. (2010) *Plant Cell Physiol.*, 51, 718–727.
- 8) Ifuku, K., Yamamoto, Y., Ono, T.A., Ishihara, S., & Sato, F. (2005) *Plant Physiol.*, 139, 1175–1184.
- 9) Ido, K., Ifuku, K., Yamamoto, Y., Ishihara, S., Murakami, A., Takabe, K., Miyake, C., & Sato, F. (2009) *Biochim. Biophys. Acta*, 1787, 873–881.
- 10) Caffarri, S., Kouril, R., Kereiche, S., Boekema, E.J., & Croce, R. (2009) *EMBO J.*, 28, 3052–3063.
- 11) Thornton, L.E., Ohkawa, H., Roose, J.L., Kashino, Y., Keren, N., & Pakrasi, H.B. (2004) *Plant Cell*, 16, 2164–2175.
- 12) Bricker, T.M., Roose, J.L., Fagerlund, R.D., Frankel, L.K., & Eaton-Rye, J.J. (2012) *Biochim. Biophys. Acta*, 1817, 121–142.
- 13) Ishihara, S., Takabayashi, A., Ido, K., Endo, T., Ifuku, K., & Sato, F. (2007) *Plant Physiol.*, 145, 668–679.
- 14) Ifuku, K., Ishihara, S., & Sato, F. (2010) *J. Integr. Plant Biol.*, 52, 723–734.
- 15) Peng, L., Yamamoto, H., & Shikanai, T. (2011) *Biochim. Biophys. Acta*, 1807, 945–953.
- 16) Yamamoto, H., Peng, L., Fukao, Y., & Shikanai, T. (2011) *Plant Cell*, 23, 1480–1493.
- 17) Ifuku, K., Endo, T., Shikanai, T., & Aro, E.M. (2011) *Plant Cell Physiol.*, 52, 1560–1568.
- 18) Johnson, G.N. (2011) *Biochim. Biophys. Acta*, 1807, 384–389.

Molecular evolution of the oxygen-evolving complex family proteins in chloroplasts and plant adaptation to the environment

Kentaro Ifuku (Graduate School of Biostudies, Kyoto University/JST PRESTO, Kitashirakawa Oiwake-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606–8502, Japan)

分岐鎖アミノ酸の生理機能の多様性

1. はじめに

ロイシン、イソロイシン、バリンは、アミノ酸の側鎖に分岐構造を持つことより分岐鎖アミノ酸 (branched-chain amino acids: BCAA) と総称される。L型のBCAAは、哺乳動物におけるタンパク質合成のための必須アミノ酸であり、タンパク質中に豊富に含まれる。一方、動物の体内には遊離型のBCAAも存在し、それらはタンパク質合成の基質であるばかりでなく、タンパク質代謝とグルコース代謝を調節する機能を有することが明らかにされつつある。特に、ロイシンによるタンパク質とグルコース代謝への作用、およびイソロイシンによるグルコース代謝への作用が明らかにされている。本稿では、これらのBCAAの生理機能を、BCAAの分解調節機構と関係づけて紹介する。

2. 血液と筋組織の遊離型BCAA濃度

筋肉は体重の約40%を占めタンパク質を多く含むので、ヒトの体内におけるアミノ酸の貯蔵庫の役割を果たしている。筋タンパク質中には約16%のBCAA (1 kg筋肉当たり約32 g) が構成成分として含まれているが¹⁾、タンパク質に組み込まれていない遊離アミノ酸 (アミノ酸プール) も存在する。このアミノ酸プール中の遊離BCAAは、1 kg筋肉当たり0.1 gにも満たない濃度 (約650 μM) であり、かなり低濃度である²⁾。また同様に、血中の遊離BCAA濃度は約400 μM (約50 mg/l) とかなり低い。これらの体内の遊離BCAA濃度は比較的安定していると考えられているが、食事でタンパク質を摂取したりサプリメントなどでBCAAを摂取すると、その濃度は急峻に上昇

する。特にアミノ酸としてBCAAを摂取すると、消化の必要がないため30分前後で血中濃度はピークを示す。このような速やかな濃度変化によりBCAAは種々の生理作用を発揮すると考えられる。

3. BCAA 分解系

体内におけるBCAAの代謝系としては分解系のみが存在する。そのほとんど全ての分解系はミトコンドリア内に存在し、エネルギー代謝と密接に関係している。その分解系の特徴として、最初の2ステップの反応は三つのBCAAに共通であり、BCAA代謝系の特徴を示す反応である(図1)³⁾。

第1ステップは、分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素(branched-chain aminotransferase: BCAT)により触媒され、可逆的なアミノ基転移反応である。BCATには二つのアイソザイムが存在し、一つはほとんどの体組織で発現しているミトコンドリア型(BCATm)であり、もう一つは主に脳・神経で発現している細胞質型(BCATc)である⁴⁾。

第2ステップは分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素複合体

[branched-chain α -keto acid dehydrogenase (BCKDH) complex: BCKDC]により触媒される酸化脱炭酸反応である。この反応は不可逆的の反応であることより、BCAA分解の律速反応であるとされている。さらにBCKDCは、特異的プロテインキナーゼ(BCKDH kinase: BDK)による不活性化(リン酸化)と、特異的プロテインホスファターゼ(BCKDH phosphatase: BDP)による活性化(脱リン酸化)を受けるので、極めて速やかな活性調節が可能である³⁾。

BDKは、ミトコンドリアに局在するプロテインキナーゼとして最初に遺伝子クローニングされた酵素であり、このアミノ酸配列は細菌のヒスチジンキナーゼのそれと類似していることが明らかにされた⁵⁾。それ以降、その配列を基にして、四つのピルビン酸脱水素酵素キナーゼ(pyruvate dehydrogenase kinase: PDK)の遺伝子クローニングが達成された⁶⁾。

動物体内の遊離BCAA濃度は、BCAA代謝系の最初の2ステップの酵素活性によって大きな影響を受けることが、遺伝子改変動物を用いた研究により示された^{7,8)}。すなわち、BCATmを欠損したマウスでは、BCAAはほとんど

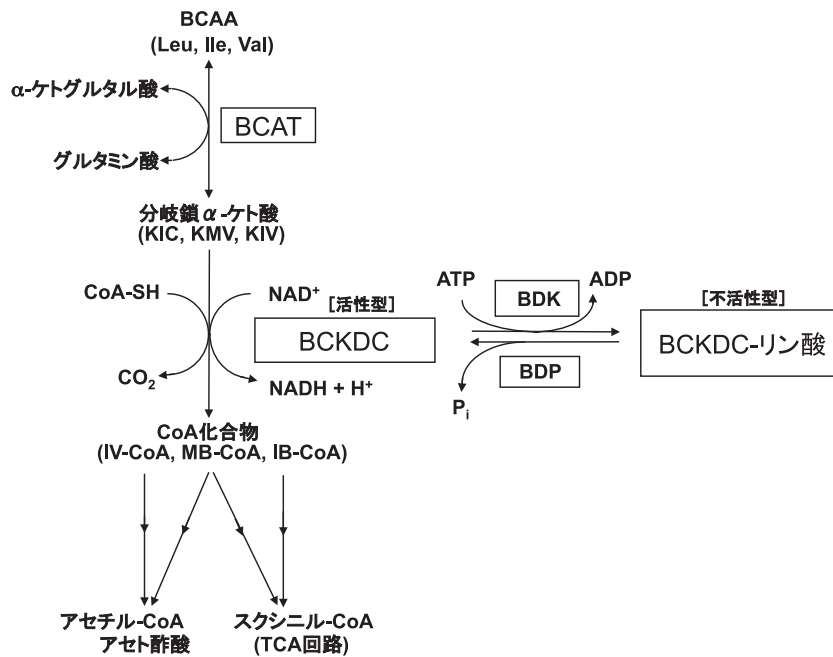


図1 分岐鎖アミノ酸代謝系

BCAT: branched-chain aminotransferase, BCKDC: branched-chain α -keto acid dehydrogenase (BCKDH) complex, BDK: BCKDH kinase, BDP: BCKDH phosphatase, KIC: α -ketoisocaproate, KMV: α -keto- β -methylvalerate, KIV: α -ketoisovalerate, IV-CoA: isovaleryl-CoA, MB-CoA, α -methylbutyryl-CoA, および IB-CoA: isobutyryl-CoA.
(文献3のFIGURE 1を改変)

分解されないので血中 BCAA 濃度が正常動物の 14~31 倍に上昇した⁷⁾。一方, BDK を欠損して BCKDC を常に活性化し BCAA 分解を促進したマウスでは, BCAA 濃度は血中で約半分, 脳では約 1/3 に低下することが観察された⁸⁾。

上述のように, 哺乳動物の BCAA 分解では BCKDC が重要な役割を演じている。この BCKDC 活性は, BDK により強く調節されているが, この活性調節機構については著者らの最近の総説を参照いただきたい⁹⁾。

4. ロイシンによるタンパク質代謝の調節

動物および植物のタンパク質中に BCAA は豊富に含まれている。特にロイシンの含量は多く, 総アミノ酸の 8% 前後である。例外的にトウモロコシタンパク質のように 15% 以上のロイシンを含むタンパク質も存在する。このように, ロイシンはタンパク質の主要構成成分であるが, その一方でタンパク質の合成と分解を調節する作用を持つことが分子レベルで明らかにされつつある。

図 2 に示すように, ロイシンは細胞内でラパマイシンにより阻害されるプロテインキナーゼ (mammalian target of rapamycin: mTOR) を活性化し, その作用を発揮する¹⁰⁾。mTOR は極めて複雑な酵素複合体であり, これまでに mTOR 複合体 (mTORC) 1 と 2 の存在が明らかにされている。ロイシンは, 特に mTORC1 を活性化し, リボソームタンパク質 S6 キナーゼ (S6 kinase: S6K) のリン酸化を通してリボソーム生合成を促進すること, 真核生物の翻訳開始因子 (eukaryotic initiation factor: eIF)4E の結合タンパク質 (eIF4E-binding protein: eIF4E-BP) をリン酸化するこ

とにより mRNA 翻訳を促進することなどが明らかにされている。これらの作用により, ロイシンはタンパク質合成を促進する。

一方, mTORC1 の活性化はオートファゴソームの形成を阻害するので, オートファジーを抑制する。オートファジーはタンパク質分解系の一つであり, 細胞に遊離アミノ酸を供給すると考えられている。よって, 細胞へのアミノ酸 (特にロイシン) が豊富に供給される場合には, この機構によりタンパク質分解を抑制すると考えられる。

さらに, 著者らの研究において, このロイシン作用は BCKDC の活性状態により影響を受けることが認められた¹¹⁾。すなわち, ラットにロイシンを投与すると肝臓の mTOR, S6K1, および eIF4E-BP のリン酸化が増加したが, BDK 阻害剤であるクロフィブラート (clofibrate: 高中性脂肪血症治療薬) 投与により BDK を阻害し BCKDC を活性化すると, これらの mTOR 系成分のリン酸化の割合は低下した。これらの結果より, 組織の BCAA 代謝調節機構がタンパク質代謝に影響することが示唆された。

5. ロイシンとイソロイシンによるグルコース代謝の調節

上記の BCATm を欠損して血中の BCAA 濃度がかなり上昇したマウスは, 著しい耐糖能の改善とインスリン感受性の上昇を示した⁷⁾。この BCAA によるグルコース代謝改善作用は, ロイシンとイソロイシンを別々にラットに投与して, その両者にその作用があることが認められている^{12,13)}。ロイシンとイソロイシンのその作用を比較すると, 若干イソロイシンの方が強いようである。

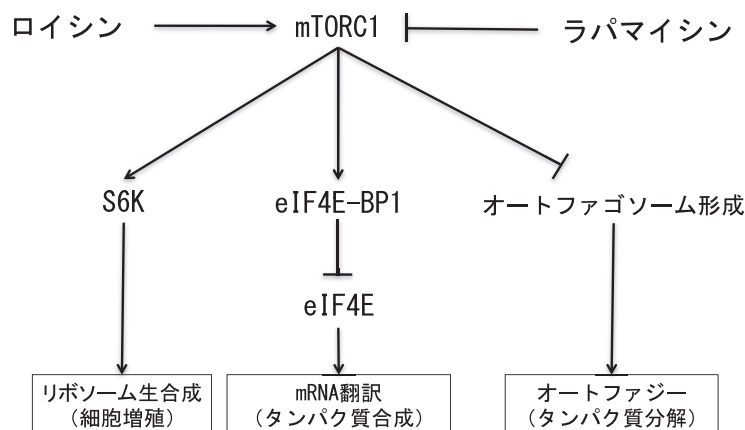


図 2 mTORC1 活性化を介したロイシンによるタンパク質代謝調節
mTORC1: 哺乳動物のラパマイシン標的タンパク質複合体 1, S6K: S6 キナーゼ, eIF4E: 真核生物の翻訳開始因子 4E, eIF4E-BP1: eIF4E 結合タンパク質 1.

著者らの研究では、ラットにクロフィブラートを投与して逆に血中のBCAA濃度を低下した条件で耐糖能を検討したところ、予想したように耐糖能は有意に低下した¹⁴⁾。さらに、クロフィブラートとBCAAをともに投与して、血中のBCAA濃度を正常動物のレベルに回復させると、耐糖能も正常域に回復した。この研究より、血中のBCAA濃度は正常な耐糖能を維持するために重要であることが示唆された。

肝硬変の病態では、血中のBCAAとアルブミン濃度が低下し、耐糖能も低下することが知られている。日本ではBCAAが肝硬変患者の低アルブミン血症を改善する経口薬として使用されているが、このBCAAの投与は耐糖能の改善にも寄与しているようである¹⁵⁾。

耐糖能が低下する典型的な疾病としては2型糖尿病や肥満が知られている。これらの疾病では、インスリン抵抗性が強く現れると同時に、血中のBCAA濃度がわずかではあるが有意に上昇することが知られている¹⁶⁾。最近、この血中BCAA濃度の上昇がインスリン抵抗性の増大に関係する仮説が提唱された¹⁶⁾。しかし、著者らのラットにおける研究において、インスリン抵抗性による高インスリン血症の状態では、BDKが活性化されそれと同時にBCKDC活性が著しく低下する所見が得られた。よって、インスリン抵抗性によるBCAA代謝能の低下が血中BCAA濃度を上昇させている可能性が高い¹⁷⁾。BCAA投与により耐糖能が改善される多くの研究結果が得られていること、さらに肥満ラットにインスリン抵抗性改善薬（ピオグリタゾン、ロシグリタゾン、トログリタゾン、AG-035029）を投与したときのインスリン感受性の上昇は脂肪組織のBCAA代謝系酵素の発現増加と相関する所見¹⁸⁾などにより、インスリン抵抗性と血中BCAA濃度の関係については著者らの仮説が支持されると考えられる。いずれにしても、インスリン抵抗性とBCAA代謝との関係についてはさらに研究が必要であり、今後の新しい研究結果が待ち望まれている。

6. その他のBCAA作用

その他のBCAA作用としては、運動後に発生する筋肉痛（遅発性筋肉痛）の抑制^{1,9)}、肝硬変患者のこむら返りの抑制⁹⁾、肝硬変患者の肝がん発生の抑制（特に肥満した患者）とquality of life (QOL: 食欲を含む)の改善¹⁵⁾などが知られている。また、上記のBDK欠損による脳のBCAA濃度が低下した状態で成長したマウスでは、てんかんを誘発しやすいことも報告されているので⁸⁾、脳を正常に保つ

ためにもBCAAは重要な機能を果たしている可能性が示唆されている。

7. おわりに

BCAAの生理機能としては、単にタンパク質合成のためのアミノ酸としての役割が重視されてきたが、近年の研究によりかなり多くの生理機能を持つことが明らかにされつつある。本稿ではBCAAのみに集中して解説したが、その他の多くのアミノ酸についても種々の生理機能を持つ可能性がある。生命科学分野のアミノ酸科学に新たな波が押し寄せてきているようである。

- 1) Shimomura, Y., Yamamoto, Y., Bajotto, G., Sato, J., Murakami, T., Shimomura, N., Kobayashi, H., & Mawatari, K. (2006) *J. Nutr.*, **136**, 529S–532S.
- 2) Rennie, M.J. (1996) in *Handbook of Physiology* (Rowell, L.B. & Shepherd, J.T. eds.), Section 12: Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems, pp. 995–1035, Oxford University Press, New York.
- 3) Shimomura, Y., Honda, T., Shiraki, M., Murakami, T., Sato, J., Kobayashi, H., Mawatari, K., Obayashi, M., & Harris, R.A. (2006) *J. Nutr.*, **136**, 250S–253S.
- 4) Hutson, S.M., Berkich, D., Drown, P., Xu, B., Aschner, M., & LaNoue, K.F. (1998) *J. Neurochem.*, **71**, 863–874.
- 5) Popov, K.M., Zhao, Y., Shimomura, Y., Kuntz, M.J., & Harris, R.A. (1992) *J. Biol. Chem.*, **267**, 13127–13130.
- 6) Harris, R.A., Bowker-Kinley, M.M., Huang, B., & Wu, P. (2002) *Adv. Enzyme Regul.*, **42**, 249–259.
- 7) She, P., Reid, T.M., Bronson, S.K., Vary, T.C., Hajnal, A., Lynch, C.J., & Hutson, S.M. (2007) *Cell Metab.*, **6**, 181–194.
- 8) Joshi, M.A., Jeoung, N.H., Obayashi, M., Hattab, E.M., Brocken, E.G., Liechty, E.A., Kubek, M.J., Vatter, K.M., Wek, R.C., & Harris, R.A. (2006) *Biochem. J.*, **400**, 153–162.
- 9) 下村吉治 (2012) 日本栄養・食糧学会誌, **65**, 97–103.
- 10) Hands, S.L., Proud, C.G., & Wyttenback, A. (2009) *Aging*, **1**, 586–597.
- 11) Ishiguro, Y., Katano, Y., Nakano, I., Ishigami, M., Hayashi, K., Honda, T., Goto, H., Bajotto, G., Maeda, K., & Shimomura, Y. (2006) *Life Sci.*, **79**, 737–743.
- 12) Nishitani, S., Takehana, K., Fujitani, S., & Sonaka, I. (2005) *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **288**, G1292–G1300.
- 13) Doi, M., Yamaoka, I., Nakayama, M., Sugahara, K., & Yoshizawa, F. (2007) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **292**, E1683–E1693.
- 14) Kadota, Y., Kazama, S., Bajotto, G., Kitaura, Y., & Shimomura, Y. (2012) *JPEN J. Parenter. Enteral. Nutr.*, **36**, 337–343.
- 15) Kawaguchi, T., Izumi, N., Charlton, M.R., & Sata, M. (2011) *Hepatology*, **54**, 1063–1070.
- 16) Newgard, C.B., An, J., Bain, J.R., Muehlbauer, M.J., Stevens, R.D., Lien, L.F., Haqq, A.M., Shah, S.H., Arlotto, M., Slentz, C.A., Rochon, J., Gallup, D., Ilkayeva, O., Wenner, B.R.,

- Yancy, W.S., Jr., Eisenson, H., Musante, G., Surwit, R.S., Millington, D.S., Butler, M.D., & Svetkey, L.P. (2009) *Cell Metab.*, 9, 311-326.
- 17) Kuzuya, T., Katano, Y., Nakano, I., Hirooka, Y., Itoh, A., Ishigami, M., Hayashi, K., Honda, T., Goto, H., Fujita, Y., Shikano, R., Muramatsu, Y., Bajotto, G., Tamura, T., Tamura, N., & Shimomura, Y. (2008) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 373, 94-98.
- 18) Hsiao, G., Chapman, J., Ofrecio, J.M., Wilkes, J., Resnik, J.L., Thapar, D., Subramaniam, S., & Sears, D.D. (2011) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 300, E164-E174.

下村 吉治, 北浦 靖之, 門田 吉弘
 (名古屋大学大学院生命農学研究科
 応用分子生命科学専攻栄養生化学研究室)

Diversity of physiological functions of branched-chain amino acids

Yoshiharu Shimomura, Yasuyuki Kitaura, and Yoshihiro Kadota (Laboratory of Nutritional Biochemistry, Department of Applied Molecular Biosciences, Graduate School of Bio-agricultural Sciences, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8601, Japan)

HIFによる肝臓内糖・脂質代謝制御機構

1. はじめに

生体における代謝の中心臓器である肝臓は、肝小葉と呼ばれる最小基本単位の集合体からなる。肝小葉構造は、中心静脈を中心とし、門脈、肝動脈と胆管が集まった門脈三つ組みを頂点とする六角形をしている。肝臓の多彩な代謝機能を小葉内の肝実質細胞が均等に担っているわけではなく、小葉内の局在部位に依存して異なる代謝能を発揮することで、代謝の恒常性が維持されている。例えば、解糖系や薬物・解毒代謝に関わる酵素群は中心静脈領域(PC)の肝実質細胞で、糖新生や尿素合成に関わる酵素群は門脈領域(PP)において発現が有意に高い。このような小葉内における肝細胞の代謝機能の不均一性(領域特異性)を'metabolic zonation'と呼ぶ¹⁾。この代謝領域特異性は胎生期には認められず、発生後の食事摂取による門脈血流の変化が血中のホルモン、栄養素や酸素などの小葉内濃度勾配を形成することで、重要な決定因子として働くと考えられている。一方、このmetabolic zonationの破綻(小葉内機能的リモデリング)は肥満や糖尿病などの様々な代謝疾患

の発症につながると考えられ、近年、zonation構築と維持に関わる分子機構の解明がなされてきたが、未知な点が多く残されている。本稿ではzonation形成に関わる分子機構として注目されている低酸素応答機構による肝内代謝制御機構について、最近の知見を交えて紹介する。

2. 小葉内酸素濃度とmetabolic zonation

肝小葉は主に門脈からの血流を受け、流入してきた血液は肝小葉内の微小血管にあたる類洞血管を還流し中心静脈へと注ぐ。小葉内では門脈から中心静脈に向かって酸素分圧の急激な勾配が形成されており、類洞血管に沿って一列に配置されている肝細胞は、小葉内の局在部位によって異なる酸素濃度にさらされる。

肝小葉のmetabolic zonationの初期概念は、糖代謝に関する知見に基づいている²⁾。PPの肝細胞は主に糖新生に関わる酵素[G6Paseやホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ(PEPCK)など]の発現が、PCの細胞は解糖系酵素[グルコキナーゼ(GK)やPK-Lなど]の発現が高い(図1)。一方、アミノ酸代謝、中でもアンモニア代謝システムは糖代謝よりも明確な領域特異性を示し、PPの肝細胞は尿素合成に関わる酵素群(CPS1など)を強く発現し、グルタミン合成酵素はPC周囲の細胞しか発現を認めない。脂質代謝の領域特異性は、糖やアミノ酸代謝と比較してそれほど明確ではない。脂肪酸やケトン体の生合成に関わる律速酵素はPCの肝細胞により強く発現しているが、脂肪酸β酸化の酵素群は肝小葉内に均一に発現している。しかし、ミトコンドリア代謝活性がPPで高いことから、脂肪酸酸化とケトン体合成はPPの肝細胞が主に担っている(図1)。

小葉内metabolic zonationは胎生期には認められず、生



図1 肝小葉内の代謝酵素発現

肝小葉内では、門脈側から中心静脈側に向かって血流が流れる。肝実質細胞は門脈側と中心静脈側では異なる代謝酵素を発現している。酸素を必要とする代謝系は門脈側に、逆に酸素をあまり用いない代謝系は中心静脈側に高い発現を示す。HIF-1αタンパク質は、酸素濃度が低い中心静脈側の肝細胞に発現が高い傾向がある。