

第179回必須アミノ酸研究協議会

講演要旨集

期日:平成17年3月18日(金)

場所:東京大学 農学部

協議会:化学第一講義室(2号館) 午前10時より

委員会:化学第三講義室(2号館) 12時~13時30分

懇親会:生協食堂(3号館地階) 協議会終了後

第179回 必須アミノ酸研究協議会 プログラム

日時:平成17年3月18日(金)午前10時より

場所:東京大学農学部 化学第一講義室

(文京区弥生1-1-1)

1. 転写因子 SREBP の SUMO 化修飾による活性調節 (15 分)
佐藤隆一郎(東京大学大学院農学生命科学研究科)
2. 染色体構造調節を介した核内ステロイド受容体群による遺伝子発現制御機構(20分)
加藤茂明(東京大学分子細胞生物学研究所 / 科学技術振興事業団・ERATO)
3. 大過剰のシスチンによる毒性発現機構のトランスクリプトーム解析 (12 分)
加藤久典、奈良坂祥子、東江咲乃¹、雨尾美智子¹、坂井良成¹、木村 毅¹
(東京大学大学院農学生命科学研究科、¹味の素ライフサイエンス研究所)
4. 分岐鎖アミノ酸(BCAA)によるシステイン代謝酵素(システインジオキシゲナーゼ:CDO)の発現制御解析 (12 分)
河上麻美、竹鼻健司、惣中一郎、薩 秀夫¹、細川 優²、清水 誠¹ (味の素医薬研究所、¹東京大学大学院農業生命科学研究科、²実践女子大学生生活科学部)
5. 分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素キナーゼ(BDK)阻害剤の作用機構 (10 分)
村上太郎、清水綾子、下村吉治(名古屋工業大学工学研究科物質工学)
6. 麻酔下での分岐鎖アミノ酸の投与がエネルギー代謝に与える影響 (10 分)
吉澤史昭、堺井留以子、大関 茜¹、山岡一平¹、土居雅子¹、中山満雄¹、菅原邦生
(宇都宮大学農学部生物生産科学科、¹(株)大塚製薬工場栄養研究所)
7. 過剰メチオニンはカルバミルリン酸シンセターゼ I 前駆体を肝臓上清画分に蓄積させる (岸 恭一委員長紹介)
広井祐三、熊井まどか(中村学園大学栄養科学部) (8 分)
8. α -toxin 処理膜透過性細胞を用いたオートファジーに関するアミノ酸のシグナル伝達経路の解析 (15 分)
門脇基二、赤石隆一郎、高野智洋(新潟大学自然科学系生命・食料科学系列)
9. ラクトスタチン(LIAEK)の媒介する新しいコレステロール分解調節系 (12 分)
長岡 利、森川健正、近藤一男、金丸義敬(岐阜大学応用生物科学部)
10. 周産期におけるタウリン負荷と脳発達について (15 分)
平野修助、細江伸央、二宮るみ子、山本 哲、平山明彦、諸田 隆、浅野貴之、古部 勝(額田医学生物学研究所 他)

11. Genistein による脳内タンパク質合成に及ぼす影響 (15 分)
柳 先玉、河野 奨¹、奥山 聡、山田 貴史、辻岡 和代、早瀬 和利²、横越 英彦
(静岡県立大学食品栄養科学部、¹東北薬科大学学生化学 ²愛知教育大学学家政)
12. 低栄養状態におけるロイシン摂取の筋萎縮改善効果 (10 分)
長澤孝志、菅原貴征、伊藤芳明、西澤直行(岩手大農学部農業生命科学科)
13. Unloading による筋萎縮の分子メカニズム(Cbl-b ノックアウトマウスを用いた解析)(15 分)
平坂勝也、二川 健、後藤淳平、久田記美代、不老地治美、大西ゆう子、岸 恭一
(徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部)
14. 小麦グルテンへのアミノ酸補足による尿素生合成の変動における体タンパク質合成の
役割 (10 分)
辻岡和代、○早瀬和利¹、横越英彦(静岡県立大学食品栄養科学部、¹愛知教育大学
家政)
15. L-リジンによる LPS/GaIN 誘導性肝炎の抑制について (12 分)
杉山公男、折笠純也、町田秀紀、森田達也(静岡大学農学部応用生物化学科)
16. BHA、BHTによるアセトアミノフェン肝障害発症の抑制と Heat shock protein(10 分)
ポインドグルン金花、 真田宏夫、江頭祐嘉合(千葉大学園芸学部生物生産科学科)
17. 高圧処理ホエータンパク質給餌ラットの成長と窒素利用率 (10 分)
田中秀幸、安納茉里、菅野長右衛門宇都宮大学農学部生物生産科学科)
18. Fischer 比、総分岐鎖アミノ酸 / チロシンモル比、コリンエステラーゼとの関連(10 分)
橋詰直孝、涓原 博(東邦大学医学部大橋病院 臨床検査医学研究室)
19. ラットのコレステロールと脂肪酸代謝に及ぼす大豆親水性ペプチドの影響 (10 分)
實方綾子、岩本和香子、佐藤匡央、 今泉勝己(九州大学大学院農学研究院)

委員会: 12:00-13:30

懇親会: 発表終了後(17時頃)

1. 転写因子 SREBP の SUMO 化修飾による活性調節

佐藤隆一郎(東京大学大学院農学生命科学研究科)

コレステロール・脂肪酸代謝を包括的に制御する転写因子 SREBP は、核内においてポリユビキチン化されプロテアソームによる素早い分解を受ける。ユビキチン化と同じクリジン残基を修飾する SUMO 化について検討を行ったところ、SREBP-1/-2 のいずれも SUMO 化修飾され、その活性は負に制御された。ユビキチン化との競合は見られず、核内における新たな活性調節機構として興味を持たれる。

2. 染色体構造調節を介した核内ステロイド受容体群による遺伝子発現制御機構

加藤茂明(東京大学分子細胞生物学研究所 / 科学技術振興事業団・ERATO)

ステロイドホルモンをはじめとした甲状腺ホルモン及ビタミンA、D、エイコサノイド等の低分子量脂溶性生理活性物質は、リガンドとして各々固有の核内受容体を介して生理作用を発揮する。これら核内受容体によるリガンド依存的な転写制御には、受容体ヘリガンド結合依存的に相互作用する核内因子群が見出されている。これら転写共役因子は、単独で存在することなく、複合体を形成することが知られ、これら複合体の主たる機能は、染色体の構造調節やヒストン修飾であることがわかりつつある。現在までに、ヒストンタンパクを様々に修飾する酵素活性を有する複合体群が同定されており、染色体構造調節を伴う事が予想されている。このように遺伝情報は、染色体とDNA配列解読の二重解読(double -decode)が必須であると理解されつつある。また、これら複合体は、各種シグナル因子と相互作用することで、他のシグナルとクロストークすることを我々は明らかにしている (Science 270, 1491, 1995; Science 283, 1317-1999; EMBO J. 20,1341, 2001; Nature 423,545,2003)。最近我々は、ビタミンD受容体 (VDR) による転写制御とその転写共役因子複合体を解析する過程で、新規染色体構造修飾複合体WINACの同定に成功した (Kitagawa et al., Cell, 113, 905, 2003)。更にWINACと転写共役因子複合体との機能的相互作用について検討した最近の知見 (Murayama et al., EMBO J, 23, 1598, 2004) や、新規 co-repressorヒストン修飾酵素複合体 (Takezawa et al., submitted) についても述べる予定である。

3. 大過剰のシスチンによる毒性発現機構のトランスクリプトーム解析

加藤久典、奈良坂祥子、東江咲乃¹、雨尾美智子¹、坂井良成¹、木村 毅¹
(東京大学大学院農学生命科学研究科、¹味の素ライフサイエンス研究所)

ラットに飼料中数パーセントという大過剰のシスチンを給餌すると、数週程度で突発的な死亡例が観察される。システインには見られないこうした毒性がどのような機構で生じるかを明らかにする目的で、DNA マイクロアレイ解析を利用した。シスチン大量投与群では、基礎食群、システイン過剰群に比べ、肝臓で多くの異物代謝系酵素遺伝子が発現上昇していた。心臓における一連の変化は、酸化ストレスの亢進を推測させた。

4. 分岐鎖アミノ酸(BCAA)によるシステイン代謝酵素(システインジオキシゲナーゼ:CDO)の発現制御解析

河上麻美、竹鼻健司、惣中一郎、薩 秀夫¹、細川 優²、清水 誠¹ (味の素医薬研究所、¹東京大学大学院農業生命科学研究科、²実践女子大学生生活科学部)

【目的】肝硬変では、アミノ酸代謝異常が合併症などの病態に関与すると考えられ、中でも、血中タウリン濃度の低下はこむら返りとの関係で注目される。演者らはこれまで、肝臓におけるタウリン合成の律速酵素である CDO 遺伝子の発現変動に注目して研究を進め、その発現量が肝硬変ラットで顕著に低下していること、また、培養肝細胞では、繊維原性サイトカイン TGF- β の処理により抑制されることを報告してきた。今回肝硬変患者の低アルブミン血症治療薬として用いられる BCAA が CDO 遺伝子発現に及ぼす効果について検討した。

【方法】ヒト肝癌由来 HepG2 細胞を用いて、培養液中の BCAA 濃度を変化させて CDO の mRNA 発現レベルの変化を定量的 RT-PCR 法により解析した。

【結果】HepG2 細胞における CDO の mRNA 発現量は培地中の BCAA 濃度依存的に増加し、各 BCAA の中ではロイシンに最大の効果を認めた。ロイシンは mTOR を活性化することが知られるが、その効果は mTOR 阻害剤で抑制されず、BCAA は mTOR を介さない新たなシグナル伝達機構により CDO 遺伝子の mRNA レベルでの発現を調節することが示唆された。

5. 分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素キナーゼ(BDK)阻害剤の作用機構

村上太郎、清水綾子、下村吉治(名古屋工業大学工学研究科物質工学)

分岐鎖アミノ酸代謝における調節酵素である分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素複合体(BCKDC)は、BDKによってリン酸化されると活性を失う。近年の我々の研究によって、BDKは生理状態に応じてBCKDCと解離・結合し、BCKDCの活性を調節することが示された。

本研究では、既知のBDK阻害剤が、BDKとBCKDCの結合を解離させるか否かについてラット肝臓の抽出液を用いて検討した。その結果、ある種のBDK阻害剤(α -chloroisocaproate及び α -ketoisovalerate)は阻害定数依存的にBDKをBCKDCから解離させることが明らかになった。すなわち、BDK阻害剤の作用機構の一つとして、BCKDCからのBDKの解離が示唆された。

6. 麻酔下での分岐鎖アミノ酸の投与がエネルギー代謝に与える影響

吉澤史昭、堺井留以子、大関茜、山岡一平¹、土居雅子¹、中山満雄¹、菅原邦生(宇都宮大学農学部生物生産科学科、¹(株)大塚製薬工場栄養研究所)

麻酔の投与により体温が低下する。手術中の体温の低下は血管収縮、創部への酸素供給の低下、食作用の機能障害、手術部位からの感染の危険の増加などを引き起こし、患者の術後の回復に悪影響を及ぼす。麻酔下でアミノ酸を10%含む総合アミノ酸製剤を投与すると熱産生が増加し、低体温症が防止できる。麻酔下のラットに分岐鎖アミノ酸とグリシンの混合溶液を投与した結果、総合アミノ酸製剤を投与した場合と同様に熱産生量の増加が見られた。

7. 過剰メチオニンはカルバミルリン酸シンセターゼ I 前駆体を肝臓上清画分に蓄積させる
(岸 恭一委員長紹介)

広井祐三、熊井まどか(中村学園大学栄養科学部)

幼若期ラットのメチオニンによるアミノ酸インバランスについて検討した。4%、8%メチオニンを含む20%カゼイン飼料飼育のラット肝臓上清画分の SDS-PAGE によると、メチオニン添加群は対照群に比較し分子量約 160K 蛋白質のバンドが著しく増加した。この蛋白質を MALDI-MS で解析した。分子量 165.76K、等電点は 6.3、ペプチドマップの解析はカルバミルリン酸シンセターゼ I 前駆体とよく一致した。多量のメチオニン添加によって上清画分に尿素合成系の律速段階の前駆体酵素が蓄積することが示唆された。

8. α -toxin 処理膜透過性細胞を用いたオートファジーに関するアミノ酸のシグナル伝達経路の解析

門脇基二、赤石隆一郎、高野智洋(新潟大学自然科学系生命・食料科学系列)

単離肝細胞をブドウ球菌 α -toxin で処理すると低分子物質に対して細胞膜透過性となる。このとき、オートファジー活性は維持されるが、アミノ酸の抑制作用は完全に消失する。この細胞をモデルにして、アミノ酸で刺激した細胞内に低分子シグナル分子が生成するという仮説に基づき、アミノ酸シグナリングにおける細胞内低分子シグナル物質の検索の経過を報告する。

9. ラクトスタチン (IIAEK) の媒介する新しいコレステロール分解調節系

長岡 利、森川健正、近藤一男、金丸義敬(岐阜大学応用生物科学部)

食品による高コレステロール(CHOL)血症の予防・改善も非常に重要な方策と考えられている。このような背景から、牛乳乳清ペプチドのCHOL代謝改善機能について研究してきた。ヒト由来腸細胞 Caco-2 において、牛乳 α -ラクトグロブリン由来 IIAEK などの CHOL 吸収抑制ペプチドを同定した。さらに動物実験により、血清 CHOL 低減化ペプチド (IIAEK) を世界に先駆けて初めて発見した。我々は IIAEK を「ラクトスタチン:lactostatin」と命名した。その作用機構の詳細は不明である。そこで我々はヒト由来肝細胞 HepG2 を用いて、ラクトスタチンや牛乳乳清ペプチドの胆汁酸合成系の律速酵素であるコレステロール 7 α -水酸化酵素の遺伝子発現に対する影響などを検討した。

10. 周産期におけるタウリン負荷と脳発達について

平野修助、細江伸央、二宮るみ子、山本 哲、平山明彦、諸田 隆、浅野貴之、古部 勝(額田医学生物学研究所 他)

タウリン (Tau と略す) は、必須アミノ酸で生命維持に重要な働きを持つメチオニンの代謝産物であり、乳汁中の遊離アミノの中で生後数日間には特に Tau が高濃度に存在する事も報告されている。そこで、脳組織が急速に発達する生後 3 週間までを中心に、周産期における Tau の影響を脳組織について調べた。

11. Genistein による脳内タンパク質合成に及ぼす影響

柳 先玉、河野 奨¹、奥山 聡、山田 貴史、辻岡 和代、早瀬 和利²、横越 英彦
(静岡県立大学食品栄養科学部、¹東北薬科大学生化学 ²愛知教育大学家政)

これまで、卵巣摘出雌ラットにおいて脳内タンパク質合成速度が低下し、estrogen 投与により、タンパク質合成速度が回復することを示し、estrogen が脳機能に影響を及ぼす可能性を報告した。genistein は植物に含まれている estrogen 様物質である。そこで、本研究では genistein の卵巣摘出雌ラットの脳タンパク質合成速度に及ぼす影響について検討しました。その結果、脳内タンパク質合成速度は擬似処置群に比べ、卵巣摘出群で低下し、genistein 群でその低下が抑制されることが明らかになりました。

12. 低栄養状態におけるロイシン摂取の筋萎縮改善効果

長澤孝志、菅原貴征、伊藤芳明、西澤直行(岩手大農学部農業生命科学科)

Wistar 系雄ラット (~100g) に無タンパク質食を1週間給与すると、3-メチルヒスチジンの放出速度から評価した筋原線維タンパク質の分解速度が増加した。Leu を添加した無タンパク質食摂食させると、この分解の増加が抑制され、また筋重量の減少の抑制も認められた。Leu を添加した低タンパク質食(5%タンパク質)の摂食においても同様の結果が得られ、低栄養状態において、Leu の摂食は筋萎縮の改善に有効であることが示唆された。

13. Unloading による筋萎縮の分子メカニズム (Cbl-b ノックアウトマウスを用いた解析)

平坂勝也、二川 健、後藤淳平、久田記美代、不老地治美、大西ゆう子、岸 恭一
(徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部)

微小重力環境では骨格筋が萎縮することが知られている。私達は既にこの筋萎縮においてユビキチンリガーゼである Cbl-b が重要な役割をしていることを見出している。Cbl-b ノックアウトマウスを用い、解析を行った結果、Cbl-b が筋細胞の増殖シグナルを負に調整した。これらの結果は Cbl-b を介したユビキチン化システムが筋萎縮の原因である可能性を示唆した。

14. 小麦グルテンへのアミノ酸補足による尿素生合成の変動における体タンパク質合成の役割

辻岡和代、○早瀬和利¹、横越英彦
(静岡県立大学食品栄養科学部、¹愛知教育大学家政)

食餌タンパク質の質的影響による尿素生合成の調節機構について、食餌タンパク質のアミノ酸組成の役割について明らかにするため、尿中尿素量、肝臓、腎臓、小腸、骨格筋のタンパク質合成、血中インスリン、成長ホルモン濃度について検討した。尿中尿素量は、グルテン食群で高く、リジン、メチオニン、スレオニン添加群で低下した。組織タンパク質の合成速度及び合成量はいずれも、逆にグルテン食群で最も低下していた。血中成長ホルモン濃度は、アミノ酸補足により有意に増加した。

15. L-リジンによる LPS/GaIN 誘導性肝炎の抑制について

杉山公男、折笠純也、町田秀紀、森田達也(静岡大学農学部応用生物化学科)

リポポリサッカライド(LPS) + D-ガラクトサミン(GaIN)誘導性ラット肝炎モデルを用いて各種アミノ酸の効果を検討し、Gly、分岐鎖アミノ酸および塩基性アミノ酸の3タイプのアミノ酸が強い肝炎発症抑制効果を示すことを先に報告した。本研究では代表的な塩基性アミノ酸であるリジンに注目し、抑制機構に関わる知見を得ようとした。リジンの抑制効果はL型特異的であり、混餌あるいは腹腔内ワンショット投与で強い効果を示し、即効的であった。いくつかの塩基性アミノ酸の中でもL-リジンの効果はL-ヒスチジンとならんで強かった。L-リジンはLPS/GaIN刺激による血漿TNF- α 濃度の上昇を抑制しなかったが、NO濃度の上昇を強く抑制し、L-リジンの効果にはNO産生抑制が深く関わっていると推察された。

16. BHA、BHTによるアセトアミノフェン肝障害発症の抑制とHeat shock protein

ボインドグルン金花、真田宏夫、江頭祐嘉合(千葉大学園芸学部生物生産科学科)

抗酸化剤のブチルヒドロキシアニソール(BHA)またはブチルヒドロキシトルエン(BHT)を0.5%含む飼料を摂取させたラットはアセトアミノフェン(APAP)投与による肝障害の発症が抑制された。しかし、APAP投与の2時間前にこれらを経口投与した場合、BHAには肝障害抑制作用がみられるが、BHTではむしろ障害が強くなった。この際、肝臓のHeat shock proteinであるHsp25とHsp70iの濃度が両者で著しく異なっていた。

17. 高圧処理ホエータンパク質給餌ラットの成長と窒素利用率

田中秀幸、安納茉里、菅野長右衛門(宇都宮大学農学部生物生産科学科)

食品の高圧処理は風味を保持した食品の加工・殺菌・保蔵などの利点があり、多目的に使用され始めているが、そのタンパク質栄養への影響に関する試験事例は少ない。ホエータンパク質を 600 Mpa、15 分間、室温で加圧処理し、凍結乾燥粉末にした。カゼイン、ホエータンパク質 (BiPro 社)、加圧ホエータンパク質を各々10%含有する飼料でラットを3週間飼養し、消化性・体内窒素利用率について比較した。

18. Fischer 比、総分岐鎖アミノ酸 / チロシンモル比、コリンエステラーゼとの関連

橋詰直孝、渭原 博(東邦大学医学部大橋病院 臨床検査医学研究室)

第 176 回必須アミノ酸研究協議会で外科的侵襲により、レチノール結合蛋白、トランスサイレチンとフィッシャー比、総分岐鎖アミノ酸 / チロシンモル比 (BTR) が同じ動態を示すことを報告した。血清コリンエステラーゼ (ChE) もこれらと同じ動態を示す。そこで、フィッシャー比、BTR と ChE の関係を検討した。ChE は麻酔の影響があるので麻酔剤を投与されていない患者を対象にフィッシャー比、BTR と ChE を測定した。これらには有意な相関があった。しかし、これらを構成している Val, Leu, Ile, Tyr, Phe には相関がなかった。

19. ラットのコレステロールと脂肪酸代謝に及ぼす大豆親水性ペプチドの影響

實方綾子、岩本和香子、佐藤匡央、 今泉勝己(九州大学大学院農学研究院)

大豆親水性ペプチド(SWP)がコレステロールと脂肪酸代謝に及ぼす影響について、ラットを用いて、分離大豆タンパク質(SPI)及びカゼインと比較した。これら3種類のタンパク質源を20%のレベルで含むAIN-93GTM基本飼料をSD系雄ラットに2週間給餌した。摂食量、体重増加量、肝臓重量は群間で差異がなかった。血清のコレステロール濃度はカゼインと比較して、SWPとSPI摂取によって低下した。SPIとSWPの摂取はカゼインと比較して肝臓ミクロソームリン脂質のリノール酸を増加させ、アラキドン酸を減少させた。アラキドン酸の低下は6-不飽和化酵素の発現抑制に基づく活性の低下に基づいていた。これらの結果から、SWPはSPIと脂質代謝に対して類似の影響を及ぼすことが示唆された。