総 説

脂肪酸合成系酵素の誘導の調節

入 谷 信 子

帝塚山学院短期大学

(〒590-01 堺市晴美台 4-2-2)

Regulation of Lipogenic Enzyme Induction

Nobuko IRITANI

Tezukayama Gakuin College

(4-cho, Harumidai, Sakai-shi, 〒590-01)

Although dietary carbohydrate, protein and fat contributed to the induction of lipogenic enzymes in a similar direction, the regulation mechanisms were individually different. Acetyl-CoA carboxylase and malic enzyme were carbohydrate-dependent, whereas glucose-6-phosphate dehydrogenase was rather protein-dependent. Both carbohydrate and protein were required for fatty acid synthetase induction. Concerning malic enzyme, the transcriptional rates were increased by feeding various diets to fasted rats, but the increases were not significantly different among the nutrients. On feeding a carbohydrate diet (without protein), the mRNA concentration was increased to the level in a carbohydrate/protein diet, while the enzyme induction was not so much increased. Dietary protein appeared to be involved in the translation.

1 はじめに

脂肪の合成における律速段階は脂肪酸の合成にある。脂肪酸合成系酵素のうちその骨格をなすのは acetyl-CoA carboxylase [EC 6.4.1.2]と fatty acid synthetase である。脂肪酸生合成では NADPH が必要であるが、五炭糖回路の律速段階にある glucose-6-phosphate dehydrogenase [EC 1.1.1.49] (以下 G6PDH と略す)と malic enzyme [EC 1.1.1.40] によって供給される。これら一連の酵素のうち acetyl-CoA carboxylase が脂肪酸生合成の調節に特に重要な役割をもつことが多くの研究者によって認められてきた^{1)~5)}。動物における脂肪酸代謝の調節は、神経、ホルモン、栄養素の影響を受けて非常に複雑であるが、結局は代謝に関与する酵素系の量と活性の変動に帰せられる。1960年代後半から70年代には acetyl-CoA carboxylase の allosteric effector^{1)~4)}、それよりおくれで phosphorylation-dephosphorylation⁵⁾ などによる酵素活性の調節の研究が盛んにおこなわれた。その後遺伝子工学のテクニックが急速に普及し、80年代に入って脂肪酸合成系酵素についても転写や翻訳レベルの研究が行われるようになった^{6)~17)}。筆者らも malic enzyme と G6PDH の翻訳ならびに cDNA のクローニングに成功し

ており、これらの酵素の誘導に対する食餌(餌)栄養素及び内分泌系の関与を転写や翻訳のレベルで研究してきた。一方、酵素の基質や effector レベルも生理的な脂肪酸合成の重要な制限因子になる。今回は筆者らの研究結果を中心に脂肪酸合成の調節について述べる。

2 脂肪酸合成系酵素の誘導に対する食餌栄養素の関与

脂肪酸合成系酵素は無脂肪高糖食の投与によりいっせいに誘導され、脂肪の投与や絶食により抑制されることが知られている¹⁸⁾。筆者らは一連の脂肪酸合成系酵素について各食餌栄養素の関与を個別に研究し、それぞれ異なることを見いだした¹⁹⁾。すなわち、5週齢のラットを2d絶食したのち、次の5つの食餌群に分けて誘導した。(1)糖質(67%) + タンパク質(18%)、(2)糖質(85%)のみ、(3)タンパク質(85%)のみ、(4)75%糖質 + 10%脂肪、(5)糖質(49%) + タンパク質(18%) + 脂肪(10%)、各群とも残りの15%は無機塩、セルロース、ビタミンなど共通の成分である。再摂食して3d位で各酵素活性は最大に達する¹⁹⁾。そしてこれらの酵素の半減期は2~3dであった¹⁹⁾。酵素活性の変動は酵素量の変動の指標になることを immunochemical titration により証明した。malic enzyme の誘導は糖

表-1 脂肪酸合成系酵素の誘導に及ぼす食じ栄養素の影響¹⁾

Dietary nutrients	Glucose-6-phosphate dehydrogenase (mU/mg)	Malic enzyme (mU/mg)	Acetyl-CoA carboxylase (mU/mg)	Fatty acid synthetase (mU/mg)
(1) Carbohydrate, protein	433 ± 31.6 ^a	322 ± 17.2 ^a	12.8 ± 0.72 ^a	6.64 ± 0.56 ^a
(2) Carbohydrate	108 ± 12.2 ^b	195 ± 2.45 ^b	12.0 ± 0.17 ^a	3.47 ± 0.75 ^b
(3) Protein	285 ± 13.1 ^c	126 ± 11.7 ^c	7.07 ± 0.37 ^b	2.34 ± 0.23 ^{bcd}
(4) Carbohydrate, fat.	82.1 ± 4.49 ^b	151 ± 20.2 ^{cd}	3.54 ± 0.27 ^c	1.20 ± 0.07 ^c
(5) Carbohydrate, protein, fat	168 ± 9.35 ^d	166 ± 5.10 ^{bd}	5.99 ± 0.14 ^d	2.04 ± 0.07 ^{cd}
(6) Fasted	24.7 ± 2.00 ^c	22.3 ± 2.33 ^c	2.04 ± 0.07 ^c	0.32 ± 0.02 ^c

5週齢雄ラットを2d絶食した後、同カロリーの実験食を4d投与した。実験食：(1) 67%糖質+18%タンパク質、(2) 85%糖質、(3) 85%タンパク質、(4) 75%糖質+10%脂肪、(5) 57%糖質+18%タンパク質+10%脂肪。他の図・表に示した結果はすべて同様にラットに食じを投与したものである。肝上清液中の酵素活性 (mU/mg タンパク) をしめた。Mean ± S.E. (n=6) 同じ記号の場合は有意差なし

表-2 Malic enzyme と mRNA 活性に及ぼす食じ栄養素の影響¹⁾

Dietary nutrients	Malic enzyme (% × 10 ⁻²)	Glucose-6-phosphate dehydrogenase (% × 10 ⁻²)
(1) Carbohydrate, protein	4.99 ± 0.25 ^a	1.66 ± 0.20 ^a
(2) Carbohydrate	5.18 ± 0.17 ^a	1.06 ± 0.21 ^{ab}
(3) Protein	2.00 ± 0.09 ^b	0.80 ± 0.22 ^b
(4) Carbohydrate, fat	n.d.	n.d.
(5) Carbohydrate, protein, fat	1.05 ± 0.08 ^c	n.d.
(6) Fasted	0.54 ± 0.04 ^d	n.d.

Mean ± S.E. (n=6) 同じ記号の場合は有意差なし。n.d. は検出不可

質のみの投与ではいわゆる無脂肪高糖食 (糖質+タンパク質) による誘導の60%までしか上らなかったが (表-1), その mRNA 活性は100%上昇した (表-2)。すなわち, malic enzyme mRNA 活性の上昇は糖質だけで充分でタンパク質は翻訳の段階で関与するように思われる。タンパク質だけの投与では酵素と mRNA 活性の上昇は糖+タンパク食群の40%にとどまった。G6PDHの誘導は糖質のみよりはタンパク質のみの投与群で高かった。acetyl-CoA carboxylaseは糖質のみの投与で充分に高く誘導され、酵素タンパクの生成に至るまでタンパク質の投与を必要としなかった。fatty acid synthetaseは糖質又はタンパク質のみでは誘導は低く、充分に誘導するには糖質とタンパク質の両方が必要であることが分かった。すなわち, acetyl-CoA carboxylase, malic enzymeは糖依存性、G6PDHはタンパク依存性、fatty acid synthetaseは両方の依存性が強いことが示唆された。一方、脂肪の投与によりいずれの酵

素も誘導が抑制されたが, malic enzyme と G6PDH については酵素と共に mRNA レベルが著しく低下したことからタンパクへの翻訳以前の段階で脂肪により制御されることが示唆された。

3 脂肪酸合成系酵素の合成・分解に及ぼす食じ栄養素の影響

(1) 糖質+タンパク質, (2) 糖質のみ, (3) タンパク質のみの3つの食じ群について [³H]-leucine を腹腔内注射し2h後にと殺して各酵素にとりこまれた放射活性から合成速度を求めた。acetyl-CoA carboxylase, G6PDH, malic enzyme の酵素において各食じ群の間で酵素誘導と合成速度が連動していた (表-3)¹⁾。また、酵素にとりこまれた [³H]-leucine の time course から酵素の半減期を求めたところ、いずれの酵素においても食じ栄養素の分解速度への影響はみられなかった (図-1)。すなわち、いずれの酵素においても食じ中の糖質、タンパク質、脂肪による誘導の違いは専ら合成速度に起因することが示唆された。

4 Malic enzyme cDNA のクローニング及び転写と転写後の調節

4.1 Malic enzyme cDNA

malic enzyme cDNA をクローニングし、得られた pME 134 は約 1.1 kbp で Pst 1 site を持ち、約 0.78 kbp と 0.33 kbp の2つの fragment に分かれた (図-2)¹⁾。このうち 0.78 kbp の fragment を制限酵素で切断して sequence を行ったところ塩基配列が Magnusson らの報告¹²⁾と完全に一致し、malic enzyme cDNA であることが確認された。この 0.78 kbp の cDNA を用いて転写速度、mRNA 量の測定を行った。

4.2 食じ栄養素と triiodothyronine (T₃) による malic enzyme の転写と転写後の調節

表-3 脂肪酸合成系酵素の合成速度に及ぼす食じ栄養素の影響¹⁰⁾

Dietary nutrients	Enzyme activity (mU/mg)	[³ H] leucine incorporation into enzyme (dpm × 10 ⁻³)	Enzyme synthesis rates
Malic enzyme			
(1) carbohydrate, protein	292 ± 8.60 ^a	13.9 ± 2.09 ^a	7.71 ± 0.54 ^a
(2) carbohydrate	193 ± 8.31 ^b	15.8 ± 1.30 ^a	5.21 ± 0.58 ^b
(3) protein	94.7 ± 4.93 ^c (<i>P</i> < 0.05)	3.94 ± 0.94 ^b (<i>P</i> < 0.01)	3.04 ± 0.34 ^c (<i>P</i> < 0.001)
Glucose-6-phosphate dehydrogenase			
(1) carbohydrate, protein	379 ± 13.7 ^a	8.01 ± 0.74 ^a	4.45 ± 0.58 ^a
(2) carbohydrate	102 ± 11.3 ^b	5.41 ± 0.60 ^b	1.78 ± 0.63 ^b
(3) protein	245 ± 19.8 ^c (<i>P</i> < 0.05)	4.54 ± 0.80 ^b (<i>P</i> < 0.05)	3.48 ± 0.42 ^{ab} (<i>P</i> < 0.01)
Acetyl-CoA carboxylase			
(1) carbohydrate, protein	8.68 ± 0.56 ^a	14.8 ± 1.22 ^a	8.23 ± 0.30 ^a
(2) carbohydrate	8.32 ± 0.23 ^a	22.0 ± 1.01 ^b	7.24 ± 0.45 ^a
(3) protein	3.80 ± 0.28 ^b (<i>P</i> < 0.05)	5.50 ± 0.08 ^c (<i>P</i> < 0.001)	4.24 ± 0.21 ^b (<i>P</i> < 0.001)

ラットを2d 絶食し、4d 同カロリーの実験食を与えた後、0.05 mCi の [³H]-leucine を腹腔 (腔) 内注射した。2 h 後にと殺して酵素にとりこまれた放射活性を測定した。酵素は特異抗体で分離した後、さらに電気泳動にて精製した。Mean ± S.E. (*n* = 8) 同じ記号の場合は有意差なし。

表-3 と同様な方法で [³H]-leucine の酵素へのとりこみを測定し、注射後 2, 24, 48, 72 h 後のとりこみを片対数表にプロットした。Mean ± S.E. (*n* = 3) (A) malic enzyme, (B) G6PDH, (C) acetyl-CoA carboxylase. 実験食: ●67% 糖質+18% タンパク質, ○85% 糖質, ▲85% タンパク質。

図-1 脂肪酸合成系酵素の分解速度に及ぼす食じ栄養素の影響¹⁰⁾

malic enzyme の転写速度は各食じ群で有意差がなく栄養素は転写後の調節に関与することが示唆された (表-4)¹¹⁾。mRNA 量はさきに示した mRNA 活性と比例していたが、糖質のみの群で充分に上昇し、タンパク質のみでは低かったことから糖質は mRNA の安

定性に関与しているのかも知れない。Dozin²⁰⁾ らも糖質は malic enzyme mRNA の安定性に関与すると考察した。また、脂肪の投与により転写速度は有意に低下しなかったが、mRNA 量が抑制されたことから脂肪は転写よりは転写後に、しかも翻訳以前に関与するものと

表-4 Malic enzyme の誘導, mRNA 量, 転写速度に及ぼす食じ栄養素と triiodothyronine (T_3) の影響¹¹⁾

Diet	T_3	Enzyme activity (mU/mg protein)	mRNA concentration (cpm)	Transcription			Transcriptional rate (ppm)
				10^{-6} total transcription (cpm)	$[^{32}P]$ RNA hybridized to pME 134 (cpm)	$[^{32}P]$ RNA hybridized to pBR 322 (cpm)	
(1) Carbohydrate, protein	-	344 $\pm$ 60.5	157 $\pm$ 42.5	32.5 $\pm$ 5.8	244 $\pm$ 74.3	121 $\pm$ 33.5	8.23 $\pm$ 1.95
(2) Carbohydrate	-	221 $\pm$ 61.4	145 $\pm$ 27.6	29.5 $\pm$ 7.2	302 $\pm$ 56.7	132 $\pm$ 39.2	11.4 $\pm$ 0.12
(3) Protein	-	92.8 $\pm$ 20.9	69.6 $\pm$ 12.4	36.8 $\pm$ 8.4	264 $\pm$ 68.5	125 $\pm$ 34.0	7.28 $\pm$ 0.27
(4) Carbohydrate, protein, Fat	-	196 $\pm$ 24.6	66.3 $\pm$ 5.5	27.5 $\pm$ 6.2	215 $\pm$ 45.0	132 $\pm$ 36.8	6.92 $\pm$ 1.41
(5) Fasted	-	47.5 $\pm$ 5.8	24.0 $\pm$ 15.4	30.7 $\pm$ 5.8	216 $\pm$ 52.2	145 $\pm$ 41.7	4.55 $\pm$ 1.35
(1) Carbohydrate, protein	+	1080 $\pm$ 167	336 $\pm$ 61.9	35.8 $\pm$ 6.7	404 $\pm$ 38.8	136 $\pm$ 34.1	15.3 $\pm$ 3.96
(2) Carbohydrate	+	582 $\pm$ 29.7	352 $\pm$ 31.6	36.2 $\pm$ 9.1	464 $\pm$ 47.9	126 $\pm$ 32.5	17.2 $\pm$ 0.20
(3) Protein	+	241 $\pm$ 58.3	167 $\pm$ 18.2	34.7 $\pm$ 6.4	321 $\pm$ 48.5	149 $\pm$ 41.3	11.0 $\pm$ 2.22
(4) Carbohydrate, protein, Fat	+	855 $\pm$ 95.4	284 $\pm$ 3.3	34.5 $\pm$ 3.3	341 $\pm$ 44.4	129 $\pm$ 32.9	14.1 $\pm$ 2.81
(5) Fasted	+	42.1 $\pm$ 7.30	42.3 $\pm$ 17.7	29.3 $\pm$ 7.2	243 $\pm$ 33.9	129 $\pm$ 35.8	7.33 $\pm$ 1.47

2 d 絶食後, 表-1 に示した食じを 4 d 投与した。 T_3 は 50 μ g/100 g を実験食を投与期間中 1 日 1 回腹腔こう内注射し, 絶食ラットにはと (屠) 殺 15 h 前に 1 回注射した。Mean $\pm$ S.D. ($n=6\sim9$)

図-2 malic enzyme cDNA¹¹⁾

思われる。

一方, T_3 を注射すると各食じ群で転写速度が促進された (表-4)。絶食群でさえも T_3 投与により malic enzyme の転写速度が上昇したので T_3 による転写速度の促進に, 栄養条件はあまり影響しないように思われる。malic enzyme の転写速度は各食じ群で絶食時の 1.5~2 倍であったが mRNA 量や酵素誘導の変動幅ははるかに大きかった。従ってこの酵素では核及び細胞質での mRNA の安定性など転写後の調節が重要であろうが糖質や脂質はそれに関与していることが示唆された。

4.3 Malic enzyme の生合成とインスリン

ストレプトゾトシン糖尿ラットでは正常動物に対して

malic enzyme の酵素活性が 10 %, mRNA 量が 40 %, 転写速度が 64 % であったが (表-5), いずれもインスリンの投与により回復した²¹⁾。すなわち, インスリンは malic enzyme の生合成において転写に作用することが示唆されたが, 糖尿動物で酵素量がきわめて低かったことから翻訳の段階にも作用するように思われる。

一方, 糖尿動物に T_3 を注射した時, 転写速度, mRNA 量, 酵素誘導が著明に増加した。すなわち, T_3 は低インスリン状態で, あるいはインスリンを介さずに malic enzyme gene に作用するのかも知れない。正常動物でも食じ栄養素の種類にかかわらず, 絶食時ですら

表-5 糖尿ラットにおける malic enzyme の転写速度, mRNA 量, 酵素活性^{1,2)}

Animal	T ₃ treatment	Malic enzyme activity (mU/mg)	mRNA concentration (cpm)	Transcription		
				Total transcription (cpm × 10 ⁻⁶)	[³² P] RNA hybridized to pEM 134 (cpm)	Transcriptional rate (ppm)
Normal rat	-	301 ± 27.9	251 ± 35.1	35.2 ± 8.3	154 ± 35.8	7.73 ± 0.58
	+	708 ± 50.1 ^c	479 ± 73.8 ^b	30.8 ± 7.1	428 ± 77.0	15.3 ± 1.50 ^b
Diabetic rat	-	28.8 ± 10.6 ^f	97.6 ± 13.9 ^e	31.6 ± 4.8	84.7 ± 19.4	4.95 ± 1.22 ^d
	+	206 ± 13.8 ^{c,f}	171 ± 17.1 ^{b,c}	29.7 ± 4.1	148 ± 28.6	9.92 ± 2.33 ^{ad}

ストレプトゾトシン糖尿ラットを無脂肪高糖食で 4 d 飼育した。その間 T₃ 投与群には T₃ (50 μg/100 g) を毎日一回ずつ腹腔内注射した。Mean ± S.D. (n=3) (-T₃) に対する有意差検定, a: P<0.05; b: P<0.01; c: P<0.001; 正常ラットに対する有意差検定, d: P<0.05; e: P<0.01; f: P<0.001

表-6 トリチウム水の肝脂肪酸へのとりこみに及ぼす食じ栄養素の影響^{1,3)}

Dietary nutrients	Incorporation of tritiated water into fatty acids (dpm/h/g 肝)
(1) Carbohydrate, protein	1480 ± 136 ^a
(2) Carbohydrate	910 ± 35.1 ^b
(3) Protein	582 ± 74.0 ^c
(4) Carbohydrate, fat	654 ± 74.0 ^{b,c}
(5) Carbohydrate, protein, fat	843 ± 38.7 ^{b,c}
(6) Fasted	211 ± 14.5 ^d

2 d 絶食したラットに実験食を 3 d 投与した後、体重 100 g 当たり 0.05 mCi のトリチウム水を腹腔内注射した。1 h 後に殺して肝脂肪酸へのとりこみを測定した。Mean ± S.E. (n=3) 同じ記号の場合は有意差なし

転写速度を高めたことから T₃ は一次的に核に作用するように思われる。

5 脂肪酸合成と脂肪酸合成系酵素の基質, effector のレベル

前項までに酵素誘導に及ぼす食じ栄養素の影響を述べたが、さらに生理的な脂肪酸合成と酵素誘導との関連について述べる。

5.1 トリチウム水よりの脂肪酸合成

in vivo における生理的な肝脂肪酸合成をしらべるためにトリチウム水を注射し、1 h 後の肝脂肪酸へのとりこみを測定した。無脂肪食(糖質+タンパク質)群を 100 % とすると糖質のみの群では約 60 %, タンパク質のみの群では約 40 % であった(表-6)^{2,3)}。また、脂肪の投与により約 60 % に低下した。すなわち、生理的な脂肪酸合成も食じ栄養素によって変化することが示唆され

表-7 肝 acetyl-CoA carboxylase 活性に及ぼす食じ栄養素の影響^{1,3)}

Dietary nutrients	Acetyl-CoA carboxylase (mU/mg)	
	(-inhibitor)	(+inhibitor)
(1) Carbohydrate, protein	10.9 ± 1.34 ^a	0.61 ± 0.04 ^a
(2) Carbohydrate	10.0 ± 1.76 ^a	0.23 ± 0.06 ^{b,c}
(3) Protein	5.89 ± 0.93 ^b	0.12 ± 0.05 ^c
(4) Carbohydrate, fat	3.19 ± 0.59 ^c	0.32 ± 0.01 ^d
(5) Carbohydrate, protein, fat	5.39 ± 0.31 ^b	0.34 ± 0.07 ^d
(6) Fasted	1.63 ± 0.20 ^d	0.30 ± 0.50 ^d

(-inhibitor) は 10 mM citrate で活性化して測定した。(+inhibitor) は 0.1 M sodium fluoride, 0.01 M mercaptoethanol, 2 mM EDTA, 0.5 mM phenylmethylsulfonyl fluoride を加えて肝臓をホモジネートし、測定時にも加えて 0.5 mM citrate で活性化して測定した。Mean ± S.E. (n=6) 記号の同じ場合は有意差なし

たが、酵素誘導だけでは十分に説明できない。生理的な脂肪酸合成は G6PDH, malic enzyme, fatty acid synthetase の誘導のように大きく変動せず、むしろ acetyl-CoA carboxylase の誘導に近い。しかし、acetyl-CoA carboxylase は糖質のみで十分に誘導されるのに脂肪酸合成は糖質だけでは十分に上らない。そこで acetyl-CoA carboxylase の生理的な活性を測定するために肝臓を phosphatase inhibitor と proteinase inhibitor と共にホモジネートした上清液を用い、0.5 mM クエン酸で活性化して測定したところ糖質のみの食じでは活性が十分に上らなかった(表-7)。また、生理的な脂肪酸合成の調節に酵素の基質や effector レベルは重要な因子であるので次に述べる。

表-8 脂肪酸合成系酵素の基質や活性化因子のレベルに及ぼす食じ栄養素の影響^{1,3)}

Dietary nutrients	Glucose 6-phosphate	Malate	Citrate	Acetyl-CoA	Malonyl-CoA	Oxaloacetate
(1) Carbohydrate, protein	165 ± 10.2 ^a	329 ± 8.90 ^a	269 ± 6.94 ^a	15.4 ± 0.88 ^a	12.9 ± 0.41 ^a	67.6 ± 3.22 ^{ab}
(2) Carbohydrate	145 ± 4.24 ^{ab}	307 ± 11.2 ^a	542 ± 13.1 ^b	12.4 ± 0.92 ^b	8.48 ± 0.61 ^b	102 ± 2.98 ^d
(3) Protein	228 ± 9.10 ^c	260 ± 11.3 ^b	195 ± 9.80 ^c	23.8 ± 1.41 ^c	20.9 ± 0.39 ^c	38.6 ± 2.45 ^c
(4) Carbohydrate, fat	107 ± 6.49 ^d	329 ± 9.88 ^a	406 ± 14.0 ^d	20.6 ± 1.00 ^d	15.1 ± 0.41 ^d	64.4 ± 6.82 ^{ab}
(5) Carbohydrate, protein, fat	128 ± 8.20 ^{bd}	280 ± 7.88 ^b	219 ± 4.61 ^c	15.2 ± 0.44 ^a	17.6 ± 0.42 ^c	58.0 ± 0.80 ^{abc}
(6) Fasted	47.0 ± 2.76 ^c	165 ± 2.54 ^c	137 ± 4.49 ^d	10.6 ± 0.13 ^b	6.28 ± 0.28 ^f	50.2 ± 2.31 ^b

nmol/g 肝, Mean ± S.E. (n=6) 同じ記号の場合は有意差なし

5.2 基質と effector のレベル

生理的に機能している基質や effector のレベルを考える時、細胞内 particle の localization が重要な問題である。しかし、分画中に变化する可能性があり、その濃度の測定はきわめて困難である。従ってこの角度からの研究には限界があるが、急冷凍した肝臓中の濃度を測定し参考にした (表-8)^{2,2)}。glucose-6-phosphate の濃度はタンパク質のみの群で特に高かったが、他の食じ群では大差なく、絶食群では低かった。絶食群以外の glucose-6-phosphate 値は G6PDH の K_m 値 (83 μ M) をはるかに上回っているように思われる。タンパク質のみの食じ群で特に高いのは oxaloacetate 値が低いので解糖系から TCA サイクルに入るのが低下したためであろう。逆に糖質のみの投与ではクエン酸や oxaloacetate の濃度が高く TCA サイクルの活性化が示唆された。また、L-malate 値は栄養条件によりあまり変動せず malic enzyme の K_m 値 (87 μ M) を常に大きく上回っているように思われる。acetyl-CoA 濃度は acetyl-CoA carboxylase の K_m 値 (75 μ M) より低く、活性化因子のクエン酸濃度は K_a 値 (1.7 mM) より常にはるかに低く、また malonyl-CoA 濃度も fatty acid synthetase の K_m 値 (50 μ M) より常に低いように思われる。

G6PDH や malic enzyme は酵素活性が充分に高く、基質濃度も K_m 値よりはるかに高いようである。栄養条件により酵素誘導が大きく変動するものの生理的な脂肪酸合成を制限しないように思われる。初発酵素である acetyl-CoA carboxylase は代謝条件の急速な変動には酵素活性で対応し、また長期的には酵素量で対応するなど多様な調節が考えられている^{1),4)}。さらに基質レベルによっても制限されるようである。また、fatty acid synthetase は acetyl-CoA carboxylase と同様に酵素活性、基質濃度が低く、これもまた制限因子になるであ

ろう。しかし、基質濃度は acetyl-CoA carboxylase に依存しているので第1の律速段階は acetyl-CoA carboxylase ということになる。acetyl-CoA carboxylase は誘導や抑制の変動幅が他の脂肪酸合成系酵素のように大きくなかったが、citrate による活性化、long chain acyl-CoA による阻害、phosphorylation-de-phosphorylation による活性の変化もあり、その酵素活性の調節はきわめて複雑である¹⁾⁻⁵⁾。個体全体としての調節の中で生命維持ということからみると脂肪酸合成は脇役的な立場にあり、他の代謝系の影響を大きく受けて変動する。その時、acetyl-CoA carboxylase の多様な調節機構はきわめて合目的であり、脂肪酸合成の律速段階と考えるのは合理的であろう。

6 おわりに

一連の脂肪酸合成系酵素の食じ栄養素による誘導と基質レベルの変動について述べた。acetyl-CoA carboxylase と malic enzyme の誘導は糖依存性、G6PDH はタンパク依存性、また fatty acid synthetase は両方の依存性が強いことを見いだした。malic enzyme については cDNA のクローニングに成功したので転写速度や mRNA 量を測定した結果、食じ栄養素は転写よりは転写後の調節に関与し、糖質は mRNA の安定性に、タンパク質は翻訳に関与することが示唆された。また、脂肪は malic enzyme と G6PDH について翻訳以前の段階で誘導を抑制する事を見いだした。他の酵素についても研究中であるが、脂肪酸合成系酵素は栄養条件に対して一束となって変動するもののかかなり個性をもっている。代謝調節の遺伝子レベルでの研究が盛んに行われている現在、脂肪酸合成においても例外ではないがまだ出発して間がない感がある。今後、さらに栄養学的な現象を分子レベルで解明していく予定である。

(昭和 63 年 4 月 22 日受理)

文 献

- 1) S. Numa, S. Nakanishi, T. Hashimoto, N. Iritani, T. Okazaki, *Vitamins and Hormones*, **28**, 213 (1970)
- 2) J.J. Volpe, P.R. Vagelos, *Ann. Rev. Biochem.*, **42**, 21-60 (1973)
- 3) J. Moss, M.D. Lane, *Adv. Enzymol.*, **35**, 321 (1971)
- 4) S. Numa, T. Tanabe, *New Comprehensive Biochemistry*, **7**, 1 (1984)
- 5) K.-H., Kim, *Current Topics in Cellular Regulation*, **22**, 143 (1983)
- 6) H.C. Towle, C.N. Mariash, H.L. Schwartz, J.H. Oppenheimer, *Biochem.*, **20**, 3486 (1981)
- 7) B. Dozin, M.A. Magnuson, V.M. Nikodem, *J. Biol. Chem.*, **261**, 10290 (1986)
- 8) A.G. Goodridge, *Ann. Rev. Nutr.*, **7**, 157 (1987)
- 9) D.W. Back, S.B. Wilson, S.M. Morris, Jr., A.G. Goodridge, *J. Biol. Chem.*, **261**, 12555 (1986)
- 10) A. Katsurada, N. Iritani, H. Fukuda, T. Noguchi, T. Tanaka, *Biochim. Biophys. Acta*, **877**, 350 (1986)
- 11) A. Katsurada, N. Iritani, H. Fukuda, T. Noguchi, T. Tanaka, *Eur. J. Biochem.*, **168**, 487 (1987)
- 12) M.A. Magnuson, H. Marioka, M.F. Tecce, V.M. Nikodem, *J. Biol. Chem.*, **261**, 1183 (1986)
- 13) R.E. Kletzien, C.R. Prostko, D.J. Stumpo, J.K. McClung, K.L. Dreher, *J. Biol. Chem.*, **260**, 5621 (1985)
- 14) T. Takai, C. Yokoyama, K. Wada, T. Tanabe, *J. Biol. Chem.*, **263**, 2651 (1988)
- 15) D.H. Bai, M.E. Pape, F. Lopes-Casillo, X.C. Luo, J.E. Dixon, K.-H. Kim, *J. Biol. Chem.*, **261**, 12395 (1986)
- 16) A. Katsurada, N. Iritani, H. Fukuda, T. Noguchi, T. Tanaka, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **109**, 250 (1982)
- 17) A. Katsurada, N. Iritani, H. Fukuda, T. Noguchi, T. Tanaka, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **112**, 176 (1983)
- 18) D.M. Gibson, R.T. Lyons, D.F. Scott, Y. Muto, *Adv. Enzyme Regul.*, **10**, 187 (1972)
- 19) N. Iritani, H. Fukuda, E. Fukuda, *Biochim. Biophys. Acta*, **665**, 636 (1981)
- 20) B. Dozin, J.E. Rall, V.M. Nikodem, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, **83**, 4705 (1986)
- 21) A. Katsurada, N. Iritani, H. Fukuda, T. Noguchi, T. Tanaka, *Biochim. Biophys. Acta*, **950**, 113 (1988)
- 22) A. Katsurada, H. Fukuda, N. Iritani, *Biochim. Biophys. Acta*, **878**, 200 (1986)