[Nippon Nōgeikagaku Kaishi Vol. 72, No. 9, pp. 1077~1079, 1998]

タンパク質・アミノ酸による IGFBP-1 遺伝子の発現制御†

竹中麻子

(山形大学農学部)

Key words: protein nutrition; amino acid; IGF-I; IGFBP-1; transcription

1. はじめに

われわれの体の諸臓器の基本構造はタンパク質からできており、また体内の諸反応を触媒する酵素やある種のホルモンもタンパク質やペプチドである。このことからわかるように、タンパク質はまさに生物にとって必須の構成成分である。一方で栄養素としては、タンパク質は食物からどうしても摂取しなくてはならない必須栄養素である。タンパク質の栄養効果は、食品中の含量とそのアミノ酸組成によって決定され、このようなタンパク質栄養の違いは生体にさまざまな変化をひき起こすことが古くから知られている。

こうした栄養効果の違いの少なくとも一部は、生体内の何らかの遺伝子発現を介して生じていると考えられる。実際に、食餌中のタンパク質・アミノ酸の変化に応じて遺伝子発現量変動する例が報告されている⁽¹⁾。しかしながら、その発現制御機構が解明された研究例はなく、他の栄養素による遺伝子発現制御の研究が進展をみせる中で、タンパク質・アミノ酸に関しては研究が立ち後れている感がある。

われわれは、食餌中のタンパク質・アミノ酸により発現制御を受けて体タンパク質代謝を制御する因子として、インスリン様成長因子-I (insulin-like growth factor-I; IGF-I) というホルモンに注目して研究を進めてきた。IGF-I はインスリンと構造が良く似たペプチドホルモンで、その作用は骨成長の促進、細胞増殖・分化促進、タンパク質同化など多岐にわたっている⁽²⁾。したがって、十分量でかつ栄養価の高いタンパク質を

摂取することによって肝臓における IGF-I の合成量が増加し、IGF-I のタンパク質同化活性により体タンパク質の蓄積をひき起こすと考えられる。一方、体液中には IGF-I と結合する IGF 結合タンパク質 (IGF binding protein; IGFBP) が存在し、IGF-I の半減期や組織への移行性、IGF レセプターとの結合性を制御するなどの機構によって、IGF-I の活性制御に重要な役割を果たしている⁽³⁾。

本稿では、食餌タンパク質・アミノ酸により遺伝子発現が制御されるモデルとして IGFBP の一つである

図 1 アミノ酸に応答した IGFBP-1 mRNA 量の変動
(a) 12% カゼインを含む通常食 (12C) および無タンパク質食 (PF) を 1 週間摂取したラットより肝臓実質細胞 (Parenchymal Cells)・非実質細胞 (Nonparenchymal Cells) を分離し、IGFBP-1 mRNA 量を Northern blotting により解析した。
(b) 肝臓由来の細胞株 H4IIE および HuH-7 を、アミノ酸を含む (AA+) あるいは含まない (AA-) 培地中で 12 時間培養後、IGFBP-1 mRNA 量を Northern blotting により解析した。

† Regulation of IGFBP-1 Gene Expression by Amino Acids

Asako TAKENAKA (Department of Bioresource Engineering, Faculty of Agriculture, Yamagata University)

図2 アミノ酸に応答したIGFBP-1遺伝子のプロモーター活性の変動

図左側に示すプラスミドをHuH-7細胞に導入し、アミノ酸を含む(AA+)あるいは含まない(AA-)培地中で24時間培養後のプロモーター活性を測定した。

IRE, インスリン応答配列; GRE, グルココルチコイド応答配列; HNF-1, HNF-1結合領域。

IGFBP-1をとりあげ、その転写制御機構について概説する。

2. タンパク質・アミノ酸によるIGFBP-1遺伝子の発現制御

前述のようにIGF-Iの活性はIGFBPとの結合状態によって変化するものと考えられる。IGFBPは主なものだけでも6種存在するため、食餌中のタンパク質の量や栄養価をさまざまに変化させた際に、その合成活性が変化するIGFBPがあるかどうかを検討してみた。その結果、6種の主要なIGFBPの中でIGFBP-1の血中濃度、肝臓中のmRNA量が食餌タンパク質量の低下に応答して大幅に増加していた。このときラット肝臓中のIGFBP-1遺伝子の転写速度もまた同様に増加しており、食餌タンパク質量の低下はIGFBP-1

遺伝子の転写過程に影響を与えることが明らかとなった⁽⁴⁾。

さらに同様のIGFBP-1遺伝子発現の誘導効果は、肝臓の培養細胞の培地中のアミノ酸量を除去することによっても再現され(図1)、しかもその誘導は転写レベルで生じていることが示された。このことから、肝臓細胞が「アミノ酸量の不足」に応答してIGFBP-1の合成を転写レベルで増加させていることが示された。

3. IGFBP-1遺伝子の転写制御

IGFBP-1の発現は数種のホルモンによって調節されることが知られているが、グルココルチコイドおよびインスリンによる調節について研究が進んでいる。インスリンは強いIGFBP-1遺伝子の発現抑制活性をもち、グルココルチコイドによる転写促進をも抑制する。いずれの因子による調節も肝臓における遺伝子の転写レベルで生じている⁽⁵⁾。また、肝臓特異的転写因子の一つであるhepatocyte nuclear factor-1 (HNF-1)がIGFBP-1遺伝子の5'領域と相互作用し、主要な転写促進活性を担っていることがわかっている⁽⁶⁾。

これらの転写制御に関わるIGFBP-1遺伝子上の領域は転写開始点から上流120 bp程度の領域に集中しており、インスリン応答配列(IRE)、グルココルチコイド応答配列(GRE)は一部が重なり合うように存在している⁽⁷⁾。IREの二つのハーフサイトの中央部にhepatocyte nuclear factor-3 (HNF-3)が結合することが示されているが、この因子自身はIGFBP-1遺伝子の転写促進活性をもっており、インスリンによる負の調節作用を直接担う因子ではないとされている⁽⁸⁻¹⁰⁾(図3)。

4. アミノ酸によるIGFBP-1遺伝子の発現制御の分子機構

2で述べたように、培地中のアミノ酸の量的変化に応答して、肝臓細胞中のIGFBP-1遺伝子の転写活性が変動することが明らかとなった。そこでこの変動をひき起こすIGFBP-1遺伝子上のシス領域の同定を試みた。IGFBP-1遺伝子5'領域をレポーター遺伝子の5'上流に連結し、肝癌由来細胞株HuH-7に導入した。この系を用いて、培地中のアミノ酸を除去した際にレポーター遺伝子の発現を増加させる領域を検索した。その結果、-120~-81の領域にアミノ酸応答能があることが明らかとなった(図2(a), (b))。このアミノ酸応答領域は、前述のIRE, GREとほぼ同位置に存在し

図3 IGFBP-1 遺伝子のアミノ酸応答領域の概略

ていた。そこで、-112~-77 (IRE-GREを含む)、-76~-36 (HNF-1 結合配列を含む) のそれぞれの部分を除いて同様に実験を行った。その結果、IRE-GRE を除くことによりアミノ酸除去に応答した BP-1 遺伝子の発現誘導は消失し、IRE-GRE 部位にアミノ酸応答領域が存在することが確認された。また、HNF-1 結合部位を除くことにより BP-1 遺伝子の転写活性そのものが大幅に減少し、アミノ酸除去による誘導も観察されなくなった (図2(c))。これらの結果から、BP-1 遺伝子上に存在するアミノ酸応答領域が、IRE・GRE を含む約 35bp に存在することが示された。

この領域によって、IGFBP-1 遺伝子はインスリン刺激により負の、グルココルチコイド刺激により正の発現制御を受けていることになる。一方、ラットをタンパク質・アミノ酸を含まない餌で飼育した際に、血中インスリンやグルココルチコイドレベルには IGFBP-1 発現を大きく変動させるような変化は生じない。したがってアミノ酸欠乏のシグナルは、インスリンやグルココルチコイドとは別の経路を介して、IRE・GRE

部位に到達するものと考えられる。

5. おわりに

本稿で述べてきた IGFBP-1 遺伝子上のアミノ酸応答領域は、糖代謝とアミノ酸代謝の両方に深く関与する転写制御ユニットとして注目される。栄養素として摂取したアミノ酸の量や栄養価の情報が生体内でどのようなシグナルに変換されているのかは、まだほとんど解明されていないといって良い。アミノ酸による遺伝子発現の制御機構の研究は、この大きな問題を解く一つの糸口になると考えている。

- (1) N. W. Marten, E. J. Burke, J. M. Hayden, and D. S. Straus: *FASEB J.*, **8**, 538-544 (1994).
- (2) W. S. Cohick and D. R. Clemmons: *Annu. Rev. Physiol.*, **55**, 131-153 (1993).
- (3) M. M. Rechler: *Vitam. Horm.*, **47**, 1-114 (1993).
- (4) A. Takenaka, M. Mori, S. Yamada, J. Ohgane, S.-I. Takahashi, and T. Noguchi: *J. Endocrinol.*, **150**, 33-41 (1996).
- (5) R. Goswami, R. Lacson, E. Yang, R. Sam, and T. Unterman: *Endocrinology*, **134**, 736-743 (1994).
- (6) A. Suwanichkul, M. L. Cabbage, and D. R. Powell: *J. Biol. Chem.*, **265**, 21185-21193 (1990).
- (7) D. G. Robertson, E. M. Marino, P. M. Thule, C. K. Seneviratne, and L. J. Murphy: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **200**, 226-232 (1994).
- (8) T. G. Unterman, A. Fareeduddin, M. A. Harris, R. G. Goswami, A. Porcella, R. H. Costa, and R. G. Lacson: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **203**, 1835-1841 (1994).
- (9) R. M. O'Brien, E. L. Noisin, A. Suwanichkul, T. Yamasaki, P. C. Lucas, J. Wang, D. R. Powell, and D. K. Granner: *Mol. Cell. Biol.*, **15**, 1747-1758 (1995).
- (10) S. V. Allander, S. K. Durham, A. O. Scheimann, R. M. Wasserman, A. Suwanichkul, and D. R. Powell: *Endocrinology*, **138**, 4291-4300 (1997).