総 説

[Nippon Nôgeikagaku Kaishi Vol. 74, No. 2, pp. 145~152, 2000]

タンパク質代謝に関する分子栄養学的研究[†]

(1999 年度日本農学賞受賞)

野 口 忠

(東京大学大学院・農学生命科学研究科)

Key words: protein metabolism; protein nutrition; molecular nutrition; insulin-like growth factor; insulin-like growth factor binding protein

食べるタンパク質の量や栄養価によって、われわれの体はどのような影響を受けるのであろうか。特に、われわれの体のタンパク質代謝はどのような影響を受けるのであろうか。

筆者の所属する研究室では、およそ 50 年にわたってこの問題を追求してきた。研究の初期には、諸組織のアミノ酸組成とかタンパク質の組成が受ける影響が解析された。その結果、例えば骨格筋では可溶性タンパク質とミオフィブリルタンパク質のどちらが量的により大きな影響を受けるか、といった疑問に答えが出された。

1950 年代も後半になると、食べるタンパク質の量や栄養価によって体の酵素はどのように変化するかという問題が追求された。そしてアミノ酸代謝の調節の機構などが酵素のレベルで説明されるようになった。このような研究が最も盛んであった頃、われわれの研究室では、タンパク質の代謝回転の研究が盛んに行われていた。この領域の研究は 1980 年代をピークに、大筋の概念の形成はできたように考えている。

一方で、1960 年代から、タンパク質代謝には、タンパク質の合成と分解の両側面があることが明確に意識され、当時活発であったタンパク質の合成機構に関する研究で取りあげられていた現象に対して、食べるタンパク質の量や栄養価がどのような影響を与えるかが

解析された。リボソーム RNA 量の定量、ポリソームパターン解析、などが行われている。一方、タンパク質分解に関する研究は、方法上の多くの困難があったが、それにもかかわらず、研究の進展がみられ、分解機構や分解中間体の同定などで成果をあげている^(1,2)。近年方法上の進展もみられることから、近い将来かなり明確な概念が形成されることが期待される。

1980 年代も後半になって、筆者らは、この栄養条件によるタンパク質の合成・分解の制御機構の解析に研究を進めた。特に、栄養条件が体の信号系、とりわけホルモン系にどのような影響を与えるのか、そしてそれがどのような機構でタンパク質の合成・分解を制御するのかという研究に力を注いだ。

この過程で、筆者らは、インスリン様成長因子-I (Insulin-like Growth Factor-I; IGF-I) がタンパク質代謝の上で、従来の栄養学上の多くの現象を説明する重要なホルモンであることを見いだすことができた。1980 年代は、幸い高等動物の分子生物学が飛躍的に発展したことから、筆者らが注目した IGF-I に関する研究も分子生物学の方法を利用して推進することができた⁽³⁾。

今日、100 年以上にわたって観察されてきたタンパク質栄養学における多くの現象は、分子のレベルで説明できるようになり、そこにはさらなる新しい多くの問題が横たわっていることが明確に意識できるようになった。本稿では、このような状況について概説したい。

1. タンパク質代謝の研究

われわれが摂取するタンパク質について配慮すべき事項は、まずその量であることはいうまでもないが、その栄養価にも十分配慮する必要がある。食物のタンパク質によって栄養価が異なることは、すでに 100 年以上前から知られていた。それは同じ量のタンパク質

[†] Molecular Nutritional Studies on Protein Metabolism

Tadashi NOGUCHI (Department of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo)

を動物に与えても成長の速度に大きな差があるということが証明されていたことを意味する。この栄養価の違いはそれぞれのタンパク質のアミノ酸組成によるものであろうことは推定されていたが、それを証明することはなかなか困難であったと考えられる。鈴木梅太郎先生は、タンパク質の加水分解物でタンパク質が置き換えられるかという研究を進めておられ、これは後にトレオニンの発見に至る。1920年には、鈴木先生は各種の食品タンパク質のジアミノ酸の定量結果を比較されて、もしタンパク質の栄養価がジアミノ酸の含量によって決まるのならば、リシンの含量による、との推論を述べておられる。アミノ酸分析が難しい時代であって、まさに事実を見抜いておられたことがわかる。今日、主に飼料タンパク質の栄養価を改善するために用いられるリシンの世界での生産量が40万トンを超えたという状況を見ると、まさに素晴らしい結論であったといえよう。

1930年代後半のトレオニンの発見によって必須アミノ酸の概念が確立し、タンパク質の栄養価が明確に説明できるようになった。すなわち、タンパク質は、食べる量が不足しても、またそれを構成する必須アミノ酸のバランスが悪くても成長をはじめとする体の諸機能に大きな影響がでる。

それでは、タンパク質欠乏食や必須アミノ酸欠乏食を摂取するということが、体の機能にどのように影響するのか、またその信号はどのように受容され、そして応答が起こるのであるのか。この点については、詳しい説明が困難であった。血中のアミノ酸濃度そのものが信号となるという可能性はあるが、それでは説明できない多くの現象がある。筆者らは、インスリン様成長因子-I (IGF-I) とその結合タンパク質の動態を考慮に入れると、タンパク質代謝の応答について、かなりの詳細な説明ができることを明らかにすることができた。

2. 食餌のタンパク質の量と栄養価が IGF-I の血中濃度に及ぼす影響

われわれは、栄養価のよいタンパク質の例としてカゼインを用い、また栄養価の劣るタンパク質として小麦のグルテンを用いている。成長中のラットに与えた場合、グルテンはリシンとトレオニンが欠乏しており、この二つのアミノ酸を添加すると成長はカゼインとほぼ同等となる。また、必要に応じて単離大豆タン

表 ラット血漿のインスリン様成長因子-I (IGF-I) 濃度に及ぼす食餌タンパク質の影響

	mU/mL インスリン様成長因子-I
無タンパク質食	1610± 350
小麦グルテン食	3770± 610
小麦グルテン+リシン, トレオニン食	4530± 560
トウモロコシタンパク質食	3400± 630
トウモロコシタンパク質+リシン, トリプトファン食	5830±1150
カゼイン食	7370± 980

若い雄ラットに無タンパク質食、12% 小麦グルテン食、それにリシンとトレオニンを添加して栄養価を改善した食、12% トウモロコシタンパク質食、それにリシンとトリプトファンを添加して栄養価を改善した食、および 12% カゼイン食を与え、1週間後に血漿を採り IGF-I を測定した。食餌タンパク質の量および栄養価に血漿の IGF-I 濃度がよく応答していることがわかる。

パク質やトウモロコシのタンパク質を用いる。前者は、成長中のラットにはメチオニンが欠乏しており、後者はトリプトファンとリシンが特に欠乏している。さらに、特定の必須アミノ酸を欠乏させる場合には、アミノ酸混合物を用いることにしている。

このような条件で若いラットを1週間飼育して、血中の IGF-I 濃度を比較したのが表である⁽⁴⁾。表に示されたように、この条件では例外なく、成長と血中の IGF-I がよく相関している。この相関は、9種類の必須アミノ酸欠乏すべてについてその後検証している。また、この IGF-I の血中濃度の変化は、体全体のタンパク質合成速度とよく相関することも証明することができた⁽⁵⁾。

さらに、実験的糖尿病や副腎皮質のグルココルチコイド投与の場合など、窒素出納が変化する場合にはほとんど例外なくそれと相関して IGF-I の濃度は変化する。このようなホルモンの、タンパク質代謝に関係が深いとされるホルモンは IGF-I 以外には現在でも知られていない。

以上の結果から、タンパク質代謝には IGF-I が決定的に重要であると考え、このホルモンの動態と食餌のタンパク質量や栄養価との関係を追求める研究を展開した。

3. IGF-I

まず、IGF-I というホルモンについて概略を述べて

	インスリン	インスリン様成長因子 I (Somatomedin-C/IGF- I)
分子量	5870 (ヒト)	7649 (ヒト)
構造
分泌器官	膵臓ランゲルハンス島 B 細胞	肝臓, 腎臓, 筋肉, 心臓その他多くの臓器
分泌促進因子	グルコース, ロイシン, アルギニンなど	成長ホルモン, インスリンなどのホルモン, あるいはバランスのとれた栄養供給
血中存在形態	遊離型	数種の結合タンパク質と結合して存在し, 遊離型はほとんどなし
受容体	インスリンレセプター	IGF- I レセプター
細胞外側のリガンド結合領域
膜貫通領域
チロシンキナーゼ領域
	<ul style="list-style-type: none"> ・ 2 つの α-サブユニット (135 k) と 2 つの β-サブユニット (95k) からなる 4 量体 ・ β-サブユニットにチロシンキナーゼ活性あり ・ 主に結合するリガンドはインスリン > IGF- I 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 2 つの α-サブユニット (135 k) と 2 つの β-サブユニット (95k) からなる 4 量体 ・ β-サブユニットにチロシンキナーゼ活性あり ・ 主に結合するリガンドは IGF- I > IGF- II > インスリン
標的器官	肝臓, 筋肉など広範	筋肉, 腎臓, 脳など広範
生理作用	糖・アミノ酸の輸送促進, タンパク質・RNA 合成の促進, 細胞増殖促進	細胞増殖, 細胞分化の促進, タンパク質・RNA 合成の促進, 糖・アミノ酸の輸送促進

図 1 IGF-I とインスリンの諸性質, 生理的機能の比較

おきたい (図 1)⁽⁶⁾。

IGF-I のアミノ酸配列は, プロインスリンとの相関が大きく, インスリンと異なり, 血中ではインスリンの C ペプチド部分が切り離されことなく循環している。成長ホルモンの支配のもと, 肝臓, 腎臓をはじめ多くの組織で合成されるホルモンであるが, 血中の IGF-I の主たる起源は肝臓であるとされている。

インスリンと IGF-I のもう一つの相違点は, インスリンがそのままの形で血中を循環しているのに対して, IGF-I はその大部分が少なくとも 6 種類の特異的な結合タンパク質 (IGF-binding proteins; IGFBPs) と結合して血中を循環していることである。この IGFBPs の生理的意義には不明なところがあるが, IGF のインスリン作用を抑制したり, IGF 独自の作用

を修飾したりといった IGF の活性を制御していることは、諸種の根拠から間違いないであろう。また、IGFBP が IGF の血中での寿命を延ばしたり、IGF の貯蔵庫の役割を果たすという説も広く受容されている。なお、IGF-I および IGFBPs については多くの成書があるので、最近の一冊を挙げておく⁽⁷⁾。

4. IGF-I の血中濃度変化の機構

IGF-I の血中濃度の変化が食餌タンパク質の量および栄養価の良否によく応答することが確認されたので、次にこの応答の機構の解析を行った。まず、血中の IGF-I の起源が肝臓であることを考えて、肝臓の IGF-I の mRNA 量を定量した。その結果、IGF-I の血中濃度の変化は肝臓の mRNA 量によく対応することが確認された (図 2)⁽⁸⁾。さらに、その mRNA の増減が mRNA の合成の違いによるものかを検証する目的で、nuclear run-on assay によって IGF-I の mRNA の合成速度を測定した。その結果、mRNA 量との対応は必ずしも明瞭ではなかった⁽⁹⁾。このことは、肝臓における IGF-I mRNA 量は、おもに肝臓での mRNA の

安定性に大きく影響されていると考えられた。

5. IGF-I の血中濃度と諸種の生理的条件との対応

IGF-I の血中濃度と諸種の生理的条件との対応、例えば、実験的糖尿病の場合や副腎皮質ホルモン投与の場合の体重変化や骨格筋の RNA/タンパク質比との相関などを調べると、多くの場合によく対応するが、副腎皮質ホルモン投与の場合の IGF-I の血中濃度と骨格筋の RNA/タンパク質比とは相関しなかった。そのため、さらに別の因子の存在を予想する必要があった。

6. IGFBPs の血中濃度とタンパク質栄養の条件との関係

IGF-I が血中で、特異的な結合タンパク質である IGFBPs に結合して循環していることは、IGF-I の発見の当時から知られていた。世界での数年間にわたる研究によって、6 種類の IGFBPs が発見され、アミノ酸配列や遺伝子の塩基配列が解明された (図 3)。近年さらに、この 6 種類の IGFBPs に関連するタンパク質の報告がなされている。それらのいくつかについては、培養細胞で IGF-I の活性制御をすることも明らかにされた。このような状況であったことから、われわれは、タンパク質の栄養状態とこれらの IGFBPs の血中濃度との相関関係の研究を行った。その結果、栄養条件に応答して特に血中濃度の変化が大きいのは、IGFBP-1、IGFBP-2、IGFBP-3 であることが明らかになった⁽¹⁰⁾。このうち、IGFBP-3 は、IGF-I 濃度に応じて濃度が変化するタンパク質であった。すなわち、栄養状態が悪くなると濃度が減少し、良い場合は高い濃度を保っていた。この IGFBP-3 濃度の変化に応じて、このタンパク質に結合している IGF-I の量も変化していることも明らかになった。一方、IGFBP-1 や IGFBP-2 の濃度は、タンパク質栄養の状態が悪いときによくそれに相関して上昇することが明らかになった。このように、IGFBPs は、生理的状态の変化に応答して独特の対応をすることが証明された。この結果をまとめたのが図 4 である⁽⁶⁾。なお、IGFBP-1 の血中濃度は、グルココルチコイド投与によって上昇すること、インスリンが欠乏すると上昇すること、グルココルチコイドによる上昇効果はインスリンによって相殺されることなどが細胞レベルでも *in vivo* でも明らかにされ、筆者らも確認している^(10, 11)。

図 2 肝臓の IGF-I mRNA 量に及ぼす食餌タンパク質の影響

若い雄ラットに 12% カゼイン食、12% グルテン食、および無タンパク質食を与え、1 週間後、肝臓を採り IGF-I の mRNA 量を測定した。血漿中の IGF-I 濃度によく応答して mRNA 量が変わっていることがわかる。IGF-I の mRNA は、0.8 kb から 7.4 kb まで、矢印で示したように多くの分子種がある。分子サイズの違いは主に転写終了点の違いによる。

7. IGFBP の血中濃度変化の機構

次にこれらの食餌タンパク質に応答した IGFBP の応答の分子機構の研究を展開した。mRNA レベルで調べると、IGFBP-1 は、肝臓、腎臓での発現量が多

図 5 肝臓の IGFBP-1 の mRNA 量に及ぼす無タンパク質食の影響
無タンパク質食を食べると、12% カゼイン食を食べている場合に比べて肝臓の IGFBP-1 の mRNA 量が顕著に増加していることがわかる。

く、IGFBP-2、IGFBP-3 は、多くの組織で広く発現していること、IGFBP-4 は IGFBP-1 同様肝臓、腎臓で多く発現していることが明らかであった。そして、栄養条件との対応を調べると、IGFBP-3 は、栄養条件に応じて血中の濃度は大きく変動するにもかかわらず肝臓などでの mRNA 量の変化は小さかった。それに対して、栄養状態が悪くなった場合に血中濃度が著増する IGFBP-1 の肝臓における mRNA 量を調べると、著しく上昇することを発見した (図 5)^(13, 14)。このように、血中の IGFBP の濃度変化は、それぞれ特有の遺伝子発現制御によって支配されていることが明らかになった。

このような解析の結果、栄養状態が悪くなったときに肝臓で IGFBP-1 の mRNA が特に増加することに注目し、IGFBP-1 遺伝子の転写の調節の解析を行った。まず nuclear run-on assay の結果、この mRNA の増加は転写速度の著しい上昇によるものであることを証明した (図 6)⁽⁹⁾。このように、タンパク質栄養状態によって特定の情報伝達系の遺伝子の発現に明確な影響があることが証明されたのは例のまれなことであろう。

なお、IGF-I のレセプターの状態に及ぼす栄養条件の影響の解析も行い、栄養条件が悪くなると、一般に

12% カゼイン食

12% グルテン食

無タンパク質食

図 6 肝臓の核での IGFBP-1 遺伝子の転写活性に及ぼす食餌タンパク質の影響
ラットに 12% カゼイン食、12% グルテン食、および無タンパク質食を与え、1 週間後に肝臓の核を採り、IGFBP-1 遺伝子の転写活性を nuclear run-on assay 法により測定した。無タンパク質食を摂取したラットで、転写活性が著しく上昇していることがわかる。

各組織での IGF-I レセプターの量やその mRNA 量は、増加する傾向があることも証明されている⁽¹⁵⁾。

8. IGF-I, IGFBPs に関連したその他の発見

以上の研究の過程で、主題以外にもいくつかの発見をすることができた。その 2, 3 を紹介したい。

まず、肝臓における IGFBP-3 の合成であるが、これは非実質細胞で行われることを証明することができた⁽¹⁶⁾。初代培養肝細胞は、多くの場合肝実質細胞を培養する目的で行われ、そのため非実質細胞を調製の過程で除去する処置をする。in vivo で調べると、IGFBP-3 の mRNA は肝臓でよく発現しているが、初代培養肝細胞ではほとんど発現が見られなかった。世界的にこの現象は不可思議とされ、おそらく IGFBP-3 の mRNA が不安定なのであろうなどといった推定が行われていた。われわれの研究室で、非実質細胞の培養を試みたところ、そこに特異的に IGFBP-3 の mRNA が発現していることが発見され、新しい概念を提示することができた。

また、IGF-I の mRNA は、分子サイズの異なる多くの分子種が存在するが、現在この違いはおもに 3' 末端側の転写終結点の選択によるものとの知見が確定している。IGF-I mRNA の分子サイズの違いの主たる理由は転写終結点の違いであることを推定させる最初の証拠を提出したのもわれわれの研究グループであった^(17, 18)。

9. その後の研究の展開

以上の研究を基盤にその後も多くの研究を展開している。まず、栄養条件と IGFBP-1 遺伝子の発現制御については、食餌のアミノ酸に応答する遺伝子領域の同定に成功し、この遺伝子の転写制御の分子機構に迫りつつある状況である。

一方、食餌条件によってこのように制御されていることが明らかにされた血中因子の変化に応じて、その信号を受ける側の応答、例えば骨格筋におけるタンパク質合成活性の状態との相関も解析され、IGF-I および IGFBP-1 などの因子を考慮すると、骨格筋のタンパク質代謝の変動がよく説明できることも証明された。

また、IGF-I の信号伝達経路の解析も行われ、他のホルモンとのクロストークなどに成果があがっている⁽¹⁹⁾。

IGF-I というホルモンがタンパク質代謝において重

要な意義をもっていることを証明することができて、タンパク質代謝の概念は大きく進歩したと考えている。

タンパク質代謝、タンパク質栄養に関する現象は、今後さらに分子レベルで詳細に解析され、その結果が高齢化社会を迎えるわが国民の健康の維持・増進に貢献することを確認している。高等動物の分子生物学が急速に発展を遂げている現代、この分野での研究に従事し、分子栄養学という新しい分野が開拓される場面で活動することができることは、筆者が研究を始めた頃は想像すらできなかった。研究者として喜びは大きい。

筆者が東京大学農学部の栄養化学・家畜飼養学研究室で恩師 故神立 誠先生のご指導のもとにタンパク質代謝の研究を始めてから約 40 年が経過した。その間の、神立先生のご教導、お励ましくしては本研究がなかったことはいうまでもない。平成 10 年秋に日本農芸化学会が筆者を日本農学賞の候補者としてご推薦下さったとき、先生は大変喜んで下さった。受賞の日にご尊顔を拝することができなかったことは悔やまれてならない。その後、当研究室におけるタンパク質代謝研究は、故亀高正夫先生、内藤 博先生と継承され平成元年から筆者が担当となって今日に至っている。両先生にも、多大のご指導をいただいた。記して深謝の意を表したい。また、東京農工大学名誉教授船引龍平先生には、筆者の学生時代以来、一方ならぬご指導をいただいた。厚く御礼を申し上げます。筆者は、30 歳代の一時期を岩手大学で過ごさせていただいた。その間、晴山信一先生をはじめ皆様に多くのご指導ご鞭撻をいただき、今日のタンパク質代謝に関する問題意識を養うことができた。感謝の気持ちで一杯である。

一つの研究を推進するについては、非常に多くの方々のご指導、ご支援をいただいていることを実感するこの頃である。お一人お一人お名前を挙げないが、今日までご指導下さりまたご支援いただいた皆様に心から御礼を申し上げる次第である。

最後に、本研究に対する栄養は、筆者の研究室に所属して本研究の推進にあたり、苦楽を共にした多くの職員や大学院生、学生の皆さんと分かち合うべきものであることを記して感謝の意を表したい。

- (1) S.-I. Takahashi, H. Kato, T. Seki, A. Takahashi, T. Noguchi, and H. Naito: *Int. J. Biochem.*, **20**, 1369-1380 (1988).
- (2) S.-I. Takahashi, H. Kato, A. Takahashi, T. Noguchi, and H. Naito: *Int. J. Biochem.*, **19**, 401-412 (1987).
- (3) 野口 忠: "タンパク質代謝と IGF-I", 分子栄養学概論, 田中武彦, 野口 忠, 武藤泰敏責任編集, 建帛社, 東京, 1996, pp. 101-125.
- (4) S. Takahashi, M. Kajikawa, T. Umezawa, S.-I. Takahashi, H. Kato, Y. Miura, T. J. Nam, T. Noguchi, and H. Naito: *Brit. J. Nutr.*, **63**, 521-534 (1990).
- (5) T. J. Nam, T. Noguchi, R. Funabiki, H. Kato, Y. Miura, and H. Naito: *Brit. J. Nutr.*, **63**, 515-520 (1990).
- (6) 野口 忠, 竹中麻子, 高橋伸一郎: 日本畜産学会報, **65**, 152-164 (1994).
- (7) R. G. Rosenfeld and C. T. Roberts, Jr. (eds.): "The IGF System, Molecular Biology, Physiology, and Clinical Applications," Humana Press, Totowa, New Jersey, 1999.
- (8) Y. Miura, H. Kato, and T. Noguchi: *Brit. J. Nutr.*, **67**, 257-265 (1992).
- (9) Y. Miura, Y. Uchijima, S.-I. Takahashi, and T. Noguchi: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 358-359 (1993).
- (10) T. Umezawa, Y. Ohsawa, Y. Miura, H. Kato, and T. Noguchi: *Brit. J. Nutr.*, **66**, 105-116 (1991).
- (11) Y. Miura, Y. Higashi, H. Kato, S.-I. Takahashi, and T. Noguchi: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **56**, 1396-1400 (1992).
- (12) Y. Uchijima, A. Takenaka, S.-I. Takahashi, and T. Noguchi: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**, 1503-1515 (1995).
- (13) A. Takenaka, M. Hirose, M. Mori, S. Yamada, Y. Miura, H. Kato, S.-I. Takahashi, and T. Noguchi: *Brit. J. Nutr.*, **69**, 73-82 (1993).
- (14) A. Takenaka, M. Mori, J. Ohgane, S.-I. Takahashi, and T. Noguchi: *J. Endocrinol.*, **150**, 33-41 (1996).
- (15) A. Takenaka, S.-I. Takahashi, and T. Noguchi: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **42**, 347-357 (1996).
- (16) A. Takenaka, Y. Miura, M. Mori, M. Hirose, H. Kato, and T. Noguchi: *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 1191-1193 (1991).
- (17) H. Kato, A. Takenaka, Y. Miura, M. Nishiyama, and T. Noguchi: *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2225-2230 (1990).
- (18) H. Kato, A. Okoshi, Y. Miura, and T. Noguchi: *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1599-1601 (1990).
- (19) T. Koide, Y. Ono, Y. Ito, M. Akahori, T. Nedachi, F. Hakuno, A. Takenaka, S.-I. Takahashi, and T. Noguchi: *Endocrine J.*, **45**, 151-163 (1998).