

インスリン様成長因子 I の活性制御に関する分子栄養学的研究

竹中麻子 (山形大学 農学部)

takenaka@tds1.tr.yamagata-u.ac.jp

本研究では、食餌中のタンパク質の量や栄養価の変化にตอบสนองしてインスリン様成長因子結合タンパク質-1 (IGFBP-1) の合成量が変化することを見出し、その結果体タンパク質同化活性をもつインスリン様成長因子 -I (IGF-I) の活性が制御される可能性を示した。また、タンパク質栄養状態の変化にตอบสนองした IGFBP-1 遺伝子発現制御に必要な IGFBP-1 遺伝子上の応答領域を同定した。

1. はじめに

食餌から摂取するタンパク質の量あるいは栄養価の違いは、生体にさまざまな変化を引き起こす。特に、低タンパク質栄養状態における体タンパク質の異化の亢進は古くから知られている現象である。この現象には、インスリン様成長因子 I (IGF-I) という内分泌因子が関与していることが明らかになってきた。

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あり、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。食餌から摂取するタンパク質の量・栄養価の変動によって肝臓における IGF-I の合成量や血中濃度が増減すること、また IGF-I が体タンパク質同化活性をもつことが示されたことから、こうした IGF-I のタンパク質同化活性の変動が、食餌条件にตอบสนองした体タンパク質代謝状態の変化を引き起こすと考えられてようになってきた。

一方で IGF-I の活性発現には複雑な制御機構が存在することも明らかとなってきた。こうした背景から、本研究では IGF-I の活性発現に関わる IGF-I のレセプターや IGF 結合タンパク質 (IGFBP) の生合成にタンパク質栄養状態が及ぼす影響について検討した。

2. タンパク質栄養状態による IGF-I レセプター合成の制御

食餌タンパク質量が制限されている状態では IGF-I を投与しても成長促進作用が見られないことから、こうした状態では何らかの機構で IGF-I の作用が阻害されていると考えられる。IGF-I は、標的組織において特異的レセプターを介して作用することから、タンパク質栄養状態が IGF-I レセプターの生合成に与える影響について検討した。

無タンパク質食あるいは栄養価の低いタンパク質食を摂取した際の、ラットの各組織における IGF-I レセプター mRNA 量および IGF-I 結合量を調べた。その結果、タンパク質栄養状態の悪化によって、各組織の IGF-I レセプター mRNA 量および IGF-I 結合量は変化しないか、組織によってはむしろ増加していることが明らかとなった¹⁾。これらの結果から、タンパク質栄養状態の悪化に伴う IGF-I 活性の低下には、IGF-I レセプターの合成および発現量のレベルでの寄与はほとんどないと考えられた。

3. タンパク質栄養状態による IGFBP 合成の制御

体液中には IGF-I と結合する IGF 結合タンパク質 (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ことによって、IGF-I の活性制御に重要な役割を果たしている。そこで、血中の主要な IGFBP であると考えられている IGFBP-1? IGFBP-4 について、その生合成量および血中濃度がタンパク質栄養状態によってどのように制御されているのかについて検討した。

血中で大部分の IGF-I と結合している IGFBP-3 濃度は、タンパク質栄養状態の悪化に伴って減少し、リガンドである IGF-I と同様の変動を示した。逆に IGFBP-1、IGFBP-2 はタンパク質栄養状態の悪化に伴って血中濃度および肝臓中の mRNA 量が増加する傾向が見られ、特に IGFBP-1 で顕著であった^{2, 3)}。また、必須アミノ酸を一種類欠乏させた栄養価の低いタンパク質を摂取したラットでは肝臓中の IGFBP-1 mRNA 量の増加や血中濃度の増加はみられず、一方でタンパク質の量の低下には良く応答することが明かとなった⁴⁾。タンパク質栄養状態の悪化によって大幅に増加した IGFBP-1 は、IGF-I と結合して不活性型の複合体となり速やかに血中から消失していく、あるいは活性型の free IGF-I が IGFBP-1 と結合して不活性型になる、といった機構によって IGF-I の活性低下を引き起こすと考えられる⁵⁾。血中 IGFBP-1 濃度の増加は、糖尿病、グルココルチコイド過剰投与といった、体タンパク質同化活性が著しく低下する条件下で共通してみられ、IGFBP-1 が IGF-I の活性制御において重要な役割をもつ可能性を示している。

4. タンパク質・アミノ酸栄養による IGFBP-1 遺伝子の発現制御機構

タンパク質栄養状態の悪化に伴う IGFBP-1 の血中濃度の増加は、血中 IGFBP-1 の主要産生器官である肝臓における転写活性の増加によることも明らかとなった。7日間の無タンパク質の摂取によりラット肝臓中の IGFBP-1 mRNA 量は 5? 6 倍に増加し、このとき IGFBP-1 遺伝子の転写速度も 3 倍程度増加していた (図 1)。さらに肝臓の培養細胞において、培地中のアミノ酸を除去することによっても IGFBP-1 遺伝子発現が誘導されることが示され、肝臓細胞が「アミノ酸量の不足」に直接応答して IGFBP-1 遺伝子の転写を増加させていることが明らかとなった⁶⁾。

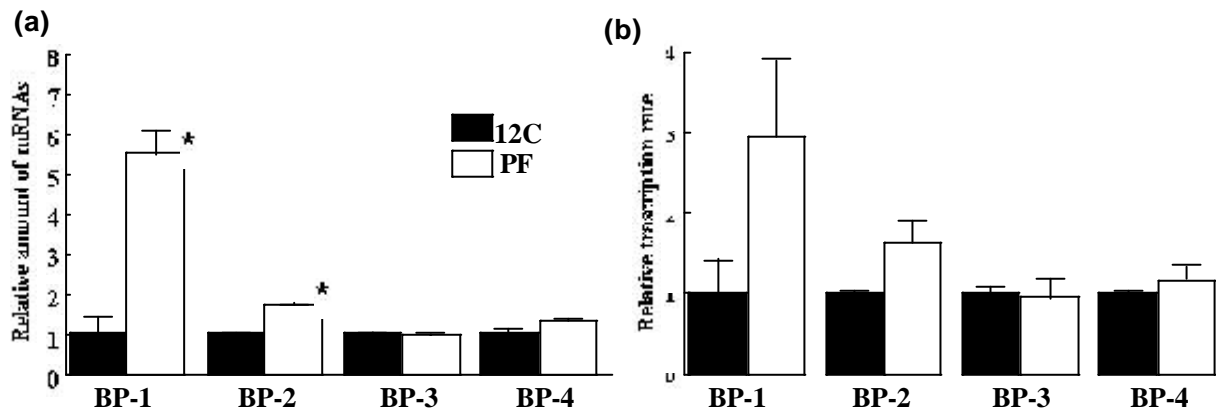


図 1 無タンパク質食を摂取したラットにおける肝臓の IGFBP-1 ~ IGFBP-4 mRNA 量および転写速度の変化 :

成長期の Wistar 系雄ラットにタンパク質として 12% カゼインを含む飼料 (12C) およびタンパク質を含まない飼料 (PF) を 7 日間与え、8 日目の肝臓中の各 IGFBP mRNA 量を Northern blotting により (a)、転写速度を Nuclear run-on assay により (b) 測定した。 (* $p < 0.01$)

IGFBP-1 遺伝子の発現は数種ホルモンによって調節されることが知られており、中でもインスリンによる転写抑制とグルココルチコイドによる転写促進に関して報告が多い。また、肝臓特異的な転写因子である hepatocyte nuclear factor-1 (HNF-1) が主要な転写促進活性を持つことが分かっている。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 120bp 程度に集中しており、インスリン応答配列 (IRE) と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して存

在している。

そこで、培地中のアミノ酸量の変化に応答して肝臓細胞中の IGFBP-1 遺伝子の転写活性の変動を引き起こす、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、培地中のアミノ酸量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)。このアミノ酸応答領域は、IRE と GRE とほぼ同位置に存在していた。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 b)。これら一連の結果から、BP-1 遺伝子上に存在するアミノ酸応答領域は、IRE-GRE を含む約 35bp に存在すると考えられた⁶⁾。

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およびアミノ酸欠乏刺激により正の発現制御をう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ても、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。従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の濃度変化を介さずに、IRE-GRE のきわめて近くに存在する応答領域に到達するものと考えられる⁷⁾。

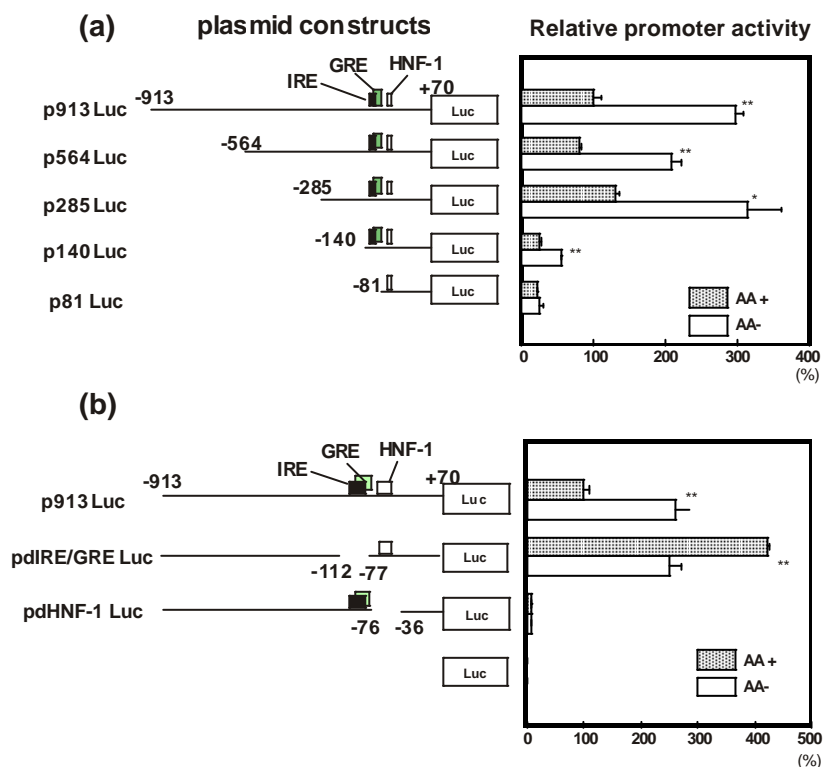


図2 培地中のアミノ酸量の変化に応答したIGFBP-1遺伝子プロモーター活性の変動：
 図左側に示すプラスミドをHuH-7細胞に導入し、アミノ酸を含む (AA+) あるいは
 含まない (AA-) 培地で24時間培養後のプロモーター活性を測定した。IRE、インスリン
 応答配列；GRE、グルココルチコイド応答配列；HNF-1、HNF-1結合領域

本研究では、IGF-I および IGFBP がタンパク質栄養状態に応じて体タンパク質代謝を制御する内分泌因子である可能性を示した。このことは、食餌中のタンパク質・アミノ酸栄養の情報を生体が内分泌シグナルに変換するモデルとして、IGF-I およびその関連因子は有用な研究対象であることを示している。

謝辞

一連の研究は、東京大学大学院農学生命科学研究科栄養化学研究室で行われたものです。研究の機会を与えていただき、終始御指導いただきました東京大学名誉教授 野口忠先生（現：中部大学教授）に心から感謝いたします。また、この間ご指導いただいた諸先生方と栄養化学研究室における多くの共同研究者に、厚く御礼申し上げます。さらに、現在の研究に御協力、御助言いただいている山形大学農学部の五十嵐喜治先生と山形大学農学部生物資源学科食品栄養化学研究室の卒業生、在校生諸氏にも御礼申し上げます。本農学進歩賞に御推薦くださいました山形大学農学部長・佐々武史先生ならびに諸先生方に深く感謝いたします。

引用文献

- 1) Takenaka, A., Takahashi, S.-I. and Noguchi, T. 1996. Effect of protein nutrition on insulin-like growth factor-I (IGF-I) receptor in various tissues of rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 42: 347-357.
- 2) Takenaka, A., Hirose, M., Mori, M., Takahashi, S.-I. and Noguchi, T. 1993. Effect of protein nutrition on the mRNA content of insulin-like growth factor-I in liver and kidney of rats. *Brit. J. Nutr.* 69: 73-82.
- 3) Takenaka, A., Mori, M., Yamada, S., Ohgane, J., Takahashi, S.-I. and Noguchi, T. 1996 Nutritional regulation of gene expression of insulin-like growth factor-binding proteins and the acid labile subunit in various tissues of rats. *J. Endocrinol.* 150: 33-41.
- 4) Takenaka, A., Oki, N., Takahashi, S.-I. and Noguchi, T. 2000 Dietary restriction of single amino acids reduces plasma insulin-like growth factor-I (IGF-I) but does not affect plasma IGF-binding protein-1 in rats. *J. Nutr.* 130: 2910-2914.
- 5) 竹中麻子 栄養状態とインスリン様成長因子 (1998): 日本農芸化学会誌、72(2)、180-184.
- 6) Takenaka, A., Komori, K., Morishita, T., Takahashi, S.-I. and Noguchi, T. 2000 Amino acid regulation of gene transcription of rat insulin-like growth factor-binding protein-1. *J. Endocrinol.* 164: R11-R16.
- 7) 竹中麻子 タンパク質・アミノ酸による IGFBP-1 遺伝子の発現制御 (1998): 日本農芸化学会誌、72(9)、53-55.

Regulation of IGF-I Activity by Protein Nutrition

Asako Takenaka (Yamagata University, Faculty of Agriculture)

takenaka@tds1.tr.yamagata-u.ac.jp