

初代培養肝細胞における脂肪酸合成系酵素に対するアミノ酸の影響

EFFECTS OF AMINO ACID COMPOSITION ON THE INDUCTION OF LIPOGENIC ENZYMES IN CULTURED HEPATOCYTES

入谷信子・福田ひとみ・桂田昭彦（帝塚山学院短期大学）
田中武彦（大阪大学医学部）

Nobuko IRITANI¹, Hitomi FUKUDA¹, Akihiko KATSURADA¹ and Takehiko TANAKA²

¹Tezukayama Gakuin College, Sakai 590-01

²Osaka University Medical School, Osaka 530

ABSTRACT

Effects of essential and non-essential amino acids on induction of lipogenic enzymes were investigated in primary cultured hepatocytes of rats. Acetyl-CoA carboxylase and malic enzyme were slightly induced by the addition of essential and/or non-essential amino acids. However, glucose-6-phosphate dehydrogenase was markedly induced by the addition of essential amino acids alone to the culture medium, but was not induced by non-essential amino acids. Fatty acid synthetase was also markedly induced by a combination of both amino acid types (more than by either of amino acid alone). These results support that glucose-6-phosphate dehydrogenase and fatty acid synthetase were more protein-dependent than the other enzymes in the study of the whole animals [Katsurada, A. et al., *Biochim. Biophys. Acta* (1986) **877**, 350-358]. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **9**, 33-36, 1988.

先にラットを用いた実験で脂肪酸合成系酵素の誘導が食餌たん白質の種類により異なり、大豆たん白食ではカゼイン食に比べて、その酵素誘導が著明に抑制されることを見出した¹⁾。すなわち、脂肪酸合成の初発酵素である acetyl-CoA carboxylase, 炭素鎖の elongation を行う fatty acid synthetase, その時に NADPH を供給する G6PDH (glucose-6-phosphate dehydrogenase), malic enzyme など一連の酵素が著明に減少していた。また、たん白をアミノ酸におきかえると、これらの酵素誘導が全体として70~80%に低下した。一方、血漿、肝中のトリグリセリドレベルがたん白でもアミノ酸でも大豆群ではカゼイン群より有意に低下していた。さらに、個々のアミノ酸の影響をしらべる時、動物実験では食餌中のアミノ酸を増減すると

食欲に関係し、実験がかなり制限される。そこで今回は初代培養肝細胞を用いて脂肪酸合成系酵素の誘導に対するアミノ酸の影響を研究した。

実験方法

無脂肪高糖食で飼育したラットを用い、collagenase 灌流法により肝細胞を得、常法により24時間 plating した後、実験用の培地に交換した。すなわち、ビタミンと塩類のみのアール培地にアミノ酸の種類を変えて添加した。添加する量は標準的な DM 160 培地に準じた。翌日もう一度培地交換して1日後、すなわち、細胞を実験培地で48時間培養した後、105,000×g 上清液中の酵素活性の測定および dot-blot hybridization により mRNA 量の測定を行った²⁾。

結果と考察

Fig. 1 に塩類とビタミン類のみを含むアール培地に必須アミノ酸のみ、または非必須アミノ酸のみ、あるいはその両方を加えた時の酵素活性を示した。これら3群の総アミノ酸量は同じである。G6PDH 活性は、必須アミノ酸のみの添加で無添加の約2倍に上昇し、必須と非必須の両方を加えたものと同じレベルまで上昇した。しかし、非必須アミノ酸のみでは上昇せず、G6PDH の誘導には必須アミノ酸が必要であることが分かった。一方、malic enzyme と acetyl-CoA carboxylase では必須、非必須アミノ酸で誘導に差はなく、両方を添加したものと同じレベルで、必須アミノ酸の必要性はみとめられなかった。fatty acid synthetase は、両方のアミノ酸を加えたものに比べて必須アミノ酸のみで68%、非必須アミノ酸のみで52%で、この酵素の誘導には必須、非必須アミノ酸の両方が必要であることが示唆された。先に、動物実験で acetyl-CoA carboxylase と malic enzyme は糖依存

性が強く、G6PDH と fatty acid synthetase はたん白依存性が強いことを見出したが、これらの結果はそれを支持するものである。

つぎに、たん白依存性の強い G6PDH と fatty acid synthetase について、必須アミノ酸から各アミノ酸をぬいた時の酵素誘導をしらべた (Fig. 2)。G6PDH 活性はメチオニンをぬいた時、70%の誘導にとどまった。また、fatty acid synthetase では、メチオニンの他、ロイシン、フェニルアラニン、バリンをぬくとその誘導が低下した。このように必須アミノ酸の中でもメチオニンは両酵素の誘導に関与することが示唆された。また、acetyl-CoA carboxylase 活性はメチオニンをぬくと対照の80%あまり、malic enzyme の誘導も80%であった (Fig. 3)。malic enzyme mRNA 量もほぼ同じであった。acetyl-CoA carboxylase や malic enzyme ではメチオニンを除いたことによる酵素誘導の抑制はあまり大きくなかった。一方、システインを培地からぬいた時と逆に2倍添加した時の効果について比べた (Fig. 4)。G6PDH と malic enzyme につい

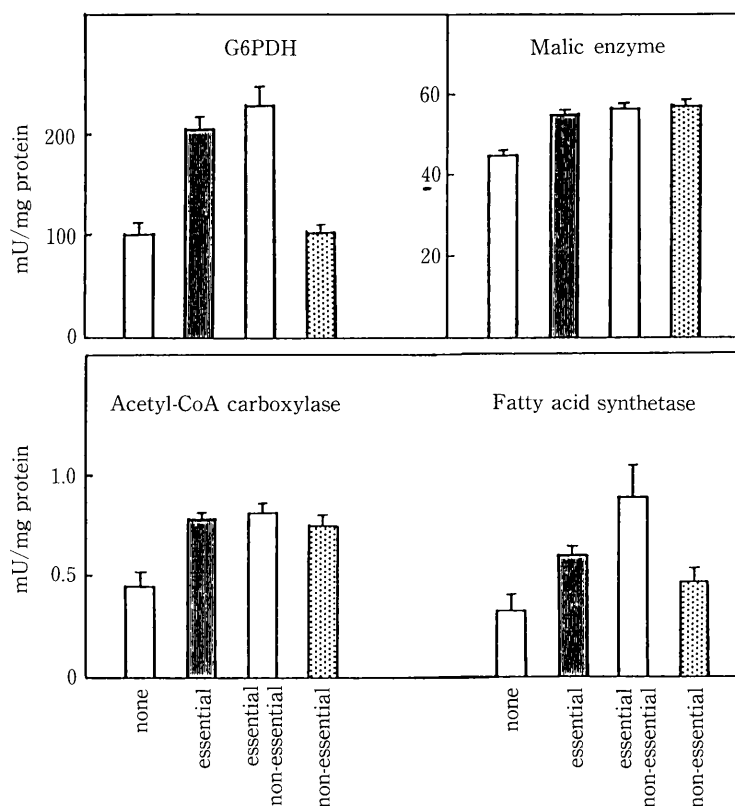


Fig. 1. Effects of amino acids on lipogenic enzyme inductions in cultured hepatocytes.

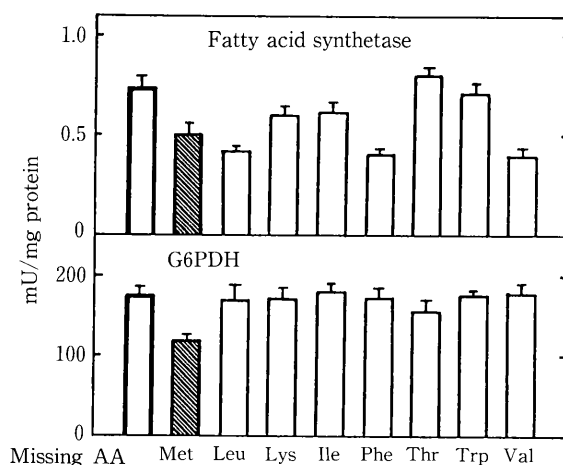


Fig. 2. Effects of removal of individual amino acid in cultured hepatocytes.

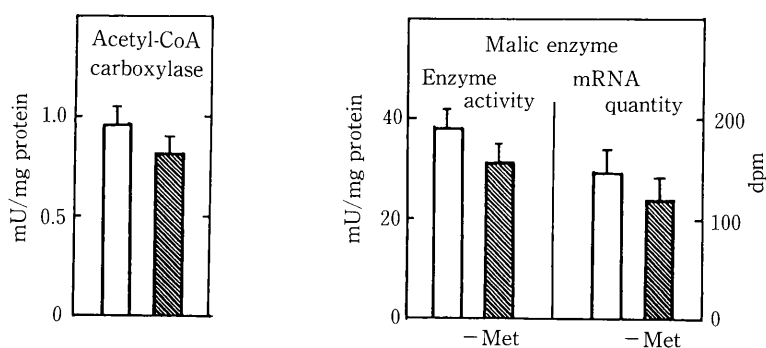


Fig. 3. Effect of methionine removal of lipogenic enzyme induction in cultured hepatocytes.

てはシステインをぬいても対照群と同じで変らなかったが、システインを2倍量添加するとG6PDHでは40%に、malic enzymeでは60%に減少した。この時malic enzyme mRNA量も約60%で、酵素活性と連動していた。なお、システイン添加による細胞のviabilityへの影響はみとめられなかった。システインはメチオニンの代謝産物であるのに脂肪酸合成系酵素の誘導に対して逆方向に作用するのは興味深い。また、acetyl-CoA carboxylaseとfatty acid synthetaseの誘導はシステインをぬいても対照と変らなかった。システインを2倍量添加するとacetyl-CoA carbox-

ylaseは有意に低下しなかったが、fatty acid synthetaseでは70%に減少した。

以上、初代培養肝細胞を用いた実験でメチオニンはG6PDHとfatty acid synthetaseの誘導に、またシステインはその抑制に効果があることが分った。また、G6PDHとfatty acid synthetaseの誘導は必須アミノ酸要求性であり、動物実験でたん白依存性であったことを支持するものであった。一方、acetyl-CoA carboxylaseとmalic enzymeの誘導はアミノ酸要求性が弱く、動物実験で糖依存性が強いことを支持するものであった。

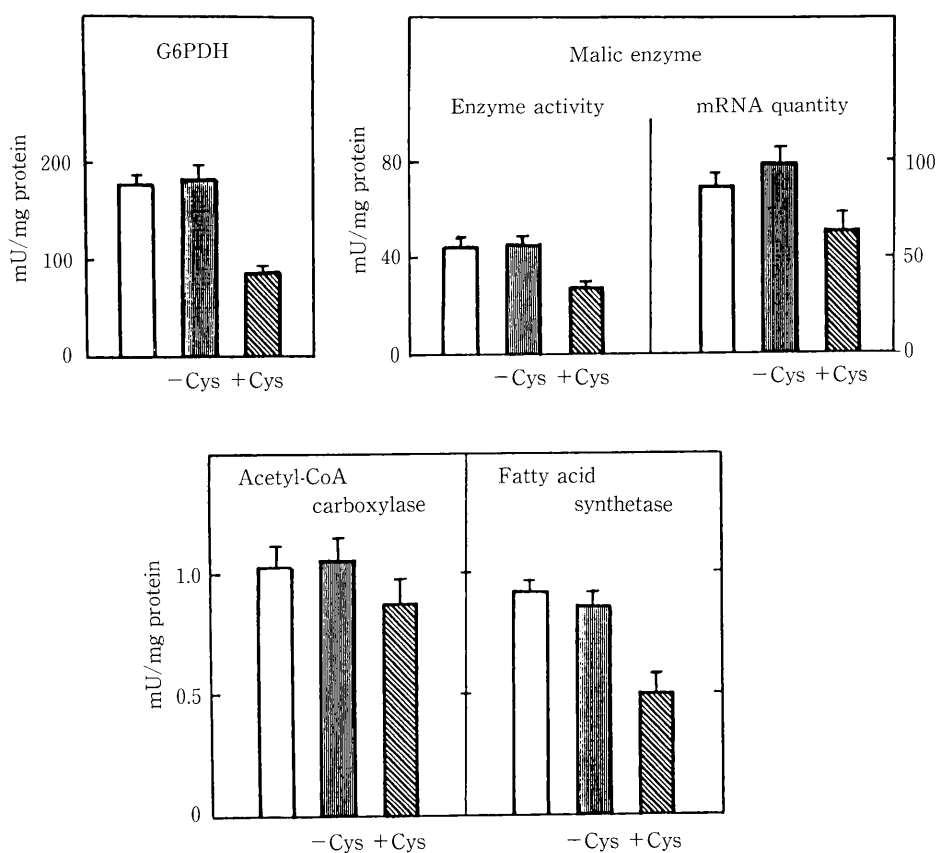


Fig. 4. Effect of cysteine on lipogenic enzyme induction in cultured hepatocytes.

文 献

- 1) Iritani, N., Nagashima, K., Fukuda, H., Katsurada, A. and Tanaka, T. (1986): Effects of dietary proteins on lipogenic enzymes in rat liver. *J. Nutr.*, **116**, 190-197.
- 2) Katsurada, A., Iritani, N., Fukuda, H., Noguchi, T. and Tanaka, T. (1986): Effects of dietary nutrients on lipogenic enzyme and mRNA activities in rat liver during induction. *Biochim. Biophys. Acta*, **877**, 350-358.