

## 一連の肝脂肪酸合成系酵素の mRNA 量に及ぼす食餌たん白質の影響

EFFECTS OF DIETARY PROTEIN ON mRNA LEVELS OF LIPOGENIC ENZYME SET IN LIVER

入谷信子・西本真美・福田ひとみ・桂田昭彦・松村羊子（帝塚山学院短期大学）

田中武彦（大阪大学医学部）

Nobuko IRITANI<sup>1</sup>, Naomi NISHIMOTO<sup>1</sup>, Hitomi FUKUDA<sup>1</sup>, Akihiko KATSURADA<sup>1</sup>, Yohko MATSUMURA<sup>1</sup> and Takehiko TANAKA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tezukayama Gakuin College, Sakai 590-01

<sup>2</sup>Osaka University Medical School, Osaka 530

### ABSTRACT

To investigate the effects of dietary protein on gene expression for lipogenic enzymes, the mRNA inductions were examined after feeding various protein (fat-free) diets to fasted rats. By feeding a carbohydrate diet (without protein), the transcriptional rate, mRNA concentration and enzyme induction of acetyl-CoA carboxylase were similarly increased to the levels in the carbohydrate/protein diet. It appears that protein-feeding is not necessary to induce acetyl-CoA carboxylase. In the animals the transcriptional rates and mRNA concentration of malic enzyme were increased to the levels in the carbohydrate/protein diet, whereas the enzyme induction was increased only to 60%. Protein appears to contribute to an increase in the translation of malic enzyme. Both carbohydrate and protein were required to induce fatty acid synthase and glucose-6-phosphate dehydrogenase, primarily at the transcription. The mRNA inductions of these enzymes were significantly lower in the zein and gluten groups than in the casein group. Supplement of lysine and tryptophan to zein, the mRNA inductions were significantly increased. Thus, it may be possible that Lys and Trp are involved in fatty acid synthase and glucose-6-phosphate dehydrogenase inductions before the translation. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **11**, 35-38, 1990.

哺乳動物での脂肪の合成は主として肝で行われるが、その律速段階は脂肪酸の合成にある。肝の脂肪酸合成は、まず acetyl-CoA carboxylase (ACC) により、acetyl-CoA から malonyl-CoA が合成され、次に fatty acid synthase (FAS) により長鎖の脂肪酸が合成される。この時に必要な NADPH が glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) や malic enzyme (ME) によって供給される。これら一連の酵

素は脂肪酸合成系酵素と呼ばれ、従来から酵素レベルの調節が研究されてきたが、遺伝子レベルでの調節はまだあまり明らかでない。それを明らかにする目的で私達は、これら4つの酵素すべての cDNA をクローニングし、遺伝子発現の調節機構を研究している。

一方、これらの脂肪酸合成系酵素の誘導がグルテンや大豆などの植物たん白の摂取によりカゼインや魚たん白より著明に低下し、また血液、肝トリグリセリド

値も低下する事を見出し、先に報告した<sup>1,2)</sup>。その機構を解明するために今回は本酵素系の mRNA レベルに対する食餌たん白質の影響を調べた。

## 実験方法

5週齢 Wistar 系雄ラットを2日絶食させた後、無脂肪高糖食を投与したが、転写速度は6時間後、mRNA 量は16時間後に、酵素活性の測定は3日後に屠殺して行った。

### 酵素活性の測定

肝ホモジネート105,000 g 上清液を用いて malic enzyme (EC 1.1.1.40) はOchoa<sup>3)</sup>の方法で、glucose-6-phosphate dehydrogenase (EC 1.1.1.49) は Glock<sup>4)</sup>の方法で、fatty acid synthase は Hsu<sup>5)</sup>の方法で測定した。acetyl-CoA carboxylase (EC 6.4.1.2) は Nakanishi<sup>6)</sup>の方法で10 mM citrate で最大活性を測定した。これらの酵素活性はすべて immunochemical titration により酵素量の指標になる事を確認してある。

### mRNA の定量

急冷凍したラット肝より Chirgwin<sup>7)</sup>の方法で mRNA を調製し、formamide 処理で変性させ、20  $\mu$ g を nylon filter に固定した。<sup>32</sup>P でラベルした cDNA を用いて dot-blot hybridization 法により mRNA 量を定量した<sup>8)</sup>。

### 転写速度の測定

転写速度の測定と核の調製は主として Lamers<sup>9)</sup>の方法によった。核 (30 units at 260 nm) を100-200  $\mu$ Ci の [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P] UTP とともに incubate し、ラベル

された RNA を抽出した。これを cDNA を固定した filter と hybridize させ、洗浄後 autoradiography を行い densitometer で測定した。

## 結果と考察

絶食ラットに85%糖質の無たん白食を投与した時の ACC, FAS, ME, G6PDH の転写速度, mRNA 量, 酵素活性をたん白質を含む無脂肪高糖食を投与した時と比較した。Fig. 1 に示したが、ACC は糖質のみの食餌で、転写速度, mRNA 量, 酵素誘導にいたるまで糖質+たん白食と同じレベルにまで上昇した。したがって ACC の誘導には糖質のみの摂取で充分でたん白質の摂取を必要としない事が示唆された。また ME は mRNA までは糖質のみの摂取で糖質+たん白食群のレベルにまで上昇し、たん白質の摂取は翻訳に必要な事が示唆された。しかし、G6PDH と FAS の mRNA と酵素の誘導は糖質のみの摂取では充分に上らず、糖質とたん白質の摂取が必要であった。そして G6PDH は糖よりたん白依存性が強く、食餌たん白質の影響を他の酵素より受けやすいことが示唆された。

Figs. 2-4 に FAS, G6PDH の mRNA 量と酵素誘導に対する食餌たん白質の影響を示した。ACC の誘導は食餌たん白質による影響をうけないので省略した。ME では mRNA 量はいずれのたん白質でも差がないが、酵素誘導は大豆たん白、ゼイン、グルテンで低かった。FAS と G6PDH は mRNA 量と酵素誘導がほぼ連動し、植物たん白群で低かった。

次に、食餌に制限アミノ酸をカゼインとの差の2～4倍分を補足した。大豆に Met, ゼインに Lys, グル

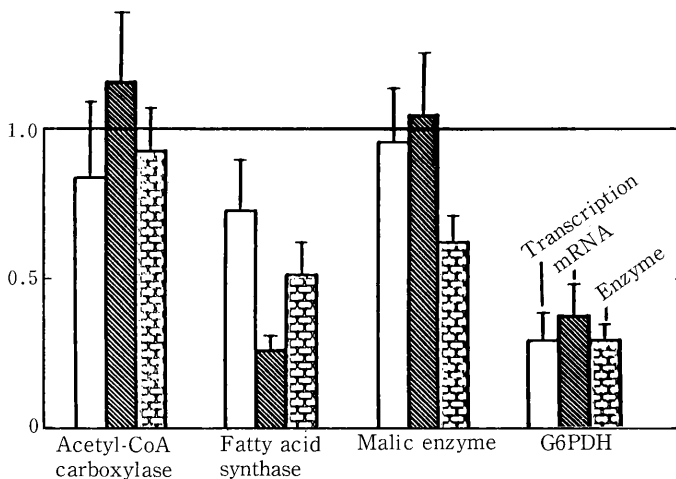


Fig. 1. Relative values in feeding carbohydrate/carbohydrate-protein.

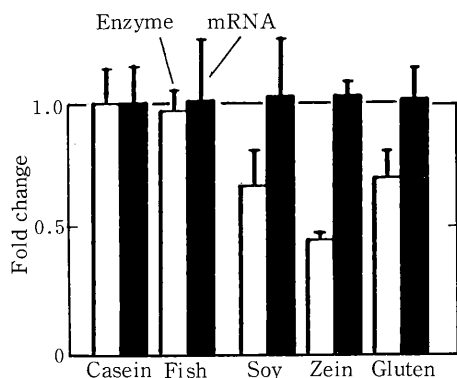


Fig. 2. Effects of protein sources on the enzyme and mRNA levels of malic enzyme.

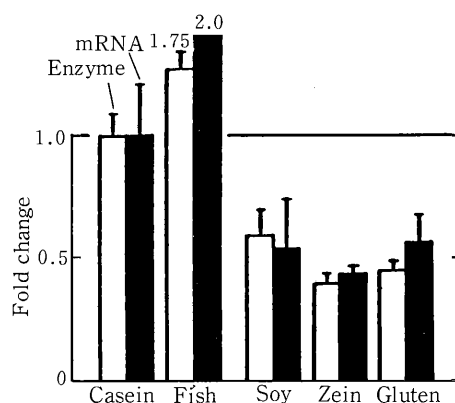


Fig. 3. Effects of protein sources on the enzyme and mRNA levels of glucose-6-phosphate dehydrogenase.

テンに Thr を補足しても著明な効果がみられなかった。Lys, Trp の補足で G6PDH と FAS の mRNA 量が有意に上昇したことから、Lys, Trp はこれらの酵素の転写速度か mRNA の安定性に何らかの関与をしている事が示唆された (Figs. 5, 6)。また Met にもその傾向がみられたが著明でなかった。

以上、アミノ酸が脂肪酸合成系酵素の転写速度か mRNA の安定性などに何らかの関与をする可能性が示唆された。

## 文 献

- 1) Iritani, N., Nagashima, K., Fukuda, H., Katsurada, A. and Tanaka, T. (1986): Effects of

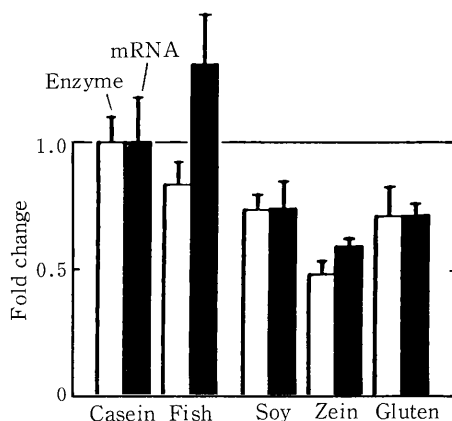


Fig. 4. Effects of protein sources on the enzyme and mRNA levels of fatty acid synthetase.

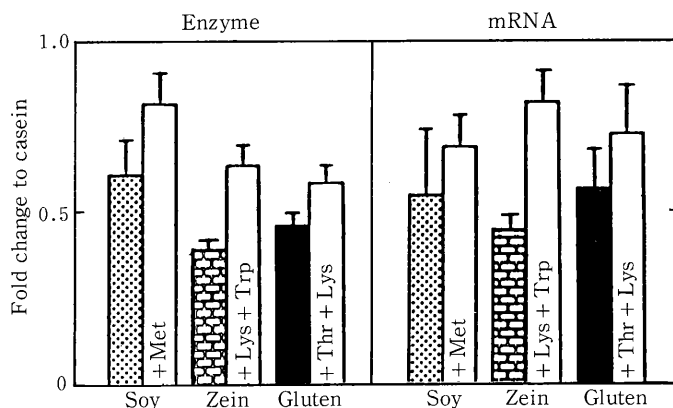


Fig. 5. Effect of amino acid supplement on glucose-6-phosphate dehydrogenase induction.

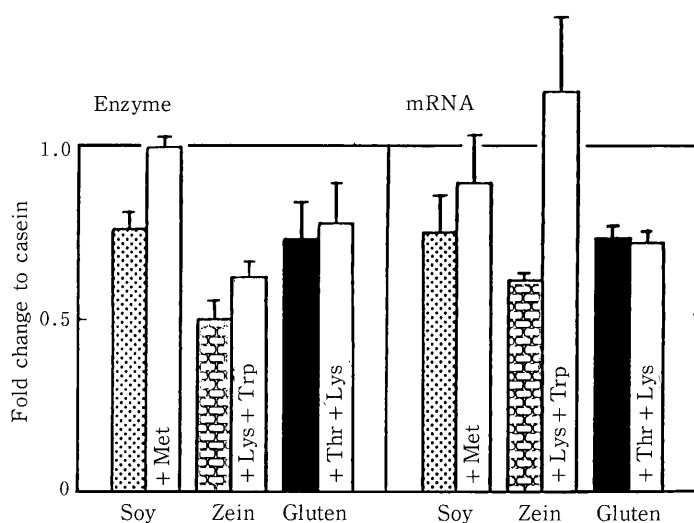


Fig. 6. Effect of amino acid supplement on fatty acid synthetase induction.

dietary protein on lipogenic enzymes in rat liver. *J. Nutr.*, **116**, 190-197.

- 2) Iritani, N., Suga, A. Fukuda, H., Katsurada, A. and Tanaka, T. (1988): Effects of dietary casein and soybean protein on triglyceride turnover in rat liver. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **34**, 309-315.
- 3) Ochoa, S. (1955): Malic enzyme. *Methods Enzymol.*, **1**, 739-753.
- 4) Glock, G. E. and McLean, P. (1953): Further studies on the properties and assay of glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase of rat liver. *Biochem. J.*, **55**, 400-408.
- 5) Hsu, R. Y., Butterworth, P. H. W. and Porte, J. W. (1969): Pigeon liver fatty acid synthetase. *Methods Enzymol.*, **14**, 33-39.
- 6) Nakanishi, S. and Numa, S. (1970): Purification of rat liver acetyl-coenzyme A

carboxylase and immunological studies on its synthesis and degradation. *Eur. J. Biochem.*, **16**, 161-173.

- 7) Chirgwin, J. M., Przybyla, A. E., McDonald, R. J. and Rutter, W. J. (1979): Isolation of biologically active ribonucleic acid from sources enriched in ribonuclease. *Biochemistry*, **18**, 5294-5299.
- 8) Katsurada, A., Iritani, N., Fukuda, H., Noguchi, T. and Tanaka, T. (1987): Influence of diet on the transcriptional and post-transcriptional regulation of malic enzyme induction in the rat liver. *Eur. J. Biochem.*, **168**, 487-491.
- 9) Lamers, W. H., Hanson, R. W. and Meisner, H. M. (1982): cAMP stimulates transcription of the gene for cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase in rat liver nuclei. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 5137-5141.