

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 ZHEN, Hongmin (ケン コウビン)

論文題目

Regulation of Branched-Chain Amino Acid Catabolism  
(分岐鎖アミノ酸分解の調節)

論文審査担当者

主査	名古屋大学教授	下村	吉治
委員	名古屋大学教授	牧	正敏
委員	名古屋大学教授	松田	幹
委員	名古屋大学教授	吉村	徹
委員	名古屋大学助教	北浦	靖之

分岐鎖アミノ酸 (branched-chain amino acids: BCAA) は、アミノ酸の側鎖に分岐構造を持つロイシン、イソロイシン、バリンの総称であり、これらの3つのアミノ酸は栄養学的な必須アミノ酸である。近年の研究において、BCAAはタンパク質を構成する主要構成成分であるばかりでなく、タンパク質および糖代謝を調節する生理機能を持つことが明らかにされつつある。これらのBCAAの生理作用は、体内の遊離型のアミノ酸が担っており、タンパク質に組み込まれたアミノ酸は生理的に不活性であると考えられている。BCAAの中でも特にロイシンの作用が強いことが判明しており、ロイシンは mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) を活性化して種々の生理作用を現すことが証明されている。したがって、血液および細胞内の BCAA 濃度の調節機構に対して関心が寄せられているが、それについては不明な部分が多い現状である。

上記のように BCAA は必須アミノ酸であることより、細胞内にはその分解系のみが備わっている。この分解系により、体内の過剰な BCAA は速やかに分解されるため、この分解系の活性調節が体内の遊離 BCAA 濃度を調節する可能性が高い。BCAA 分解系は全てミトコンドリア内に存在し、第1ステップと第2ステップは3つの BCAA に共通である。その第1ステップは、branched-chain aminotransferase によって触媒される可逆的な反応であり、第2ステップは branched-chain  $\alpha$ -ketoacid dehydrogenase (BCKDH) 複合体によって触媒される不可逆的反応である。よって、第2ステップの反応が BCAA 分解の律速段階であるとされている。BCKDH 複合体の活性は、その酵素サブユニットの1つである E1 $\alpha$  のリン酸化により調節される。すなわち、特異的タンパク質リン酸化酵素である BCKDH kinase による E1 $\alpha$  のリン酸化により不活性化され、特異的脱リン酸化酵素である BCKDH phosphatase により脱リン酸化され活性化される。

本研究では、最初に、組織(細胞)内への BCAA を含む中性アミノ酸の取り込みに対するロイシンの作用について検討し、次いで BCAA 分解系律速酵素である BCKDH 複合体活性の調節に対する mTORC1 の関与について検討した。

血漿アミノ酸濃度は哺乳動物の細胞内アミノ酸濃度に反映されるが、その調節メカニズムは解明されていない。本研究では、BCAA を含む中性アミノ酸の輸送体であるシステム L の阻害剤として 2-aminobicyclo-(2,2,1)-heptane-2-carboxylic acid (BCH) を腹腔内投与するか、または mTORC1 阻害剤としてラパマイシンを同様に投与したマウスを用いて、ロイシンを経口投与した時の血漿アミノ酸組成に対する影響を検討した。コントロールとして、それぞれの阻害剤を溶解した溶媒のみを投与したマウスを用いた。ロイシン投与後の血漿ロイシン濃度の上昇は、血漿イソロイシン、バリン、メチオニン、フェニルアラニン、チロシン濃度を有意に減少させたが、BCH 処理によりロ

イシンのこの作用はほぼ完全に阻害された。ラパマイシン処理では、ロイシンの作用に対して BCH 処理よりもかなり小さな影響しか認められなかった。これらの結果より、ロイシンが血漿 BCAA、メチオニン、フェニルアラニン、チロシン濃度を調節しており、その機構にはシステム L アミノ酸輸送体が関与していることが示唆された。

次の研究では、マウス心臓の BCKDH 複合体に対する mTORC1 阻害剤であるラパマイシン処理の影響を *in vivo* で検討した。マウス心臓は、マウスの体組織中で BCKDH 複合体を豊富に含むが通常その酵素活性は低く抑えられているので、この臓器の BCKDH 複合体活性を測定した。コントロールマウスにおけるロイシン経口投与は、心臓のロイシンと  $\alpha$ -ケトイソカプロン酸濃度を著しく上昇し、投与 30 分後にそれらのピークを示した。この時点における心臓の BCKDH 複合体活性は有意に上昇した。この BCKDH 複合体の活性化は、BCKDH kinase の阻害剤である  $\alpha$ -ケトイソカプロン酸濃度の上昇に起因すると考えられる。一方、ラパマイシン処理の場合では心臓のロイシンと  $\alpha$ -ケトイソカプロン酸濃度の同様な増加にも関わらず、ロイシンによる BCKDH 複合体の活性化は抑制された。ロイシン投与による mTORC1 の活性化は、その基質であるリボソームタンパク質 S6 キナーゼ 1(S6K1)のリン酸化により分析した。その結果、ラパマイシン処理は S6K1 リン酸化をほぼ完全に阻害したので、mTORC1 の活性が完全に阻害されたことが確認された。これらの結果より、mTORC1 は心臓 BCKDH 複合体の活性調節を通して、BCAA 分解の調節機構に少なくとも一部は関与することが示唆された。mTORC1 による BCKDH 複合体活性の詳細な調節機構については、今後さらに検討が必要である。

以上のように ZHEN, Hongmin は、哺乳動物におけるロイシンによる血漿アミノ酸濃度の調節にシステム L アミノ酸輸送体が関与することを解明し、さらに BCAA 分解の調節に mTORC1 が関わることを解明した。本研究は、BCAA の生理機能の調節を解明するために重要な知見をもたらしたと判断されるので、当審査委員会はこの論文が博士（農学）の学位を授与するに十分な価値のあるものと認め、合格と判断した。