

## アミノ酸による骨格筋タンパク質の分解抑制

岩手大学農学部 長澤 孝志

骨格筋は、体重の40%程度をしめる体の中では最大の組織である。骨格筋量は低栄養、加齢、疾病などで減少し（筋萎縮）、運動能力の低下を招く。一方、骨格筋はその量から体全体の代謝に対しても大きな影響を及ぼすので、骨格筋量の減少は体全体の調節に対する筋肉の機能が低下することにもなる。このような骨格筋量の減少の結果活動の低下がおこり、これがさらなる筋萎縮へ発展する可能性も予想される。活動の低下は疾病の治癒の遅延をはじめ大きな障害となり、社会的に大きな問題となっている。

骨格筋量は、骨格筋タンパク質量により実質的に決まる。組織タンパク質量はタンパク質の合成速度と分解速度の差により決定されるため、合成速度が分解速度より多ければ蓄積量が増加し、組織タンパク質量が増加する。逆に合成速度より分解速度が多ければ蓄積量が減少し、組織タンパク質量は減少する。したがって骨格筋タンパク質量の増減を考える場合には、合成速度と分解速度の両方を知ることが必要である。

ラットなどの実験動物をはじめヒトにおいても、同位体でラベルしたアミノ酸のタンパク質への取り込み速度から合成速度を求めることが古くから行われてきた。一方、分解速度に関しては、ラベルアミノ酸の合成への再利用の問題があり研究が遅れていた。骨格筋タンパク質に関しては、タンパク質合成に再利用されない3-メチルヒスチジン（*N*-メチルヒスチジン：MeHis）による分解速度の測定が可能であり、実験動物、家畜、ヒトにおいてMeHisを用いて多くの研究がなされている。我々はMeHisを指標として骨格筋（筋原線維）タンパク質の分解速度を測定する研究を続けてきた。

骨格筋タンパク質の合成は摂食直後から変化するが、分解はかなり遅れて変化すると考えられていた。そこで我々は、再摂食後どのくらいの時間で骨格筋タンパク質の分解速度に変化が生じるか知るために、18時間絶食させたマウスに1時間だけ十分量のカゼインを含む食餌を与えた後の骨格筋タンパク質の合成と分解の変化を検討した<sup>1)</sup>。その結果、確かに再摂食直後から合成速度が増加し6時間の段階ではもとに戻るが、MeHisの血漿濃度から推定した分解速度は摂食後3時間で最も減少し、その後6時間後まで低レベルを維持し、12時間後には摂食前のレベルになった。すなわち骨格筋（筋原線維）タンパク質の分解は、合成のレスポンスより遅れるものの予想以上に早くレスポンスすることが明らかになった。この結果は、ラットの単離筋肉

切片（ヒラメ筋、長指伸筋）からの MeHis 放出速度から測定した分解速度でも確認された<sup>2)</sup>。このとき、無タンパク質食を摂取したラットでは分解の抑制は認められなかった。以上から、食餌タンパク質が筋原線維タンパク質の分解を調節していることが強く示唆された。

食餌タンパク質の何が刺激となって筋原線維タンパク質の分解を抑制するのだろうか。タンパク質を構成しているアミノ酸か、あるいは消化段階で生じるペプチドの作用が考えられたが、アミノ酸混合食を用いた検討からアミノ酸、特にロイシンが分解抑制のシグナルになっている可能性が示唆された。ロイシンの効果を明確にするために、ロイシンの単独経口投与後の筋原線維タンパク質の分解速度の変化を検討した。18時間絶食した4週齢の雄 Wistar 系ラットにロイシンを 135mg/100g 経口的に投与し、投与後長指伸筋からの MeHis 放出速度を測定した<sup>3)</sup>。投与1

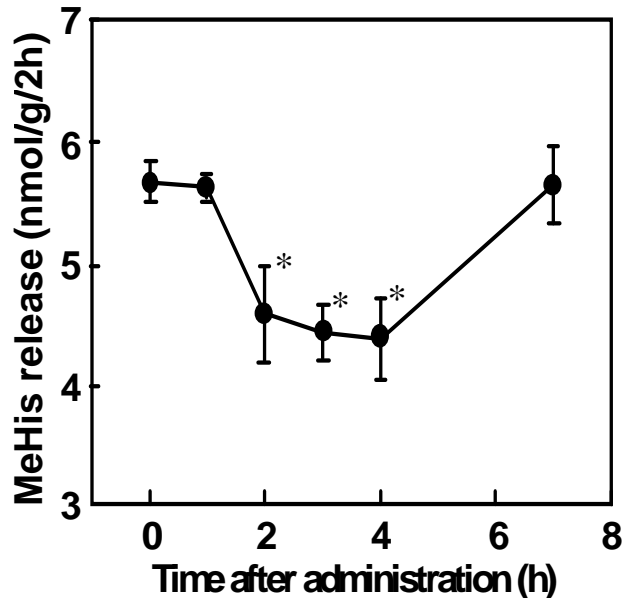


図1. ロイシンの経口投与後の長指伸筋からの MeHis の放出速度の変化

時間後には投与前と同レベルであったが、投与2時間後には有意に放出速度が低下し、4時間後まで持続した（図1）。このとき、血漿ロイシン濃度は 200 $\mu$ M 以上あった。これらの結果から、ロイシンが筋原線維タンパク質の分解を抑制し、そのシグナルにはある程度以上の血漿ロイシン濃度が必要であることが示唆された。

ロイシンは骨格筋タンパク質の合成を翻訳段階で制御していることが Kimball らのグループの研究で明らかにされている。翻訳段階における開始因子 4E (eIF4E) は eIF4A および eIF4G と結合して eIF4F 複合体を形成し、リボソームに mRNA を結合させるときに必要な因子である。eIF4E は eIF4E 結合タンパク質 (eIF4E-BP) と結合すると eIF4F 複合体を形成できなくなる。ロイシンはこの 4E-BP のリン酸化を促し eIF4E から解離させて eIF4F 複合体の形成を促進することで、タンパク質合成が増加する。また、ロイシンは翻訳促進に関わるリボソームタンパク質 S6 キナーゼの活性化も促進する。いずれも、これらの因子の上流に位置する mTOR にロイシンの刺激が伝わるが、mTOR の上流はインスリンとは異なるシグナル伝達系であると考えられている。ロイシンの分解に対する作用は未だ明確ではない。骨格筋タンパク質の分解は、カルパイン、ユビキチン-プロテアソーム系、オートファジー-リソソーム系、およびカスパーゼなどにより行われていると考えられている。近年、ユビキ

チン-プロテアソーム系の制御システムの解析が進み、骨格筋タンパク質の分解もこの系が中心であると言われている。そこでロイシンの分解に対する作用機構を解明するために、カルパインとリソソームの活性を阻害する状態で MeHis の放出速度を測定した。その結果ロイシン投与群では阻害剤の効果が認められたことから、ロイシン投与はユビキチン-プロテアソーム系より、むしろオートファジー-リソソーム系を調節している可能性が示唆された。Kadowaki らのグループによる初代肝培養細胞のタンパク質分解の実験系から、mTOR を介したオートファゴソームの形成をロイシンが調節することを示唆されている。

ロイシンの摂取は実際に筋萎縮を抑制できるのだろうか。ラットなどにおける筋萎縮モデルとしては、敗血症などの疾病や、後肢の固定などの非運動が多く用いられている。我々は低栄養状態における筋萎縮モデルにおいてロイシンの効果を検討した。無タンパク質食にロイシンを 1.5% 添加した食餌を 1 週間摂食させると、筋原線維タンパク質の分解速度が減少し、低栄養状態による筋重量の減少が

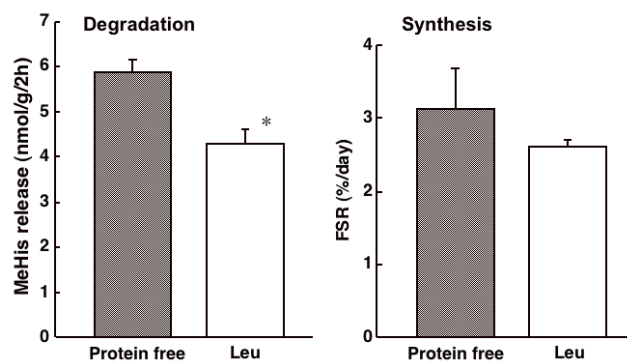


図2. ロイシンを添加した無タンパク質食を摂取したラット骨格筋タンパク質の分解速度と合成速度

抑えられた<sup>4)</sup>。このとき、骨格筋（筋原線維）タンパク質の分解速度はロイシンの摂取で有意に減少したが、ラベルフェニルアラニンの取り込みから測定した骨格筋タンパク質の合成速度が上昇する傾向は認められなかった。したがってロイシンの摂取による筋萎縮改善効果は、合成に与える影響よりも分解を顕著に制御したことによることが示された。無タンパク質食摂取のラットへのロイシンの投与は、ユビキチンリガーゼ (Atrogin-1, MuRF1) の遺伝子発現を減少させず、オートファジーのマーカータンパク質である LC3 の活性型である LC3-II の発現は顕著に減少させた。以上より、ロイシンの摂取による分解抑制にはオートファジーの制御が強く関わっていることが考えられた。

ロイシン以外のアミノ酸による骨格筋タンパク質の分解抑制作用は、まだ明確ではない。肝臓においてはフェニルアラニンなどいくつかの分解制性アミノ酸が知られている。骨格筋においても我々は分解を抑制するアミノ酸をいくつか見いだしている。ロイシンとこれらのアミノ酸やタンパク質を適切に組み合わせることで、骨格筋萎縮を食事から抑制できることも可能になるであろう。

## 参考文献

- 1) Yoshizawa, F., Nagasawa, T, Nishizawa, N. and Funabiki, R. (1997) Protein synthesis and degradation change rapidly in response to food intake in muscle of food-deprived mice. *J. Nutr.* 127: 1156-1159.
- 2) Nagasawa, T., Hirano, J., Yoshizawa, F. and Nishizawa, N. (1998) Myofibrillar protein catabolism is rapidly suppressed following protein feeding. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62: 1932-1937.
- 3) Nagasawa, T., Kido, T., Yoshizawa, F., Ito, Y, and Nishizawa, N. (2002) Rapid suppression of protein degradation in skeletal muscle after oral feeding of leucine in rats. *J. Nutr. Biochem.* 13: 121-127.
- 4) Sugawa, T., Ito, Y., Nishizawa, N. and Nagasawa, T. (2009) Regulation of muscle protein degradation, not synthesis, by dietary leucine in rats fed a protein-deficient diet. *Amino Acids*, in press.