

## 脂質代謝の調節に関する分子栄養学的研究

山本徳男 (東北大学遺伝子実験施設助教授)

### はじめに

現代栄養学の最終目標の一つは、動脈硬化、高血圧、糖尿病等の成人病を予防することである。特に動脈硬化は先進諸国においては癌死を上回り、動脈硬化を予防する栄養学が社会的に要求されている。動脈硬化の成因に関しては、癌研究同様に分子生物学的手法の導入により、画期的進展を遂げている。その一つが血液中の主要コレステロール運搬体であり LDL に対する受容体の遺伝子の解析である<sup>1-3)</sup>。この遺伝子の調節が外因性のコレステロールにより抑制されることにより、血中 LDL の濃度を増加させ、動脈硬化を生成させる

メカニズムが明らかにされた。このように遺伝子発現の調節を明らかにされることにより、遺伝子がどのように栄養によって制御されるかが次第に明らかにされつつある。本研究では動脈硬化に密接に関わっている脂質代謝系の遺伝子発現を栄養学的に明らかにすることにより、最終的に栄養的に動脈硬化を予防することを目的としている。特に本研究においては脂質代謝の初発段階を触媒する脂肪酸活性化酵素の構造と機能と調節が明らかにされたので、脂肪酸活性化酵素について中心的に述べたい。

脂肪酸活性化酵素は長鎖脂肪酸と ATP とコエンザイム A を基質として脂肪酸を活性化し、アシ

### Function and localization of long-chain acyl-CoA synthetase

#### Long-chain acyl-CoA synthetase (EC 6.2.1.3)

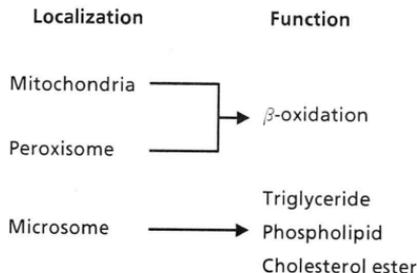
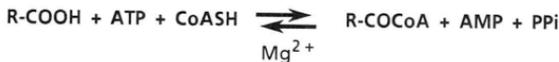


図1 脂肪酸活性化酵素

-13CCAACACAGACT -1

ATGGAAGTCCACGAATTTGTTCCGGTATTTTCGAATGCCAGAGCTGATTGACATTCGGCAGTACGTGGCTACCTCCCAACACACACT 90  
MetGluValHisGluLeuPheArgTyrPheArgMetProGluLeuIleAspIleLeuArgGlnTyrValArgThrLeuProThrAsnThrLeu 30

ATGGGCTCGGGGCTTTTGACGGCTCACACCTTCTGGTATGCCACCGGGCCGAAGGCCCTGAAGCCACATGTGATCTGTCATCGGAG 180  
MetGlyPheGlyAlaPheAlaLeuThrPheTrpPheTrpTyrAlaThrArgProLysAlaLeuLeuIleAspIleLeuArgGlnTyrValArgThrLeu 30

CTCTGGGAATGAAAGGGTACTGAGGGTGTCCGAAGTACAGCAGTCCCTTGAGGACGCAAGACTCTTGTGACTACTACGACGATGTC 270  
SerValGluValThrGlyThrGluGluGlyValArgSerAlaValLeuGluAspIleLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeu 270

AGAACGATGTACGATGGCTTCCAGAGGGGAACTCAGGTGTCAAATGATGGCCCTGTTTATGGTGTAGAAAGCCAAACCCATATGAG 360  
ArgThrMetTyrAspGlyPheGlnArgGlyIleGlnValSerAsnAspGlyProCysLeuGlySerArgLysProAsnGlnProTyrGlu 360

TGGTCTTTACAAACAGGTTGCGAAGATGGCTGAGTGCATAGGCTGCGCCGTATCCAGAGAGGGTTCACAACTTGTCTCAGAGCAGTTC 450  
TrpIleSerTyrLysGlnValAlaGluMetAlaGluCysIleGlySerAlaLeuIleGlnIleGlnIleGlnIleGlnIleGlnIleGlnIleGlnIle 450

ATCGGACTCTTTCTCAGAACGACCTGAGTGGGTGACCATCGAGCAGGGGTGCTTCACTTCCATCCATGGTGGTGTGTTCCGCTATGAG 540  
IleGlyIlePheSerGlnAsnArgProGluTrpValThrIleGluGlnGlyCysPheThrTyrSerMetValValIleProLeuTyrAsp 180

ACGCTTGGAAACCGACCCATCACCTACATAGTAAACAAAGCTGAACTCTCTGTGATTTTGTCCAGAACCCGAAAGGCCAAACTCTTA 630  
ThrLeuGlyThrAlaAlaIleThrTyrIleValAsnIleAlaGluLeuSerValIlePheAlaLeuIleGlnIleGlnIleGlnIleGlnIleGlnIle 210

TTAGAAGGTGTAGAAAAAAGTTAAACCCATGCCTTAAAATCATAGTCATGACCTCTACGCAAAATGATCTGGTGGAACCGGGCCAG 720  
LeuGluGlyValGluAlaAsnLysLeuThrProCysLeuLysIle 240

AAGTGTGGGGTGAAGACTCCGGCTAAAAGCTTGGAGGACTTGGAAAGGTGAACAGAAACCAAGCTCCAGAACCTGAAGAT 810  
LysCysGlyValGluIleIleGlyLeuLysAlaLeuGluAspLeuGlyArgValAsnArgThrLysProArgGluProGluAsp 270

CTTGCAATAACTCTGTTTCAAGGTGGAACACTCAGGCAACCCCAAAGGACCAATGGTCCACCCCAAAACATTAAGAAGTGTCTCGGT 900  
LeuAlaIleIleCysPheThrSerGlyThrGlyThrGlyProLysGlyAlaMetValThrHisGlnAsnIleMetValAsnAspCysSerGly 300

TTATAAAGCGACGGAGGTGACTCATCGCTCCCCAGGAGTGTCTGATATCTTCTGCTCTCGCCCATATGTTGAGACCGTT 990  
PheIleLysAlaThrGluSerAlaPheIleAlaSerProGluAspValLeuIleSerPheLeuProAlaIleIleMetPheGluThrLys 330

GTAGAGTGTGTAATGCTATGTCATGGAGCTAAGATAGGATTTTCCAAGGACACTCAGGCTGCTTATGGAAGTCAAGGTGCTCAG 1080  
ValGluCysValMetLeuCysHisIleGlyAlaLysIleGlyPhePheGlnGlyAspIleAlaGluLeuMetAspLeuLysValLeuGln 360

CCTACACTCTCCCTGTGGTTCGAGACTCGTAAACCGGATGTTGACAGATTTTGGCAAGCAAACTCGTCAAGGCGTGGTGGTGGT 1170  
ProThrIlePheProValProArgLeuLeuAsnArgMetPheAspArgIlePheGlyGlnAlaAsnThrSerValLysArgTrpLeu 390

TGGATTTTGGCTCCAAAAGGAAAGCGGGGACTCGCAGTGGCATCGTCAGAAACAAACAGCTGGGGTAAACTCATCTTCCACAG 1260  
LeuAspPheAlaSerLysArgLysGluAlaGlyLeuValArgSerGlyIleValArgAlaIleIleIleIleIleIleIleIleIleIleIleIleIle 420

ATACGTCGAGCTGGGCGGAAAGTCCGGCTGATGATCAGCAGGAGCACCCCAAGTGTCTGCCAAGTCTGACGTTTCTGAGGGCGGT 1350  
IleGlnSerSerLeuGlyLysValIleGlyThrLeuGluMetIleThrGlyAlaProValSerIleAlaThrValLeuThrPheLeuArgAlaAla 450

CTCGCTGTCAAGTCTATGAAGGCTACGGACAGCCGAGTGCACCCGCTGGTGTCTGCTGCTGAGCTGCTGGAGACTGGACAGCAGGCC 1440  
LeuGlyCysGlnPheTyrGlyGlnThrGlyGlyGlnThrGlyAlaGlyCysLysLeuProGlyAspTrpThrAlaGlyHis 480

GTGGTGGCCCCACTTGTCAATYATCAAGCTGTAGATGTGGAAGTATGAAATACCAAGCTGCCAAGGCGAGGGTGGAGTGTGT 1530  
ValIleAlaProMetProCysAsnTyrIleLysLysValAspValGluValAspMetAsnTyrGlnAlaAlaIleLysGlyGluGlyValGly 510

GTGAAAGGGGCAAAATGTTCAAAGGCTACTTGAAGACCCAGCAAGAACAGCTGAAACCCATAGATAAAGATGGTGGTTCACACAGGG 1620  
ValLysGlyAlaAsnValPheLysGlyIleLysLysAspProAlaArgThrAlaGluAlaLeuAspLysAspGlyTrpLeuHisThrGly 540

GACATTTGAAATGGCTGCCAAATGGCCCTTGAAGATATCGACAGGAAAAGCACATATTTAAACTAGCCCAAGGAGATACATAGCT 1710  
AspIleGlyLysTrpLeuProAsnGlyThrLeuLysIleIleAspArgLysAlaIlePheLysLeuAlaGlnIleGlyTrpIleAlaIle 570

CCAGAAAAGATCGAAAATATCTACTCGGGAGCGAAGCCGTGGCCAGGTGTTTGTCCATGGAGAAGCTTCCAGGCCCTTCTCATAGCC 1800  
ProGluLysIleGluAsnIleTyrLeuArgSerGluAlaValAlaGlnValPheValHisGlyGluLeuSerLeuGlnAlaPheLeuIleAla 600

ATTGTAGTCTGTTGGAGATCTTACTCTCTGGCAGCAAGAGAGGATTTCAAAGGCTCTTTGAAGACTGTCCAGGAAACCAAGAT 1890  
IleValValProAspValGluIleLeuProSerTrpAlaGlnLysArgGlyPheGlnGlySerPheGluGlyLysCysArgAlaLysLys 630

ATCAAAAGACTCTCTGGAAGCAATGGTGAACCTTGGGAAGAAATGCTGGTTTGAAGCCATTTGAACAGGTCAAAGACTGCTGTGCAC 1980  
IleAsnLysAlaIleLeuGluAspMetValLysLysGlyLysAlaAlaGlyLeuLysPheGluGlnValLysGlyIleIleValHisLys 660

CCGGAAATATTTCTATTTGACAAATGGCTCTGACTCAACACTGAAGCCAAAAGCCGAGGCTCGGGAACATTTCCAGGTACAGATA 2070  
ProGlyLeuPheSerIleAspAsnGlyLeu 2070

GATGAAGTGTACTCCACCATCAAGATTTAACTGAAGGAAGAACTCCTTAGAGGAAATGGCCACCTCCACAACTCTCTGATCCATG 2160  
AspGluLeuTyrSerThrIleLysIleAsnIleGlnIleLeuIleLeuIleLeuIleLeuIleLeuIleLeuIleLeuIleLeuIleLeuIleLeuIle 699

CTTGGATGGTAACTCTGCTCGAGCGAGTGGGGAAGAAATGCCATGCTGGACTTGGTGCACAGGGTCTTACCATGGGATAGCAGA 2250  
GGGCACGGACACTGCTTACAGTCACTTGTGTGTAGCCATGATCTGGGATCAACAGTTTCCAAACAGGCTTAAACCAITTTGAAG 2340  
GGGGAAACCAAAAAGTCAAGTATTTAAGCTTCAACAAATAAGTGGGGTTAAACACTCTGCTCCGTGTTTCTAACCAAGGG 2430  
TAGGAGCTACTCTTCTGATAGCTGCTGCTGGCTGCACACAGGATCTGCTGCTCGAAGAGTACAGTACACTGGGAAAGAA 2520  
CTACCCCTTAAAGAGAACTGTCCAGGCTGAAGAAGTGCAGCTGGACAGGATTTCTCTTCAACCTTCCCTTGTCCCTTCCC 2610  
TCCAGTACTATAAGAACAGATCTCTCTGACCCCTCTGTGTTTGAAGGGTTCAAAAGGGTCCCTGTGTGCTCTGCTGGTAACTCTGGT 2700  
AGCCAGCAACTTGAAGCAGTACTCTCTGAGAACACTCGGGTACCAGTCTCAGAAAAGAAAAAAGGGTGGCTCTGCTGTG 2790  
AACCTCGCTTAGACTCTCGATGAGGATGGTGTCCGAAGAAAGTGCAGTGGATGGGCACTGCTCAACTGATCTCTCCCTCCCTCC 2880  
CTGCTGCTGCTGCTGGAAACCGGATATCTCGACGGCCCTGTGCTCAAGATTTGTGTTCTAGAACAACTGAATGGTGGTCAA 3060  
CTTGGTGTGTTTCTTCCCCTCCAGTAAACTCAGGCACAGTGTCTCAGAAATACTCAGGAGTGGTATACGTGGGTACTTATA 3150  
AAGTGGACAGTAAAGTAAATGCTTATAAAACCTCTGATTTATGGAAATGATTTGATAAGCAAAACTCTGGGGTGTAGAA 3240  
ATCTGGGGGAAAAAATACTACCTGGATCACTTCCAAAGTCTGATTTTAAAGTAAATTTGGGAATAAGACAGCATTTCACTTTGC 3330  
CGCAGTCTTGGCCACATTTGACATTTGAGCTGTTTATACATTTGAGCCAGTGTGTGGTGTGACAGCTGTGTGATCTGGAAG 3420  
CAAACTGGGTTTGCACAAAGATCATCTGTATAAACACTTTTGGTAGCCTAACCTCATTTTCTGATCTTAACTGACAGTCAAG 3510  
CGAATTTGTCCACACGGGTTTGAATGTTGGTTCAGTGTGGTATTTCTATGTTTATAAACCAAAACAGAAATCCAAAAACA 3600  
ATGAAGAAACCAAAATAATTTCTGACTTTGGAGTGGAGTGGAA

図2 脂肪酸活性化酵素の構造

ル CoA の生成を触媒する膜結合性酵素である (図 1)。体内で生成される脂肪酸も食事由来の脂肪酸も本酵素により活性化されない限り利用されない。本酵素により生成されるアシル CoA は

ミトコンドリア, ペルオキシゾームではベータ酸化を受けエネルギー産生に利用されるのに対し, ミクロゾームではトリグリセリド, リン脂質, コレステロールエステル等の脂質の合成に利用され

### Sequence homology between ACS and luciferase

	458	467	477	487	497	507
ACS	GYGQTECTAGCCLSLPGDWTAGHVGAPMPCNYIKLVDDVDMNYQAAKGGG					
	*** ** * * * * *	* * * * *	* * * * *	* * * * *	* * * * *	* * * * *
LUC	GYGLTETTSAILITPEGGDDKPGAVGKVVPPFEAKVVDLDTGKTLGVNQRG					
	339	348	358	368	378	388
	508	517	527	537	547	557
ACS	EVCVKGANVFKGYLKDPARTAEALDKDGWLHTGDIGKWL PNGTLKIIDRK					
	***** * * * * *	* * * * *	* * * * *	* * * * *	* * * * *	* * * * *
LUC	ELCVRGPMIMSGYVNNPEATNALIDKDGWLHSGDIAYWDEDEHFFIVDR					
	389	398	408	418	428	438
	558	567	577	587	591	
ACS	KHIFKLAQGEYIAPEKIENIYLRSEAVAQVFVHG					
	* * * * *	* * * * *	* * * * *	* * * * *	* * * * *	
LUC	KSLIKY-KGYQVAPAELESILLQHPNIFDAGVAG					
	439	447	457	467	471	

図 3-A 脂肪酸活性化酵素 (ACS) とホタルルシフェラーゼ (LUC) の類似性  
\* は同一アミノ酸 ・ は類似アミノ酸

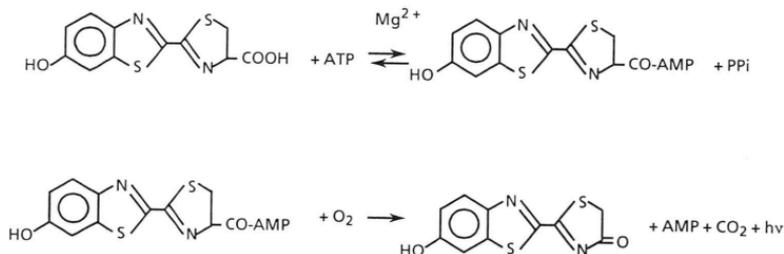
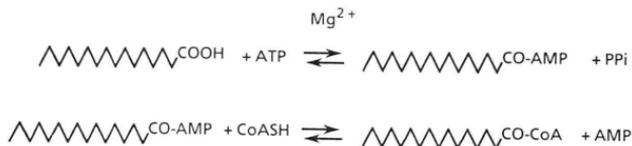


図 3-B 脂肪酸活性化酵素 (上) とルシフェラーゼ (下) の反応の類似性

る。このように脂質代謝上極めて重要な中間体であるアシル CoA の産生を触媒するので脂肪酸活性化酵素の調節はの全脂質代謝系に影響を及ぼすと考えられる。ミトコンドリア、ペルオキシゾームおよびマイクロソームに局在する脂肪酸活性化酵素は、酵素化学的、蛋白質化学的、免疫化学的にも全く同一な酵素であることが明らかにされている。このような同一な酵素が3つのオルガネラに輸送される例は他に類はなく、細胞蛋白質輸送機構を研究する上でもユニークな系である。脂質代謝以外にアシル CoA は蛋白質のアシル化、アロステリックエフェクターとして種々の代謝系で利用されるので、本酵素の有する多様な生理的機能は極めて重要である。

#### 脂肪酸活性化酵素の構造と機能<sup>4)</sup>

cDNA クローニングによってラット脂肪酸活性化酵素の構造が明らかにされた(図2)。脂肪酸活性化酵素は699アミノ酸残基のアミノ酸によって分子量7万8千の蛋白がコードされている。ラット脂肪酸活性化酵素アミノ酸配列を NBRF 蛋白質データベースでホモロジーサーチを行ったところ、発光ホタルのルシフェラーゼとの間に高い類似性が見出された(図3)。類似性は2つの酵素のカルボキシ末端部分の135残基だけに限られ、他の領域に類似性は見出されなかった。これら2つの酵素の基質は共にカルボキシ基を有し、2つの酵素の反応は共に、最初に酵素が基質のカルボキシ基と ATP に反応しアデニル化中間体を生成し第2段階反応で AMP を放出する(図4)。このような2つの酵素の反応メカニズムの類似性より脂肪酸活性化酵素のルシフェラーゼ類似領域が基質の脂肪酸と ATP に反応し、acyl-AMP の生成に機能する領域であると推測された。この類似領域はカルボキシ末側に位置しており、膜結合性の本酵素が脂肪酸合成の場である細胞質側にカ

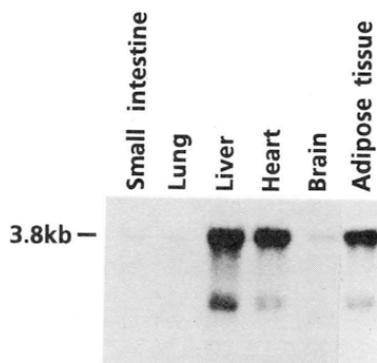


図4 脂肪酸活性化酵素の組織特異性

ルボキシ末側を露出させて存在するものと考えられる。

#### 組織特異性と調節

脂肪酸活性化酵素 mRNA は心臓、肝臓、および脂肪組織に多く発現している(図5)。脳、肺、小腸では僅かにしか発現していない。心臓は主として脂肪酸のベータ酸化により心収縮に必要なエネルギーを生産しているため、脂肪組織は脂質蓄積の場であること、肝臓は脂質合成の場であることから、これらの結果は脂肪酸活性化酵素の生理的機能と合致している。

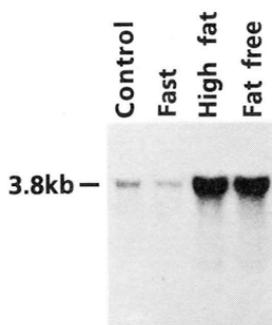


図5 脂肪酸活性化酵素の調節

ラット肝臓の脂肪酸活性化酵素 mRNA は絶食後の無脂肪食の投与や高脂肪食の投与により顕著に誘導される (図 5)。絶食後の無脂肪食の投与は脂肪酸合成の律速酵素であるアセチル CoA カルボキシラーゼを誘導する条件であり、本酵素の mRNA は内因性および外因性の脂肪酸の動員とともに誘導されることが示された。

### 脂肪酸活性化酵素ファミリーの存在

我々は脂質吸収の場である小腸と脂質が40%の割合で占める脳において脂肪酸活性化酵素 mRNA 量が少ないところから、我々がクローニングした脂肪酸活性化酵素以外の脂肪酸活性化酵素が存在すると予想した。ハイブリダイゼーションの条件を緩和することにより脂肪酸活性化酵素に類似した構造を有する cDNA を単離した。小腸に特異的に発現している脂肪酸活性化酵素類似蛋白質 (ASP I) は脂肪酸活性化酵素と全体で約60%の相同性があり、特にルシフェラーゼ類似領域はアミノ酸レベルで77%という高い類似性がある。脳に特

異的な脂肪酸活性化酵素類似蛋白質 (ASP II) は現在解析中であるが脂肪酸活性化酵素と ASP I に極めて類似しており、やはりルシフェラーゼ類似領域に高い類似性がある。

### 文 献

- 1) Yamamoto, T., Bishop, R.W., Brown, M.S., Goldstein, J.L. and Russell, D.W.: Deletion in cysteine-rich region of LDL receptor impedes transport to cell surface in WHHL rabbit. *Science*, 232, 1230-1237 (1986)
- 2) Russell, D.W., Lehrman, M.A., Sudhof, T.C., Yamamoto, T., Davis, C.G., Hobbs, H.H., Brown, M.S. and Goldstein, J.L.: The LDL receptor in familial hypercholesterolemia: Use of human mutations to dissect a membrane protein. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Bio.*, 51, 811-819 (1986)
- 3) Ma, P.T.S., Yamamoto, T., Goldstein, J.L. and Brown M.S.: Increased mRNA for low density lipoprotein receptor in livers of rabbits treated with 17  $\alpha$ -ethinyl estradiol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 792-796, (1986)
- 4) H. Suzuki, Kawarabayasi, Y., Kondo, J., Abe, T., Nishikawa, K., Kimura, S., Hashimoto, T. and T. Yamaoto (1990). *J. Biol. Chem.* 265, 8681-8685

---

## Dietary Regulation of Long-chain Acyl-CoA Synthetase

Tokuo Yamamoto (Tohoku University Gene Research Center)

Complementary cDNAs encoding rat long-chain acyl-CoA synthetase have been isolated. The cDNAs were identified using synthetic oligonucleotide probes based on partial amino acid sequences of lysyl endopeptidase peptides of the purified enzyme. Rat long-chain acyl-CoA synthetase is predicted to contain 699 amino acid residues and a calculated molecular weight of 78,177. Significant sequence similarity was found between parts of long-chain acyl-CoA synthetase and firefly luciferase. Based on the similarity of the reaction mechanisms of the two enzymes, we propose a function for the similar region. The long-chain acyl-CoA synthetase mRNA is expressed in liver, heart and epididymal adipose tissue and to a much lesser extent, in brain, small intestine and lung. The level of long-chain acyl-CoA synthetase mRNA is increased 7- to 8-fold in rat liver by feeding a diet high carbohydrate or fat, consistent with the physiological significance of the enzyme in fatty acid metabolism.