

## アミノ酸栄養が遺伝情報の読み取りを制御する －骨形成を調節する未知なる仕組みの解明－

小嶋 瞳希

大阪公立大学 大学院 生活科学研究科 食栄養学分野 生体機能学

### 要旨 (Abstract)

アミノ酸栄養の変化は、生体における遺伝情報の読み取りや細胞分化を動的に制御する重要な要因であるが、個々のアミノ酸がどのように骨形成を調節するかは未解明である。本研究では、分岐鎖アミノ酸(BCAA)の中でバリンが遺伝情報の翻訳過程に影響し、骨芽細胞分化を抑制する仕組みを明らかにした。マウス間葉系幹細胞 ST2 を用いて BCAA を除去した結果、バリン欠乏のみが Wnt/β-カテニンシグナルを低下させた。分子機構解析により、バリン欠乏時には mTORC1/C2 経路(細胞の成長と代謝に関わるシグナル伝達経路)の抑制は起こらず、代わりに GCN2(アミノ酸不足を感じる細胞内のストレス応答経路)が活性化し、ATF4 および C/EBP β の発現が上昇した。C/EBP β のアイソフォーム過剰発現で Wnt/β-カテニン依存性転写が抑制された。さらに、バリン代謝中間体 α-ケトイソバレリン酸(KIV)が β-カテニン活性を回復させたが、イソブチリル CoA (IB-CoA)では効果はなかった。これらの結果から、バリン不足が tRNA 未荷電化を引き起こし、GCN2-ATF4-C/EBPβ 経路を活性化することが明らかとなり、骨形成関連遺伝子の発現が抑制されることが示された。本研究は、アミノ酸栄養と遺伝子発現の新たな接点を提示するものである。

### 緒言 (Introduction)

アミノ酸栄養は、単なるエネルギー源ではなく、生体が遺伝情報の読み取り様式や細胞分化を動的に制御している。しかし、個々のアミノ酸がどのように転写・翻訳制御を通じて骨形成を調節しているのかは、ほとんど明らかにされていない。骨形成は、間葉系幹細胞が骨芽細胞へ分化する過程を通じて進行し、その中心に Wnt/β-カテニンシグナル伝達が重要な役割を担っている。栄養素の変動が細胞内の翻訳環境を再構成し、興津が細胞分化に影響を与える可能性がある。

BCAA は、筋肉・肝臓・骨などでエネルギー代謝を支える必須栄養素であり、そのうちロイシンは mTORC1 を介してタンパク質合成を促進する「アナボリックアミノ酸」として知られている。一方で、同じ BCAA であるバリンやイソロイシンの骨代謝における役割は不明であり、特に「不足時にどのような遺伝的応答が起こるのか」は未解明であった。

本研究では、バリン欠乏が骨芽細胞分化をどのように阻害するかを解析し、栄養状態が遺伝情報の読み取り過程に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

### 材料および方法 (Materials and Methods)

マウス間葉系幹細胞 ST2 を 10%FBS 含有あるいは FBS 不含有 DMEM で培養後、各 BCAA を 0-800 μM に段階的に除去した培地で処理した。

- 骨芽細胞分化指標: 7 日後に ALP 染色を実施。
- Wnt/β-カテニン活性: Wnt3a 刺激下で TCF ルシフェラーゼレポーターを実施。
- 遺伝子発現: ATF4, C/EBP β を qPCR で解析。
- タンパク質発現: mTORC1/2 (S6K, AKT), p-eIF2α, ATF4, C/EBP β をウエスタン blot で解析。
- C/EBP β アイソフォームの機能解析: LAP\*, LAP, LIP を過剰発現させ、Wnt/β-カテニン活性を評価。

- 代謝補填実験: KIV または IB-CoA を添加し、 $\beta$ -カテニン活性の回復を確認。

### 結果 (Results)

- BCAA 欠乏は骨芽細胞分化を抑制する  
各々の BCAA 欠乏下では ALP 染色性が著しく低下し、骨芽細胞分化が阻害された。
- バリン欠乏では Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナルを低下させる  
TCF ルシフェラーゼアッセイにより、ロイシンとイソロイシン欠乏では、 $\beta$ -カテニン活性に影響を与えたが、バリン欠乏は Wnt3a 刺激依存的な $\beta$ -カテニン活性を大きく抑制した。抑制は濃度依存的であった。
- バリン代謝中間体 KIV がシグナルを回復させる  
バリン代謝経路の主要中間体である KIV は $\beta$ -カテニン活性を回復させた。一方、下流代謝物の IB-CoA は効果を示さなかった。したがって、バリン代謝の初期段階がシグナル維持に重要であると考えられる。
- バリン欠乏は mTOR 経路を抑制せず、GCN2-ATF4 経路を活性化する  
ロイシン欠乏では mTORC1/2 活性が低下したが、バリン欠乏では変化がなく、代わりに GCN2 および eIF2  $\alpha$  リン酸化の上昇が認められた。これに伴い ATF4 および C/EBP  $\beta$  の転写が誘導され、統合的ストレス応答(integrated stress response: ISR)が活性化した。
- C/EBP  $\beta$  のアイソフォームが Wnt シグナルを抑制する  
バリン存在下でも、C/EBP  $\beta$  の LAP\* および LAP を過剰発現させると、Wnt/ $\beta$ -カテニン依存性転写が顕著に低下した。C/EBP  $\beta$  は骨形成関連遺伝子群の転写抑制因子として機能することが示唆された。
- イソロイシン欠乏下でバリンを低下させると同様の抑制が再現される  
イソロイシン欠乏下でバリン濃度を  $50 \mu M$  に低下させると $\beta$ -カテニン活性が抑制された。これは Ile-tRNA 合成酵素(IleRS)がバリンにも部分的親和性を持ち、バリン不足時に未荷電 tRNA が蓄積して GCN2 が活性化することを示唆する。

### 考察 (Discussion)

本研究は、アミノ酸栄養が「遺伝情報の読み取り」を翻訳レベルで制御し、細胞分化に影響を及ぼすという概念を、骨芽細胞分化のモデル系を用いて初めて実験的に検証した。バリン不足は mTOR によるタンパク質合成抑制ではなく、tRNA 未荷電化を起点とする GCN2-ATF4-C/EBP  $\beta$  経路を活性化し、 $\beta$ -カテニン依存的転写を抑制する。すなわち、栄養ストレスが転写因子ネットワークを再編成することで、骨形成関連遺伝子の発現を抑制する新たな調節機構の存在が示された。さらに、バリン代謝中間体 KIV によるシグナル回復は、細胞内代謝状態と核内転写活性の結合を示唆し、骨代謝における代謝-転写カップリングの新たな分子機構を明らかにした。これらの成果は、栄養不良や老化に伴う骨量減少に対し、アミノ酸栄養を介した新たな治療戦略の可能性を示唆する。アミノ酸補正を通じて遺伝情報制御を再活性化するアプローチが、今後の新たな治療戦略の可能性を提示する。

### 結論 (Conclusion)

バリン欠乏は GCN2-ATF4-C/EBP  $\beta$  経路を介して Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナルを抑制し、骨芽細胞分化を

阻害する。この機構は mTOR とは独立した新しいアミノ酸応答経路であり、アミノ酸栄養が遺伝情報の翻訳・発現を通じて骨形成を調節することを明確に示した。本研究は、栄養と遺伝子発現のクロストークという新たな生理的制御機構を解明する基盤となる。

### 最後に紡ぐ言葉 (Legacy)

「一葉知秋(いちようちしゅう)」『淮南子・説山訓』より。

「一葉の落つるを見て、歳の将に暮れんとするを知る」という言葉は、自然の中の微細な変化が、全体の変化を映し出すことを示している。森の中で一枚の葉が静かに落ちるとき、その森全体の季節の移ろいを感じ取るように、わずかな前兆から全体の動きを洞察する力を教えている。

本研究により、細胞の世界でも、BCAA 欠乏という小さな変化が、骨芽細胞分化という生命の森全体に影響を及ぼすことが示された。微細な栄養の変化が、森のように複雑に連なった生命のネットワークに波紋を広げる。その繊細なつながりの中に、私たちは「知の森」—生命の深い秩序—の奥深さを見ることができる。

**キーワード：**バリン欠乏、分岐鎖アミノ酸、GCN2、ATF4、C/EBP  $\beta$ 、Wnt/  $\beta$ -カテニン、骨芽細胞分化、

遺伝情報翻訳、アミノ酸センシング、栄養シグナル伝達