

Evolution

Muttermilch ist nicht nur Nahrung. Sie reguliert einen zentralen zellulären Schalter: den Enzymkomplex mTORC1 (mechanistic target of rapamycin complex 1). Künstliche Säuglingsnahrung (Formula-Ernährung) führt dagegen zu überhöhter mTORC1-Aktivität und programmiert dadurch späteres Übergewicht, Diabetes, Bluthochdruck, Allergien und möglicherweise auch Krebs. > Bodo C. Melnik

Anfang des 20. Jahrhunderts herrschte die Auffassung vor, dass nur das Stillen die normale Entwicklung des Säuglings gewährleiste und ein Geburtsrecht jedes Säuglings sei (Bryder 2009). Unter Federführung der amerikanischen Kinderheilkunde wurde jedoch ab 1930 die künstliche Formula-Ernährung eingeführt unter der Vorstellung, dass Milch nur ein Nahrungsmittel („just food“) sei und künstlicher Ersatz problemlos an Muttermilch angepasst werden könnte. Gemeint war bei dem Begriff Milch an dieser Stelle erst einmal der allgemeine übergeordnete Begriff, noch nicht die Differenzierung zwischen der menschlichen Muttermilch und der Kuhmilch. Man war der Überzeugung, dass die von Menschenhand geschaffene künstliche Babynahrung alle Erfordernisse für das Gedeihen des Säuglings erfülle (Bryder 2009).

Die Ergebnisse heutiger Forschung deuten aber darauf hin, dass die Milch nicht nur ein postnatales Nahrungsmittel, sondern vor allem ein ausgeklügeltes Signalsystem der Evolution der Säugetiere darstellt. Es steuert den mTORC1-Signalweg in den Zellen des Säuglings für die Erfordernisse des postnatalen Wachstums (Melnik 2012; Melnik et al. 2013).

Definition des Enzyms mTORC1

Der Enzymkomplex mTORC1 (mechanistic target of rapamycin complex 1) ist eine Kinase und besteht aus mehreren funktionell wichtigen Untereinheiten (mTOR, RAPTOR, PRAS40, DEPTOR, mLST8, TTI1 und TEL2). Er ist der molekularbiolo-

gisch gesicherte zentrale Schalter jeder Zelle. Er koordiniert und aktiviert die Eiweiß-, Fett- und Nukleotidsynthese, das Zellwachstum und die Zellteilung (siehe Abbildung 1) (Dodd & Tee 2012; Foster & Fingar 2010). Der Enzymkomplex mTORC1 erlaubt Wachstum und Zellneubildung nur dann, wenn zelluläre Energie, Wachstumsfaktoren, wie Insulin und Insulin-artiger Wachstumsfaktor-1 (IGF-1), sowie essenzielle Aminosäuren, insbesondere Leucin, in ausreichender Menge zur Verfügung stehen (Dodd & Tee 2012, Jewell et al. 2013).

mTORC1 ist ein lebenswichtiges Enzym in allen Zellen des Menschen, das die Stoffwechselaktivität der Zelle wie ein Diringent reguliert (Foster & Fingar 2010). mTORC1 aktiviert dabei auch den mitochondrialen Stoffwechsel (Ramanathan & Schreiber 2009). Das Immunsuppressivum Rapamycin, ist ein natürlich vorkommender Hemmer dieses Enzymkomplexes. Im Vergleich zum Stillen führt eiweißreiche Formula-Ernährung

tem postnatalem Wachstum und der Entwicklung von Übergewicht bei Kindern besteht (Escrinbano et al. 2012; Koletzko et al. 2009, Koletzko et al. 2013; Symonds et al. 2013). Dieser Zusammenhang wurde in der „Frühen Eiweißhypothese“ formuliert. Folglich hat man den Eiweißgehalt der Formula in den letzten Jahren reduziert. Trotzdem führt die im Umlauf befindliche eiweißreduzierte Formula immer noch zu deutlich überhöhten Blutkonzentrationen von Leucin (plus 13 Prozent), Insulin (plus 110 Prozent) und IGF-1 (plus 146 Prozent) im Vergleich zum Stillen (Socha et al. 2011).

mTORC1-Aktivierung

Die Wachstumsrate eines Säuglings – ausgedrückt als Zeitspanne bis zur Gewichtsverdopplung nach der Geburt – hängt von der Eiweißmenge der jeweiligen Tieremilch ab (Bouyoucos et al. 1988). Die Ratte verdoppelt mit einer Milcheiweißkonzentration von 11 Gramm pro 100 Milliliter ihr Geburtsgewicht bereits nach vier Tagen, die Katze mit 8,9 Gramm pro 100 Milliliter nach 10 Tagen, das Rind mit 3,5 Gramm pro 100 Milliliter nach 40 Tagen und der langsam wachsende Mensch mit 1,2 Gramm pro 100 Milliliter erst nach 180 Tagen.

Jede Tieremilch enthält konstant zehn Prozent Leucin pro Gesamtmenge an Milcheiweiß (Davis et al. 1994). Somit besteht eine lineare Beziehung zwischen der bereitgestellten Milcheiweißmenge und der zugeführten Leucin-Menge sowie der Leucin-vermittelten mTORC1-Aktivierung (Melnik 2012). Verschiedene Leucin-abhängige zelluläre Aktivierungsmechanismen von mTORC1 wurden in den letzten Jahren identifiziert. Diese umfassen die Rag-GTPasen, die v-ATPase-Ragulator-Interaktion sowie die Leucyl-Transfer-RNA-Synthetase. Die durch Formulagabe überhöhte Leucin-Aktivierung von mTORC1 erklärt das mTORC1-vermittelte beschleunigte Wachstum durch Formula-Ernährung im Vergleich zum Stillen.

Das Signalsystem Milch

Milch liefert nicht nur die essenziellen Aminosäuren zur Aktivierung von mTORC1. Sie stimuliert auch die Bildung der Wachstumshormone Insulin und IGF-1, die wiederum zusammen mit essenziellen Aminosäuren der Milch die mTORC1-Aktivität peripherer Körperzellen hochregulieren (siehe Kasten Seite 60).

Leucin für die Insulinausschüttung

Leucin spielt eine dominante Rolle für die Insulinausschüttung und das Wachstum der Beta-Zellen der Bauchspeicheldrü-

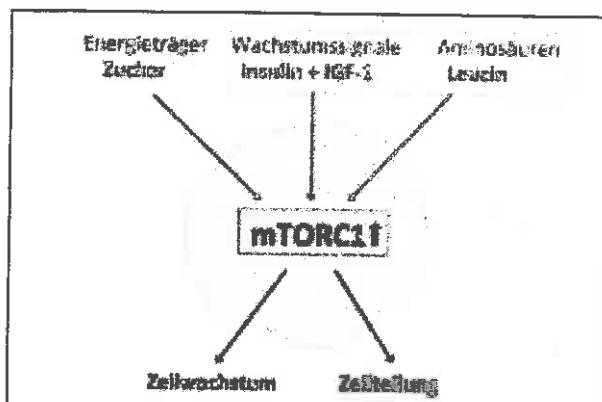


Abbildung 1: mTORC1 und seine Aktivatoren: Die maximale mTORC1-Aktivierung, die für Zellwachstum, Zellteilung und anabole Stoffwechselwege erforderlich ist, wird nur dann erzielt, wenn ausreichend Aminosäuren (Leucin), Wachstumsfaktoren (Insulin und IGF-1) sowie zelluläre Energie (Glukose, ATP) zur Verfügung stehen. Über die Aminosäuren kommuniziert die Milch beziehungsweise Formula mit dem mTORC1-System des Säuglings.

zu hochgradigen Überschreitungen der Blutspiegel von Leucin (plus 20 Prozent), Insulin (plus 100 Prozent) und IGF-1 (plus 300 Prozent) (Axelsson et al. 1989; Socha et al. 2011). Werbeaussagen, dass Formula „muttermilchnah“, „nach dem Vorbild der Muttermilch“ oder gar „abgestimmt auf den empfindlichen Babyorganismus“ sei, sind daher unzutreffend. Formulanahrung gewährleistet *nicht* die physiologischen Achsen der zentralregulatorisch wichtigen Hormone Insulin und IGF-1. Somit ist sie gesundheitlich höchst bedenklich.

Erfreulicherweise hat das EU-Parlament in Straßburg am 11. Juni 2013 strengere Regeln für Werbung und Kennzeichnung von Babynahrung beschlossen. Die KinderärztInnen haben seit einigen Jahren erkannt, dass ein klarer Zusammenhang zwischen zu hohem Eiweißgehalt der Formula, übersteiger-

Der Autor

Prof. Dr. med. Bodo C. Melnik ist seit 1991 als Lehrbeauftragter im Fachbereich Dermatologie, Umweltmedizin und Gesundheitstheorie an der Universität Osnabrück tätig. Nach dem Medizinstudium in Münster und zweijährigem Forschusaufenthalt als Stipendiat der Deutschen Forschungsgemeinschaft am Cardiovascular Research Institute der Universität von Kalifornien in San Francisco, habilitierte er sich 1989 an der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf mit dem Thema „Biochemie und Pathobiochemie des epidermalen Lipidstoffwechsels“. Seit zehn Jahren beschäftigt er sich mit der endokrinen Signalfunktion der Milch im Zusammenhang mit der Entstehung der Zivilisationskrankheiten Akne, Adipositas, Diabetes, Allergien und Krebs.

Kontakt:
melnik@t-online.de

1. Lebensjahr | Muttermilch

Signale der Milcheiweiße zur Aktivierung von mTORC1

Nach hydrolytischer Spaltung der Molke- und Kaseinproteine im Darm werden die Aminosäuren absorbiert und gelangen in den Blutkreislauf. Die Aminosäure Leucin spielt eine besonders wichtige Rolle, denn sie stimuliert

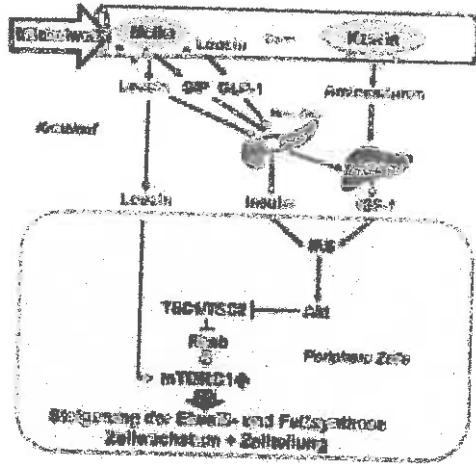


Abbildung 2

sowohl die Insulinbildung der Beta-Zellen der Bauchspeicheldrüse als auch die Bildung der Inkretinhormone (GIP und GLP-1) im Darm. Die Aminosäuren des Kaseins stimulieren zusammen mit Insulin die Synthese des Wachstumshormons IGF-1 in der Leber. Insulin und IGF-1 aktivieren über Vermittlung des regulatorisch wirksamen Tuberinkomplexes (TSC1/TSC2) die GTPase Rheb, die letztlich das Enzym mTORC1 aktiviert. Zur maximalen mTORC1-Aktivierung sind wiederum Aminosäuren erforderlich, insbesondere die Aminosäure Leucin. In der Zelle stimuliert Leucin den Rag/Ragulator-Komplex zur endgültigen RagGTPase-induzierten Aktivierung von mTORC1. Milcheiweiße stellen durch Induktion von Insulin und IGF-1 sowie durch Bereitstellung von Leucin die wichtigsten Signale zur Aktivierung von mTORC1 dar und beschleunigen dadurch mTORC1-vermitteltes postnatales Wachstum.

se (Yang et al. 2010). Leucin stimuliert im Darm die Bildung der Inkretinhormone GIP (glucose-dependent insulinotropic peptide) und GLP-1 (glucagon-like peptide-1) (Siehe Abbildung 2). Diese tragen zur Stimulierung weiterer Insulinausschüttung bei (Salehi et al. 2012; Chen & Reimer 2009). Aminosäuren der Kaseinfaktion induzieren zusammen mit Insulin die Bildung von IGF-1 in der Leber (Hoppe et al. 2009; Wheelhouse et al. 1999).

Die absolute Menge der durch Milch oder Formula bereitgestellten Aminosäuren ist damit von höchst kritischer Bedeutung für das Ausmaß der mTORC1-Aktivierung (siehe Abbildung 2). Eine Steigerung des Leucin-Angebots durch Formula-Ernährung beschleunigt somit postnatales Wachstum (Melnik 2012). Dies wiederum begünstigt das vorzeitige Auftreten chronischer Zivilisationskrankheiten im späteren Leben. Denn eine überhöhte mTORC1-Aktivität spielt eine kritische Rolle bei der frühkindlichen metabolischen Prägung und somit bei der späten Manifestation mTORC1-getriebener Zivilisationskrankheiten (Melnik 2012; Melnik et al. 2013; Zoncu et al. 2012).

Übergewicht und Adipositas

Leucin stimuliert die mTORC1-Aktivität der Fettzellen (Fox et al. 1998). Der Enzymkomplex mTORC1 hemmt den Fettabbau, er steigert die Synthese und Speicherung von Fett (Blanchard et al. 2012; Chakrabarti et al. 2010; Yoon et al. 2013). Das durch mTORC1 aktivierte Enzym S6K1 spielt eine wichtige Rolle bei der Fettsynthese (Bakan & Laplante 2012).

Mäuse, bei denen dieses mTORC1-abhängige Enzym gezielt ausgeschaltet wird, bilden weniger Fettgewebe (Um et al. 2004). Die Ausschaltung des Enzyms S6K1 verhindert bei ihnen die Umwandlung mesenchymaler Stammzellen in reife Fettzellen und vermindert damit die Zahl und Größe der Fettzellen (Carnegalli et al. 2010). Erhalten Ratten zu einer fettreichen Nahrung auch noch vermehrt Leucin, so nehmen sie weiter an Gewicht zu (Li et al. 2013). Eine vermehrte Eiweißzufuhr bei Mäusen und Ratten in der kritischen postnatalen Prägungsphase begünstigt Übergewicht der Tiere im Erwachsenenalter (Kappeler et al. 2009; Maurer et al. 2009).

Bei den uns entwicklungsgeschichtlich nahestehenden Rhesusaffen führte Formula-Ernährung (1,83 Gramm Eiweiß pro 100 Milliliter) im Vergleich zu gesäugten Affen (1,16 Gramm Eiweiß pro 100 Milliliter) zu beschleunigtem postnatalen Wachstum und erhöhtem Körpergewicht (O'Sullivan et al. 2013). Die Formula enthielt gegenüber der Affenmilch 35,4 Prozent mehr Leucin. Nicht unerwartet waren die Blutspiegel von Leucin und Insulin bei den mit Formula gefütterten Affen erhöht (O'Sullivan et al. 2013). Menge und Qualität von Eiweiß während der postnatalen Wachstumsphase haben somit einen erheblichen, prägenden Einfluss auf die Entwicklung des Fettgewebes. Im Gegensatz zur Formula-Ernährung, welche die Adipositasentwicklung begünstigt, schützt Stillen davor (Arenz et al. 2004; Ip et al. 2007; Koletzko et al. 2009; Owen et al. 2005).

Diabetesrisiko

Formula-Ernährung und schnelles postnatales Wachstum gelten als unabhängige Risikofaktoren für Diabetes im Erwachsenenalter (Bansal et al. 2008; Dunger et al. 2007). Stillen hat dagegen einen protektiven Effekt (Gouveri et al. 2011; Ip et al. 2007; Owen et al. 2006). Es stellt sich somit die Frage, ob Formula-Ernährung einen nachteiligen Einfluss auf das biologische Gleichgewicht der Insulin bildenden Beta-Zellen hat. Die Insulinbildung als auch das Wachstum der Beta-Zellen unterliegen der mTORC1-Regulation (Blandino-Rosano et al. 2012).

Tierexperimente verdeutlichen, dass sowohl postnatale Unterernährung als auch Überernährung zu Insulinresistenz, dem Kardinalsymptom des Typ 2-Diabetes, führen (Kappeler et al. 2009; Maurer et al. 2009). Überaktivierung des mTORC1-Signalwegs in den Beta-Zellen von Mäusen führte zu Beginn des postnatalen Lebens zu überhöhter Insulinbildung, im Erwachsenenalter dagegen zu vorzeitigem Untergang (Apoptose) der Beta-Zellen mit verminderter Insulinbildung und Manifestation eines Diabetes (Shigeyama et al. 2008).

Risiko für allergische Erkrankungen

Auch die Entwicklung allergischer Erkrankungen wie Asthma wird auf frühkindlich beschleunigtes Wachstum zurückgeführt (Litonjua et al. 2008; Paul et al. 2010). Es stellt sich wiederum die Frage, ob es einen Zusammenhang zwischen überhöhter postnataler mTORC1-Aktivität und allergischer Fehlprägung des Immunsystems gibt. Die höchst stoff-

wechsel- und teilungsaktiven Immunzellen unterliegen in besonderem Maße der mTORC1-Regulation (Powell et al. 2012). So ist mTORC1 für die Aktivierung und Differenzierung von T-Zellen von kritischer Bedeutung (Delgoffe et al. 2011, Fumarola et al. 2005). Das verdeutlicht bereits die immunsuppressive Wirkung des mTORC1-Hemmers Rapamycin. Leucin spielt eine zentrale Rolle bei der T-Zellen-Aktivierung.

Bemerkenswert ist, dass durch mTORC1-Hemmung während der frühen allergischen Sensibilisierungsphase bei Mäusen ein späteres Asthma verhindert werden konnte (Mushaben et al. 2013). Formula-Ernährung könnte dagegen die Entwicklung eines allergischen Immunsystems fördern. Stillen hat nachweislich einen präventiven Effekt auf die Entwicklung von Allergien, atopischem Ekzem und Asthma (Gdalevich et al. 2001; Greer et al. 2008; Ip et al. 2007; Kull et al. 2004; Yang et al. 2009).

Kardiovaskuläres Risiko

Die postnatale Ernährung und das frühkindliche Wachstum können auch das kardiovaskuläre Risiko steigern (Singhal & Lucas 2004). Der arterielle Blutdruck wird bereits während der frühesten Kindheit programmiert (Lawlor & Smith 2005). Der Blutdruck wird durch die Kontraktionskraft und Muskelmasse der linken Herzkammer sowie durch die hypothalamische Steuerung des Gefäßtonus reguliert.

mTORC1 trägt in der frühen postnatalen Phase zum hypertrophen Wachstum des Herzmuskels bei (Tamai et al. 2013). Bei fünf Tage alten Schweinen führte Leucin-Supplementierung zu einer nachhaltigen mTORC1-Stimulierung der Eiweißsynthese der Herzmuskelzellen (Suryawan et al. 2012). Auf hypothalamischer Ebene steigert Leucin die Aktivität des sympathischen Nervensystems und erhöht den arteriellen Blutdruck (Harlan et al. 2013). Diese Befunde erklären vermutlich, warum beschleunigtes frühkindliches Wachstum infolge mTORC1-Übersteuerung zu erhöhtem Blutdruck im Erwachsenenalter führt (Bansal et al. 2008). Stillen schützt dagegen vor Bluthochdruck und kardiovaskulären Erkrankungen (Guardamagna et al. 2012; Martin et al. 2005) (siehe Abbildung 3).

Brustkrebsrisiko

Es ist schon länger bekannt, dass die Wachstumsrate in der Kindheit das Brustkrebsrisiko im Erwachsenenalter bei Frauen beeinflusst (Ahlgren et al. 2006).

Eine erhöhte neonatale Wachstumsrate korrelierte in einer großen schwedischen Studie mit erhöhtem Risiko, an prämenopausalem Brustkrebs zu erkranken (Lagiou et al. 2008). Eine große epidemiologische Studie aus England zeigt, dass gestillte Frauen gegenüber nicht gestillten ein geringeres prämenopausales Brustkrebsrisiko aufweisen (Martin et al. 2005). Dagegen fand sich im Kollektiv der US-amerikanischen Nurses Health Study I und II hierfür kein Anhalt (Michels et al. 2001). mTORC1 spielt eine zentrale Rolle bei der Wachstumsregulation der Brustdrüsenepithelzellen (Jankiewicz et al. 2006). IGF-1, das durch Formula-Ernährung massiv überhöht ist (Socha et al. 2011), ist der stärkste Stimulus der mammografischen Dichte. Dieser ist ein bedeutender Risikofaktor des Mammakarzinoms (Tamimi et al. 2006).

Kürzlich wurde bei Mäusen gezeigt, dass sich durch pränatale Gabe von IGF-1 die Brustdrüsendiffizienz signifikant erhöhte (Chang et al. 2012). Es bedarf einer weiteren Klärung, ob die überhöhte IGF-1-Bildung durch Formula-Ernährung zu Fehlentwicklungen der Brustdrüse oder Prostata führt, die Krebs im Erwachsenenalter begünstigen.

Verschreibungspflicht?

Formula-Ernährung begünstigt die Entstehung von Übergewicht sowie Adipositas (Dunger et al. 2007; Koletzko et al. 2009; Melnik 2012; Thorn et al. 2010), Typ 2-Diabetes (Dunger et al. 2007), Störungen des Lipoproteinstoffwechsels (Horta et al. 2009), Bluthochdruck (Bansal et al. 2008) und Allergien (Flaherman et al. 2006; Litonjua et al. 2008; Paul et al. 2010) (siehe Abbildung 3). Stillen dagegen reduziert das Risiko von Übergewicht, Diabetes, atopischer Dermatitis und Asthma (Ip et al. 2007) und vermin-

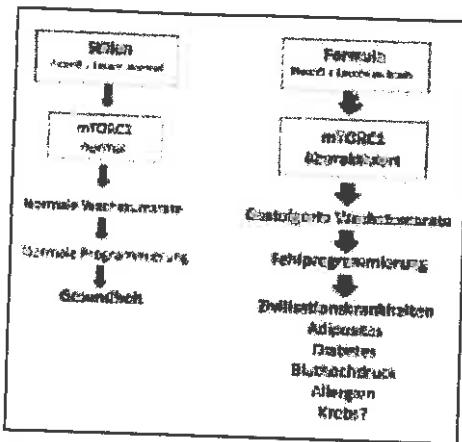


Abbildung 3: Gegenüberstellung der durch Stillen induzierten normalen postnatalen mTORC1-abhängigen Programmierung und der Fehlprogrammierung durch Formula-Ernährung

dert den Anstieg des Blutcholesterinspiegels im Erwachsenenalter (Leeson et al. 2008; Owen et al. 2008). Die derzeit verfügbare Formula-Ernährung ist kein adäquater Ersatz für Muttermilch. Sie gewährleistet nicht die korrekte metabolische, immunologische und neurovaskuläre mTORC1-abhängige Reifung des Neugeborenen. Eltern sollten daher mit Nachdruck über den gesundheitsfördernden Wert des Stillens aufgeklärt werden. Die Hebammen leisten hier einen extrem wichtigen Beitrag zur Prävention der Zivilisationskrankheiten.

Das unmündige Neugeborene, das selbst nicht in der Lage ist, sein Geburtsrecht auf Muttermilch einzufordern, bedarf unseres besonderen Schutzes. Die Einführung einer Verschreibungs- und Beratungspflicht für Formula wäre eine erste sinnvolle Maßnahme im Interesse des Kindes und der Solidargemeinschaft der Versicherten, die für gesundheitliche Langzeitschäden aufkommen muss.

Das Formulapulver sollte zudem in kleineren, abzählbaren Gewichtseinheiten abgepackt werden. Der gut gemeinte „gehäufte Löffel“ und das „extra reichhaltige Fläschchen zur Nacht“ sind weitere technische Entgleisungen der künstlichen Säuglingsernährung.

Eine besonders sorgfältige Beratung sollte Eltern zuteil werden, die ein erhöhtes familiäres Risiko zur Entwicklung von Adipositas, Diabetes, Hypertonie, Allergien, kardiovaskulären Erkrankungen und Krebs haben. Negative Programmierungseffekte durch Formula könnten sich mit familiären genetischen Störungen unvorteilhaft kombinieren. Zudem sollten mit Formula ernährte Säuglinge ein engmaschiges Gewichts- und Wachstumsmonitoring vorzugsweise durch die Hebammen erhalten. Hebammen leisten somit einen unverzichtbaren Beitrag, der von den Eltern, der Gesellschaft und den Kostenträgern stärker gefördert und gewürdigt werden sollte.

Literatur

- Axelsson, I. E. M.; Ivarsson, S. A.; Räihä, N. C. R.: Protein intake in early infancy: effects on plasma amino acid concentrations, insulin metabolism, and growth. *Pediatric Research* 26: 614–617 (1989)
- Bryder, L.: From breast to bottle: a history of modern infant feeding. *Endeavour*. 33: 54–59 (2009)
- Carnevali, L. S.; Masuda, K.; Frigerio, F.; Le Bacquer, O.; Um, S. H.; Gandin, V.; Topliskovic, I.; Sonenberg, N.; Thomas, G.; Kožma, S. C.: S6K1 plays a critical role in early adipocyte differentiation. *Developmental Cell*. 18: 763–774 (2010)
- Chakrabarti, P.; English, T.; Shi, J.; Smas, C.; Kandror, K. V.: Mammalian target of rapamycin complex 1 suppresses lipolysis, stimulates lipogenesis, and promotes fat storage. *Diabetes*. 59: 775–781 (2010)
- Dodd, K. M.; Tee, A. R.: Leucine and mTORC1: a complex relationship. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*. 302: E1329–E1342 (2012)
- Dunger, D. B.; Salgin, B.; Ong, K. K.: Session 7: Early nutrition and later health. Early developmental pathways of obesity and diabetes risk. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 66: 451–457 (2007)
- Escribano, J.; Luque, V.; Ferre, N.; Mendez-Riera, G.; Koletzko, B.; Grote, V.; Demmelmair, H.; Bluck, L.; Wright, A.; Closa-Monasterolo; European Childhood Obesity Trial Study Group: Effekt of protein intake and weight gain velocity on body fat mass at 6 months of age: the EU Childhood Obesity Programme. *International Journal of Obesity* 36: 548–553 (2012)
- Foster, K. G.; Fingar, D. C.: Mammalian target of rapamycin (mTOR): Conducting the cellular signaling symphony. *The Journal of Biological Chemistry* 285: 14071–14077 (2010)
- Fox, H. L.; Pham, P. T.; Kimball, S. R.; Jefferson, L. S.; Lynch, C. J.: Amino acid effects on translational repressor 4E-BP1 are mediated primarily by L-leucine in isolated adipocytes. *The American Journal of Physiology*. 275: C1232–C1238 (1998)
- Horta, B. L.; Victora, C. G.; Lima, R. C.; Post, P.: Weight gain in childhood and blood lipids in adolescence. *Acta paediatrica*. 98: 1024–1028 (2009)
- Ip, S.; Chung, M.; Raman, G.; Chew, P.; Magula, N.; DeVine, D.; Trikalinos, T.; Lau, J.: Breastfeeding and maternal and infant health outcomes in developed countries. *Evidence Report/Technology Assessment*. 153: 1–186 (2007)
- Jewell, J. L.; Russell, R. C.; Guan, K. L.: Amino acid signaling upstream of mTOR. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 14: 133–139 (2013)
- Koletzko, B.; von Kries, R.; Closa, R.; Escribano, J.; Scaglioni, S.; Giovannini, M.; Beyer, J.; Demmelmair, H.; Grusfeld, D.; Dobrzenska, A.; Sengler, A.; Langhendries, J. P.; Rolland Cachera, M. F.; Grote, V.; European Childhood Obesity Trial Study Group: Lower protein in infant formula is associated with lower weight up to age 2 y: a randomized clinical trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 89: 1836–1845 (2009)
- Koletzko, B.; Beyer, J.; Brands, B.; Demmelmair, H.; Grote, V.; Halle, G.; Grusfeld, D.; Rzezak, P.; Socha, P.; Weber, M.; for The European Childhood Obesity Trial Study Group: Early influences of nutrition on postnatal growth. *Nestlé Nutrition Institute Workshop Series*. 71: 11–27 (2013)
- Litonjua, A. A.; Gold, D. R.: Asthma and obesity: common early-life influences in the inception of disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 121: 1075–1084 (2008)
- Melnik, B. C.: Excessive leucine-mTORC1-signaling of cow milk-based infant formula: the missing link to understand early childhood obesity. *Journal of Obesity*. 2012: 197653 (2012)
- Melnik, B. C.; John, S. M.; Schmitz, G.: Milk is not just food but most likely a genetic transfection system activating mTORC1 signalling for postnatal growth. *Nutrition Journal*. 12: 103 (2013)
- O’ Sullivan, A.; He, X.; McNiven, E. M.; Haggarty, N. W.; Lönnérdal, B.; Slupsky, C. M.: Early diet impacts infant Rhesus gut microbiome, immunity, and metabolism. *Journal of Proteome Research*. 12: 2833–2845 (2013)
- Socha, P.; Grote, V.; Grusfeld, D.; Janas, R.; Demmelmair, H.; Closa-Monasterolo, R.; Subias, J. E.; Scaglioni, S.; Verdúc, E.; Dain, E.; Langhendries, J. P.; Perrin, E.; Koletzko, B.; European Childhood Obesity Trial Study Group: Milk protein intake, the metabolic-endocrine response, and growth in infancy: data from a randomized clinical trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 94: 1776S–1784S (2011)
- Ramanathan, A.; Schreiber, S. L.: Direct control of mitochondrial function by mTOR. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 22229–22232 (2009)
- Yang, J. Chi, Y.; Burkhardt, B. R.; Guan, Y.; Wolf, B. A.: Leucine metabolism in regulation of insulin secretion from pancreatic beta cells. *Nutrition Reviews*. 68: 270–279 (2010)
- Zoncu, R.; Efeyan, A.; Sabatini, D. M.: mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 12: 21–35 (2011)
- Yoon, M. S.; Zhang, C.; Sun, Y.; Schoenherr, C. J.; Chen, J.: Mechanistic target of rapamycin (mTOR) controls homeostasis of adipogenesis. *Journal of Lipid Research*. 54: 2166–2173 (2013)
- Die vollständige Literaturliste ist in der Redaktion hinterlegt.

Akne und Ernährung

In industrialisierten Ländern tritt Akne während der Pubertät mit einer Prävalenz von über 80% auf und persistiert zunehmend bei etwa der Hälfte junger Erwachsener in der dritten Lebensdekade [14, 30, 43]. Diese epidemiologischen Befunde verdeutlichen, dass beim Gros auftretender Akne vorwiegend exogene und weniger genetische Faktoren von pathogenetischer Bedeutung sind.

Cordain et al. [16] verdeutlichten, dass Akne eine Zivilisationskrankheit darstellt. Bei sich vorwiegend noch paläolithisch ernährenden Bevölkerungen, die keine Getreide- und Milchprodukte verzehren, konnte selbst während der Pubertät keine Akne beobachtet werden [16]. Die basalen Insulinspiegel der sich paläolithisch ernährenden Kitava-Inselbewohner Papua-Neuguineas liegen 50% niedriger als bei Europäern mit typischem „westlichem“ Ernährungsstil, der durch hohen Konsum von Zucker, hyperinsulinotroper Getreidemehlprodukte, Milch und Milchprodukte gekennzeichnet ist [16, 50]. Der hyperinsulinotrope westliche Ernährungsstil ist mit erhöhtem Body-Mass-Index (BMI), Übergewicht und Insulinresistenz assoziiert. Aktuelle Studien bestätigen die Korrelation von Akne mit erhöhtem BMI sowie Insulinresistenz [8, 23, 24, 32, 91].

Nahrungssensitive Kinase mTORC1

Auf zellulärer Ebene lässt sich der Einfluss der Ernährung bei Akne durch die Nahrungs- und Wachstumsfaktor-sensitive Kinase mTORC1 („mammalian target of rapamycin complex 1“) erklären. Jüngste molekularbiologische Arbeiten unterstreichen die zentrale Bedeutung der übermäßig aktivierte Kinase mTORC1 in der

Pathogenese anaboler Zivilisationskrankheiten wie Adipositas, Insulinresistenz, Diabetes Typ 2 und Krebs [22, 58, 63, 71, 100]. Die Kinase mTORC1 ist der zentrale zelluläre Schalter der Proteinbiosynthese, Lipidbiosynthese, des Zellwachstums, der Zellproliferation und somit anaboler Stoffwechselvorgänge, die letztlich einen erhöhten BMI hervorrufen können [29, 70, 100].

mTORC1 integriert nutritive Signale wie die Wachstumshormone Insulin und Insulin-artiger Wachstumsfaktor-1 (IGF-1), den Energiestatus (ATP/AMP-Ratio) der Zelle sowie die Verfügbarkeit verzweigtketiger essenzieller Aminosäuren vor allem Leucin, Isoleucin und Valin [29, 100]. Liegen alle genannten Signale zur mTORC1-Aktivierung vor, kann die Zelle anabole mTORC1-vermittelte Stoffwechselwege induzieren (Abb. 1). Da eine übermäßige Aktivierung des mTORC1-Signalwegs durch Insulin, IGF-1 sowie essenzielle verzweigtketige Aminosäuren erfolgt, erklärt sich, dass einerseits eine hohe glykämische Last mit erhöhter postprandialer Insulinsekretion sowie andererseits der vermehrte Konsum von Milcheiweiß, der zum Anstieg der Plasmaspiegel von Insulin, IGF-1 und der verzweigtketigen Aminosäuren führt, eine gesteigerte mTORC1-Aktivierung zur Folge hat. Akne kann somit als Mitglied der Familie mTORC1-vermittelter anaboler Zivilisationskrankheiten aufgefasst werden, eine Vorstellung, die die Assoziation von Akne mit erhöhtem BMI und Insulinresistenz erklärt ([60], Abb. 1).

mTORC1-Aktivierung durch hohe glykämische Last

Die Zahl klinischer und epidemiologischer Publikationen, die sich mit dem Einfluss der Ernährung bei Akne auseinander-

nandersetzen, ist in den letzten Jahren sprunghaft angestiegen [9, 19, 20, 21, 55, 67, 77, 83, 93]. Placebokontrollierte, randomisierte Studien von Smith et al. [78, 79, 80, 81] bei australischen Teenagern zeigten überzeugend, dass eine hohe glykämische Last die Entstehung oder Verschlimmerung von Akne fördert und eine Reduktion der glykämischen Last eine klinische Besserung der Akne bewirkt. Der negative Einfluss erhöhter glykämischer Last bei Akne wurde durch weitere Studien bestätigt [42, 44, 47].

» Eine Reduktion der glykämischen Last bewirkt eine klinische Besserung der Akne

Es stellt sich die Frage, durch welche biochemischen Mechanismen eine hohe glykämische Last zur Entstehung oder Verschlimmerung von Akne beiträgt. Wichtigstes endokrines Merkmal einer hohen Aufnahme hyperglykämischer Kohlenhydrate ist die postprandiale Hyperinsulinämie als auch der Anstieg von freiem IGF-1 im Blutplasma [79, 81]. Die Wachstumshormone Insulin und IGF-1 beeinflussen 2 wichtige zelluläre nahrungssensitive Schaltstellen: die Aktivität des metabolischen Transkriptionsfaktors FoxO1 und des Enzyms mTORC1. Erhöhte Insulin/IGF-1-Signale aktivieren den Phosphoinositol-3-Kinase/Akt-Signalweg, der die genregulatorische Funktion von FoxO1 infolge Akt-medierten nukleären Exports von FoxO1 hemmt [40, 92]. Hierdurch verhindert sich die FoxO-induzierte Expression von Sestrin-3, einem Aktivator der AMP-Kinase (AMPK), die mTORC1 hemmt [11]. Der nahrungsmittelsensitive Transkriptionsfaktor FoxO1 ist somit ein indirekter Inhibitor der Wachs-

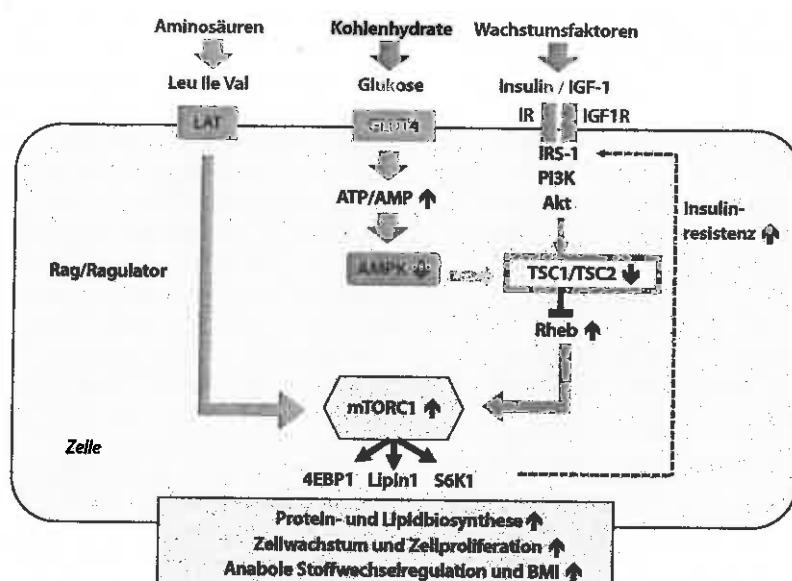


Abb. 1 ▲ Aktivierung der Kinase mTORC1 durch Aminosäuren (Leucin, Isoleucin, Valin), Kohlenhydrate und die Wachstumsfaktoren Insulin und IGF-1. Die durch mTORC1 aktivierte Kinase S6K1 induziert durch inhibitorische Phosphorylierung von IRS-1 („insulin receptor substrate 1“) Insulinresistenz

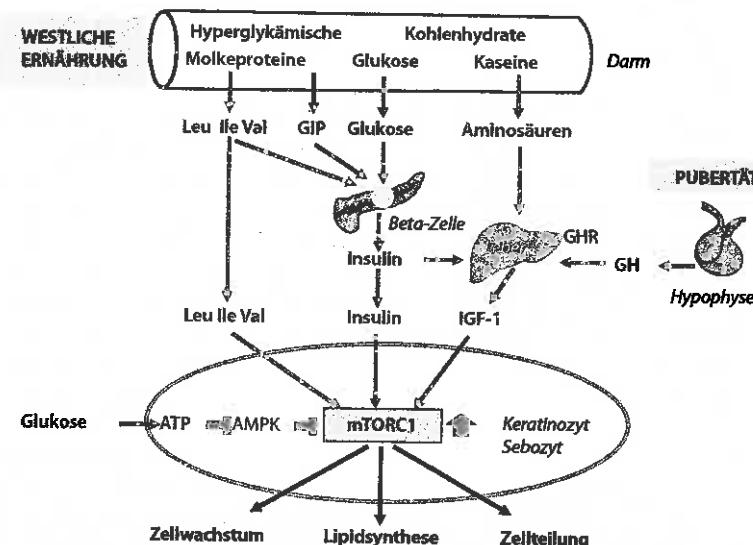


Abb. 2 ▲ Westliche Ernährung (hohe glykämische Last plus Milcheiweiß) steigert die Insulin/IGF-1-Signaltransduktion und überhöht damit pubertätsbedingte IGF-1-Signale der mTORC1-Aktivierung

tum-regulierenden Kinase mTORC1 [35]. Erhöhte Insulin/IGF-1-Signale aktivieren durch Akt-vermittelte Phosphorylierung von TSC2 (Tuberin) dessen inhibitorische Funktion gegenüber mTORC1 [41]. Somit führt eine hohe glykämische Last mit erhöhter Insulin/IGF-1-Signaltransduktion zu einer direkten mTORC1-Aktivierung sowie Abschwächung FoxO-vermittelter mTORC1-Hemmung. Da mTORC1 via Phosphorylierung von Lipin-1 die nu-

kleare Aktivität des wichtigsten Transkriptionsfaktors der Lipogenese SREBP-1 („sterol response element binding protein-1“) erhöht, ist zu erwarten, dass eine Ernährung mit hoher glykämischer Last die SREBP-1-induzierte sebozytäre Lipogenese und damit die Sebumproduktion stimuliert und eine Ernährung mit niedriger glykämischer Last die SREBP-1-Expression und Sebumproduktion vermindert. Tatsächlich zeigten kürzlich Kwon

et al. [47] in Biopsien Akne-befallener Haut, dass eine verminderte glykämische Last die Expression von SREBP-1 signifikant verminderte. Hohe glykämische Last, meist in Kombination mit überhöhter Kalorienzufuhr, erhöht darüber hinaus die zellulären ATP-Spiegel, die die AMP-Kinase (AMPK) hemmen und somit die anabole Wirkung des mTORC1-Signalwegs weiter stimulieren (Abb. 2). Eine hohe glykämische Last ist somit ein wesentlicher Faktor in der mTORC1-vermittelten Pathogenese der Akne.

Induktion von Akne durch Milch, Milchprodukte und Molkeprotein-Konzentrate

Auch der vermehrte Konsum von Milch und Milchprodukten ist ein höchst bedeutsamer Faktor für die Entstehung und Aggravierung der Akne. US-amerikanische retrospektive (Nurses Health Study) und prospektive epidemiologische Studien (Growing Up-Today Study) lieferen erste epidemiologische Hinweise für den Zusammenhang zwischen erhöhtem Milchkonsum und Akne [1, 2, 3]. Kürzlich berichteten Di Landro et al. [24] in einer kontrollierten Fallstudie in Italien, dass vermehrter Milchkonsum mit einem signifikant erhöhten Aknerisiko assoziiert ist. Weitere klinische Studien unterstützen den Zusammenhang zwischen erhöhtem Konsum von Milch bzw. Milchprodukten und Akne [42, 44, 56, 57]. Von besonders kritischer Bedeutung ist der in der Bodybuilding-Szene praktizierte Molkeprotein- und Kasein-Abusus, der nicht nur eine anabole Wirkung auf Muskelzellen hat, sondern auch auf Zellen des Talgdrüsensfollikels [75, 76]. Molekularbiologische Untersuchungen bestätigten, dass die orale Zufuhr von 26,6 g Molkeprotein-Konzentrat bei gesunden Probanden die Kinase mTORC1 in biopsiertem Muskelgewebe aktivierte [28].

Milch: ein endokrines Signalsystem der Säugetiere

Funktion der Molkeproteine

Es stellt sich die Frage nach dem endokrinen Wirkungsmechanismus der Milch in der Pathogenese der Akne. Dabei wird

immer klarer, dass Milch kein „gewöhnliches“ Lebensmittel ist, sondern ein hochpotentes endokrines Signalsystem der Säugetiere zur Förderung postnatalen Wachstums. Trotz aller Fortschritte der modernen Endokrinologie befinden wir uns erst am Anfang, die endokrine Signaltransduktion der Milch als postnatales „Startersystems“ der Säugetierevolution zu verstehen. Die Signalwege der Milch lassen sich jedoch durch die Beobachtung der überhöhten endokrinen Effekte des Kuhmilchkonsums beim Menschen entschlüsseln [59, 61]. Milch ist jedenfalls nicht, wie irrtümlicherweise bei der Einführung künstlicher Säuglingsnahrung in den 1930er-Jahren angenommen, „just food“ [10], sondern ein maternoneonatales Botensystem, das der Steigerung mTORC1-abhängiger anaboler Wachstumsprozesse beim Neugeborenen dient. Das endokrine System der Milch wirkt dabei via Transfer insulinotroper Aminosäuren und aktiviert die Kinase mTORC1 in den Zellen des Empfängers durch systemische Erhöhung der Hormonbildung von Insulin und IGF-1 sowie Bereitstellung mTORC1-aktivierender Aminosäuren ([59, 61], Abb. 2).

Von zentraler Bedeutung für die endokrine Funktion der Milch sind die wasserlöslichen, im Darm schnell hydrolysierbaren Molkeproteine, die innerhalb weniger Minuten in die Blutbahn des Empfängers gelangen und die Synthese und Sekretion von Insulin steigern (Abb. 2). Molkeprotein stimuliert im Dünndarm darüber hinaus die Sekretion des Inkretins GIP („glucose-dependent insulinotropic polypeptide“), das zusammen mit den insulinotropen Aminosäuren (Leucin, Isoleucin, Valin) der Molke zum postprandialen Insulinanstieg führt (Abb. 3, [65, 73]). Diese postprandialen Molkeprotein-induzierten Insulinpulse tragen zur Aktivierung der mTORC1 maßgeblich bei.

Schon lange ist bekannt, dass die in Molkeproteinen angereicherten verzweigtkettigen Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Valin die mTORC1-Aktivität der β -Zellen steigern und die mTORC1-abhängige Insulinsynthese fördern [33, 46, 54, 97]. Diese Befunde verdeutlichen die Botenfunktion der Aminosäuren der Molkeproteine für mTORC1-abhängiges Wachstum (Abb. 2).

Hautarzt 2013 · 64:252–262 DOI 10.1007/s00105-012-2461-5
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

B.C. Melnik

Acne und Ernährung

Zusammenfassung

In industrialisierten Ländern tritt Akne als eine epidemische Zivilisationskrankheit des Talgdrüsenvollikels Jugendlicher und junger Erwachsener auf, assoziiert mit erhöhtem Body-Mass-Index und Insulinresistenz. „Westlicher“ Ernährungsstil, gekennzeichnet durch hohe glykämische Last und vermehrten Konsum insulinotroper Milcheiweiße, spielt in der Pathogenese der Akne eine bedeutende Rolle. Nahrungsinduzierte metabolische Signale werden auf zellulärer Ebene durch den metabolischen Transkriptionsfaktor FoxO1 detektiert und durch die Kinase mTORC1 integriert. mTORC1, der zelluläre Hauptregulator der Protein- und Lipiddbiosynthese, des Zellwachstums und der Zellproliferation, wird durch Insulin und IGF-1 sowie verzweigt-

tige essenzielle Aminosäuren, vor allem Leucin, aktiviert. Das Verständnis der Signaltransduktion westlicher Nahrung mit überhöhter mTORC1-Aktivität begründet die diätetische Aknetherapie mit Verminderung der glykämischen Last und übermäßigen Milcheiweißkonsums. Geeignet zur Abschwächung überhöhter mTORC1-Aktivität ist eine paläolithisch betonte Ernährung mit reduziertem Konsum von Zucker, hyperglykämischen Getreiden, Milch und Milchprodukten, jedoch erhöhtem Konsum von Gemüse und Fisch.

Schlüsselwörter

Glykämische Last · Milch · mTORC1 · Talgdrüsenvollikel · Ernährung

Acne and diet

Abstract

In industrialized countries acne presents as an epidemic disease of civilization affecting sebaceous follicles of adolescents and young adults, associated with increased body mass index and insulin resistance. “Western style” diet, characterized by high glycaemic load and increased consumption of insulinotropic milk proteins, plays an important role in acne pathogenesis. On the cellular level, nutrient-derived metabolic signals are sensed by the metabolic transcription factor FoxO1 and integrated by the regulatory kinase mTORC1. mTORC1, the central hub of protein- and lipid biosynthesis, cell growth and proliferation, is activated by insulin, IGF-1 and branched-

chain essential amino acids, especially leucine. The understanding of Western diet-mediated nutrient signalling with over-activated mTORC1 offers a reasonable approach for dietary intervention in acne by lowering glycaemic load and consumption of milk and milk products. A suitable diet attenuating increased mTORC1 activity is a Palaeolithic-like diet with reduced intake of sugar, hyperglycaemic grains, milk and milk products but enriched consumption of vegetables and fish.

Keywords

Glycemic load · Milk · mTORC1 · Sebaceous follicle · Nutrition

Funktion der Kaseine

Die mit 80% in der Kuhmilch mengenmäßig dominierende Kaseinfaktion hat im Vergleich zu Molkeprotein einen geringeren Einfluss auf die Insulinsekretion, steigert jedoch die IGF-1-Plasmaspiegel um 20–30% [17, 26, 38, 72]. Somit verursacht Milcheiweißkonsum während der Pubertät eine weitere Steigerung der bereits schon pubertätsbedingt hochregulierten IGF-1-vermittelten Aktivierung mTORC1-abhängiger Signaltransduktion. Milch und Pubertät verfolgen in gleichsinniger Weise die Induktion von IGF-1 und IGF-1-vermittelter mTORC1-Akti-

vierung und stellen damit postnatales und pubertätsinduziertes Wachstum sicher.

Milch stellt somit im Gegensatz zu den Strukturproteinen von Fleisch und Fisch ein Signaleiweiß dar. Milcheiweiß übt einen deutlich stärkeren Einfluss auf die Erhöhung der Insulin- und IGF-1-Spiegel aus als Fleisch und Fisch (Tab. 1). Somit bewirkte der Ernährungswandel des Menschen von der paläolithischen Ernährungsform der Jäger- und Sammler (keine Getreide, keine Milch) zur neolithischen Ernährungsweise (Getreide, Milch und Milchprodukte) eine enorme Erhöhung der nahrungsinduzierten mTORC1-Signalwirkung. Diese wurde während der Industrialisierung durch die „Getreidever-

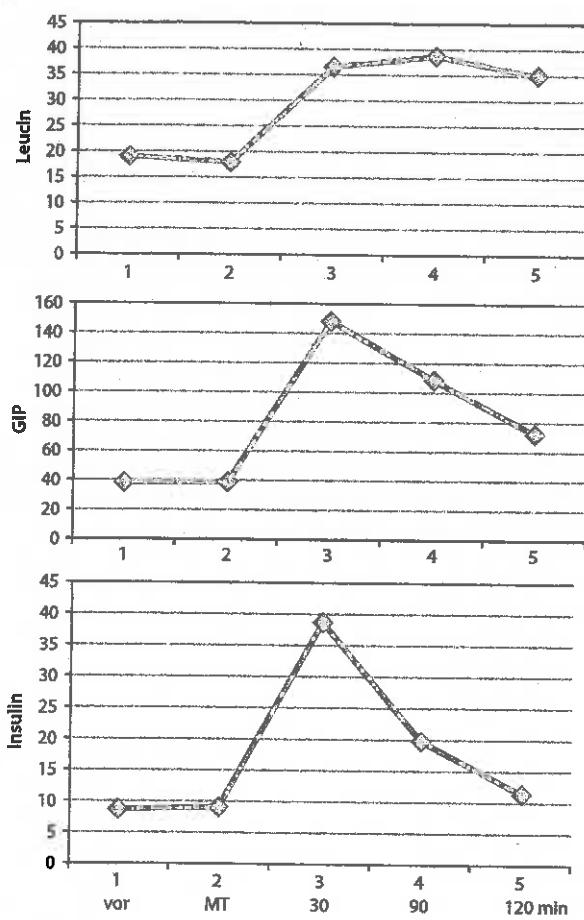


Abb. 3 ▲ Postprandiale Plasmaspiegel von Leucin, GIP und Insulin nach einem 30 g Molkeprotein-Trunk (MT) bei 10 gesunden Probanden (2 Frauen, 8 Männer, mittleres Alter 26 Jahre; eigene Befunde B.C. Melnik, S.M. John, G. Schmitz 2011)

edlung“ zu hyperglykämischen Feinmehlen sowie ständigem und steigendem Zugriff auf Milch und vielfältige Milchprodukte durch flächendeckende Kühltechnologie maximiert.

Akne, erhöhter BMI und Insulinresistenz

Die Assoziation von Akne und gesteigertem BMI als auch die Beziehung zwischen Akne und Insulinresistenz [8, 23, 24, 32, 91] sind durch die ernährungsbedingte Überhöhung der mTORC1-Aktivität gut erklärbar. Die durch Insulin oder IGF-1 aktivierte mTORC1 steigert auf zellulärer Ebene anabole Prozesse, die einer Rückkopplungshemmung unterliegen. Eine zentrale Schaltstelle der Signaltransduktion des Insulins ist das Adapterprotein des Insulinrezeptors, IRS-1 („insulin receptor substrate 1“), dessen Aktivität und Funktion durch inhibitorische Phosphorylierung verschiedener Kinasen

herunterreguliert wird [99]. Eine dieser IRS-1-hemmenden Kinasen ist die Kinas S6K1, ein Hauptsubstrat der mTORC1 (Abb. 1). Übermäßige mTORC1-Aktivierung durch „Western diet“ führt somit zu einer S6K1-induzierten Rückkopplungshemmung der Signalkette des Insulins und zur Insulinresistenz. S6K1-induzierte Insulinresistenz ist somit Ausdruck übersteigerter mTORC1-Aktivierung, die vor allem bei Akne-assoziierten Insulinresistenzsyndromen wie dem Syndrom der polyzystischen Ovarien (PCOS) oder dem HAIR-AN (Hyperandrogenismus, Insulinresistenz, Acanthosis nigricans)-Syndrom besonders deutlich hervortritt ([13, 23], Abb. 1). Insulinresistenz kann somit als Marker überhöhter mTORC1-Aktivität aufgefasst werden und stellt grundsätzlich einen passageren Schutzmechanismus der Zellen vor übermäßiger mTORC1-Aktivierung dar. Pathogenetisch problematisch wird erst die chronisch persistierende Insulinresistenz.

» Chronischer Milcheiweißkonsum erhöht das Adipositas- und Diabetesrisiko

Da Milch als endokrines anaboles System der mTORC1-Aktivierung fungiert, ist einerseits zu erwarten, dass Milchkonsum den BMI erhöht sowie Insulinresistenz induziert. Die NHANES-Studie (National Health and Nutrition Examination Survey von 1999 bis 2004 dokumentierte höhere BMI-Perzentilen bei 2- bis 4-jährigen Kindern in den USA in Assoziation mit erhöhtem Milchkonsum [95]. Di Landro et al. [24] fanden ein erhöhtes Aknerisiko bei Jugendlichen in Relation zu erhöhtem Milchkonsum. Dagegen war ein geringerer BMI mit einem verminderter Aknerisiko assoziiert. Arnberg et al. [6] berichteten kürzlich, dass der tägliche Konsum von jeweils 35 g Molkeprotein, 35 g Kasein oder 35 g Magermilcheiweiß den BMI und den C-Peptid-Plasmaspiegel (ein Maß der Insulinsekretion) bei dänischen übergewichtigen Jugendlichen weiter steigerte. Pädiater der Universität Harvard bestätigten, dass die Plasmakonzentrationen von Leucin, Isoleucin und Valin, den dominierenden Aminosäuren der Milchproteine, bei Kindern und Jugendlichen zum Übergewicht und zur Insulinresistenz korrelierten [53]. Hoppe et al. [37] demonstrierten bei 8-jährigen dänischen Jungen, dass die tägliche Aufnahme von 53 g Milcheiweiß, nicht aber von 53 g Fleisch, die basalen Insulinspiegel erhöhte und Insulinresistenz induzierte. Da Insulinresistenz mit Hyperinsulinämie langfristig zu einer Überlastung der β -Zellen führt, ist zu erwarten, dass chronischer Milcheiweißkonsum das Adipositas- und Diabetesrisiko erhöht [58]. Kürzlich publizierte Daten der Physicians' Health Study verdeutlichen, dass sich durch Verdopplung der Zahl zugeführter Milchmahlzeiten auch die Diabetesprävalenz nahezu verdoppelte [82].

Tab. 1 Relative Unterschiede der Insulin- und IGF-1-Induktion tierischer Eiweiße

| Eiweißquelle | Leu-Ile-Val pp ^a | Insulin | IGF-1 |
|--------------|-----------------------------|---------|-------|
| Milcheiweiß | ↑↑↑ | ↑↑↑ | ↑↑↑ |
| Fleisch | ↑↑ | ↑↑ | ↑↑ |
| Fisch | ↑ | ↑ | ↑ |

^aPostprandialer Anstieg von Leucin-Isoleucin-Valin im Plasma.**Tab. 2** Vergleich endokriner Wirkungen paläolithischer, neolithischer und „westerner“ Ernährung

| Ernährungsweise | BCAA | Insulin | IGF-1 | mTORC1 | Insulinresistenz |
|-----------------|------|---------|-------|--------|------------------|
| Paläolithisch | ↑ | ↑ | ↑ | ↑ | - |
| Neolithisch | ↑↑ | ↑↑ | ↑↑ | ↑↑ | ↑ |
| „Western diet“ | ↑↑↑ | ↑↑↑ | ↑↑↑ | ↑↑↑ | ↑↑ |

Tab. 3 Vergleich der insulinotropen Wirkung essentieller verzweigtkettiger Aminosäuren von Milch- und Fischereiweiß (Adaptiert nach [64])

| Eiweißquelle | Gehalt ^a (18,2 g) | Gehalt Leucin | Gehalt Isoleucin | Gehalt Valin | Plasma ^b Leucin | Plasma ^b Isoleucin | Plasma ^b Valin | Insulinogen- erer Index ^c |
|--------------|---------------------------------|------------------|---------------------|-----------------|-------------------------------|----------------------------------|------------------------------|---|
| Kabeljau | 1364 | 774 | 1097 | 0,2±0,1 | 0,2±0,1 | 0,3±0,1 | 0,14±0,01 | |
| Milcheiweiß | 1775 | 852 | 1170 | 2,8±0,3 | 2,1±0,4 | 2,3±0,3 | 0,55±0,08 | |
| Molkeprotein | 1764 | 1016 | 1725 | 3,9±0,3 | 3,2±0,3 | 3,1±0,3 | 0,72±0,20 | |

^aAminosäuregehalt in mg. ^b0–45 min in mol x min/l. ^c0–45 min (area under the curve).

Signaleiweiß versus Struktureiweiß

IGF-1

Milcheiweiße sind Signaleiweiße im Gegensatz zu Struktureiweißen wie Fleisch und Fisch. Die tägliche Zufuhr von 200–600 ml Milch erhöhte bei 2,5-jährigen dänischen Kindern die Serumspiegel von IGF-1 um 30% [36]. Der IGF-1-Anstieg korrelierte zur Aufnahme von tierischem Eiweiß und Milch, nicht dagegen zur Aufnahme von pflanzlichem Eiweiß und Fleisch [36]. Auch bei 8-jährigen dänischen Jungen zeigte sich ein höherer IGF-1-Anstieg bei Aufnahme von Milcheiweiß im Vergleich zu Fleisch [37]. Der Vergleich von Molkeeiweiß und Kasein zeigte, dass primär die Kaseinfaktion zur IGF-1-Steigerung durch Milcheiweißkonsum führt [38]. Der jährliche Käse-Prokopfverbrauch verfünfachte sich in Deutschland von 1935 mit 3,9 kg auf 23,1 kg in 2011 [58]. Neue Kreationen wie „Qwäse“ (Käse-Quark-Kombinationen) werden diesen Trend weiter verschärfen. Diese Befunde verdeutlichen, dass Milcheiweiß die stärkste tierische Eiweißquelle mit IGF-1-induzierender Wirkung ist (Tab. 2).

Insulin

Milcheiweiß weist einen doppelt so hohen insulinären Index (I.I. 98–115) auf wie Rindfleisch (I.I. 5; [39]). Von allen tierischen Eiweißen enthält Milcheiweiß den höchsten Anteil schnell bereitgestellter insulinotroper Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Valin [39]. Fischeiweiß dagegen hat gegenüber Fleisch und Milcheiweiß den geringsten Gehalt an insulinotropen Aminosäuren [64]. Die Tab. 3 vergleicht die postprandialen Plasmaspiegel und den insulinogenen Index einer Testmahlzeit von jeweils 18,2 g Fischeiweiß (Kabeljau), Milcheiweiß und Molkeprotein [64]. Milcheiweiß, insbesondere Molkeeiweiß, hatte gegenüber Fischeiweiß einen signifikant höheren insulinotropen Effekt. Diese Beobachtungen stehen mit Befunden von Di Landro et al. [24] in Einklang, die einen Akne-protectiven Effekt durch vermehrten Konsum von Fischeiweiß gegenüber Milch beobachteten. Auch die in Island durchgeführte Studie zur Evaluierung der Beziehung zwischen Milchkonsum und Prostatakarzinom fand eine niedrigere Prävalenz des Prostatakarzinoms bei Küstenbewohnern mit höherem Fischkonsum im Vergleich zu Erkrankten im Zentralbereich der Insel, wo vermehrt Milch und Milch-

produkte erzeugt und konsumiert werden [90]. Bemerkenswerterweise steigt die Mortalität von Prostatakrebs bei vermehrtem Milchkonsum [68, 82], sinkt dagegen bei erhöhtem Fischkonsum [49, 88]. Eine mögliche Erklärung für den protektiven Effekt von Fisch gegenüber Milcheiweiß ist dessen geringerer Gehalt an insulinotropen Aminosäuren (Tab. 3). Von Post-Skagegard et al. [94] untersuchten bei 17 gesunden Frauen die postprandialen Insulinreaktionen nach Testmahlzeiten von Milch-, Soja- und Fischeiweiß (Kabeljau). Die höchsten postprandialen Insulinspiegel fanden sich bei Milcheiweiß (2942 „area units“), gefolgt von Sojaeiweiß (2841 „area units“), wohingegen die Insulinantwort auf Fischeiweiß (2328 „area units“) am niedrigsten war. Sojaeiweiß ist aufgrund seiner starken Insulinantwort für Aknepatienten kein adäquater Milchersatz. Diese Befunde erklären die bekannte anabole Wirkung von Sojaeiweiß, die bei der Tiermast genutzt wird.

Milchkonsum: Risikofaktor der Akne und des Prostatakarzinoms

Die androgenabhängige Talgdrüse und die androgenabhängige Prostata scheinen auf die mTORC1-Stimulierung durch Milch besonders sensibel zu reagieren. Die molekularbiologischen Beziehungen zwischen Milchkonsum und mTORC1-propagierter Kanzerogenese beim Prostatakarzinom wurden kürzlich umfassend dargestellt [61]. Für die adäquate Morphenese der Prostata ist die Signalhöhe der mTORC1 von entscheidender Bedeutung. Die prospektive European Investigation into Cancer and Nutrition zeigte bei 142.251 Männern, dass eine höhere Zufuhr von Milcheiweiß das Prostatakrebsrisiko signifikant steigerte [4]. Die tägliche Aufnahme von 35 g Milcheiweiß erhöhte das Prostatakrebsrisiko um 32% [4]. Diese Menge an Milcheiweiß entspricht der Größenordnung, die eine Erhöhung des BMI und Insulinresistenz induziert [6, 37]. Auch die kürzlich publizierten Daten der Physicians' Health Study offenbaren die signifikante Beziehung zwischen Milcheiweißkonsum und Prostatakrebsrisiko [82].

In diesem Zusammenhang sind Befunde der Health Professionals Follow-

Tab. 4 Vergleich neolithischer vs. paläolithische Ernährungsweise

| Neolithische Ernährungsweise moderner Industrienationen | Paläolithische Ernährungsweise von Jäger- und Sammlerkulturen |
|---|--|
| Getreide, Getreideprodukte (vor allem raffinierte Feinmehle mit hohem GI) | Keine Getreide |
| Hoher Konsum von Zucker (vor allem raffinierter Saccharose) | Geringer Zuckerkonsum (meist Fruktose aus Früchten) |
| Hoher Konsum insulinotroper Milch und Milchprodukte (infolge ständiger Verfügbarkeit von Milch durch Tierhaltung und Kühltechnologie) | Keine Milch und Milchprodukte |
| Fleisch (ständige Verfügbarkeit durch Massentierhaltung, Kühltechnologie) | Zeitlich limitierter Fleischkonsum in Abhängigkeit von Jagderfolg und Saison |
| Fisch | Hoher Fischkonsum bei Bewohnern von Küsten, Seen und Flüssen |
| Obst und Gemüse | Früchte, Beeren, Gemüse, Knollen, Nüsse |
| Kartoffeln | Keine |
| Butter, Margarine, raffinierte Öle | Keine |
| Meist kalorische Überernährung | Häufiger Hungerphasen |
| G/glykämischer Index | |

up Study bemerkenswert, die eine erhöhte Prävalenz tetrazyklipflichtiger, klinisch stärkerer Akne bei später an Prostatakrebs erkrankten Studienteilnehmern beobachteten [85]. Da die sexuelle Reifung der Prostata während der Pubertät unter dem Einfluss mTORC1-abhängiger Morphogeneseprozesse stattfindet, ist gut vorstellbar, dass erhöhter Milchkonsum während der Pubertät die mTORC1-Signalachse pathologisch überhöht und somit einerseits Akne auslöst und andererseits Morphogenestörungen der Prostata mit erhöhtem Entartungsrisiko induziert [61].

» Eine höhere Zufuhr von Milcheiweiß steigert das Prostatakrebsrisiko

Die isländische Kohortenstudie berichtet, dass täglicher Milchkonsum bis zum 20. Lebensjahr das Risiko eines fortschreitenden Prostatakarzinoms im Alter um den Faktor 3,2 signifikant erhöhte [90].

Milch, Pubertät und frühzeitige Menarche

Verständlicherweise drängt sich die Frage auf, warum Akne als mTORC1-getriebene Erkrankung trotz persistierender insulinotroper Ernährungsweise meist nicht im Erwachsenenalter fortbesteht. Dies lässt sich dadurch erklären, dass ein

potenter Kofaktor der mTORC1-Aktivierung, das während der Pubertät hochregulierte Hormon IGF-1, nach dem Pubertätsmaximum über die nachfolgenden Lebensdekaden physiologischerweise wieder abfällt. Da Milcheiweißkonsum die IGF-1-Plasmaspiegel überhöht [17, 26, 57, 72], überlagern sich die Effekte der IGF-1-induzierenden Signaltransduktion der Milch mit der pubertätsbedingten hepatischen IGF-1-Sekretion (Abb. 2). Durch erhöhte Insulin/IGF-1-Signalwirkung westlicher Ernährungsweise erklärt sich somit die zunehmende Persistenz der Akne in der dritten Lebensdekade [14].

» Erhöhter Milchkonsum führt zu vorzeitiger Menarche

In industrialisierten Ländern wird Akne als „normales“ Begleitphänomen der Pubertät aufgefasst, nicht dagegen bei sich paläolithisch ernährenden Kitava-Bewohnern, die keine Getreide und Milchprodukte verzehren [16]. Dagegen bewertete eine klinische Studie in den USA das Auftreten von Acne comedonica als erstes Zeichen pubertärer Reifung [51]. Die Schwere der Komedonenakne korrelierte dabei zum Schweregrad der Akne während der Pubertät [52]. Bemerkenswerterweise zeigte diese Studie, dass die Menarche bei Mädchen mit leichter Komedonenakne später auftrat als bei Mädchen mit starker Komedonenakne [52]. Jüngs-

te Befunde der NHANES-Studie unterstützen, dass erhöhter Milchkonsum zu vorzeitiger Menarche führt [96]. Damit zeichnet sich eine Korrelation zwischen vermehrtem Milchkonsum, verfrühtem Auftreten der Menarche und Akne ab. Höchst bedenklich ist, dass mehrere aktuelle epidemiologische Studien verfrühte Menarche mit erhöhtem Risiko der Entwicklung von Adipositas, Typ-2-Diabetes und metabolischem Syndrom assoziieren [12, 15, 25, 62, 69, 84].

Als klinisches Merkmal der Pubertät gilt bei Jungen der Stimmbruch, der durch ein vermehrtes Wachstum der Stimmbänder hervorgerufen wird. Es ist bekannt, dass der Stimmbruch zum Hodenvolumen korreliert [34]. Das Hodenvolumen wiederum steht in Beziehung zur Höhe der Serum-IGF-1-Spiegel [45], die durch Milchkonsum signifikant erhöht werden [17, 26, 57, 72].

Westliche Ernährung und Akne-fördernde Genpolymorphismen

Während bei nicht substituierten kleinkörpernden Individuen mit Laron-Syndrom mit Defekt des Wachstumshormonrezeptors (GHR) infolge kongenitalen IGF-1-Mangels keine Akne, kein Diabetes und nur selten Krebs auftritt [7, 31], ist das Risiko, an Akne zu erkranken, bei Individuen mit Genpolymorphismen des Androgenrezeptors (AR; [66, 74, 98]), des Tumornekrosefaktor-Gens (TNF; [5, 86, 87]) und des IGF-1-Gens (IGF1) erhöht [89]. Gemeinsam ist diesen Genpolymorphismen, dass sie zu einer verstärkten mTORC1-Aktivierung führen. AR-Polymorphismen mit kurzen CAG-Sequenzlängen steigern die Aktivität des Androgenrezeptors und damit die androgenabhängige Aktivierung des mTORC2/Akt/TSC2/mTORC1-Signalwegs [27]. Erhöhte Expression von TNF-α aktiviert die Kinase IKKβ und damit die TSC1-vermittelte Aktivierung von mTORC1 [18, 48]. Erhöhte Expression von IGF-1 überhöht die Aktivierung der PI3K/Akt/TSC2/mTORC1-Signalkaskade [55, 60] (Abb. 1). Daraus kann gefolgert werden, dass die westliche Ernährungsweise (Tab. 4, 5) die Akneentstehung vor allem bei Individuen mit genetisch erhöhtem Aknerisiko begüns-

| Zu reduzierende Nahrungsmittel neolithischer Ernährungsweise | Zu empfehlende Nahrungsmittel paläolithisch betonter Ernährung |
|--|--|
| Kohlenhydrate mit hohem glykämischen Index (GI >50) und hoher glykämischer Last (GL >50) | Kohlenhydrate mit niedrigem glykämischen Index (GI <50) und niedriger glykämischer Last (GL <50) |
| Glukose, Zucker | Wasser, Tee, Kaffee (ohne Milch und Zucker), Apfelschorle |
| Süßigkeiten, Eiscreme | |
| Zuckerhaltige Softdrinks (Cola u. a.) | |
| Weißbrot | Vollkornbrot (100%) |
| Brötchen | |
| Pizza | |
| Nudeln, Spaghetti | Vollkornnudeln |
| Kartoffeln, Pommes frites | Gemüse, Salate, Früchte, Beeren |
| Chips | |
| Cornflakes (GI >50) mit Milch (I.I. 100) | Vollkommüsl ggf. mit „Hafermilch“ |
| Vollmilchschokolade | Bittere Schokolade (>70% Kakao) |
| Milch- und Milchprodukte mit hohem insulinären Index (I.I. >100, hoher Leucin-Gehalt) | |
| Milch aller Fettstufen | |
| Joghurt | |
| Quark (enthält Molkeeiweiß bei Herstellung durch Ultrafiltration) | Gereifter Käse in Maßen (I.I. <50), jedoch hoher Leucin-Gehalt |
| Molkeeiweißkonzentrate zum Bodybuilding (höchster Leucin-Gehalt und hoher I.I. >100) | |
| Sojamilch (hoher Leucin-Gehalt, hoher I.I., daher keine Alternative zu Milch) | |
| | Fisch (im Vergleich zu Milcheiweiß geringerer I.I. und Leucin-Gehalt) |
| Bohnen (hoher I.I.) | |
| I.I. insulinärer Index | |

tigt. Befunde von Jung et al. [44] zeigen, dass sich nahrungsaggravierte Akne in stärkerem Maße bei Individuen mit höheren IGF-1-Serumspiegeln (543,9 ng/ml) fand als bei Individuen mit niedrigeren IGF-1-Spiegeln (391,3 ng/ml), die keine Aggravation ihrer Akne durch Nahrungsmittel berichteten.

Schlussfolgerungen

Akne erscheint bei der Mehrzahl jugendlicher und junger Erwachsener in industrialisierten Ländern als sichtbares metabolisches Syndrom der Haut, das maßgeblich auf eine überhöhte Aktivität der Kinase mTORC1 zurückgeführt werden kann. Hohe glykämische Last sowie vermehrter Konsum von Milch und Milchprodukten, Errungenschaften der neolithischen Revolution, sind potente Aktivatoren der Kinase mTORC1. Milch ist kein gewöhnliches Nahrungsmittel, sondern

ein endokrines postnatales Signalsystem zur mTORC1-Aktivierung. Die Persistenz endokriner Signalgebung durch Milch ist nach der postnatalen Wachstumsphase von der Natur nicht vorgesehen. Physiologischerweise wird durch intestinale Suppression des Laktasegens nach der Stillzeit der Milchkonsum bei den Säugetieren terminiert. Durch die mutationsbedingte Laktasepersistenz ist bei der Mehrzahl der europäischen Bevölkerung jedoch ein dauerhafter, lebenslanger Milchkonsum möglich. Die vorherrschende westliche Ernährungsweise mit persistierendem Milchkonsum kann somit als Maximierung neolithischer Ernährungsumstellung betrachtet werden. Die durch westliche Ernährung überstimulierten Signallewege des Insulins und IGF-1 führen zu einer Überstimulierung der zentralregulatorischen Kinase mTORC1, die erhöhtes Zellwachstum, vermehrte Zellproliferation, vermehrte Lipogenese, Er-

höhung des BMI und Insulinresistenz induziert. Akne erscheint somit als sichtbares sebofollikuläres Korrelat nutritiv übersteuerter mTORC1-Aktivität.

» Der Hautarzt sollte Akne als Systemkrankheit auffassen

Der Hautarzt sollte Akne daher in Analogie zur Psoriasis als Systemkrankheit auffassen und sich nicht nur der sichtbaren kutanen Pathologie zuwenden, sondern den metabolischen Marsch der Akne in Richtung ernster mTORC1-assozierter Zivilisationskrankheiten wie Adipositas, Diabetes und Krebs durch frühzeitige diätetische Intervention verhindern [60]. Auch Burris et al. [102] berichteten kürzlich über die Evidenzlage einer medizinischen Ernährungstherapie bei Akne. Die Dermatologie kann somit durch frühzeitige Korrektur gesundheitsschädlichen Ernährungsverhaltens bei der Beratung und Behandlung von Aknepatienten einen sehr wertvollen Beitrag zur Prävention unserer Zivilisationskrankheiten leisten.

Fazit für die Praxis

- Hohe glykämische Last sowie vermehrter Konsum von Milch und Milchprodukten charakterisieren die westliche neolithische Ernährung mit übersteigerter Aktivierung der nahrungssensitiven Kinase mTORC1.
- Akne imponiert als sichtbare Zivilisationskrankheit und weist ernste Assoziationen zu erhöhtem BMI, Adipositas, Insulinresistenz, erhöhtem Diabetes- und Prostatakrebsrisiko auf.
- Der Hautarzt sollte sich nicht ausschließlich auf die Pharmakotherapie der Akne beschränken, sondern mittels diätetischer Intervention die systemisch überhöhte mTORC1-Signal-Kette abschwächen.
- Eine effektive Verminderung nahrungsstimulierter mTORC1-Aktivität ist durch eine paläolithische Ernährung mit Reduktion hyperglykämischer Kohlenhydrate und insulinotro-

- per Milch und Milchprodukte zu erreichen.
- Vermehrter Konsum von Gemüse und Fisch ist bei Akne zu empfehlen.
- Insulinotrope Sojamilch ist kein alternativer Milchersatz.
- Vor den gesundheitlichen Risiken des Abusus von Milcheiweißkonzentraten beim Bodybuilding muss gewarnt werden.
- Der Hautarzt sollte bei seinen Aknepatienten die Chance zur frühzeitigen diätetischen Prävention mTORC1-assozierter Zivilisationskrankheiten nutzen.

Korrespondenzadresse



Prof. Dr. B.C. Melnik
Dermatologie,
Umweltmedizin und
Gesundheitstheorie,
Universität Osnabrück
Sedanstr. 115,
49090 Osnabrück
melnik@t-online.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Adebamowo CA, Spiegelman D, Danby FW et al (2005) High school dietary intake and acne. *J Am Acad Dermatol* 52:207–211
2. Adebamowo CA, Spiegelman D, Berkey CS et al (2006) Milk consumption and acne in adolescent girls. *Dermatology Online J* 12:1–12
3. Adebamowo CA, Spiegelman D, Berkey CS et al (2008) Milk consumption and acne in teenagers boys. *J Am Acad Dermatol* 58:787–793
4. Allen NE, Key TJ, Appleby PN et al (2008) Animal foods, protein, calcium and prostate cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Br J Cancer* 98:1574–1581
5. Al-Shobaili HA, Salem TA, Alzolibani AA et al (2012) Tumor necrosis factor- α -308 G/A and interleukin 10-182A/G gene polymorphisms in patients with acne vulgaris. *J Dermatol Sci* 66:52–55
6. Amberg K, Mølgaard C, Michaelsen KF et al (2012) Skim milk, whey, and casein increase body weight and whey and casein increase the plasma c-peptide concentration in overweight adolescents. *J Nutr* 142:2083–2090
7. Ben-Amital D, Laron Z (2011) Effect of insulin-like growth factor-1 deficiency or administration on the occurrence of acne. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 25:950–954
8. Bourne S, Jacobs A (1956) Observations on acne, seborrhoea, and obesity. *Br Med J* 1:1268–1270
9. Bowe WP, Joshi SS, Shalita AR (2010) Diet and acne. *J Am Acad Dermatol* 63:124–141
10. Bryder L (2009) From breast to bottle: a history of modern infant feeding. *Endeavour* 33:S4–S9
11. Chen CC, Jeon SM, Bhaskar PT et al (2010) FoxOs inhibit mTORC1 and activate Akt by inducing the expression of Sestrin3 and Rictor. *Dev Cell* 18:592–604
12. Chen L, Zhang C, Yeung E et al (2011) Age at menarche and metabolic markers for type 2 diabetes in premenopausal women: the BioCycle study. *J Clin Endocrinol Metab* 96:E1007–E1012
13. Chen W, Obermayer-Pietsch B, Hong JB et al (2011) Acne-associated syndromes: models for better understanding acne pathogenesis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 25:637–646
14. Collier CN, Harper JC, Cafardi JA et al (2008) The prevalence of acne in adults 20 years and older. *J Am Acad Dermatol* 58:56–59
15. Conway BN, Shu XO, Zhang X et al (2012) Age at menarche, the leg length to sitting height ratio, and risk of diabetes in middle-aged and elderly Chinese men and women. *PLoS One* 7:e30625
16. Cordain L, Lindeberg S, Hurtado M et al (2002) Acne vulgaris: a disease of Western civilization. *Arch Dermatol* 138:1584–1590
17. Crowe FL, Key TJ, Allen NE et al (2009) The association between diet and serum concentrations of IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-2, and IGFBP-3 in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 18:1333–1340
18. Dan HC, Cooper MJ, Cogswell PC et al (2008) Akt-dependent regulation of NF- κ B is controlled by mTOR and Raptor in association with IKK. *Genes Dev* 22:1490–1500
19. Danby FW (2010) Nutrition and acne. *Clin Dermatol* 28:598–604
20. Danby FW (2011) New, relevant information and innovative interventions in the management of acne. *G Ital Dermatol Venereol* 146:197–210
21. Danby FW (2011) Acne: diet and acneogenesis. *Indian Dermatol Online J* 2:2–5
22. Dann SG, Selvaraj A, Thomas G (2007) mTOR Complex1-S6K1 signaling: at the crossroads of obesity, diabetes and cancer. *Trends Mol Med* 13:252–259
23. Del Prete M, Mauriello MC, Faggiano A et al (2012) Insulin resistance and acne: a new risk factor for men? *Endocrine* 42:555–560
24. Di Landro A, Cazzaniga S, Parazzini F et al (2012) Family history, body mass index, selected dietary factors, menstrual history, and risk of moderate to severe acne in adolescents and young adults. *J Am Acad Dermatol* 67:1129–1135
25. Dreyfus JG, Lutsey PL, Huxley R et al (2012) Age at menarche and risk of type 2 diabetes among African-American and white women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Diabetologia* 55:2371–2380
26. Esterle L, Sabatier J-P, Guillou-Metz F et al (2008) Milk, rather than other foods, is associated with vertebral bone mass and circulating IGF-1 in female adolescents. *Osteoporos Int* 20:567–575
27. Fang Z, Zhang T, Dizzeby N et al (2012) Androgen receptor enhances p27 degradation in prostate cancer cells through rapid and selective TORC2 activation. *J Biol Chem* 287:2090–2098
28. Farmfield MM, Carey KA, Gran P et al (2009) Whey protein ingestion activates mTOR-dependent signalling after resistance exercise in young men: a double-blinded randomized controlled trial. *Nutrients* 1:263–275
29. Foster KG, Fingar DC (2010) Mammalian target of rapamycin (mTOR): conducting the cellular signaling symphony. *J Biol Chem* 285:14071–14077
30. Ghodsi SZ, Orawa H, Zouboulis CC (2009) Prevalence, severity and severity risk factors of acne in high school pupils: a community-based study. *J Invest Dermatol* 129:2136–2141
31. Guevara-Aguirre J, Balasubramanian P, Guevara-Aguirre M et al (2011) Growth hormone receptor deficiency is associated with a major reduction in pro-aging signaling, cancer, and diabetes in humans. *Sci Transl Med* 3:1–9
32. Halvorsen JA, Vliegels RA, Bjertness E, Lien L (2012) A population-based study of acne and body mass index in adolescents. *Arch Dermatol* 148:131–132
33. Hara K, Yonezawa K, Wenig OP et al (1998) Amino acid sufficiency and mTOR regulate p70S6 kinase and eIF-4E BP1 through a common effector mechanism. *J Biol Chem* 273:14484–14494
34. Harries ML, Walker JM, Williams DM et al (1997) Changes in the male voice at puberty. *Arch Dis Child* 77:445–447
35. Hay N (2011) Interplay between FOXO, TOR, and Akt. *Biochim Biophys Acta* 1813:1965–1970
36. Hoppe C, Udam TR, Lauritsen L et al (2004) Animal protein intake, serum insulin-like growth factor-1, and growth in healthy 2.5-y-old Danish children. *Am J Clin Nutr* 80:447–452
37. Hoppe C, Mølgaard C, Vaag A et al (2005) High intakes of milk, but not meat, increase s-insulin and insulin resistance in 8-year-old boys. *Eur J Clin Nutr* 59:393–398
38. Hoppe C, Mølgaard C, Dalum C et al (2009) Differential effects of casein versus whey on fasting plasma levels of insulin, IGF-1 and IGF-1/IGFBP-3: results from a randomized 7-day supplementation study in prepubertal boys. *Eur J Clin Nutr* 63:1076–1083
39. Hoyt G, Hickey MS, Cordain L (2005) Dissociation of the glycaemic and insulinemic responses to whole and skimmed milk. *Br J Nutr* 93:175–177
40. Huang H, Tindall DJ (2007) Dynamic FoxO transcription factors. *J Cell Sci* 120:2479–2487
41. Inoki K, Li Y, Zhu T et al (2002) TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nat Cell Biol* 4:648–657
42. Ismail NH, Abdul Manaf Z, Azizan NZ (2012) High glycemic load, milk and ice cream consumption are related to acne vulgaris in Malaysian young adults: a case control study. *BMC Dermatol* 12:13
43. James WD (2005) Clinical practice: acne. *N Engl J Med* 352:1463–1472
44. Jung JY, Youn MY, Min SU et al (2010) The influence of dietary patterns on acne vulgaris in Koreans. *Eur J Dermatol* 20:768–772
45. Juul A, Bang P, Hertel NT et al (1994) Serum insulin-like growth factor-I in 1030 healthy children, adolescents, and adults: relation to age, sex, stage of puberty, testicular size, and body mass index. *J Clin Endocrinol Metab* 78:744–752
46. Kwon G, Marshall CA, Pappan KL et al (2004) Signaling elements involved in the metabolic regulation of mTOR by nutrients, incretins, and growth factors in islets. *Diabetes* 53:S225–S232
47. Kwon HH, Yoon JY, Hong JS et al (2012) Clinical and histological effect of a low glycaemic load diet in treatment of acne vulgaris in Korean patients: a randomized, controlled trial. *Acta Derm Venereol* 92:241–246
48. Lee DF, Kuo HP, Chen CT et al (2007) IKK beta suppression of TSC1 links inflammation and tumor angiogenesis via the mTOR pathway. *Cell* 130:440–455
49. Leitzmann MF, Rohrmann S (2012) Risk factors for the onset of prostatic cancer: age, location, and behavioral correlates. *Clin Epidemiol* 4:1–11

50. Lindeberg S, Eliasson M, Lindahl B, Ahrén B (1999) Low serum insulin in traditional Pacific Islanders – the Kitava study. *Metabolism* 48:1216–1219
51. Lucky AW, Biro FM, Huster GA et al (1994) Acne vulgaris in premenarchal girls. An early sign of puberty associated with rising levels of dehydroepiandrosterone. *Arch Dermatol* 130:308–314
52. Lucky AW, Biro FM, Simbarti LA et al (1997) Predictors of severity of acne vulgaris in young adolescent girls: results of a five-year longitudinal study. *J Pediatr* 130:30–39
53. McCormack SE, Shaham O, McCarthy MA et al (2013) Circulating branched-chain amino acid concentrations are associated with obesity and future insulin resistance in children and adolescents. *Pediatr Obes* 8:S2–S1
54. McDaniel ML, Marshall CA, Pappan KL, Kwon G (2002) Metabolic and autocrine regulation of the mammalian target of rapamycin by pancreatic β -cells. *Diabetes* 51:2877–2885
55. Melnik B (2010) Acne vulgaris. Role of diet. *Hautarzt* 61:115–125
56. Melnik BC (2009) Milk – the promoter of chronic Western diseases. *Med Hypotheses* 72:631–639
57. Melnik B (2009) Milk consumption: aggravating factor of acne and promoter of chronic diseases of Western societies. *J Dtsch Dermatol Ges* 7:364–370
58. Melnik BC (2012) Leucine signalling in the pathogenesis of type 2 diabetes and obesity. *World J Diabetes* 15:38–53
59. Melnik BC (2012) Excessive leucine-mTORC1-signalling of cow milk-based infant formula: the missing link to understand early childhood obesity. *J Obes* 2012:D197652
60. Melnik B (2012) Dietary intervention in acne: attenuation of increased mTORC1 signalling promoted by Western diet. *Dermatoendocrinol* 4:20–32
61. Melnik BC, John SM, Carrera-Bastos P, Cordain L (2012) The impact of cow's milk-mediated mTORC1-signaling in the initiation and progression of prostate cancer. *Nutr Metab (Lond)* 9:74
62. Mendoza N, Galliano D, Salamanca A et al (2010) Lowering the age at menarche and risk of early menarche in a population of Spanish postmenopausal women during the past two decades. *Menopause Int* 16:111–114
63. Mleulev V, Lamb RF (2010) Tuberous sclerosis complex: linking cancer to metabolism. *Trends Mol Med* 16:329–335
64. Nilsson M, Stenberg M, Frid AK et al (2004) Glycemia and insulinemia in healthy subjects after lactose-equivalent meals of milk and other food proteins: the role of plasma amino acids and incretins. *Am J Clin Nutr* 80:1246–1253
65. Nilsson M, Holst JJ, Björck IM (2007) Metabolic effects of amino acid mixtures and whey protein in healthy subjects: studies using glucose-equivalent drinks. *Am J Clin Nutr* 85:996–1004
66. Pang Y, He CD, Liu Y et al (2008) Combination of short CAG and GGN repeats in the androgen receptor gene is associated with acne risk in North East China. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 22:1445–1451
67. Paoli A, Grimaldi K, Tonoli L et al (2012) Nutrition and acne: therapeutic potential of ketogenic diets. *Skin Pharmacol Physiol* 25:111–117
68. Pettersson A, Kasperzyk JL, Kenfield SA et al (2012) Milk and dairy consumption among men with prostate cancer and risk of metastases and prostate cancer death. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 21:428–436
69. Pierce MB, Kuh D, Hardy R (2012) The role of BMI across the life course in the relationship between age at menarche and diabetes, in a British Birth Cohort. *Diabet Med* 29:600–603
70. Porstmann T, Santos CR, Lewis C et al (2009) A new player in the orchestra of cell growth: SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to the regulation of cell and organ size. *Biochem Soc Trans* 37:278–283
71. Proud CG (2011) mTOR signalling in health and disease. *Biochem Soc Trans* 39:431–436
72. Rich-Edwards JW, Ganmaa D, Pollak MN et al (2007) Milk consumption and the prepubertal somatotrophic axis. *Nutr J* 6:28
73. Salehi A, Gunnerud U, Muhammed SJ et al (2012) The insulinogenic effect of whey protein is partially mediated by a direct effect of amino acids and GIP on β -cells. *Nutr Metab (Lond)* 9:48
74. Sawaya ME, Shalita AR (1998) Androgen receptor polymorphism (CAG repeat lengths) in androgenetic alopecia, hirsutism, and acne. *J Cutan Med Surg* 3:9–15
75. Silverberg NB (2012) Whey protein precipitating moderate to severe acne flares in 5 teenaged athletes. *Cutis* 90:70–72
76. Simonart T (2012) Acne and whey protein supplementation among bodybuilders. *Dermatology* 225:256–258
77. Skroza N, Tolino E, Semyonov L et al (2012) Mediterranean diet and familial dysmetabolism as factors influencing the development of acne. *Scand J Public Health* 40:466–474
78. Smith RN, Mann NJ, Braue A et al (2007) A low-glycemic-load diet improves symptoms in acne vulgaris patients: randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 86:107–115
79. Smith RN, Mann NJ, Braue A et al (2007) The effect of a high-protein, low glycemic-load diet versus a conventional, high glycemic-load diet on biochemical parameters associated with acne vulgaris: a randomized, investigator-masked, controlled trial. *J Am Acad Dermatol* 57:247–256
80. Smith RN, Braue A, Varigos GA, Mann NJ (2008) The effect of a low glycemic load diet on acne vulgaris and the fatty acid composition of skin surface triglycerides. *J Dermatol Sci* 50:41–52
81. Smith R, Mann NJ, Mäkeläinen H et al (2008) A pilot study to determine the short-term effects of a low glycemic load diet on hormonal markers of acne: a nonrandomized, parallel, controlled feeding trial. *Mol Nutr Food Res* 52:718–726
82. Song Y, Chavarro JE, Cao Y et al (2013) Whole milk intake is associated with prostate cancer-specific mortality among U.S. male physicians. *J Nutr* 143:189–196
83. Spencer EH, Ferdowsian HR, Barnard ND (2009) Diet and acne: a review of the evidence. *Int J Dermatol* 48:339–347
84. Stöckl D, Meissner C, Peters A et al (2011) Age at menarche and its association with the metabolic syndrome and its components: results from the KORA F4 study. *PLoS One* 6:e26076
85. Sutcliffe S, Giovannucci E, Isaacs WB et al (2007) Acne and risk of prostate cancer. *Int J Cancer* 121:2688–2692
86. Szabó K, Kemény L (2011) Studying the genetic predisposing factors in the pathogenesis of acne vulgaris. *Hum Immunol* 72:766–773
87. Szabó K, Tax G, Teodorescu-Birnbaum D et al (2011) TNF α gene polymorphisms in the pathogenesis of acne vulgaris. *Arch Dermatol Res* 303:19–27
88. Szymanski KM, Wheeler DC, Mucci LA (2010) Fish consumption and prostate cancer risk: a review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 92:1223–1233
89. Tasi I, Turgut S, Kacar N et al (2013) Insulin-like growth factor-I gene polymorphism in acne vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 27:254–257
90. Torfadottir JE, Steingrimsdottir L, Mucci L et al (2012) Milk intake in early life and risk of advanced prostate cancer. *Am J Epidemiol* 175:144–153
91. Tsai MC, Chen WC, Cheng YW et al (2006) Higher body mass index is a significant risk factor for acne formation in schoolchildren. *Eur J Dermatol* 16:251–253
92. Van der Heide LP, Hoekman MF, Smid MP (2004) The ins and outs of FoxO shuttling: mechanisms of FoxO translocation and transcriptional regulation. *Biochem J* 380:297–309
93. Veith WB, Silverberg NB (2011) The association of acne vulgaris with diet. *Cutis* 88:84–91
94. Von Post-Skjæregård M, Vessby B, Karlström B (2006) Glucose and insulin responses in healthy women after intake of composite meals containing cod-, milk-, and soy protein. *Eur J Clin Nutr* 60:949–954
95. Wiley AS (2010) Dairy and milk consumption and child growth: Is BMI involved? An analysis of NHANES 1999–2004. *Am J Hum Biol* 22:517–525
96. Wiley AS (2011) Milk intake and total dairy consumption: associations with early menarche in NHANES 1999–2004. *PLoS One* 6:e14685
97. Yang J, Chi Y, Burkhardt BR et al (2010) Leucine metabolism in regulation of insulin secretion from pancreatic beta cells. *Nutr Rev* 68:270–279
98. Yang Z, Yu H, Cheng B et al (2009) Relationship between the CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene and acne in the Han ethnic group. *Dermatology* 218:302–306
99. Zick Y (2005) Ser/Thr phosphorylation of IRS proteins: a molecular basis for insulin resistance. *Sci STKE* 268:pe4
100. Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM (2011) mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 12:21–35
101. Cordain L (2006) The dietary cure for acne. The paleo diet. LLC, Fort Collins
102. Burris J, Rietkerk W, Woolf K (2013) Acne: the role of medical nutrition therapy. *J Acad Nutr Diet* 113(3):416–430

Leucine signaling in the pathogenesis of type 2 diabetes and obesity

Bodo C Melnik

Bodo C Melnik, Department of Dermatology, Environmental Medicine and Health Theory, University of Osnabrück, D-49090 Osnabrück, Germany

Author contributions: Melnik BC solely contributed to this paper.

Supported by Bertelsmann Foundation Gütersloh, Germany

Correspondence to: Bodo C Melnik, MD, Professor, Department of Dermatology, Environmental Medicine and Health Theory, University of Osnabrück, Sedanstrasse 115, D-49090 Osnabrück, Germany. melnik@t-online.de

Telephone: +49-5241-988060 Fax: +49-5241-25801

Received: October 23, 2011 Revised: February 29, 2012

Accepted: March 9, 2012

Published online: March 15, 2012

Abstract

Epidemiological evidence points to increased dairy and meat consumption, staples of the Western diet, as major risk factors for the development of type 2 diabetes (T2D). This paper presents a new concept and comprehensive review of leucine-mediated cell signaling explaining the pathogenesis of T2D and obesity by leucine-induced over-stimulation of mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1). mTORC1, a pivotal nutrient-sensitive kinase, promotes growth and cell proliferation in response to glucose, energy, growth factors and amino acids. Dairy proteins and meat stimulate insulin/insulin-like growth factor 1 signaling and provide high amounts of leucine, a primary and independent stimulator for mTORC1 activation. The downstream target of mTORC1, the kinase S6K1, induces insulin resistance by phosphorylation of insulin receptor substrate-1, thereby increasing the metabolic burden of β-cells. Moreover, leucine-mediated mTORC1-S6K1-signaling plays an important role in adipogenesis, thus increasing the risk of obesity-mediated insulin resistance. High consumption of leucine-rich proteins explains exaggerated mTORC1-dependent insulin secretion, increased β-cell growth and β-cell proliferation promoting an early onset of replicative β-cell senescence with

subsequent β-cell apoptosis. Disturbances of β-cell mass regulation with increased β-cell proliferation and apoptosis as well as insulin resistance are hallmarks of T2D, which are all associated with hyperactivation of mTORC1. In contrast, the anti-diabetic drug metformin antagonizes leucine-mediated mTORC1 signaling. Plant-derived polyphenols and flavonoids are identified as natural inhibitors of mTORC1 and exert anti-diabetic and anti-obesity effects. Furthermore, bariatric surgery in obesity reduces increased plasma levels of leucine and other branched-chain amino acids. Attenuation of leucine-mediated mTORC1 signaling by defining appropriate upper limits of the daily intake of leucine-rich animal and dairy proteins may offer a great chance for the prevention of T2D and obesity, as well as other epidemic diseases of civilization with increased mTORC1 signaling, especially cancer and neurodegenerative diseases, which are frequently associated with T2D.

© 2012 Baishideng. All rights reserved.

Key words: Adipogenesis; Dairy proteins; Diabetes; Leucine; Meat; Mammalian target of rapamycin complex 1; Obesity

Peer reviewers: Dr. G William Lyerly, Coastal Carolina University, Department of Kinesiology, Coastal Carolina University, PO Box 261954, Conway, SC 29573, United States; Dr. Patti L Darbshire, Department of Pharmacy Practice, Purdue University, 575 Stadium Mall Drive, West Lafayette, IN 47907, United States

Melnik BC. Leucine signaling in the pathogenesis of type 2 diabetes and obesity. *World J Diabetes* 2012; 3(3): 38-53 Available from: URL: <http://www.wjgnet.com/1948-9358/full/v3/i3/38.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.4239/wjd.v3.i3.38>

INTRODUCTION

The prevalence of diabetes mellitus is increasing worldwide and the number is expected to reach 366 million by

2030^[1]. Ninety percent of patients with diabetes have type 2 diabetes (T2D). T2D and obesity are major features of the metabolic syndrome, which significantly increases the risk of coronary heart disease, cancer and neurodegenerative diseases. More than 11% of US adults aged ≥ 20 years have diabetes^[2]. Although obesity and sedentary lifestyle account for much of the increase in the prevalence of T2D, dietary factors play an important role in the development of T2D^[3,4]. The protein-enriched "Western diet" has especially been associated with an increased risk of T2D, confirmed by several cohort studies^[5-18].

ANIMAL PROTEIN INTAKE AND T2D

During the last decades, the most attention has been paid to the role of high fat and high glycemic load as dietary risk factors in the development of T2D^[4]. Although several studies^[5,6,9,11-16,19] already pointed to an association between higher meat intake and increased risk of T2D, the functional effects of dietary proteins in the regulation of β -cell homeostasis has not received appropriate medical attention. Most Americans consume protein in excess of their needs^[20]. Protein intake averaged 56 ± 14 g/d in young children, increased to a high of approximately 91 ± 22 g/d in adults aged 19-30 years, and decreased to approximately 66 ± 17 g/d in the elderly^[20]. The nutrition transition in Asian countries to Westernized dietary patterns has been associated with an increased prevalence of Western diseases, including T2D. In 1998, it was reported that secular trends in Japan exhibit a positive correlation between the intake of animal protein and animal fat and the rate of T2D among Japanese school children^[17]. A higher animal protein intake also occurred in China and was associated with economic progress^[18]. The total daily intake of animal proteins (g/d) of adult Chinese residents from 1998 to 2004 increased from 101 g/d to 161 g/d, respectively^[18]. The relative increases of individual animal meat intake rose from 1998 to 2004 for pork by 19.2%, for all processed meats by 200%, eggs and egg products by 136%, fish by 25% and milk and milk products by 500%, respectively^[18].

The Hong Kong Dietary Survey investigated the relationship between dietary intake and the development of T2D in China and recently confirmed that a dietary pattern containing "more vegetables, fruits and fish" was associated with a 14% lower risk of T2D, whereas the consumption of "more meat and milk products" was associated with a 39% greater risk of T2D^[19]. The evaluation of 3 cohorts of United States adults (Health Professional Follow-Up Study, Nurses' Health Study I and II) suggested that red meat consumption is associated with an increased risk of T2D^[21].

INCREASING TOTAL INTAKE OF LEUCINE

There is a worldwide increase in animal and dairy protein consumption, exemplified by the yearly increase of meat and cheese consumption per capita in the Federal Republic of Germany from 1950 after World War II to

Table 1 Average annual animal protein consumption (kg) per capita in Germany

| Source of animal protein | 1950/1951 | 1974/1975 | 2007/2008 |
|------------------------------------|-----------|-----------|------------------|
| Total meat (without fat and bones) | 26.3 | 55.8 | 60.4 |
| Egg/egg products | 7.5 | 17.3 | 13.0 |
| Fish | 6.9 | 4.1 | 7.5 ¹ |
| Cheese | 3.9 | 11.7 | 22.3 |

¹Fish fillet weight approximated with 48% of given catch weight; Data source: Statistics of Ministry for Nutrition, Agriculture and Consumer Protection, Federal Republic of Germany.

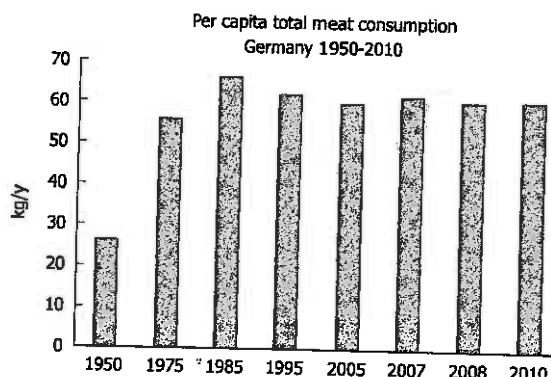


Figure 1 Annual per capita total meat consumption (kg) in Germany from 1950 to 2010.

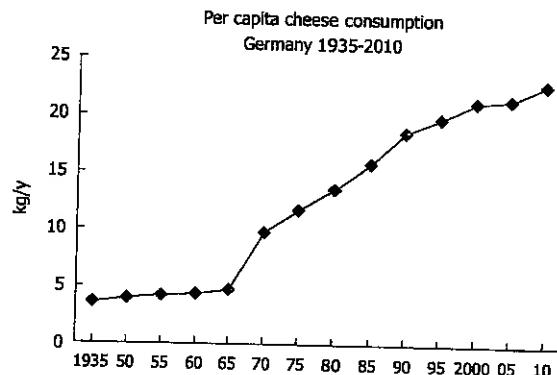


Figure 2 Annual per capita cheese consumption (kg) in Germany from 1935 to 2010.

2008 (Table 1). The per capita total meat consumption per year increased from 26.3 kg in 1950 to 60.5 kg in 2010, respectively (Figure 1). Furthermore, the total cheese per capita intake increased from 1950 to 2010 from 3.9 kg to 22.8 kg, respectively (Figure 2). Meat and dairy proteins (whey protein and casein) are rich sources of leucine (Table 2). The high leucine content of meat and dairy proteins provided by the typical Western diet significantly differs from the low leucine intake of vegetable- and fruit-based traditional Asian diets (Table 3). Thus, during the last 5 decades there has been a steady increase in leucine intake, exemplified by total annual per capita leucine consumption of the German population (Table 4, Figure 3).

| Table 2 Leucine-enriched animal-derived foods | |
|---|-------------------------|
| Food | Leucine (mg/100 g food) |
| Tilsit cheese (30% fat) | 2950 |
| Semi-hard cheese (30% fat) | 2503 |
| Beef (rump steak) | 2369 |
| Gouda cheese (40% fat) | 2356 |
| Pork meat, lean, cooked | 2101 |
| Codfish, cooked | 1883 |
| Broiler, cooked | 1806 |
| Curd cheese (20% fat) | 1290 |
| Yoghurt (3.5% fat) | 410 |
| Cow milk (1.5% fat) | 381 |

Source: German Nutrient Database, BLS-version 3.01.

| Table 3 Plant-derived foods with low-leucine content | |
|--|-------------------------|
| Food | Leucine (mg/100 g food) |
| Corn (cooked) | 394 |
| Wheat (cooked) | 274 |
| Rice (cooked) | 219 |
| Broccoli (cooked) | 193 |
| Cauliflower (cooked) | 185 |
| Potato (cooked) | 124 |
| White cabbage (cooked) | 56 |
| Tomato | 38 |
| Apple | 16 |

Source: German Nutrient Database, BLS-version 3.01.

PRIMACY OF LEUCINE FOR ACTIVATION OF TORC1

Leucine, isoleucine and valine are essential branched-chain amino acids (BCAAs) important for the regulation of growth, protein biosynthesis and metabolism^[22]. Signaling through the nutrient-sensitive kinase mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) is activated by amino acids, with the BCAA leucine playing a major role^[23,24]. Since mTORC1 signaling positively regulates protein synthesis and ribosome biogenesis, both of which require amino acids, it makes physiological sense that mTORC1 signaling is regulated by amino acid availability. Withdrawal of leucine has been shown to be nearly as effective in down-regulation of mTORC1 signaling as withdrawal of all amino acids^[24]. Moreover, the preeminent effect of leucine withdrawal has been consistently observed in a variety of cell types, thus underlining the primacy of leucine in amino acid-mediated mTORC1 regulation^[25]. Intriguingly, rat plasma levels of leucine were linearly related to the intake of gram protein diet regardless of the dietary source^[26]. In humans, highest postprandial leucine concentrations have been measured after a whey protein meal, followed by a milk meal and a cheese meal, respectively^[27]. The strongest correlation between postprandial insulin responses and early increments in plasma amino acids was demonstrated for leucine, valine, lysine and isoleucine. In comparison to other amino acids, leucine exhibited the highest insulinogenic

Table 4 Animal protein intake per capita (g/y) in Germany

| Animal protein | 1950/1951 | 1974/1975 | 2007/2008 |
|---|------------|-------------|-------------|
| Total meat | 552 | 1172 | 1268 |
| (approx. 21 g leucine/kg) | | | |
| Egg/egg products | 98 | 225 | 169 |
| (approx. 13 g leucine/kg) | | | |
| Fish | 131 | 78 | 143 |
| (approx. 19 g leucine/kg) | | | |
| Cheese | 96 | 293 | 558 |
| (approx. 25 g leucine/kg) | | | |
| Average total per capita leucine uptake (g/y) | 877 (100%) | 1768 (199%) | 2138 (241%) |

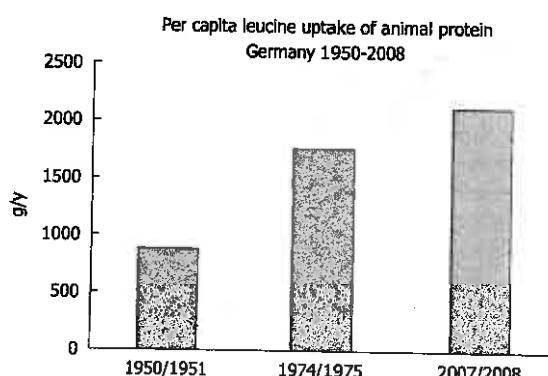


Figure 3 Annual per capita leucine uptake (g) of animal protein in Germany 1950 to 2008.

index^[27]. These observations emphasize the crucial role of leucine in mTORC1 regulation, β-cell growth, β-cell proliferation and insulin secretion.

TORC1: CONVERGENCE POINT OF NUTRIENT SIGNALING

Recent discoveries in the field of molecular biology have established the key role of the nutrient-sensitive kinase mTORC1 in the regulation of multiple central cell functions, including gene transcription, translation, ribosome biogenesis, protein synthesis, cell growth, cell proliferation, lipid synthesis and suppression of autophagy^[28-33]. mTORC1 has been identified as the convergence point of nutrient-derived signaling (Figure 4). mTOR is a multi-domain protein of approximately 300 kDa exhibiting a protein kinase domain at its C-terminus related to phosphoinositol-3-kinases (PI3K). In mammalian cells, two functionally different mTOR complexes exist: mTORC1 and mTORC2, respectively. Among other functional proteins, mTORC1 contains the important partner protein Raptor, which interacts with substrates for mTORC1-mediated phosphorylation. mTORC1 controls the G₁/S transition and G₂/M progression of the cell cycle^[30]. In contrast to mTORC2, which contains the partner protein Rictor, only mTORC1 plays a special role in sensing cellular nutrients, amino acid- and energy (ATP) levels impor-



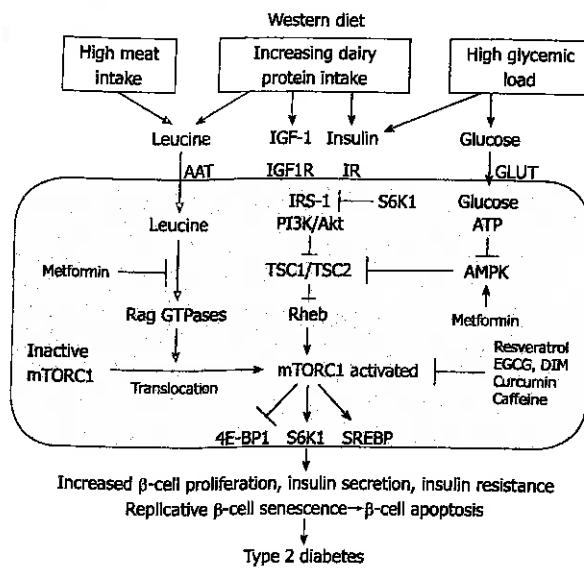


Figure 4 Nutrient-mediated over-stimulation of mTORC1 by leucine-enriched Western diet. Leucine, insulin/insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and glucose activate mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1). Activated mTORC1 stimulates β -cell proliferation, increases insulin secretion and p70 S6 kinase 1 (S6K1)-mediated insulin resistance leading to early replicative β -cell senescence and apoptosis thus promoting the development of type 2 diabetes. AAT: Amino acid transporter; IR: Insulin receptor; GLUT: Glucose transporter protein; IRS-1: Insulin receptor substrate 1; PI3K: Phosphoinositid-3 kinase; Akt: Akt kinase [α -protein kinase B (PKB)]; TSC1: Tuberous sclerosis complex 1 (hamartin); TSC2: Tuberous sclerosis complex 2 (tuberin); AMPK: Adenosine monophosphate-activated protein kinase; EGCG: Epigallocatechin gallate; DIM: 3,3'-diindolylmethane; SREBP: Sterol regulatory element-binding transcription factor.

tant for cell growth and proliferation. Liver kinase B1 and AMP-activated protein kinase (AMPK) are critical regulators of mTORC1^[34]. Most functions of mTORC1 are inhibited by rapamycin, a triene macrolide antibiotic synthesized by *Streptomyces hygroscopicus*^[28,33]. mTORC1 has to be regarded as a key node in cell signaling because it integrates many intra- and extracellular signals, such as growth factors [insulin, insulin-like growth factor 1 (IGF-1)], energy-sensing signals (glucose, the AMP/ATP-ratio regulating AMPK) and, most importantly, the availability of amino acids, especially leucine for mTORC1 activation^[25] (Figure 4).

LEUCINE-STIMULATED TORC1 SIGNALING

Recent advances in cell biology have elucidated two parallel mechanisms of mTORC1 activation: (1) the upstream activation of the small GTPase Rheb (Ras homolog enriched in brain) by growth factor signals and high glucose levels; and (2) the amino acid-mediated Rag GTPase-dependent translocation of inactive mTORC1 to active Rheb localized at late endosome or lysosome compartments^[35-38] (Figure 4). Moreover, it has been shown that mTORC1 activity is regulated by Rab and Arf family small GTPases, which stimulate mTORC1 activation by regulation of intracellular trafficking, particularly in response to amino

acids^[39]. Most recently, Raptor has been identified as an interacting partner of the signaling adaptor p62, which is an integral part of the mTORC1 complex and is necessary to mediate amino acid signaling for the activation of S6K1 and 4E-BP1^[40]. p62 interacts in an amino acid-dependent manner with mTORC1 and Raptor and binds the Rag proteins and favors formation of the active Rag heterodimer that is further stabilized by Raptor. Interestingly, p62 co-localizes with Rags at the lysosomal compartment and is required for the interaction of mTORC1 with Rag GTPases *in vivo* and for translocation of the mTORC1 complex to the lysosome, a crucial step for mTORC1 activation^[23,40].

The activity of Rheb is tightly regulated by the tuberous sclerosis proteins TSC1 (hamartin) and TSC2 (tuberin), which form a functional heterodimeric complex. Intriguingly, loss-of-function mutations of either the *TSC1* or *TSC2* gene cause the hamartoma syndrome tuberous sclerosis. TSC1 stabilizes TSC2 that possesses a GTPase-activating protein, which hydrolyses GTP to GDP. The TSC1/TSC2 complex provides this function to Rheb, leading to inactivation of Rheb. Insulin and IGF-1 both activate the kinase Akt (protein kinase B) as well as other growth-related kinases such as ERK and RSK phosphorylate TSC2, thereby inhibiting the function of the TSC1/TSC2 complex. This inhibition leads to activation of Rheb and finally activation of mTORC1^[41-43] (Figure 4).

Besides the important input of growth factor signaling on mTORC1 activation, AMPK, an essential energy sensor, plays a key role in energy-dependent mTORC1 regulation. During states of energy-deficient conditions like glucose deprivation, ATP levels fall and cAMP levels rise, resulting in AMPK activation. AMPK phosphorylates TSC2 and Raptor, thereby suppressing mTORC1 activity^[34,44,45]. Moreover, the AMPK activator cAMP inhibits mTORC1 and mTORC2 activity^[46]. Remarkably, cAMP inhibits insulin and amino acid-stimulated mTORC1 activation independently of Rheb, Rag GTPases, TSC2, Akt, MAPK and AMPK, indicating that cAMP may act independently of known regulatory inputs into mTORC1^[46]. Abundant cellular energy with low cAMP levels induced by the hypercaloric Western diet with high glycemic load thus reduces AMPK activity and cAMP levels and thus stimulates mTORC1 signaling.

There is convincing evidence that other important nutrient and growth factor-sensors, especially the FoxO transcription factors, modulate mTORC1 signaling^[47]. Increased insulin/IGF-1 signaling and activation of the PI3K/Akt-pathway results in Akt-mediated nuclear phosphorylation of FoxO proteins, thereby promoting their extrusion from the nucleus into the cytoplasm. This FoxO shuttling mechanism functions as a molecular switch for FoxO-mediated gene regulation. Like mTORC1, FoxOs are involved in the regulation of cell metabolism, proliferation, apoptosis, anti-oxidative stress responses and autophagy^[48]. Intriguingly, FoxOs have emerged as important rheostats that coordinate the activity of Akt and mTORC1^[47]. Activated FoxOs (FoxO1, FoxO3, FoxO4) induce the expression of Sestrin3, which activates AMPK

to inhibit mTORC1 in a TSC2-dependent manner^[49]. Furthermore, AMPK has been shown to phosphorylate FoxO3 and facilitate its nuclear localization^[50]. It has been demonstrated that Akt-phosphorylated cytoplasmic FoxO1 is able to associate with the C terminus of TSC2, thereby dissociating the TSC1/TSC2 complex, leading to activation of mTORC1^[51].

AMINO ACID DEPLETION DOWNREGULATES TORC1

In response to amino acid depletion, mTORC1 activity is rapidly abolished^[24]. Amino acid starvation impairs binding of mTORC1 to Rheb^[52,53]. From all essential amino acids, leucine exerts the greatest effects on mTORC1 signaling^[24,30,33]. Recent evidence has been provided that amino acids and especially leucine promote the cellular translocation of inactive mTORC1 to lysosomal compartments enriched in activated Rheb^[35,37]. This spatial regulation of inactive mTORC1 by amino acids is mediated by an active Rag heterodimer and is of utmost biological importance as it explains the complete mechanism of nutrient sensing of mTORC1. Thus, mTORC1 integrates not only growth factor/energy-derived signals to Rheb, but requires a parallel leucine-dependent signaling pathway for final mTORC1 activation by translocation of inactive mTORC1 to cell compartments enriched in activated Rheb (Figure 4). These two independent major pathways of mTORC1 activation explain why either insulin/IGF-1 signaling or amino acid signaling alone is not sufficient to reach maximal mTORC1 activation. Insulin is not able to activate the mTORC1 pathway when cells are deprived of amino acids^[53]. In fact, recent experimental evidence confirmed that both insulin and amino acid signaling are required for maximal mTORC1 activity in rat liver^[54].

AMINO ACID-TORC1/S6K1-INDUCED INSULIN RESISTANCE

Insulin resistance and obesity, as well as obesity-related insulin resistance, are major factors promoting the development of T2D. Insulin resistance of muscle cells, adipose tissue and liver results in raised circulating glucose levels increasing the metabolic and secretory burden of β -cells, which have to respond by increased insulin synthesis and secretion^[55,56]. It is known that glucose robustly activates mTORC1 in an amino acid-dependent manner in rodent and human islets^[57]. In pancreatic β -cells, leucine acutely stimulates insulin secretion by serving as both metabolic fuel and allosteric activator of glutamate dehydrogenase (GDH) to enhance glutaminolysis. Moreover, leucine has been shown to regulate gene transcription and protein synthesis in pancreatic β -cells *via* mTORC1-dependent and -independent pathways^[58].

Activated mTORC1 phosphorylates important substrates involved in the regulation of the translational ma-

chinery, the p70 S6 kinases (S6Ks), which phosphorylate ribosomal protein S6, and eukaryotic initiation factor (eIF) 4E-binding proteins (4E-BPs), which control the activity of the translation factor eIF4E that binds to the 5'-cap structure of eukaryotic mRNAs, thereby facilitating ribosome recruitment^[25,28].

Phosphorylation of insulin receptor substrate (IRS)-proteins on serine residues has emerged as a key step to control insulin signaling. Among the growing list of IRS kinases implicated in the development of insulin resistance, the mTORC1-activated downstream kinase S6K1 plays a major role^[59,60]. S6K1-induced phosphorylation of IRS-1 mediates an important feed back mechanism, which downregulates insulin/IGF-1 signaling and is the molecular basis for insulin resistance, a characteristic feature of obesity and T2D^[56,57]. mTORC1 and its downstream target S6K1 are thus critical regulators in mediating the nutrient effects on insulin resistance^[61,62] (Figure 4). S6K1 negatively modulates insulin signaling by phosphorylating Ser-307 of IRS-1^[63]. Remarkably, absence of S6K1 protected S6K1^{-/-} mice against age- and high fat-diet induced obesity while enhancing insulin sensitivity, pointing to the crucial role of the mTORC1-S6K1 pathway in the regulation of insulin signaling and induction of nutrient-induced insulin resistance due to hyper-activated mTORC1/S6K1^[64]. Recently, another S6K1 IRS-1 phosphorylation site, Ser-1101, has been identified in nutrient and obesity-induced insulin resistance^[65]. Insulin and IGF-1-stimulated PI3K/Akt-mediated nuclear extrusion of FoxO1 has also been shown to increase insulin resistance. Cytoplasmic FoxO1 binds to TSC2, thereby dissociating the TSC1/TSC2 complex, resulting in Rheb-mediated mTORC1-S6K1 activation^[51]. It has recently been shown in women with gestational diabetes that chronically increased S6K1 in skeletal muscle is associated with impaired glucose tolerance postpartum^[66]. The serine residues implicated in the negative feed back regulation of S6K1 are located at the PTB domain in close proximity to Tyr-phosphorylated consensus motifs at the C-terminus of IRS-1^[63]. Such phosphorylations result in dissociation of insulin receptor/IRS-1 complexes concomitant with an inhibition of downstream effectors to dock and bind IRS-1, thereby downregulating insulin signaling^[63].

Intriguingly, it has been shown in humans that insulin resistance was induced by infusion of high concentrations of amino acids, whereas the mTORC1 inhibitor rapamycin improved insulin action^[67]. Infusion of an amino acid mixture to healthy men resulted in plasma amino acid elevation, hyperinsulinemia and marked activation of S6K1 with increased inhibitory IRS-1 phosphorylation at Ser-312 and Ser-636/639^[68]. Amino acid infusion (containing 8.9 g/L leucine) impaired insulin-mediated suppression of glucose production and insulin-stimulated glucose disposal in skeletal muscle. Incubation of rat skeletal muscle with higher concentrations of both leucine and glucose caused insulin resistance, which was associated with a decrease in AMPK activity^[69].

Amino acid-mediated mTORC1- and S6K1-activation



plays a crucial role in the negative regulation of IRS-1 phosphorylation, resulting in amino acid-induced insulin resistance^[68]. In accordance with these findings are feeding studies of rats with a high fat diet supplemented with BCAAs exhibiting chronic mTOR-mediated phosphorylation of IRS-1 at Ser-307, which was reversed by rapamycin treatment^[70]. Moreover, the dietary pattern that includes high fat consumption accompanied with high amounts of BCAAs appears to contribute to obesity-associated insulin resistance^[70].

S6K1- VS IKK β -MEDIATED INSULIN RESISTANCE

Most patients with T2D are obese and the global epidemic of obesity largely explains the dramatic increase in the incidence of T2D over the past 20 years^[71]. Obesity-mediated insulin resistance is a major risk factor for the development of T2D. Individuals with visceral obesity release increased levels of tumor necrosis factor α (TNF α) into their systemic circulation produced by adipose-tissue resident macrophages^[72]. The TNF α /IKK β pathway plays a pivotal role in TNF α -induced insulin resistance^[17,73-75]. In addition to S6K1, Ser-307 has been implicated as the potential IKK β phosphorylation site of IRS-1^[75,76].

Intriguingly, IKK β physically interacts with and phosphorylates TSC1, thereby suppressing TSC1, which results in mTORC1 activation^[77]. TNF α /IKK β /TSC1/Rheb-mediated activation of mTORC1 is thus a most conceivable mechanism for obesity-mediated TNF α -mTORC1 activation and signaling to pancreatic β -cells amplifying mTORC1-S6K1-mediated and IKK β -mediated insulin resistance by phosphorylation of IRS-1 Ser 307. Visceral obesity thus augments β -cell mTORC1 signaling, insulin secretion and contributes to insulin resistance.

LEUCINE-TORC1/S6K1-INDUCED ADIPOGENESIS

Adipose tissue like muscle is a major extrahepatic site of leucine metabolism. Notably, leucine is a significant precursor of fatty acid and cholesterol biosynthesis^[78]. Furthermore, in adipocytes, leucine has been shown to be the main regulatory amino acid activating mTORC1, S6K1 and 4E-BP1^[79,80]. mTORC1 plays important roles in adipocyte regulation, including hypertrophic growth, leptin secretion, protein synthesis and adipose tissue morphogenesis^[80,81]. The mTORC1 antagonist rapamycin has been shown to block adipocyte differentiation^[82]. Rapamycin specifically disrupted the positive transcriptional feedback loop between CCAAT/enhancer-binding protein- α and peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ), two key transcription factors in adipogenesis, by directly targeting the transactivation of PPAR γ ^[83]. Remarkably, PPAR γ activity was dependent on amino acid sufficiency, again linking amino acid status to adipogenesis^[83]. In isolated adipocytes, amino acids,

and primarily leucine, stimulated phosphorylation of 4E-BP1 and S6K and induced multicellular clustering in adipocytes^[84,85]. Intriguingly, it has recently been shown in S6K1^{-/-} mice that lack of S6K1 impaired the generation of *de novo* adipocytes when these mice were challenged with a high fat diet, consistent with a reduction in early adipocyte progenitors^[86]. Thus, leucine plays a fundamental functional and structural role in adipogenesis and serves as a pivotal amino acid-stimulator of the mTORC1-S6K1 pathway, which drives the S6K1-dependent commitment of embryonic stem cells to early adipocyte progenitors, stimulates adipocyte differentiation *via* crosstalk with PPAR γ and serves as a substrate for adipocyte lipid synthesis^[80-86]. The importance of mTORC1-S6K1 signaling in adipogenesis becomes apparent in S6K1-deficient mice, which are protected against age- and diet-induced obesity while enhancing insulin sensitivity^[64].

It has recently been demonstrated that mTORC1 promotes the function of SREBP (sterol regulatory element binding transcription factor), a master regulator of lipo- and sterologenic gene transcription. mTORC1 regulates SREBP by controlling the nuclear entry of lipin 1, a phosphatidic acid phosphatase. Dephosphorylated, nuclear, catalytically active lipin 1 promotes nuclear remodeling and mediates the effects of mTORC1 on SREBP target gene, SREBP promoter activity and nuclear SREBP protein abundance^[87]. Hepatic triglycerides and SREBP-1 mRNA concentrations increased significantly in rats fed a 30% casein diet for 1 mo in comparison to a diet containing 30% soy protein or black bean protein^[88].

OBESITY-ASSOCIATED ELEVATION OF PLASMA LEUCINE

Elevations in BCAAs in human obesity were first reported in 1969^[89]. Recently, elevated BCAAs have been recognized as a "metabolic signature" predicting insulin resistance in human subjects^[70]. Measurements of leucine flux in rat tissues showed that adipose tissue is second only to skeletal muscle in its capacity to catabolize BCAAs and the capacities of skeletal muscle and adipose tissue are 6-7-fold larger than liver^[78]. In obesity, adipose tissue exhibits downregulation in BCAA uptake and metabolism, resulting in elevated levels of circulating BCAAs^[90,91]. In obesity and states of insulin resistance, elevated BCAA levels have been associated with reduced expression of two adipose tissue BCAA catalytic enzymes: mitochondrial branched-chain aminotransferase 2 (BCAT2) and branched-chain α -keto acid dehydrogenase (BCKD E1 α subunit) complex^[90,92,93].

Obesity is related to increased synthesis of glucocorticoids^[94]. It is now apparent that tissue-specific changes in cortisol metabolism are of greater importance than altered blood cortisol levels in obese subjects^[95]. Inactive cortisone from the blood is converted to active cortisol by the enzyme 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 within obese adipose tissue^[95]. Thus, local adipose-tissue specific elevations of cortisol exist in obese subjects. Re-



cently, BCAT2 has been recognized as an important player in the molecular crosstalk between glucocorticoids and mTORC1 signaling^[96]. In skeletal muscle, the transcription factor Krüppel-like factor-15 (KLF15) has been identified as a direct target gene of glucocorticoid receptor signaling promoting muscle atrophy. KLF15 up-regulates gene expression of BCAT2^[97]. Thus, the glucocorticoid-driven KLF15-BCAT2 axis in obese adipose tissue may function as a negative feedback mechanism to decrease further adipocyte BCAA uptake, thus attenuating leucine-mediated mTORC1 signaling.

PLASMA LEUCINE REDUCTION AFTER BARIATRIC SURGERY

Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) surgery has become an accepted treatment for excessive obesity. RYGB surgery is associated with weight loss, improved insulin sensitivity and glucose homeostasis, and a reduction in co-morbidities such as T2D and coronary heart disease. Metabolite profiling studies before and after RYGB surgery demonstrated that the BCAs decreased following weight loss after the surgical procedure^[90,98]. Moreover, RYGB in obese individuals significantly improved insulin sensitivity^[98-100]. Elevated leucine levels in obesity with increased insulin resistance in contrast to reduced leucine levels after RYGB with improved insulin sensitivity may thus reflect crucial functional changes of either increased or mitigated leucine-driven mTORC1-S6K1-signaling.

LEUCINE-TORC1-STIMULATED β -CELL PROLIFERATION

Degeneration of pancreatic islet β -cells is increasingly ranked as a key disease mechanism in T2D. Pancreatic β -cell mass regulation is a matter of proliferation and apoptosis. Over a lifetime, in T2D patients, β -cells exhibit both an increased rate of proliferation and apoptosis when compared with non-diabetic subjects^[101,102]. mTORC1 plays a central role in β -cell proliferation and insulin secretion^[58]. Leucine activates mTORC1 independent of insulin by a process formerly designated as nutrient signaling^[57,103]. The pancreatic β -cells express a variety of growth factor receptors like insulin receptor, IGF-1 receptor and glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) receptor, which all stimulate mTORC1, thereby promoting β -cell replication^[104]. Insulin and IGFs, in concert with the nutrients leucine, glutamine and glucose, modulate protein translation through mTORC1 in β -cells^[57,105]. It has been shown that glucose robustly activates mTORC1 in an amino-acid-dependent manner in rodent and human islets^[57]. The mTORC1 inhibitor rapamycin dose-dependently inhibited DNA synthesis of rat islets exposed to elevated levels of glucose^[57]. mTORC1/S6K1/4E-BP1-signaling is known to control cell size and proliferation by increasing mRNA translation and cell cycle progression^[28,30,105]. A decade ago, leucine had already

been demonstrated to activate the translational regulators, phosphorylated heat- and acid-stable protein regulated by insulin and S6K1, in an insulin-independent and rapamycin-sensitive manner through mTORC1^[106].

mTORC1 is not only a central regulator of protein biosynthesis but also of lipid biosynthesis by regulation of SREBP1, the key transcription factor of lipid synthesizing enzymes^[105]. mTORC1 regulates lipin 1 localization in the nucleus and thereby controls the SREBP pathway^[87]. Leucine-induced insulin secretion by β -cells involves increased mitochondrial metabolism by oxidative decarboxylation and allosteric activation of GDH. The same intra-mitochondrial events that generate signals for leucine-induced insulin exocytosis are required to activate the mTORC1 mitogenic signaling pathway by β -cells. These findings indicate that leucine at physiological concentrations stimulates S6K1 phosphorylation via mTORC1, in part, by serving both as a mitochondrial fuel and as an allosteric activator of GDH. It has been concluded that leucine is essential for activation of protein translation through mTORC1 and contributes to enhanced β -cell function by stimulating growth-related protein synthesis and β -cell proliferation^[106,107]. These observations fit very well to recent findings showing that mTORC1 activation in β -cells of TSC2 deficient mice (β TSC2^{-/-}) increased mitochondrial biogenesis and enhanced insulin secretion^[108]. In contrast, S6K1-deficient mice display hypoinsulinemia, glucose intolerance and diminished β -cell size^[109]. Thus, there is substantial evidence for the crucial role of leucine in mTORC1-mediated activation of β -cell protein translation, insulin synthesis and secretion and β -cell proliferation^[58,103,106,107].

LEUCINE-TORC1-STIMULATED β -CELL PROLIFERATION AND EARLY β -CELL SENESCENCE

The Western diet provides ideal conditions for exaggerated mTORC1 activation. This hyperglycemic, insulinotropic and leucine-rich diet offers abundant glucose, insulinotropic dairy proteins with rising amounts of leucine over the last decades by increased meat and dairy protein consumption (Figures 1-3). The simultaneous availability of high levels of glucose, insulin, IGF-1 and leucine especially result in maximal mTORC1 stimulation, leading to increased β -cell proliferation. However, persistently over-stimulated β -cell proliferation holds the risk of early onset of replicative β -cell senescence. The risk for T2D would be low when senescent or functionally impaired β -cells are replaced by stem cell-driven β -cell neogenesis. However, recent studies^[110,111] in rodents clearly confirmed that adult β -cells are not replaced by stem cell-driven neogenesis but by self-duplication of differentiated β -cells. This finding is of fundamental biological importance because the rate of cell divisions limits the life and function of a somatic cell by induction of replicative cell senescence according to the Hayflick limit^[112]. In fact,



both increased β -cell proliferation and β -cell apoptosis are characteristic hallmarks of β -cell mass disturbance in T2D when compared with non-diabetic subjects^[104,102].

There is recent experimental evidence for the proposed concept of mTORC1-driven early β -cell senescence and apoptosis in T2D. Mice, specifically deficient in TSC2 in pancreatic β -cells (β TSC2^{-/-} mice), exhibit hyperactivated mTORC1 signaling with increased IGF-1 dependent phosphorylation of S6K1 and 4E-BP1^[113]. At young ages (< 28 wk), these mice exhibit hypoglycemia and hyperinsulinemia associated with increased islet cell mass and increased sizes of individual β -cells. After 40 wk of age, however, β TSC2^{-/-} mice develop progressive hyperglycemia and hypoinsulinemia accompanied by a reduction in islet mass due to a decrease in the number of β -cells^[113]. This intriguing animal model of T2D strongly supports the concept of early β -cell senescence and apoptosis due to increased activity of mTORC1 in the induction phase of T2D. Furthermore, this model provides an excellent explanation for the relationship between low birth weight and increased risk for T2D in adult life^[114,115]. Accelerated or "catch-up" postnatal growth in response to small birth size is thought to presage disease years later. Recent studies in FASDEL (fatty acid synthase heterozygous) mice, a model of intrauterine growth restriction, allowed the conclusion that increased β -cell mass developed in response to decreased body size^[116]. FASDEL mice are born small yet have expanded β -cell mass and increased insulin secretion without insulin resistance. However, β -cell hyperfunction in early life resulted in β -cell failure with advanced age^[116].

HYPER-ACTIVATED TORC1 AND ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS

The endoplasmic reticulum (ER) is a cellular organelle responsible for multiple important cellular functions, including the biosynthesis and folding of newly synthesized proteins destined for secretion, such as insulin. The ER participates in all branches of metabolism, linking nutrient sensing to cellular signaling. Leucine-mediated hyperactivation of mTORC1 resulting in excessive protein (insulin, islet amyloid protein) synthesis and exaggerated mTORC1-SREBP-induced lipid synthesis may overload the functional capacity of the ER resulting in ER stress^[28,30,87,105,106]. ER stress triggers an adaptive signaling cascade, called the unfolded protein response (UPR), to relieve this stress. The failure of the UPR to resolve ER stress leads to pathological conditions such as β -cell dysfunction and death and T2D^[117].

The Western diet with increased glucose-, insulin-/IGF-1- and leucine-mediated stimulation of mTORC1 may well explain the pathogenesis of T2D. Increased and continued β -cell proliferation during the first decades of life may thus result in β -cell failure with age. Proliferative signals of the Western diet and especially the persistently increasing levels of leucine may have a crucial impact on the functional capacity of the ER and thus β -cell homeostasis.

METFORMIN INHIBITS LEUCINE-MEDIATED TORC1 ACTIVATION

There are intriguing new insights into the mode of action of the old anti-diabetic drug metformin. Metformin and its more hydrophobic biguanide analogue phenformin inhibit mitochondrial respiratory chain complex I, which reduces ATP production, thus resulting in the activation of AMPK^[118]. AMPK inhibits mTORC1 by direct phosphorylation of TSC2 and Raptor^[34,46,49,119]. The major action of metformin in T2D is thought to depend on decreased hepatic glucose output and increased intestinal glycolytic lactate production as well as peripheral tissue insulin-dependent glucose uptake^[120,121].

Recently, a further mode of metformin-mediated attenuation of mTORC1 signaling was demonstrated which interferes with leucine signaling. Both metformin and phenformin have been shown to inhibit amino acid-dependent Rag GTPase-mediated mTORC1 signaling^[122]. Metformin and phenformin interfere with leucine-dependent Rag GTPases required for translocation of inactive mTORC1 to activated Rheb enriched in lysosomal membranes, thereby reducing mTORC1 activity^[35-37]. Similar to the effect of amino acid withdrawal, treatment of cells growing in amino acid-rich media in the presence of phenformin caused mTORC1 to leave the perinuclear intracellular compartment and to disperse throughout the cytoplasm without affecting amino acid steady state levels^[122]. It is thus imaginable that metformin (C₄H₁₁N₅; molar mass 129.1) functions as a competitive inhibitor of leucine (C₆H₁₃NO₂; molar mass 131.2) in the Rag GTPase-dependent process of mTORC1 activation. Notably, the usual daily dose of metformin (2 g/d) is in the range of 2 g leucine derived from daily consumption of 100 g meat or cheese. Moreover, inhibition of mTORC1-mediated growth signaling by metformin explains metformin's cancer-reducing activity^[123-127].

PLANT-DERIVED TORC1 INHIBITORS ATTENUATE TORC1 SIGNALING

mTORC1 activation by leucine-rich animal food may be attenuated by natural plant-derived inhibitors of the mTORC1 signaling pathway. Increasing studies have demonstrated that resveratrol, epigallocatechin gallate (EGCG), genistein, 3,3'-diindolylmethane (DIM), curcumin and caffeine may all inhibit mTORC1 signaling directly or indirectly^[128-143].

Resveratrol, a polyphenolic flavonoid from grapes and red wine, exerts potential anti-diabetic properties by downregulation of PI3K/Akt/mTORC1 signaling^[128,129]. Resveratrol inhibits PI3K by targeting the PI3K ATP-binding site in a competitive and reversible fashion^[133]. Resveratrol has been proposed to have beneficial effects in the treatment and prevention of T2D^[144,145], obesity^[144,146-148] and metabolic syndrome^[149]. EGCG, the specific green tea catechin, has been proven to function as an ATP-competitive inhibitor of both PI3K and mTORC1^[135]. The



anti-obesity effects of green tea catechins are supposed to be mediated by EGCG-induced inhibition of the PI3K/Akt/mTORC1 signaling^[134,150]. Curcumin, a natural polyphenol product isolated from the rhizome of the plant *Curcuma longa*, exerts anti-proliferative effects and may present another class of mTORC1 inhibitors. Curcumin inhibited mTORC1-mediated signaling pathways in cancer cells and inhibited phosphorylation of mTORC1 and its downstream targets, S6K1 and 4E-BP1^[141-143,151]. Most recently, it has been demonstrated that curcumin dissociated Raptor from mTORC1, thereby inhibiting mTORC1^[136]. DIM is generated in the acidic environment of the stomach following dimerization of indole-3-carbinol monomers present in cruciferous vegetables such as broccoli, brussel sprouts, cauliflower and cabbage. DIM suppresses signaling through Akt/mTORC1 pathways resulting in cell cycle arrest^[152]. DIM significantly inhibited both Akt and mTORC1 in PC3 PDGF-D cells^[139]. Genistein, the soy-derived isoflavone and phytoestrogen, inhibited PI3K/Akt/mTORC1 signaling in cancer cells^[153]. Genistein is a natural protein tyrosine kinase inhibitor, induces G₂/M arrest and apoptosis and inhibits PI3K/Akt-cascades, resulting in downstream inhibition of mTORC1^[154,155]. Caffeine, the most commonly consumed neurostimulatory compound by humans, exhibits diabetes-preventive effects^[156]. Caffeine has been reported to inhibit PI3K kinase, including mTORC1, and decreases the phosphorylation of S6K, S6 ribosomal protein, and 4E-BP1^[157,158]. Caffeine-induced autophagy mainly depends on the PI3K/Akt/mTORC1 pathway^[159].

Taken together, the therapeutic and anti-diabetic effects of natural plant-derived mTORC1 inhibitors appear to counterbalance up-regulated mTORC1 signaling promoted by the Western diet rich in glucose, fat, insulinotropic and leucine-enriched animal and dairy proteins.

HYPER-ACTIVATED TORC1 IN DIABETES-ASSOCIATED DISEASES

T2D is closely associated with an increased risk of other age-related diseases like obesity, cancer and neurodegenerative diseases. Activated mTORC1 signaling has already been implicated to play important roles in the development of Western diseases, especially insulin resistance, T2D, obesity, cancer and neurodegenerative diseases^[29,160-163]. Intriguingly, inhibition of mTORC1 by rapamycin abolished cognitive deficits and reduced amyloid- β levels in a mouse model of Alzheimer's disease^[164]. A lower risk of Alzheimer's disease was characterized by higher intakes of salad, nuts, fish, tomatoes, poultry, cruciferous vegetables, fruits and dark and green leafy vegetables and a lower intake of high-fat dairy products, red meat, organ meat and butter^[165]. Furthermore, the leucine-antagonizing mTORC1 inhibitor metformin has been shown to exert cancer-protective effects^[123-128]. It is not surprising that natural plant-derived mTORC1 inhibitors like resveratrol and EGCG exhibit beneficial effects, not only in treatment and prevention of T2D, but also in

obesity, cancer and neurodegenerative diseases, which all have hyper-activated mTORC1 signaling in common.

WESTERN DIET AND TORC1 OVER-ACTIVATION

The Western diet up-regulates all three major pathways important for mTORC1 activation (Figure 4): (1) increased supply of glucose, fat, alcohol (energy); (2) increased food-mediated insulin/IGF-signaling; and (3) abundance of leucine which is supplied by meat and dairy proteins consumed in increasing amounts during the last decades (Figure 3). High levels of glucose and fat increase cellular energy (ATP) levels and thus suppress AMPK activity resulting in mTORC1 activation. Furthermore, high glycemic load with high glucose availability stimulates insulin signaling, which has been a matter of concern for more than a decade^[166]. Most important growth factor signals for activating mTORC1 are insulin and IGF-1. Plasma IGF-1 concentrations depend on the level of dietary protein intake, with low protein diets being associated with reduced circulatory IGF-1 levels^[167]. The liver is the major site secreting IGF-1 into the systemic circulation. Remarkably, hepatic IGF-1 production has been shown to be dependent on the availability of amino acids^[167]. IGF-1 is a crucial growth factor signal for mTORC1 activation in pancreatic β -cells^[104]. Persistent reduction of pancreatic β -cell mass has been demonstrated in young rats after a limited period of protein-energy malnutrition^[168].

The high meat consumption of the Western diet, which has more than doubled in Germany between 1950 and 1975 and maintained its high value until today (Figure 1), supplies plenty of amino acids for high hepatic IGF-1 synthesis as well as high amounts of leucine for mTORC1 activation. However, the highest source of leucine is provided by milk proteins. In fact, mammalian milk is the physiological diet to mediate postnatal growth. It is thus conceivable that milk proteins significantly contribute to profound mTORC1 activation to ensure adequate β -cell growth as well as increased secretion of the anabolic hormone insulin. Milk has to be regarded as an endocrine signaling system that up-regulates mTORC1 activity by increasing insulin secretion, hepatic IGF-1 secretion and mTORC1-mediated β -cell growth and proliferation for neonatal growth requirements^[169]. Milk consumption not only stimulates the somatotropic axis but also activates *incretin signaling* by enteral stimulation of GIP^[27,170]. Cow milk's excessive insulinotropic activity is characterized by milk's high insulinemic index^[171]. Notably, increased daily intake of milk but not meat significantly raised basal insulin and IGF-1 serum levels and increased insulin resistance in 8 years old boys^[172]. Milk-induced insulin resistance can be well explained by increased mTORC1/S6K1-mediated IRS-1 phosphorylation. Moreover, epidemiological data in adults confirmed the correlation between increased dairy protein consumption and raised IGF-1 serum levels^[173,174]. Thus, dairy protein consumption significantly contributes



to exaggerated insulin/IGF-1-signaling and insulin resistance promoted by the Western diet, appreciated risk factors involved in the development of T2D and obesity^[175]. Remarkably, patients with Laron syndrome due to congenital IGF-1 deficiency exhibit short stature and lower incidence rates of acne, T2D and cancer, which may be explained by reduced mTORC1 stimulation due to low insulin/IGF-1 signaling^[176].

Whey proteins have to be regarded as *life starter proteins* that contain the highest amount of leucine (14%), followed by casein (10%), the major protein constituent of cow milk and cheese^[24] (Table 2). For comparison, 100 g of rump steak contains approximately 2.4 g leucine comparable to 100 g of Gouda cheese (2.4 g), which is in strong contrast to 100 g white cabbage (0.056 g), or 100 g apple (0.016 g) (Tables 2 and 3). To reach the leucine intake provided by 100 g Gouda cheese or 100 g steak, 4.2 kg white cabbage or 100 apples could be consumed. These calculations exemplify the extreme differences in leucine amounts provided by an *animal meat/dairy protein-based diet* in comparison to a *vegetarian or vegan diet*. Thus, the increased consumption of meat and dairy proteins provide excessive amounts of leucine for mTORC1 activation. In comparison to meat, milk proteins are unique as they provide two major activating signals for mTORC1 activation, i.e., high insulin/IGF-1 signals as well as high leucine availability^[169] (Table 4).

EXCESSIVE LEUCINE CONTENT OF INFANT FORMULA

The average protein content of human milk during the first 12 mo of lactation has been determined as 1.2 g protein/100 mL of whole milk^[176]. This is the lowest protein concentration found in the milk of any mammalian species in which this value has been measured. In comparison, cow milk contains 3.4 g protein/100 mL. It has been shown that the protein content of mammalian milk of various species is inversely related to the rate of growth of the offspring^[177]. Human neonates receive the lowest protein content of milk among mammalian species and require 180 d to double their birth weight in comparison to rat or rabbit with milk protein concentrations of 9 and 10 g/100 mL, respectively, which already double their birth weight after 5 d. It is known that premature infants fed formula containing a higher protein concentration gain weight faster than those fed formulas with a protein concentration closer to that of human milk^[178,179]. Remarkably, the leucine amount per g milk protein appears to be a mammalian species-independent constant in the range of 100 mg leucine/g milk protein for man, various primates and non-primate species, including cow^[180]. Thus, the total amount of milk protein fed to infants is the critical determinant for the total leucine uptake, an important signal for mTORC1 activation.

It is thus of most serious concern that currently available cow milk-based infant formula, especially "hypoallergenic" whey-based products, provide more than double

the amounts of leucine/feeding volume in comparison to the physiological leucine content of human breast milk. Thus, artificial cow-milk-derived infant formula does not meet the physiological lower leucine signaling axis required for adequate mTORC1 regulation in the human newborn. These postnatal aberrations of leucine-mediated mTORC1 signaling explain the *early protein hypothesis*, which links high protein intake during the neonatal period to increased weight gain and childhood obesity. In fact, a higher protein content of infant formula has been associated with a higher weight in 2 years old infants^[181,182]. The markedly higher protein and leucine intake with infant formula feeding, as compared with the protein supply in breastfed babies, may play the most important role in predisposing infants to an increased risk for obesity and T2D in later life^[181,182]. It has been recently confirmed that BCAAs, total IGF-1 as well as C-peptide, were significantly higher in infants fed a high-protein formula (2.9 and 4.4 g protein/100 kcal) in comparison to infants fed a low-protein formula (1.77 and 2.2 g protein/100 kcal) compared to breastfed infants^[183]. Median serum concentrations of leucine at 6 mo of age were lowest in breastfed infants (106 µmol/L) compared to infants either fed low-protein formula (120 µmol/L) or high protein formula (165 µmol/L)^[183]. Moreover, this study showed a correlation between total serum IGF-1 and growth (weight-for-length) at 6 mo of age. Furthermore, strong evidence for cow milk-induced linear growth comes from observational and intervention studies in developing countries and many observational studies from well-nourished populations^[184]. In an effort to match the protein quality of human milk, cow-milk based infant formula currently contains almost 50% higher protein content (2.1-2.2 g/100 kcal) than human milk^[185]. The appropriate supply of protein and amino acids and especially leucine appears to be a most critical factor in the postnatal period, a phase of metabolic programming. Early postnatal underfeeding and overfeeding of mice resulted in adult metabolic abnormalities. In adult life, underfed mice, which were restricted to mouse milk in the early postnatal period exhibited impaired insulin secretion, whereas overfed mice, which received more milk protein and total leucine during the early postnatal period developed insulin resistance later in adult life^[186].

Taken together, these data clearly allow the conclusion that increased dairy protein consumption during the neonatal period raised serum leucine and IGF-1 levels, which will have an impact on postnatal mTORC1 signaling. Milk signaling via insulin, IGF-1, GIP and leucine promotes general growth, β-cell growth, β-cell proliferation, increased insulin secretion, as well as S6K1-mediated early events in mesenchymal stem cell commitment increasing the number of adipocytes, thus programming critical early steps in adipogenesis^[84-86].

The increased risk for obesity in leucine-rich formula fed infants^[183] and the obesity-protective effects of physiological breastfeeding associated with lower leucine supply to the infant, may just reflect differences in leucine-stimulated mTORC1 activity, which when persistently



over-activated promotes the pathogenesis of obesity, insulin resistance and T2D.

CONCLUSION

Accumulating evidence supports the role of increased leucine-driven mTORC1 signaling in the pathogenesis of T2D. Amino acids, especially leucine, significantly stimulate mTORC1 activity. Besides high fat and high glucose, critical attention has to be paid to the daily intake of animal proteins, especially leucine-rich meat and dairy proteins. The anti-diabetic and cancer protective effects of metformin may be related to metformin's antagonistic effect on leucine-mediated mTORC1 activation. Diabetes-preventive effects of plant-derived polyphenols and flavonoids may depend on their ability to attenuate mTORC1 signaling. Moreover, the therapeutic effects of bariatric surgery in obesity and T2D may be causally related to reduction of BCAA levels and mitigated leucine-driven mTORC1 activation. The excessive consumption of cheese, a protein preparation conserving the potent endocrine signaling system of *Bos taurus*, increased sixfold in Germany and other countries consuming a Western diet. Predominantly high meat and dairy intakes have additive effects on the net increase of leucine uptake per capita, which is still rising. Excessive leucine signaling towards mTORC1 may thus be the overlooked environmental risk factor promoting increased β -cell proliferation and insulin secretion, leading to accelerated early β -cell senescence and apoptosis, which finally results in secretory deficiency of β -cells. Unfortunately, in Westernized countries, exaggerated leucine-mediated stimulation of β -cell mTORC1 starts during pregnancy by high leucine-intake of the pregnant woman and continues at the beginning of postnatal life when infants are fed cow milk-based infant formula, providing excessive amounts of leucine compared to human breast milk.

The presented leucine/mTORC1-concept of T2D is in accordance with recent epidemiological and biochemical data and needs to be validated by leucine-restricted placebo-controlled intervention studies. Future dietary strategies have to consider an adequate balance of average daily leucine uptake to meet signaling requirements for optimized conditions of pancreatic β -cell homeostasis. Infant formula should not exceed the physiological daily amounts of leucine provided by human breast milk. In general, lower leucine levels are only reached by restriction of animal proteins. Current recommendations to further increase the daily protein intake "to provide some benefit in managing chronic diseases" such as obesity and T2D have to be challenged with respect to their potential long-term adverse effects of exaggerated mTORC1 signaling. The functional role of leucine in regulating mTORC1 activity clearly favors a reduction of total protein intake to levels between 8% and 12%, as suggested by T. Colin Campbell (Cornell University) in the ongoing protein debate. However, the question "How much protein is needed?" will not satisfactorily characterize the

effects of protein-mediated signaling. More importantly, we have to consider "How much leucine intake is appropriate to maintain long-term mTORC1-regulated β -cell homeostasis?" An adequate regulation of leucine uptake by limiting the amount of animal protein/leucine intake and the implementation of more plant and fruit consumption, as accomplished by traditional Chinese diet, will provide a rational and most powerful tool for the prevention of T2D, obesity and other mTORC1-driven diseases of civilization like cancer and neurodegenerative diseases.

REFERENCES

- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; **27**: 1047-1053
- Centers for Disease Control and Prevention.** National diabetes fact sheet: general information and national estimates on diabetes in the United States, 2011. Available from: URL: <http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/factsheet11.htm>
- Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, Willett WC. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med* 2001; **345**: 790-797
- Hu FB, van Dam RM, Liu S. Diet and risk of Type II diabetes: the role of types of fat and carbohydrate. *Diabetologia* 2001; **44**: 805-817
- van Dam RM, Rimm EB, Willett WC, Stampfer MJ, Hu FB. Dietary patterns and risk for type 2 diabetes mellitus in U.S. men. *Ann Intern Med* 2002; **136**: 201-209
- Schulze MB, Hoffmann K, Manson JE, Willett WC, Meigs JB, Weikert C, Heidemann C, Colditz GA, Hu FB. Dietary pattern, inflammation, and incidence of type 2 diabetes in women. *Am J Clin Nutr* 2005; **82**: 675-684; quiz 714-715
- Hodge AM, English DR, O'Dea K, Giles GG. Dietary patterns and diabetes incidence in the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Am J Epidemiol* 2007; **165**: 603-610
- Schulze MB, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Processed meat intake and incidence of type 2 diabetes in younger and middle-aged women. *Diabetologia* 2003; **46**: 1465-1473
- Fung TT, Schulze M, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Dietary patterns, meat intake, and the risk of type 2 diabetes in women. *Arch Intern Med* 2004; **164**: 2235-2240
- Song Y, Manson JE, Buring JE, Liu S. A prospective study of red meat consumption and type 2 diabetes in middle-aged and elderly women: the women's health study. *Diabetes Care* 2004; **27**: 2108-2115
- Lee DH, Folsom AR, Jacobs DR. Dietary iron intake and type 2 diabetes incidence in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study. *Diabetologia* 2004; **47**: 185-194
- Villegas R, Shu XO, Gao YT, Yang G, Cai H, Li H, Zheng W. The association of meat intake and the risk of type 2 diabetes may be modified by body weight. *Int J Med Sci* 2006; **3**: 152-159
- Schulze MB, Hoffmann K, Boeing H, Linseisen J, Rohrmann S, Möhlig M, Pfeiffer AF, Spranger J, Thamer C, Häring HU, Fritzsche A, Joost HG. An accurate risk score based on anthropometric, dietary, and lifestyle factors to predict the development of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007; **30**: 510-515
- Simmons RK, Harding AH, Wareham NJ, Griffin SJ. Do simple questions about diet and physical activity help to identify those at risk of type 2 diabetes? *Diabet Med* 2007; **24**: 830-835
- Vang A, Singh PN, Lee JW, Haddad EH, Brinegar CH. Meats, processed meats, obesity, weight gain and occurrence of diabetes among adults: findings from Adventist Health Studies. *Ann Nutr Metab* 2008; **52**: 96-104



- 16 Nettleton JA, Steffen LM, Ni H, Liu K, Jacobs DR. Dietary patterns and risk of incident type 2 diabetes in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Diabetes Care* 2008; **31**: 1777-1782
- 17 Kitagawa T, Owada M, Urakami T, Yamauchi K. Increased incidence of non-insulin dependent diabetes mellitus among Japanese schoolchildren correlates with an increased intake of animal protein and fat. *Clin Pediatr (Phila)* 1998; **37**: 111-115
- 18 Zhai F, Wang H, Du S, He Y, Wang Z, Ge K, Popkin BM. Prospective study on nutrition transition in China. *Nutr Rev* 2009; **67 Suppl 1**: S56-S61
- 19 Yu R, Woo J, Chan R, Sham A, Ho S, Tso A, Cheung B, Lam TH, Lam K. Relationship between dietary intake and the development of type 2 diabetes in a Chinese population: the Hong Kong Dietary Survey. *Public Health Nutr* 2011; **1**: 9
- 20 Fulgoni VL. Current protein intake in America: analysis of the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003-2004. *Am J Clin Nutr* 2008; **87**: 1554S-1575S
- 21 Fan A, Sun Q, Bernstein AM, Schulze MB, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Red meat consumption and risk of type 2 diabetes: 3 cohorts of US adults and an updated meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2011; **94**: 1088-1096
- 22 Millward DJ, Layman DK, Tomé D, Schaafsma G. Protein quality assessment: impact of expanding understanding of protein and amino acid needs for optimal health. *Am J Clin Nutr* 2008; **87**: 1576S-1581S
- 23 Duran A, Amanchy R, Linares JF, Joshi J, Abu-Baker S, Porrillo A, Hansen M, Moscat J, Diaz-Meco MT. p62 is a key regulator of nutrient sensing in the mTORC1 pathway. *Mol Cell* 2011; **44**: 134-146
- 24 Hara K, Yonezawa K, Weng QP, Kozlowski MT, Belham C, Avruch J. Amino acid sufficiency and mTOR regulate p70S6 kinase and eIF-4E BP1 through a common effector mechanism. *J Biol Chem* 1998; **273**: 14484-14494
- 25 Avruch J, Long X, Ortiz-Vega S, Rapley J, Papageorgiou A, Dai N. Amino acid regulation of TOR complex 1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; **296**: E592-E602
- 26 Johnson DJ, Anderson GH. Prediction of plasma amino acid concentration from diet amino acid content. *Am J Physiol* 1982; **243**: R99-R103
- 27 Nilsson M, Holst JJ, Björck IM. Metabolic effects of amino acid mixtures and whey protein in healthy subjects: studies using glucose-equivalent drinks. *Am J Clin Nutr* 2007; **85**: 996-1004
- 28 Inoki K, Ouyang H, Li Y, Guan KL. Signaling by target of rapamycin proteins in cell growth control. *Microbiol Mol Biol Rev* 2005; **69**: 79-100
- 29 Bhaskar PT, Hay N. The two TORCs and Akt. *Dev Cell* 2007; **12**: 487-502
- 30 Wang X, Proud CG. Nutrient control of TORC1, a cell-cycle regulator. *Trends Cell Biol* 2009; **19**: 260-267
- 31 Sengupta S, Peterson TR, Sabatini DM. Regulation of the mTOR complex 1 pathway by nutrients, growth factors, and stress. *Mol Cell* 2010; **40**: 310-322
- 32 Suzuki T, Inoki K. Spatial regulation of the mTORC1 system in amino acids sensing pathway. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2011; **43**: 671-679
- 33 Wang X, Proud CG. mTORC1 signaling: what we still don't know. *J Mol Cell Biol* 2011; **3**: 206-220
- 34 Shaw RJ. LKB1 and AMP-activated protein kinase control of mTOR signalling and growth. *Acta Physiol (Oxf)* 2009; **196**: 65-80
- 35 Sancak Y, Peterson TR, Shaul YD, Lindquist RA, Thoreen CC, Bar-Peled L, Sabatini DM. The Rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1. *Science* 2008; **320**: 1496-1501
- 36 Kim E, Goraksha-Hicks P, Li L, Neufeld TP, Guan KL. Regulation of TORC1 by Rag GTPases in nutrient response. *Nat Cell Biol* 2008; **10**: 935-945
- 37 Sancak Y, Bar-Peled L, Zoncu R, Markhard AL, Nada S, Sabatini DM. Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. *Cell* 2010; **141**: 290-303
- 38 Goberdhan DC. Intracellular amino acid sensing and mTORC1-regulated growth: new ways to block an old target? *Curr Opin Investig Drugs* 2010; **11**: 1360-1367
- 39 Li L, Kim E, Yuan H, Inoki K, Goraksha-Hicks P, Schiesher RL, Neufeld TP, Guan KL. Regulation of mTORC1 by the Rab and Arf GTPases. *J Biol Chem* 2010; **285**: 19705-19709
- 40 Proud CG. A new link in the chain from amino acids to mTORC1 activation. *Mol Cell* 2011; **44**: 7-8
- 41 Inoki K, Li Y, Zhu T, Wu J, Guan KL. TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nat Cell Biol* 2002; **4**: 648-657
- 42 Manning BD, Tee AR, Logsdon MN, Blenis J, Cantley LC. Identification of the tuberous sclerosis complex-2 tumor suppressor gene product tuberin as a target of the phosphoinositide 3-kinase/akt pathway. *Mol Cell* 2002; **10**: 151-162
- 43 Tee AR, Fingar DC, Manning BD, Kwiatkowski DJ, Cantley LC, Blenis J. Tuberous sclerosis complex-1 and -2 gene products function together to inhibit mammalian target of rapamycin (mTOR)-mediated downstream signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 13571-13576
- 44 Inoki K, Zhu T, Guan KL. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell* 2003; **115**: 577-590
- 45 Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, Mihaylova MM, Mery A, Vasquez DS, Turk BE, Shaw RJ. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol Cell* 2008; **30**: 214-226
- 46 Xie J, Ponweiser GA, Moore CE, Willars GB, Tee AR, Herbert TP. cAMP inhibits mammalian target of rapamycin complex-1 and -2 (mTORC1 and 2) by promoting complex dissociation and inhibiting mTOR kinase activity. *Cell Signal* 2011; **23**: 1927-1935
- 47 Hay N. Interplay between FOXO, TOR, and Akt. *Biochim Biophys Acta* 2011; **1813**: 1965-1970
- 48 Gross DN, Wan M, Birnbaum MJ. The role of FOXO in the regulation of metabolism. *Curr Diab Rep* 2009; **9**: 208-214
- 49 Chen CC, Jeon SM, Bhaskar PT, Nogueira V, Sundararajan D, Tonic I, Park Y, Hay N. FoxOs inhibit mTORC1 and activate Akt by inducing the expression of Sestrin3 and Rictor. *Dev Cell* 2010; **18**: 592-604
- 50 Greer EL, Oskouie PR, Banko MR, Mariari JM, Gygi MP, Gygi SP, Brunet A. The energy sensor AMP-activated protein kinase directly regulates the mammalian FOXO3 transcription factor. *J Biol Chem* 2007; **282**: 30107-30119
- 51 Cao Y, Kamioka Y, Yokoi N, Kobayashi T, Hino O, Onodera M, Mochizuki N, Nakae J. Interaction of FoxO1 and TSC2 induces insulin resistance through activation of the mammalian target of rapamycin/p70S6K pathway. *J Biol Chem* 2006; **281**: 40242-40251
- 52 Long X, Ortiz-Vega S, Lin Y, Avruch J. Rheb binding to mammalian target of rapamycin (mTOR) is regulated by amino acid sufficiency. *J Biol Chem* 2005; **280**: 23433-23436
- 53 Nobukuni T, Joaquin M, Roccio M, Dunn SG, Kim SY, Gullati P, Byfield MP, Backer JM, Natt F, Bos JL, Zwartkruis FJ, Thomas G. Amino acids mediate mTOR/raptor signaling through activation of class 3 phosphatidylinositol 3OH-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102**: 14238-14243
- 54 Dennis MD, Baum JL, Kimball SR, Jefferson LS. Mechanisms involved in the coordinate regulation of mTORC1 by insulin and amino acids. *J Biol Chem* 2011; **286**: 8287-8296
- 55 Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; **7**: 85-96
- 56 Saini V. Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes* 2010; **1**: 68-75



- 57 Kwon G, Marshall CA, Pappan KL, Remedi MS, McDaniel ML. Signaling elements involved in the metabolic regulation of mTOR by nutrients, incretins, and growth factors in islets. *Diabetes* 2004; 53 Suppl 3: S225-S232
- 58 Yang J, Chi Y, Burkhardt BR, Guan Y, Wolf BA. Leucine metabolism in regulation of insulin secretion from pancreatic beta cells. *Nutr Rev* 2010; 68: 270-279
- 59 Zick Y. Ser/Thr phosphorylation of IRS proteins: a molecular basis for insulin resistance. *Sci STKE* 2005; 2005: pe4
- 60 Boura-Halfon S, Zick Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296: E581-E591
- 61 Carlson CJ, White MF, Rondinone CM. Mammalian target of rapamycin regulates IRS-1 serine 307 phosphorylation. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 316: 533-539
- 62 Krebs M, Roden M. Nutrient-induced insulin resistance in human skeletal muscle. *Curr Med Chem* 2004; 11: 901-908
- 63 Um SH, D'Alessio D, Thomas G. Nutrient overload, insulin resistance, and ribosomal protein S6 kinase 1, S6K1. *Cell Metab* 2006; 3: 393-402
- 64 Um SH, Frigerio F, Watanabe M, Picard F, Joaquin M, Sticker M, Fumagalli S, Allegretti PR, Kozma SC, Auwerx J, Thomas G. Absence of S6K1 protects against age- and diet-induced obesity while enhancing insulin sensitivity. *Nature* 2004; 431: 200-205
- 65 Tremblay F, Brûlé S, Hee Um S, Li Y, Masuda K, Roden M, Sun XJ, Krebs M, Polakiewicz RD, Thomas G, Marette A. Identification of IRS-1 Ser-1101 as a target of S6K1 in nutrient- and obesity-induced insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 14056-14061
- 66 Barbour LA, McCurdy CE, Hernandez TL, Friedman JE. Chronically increased S6K1 is associated with impaired IRS1 signaling in skeletal muscle of GDM women with impaired glucose tolerance postpartum. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 1431-1441
- 67 Krebs M, Brunmair B, Brehm A, Artwohl M, Szendroedi J, Nowotny P, Roth E, Fürnsinn C, Promintzer M, Anderwald C, Bischof M, Roden M. The Mammalian target of rapamycin pathway regulates nutrient-sensitive glucose uptake in man. *Diabetes* 2007; 56: 1600-1607
- 68 Tremblay F, Krebs M, Dombrowski L, Brehm A, Bernroider E, Roth E, Nowotny P, Waldhäusl W, Marette A, Roden M. Overactivation of S6 kinase 1 as a cause of human insulin resistance during increased amino acid availability. *Diabetes* 2005; 54: 2674-2684
- 69 Saha AK, Xu XJ, Lawson E, Deoliveira R, Brandon AE, Kraegen EW, Ruderman NB. Downregulation of AMPK accompanies leucine- and glucose-induced increases in protein synthesis and insulin resistance in rat skeletal muscle. *Diabetes* 2010; 59: 2426-2434
- 70 Newgard CB, An J, Bain JR, Muehlbauer MJ, Stevens RD, Lien LF, Haqq AM, Shah SH, Arlotto M, Slentz CA, Rochon J, Gallup D, Ilkayeva O, Wenner BR, Yancy WS, Eisenson H, Misante G, Surwit RS, Millington DS, Butler MD, Svetkey LP. A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metab* 2009; 9: 311-326
- 71 Eckel RH, Kahn SE, Ferrannini E, Goldfine AB, Nathan DM, Schwartz MW, Smith RJ, Smith SR. Obesity and type 2 diabetes: what can be unified and what needs to be individualized? *Diabetes Care* 2011; 34: 1424-1430
- 72 Hamdy O, Porramatikul S, Al-Ozairi E. Metabolic obesity: the paradox between visceral and subcutaneous fat. *Curr Diabetes Rev* 2006; 2: 367-373
- 73 Kim JK, Kim YJ, Fillmore JJ, Chen Y, Moore I, Lee J, Yuan M, Li ZW, Karin M, Perret P, Shoelson SE, Shulman GI. Prevention of fat-induced insulin resistance by salicylate. *J Clin Invest* 2001; 108: 437-446
- 74 Yuan M, Konstantopoulos N, Lee J, Hansen L, Li ZW, Karin M, Shoelson SE. Reversal of obesity- and diet-induced insu-
- lin resistance with salicylates or targeted disruption of Ik-
beta. *Science* 2001; 293: 1673-1677
- 75 de Alvaro C, Teruel T, Hernandez R, Lorenzo M. Tumor necrosis factor alpha produces insulin resistance in skeletal muscle by activation of inhibitor kappaB kinase in a p38 MAPK-dependent manner. *J Biol Chem* 2004; 279: 17070-17078
- 76 Gao Z, Hwang D, Bataille F, Lefevre M, York D, Quon MJ, Ye J. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor kappa B kinase complex. *J Biol Chem* 2002; 277: 48115-48121
- 77 Lee DF, Kuo HP, Chen CT, Hsu JM, Chou CK, Wei Y, Sun HL, Li LY, Ping B, Huang WC, He X, Hung JY, Lai CC, Ding Q, Su JL, Yang JY, Sahin AA, Hortobagyi GN, Tsai FJ, Tsai CH, Hung MC. IKK beta suppression of TSC1 links inflammation and tumor angiogenesis via the mTOR pathway. *Cell* 2007; 130: 440-455
- 78 Rosenthal J, Angel A, Farkas J. Metabolic fate of leucine: a significant sterol precursor in adipose tissue and muscle. *Am J Physiol* 1974; 226: 411-418
- 79 Lynch CJ, Fox HL, Vary TC, Jefferson LS, Kimball SR. Regulation of amino acid-sensitive TOR signaling by leucine analogues in adipocytes. *J Cell Biochem* 2000; 77: 234-251
- 80 Lynch CJ. Role of leucine in the regulation of mTOR by amino acids: revelations from structure-activity studies. *J Nutr* 2001; 131: 861S-865S
- 81 Lynch CJ, Gern B, Lloyd C, Hutson SM, Eicher R, Vary TC. Leucine in food mediates some of the postprandial rise in plasma leptin concentrations. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 291: E621-E630
- 82 Pham PT, Heydriček SJ, Fox HL, Kimball SR, Jefferson LS, Lynch CJ. Assessment of cell-signaling pathways in the regulation of mammalian target of rapamycin (mTOR) by amino acids in rat adipocytes. *J Cell Biochem* 2000; 79: 427-441
- 83 Kim JE, Chen J. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activity by mammalian target of rapamycin and amino acids in adipogenesis. *Diabetes* 2004; 53: 2748-2756
- 84 Fox HL, Kimball SR, Jefferson LS, Lynch CJ. Amino acids stimulate phosphorylation of p70S6k and organization of rat adipocytes into multicellular clusters. *Am J Physiol* 1998; 274: C206-C213
- 85 Fox HL, Pham PT, Kimball SR, Jefferson LS, Lynch CJ. Amino acid effects on translational repressor 4E-BP1 are mediated primarily by L-leucine in isolated adipocytes. *Am J Physiol* 1998; 275: C1232-C1238
- 86 Carnevali LS, Masuda K, Frigerio F, Le Bacquer O, Um SH, Gandin V, Topisirovic I, Sonenberg N, Thomas G, Kozma SC. S6K1 plays a critical role in early adipocyte differentiation. *Dev Cell* 2010; 18: 763-774
- 87 Peterson TR, Sengupta SS, Harris TE, Carmack AE, Kang SA, Balderas E, Guertin DA, Madden KL, Carpenter AE, Finck BN, Sabatini DM. mTOR complex 1 regulates lipin 1 localization to control the SREBP pathway. *Cell* 2011; 146: 408-420
- 88 Tovar AR, Torres N. The role of dietary protein on lipotoxicity. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1801: 367-371
- 89 Felig P, Marliss E, Cahill GF. Plasma amino acid levels and insulin secretion in obesity. *N Engl J Med* 1969; 281: 811-816
- 90 She P, Van Horn C, Reid T, Hutson SM, Cooney RN, Lynch CJ. Obesity-related elevations in plasma leucine are associated with alterations in enzymes involved in branched-chain amino acid metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293: E1552-E1563
- 91 Herman MA, She P, Peroni OD, Lynch CJ, Kahn BB. Adipose tissue branched chain amino acid (BCAA) metabolism modulates circulating BCAA levels. *J Biol Chem* 2010; 285: 11348-11356
- 92 She P, Reid TM, Bronson SK, Vary TC, Hajnal A, Lynch CJ, Hutson SM. Disruption of BCATm in mice leads to increased



- energy expenditure associated with the activation of a futile protein turnover cycle. *Cell Metab* 2007; 6: 181-194
- 93 Pietiläinen KH, Naukkarinen J, Rissanen A, Saharinen J, Elonen P, Keränen H, Suomalainen A, Götz A, Suortti T, Yki-Järvinen H, Oresic M, Kaprio J, Peltonen L. Global transcript profiles of fat in monozygotic twins discordant for BMI: pathways behind acquired obesity. *PLoS Med* 2008; 5: e51
- 94 Álvarez-Castro P, Sangiao-Alvarellos S, Brandón-Sandá I, Cerdido F. Endocrine function in obesity. *Endocrinol Nutr* 2011; 58: 422-432
- 95 Morton NM. Obesity and corticosteroids: 11beta-hydroxysteroid type 1 as a cause and therapeutic target in metabolic disease. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 316: 154-164
- 96 Shimizu N, Yoshikawa N, Ito N, Maruyama T, Suzuki Y, Takeda S, Nakae J, Tagata Y, Nishitani S, Takehana K, Sano M, Fukuda K, Suematsu M, Morimoto C, Tanaka H. Crosstalk between glucocorticoid receptor and nutritional sensor mTOR in skeletal muscle. *Cell Metab* 2011; 13: 170-182
- 97 Gray S, Wang B, Orihuela Y, Hong EG, Fisch S, Haldar S, Cline GW, Kim JK, Peroni OD, Kahn BB, Jain MK. Regulation of gluconeogenesis by Krüppel-like factor 15. *Cell Metab* 2007; 5: 305-312
- 98 Mutch DM, Fuhrmann JC, Rein D, Wiemer JC, Bouillot JL, Poitou C, Clément K. Metabolite profiling identifies candidate markers reflecting the clinical adaptations associated with Roux-en-Y gastric bypass surgery. *PLoS One* 2009; 4: e7905
- 99 Gletsu N, Lin E, Khaitan L, Lynch SA, Ramshaw B, Raziano R, Torres WE, Ziegler TR, Papanicolaou DA, Smith CD. Changes in C-reactive protein predict insulin sensitivity in severely obese individuals after weight loss surgery. *J Gastrointest Surg* 2005; 9: 1119-1126; discussion 1127-1128
- 100 Hansen EN, Tamboli RA, Isbell JM, Saliba J, Dunn JP, Marks-Shulman PA, Abumrad NN. Role of the foregut in the early improvement in glucose tolerance and insulin sensitivity following Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: G795-G802
- 101 Rhodes CJ. Type 2 diabetes-a matter of beta-cell life and death? *Science* 2005; 307: 380-384
- 102 Ackermann AM, Gannon M. Molecular regulation of pancreatic beta-cell mass development, maintenance, and expansion. *J Mol Endocrinol* 2007; 38: 193-206
- 103 McDaniel ML, Marshall CA, Pappan KL, Kwon G. Metabolic and autocrine regulation of the mammalian target of rapamycin by pancreatic beta-cells. *Diabetes* 2002; 51: 2877-2885
- 104 Vasavada RC, Gonzalez-Pertusa JA, Fujinaka Y, Fiaschi-Taesch N, Cozar-Castellano I, Garcia-Ocaña A. Growth factors and beta cell replication. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38: 931-950
- 105 Porstmann T, Santos CR, Lewis C, Griffiths B, Schulze A. A new player in the orchestra of cell growth: SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to the regulation of cell and organ size. *Biochem Soc Trans* 2009; 37: 278-283
- 106 Xu G, Kwon G, Cruz WS, Marshall CA, McDaniel ML. Metabolic regulation by leucine of translation initiation through the mTOR-signaling pathway by pancreatic beta-cells. *Diabetes* 2001; 50: 353-360
- 107 Xu G, Kwon G, Marshall CA, Lin TA, Lawrence JC, McDaniel ML. Branched-chain amino acids are essential in the regulation of PHAS-I and p70 S6 kinase by pancreatic beta-cells. A possible role in protein translation and mitogenic signaling. *J Biol Chem* 1998; 273: 28178-28184
- 108 Koyanagi M, Asahara S, Matsuda T, Hashimoto N, Shigeyama Y, Shibutani Y, Kanno A, Fuchita M, Mikami T, Hosooka T, Inoue H, Matsumoto M, Koike M, Uchiyama Y, Noda T, Seino S, Kasuga M, Kido Y. Ablation of TSC2 enhances insulin secretion by increasing the number of mitochondria through activation of mTORC1. *PLoS One* 2011; 6: e23238
- 109 Pende M, Kozma SC, Jaquet M, Oorschot V, Burcelin R, Le Marchand-Brustel Y, Klumperman J, Thorens B, Thomas G. Hypoinsulinemia, glucose intolerance and diminished beta-cell size in S6K1-deficient mice. *Nature* 2000; 408: 994-997
- 110 Dor Y, Brown J, Martinez OI, Melton DA. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature* 2004; 429: 41-46
- 111 Teta M, Rankin MM, Long SY, Stein GM, Kushner JA. Growth and regeneration of adult beta cells does not involve specialized progenitors. *Dev Cell* 2007; 12: 817-826
- 112 Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1965; 37: 614-636
- 113 Shigeyama Y, Kobayashi T, Kido Y, Hashimoto N, Asahara S, Matsuda T, Takeda A, Inoue T, Shibutani Y, Koyanagi M, Uchida T, Inoue M, Hino O, Kasuga M, Noda T. Biphasic response of pancreatic beta-cell mass to ablation of tuberous sclerosis complex 2 in mice. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 2971-2979
- 114 Gluckman PD, Hanson MA. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science* 2004; 305: 1733-1736
- 115 Kajantie E, Osmond C, Barker DJ, Forsén T, Phillips DI, Eriksson JG. Size at birth as a predictor of mortality in adulthood: a follow-up of 350 000 person-years. *Int J Epidemiol* 2005; 34: 655-663
- 116 Chakravarthy MV, Zhu Y, Wice MB, Coleman T, Pappan KL, Marshall CA, McDaniel ML, Semenkovich CF. Decreased fetal size is associated with beta-cell hyperfunction in early life and failure with age. *Diabetes* 2008; 57: 2698-2707
- 117 Karunakaran U, Kim HJ, Kim JY, Lee IK. Guards and culprits in the endoplasmic reticulum: glucolipotoxicity and beta-cell failure in type II diabetes. *Exp Diabetes Res* 2012; 2012: 639762
- 118 Hardie DG. Role of AMP-activated protein kinase in the metabolic syndrome and in heart disease. *FEBS Lett* 2008; 582: 81-89
- 119 Tzatsos A, Kandror KV. Nutrients suppress phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling via raptor-dependent mTOR-mediated insulin receptor substrate 1 phosphorylation. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 63-76
- 120 Bailey CJ, Turner RC. Metformin. *N Engl J Med* 1996; 334: 574-579
- 121 Lee JO, Lee SK, Jung JH, Kim JH, You GY, Kim SJ, Park SH, Uhm KO, Kim HS. Metformin induces Rab4 through AMPK and modulates GLUT4 translocation in skeletal muscle cells. *J Cell Physiol* 2011; 226: 974-981
- 122 Kalender A, Selvaraj A, Kim SY, Gulati P, Brûlé S, Viollet B, Kemp BE, Bardeesy N, Dennis P, Schlager JJ, Marette A, Kozma SC, Thomas G. Metformin, independent of AMPK, inhibits mTORC1 in a rat GTPase-dependent manner. *Cell Metab* 2010; 11: 390-401
- 123 Dowling RJ, Zakikhani M, Furtado IG, Pollak M, Sonenberg N. Metformin inhibits mammalian target of rapamycin-independent translation initiation in breast cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67: 10804-10812
- 124 Yang Y. Metformin for cancer prevention. *Front Med* 2011; 5: 115-117
- 125 Li D. Metformin as an antitumor agent in cancer prevention and treatment. *J Diabetes* 2011; 3: 320-327
- 126 McCarty MF. mTORC1 activity as a determinant of cancer risk—rationalizing the cancer-preventive effects of adiponectin, metformin, rapamycin, and low-protein vegan diets. *Med Hypotheses* 2011; 77: 642-648
- 127 Bo S, Ciccone G, Rosato R, Villois P, Appendino G, Ghigo E, Grassi G. Cancer mortality reduction and metformin: a retrospective cohort study in type 2 diabetic patients. *Diabetes Obes Metab* 2012; 14: 23-29
- 128 Marques FZ, Markus MA, Morris BJ. Resveratrol: cellular actions of a potent natural chemical that confers a diversity of health benefits. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 2125-2128
- 129 Zhou H, Luo Y, Huang S. Updates of mTOR inhibitors. *Anti-cancer Agents Med Chem* 2010; 10: 571-581
- 130 Jiang H, Shang X, Wu H, Gautam SC, Al-Holou S, Li C, Kuo J,

- Zhang L, Chopp M. Resveratrol downregulates PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in human U251 glioma cells. *J Exp Ther Oncol* 2009; 8: 25-33
- 131 Brito PM, Devillard R, Nègre-Salvayre A, Almeida LM, Dinis TC, Salvayre R, Augé N. Resveratrol inhibits the mTOR mitogenic signaling evoked by oxidized LDL in smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 2009; 205: 126-134
- 132 Lin JN, Lin VC, Rau KM, Shieh PC, Kuo DH, Shieh JC, Chen WJ, Tsai SC, Way TD. Resveratrol modulates tumor cell proliferation and protein translation via SIRT1-dependent AMPK activation. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 1584-1592
- 133 Fröjdö S, Cozzzone D, Vidal H, Pirola L. Resveratrol is a class IA phosphoinositide 3-kinase inhibitor. *Biochem J* 2007; 406: 511-518
- 134 Zhang Q, Kelly AP, Wang L, French SW, Tang X, Duong HS, Messadi DV, Le AD. Green tea extract and (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibit mast cell-stimulated type I collagen expression in keloid fibroblasts via blocking PI-3K/Akt signaling pathways. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 2607-2613
- 135 Van Aller GS, Carson JD, Tang W, Peng H, Zhao L, Copeland RA, Tummino PJ, Luo L. Epigallocatechin gallate (EGCG), a major component of green tea, is a dual phosphoinositide-3-kinase/mTOR inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 406: 194-199
- 136 Beavers CS, Chen L, Liu L, Luo Y, Webster NJ, Huang S. Curcumin disrupts the mammalian target of rapamycin-raptor complex. *Cancer Res* 2009; 69: 1000-1008
- 137 Anastasiou N, Boston S, Lacey M, Storing N, Whitehead SA. Evidence that low-dose, long-term genistein treatment inhibits oestradiol-stimulated growth in MCF-7 cells by down-regulation of the PI3-kinase/Akt signalling pathway. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2009; 116: 50-55
- 138 Nakamura Y, Yogosawa S, Izutani Y, Watanabe H, Otsuji E, Sakai T. A combination of indol-3-carbinol and genistein synergistically induces apoptosis in human colon cancer HT-29 cells by inhibiting Akt phosphorylation and progression of autophagy. *Mol Cancer* 2009; 8: 100
- 139 Kong D, Banerjee S, Huang W, Li Y, Wang Z, Kim HR, Sarkar FH. Mammalian target of rapamycin repression by 3,3'-diindolylmethane inhibits invasion and angiogenesis in platelet-derived growth factor-D-overexpressing PC3 cells. *Cancer Res* 2008; 68: 1927-1934
- 140 Reinke A, Chen JC, Aronova S, Powers T. Caffeine targets TOR complex I and provides evidence for a regulatory link between the FRB and kinase domains of Tor1p. *J Biol Chem* 2006; 281: 31616-31626
- 141 Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as "Curecumin": from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol* 2008; 75: 787-809
- 142 Johnson SM, Gulhati P, Arrieta I, Wang X, Uchida T, Gao T, Evers BM. Curcumin inhibits proliferation of colorectal carcinoma by modulating Akt/mTOR signaling. *Anticancer Res* 2009; 29: 3185-3190
- 143 Beavers CS, Li F, Liu L, Huang S. Curcumin inhibits the mammalian target of rapamycin-mediated signaling pathways in cancer cells. *Int J Cancer* 2006; 119: 757-764
- 144 Szkudelska K, Szkudelski T. Resveratrol, obesity and diabetes. *Eur J Pharmacol* 2010; 635: 1-8
- 145 Szkudelski T, Szkudelska K. Anti-diabetic effects of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1215: 34-39
- 146 Baile CA, Yang JY, Rayalam S, Hartzell DL, Lai CY, Andersen C, Della-Fera MA. Effect of resveratrol on fat mobilization. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1215: 40-47
- 147 Yang JY, Della-Fera MA, Rayalam S, Ambati S, Hartzell DL, Park HJ, Baile CA. Enhanced inhibition of adipogenesis and induction of apoptosis in 3T3-L1 adipocytes with combinations of resveratrol and quercetin. *Life Sci* 2008; 82: 1032-1039
- 148 Andersen C, Rayalam S, Della-Fera MA, Baile CA. Phytochemicals and adipogenesis. *Biofactors* 2010; 36: 415-422
- 149 Beaudeux JL, Nivet-Antoine V, Giral P. Resveratrol: a relevant pharmacological approach for the treatment of metabolic syndrome? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010; 13: 729-736
- 150 Rains TM, Agarwal S, Maki KC. Antidiabetes effects of green tea catechins: a mechanistic review. *J Nutr Biochem* 2011; 22: 1-7
- 151 Wu JC, Lai CS, Badmaev V, Nagabhushanam K, Ho CT, Pan MH. Tetrahydrocurcumin, a major metabolite of curcumin, induced autophagic cell death through coordinative modulation of PI3K/Akt-mTOR and MAPK signaling pathways in human leukemia HL-60 cells. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55: 1646-1654
- 152 Banerjee S, Kong D, Wang Z, Bao B, Hillman GG, Sarkar FH. Attenuation of multi-targeted proliferation-linked signaling by 3,3'-diindolylmethane (DIM): from bench to clinic. *Mutat Res* 2011; 728: 47-66
- 153 Eto I. Nutritional and chemopreventive anti-cancer agents up-regulate expression of p27kip1, a cyclin-dependent kinase inhibitor, in mouse JB6 epidermal and human MCF7, MDA-MB-321 and AU565 breast cancer cells. *Cancer Cell Int* 2006; 6: 20
- 154 Yan GR, Xiao CL, He GW, Yin XF, Chen NP, Cao Y, He QY. Global phosphoproteomic effects of natural tyrosine kinase inhibitor, genistein, on signaling pathways. *Proteomics* 2010; 10: 976-986
- 155 Puli S, Jain A, Lai JC, Bhushan A. Effect of combination treatment of rapamycin and isoflavones on mTOR pathway in human glioblastoma (U87) cells. *Neurochem Res* 2010; 35: 986-993
- 156 Butt MS, Sultan MT. Coffee and its consumption: benefits and risks. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2011; 51: 363-373
- 157 Foukas LC, Daniele N, Ktori C, Anderson KE, Jensen J, Shepherd PR. Direct effects of caffeine and theophylline on p110 delta and other phosphoinositide 3-kinases. Differential effects on lipid kinase and protein kinase activities. *J Biol Chem* 2002; 277: 37124-37130
- 158 Kudchodkar SB, Yu Y, Maguire TG, Alwine JC. Human cytomegalovirus infection alters the substrate specificities and rapamycin sensitivities of raptor- and rictor-containing complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 14182-14187
- 159 Saiki S, Sasazawa Y, Imamichi Y, Kawajiri S, Fujimaki T, Tanida I, Kobayashi H, Sato F, Sato S, Ishikawa K, Imoto M, Hattori N. Caffeine induces apoptosis by enhancement of autophagy via PI3K/Akt/mTOR/p70S6K inhibition. *Autophagy* 2011; 7: 176-187
- 160 Proud CG. mTOR Signalling in Health and Disease. *Biochem Soc Trans* 2011; 39: 431-436
- 161 Mieulet V, Lamb RF. Tuberous sclerosis complex: linking cancer to metabolism. *Trends Mol Med* 2010; 16: 329-335
- 162 Dann SG, Selvaraj A, Thomas G. mTOR Complex1-S6K1 signaling: at the crossroads of obesity, diabetes and cancer. *Trends Mol Med* 2007; 13: 252-259
- 163 Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth. *Nature* 2006; 441: 424-430
- 164 Spilman P, Podlubskaya N, Hart MJ, Debnath J, Gorostiza O, Bredesen D, Richardson A, Strong R, Galvan V. Inhibition of mTOR by rapamycin abolishes cognitive deficits and reduces amyloid-beta levels in a mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS One* 2010; 5: e9979
- 165 Gu Y, Nieves JW, Stern Y, Luchsinger JA, Scarmeas N. Food combination and Alzheimer disease risk: a protective diet. *Arch Neurol* 2010; 67: 699-706
- 166 Cordain L, Eades MR, Eades MD. Hyperinsulinemic diseases of civilization: more than just Syndrome X. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2003; 136: 95-112
- 167 Wheelhouse NM, Stubbs AK, Lomax MA, MacRae JC, Hazlerigg DG. Growth hormone and amino acid supply interact synergistically to control insulin-like growth factor-I production and gene expression in cultured ovine hepatocytes. *J Endocrinol* 1999; 163: 353-361
- 168 Swenne I, Borg LA, Crace CJ, Schnell Landström A. Per-

- sistent reduction of pancreatic beta-cell mass after a limited period of protein-energy malnutrition in the young rat. *Diabetologia* 1992; 35: 939-945.
- 169 Melnik BC. Milk signalling in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Med Hypotheses* 2011; 76: 553-559.
- 170 Rich-Edwards JW, Ganmaa D, Pollak MN, Nakamoto EK, Kleinman K, Tserendolgor U, Willett WC, Frazier AL. Milk consumption and the prepubertal somatotrophic axis. *Nutr J* 2007; 6: 28.
- 171 Hoyt G, Hickey MS, Cordain L. Dissociation of the glycaemic and insulinemic responses to whole and skimmed milk. *Br J Nutr* 2005; 93: 175-177.
- 172 Hoppe C, Mølgaard C, Vaag A, Barkholt V, Michaelsen KF. High intakes of milk, but not meat, increase s-insulin and insulin resistance in 8-year-old boys. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59: 393-398.
- 173 Norat T, Dossus L, Rinaldi S, Overvad K, Grønbæk H, Tjønneland A, Olsen A, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Boeing H, Lahmann PH, Linseisen J, Nagel G, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Kalapothaki V, Sieri S, Palli D, Panico S, Tumino R, Sacerdote C, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, van Gils CH, Agudo A, Amiano P, Ardanaz E, Martinez C, Quirós R, Tormo MJ, Bingham S, Key TJ, Allen NE, Ferrari P, Slimani N, Riboli E, Kaaks R. Diet, serum insulin-like growth factor-I and IGF-binding protein-3 in European women. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61: 91-98.
- 174 Crowe FL, Key TJ, Allen NE, Appleby PN, Roddam A, Overvad K, Grønbæk H, Tjønneland A, Halkjaer J, Dossus L, Boeing H, Kröger J, Trichopoulou A, Dilis V, Trichopoulos D, Boutron-Ruault MC, De Lauzon B, Clavel-Chapelon F, Palli D, Berrino F, Panico S, Tumino R, Sacerdote C, Bueno-de-Mesquita HB, Vrieling A, van Gils CH, Peeters PH, Gram IT, Skeie G, Lund E, Rodríguez L, Jakszyn P, Molina-Montes E, Tormo MJ, Barricarte A, Larrañaga N, Khaw KT, Bingham S, Rinaldi S, Slimani N, Norat T, Gallo V, Riboli E, Kaaks R. The association between diet and serum concentrations of IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-2, and IGFBP-3 in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 1333-1340.
- 175 Melnik BC, John SM, Schmitz G. Over-stimulation of insulin/IGF-1 signaling by western diet may promote diseases of civilization: lessons learnt from Laron syndrome. *Nutr Metab (Lond)* 2011; 8: 41.
- 176 Nommsen LA, Lovelady CA, Heinig MJ, Lönnerdal B, Dewey KG. Determinants of energy, protein, lipid, and lactose concentrations in human milk during the first 12 mo of lactation: the DARLING Study. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 457-465.
- 177 Bounous G, Kongshavn PA, Taveroff A, Gold P. Evolutionary traits in human milk proteins. *Med Hypotheses* 1988; 27: 133-140.
- 178 Gordon HH, Levine SZ, McNamara H. Feeding of premature infants; a comparison of human and cow's milk. *Am J Dis Child* 1947; 73: 442-452.
- 179 Babson SG, Bramhall JL. Diet and growth in the premature infant. The effect of different dietary intakes of ash-electrolyte and protein on weight gain and linear growth. *J Pediatr* 1969; 74: 890-900.
- 180 Davis TA, Nguyen HV, Garcia-Bravo R, Fiorotto ML, Jackson EM, Lewis DS, Lee DR, Reeds PJ. Amino acid composition of human milk is not unique. *J Nutr* 1994; 124: 1126-1132.
- 181 Koletzko B, von Kries R, Closa R, Escribano J, Scaglioni S, Giovannini M, Beyer J, Demmelmair H, Grusfeld D, Dobrzanska A, Sengier A, Langhendries JP, Rolland Cachera MF, Grote V. Lower protein in infant formula is associated with lower weight up to age 2 y: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 1836-1845.
- 182 Koletzko B, von Kries R, Closa R, Escribano J, Scaglioni S, Giovannini M, Beyer J, Demmelmair H, Anton B, Grusfeld D, Dobrzanska A, Sengier A, Langhendries JP, Rolland Cachera MF, Grote V. Can infant feeding choices modulate later obesity risk? *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 1502S-1508S.
- 183 Socha P, Grote V, Grusfeld D, Janas R, Demmelmair H, Closa-Monasterolo R, Subías JE, Scaglioni S, Verduci E, Dain E, Langhendries JP, Perrin E, Koletzko B. Milk protein intake, the metabolic-endocrine response, and growth in infancy: data from a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 1776S-1784S.
- 184 Hoppe C, Mølgaard C, Michaelsen KF. Cow's milk and linear growth in industrialized and developing countries. *Annu Rev Nutr* 2006; 26: 131-173.
- 185 Martinez JA, Ballew MP. Infant formulas. *Pediatr Rev* 2011; 32: 179-189; quiz 189.
- 186 Kappeler L, De Magalhaes Filho C, Leneuve P, Xu J, Brunel N, Chatziantoniou C, Le Bouc Y, Holzenberger M. Early postnatal nutrition determines somatotrophic function in mice. *Endocrinology* 2009; 150: 314-323.

S-Editor Wu X L-Editor Roemmelle A E-Editor Zheng XM