

実験動物を用いた酢酸の肥満抑制効果の評価

Assessment of acetate on anti-obesity effect with experimental animal

山下 広美

Hiromi Yamashita

岡山県立大学 保健福祉学部 栄養学科

Department of Nutritional Science, Faculty of Health and Welfare Science, Okayama Prefectural University

Summary

Acetate is an endogenous metabolite of fatty acid β -oxidation in the liver mitochondria under starved condition. Orally administered acetate is readily absorbed in the blood stream and then taken up by tissues and activates AMP-activated protein kinase (AMPK) by increasing the AMP/ATP ratio. Administered acetate shows a marked reduction in lipid accumulation in the adipose tissue, protection against accumulation of fat in the liver, and improves glucose tolerance. It decreases the transcripts of the lipogenic genes in the liver, indicating an inhibition of lipogenesis in that organ. Furthermore, acetate treatment shows a higher rate of oxygen consumption and a smaller size of lipid droplets in white and brown adipose tissues. It is indicated that acetate taken up has a potential to prevent obesity and obesity-linked type 2 diabetes.

はじめに

肥満や生活習慣病の増加と共に中年男性を中心にメタボリックシンドローム増加の危険性が指摘されている。この主因として過栄養や偏食がもたらす体脂肪の過剰蓄積、また肝臓など臓器への異常な脂肪蓄積が指摘されている。肥満や生活習慣病が増加する現状を背景にして、様々な健康食品も市販されている。私達はこれまで安全性が高く、食経験の豊富な食品成分の中でも特に酢に注目し、酢の主成分である酢酸の生体における生理作用と機能について検討してきた。酢酸は、生体において空腹時に脂肪酸から生成される内因性の成分であり、骨格筋などで生体燃料として作用することをこれまで示してきた(1-4)。本稿では、実験動物を用いて外因性に酢酸を摂取させた場合の肥満抑制効果について概説する。

1. 酢酸の体重増加抑制効果

過食により肥満と2型糖尿病を発症する病態モデル動物(OLETFラット(5))を用いて酢酸の影響を検討した。5週齢OLETFラットを、水を投与する群および酢酸を投与する群の2群に分けて、毎日一定時刻に蒸留水または1v/v%酢酸溶液をそれぞれ5ml/kg-体重量、ゾンデを用いて胃腔内に投与した。またOLETFラットと近縁であるが肥満しないLETOラットも対照動物として同時期に飼育して比較した。OLETFラットに酢酸を継続的に経口投与すると、水投与群に比較して体重増加の有意な抑制が見られ、その程度は肥満しないLETOラットと同程度であった(図1)(6)。腹腔内脂肪蓄積重量を比較すると、酢酸群は水群に比較して腹腔内脂肪量の蓄積が抑制されていた(図2)。血液の生化学性状検査において

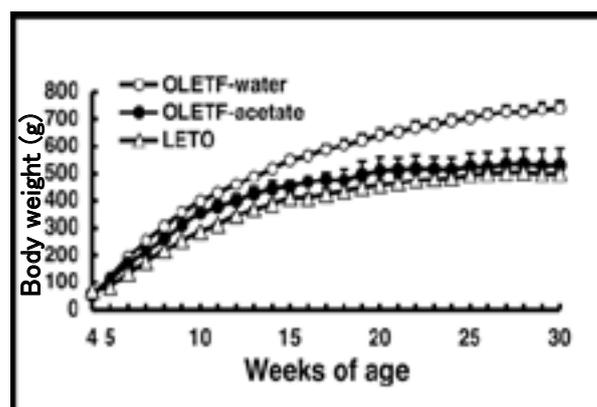


図1 OLETFラットの体重変化に及ぼす酢酸の影響

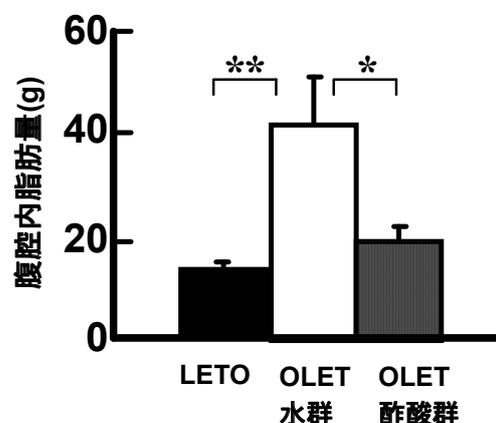


図2 OLETFラットの腹腔内脂肪量に及ぼす酢酸の影響

は、血糖値、中性脂肪および血中コレステロール値の低下、高インスリン血漿が改善されていた。

2. 酢酸の耐糖能測定

酢酸を継続的に摂取させた30週齢時のOLETFラットを用いて経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)を行った。一晩絶食にしたラットに2g/kg-体重量のグルコース溶液をゾンデにて胃腔内に投与し、投与直後から120分までの血糖値の変動を調べた。インスリン感受性が正常であると、ブドウ糖を負荷した後、過剰の血糖値上昇は起こらないし、また血糖値は糖負荷後2時間までにもとのレベルに戻る。水群のOLETFラットはLETOラットに比較して耐糖能が悪化しており、血糖値は上昇後長時間維持されたままであったが、酢酸を投与したOLETFラット群では耐糖能が改善されていた(図3)(6)。

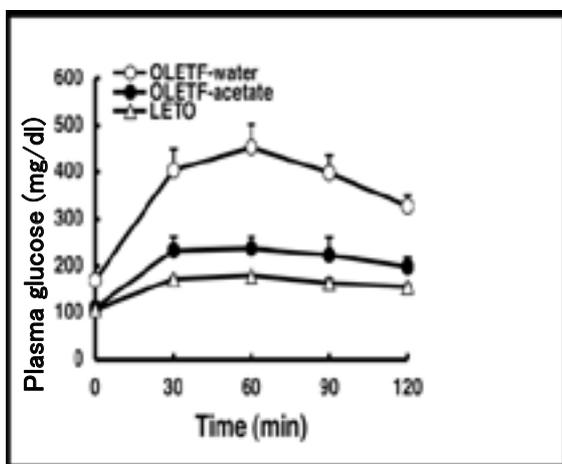


図3 OLETFラットの耐糖能に対する酢酸の影響

水および酢酸を31週齢まで摂取させたOLETFラットにグルコース(2g/kg体重)を経口的に投与し、投与後2時間の血糖値の変動を示した。

3. 酢酸の脂肪肝抑制効果

OLETFラットの肝臓組織の脂肪蓄積状態を組織染色法により形態学的に調べた。その結果、水群OLETFラット肝臓の脂肪蓄積量はLETO群に比較して多かったが、酢酸を摂取させると脂肪滴蓄積は著しく改善された(6)。

4. 酢酸による肝臓の脂肪合成酵素遺伝子発現の抑制

水投与群と酢酸投与群のOLETFラット肝臓における脂肪合成系酵素遺伝子の発現量を比較した。酢酸群の肝臓では脂肪合成遺伝子(アセチルCoAカルボキシラーゼ、脂肪合成酵素、グルコース6-リン酸脱水素酵素、リンゴ酸酵素、L型ピルビン酸キナーゼ)の発現量は水群に比較して低下していた。これより酢酸による脂肪蓄積抑制効果の少なくとも一部は肝臓における脂肪合成抑制を介して生じたものであると考えられた(6)。

5. 酢酸の血中への移行と組織における酢酸の代謝

に伴うAMP/ATP比の変化

酢酸は細胞内でアセチルCoA合成酵素によりアセチルCoAに変換され代謝されるが、その過程でAMPを生成する。組織内でAMP/ATP比が高くなるとAMPキナーゼ(AMPK)がリン酸化され活性化されることが知られている(7-9)。AMPKは α 、 β 、 γ の3つのサブユニットで構成されているヘテロ3量体タンパク質であり生体における脂肪酸や糖の代謝を調節するエネルギー代謝センサーとして知られる因子である。AMPKがリン酸化されて活性化すると、脂肪合成は抑制され脂肪酸の酸化分解が促進する(7-9)。そこで経口投与した酢酸の血中への移行と組織における核酸(ATP、ADP、AMP)レベルの変化を調べた。SDラットに酢酸溶液を経口投与すると、投与後速やかに血中酢酸濃度が上昇し、10分以内に基の血中レベルに戻っていた。血中酢酸濃度は投与した酢酸濃度に依存していた。酢酸の血中レベルの変化に伴って肝臓においてAMPの濃度の上昇が認められ、AMP/ATP比が上昇した。酢酸を投与した動物の肝臓においてもAMPKのリン酸化レベルが増加していることを確認した。

6. 酢酸の脂肪蓄積抑制のメカニズム

AMPKが活性化すると、肝臓の脂肪合成に関わる転写因子、carbohydrate-responsive element-binding protein (ChREBP)がリン酸化され不活性化され、脂肪合成関連遺伝子の転写活性が低下する(10,11)。酢酸を投与したラットの肝臓における脂肪合成系遺伝子(ACC、FAS、G6PD、ME、L-PKなど)のmRNA発現量が低下していたことから、酢酸を摂取すると肝臓においてAMP/ATP比が増加しAMPKの活性化とChREBPの不活性化を介して脂肪合成酵素遺伝子の発現低下を生じさせ、脂肪合成の抑制と脂肪蓄積の減少をもたらすことが強く示唆された(12)。

7. 酢酸を投与した動物のエネルギー代謝変動の測定

酢酸を摂取させたラットにおけるエネルギー代謝量を測定するために、酸素吸収量と二酸化炭素排出量を小動物用代謝計測システムを用いて測定した。その結果、酢酸を摂取したOLETFラットは水投与群に比較して酸素消費量が増加していた。これより、酢酸を摂取するとエネルギー代謝が促進すると示唆された(12)。

8. 骨格筋および脂肪組織における酢酸の影響

酢酸を投与したOLETFラットの骨格筋および脂肪組織における代謝関連遺伝子の発現動態を解析した。骨格筋における脂肪代謝関連遺伝子の発現レベルを解析したところ、酢酸添加後ミオグロビンおよびGLUT4の発現量が有意に増加していた(12)。骨格筋におけるAMP/ATP比およびAMPKのリン酸化のレベルは肝臓の場合と同様に酢酸

の投与後増加していた。これより酢酸は骨格筋に取り込まれた後、その代謝過程において AMP を生成し AMPK を活性化すると推測された。またミオグロビンの発現増加を介して脂肪代謝を間接的に促進すること、また GLUT4 の発現増加を介して糖取り込みを促進すると示唆された(12)。

9. 酢酸の脂肪組織における脂肪滴肥大化抑制作用
 酢酸を摂取した動物の脂肪細胞（白色脂肪組織および褐色脂肪組織）の脂肪滴の大きさを HE 染色により比較した結果、酢酸群 OLETF ラットにおいてはその肥大化が著しく抑制されていた。また脂肪組織における脂肪分解関連遺伝子の発現レベルを調べると、それらは増加する傾向にあった。以上より酢酸は肝臓、骨格筋および脂肪組織に作用して脂肪代謝を促進し、脂肪蓄積を抑制すると示唆された(12)。

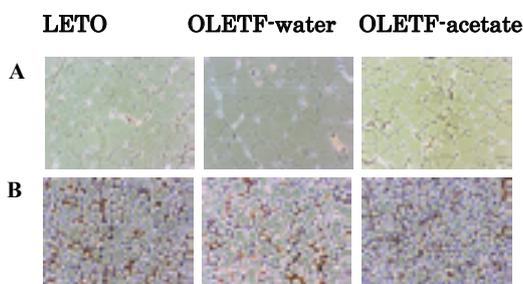


図 4 水 (OLETF-water) または酢酸 (OLETF-acetate) を投与した OLETF ラットの白色脂肪組織 (A) および褐色脂肪組織 (B) の組織化学的観察 (HE 染色)

まとめ

酢酸は生体において空腹時に脂肪酸から生成される内因性の成分であるが、外因性に経口摂取すると血中に容易に移行し、速やかに組織に吸収され代謝される。その過程で AMPK を活性化し肥満の抑制、耐糖能の改善、脂肪肝の低下、さらに 2 型糖尿病の予防・改善の効果をもたらすと示唆される。

参考文献

- 1) Yamashita, H., Kaneyuki, T., and Tagawa, K., Production of acetate in the liver and its utilization in peripheral tissues. *Biochem. Biophys. Acta*, 1532, 79-87 (2001).
- 2) Yamashita, H., Itsuki, A., Kimoto, M., Hiemori, M., and Tsuji, H., Acetate generation in rat liver mitochondria; acetyl-CoA hydrolase activity is demonstrated by 3-ketoacyl-CoA thiolase. *Biochem. Biophys. Acta*, 1761, 17-23 (2006).

- 3) Yamashita, H., Fukuura, A., Nakamura, T., Kaneyuki, T., Kimoto, M., Hiemori, M., and Tsuji, H., Purification and partial characterization of acetyl-CoA synthetase in rat liver mitochondria, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 48, 359-364 (2002).
- 4) Itsuki-Yoneda, A., Kimoto, M., Tsuji, H., Hiemori, M., Yamashita, H., Effect of hypolipidemic drug, di (2-ethylhexyl) phthalate, on mRNA expression associating fatty acid and acetate metabolism in rat tissues, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71 (2007) 414-420.
- 5) Shima, K., "Obesity and NIDDM. Lessons from the OLETF Rat," Elsevier, Amsterdam (1999).
- 6) Yamashita, H., Fujisawa, K., Ito, E., Idei, S., Kawaguchi, N., Kimoto, M., Hiemori, M., Tsuji, H., Improvement of obesity and glucose tolerance by acetate in Type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) Rats, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71: 1236-1243 (2007).
- 7) Moore, F., Weekes, J., and Hardie, D.G., Evidence that AMP triggers phosphorylation as well as direct allosteric activation of rat liver AMP-activated protein kinase. *Eur. J. Biochem.*, 199: 691-697 (1991).
- 8) Dyck, J.R.B., Kudo, N., Barr, A.J., Davies, S.P., Hardie, D.G., and Lopaschuk, G.D., Phosphorylation control of cardiac acetyl-CoA carboxylase by cAMP-dependent protein kinase and 5'-AMP activated protein kinase. *Eur. J. Biochem.*, 262: 184-190 (1999).
- 9) Hardie, D.G., Carling, D., and Carlson, M., The AMP-activated/SNF1 protein kinase subfamily: metabolic sensors of the eukaryotic cell? *Ann. Rev. Biochem.*, 67: 821-855 (1998).
- 10) Yamashita, H., Takenoshita, M., Sakurai, M., Bruick, R.K., Henzel, W.J., Shillinglaw, W., Arnot, D., and Uyeda, K., A glucose-responsive transcription factor that regulates carbohydrate metabolism in the liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98: 9116-9121 (2001).
- 11) Kawaguchi, T., Osatomi, K., Yamashita, H., Kabashima, T., and Uyeda, K., Mechanism for fatty acid "sparing" effect on glucose-induced transcription. *J. Biol. Chem.*, 277: 3829-3835 (2002).
- 12) Yamashita, H., Maruta, H., Jozuka, M., Kimura, R., Iwabuchi, H., Yamato, M., Saito, T., Fujisawa, K., Takahashi, Y., Kimoto, M., Hiemori, M., Tsuji, H., Effects of acetate on lipid metabolism in muscle and adipose tissue of type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73: 570-576 (2009).