

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 17 日現在

機関番号：27301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23700919

研究課題名（和文） 脂肪組織のビタミン A 代謝およびその肥満抑制効果に関する研究

研究課題名（英文） The study on vitamin A metabolism in adipose tissues and suppression of obesity by vitamin A.

研究代表者

山口 範晃（YAMAGUCHI NORIAKI）

長崎県立大学・看護栄養学部・助教

研究者番号：80516295

研究成果の概要（和文）：高脂肪食を摂食させたマウスは、標準食を摂食させたマウスよりも脂肪組織重量が増大したが、それと同時にビタミン A（*all-trans* レチノイン酸: ATRA）を経口投与したマウスは、脂肪組織重量の増加を抑制した。さらに、呼気分析によるエネルギー消費量を測定したところ、ATRA を投与したマウスは、脂質由来のエネルギー消費量が増大した。このことから、ATRA は、高脂肪食の摂食による体脂肪の蓄積を抑制することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The high-fat diets (HFD)-fed mice increased in adipose tissue levels, compared with control diets (AIN-93) fed mice. The adipose tissue levels of HFD-fed mice were decreased by oral administration of *all-trans* retinoic acid (ATRA). Moreover, the orally administrated HFD-fed mice of ATRA increased in energy expenditures due to enhancement of fat combustion. Taken together, ATRA could protect from HFD-induced obesity.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|-------|-----------|---------|-----------|
| 交付決定額 | 2,600,000 | 780,000 | 3,380,000 |

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：ビタミン A、*all-trans* レチノイン酸、脂肪組織、高脂肪食、脂質代謝、エネルギー消費量

1. 研究開始当初の背景

ビタミン A（レチノール、レチナール、レチノイン酸とその類縁化合物）は、ヒトを含む多くの生物に対して、様々な生理作用を有する栄養素である。その脂肪組織における生理作用の一つとして、脂肪組織重量の減少が報告されており、肥満の治療や予防に貢献できることが期待されている。しかし、これらの生理作用に関する詳細な機序は十分に分かっていない。

2. 研究の目的

肥満や糖尿病などの生活習慣病の原因と

なるのは、過食や偏食などの食生活によるものが大きいとされる。そこで本研究では、高カロリーである高脂肪食を C57BL/6N マウスに摂食させると同時に、ビタミン A の活性型である *all-trans* レチノイン酸（ATRA）や、ビタミン A 前駆体であるβカロテンやβ-アポ-8-カロテナール（B8AC）を経口投与した時の脂肪組織重量の変動と脂肪組織の各種代謝変動を検討した。

3. 研究の方法

(1) 動物飼育

5 週齢の C57BL/6N マウスに高脂肪食（脂

質の摂取エネルギー比 60 %) およびそのコントロール食である AIN-93M を 8 週間与えた。同時に、ATRA (5 mg/ kg body weight)、βカロテン (20 mg/ kg body weight)、B8AC (5 mg/ kg body weight) を経口投与した。飼育期間は体重変動、摂食量を測定した。飼育終了後は断頭屠殺し、脂肪組織および血液を採取した。

(2) X 線 CT による脂肪組織重量の測定

12 週齢の各群マウスを用いて、実験動物 X 線 CT 装置 (ラシータ LCT-100、日立アロカメディカル) による脂肪組織重量を解析した。

(3) 呼気分析測定

呼気分析装置 (ARCO-2000、アルコシステム社) を用いて、エネルギー消費量および脂質・糖質燃焼量を算出した。

(4) 血液パラメーター

採取した血液から血清分離後、各種代謝産物、各種ホルモンおよび各種アディポサイトカインを測定した。

(5) 各種代謝関連遺伝子発現量の測定

各群マウスから採取した脂肪組織から総 RNA を抽出した後、各種代謝に関わる遺伝子発現量をリアルタイム RT-PCR により測定した。

4. 研究成果

(1) 体重変動

高脂肪食摂食マウス (HFD) 群は、コントロール食を摂食させたマウス群 (コントロール群) よりも体重が増加したが、高脂肪食を摂食させた ATRA 投与群 (HFD-ATRA 群) は、HFD 群と比較して、10 週齢から体重が有意に低値を示した (図 1)。一方、高脂肪食を摂食と同時にβカロテンおよび B8AC を経口投与したマウスは、HFD 群と殆ど変らなかった。

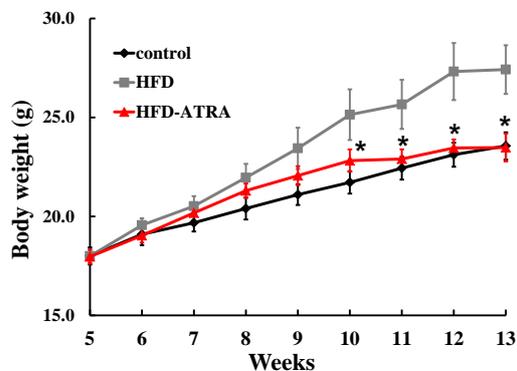
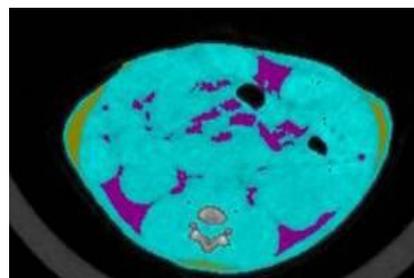


図 1. 各群マウスの体重変動

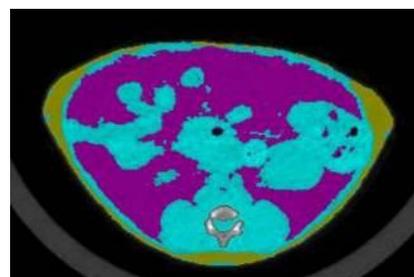
* : HFD 群に対して有意差あり (p<0.05)

(2) 脂肪組織重量の変動

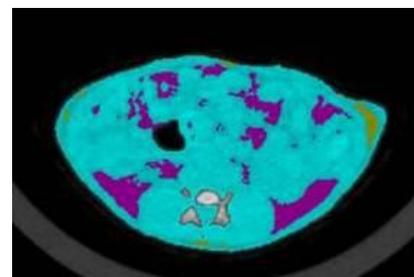
12 週齢の各群マウスの X 線 CT による断層画像は図 2 のように示した。この画像写真から、HFD 群はコントロール群と比べて内臓脂肪や皮下脂肪を示す範囲は広いが、HFD-ATRA 投与群では、HFD 群と比較してそれらの範囲は狭かった。さらに、マウス腹腔内の脂肪組織および筋肉の画像を解析して定量化した (図 3)。脂肪組織重量は、HFD-ATRA 群が HFD 群よりも有意に低値を示し、コントロール群と同等のレベルを示した。一方、筋肉重量においては、どの群とも差が無かった。このことから、図 1 に示した ATRA 投与による高脂肪摂食マウスの体重増加の抑制は、脂肪組織重量の増加を抑制したことが要因であると考えられる。一方、βカロテンおよび B8AC を経口投与したマウスは、HFD 群と比較して脂肪組織重量に変動は殆ど無かった。



control



HFD



HFD-ATRA

図 2. X 線 CT によるマウス腹腔内画像
画像写真は、水色が筋肉や組織、赤色は内臓脂肪、黄色は皮下脂肪を示す。

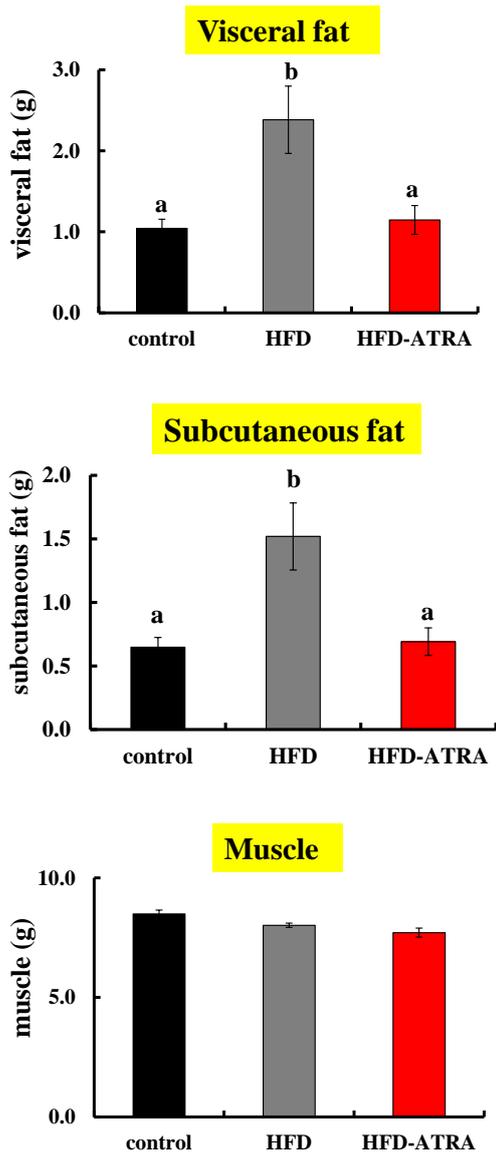


図 3. X線CTによる内臓脂肪、皮下脂肪および筋肉重量の定量解析
異なるアルファベットは有意差を示す($p < 0.05$, Tukey's test)。

(3) エネルギー消費量の算出

呼気分析による体重あたりのエネルギー消費量の変動を算出したところ、HFDよりもHFD-ATRA群で増大した。さらに、これらのエネルギー消費量をさらに分析したところ、脂質燃焼によるエネルギー消費量がHFD群よりもATRA群で増大した(図4)。また、飼育期間中の摂食量はHFD群とHFD-ATRA群で殆ど差は無く、摂取エネルギー量はほぼ同じであった。このことから、ATRA投与によるエネルギー消費量の増大は、脂質燃焼量が増大したことが要因であると考えられる。

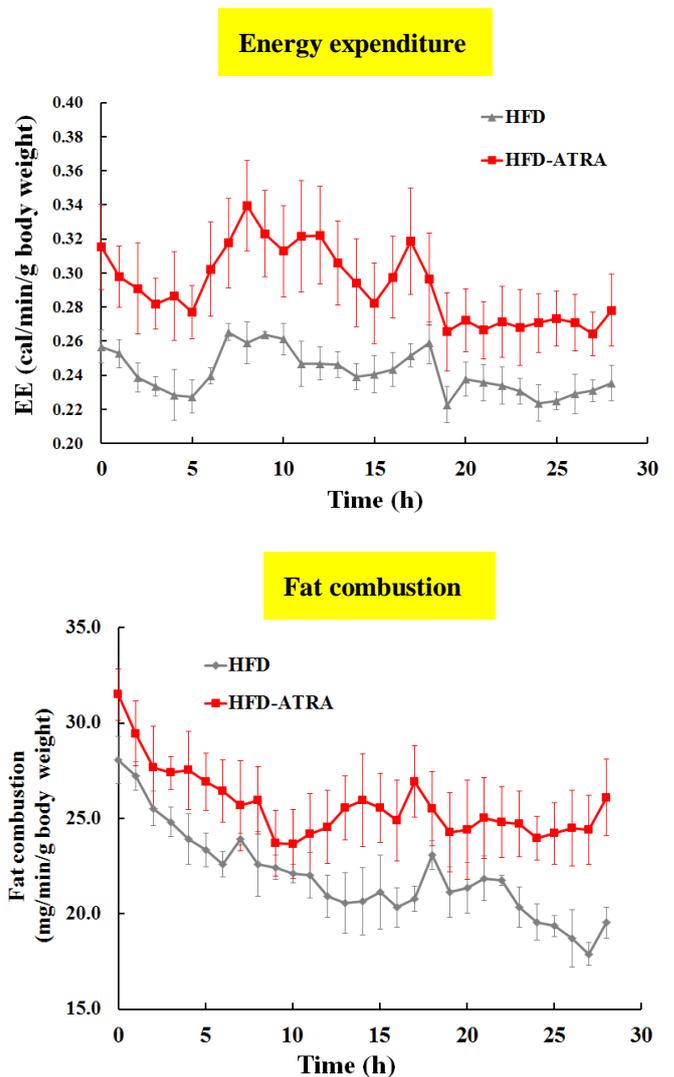


図 4. 各群マウスの体重あたりのエネルギー消費量および脂質燃焼量の変動

(4) 血液パラメーター

血清中の各代謝産物であるグルコース、中性脂肪、コレステロールおよび遊離脂肪酸 (NEFA) 濃度はどの群とも殆ど差は無かった。血清中のアディポサイトカインについては、血清レプチン濃度はコントロール群と比較して HFD 群で高濃度を示したが、HFD-ATRA 群のその濃度は HFD 群よりも有意に低下した。血清アディポネクチン濃度は、コントロール群と HFD 群に殆ど差は無かったが、HFD-ATRA 群においてその濃度が低下する傾向を示した (表 1)。

表 1. 各群マウスの血清パラメーター

| | Control | HFD | HFD+ATRA |
|----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| glucose (mg/dl) | 121±16.8 | 126±10.3 | 90±19.4 |
| triglyceride (mg/dl) | 106.6±10.2 | 106.6±4.7 | 167.9±16.5 |
| NEFA (mEq/L) | 1.56±0.09 | 1.26±0.04 | 1.53±0.23 |
| cholesterol (mg/dl) | 138±8.7 | 153±3.1 | 134±12.7 |
| insulin (ng/ml) | 1.47±0.2 | 0.92±0.24 | 0.49±0.13 |
| adiponectin (µg/ml) | 30.2±1.7 | 24.1±1.8 | 16.6±2.1 |
| leptin (ng/ml) | 4.16±0.64 ^a | 8.41±2.18 ^b | 1.54±0.36 ^a |

異なるアルファベットは有意差を示す ($p < 0.05$, Tukey's test)。

(5) 各種代謝関連遺伝子発現量の測定

脂肪酸合成酵素である Fatty Acid Synthetase (FAS) の遺伝子発現量は、HFD 群と比較して HFD-ATRA 群で低い傾向を示した。一方、脂肪酸β酸化に関わる酵素 acyl-Coenzyme A oxidase 1 (ACOX1) や熱産生タンパク質 uncoupling proteins (UCPs) の遺伝子発現量は、HFD 群と比較して ATRA 投与群で高い傾向を示した (図 5)。一方、βカロテンおよび B8AC 投与による影響は HFD 群と比較して殆ど無かった。

(6) 結論

ATRA は体脂肪の分解を促進させ、脂質由来のエネルギー消費量が増大したことで、体脂肪の蓄積が抑制されることが示唆された。

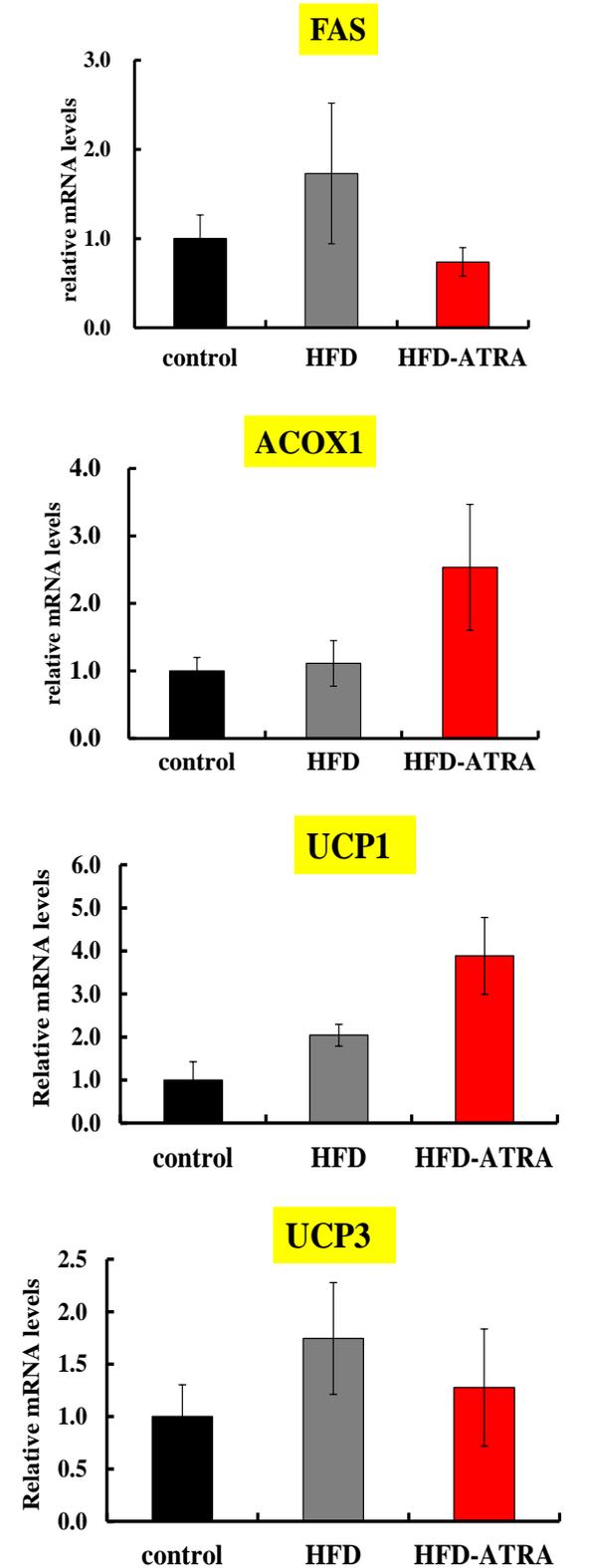


図 5. 各群マウスの脂質代謝関連遺伝子の発現量

(7) 今後の展開

本研究結果も含めて、ATRA を含めたビタミン A が脂肪組織重量の減少を誘発する生理作用が報告されており、今後の肥満や2型糖尿病の治療や予防への貢献が期待される。その中で、本研究の今後の展開として、大量のエネルギーを消費する組織である筋肉において、ビタミンAが脂質のβ酸化能や熱産生およびエネルギー消費量をどのように増大させるかについて検討することを考えている。また、筋肉におけるビタミンA代謝の機序について、十分な研究報告がされていない。従って、上述のようなビタミンAによる有益な生理作用を発揮するためにも、肥満時における筋肉のビタミンA代謝の変動についても検討する必要があると考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

(1) Ichimura M, Kato S, Tsuneyama K, Matsutake S, Kamogawa M, Hirao E, Miyata A, Mori S, Yamaguchi N, Suruga K, Omagari K. Phycocyanin prevents hypertension and low serum adiponectin level in a rat model of metabolic syndrome. *Nutr Res*. 33, 397-405, 2013. (査読有)

[学会発表] (計7件)

(1) 山口 範晃、駿河 和仁：レチノイン酸は高脂肪食時のマウスのエネルギー消費量を亢進させる。第65回日本ビタミン学会、2013年5月、東京。

(2) 駿河 和仁、出野 絵美、小池 泰介、谷口 格、山口 範晃：アルコール摂取による肝臓の脂質およびビタミンA量の変動に対する小豆抽出物投与の影響。第67回日本栄養食糧学会、2013年5月、東京

(3) Noriaki Yamaguchi, Kazuhito Suruga: Effects of retinoic acid on adipose tissues of mice fed high-fat diets. FASEB Summer Research Conferences Retinoids, June, 2012, USA.

(4) 山口 範晃、駿河 和仁：レチノイン酸はマウスの高脂肪摂食による脂肪蓄積を抑制する。第66回日本栄養食糧学会、2012年5月、仙台。

(5) 駿河 和仁、隅 亜里沙、野口 紗知子、山口 範晃：メタボリック症候群モデル OLETF

ラットにおけるビタミンA代謝の変動。第66回日本栄養食糧学会、2012年5月、仙台。

(6) 高瀬 幸子、清水 正則、山口 範晃、駿河 和仁：ビタミンA欠乏ラットのβカロテン代謝関連酵素の遺伝子発現に及ぼす食餌タンパク質の量と質の影響。第22回日本レチノイド研究会、2011年11月、東京。

(7) 山口 範晃、駿河 和仁：肥満発症ラット OLETF の脂肪組織および 3T3L-1 前駆脂肪細胞におけるビタミンA代謝関連遺伝子の変動。日本栄養食糧学会、2011年5月、東京。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 範晃 (YAMAGUCHI NORIAKI)
長崎県立大学・看護栄養学部・助教
研究者番号：80516295

(2) 連携研究者

駿河 和仁 (SURUGA KAZUHITO)
長崎県立大学・看護栄養学部・准教授
研究者番号：70315852