

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：25301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580195

研究課題名(和文) 酢酸の骨格筋におよぼす作用を介した抗肥満・抗老化の効果に関する研究

研究課題名(英文) Effects of acetic acid on anti-obesity and anti-aging via its function for skeletal muscle

研究代表者

山下 広美 (YAMASHITA, HIROMI)

岡山県立大学・保健福祉学部・教授

研究者番号：70254563

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：酢酸と運動負荷によるラット骨格筋における影響を検討した。SD雄ラットを、蒸留水を投与するrest-water群、酢酸を投与するrest-ace群、運動前に蒸留水を投与するwater-ex群、運動前に酢酸を投与するace-ex群の4群に分け、4週間飼育を行った。rest-ace群は体重増加の抑制、運動継続時間の増加、また運動中の燃料としてグルコースの利用の低下および脂肪の利用が促進した。ace-ex群では、シトクロムc遺伝子が有意に増加していた。その他、PGC1aおよびMHC1遺伝子が増加する傾向が見られた。これより酢酸摂取と運動トレーニングによって、骨格筋における遅筋線維の増加が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to investigate the interactive effects of acetate and exercise training on lipid metabolism and endurance performance. Six-week-old SD rats were randomly assigned to four groups: water-injected (rest-water), acetate-injected (rest-ace), exercise-trained after injection of water (water-ex), and exercise-trained after injection of acetic acid (acetate-ex). Body weight in acetate-ex groups was significantly lower than that of water-injected group. Acetate-ex group showed an increase of exercise capacity and lipid oxidation during exercise tolerance test. Skeletal muscle of rats treated with acetic acid and exercise training led to higher expressions of cytochrome c (cyts), and tended to stimulate expressions of PGC1a and MHC1 genes than those of rest-water group. Those results indicate that treatments both of exercise training and intake of acetate contribute to enhancement of lipid metabolism and improvement of exercise capacity.

研究分野：食品栄養学

キーワード：酢酸 脂質代謝 エネルギー代謝 骨格筋 肥満

1. 研究開始当初の背景

世界人口の半分以上は過体重または肥満であり、それと共に心血管障害や糖尿病有病者が増加するなど健康寿命低下が報告されている。申請者らはこれまでの研究で、肥満を発症する病態動物に酢酸を摂取させると、肝臓におけるAMPKを活性化させて体脂肪蓄積の抑制や肥満の抑制、また脂肪肝を抑制し、2型糖尿病を改善することを示してきた。また最近、酢酸を摂取した動物の骨格筋ではエネルギー消費量が増加することを見出した。

2. 研究の目的

本研究では酢酸の骨格筋における作用に焦点を絞り、(1) ラットに酢酸を継続的に摂取させた場合の骨格筋におけるエネルギー代謝および脂肪燃焼の解析、(2) 酢酸摂取と運動による効果の比較検討を目的とした。

3. 研究の方法

ラットに酢酸を継続的に摂取させた場合の脂肪燃焼の動態 小動物代謝計測システムMK5000を用いて動物の呼気ガス分析を行い、酢酸を摂取した動物の脂肪燃焼の動態を調べる。実験動物として8~10週齢のSDラットを用い、1% (v/v) 酢酸溶液を毎日継続的に1ヶ月間投与する。飼育期間中にラットの体重、摂食量、代謝計測による酸素消費量および脂肪燃焼率を測定する。酢酸を摂取した動物の代謝を継続的に測定し、酢酸摂取によるエネルギー消費量の動態と脂肪燃焼率を明らかにする。代謝測定と併行して動物の自発運動量を測定し、代謝動態との関連について解析した。

ラットに酢酸を継続的に摂取させた場合の骨格筋の性状解析 酢酸を摂取した動物の骨格筋における筋線維タンパク質および脂肪燃焼関連遺伝子の発現を解析した。1ヶ月間酢酸投与したラットを解剖して、腓腹筋およびヒラメ筋、および腹筋を採取し、遺伝子発現およびタンパク質発現解析を行った。遺伝子発現解析は抽出した総RNAからcDNAを合成して

定量的リアルタイムPCR法により行った。測定対象として、ミトコンドリア生合成関連因子PGC-1 α 、シトクロームc、遅筋線維タンパク質および速筋線維タンパク質MHC、などの遺伝子発現動態を調べた。

運動トレーニングを行ったラット骨格筋との比較検討 酢酸による若齢動物の骨格筋における影響を、運動負荷した場合と比較検討する。エアタイトトレッドミルMK-680ATを用いてラットに運動負荷を行いながら代謝測定を行い、V_{O2}max量を求めた。次に60%V_{O2}max量の酸素消費量となるような運動負荷で1ヶ月間運動を行ったラットについて代謝測定を行い、安静時酸素消費量および脂肪燃焼率を測定した。さらにその骨格筋を採取して、タンパク質および遺伝子発現動態を解析した。得られた結果より両条件の相似および相違を評価した。

4. 研究成果

4週間の実験期間中の体重変化を測定すると、水 (rest-water) 群に比較して、酢酸 (rest-ace) 群、水運動 (water-ex) 群、酢酸運動 (ace-ex) 群において、体重増加が抑制される傾向が見られた (Fig.1)。実験4週間後の総体重増加量は、rest-water 群に比較して、rest-ace 群および ace-ex 群が有意に低かった (Fig2)。総摂食量については群間で差は見られなかった (Fig.3)。摂食効率は rest-water 群に比較して、他の3群が有意に低かった (Fig.4)。また、腹腔内脂肪量につ

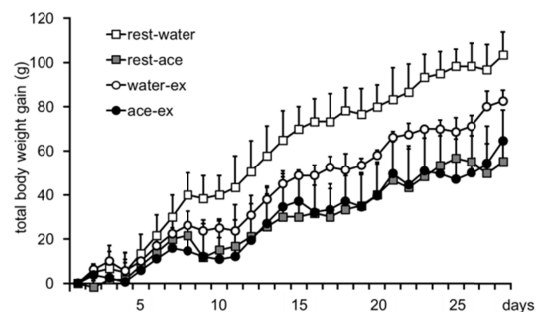


Fig.1 実験期間中の体重増加量の群間比較

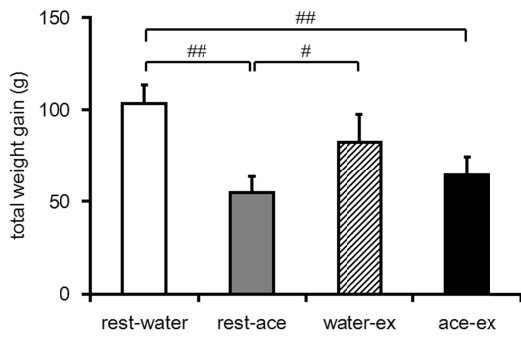


Fig. 2 総体重増加量の比較

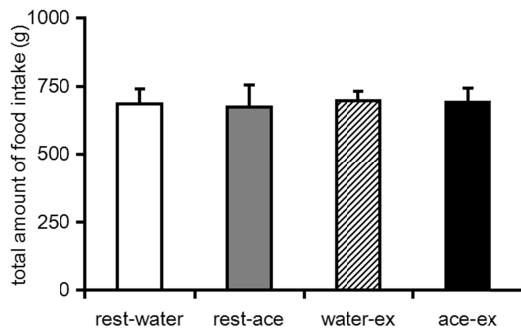


Fig. 3 総摂食量の比較

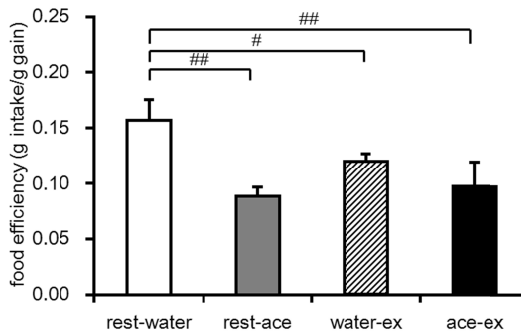


Fig. 4 摂食効率の比較

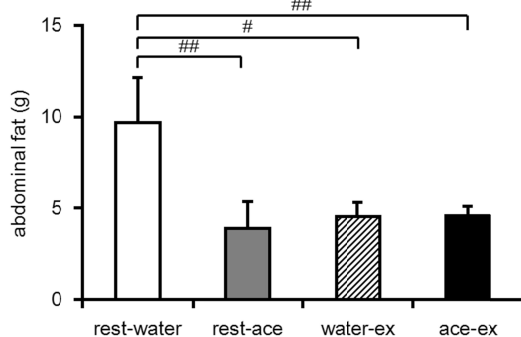


Fig. 5 腹腔内脂肪量の比較

いても、rest-water 群に比較して、他の3群が有意に低かった (Fig.5)。

一日の呼吸代謝測定より得られた、安静時の酸素消費割合ならびに呼吸商 (RQ) を比較すると、群間に有意な差はなかった。一日のエネルギー消費量を比較すると、rest-water 群に比較して、water-ex 群ならびに ace-ex 群では有意に増加していた。一方、自発運動量については、rest-water 群に比較して、他の3群においては有意に低下していた。これより、water-ex 群ならびに ace-ex 群におけるエネルギー消費量の増加は、自発運動によるものではなく、体熱産生による消費が推察された。

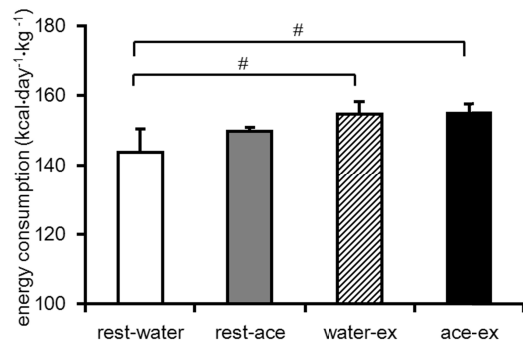


Fig. 6 体重あたりの一日のエネルギー消費量の比較

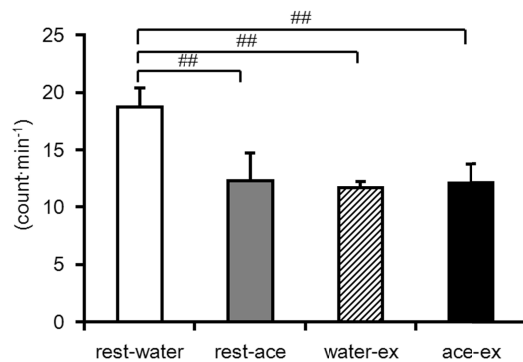


Fig.7 自発運動量の比較

4 週間の実験終了後、耐久力試験を行った結果、rest-water 群に比較して、rest-ace 群で平均走行時間が長い傾向が見られた。さらに water-ex 群ならびに ace-ex 群は、rest-water 群に比較して、有意に平均走行時間が長かった。

運動耐久性試験中の呼吸代謝測定より、酸素消費割合を比較すると、有意な差異は見られなかったが、RQ 値においては、走行開始 3 分後に、rest-water 群に比較して、rest-ace 群、water-ex 群ならびに ace-ex 群が、有意に低かった。また ace-ex 群は、走行開始 9 分後および 12 分後にも RQ 値が有意に低かった。

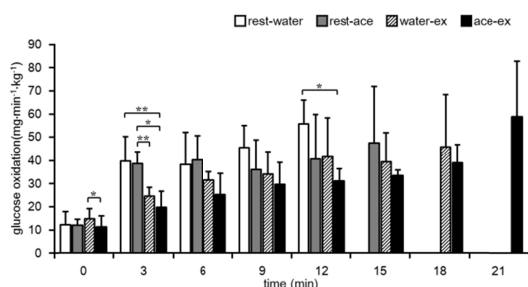


Fig. 8 耐久性運動時のグルコース利用割合

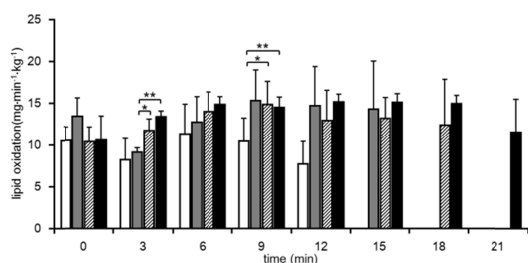


Fig. 9 耐久性運動時の脂肪利用割合

耐久性運動時の呼吸代謝測定よりグルコース利用割合を比較すると、走行開始 3 分後に、rest-water 群に比較して、rest-ace 群、water-ex 群ならびに ace-ex 群が、有意に低かった。また走行開始 12 分後には ace-ex 群が、rest-water 群に比較して有意に低かった。脂肪利用割合については、走行開始 9 分後に、rest-water 群に比較して、water-ex 群ならびに ace-ex 群が、有意に高かった (Fig. 8, 9)。

酢酸および運動トレーニングにより、骨格筋の筋線維タイプに関連する遺伝子発現がどのような影響を受けるか、リアルタイム PCR 法を用いて解析した結果、腓腹筋において ace-ex 群の PGC1a 遺伝子が rest-water 群に比較して増加する傾向が見られた。また腓腹筋では、シトクロム c 遺伝子が rest-water

群に比較して、ace-ex 群で有意に増加していた。その他、MHC1 が rest-water 群に比較して、他の 3 群で増加傾向であった (Fig. 10)。以上より酢酸摂取と運動トレーニングによって、骨格筋における遅筋線維の増加が示唆された。

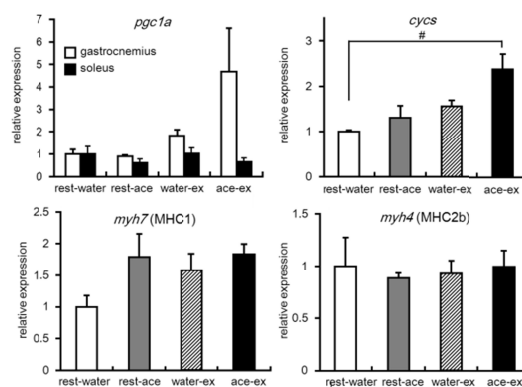


Fig. 10 骨格筋の筋線維タイプに関連する遺伝子発現の比較

参考文献

- Yamashita H, Fujisawa K, Ito E, Idei S, Kawaguchi N, Kimoto M, Hiemori M, Tsuji H. 2007. 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.
- Yamashita H, Maruta H, Jozuka M, Kimura R, Iwabuchi H, Yamato M, Saito T, Fujisawa K, Takahashi Y, Kimoto M *et al.* 2009. Effects of acetate on lipid metabolism in muscles and adipose tissues of type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Biosci Biotechnol Biochem* **73**: 570-576.

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 9 件)

山下広美、酢酸の生理機能性、日本栄養・食糧学会誌、第 67 巻、171-176(2014) (総説)、査読有

Hitomi Yumioka-Ito, Ryo Misaki, Miyuki Yokoro, Makiko Suzuki, Hiroshi Yamashita,

Miki Hiemori-Kondo, Masumi Kimoto, Ko Kato, Kazuhito Fujiyama, Hideaki Tsuji, Cloning of a cDNA encoding the Gly m Bd 28K precursor and its vacuole transport in tobacco BY2 suspension-cultured cells, Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 60, 129-139 (2014)、査読有、.Doi:10.3177/jnsv.60.129

Kosaku Uyeda, and Hiromi Yamashita, Carbohydrate-responsive element binding protein, in Lennarz, W.J. and Lane M.D. (eds.) The Encyclopedia of Biological Chemistry, vol.1, 374-378 (2013), Waltham, MA: Academic Press. (総説)

我如古菜月、神野景子、山下広美、日本・中国・韓国料理における酢の使用に関する調査研究 東アジア 3 料理様式における主材料と酢の組み合わせの違いの調査、家政学研究、Vol.60(2)、1-6 (2013)、査読有

我如古菜月、石井展子、多賀友里恵、木本眞順美、辻英明、山下広美、果実浸漬酢の酸味抑制効果の検討、美味技術学会誌、11 巻 2 号、15-21 (2012)、査読有
Akiko Kirino, Yuka Takasuka, Asami Nishi, Satoko Kawabe, Hiromi Yamashita, Masumi Kimoto, Hideyuki Ito, Hideaki Tsuji, Analysis and functionality of major polyphenolic components of Polygonum cuspidatum1 (Itadori), JNSV (2012) 278-286, 58(4) (2012)、査読有

Miyuki Yokoro, Makiko Suzuki, Kaeko Murota, Hiromi Yamashita, Yoshitaka Takahashi, Hideaki Tsuji, Masumi Kimoto, Asymmetric Dimethylarginine, an Endogenous NOS Inhibitor, Is

Actively Metabolized in Rat Erythrocytes, **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, 76(7), 1334-1342 (2012)、査読有

Miyuki Yokoro, Makiko Suzuki, Machiko Yatani, Hiromi Yamashita, Yoshitaka Takahashi, Hideaki Tsuji, Masumi Kimoto, Dvelopment of an enzyme-linked immunosorbent assay system for the determination of asymmetric dimethylarginine using a specific monoclonal antibody, Biosci. Biotechnol. Biochem., 76(2), 400-403 (2012)、査読有

Yuki Kawakami, Tomoko Hosokawa, Tomoko Morinaka, Shioka Irino, Shiori Hirano, Hirokazu Kobayashi, Akiko Yoshioka, Toshiko Suzuki-Yamamoto, Miyuki Yokoro, Masumi Kimoto, Hideaki Tsuji, Hiromi Yamashita, Shinobu Doi, Chikao Yutani, Rina Kato, Hiroyuki Itabe, Teruyuki Kanada, Takahiko Hada, Yoshitaka Takahashi, Antiatherogenic effect of guava leaf extracts inhibiting leucocyte-type 12-lipoxygenase activity, Food Chemistry, 131, 1069-1075 (2012)、

査読有

〔学会発表〕(計 14 件)

荒岡千尋、吉村征浩、荒木彩、木本眞順美、山下広美、長期酢酸投与が骨格筋性状に及ぼす影響、第 68 回日本栄養・食糧学会大会、酪農学園大学(札幌市)、2014 年 6 月 1 日(日)

吉村征浩、荒木彩、山口由美子、木本眞順美、山下広美、酢酸摂取と運動トレーニングが運動時代謝と骨格筋に及ぼす影響、第 46 回日本栄養・食糧学会中国・四国支部大会、平成 25 年 11 月 17 日、山口県立大学(山口市)

山下広美、山口由美子、木本眞順美、辻英明、高橋吉孝、酢酸摂取と運動トレーニングが運動耐久性と脂質代謝に及ぼす影響、第 67 回日本栄養・食糧学会大会、名古屋大学(名古屋市)、2013 年 5 月 25 日(土)

鈴木麻希子、守谷智恵、山本登志子、山下広美、高橋吉孝、辻英明、木本眞順美、マウス海馬におけるタンパク質の非対称性アルギニンメチル化に及ぼす加齢と高脂肪食の影響、第 67 回日本栄養・食糧学会大会、名古屋大学（名古屋市）、2013 年 5 月 26 日（日）
川上祐生、大槻朱美、平野詩織、木下麻衣、山本登志子、辻英明、木本眞順美、山下広美、伊東秀之、Ding Zhi Fang、高橋吉孝、白血球型 12-リポキシゲナーゼに対する中国茶葉抽出物の阻害効果、日本農芸化学会 2013 年度大会、東北大学（仙台市）、2013 年 3 月 26 日
丸山由佳、土井絵梨子、中田和江、木本眞順美、辻英明、高橋吉孝、山下広美、酢酸が高齢ラットのマクロファージ食能に与える影響、第 45 回日本栄養食糧学会中国・四国支部大会、愛媛大学農学部（松山市）、平成 24 年 11 月 18 日（日）
Hiromi Yamashita, Hitomi Maruta, Aya Tanaka, Yuka Maruyama, Natsuki Ganeko, Masumi Kimoto, Hideaki Tsuji, Yoshitaka Takahashi, Effect of acetate on AMPK activation and lipid metabolism in L6 myotube cells、Keystone symposia - Aging and Disease of Aging、シエラトン都ホテル（東京）、平成 24 年 10 月 25 日（木）
相澤瑞紀、山口由美子、我如古菜月、木本眞順美、辻英明、山下広美、ままかり酢漬けの脂肪蓄積および運動持久性に及ぼす影響、第 59 回（社）日本家政学会中国・四国支部大会、岡山県立大学（総社市）、平成 24 年 10 月 7 日（日）
倉光正貴、我如古菜月、山下広美、酢漬け処理を行った魚の経時的物性変化に関する研究、第 59 回（社）日本家政学会中国・四国支部大会、岡山県立大学（総社市）、平成 24 年 10 月 7 日（日）
我如古菜月、田淵真愉美、岸本（重信）妙子、辻英明、山下広美、米粉置換パンにおける生姜添加の影響、第 59 回（社）日本家政学会中国・四国支部大会、岡山県立大学（総社市）、平成 24 年 10 月 7 日（日）
Hiromi Yamashita, Yumiko Yamaguchi, Natsuki Ganeko, Masumi Kimoto, Hideaki Tsuji, Yoshitaka Takahashi, Effect of acetic acid and exercise training on lipid metabolism and endurance performance, International Conference on Biologically Active Substances, Bioactive Okayama 2012, Symposium 'Food and Health' Okayama Bioactive Research Society & Okayama University

(Okayama), September 13, 2012.

Yuka Maruyama, Miyuki Hatamoto, Tomoko Takahashi, Yumiko Yamaguchi, Natsuki Ganeko, Masumi Kimoto, Hideaki Tsuji, Yoshitaka Takahashi, Hiromi Yamashita, Effect of chronic intake of acetic acid and exercise training on skeletal muscle and adipose tissue of aged rats, International Conference on Biologically Active Substances, Bioactive Okayama 2012, September 14, 2012.

山口由美子、小倉千明、松田知果、森はるか、我如古菜月、木本眞順美、辻英明、高橋吉孝、山下広美、ラットの運動耐久性に及ぼす酢酸の影響、第 66 回日本栄養・食糧学会大会、平成 24 年 5 月 19 日、東北大学川内北キャンパス（仙台市）

我如古菜月、神野景子、山下広美、東アジアの食における酢の使用方法の研究、一般社団法人日本家政学会第 64 回大会、平成 24 年 5 月 12 日、大阪市立大学（大阪市）

〔図書〕（計 2 件）

山下広美（共著）新版食品学、辻英明・五十嵐脩 編著、pp41-46、pp 107-134、建白社

山下広美（共著）食品の科学、pp57-74、南江堂

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.fhw.oka-pu.ac.jp/eiyo/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山下 広美 (YAMASHITA HIROMI)

岡山県立大学・保健福祉学部・教授

研究者番号：70254563

(2) 研究分担者

木本 眞順美 (KIMOTO MASUMI)

岡山県立大学・保健福祉学部・教授

研究者番号：40108866

(3) 連携研究者

なし