

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：27301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350127

研究課題名(和文) ビタミンA栄養状態とエネルギー及び脂質代謝との関連性を追究する分子栄養学的研究

研究課題名(英文) The molecular nutritional study of relation between vitamin A level and lipid metabolism

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)： ビタミンAは体脂肪量を減少させる作用を有し、肥満の予防や治療に貢献できる可能性がある。そこで本研究は、高脂肪摂食マウスにビタミンAを摂取させたときの体脂肪量とエネルギー代謝の変動について検討した。その結果、ビタミンAを投与したマウスは、体重及び脂肪組織重量が劇的に減少した。更に、脂肪組織において、エネルギー消費量を増大させる因子であるAMP活性化プロテインキナーゼ(AMPK)活性も上昇した。その一方で、ビタミンAの大量摂取で観察される過剰症が生じた。このことから、大量のビタミンAを摂取した場合に限り、AMPK活性の上昇によって体脂肪を減少させることが示唆された。

研究成果の概要(英文)： Vitamin A reduces fat mass and can contribute to the prevention of obesity. In the present study, we investigated how vitamin A reduced fat mass in a high fat-diet (HFD)-induced obese mouse model. The vitamin A-treated HFD mice (VA mice) had a significant reduction in body weight and fat mass. The energy expenditure in the VA mice significantly increased with the activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) in the white adipose tissue (WAT). However, the intake of vitamin A caused some typical hypervitaminosis A. We suggest that excess intake of vitamin A reduces the fat mass in HFD-induced obese mice through enhancement of energy expenditure by activation of AMPK in the WAT.

研究分野：栄養生理学

キーワード：ビタミンA 肥満 脂肪組織 AMPK エネルギー消費量 ビタミンA過剰症

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、レチニルエステルおよびその類縁化合物) は体内では合成できない栄養素であり、食事から摂取する必要がある。近年の研究では、ビタミン A が、体脂肪の減少作用を有することが報告されており⁽¹⁾、肥満の治療および予防効果があるとして大きく注目されている。申請者のこれまでの研究において、高脂肪食 (HFD) の摂食によって肥満を誘発させたマウスにビタミン A を経口投与したところ、脂肪組織重量が減少しただけではなく、脂質燃焼によるエネルギー消費量が増大したことを報告した⁽²⁾。しかし、脂肪組織において、ビタミン A が体脂肪を減少させる詳細な機序については十分に解明されていない。一方、AMP-activated protein kinase (AMPK) はエネルギー代謝や脂質代謝など重要な代謝調節因子である。AMPK はリン酸化されることで活性化され、エネルギー消費を促進させる働きが報告されている⁽³⁾。筋芽細胞 C2C12 細胞を用いた研究で、ビタミン A が AMPK α 活性を上昇させたことが報告されている⁽⁴⁾。しかし、脂肪組織において、ビタミン A が AMPK α 活性の調節に関する研究成果は報告されていない。

一方で、ビタミン A の大量摂取は、脱毛や骨密度の低下など、様々な中毒症をもたらす危険性が報告されている⁽⁵⁾。これまでにビタミン A をどの程度摂取すれば、ビタミン A 過剰症を起こさずに体脂肪が減少できるかは解明されていない。

2. 研究の目的

HFD を摂食させて肥満を誘発させたマウスに、ビタミン A を投与したときの体脂肪量、エネルギー代謝および AMPK α 活性の変動について追究することを目的とした。同時に、ビタミン A を投与した時のビタミン A 過剰症の有無について検討した。

3. 研究の方法

(1) 実験動物の飼育およびビタミン A の経口投与

9 週齢から 27 週齢までの C57BL/6N マウスにコントロール食 (AIN-93M) 及び HFD (エネルギー比として 60% が脂質) を摂食させた。更に、19 週齢から 27 週齢までの HFD 摂食マウスに大豆油又はビタミン A (レチニルアセテート) として 5 又は 20 mg/kg body weight) を経口投与し、それぞれ HFD 群、VA5 群及び VA20 群とした。

(2) エネルギー消費量および体組成の測定

26 週齢時に、生体ガス分析用質量分析装置によるエネルギー消費量の測定と X 線 CT 装置による体組成の測定を行った。

(3) エネルギー消費に関連する遺伝子発現量の測定

27 週齢で屠殺後、副睾丸脂肪組織 (eWAT) から総 RNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR によってエネルギー消費に関連する遺伝子発現量を測定した。

(4) AMPK α 活性の分析

27 週齢の eWAT から総タンパク質を抽出し、AMPK α とリン酸化した AMPK α (pAMPK α) の発現量をウェスタンブロットで測定し、pAMPK α /AMPK α の比を算出することで相対的な AMPK α 活性を分析した。

(5) 血清、肝臓および eWAT のビタミン A レベルの測定

血清、肝臓及び eWAT のビタミン A (総レチノール) 量を HPLC により測定し、体内のビタミン A レベルを解析した。

(6) ビタミン A 過剰症の観察

26 週齢時に、X 線 CT 装置による腰椎の骨密度の測定と、脱毛の有無の観察を実施した。

4. 研究成果

(1) 体重と体脂肪

コントロール群と比較して HFD 群は有意に体重が増大した。一方、VA20 群は他の群と比較して最も低い体重を示し、VA5 群は HFD 群と差は無かった (図 1)。また、内臓脂肪および皮下脂肪の重量は、コントロール群と比較して HFD 群で有意に増大し、HFD 群と VA5 群には差は無かった。一方、VA20 群は他群と比較してこれらの重量が最も低値を示した。筋肉重量は群間に差は無かった (図 2)。このことから、VA20 群の体重減少は体脂肪量の減少によることが示された

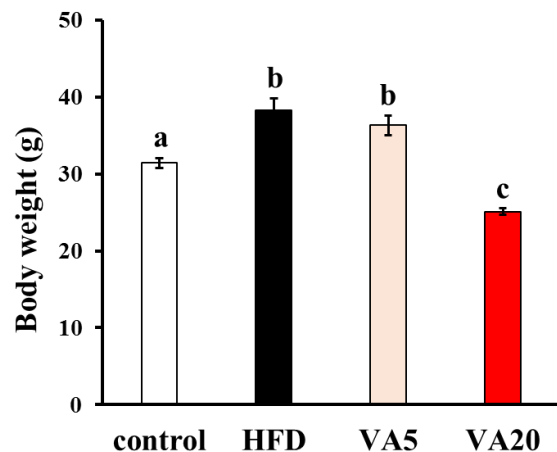


図1: 各群マウスの体重

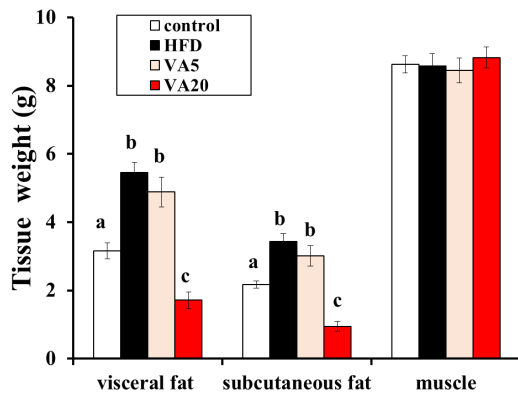


図2：各群マウスの内臓脂肪量（visceral fat）、皮下脂肪量（subcutaneous fat）および筋肉量（muscle）

(2) エネルギー消費量

26週齢の各群マウスを用いて24時間呼吸分析し、体重あたりのエネルギー消費量を算出したところ、VA20群のエネルギー消費量が最も増大した（図3）。

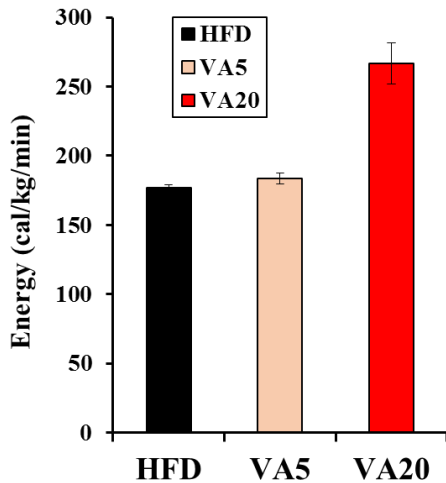


図3：各群マウスのエネルギー消費量

(3) AMPK 活性

VA20群は他の群と比較して、pAMPKαが高く検出された（図4A）。またpAMPKα/AMPKによる相対的AMPKα活性はVA20群で最も高かった（図4B）。

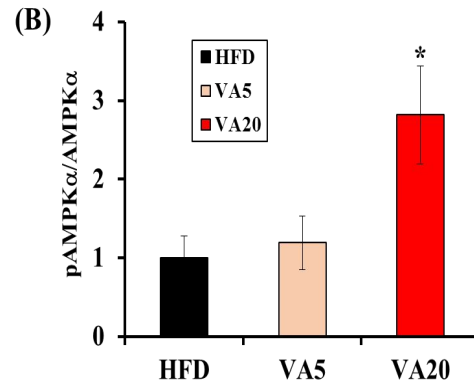
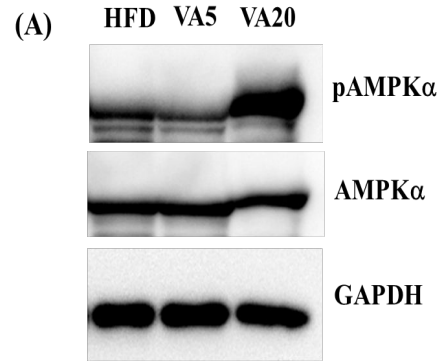


図4：(A)ウェスタンブロットの検出結果の典型例、(B)ウェスタンブロットによって示されたpAMPKα/AMPKαの比をグラフ化した。

(4) エネルギー消費に関連する遺伝子発現量

脱共役タンパク質UCP1とUCP3、およびエネルギー消費量の調節因子として知られているPGC1αについて、それぞれの遺伝子発現量を測定した。その結果、他群と比較してVA20群で有意にそれらの発現量が増大した（図5）。

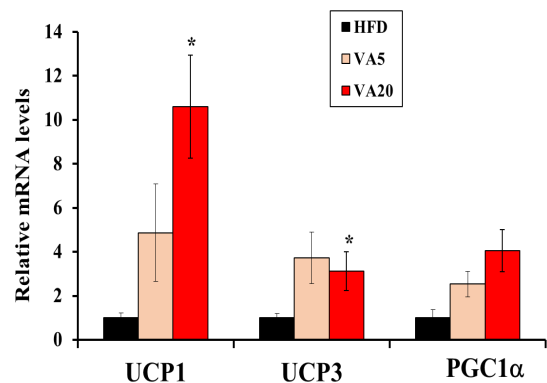


図5：各群マウスの遺伝子発現量

(5) 血清、肝臓およびeWATの総レチノール

血清、肝臓およびeWATの各群のビタミンA（総レチノール）レベルを測定した。血清の総レチノール濃度は群間に差は無かった。肝臓では、VA5群およびVA20群は顕著に総レチノール量が多く蓄積していることが示されたが、eWATにおいては、VA20群のみ顕著に蓄積したことが示された（表1）。このことから、脂肪組織重量が減少するためには、ある一定量以上のビタミンAが脂肪組織内に蓄積されなければならないことが示唆された。

表1：血清、肝臓およびeWATの総レチノール量

	control	HFD	VA5	VA20
serum (ng/mL)	748.9±28.9	805.8±60.8	767.8±28.0	771.6±70.2
Liver (µg/g liver)	127.7±8.1 ^a	100.5±13.3 ^a	1048.3±44.0 ^b	1261.8±111.5 ^b
eWAT (µg/g eWAT)	1.6±0.3 ^a	1.9±0.4 ^a	6.8±1.0 ^a	92.5±24.0 ^b

(6) ビタミンA過剰症の有無

ビタミンA過剰症の特徴として脱毛や骨密度の低下などが見られることが報告されている。ビタミンAを投与した数匹のマウスに脱毛が観察され、特にVA20群では顕著に観察された（図6）。また、各群の腰椎の骨密度を測定したところ、VA20群で有意に骨密度が低下した（図7）。



図6：各群マウスの頸部の写真

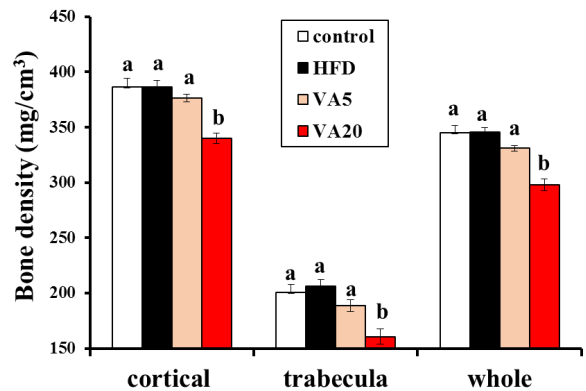


図7：各群マウスの皮質（cortical）、骨梁（trabecula）および骨全体（whole）の骨密度

(7) 結論

ビタミンAを過剰摂取した場合に限り、AMPKα活性を介して、エネルギー消費量が増大し、体脂肪量が減少したことが示唆された。しかし、そのビタミンA摂取量は過剰症の危険性を伴うことが示唆された。

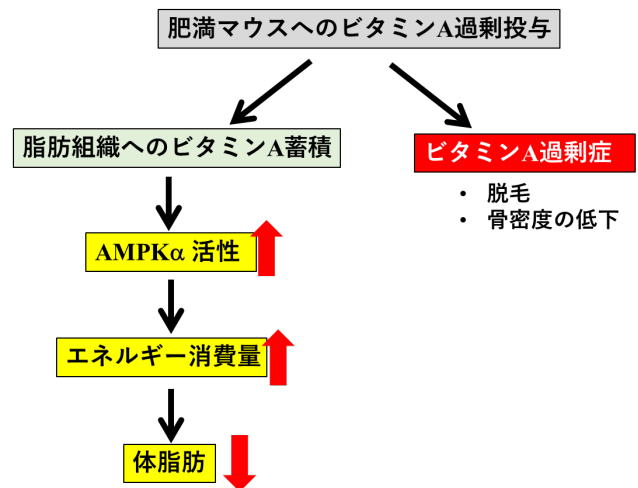


図8：本研究の要約

引用文献

- (1) Bonet, M.L., Ribot, J., Palou, A., Lipid metabolism in mammalian tissues and its control by retinoic acid. *Biochim. Biophys. Acta.* 2012, 1821, 177–189.
- (2) Yamaguchi, N., Suruga, K., Effects of retinoic acid on adipose tissues of mice fed high-fat diets. *FASEB Summer Research Conferences Retinoids*, 2012, USA.
- (3) Steinberg, G.R., Kemp, B.E., AMPK in Health and Disease, *Physiol. Rev.* 2009, 89, 1025–1078.
- (4) Lee, Y.M., Lee, J.O., Jung, J.H., Kim, J.H. *et al.*, Retinoic acid leads to cytoskeletal rearrangement through AMPK-Rac1 and stimulates glucose uptake through

- AMPK-p38 MAPK in skeletal muscle cells, *J. Biol. Chem.* 2008, 283, 33969–33974.
- (5) Penniston, K.L., Tanumihardjo, S.A., The acute and chronic toxic effects of vitamin A, *Am. J. Clin. Nutr.* 2006, 83, 191–201.

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)

Yamaguchi, N., Sunto, A., Goda, T., Suruga, K. Competitive regulation of human intestinal β -carotene 15,15'-monooxygenase 1 (BCMO1) gene expression by hepatocyte nuclear factor (HNF)-1 α and HNF-4 α , *Life Sci.* 2014, 119, 34-39. 査読有

[学会発表](計3件)

山口範晃、駿河和仁。ビタミンA過剰摂取は高脂肪摂食マウスの体脂肪を減少させ過剰症を伴う。第69回日本ビタミン学会。2017年6月10日、横浜市開港記念会館(神奈川県横浜市)

山口範晃、駿河和仁。ビタミンA過剰摂取はマウスのエネルギー消費量を上昇させ体脂肪を減少させる。第70回日本栄養・食糧学会、平成28年5月14日、武庫川女子大(兵庫県西宮市)

Yamaguchi, N., Abe, E., Suruga, K., The excess intake of vitamin A increases energy expenditure, and decreases fat mass of high-fat diet induced-obese mice. ACN2015, 16 May, 2015, PACIFICO Yokohama (Yokohama, Japan).

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)研究分担者

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