

動物モデルにおけるL-Citrullineの抗肥満効果について

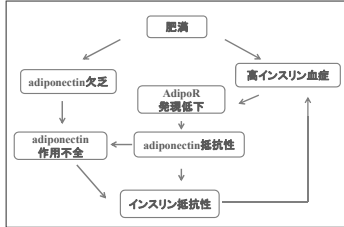
The effects of L-Citrulline on antiobesity in animal model

○桃尾 麻岐¹, 勝呂 栞², 山岸 淑恵², 吉富 久恵¹, 高明¹
 (1武庫川女子大薬、2プロテインケミカル株式会社)

Introduction

近年、食生活の欧米化等のライフスタイルの変化に伴い、肥満の割合が増加している。肥満による脂肪細胞の肥大化と、それに伴うインスリン抵抗性は糖尿病、高血圧、高脂血症、さらには心筋梗塞や脳梗塞といった様々な疾患の発生頻度を上昇させる。

肥満やインスリン抵抗性には脂肪細胞から特異的に産生および分泌されるアディポサイトカインの一つである adiponectin が深く関与している。肥満により adiponectin は減少し、インスリン抵抗性が惹起されて高インスリン血症となる。また、高インスリン血症により adiponectin 受容体(以下、AdipoR)の発現がダウンレギュレーションされ、adiponectin 抵抗性になり、インスリン抵抗性がさらに増悪するという悪循環が形成される。

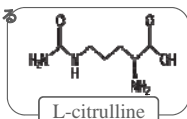


肥満により引き起こされる様々な疾患の予防と治療を行うという観点からも、この悪循環を断ち切る肥満の予防又は解消が極めて重要となってきている。

KK-Ay マウスは過食に伴って肥満を呈する肥満自然発症モデル動物である。このマウスは若齢よりインスリン抵抗性を示し、adiponectin の産生が低下していることが既に報告されている。



そこで本研究ではこのモデル動物を用いて、スイカをはじめとするウリ科の植物に比較的多く存在する遊離アミノ酸の一種である L-Citrulline (L-Cit) の肥満に対する効果の検討を行った。



Methods

Animals

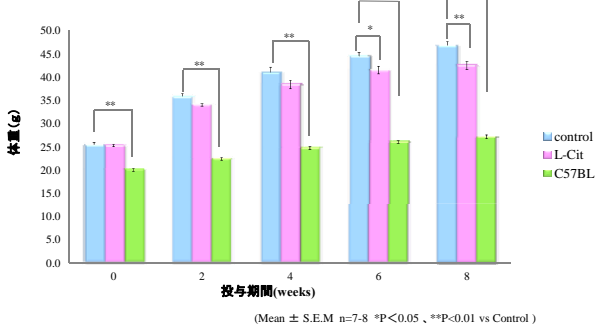
6週齢雄性 KK-Ay マウスを2群に分け、control 群 (n=7) には水道水を、L-Cit 投与群 (n=8) には0.5%の L-Cit (プロテインケミカル株式会社) 添加の水を8週間自由摂取させた。また、非肥満対照として C57BL マウスには水道水を同期間摂取させた。投与前、投与期間中のマウスの体重及び摂食、飲水量の測定を行い、実験終了後に飽食時の採血を行いインスリン、血中パラメーター(血糖値、TG、FFA、AST、ALT)を測定した。また解剖を行い、臓器摘出、重量測定、冷凍保存を行った。

Real time-PCR

ホモジナイズした肝、脂肪組織から RNA を抽出した後、cDNA に逆転写し、Real time-PCR法により mRNA 発現量を解析した。なお補正にはβ-actin を用いた。

Results

Fig.1 体重の比較



Discussion

本研究で、L-Citは脂肪組織重量を減少させ、体重増加抑制効果を有することが証明された。そのメカニズムを検討したところ、L-Cit は脂肪組織におけるadiponectinのmRNA発現量を増加させることを示した。adiponectin の受容体の一つであるAdipoR2は肝臓に多く分布し、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPARα)を活性化することで肝臓における脂肪酸の燃焼を促進することが分かっている。そこで肝臓におけるこれらのmRNA発現量について検討した結果、AdipoR2とPPARαは共に発現量が増加傾向にあった。さらに脂肪酸燃焼に関わるペルオキシソーム酸化酵素の一つである acyl-CoA-oxidase (ACO)のmRNA発現量が増加傾向にあった。これにより脂肪酸の燃焼を促進し血中の FFA が有意に低下したと考えられる。さらに、インスリン抵抗性を惹起する FFA を低下させることにより、インスリン抵抗性が改善されたと考えられる。今後は脂肪細胞の肥大化に関連するPPARγに対する影響や、摂食に対する影響の検討を行っていく予定である。

Table.1 摂食量、飲水量の比較

Group	投与期間(weeks)				
	0	2	4	6	8
摂食量(g)	control 5.2±0.2	6.0±0.5	6.0±0.3	6.9±0.5	7.4±0.1
L-Cit	5.1±0.1	5.7±0.6	5.7±0.3	6.2±0.1	6.6±0.4*
C57BL	3.0±0.1**	3.2±0.6**	3.2±0.3**	3.5±0.6**	3.1±0.1**
飲水量(ml)	control 11.2±1.1	13.8±1.3	14.2±2.8	15.4±1.1	20.2±0.5
L-Cit	10.3±1.0	12.7±0.7	12.7±1.9	14.4±2.3	17.1±1.9
C57BL	8.3±1.3	11.2±2.3	5.7±1.4**	6.3±0.7**	6.3±1.3**

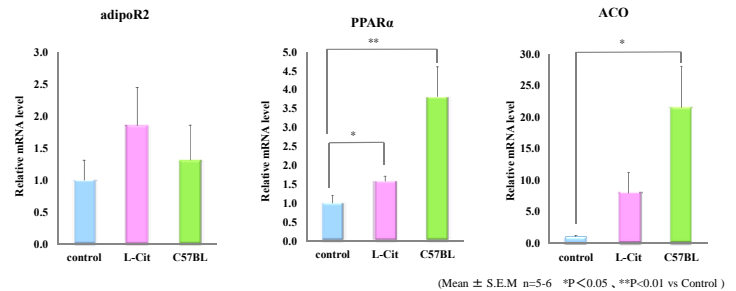
Table.2 臓器重量の比較

	control	L-Cit	C57BL
脳	0.31±0.02	0.29±0.02	0.37±0.01
心臓	0.21±0.01	0.22±0.02	0.13±0.01**
腎臓	0.63±0.02	0.59±0.03	0.34±0.03**
脾臓	0.15±0.03	0.18±0.02	0.07±0.01*

Table.3 血中パラメーターに対する影響

	control	L-Cit	C57BL
血糖値 (mg/dL)	471.0±32.6	428.6±52.1	174.3±4.0**
TG (mg/dL)	151.8±18.1	145.7±21.8	119.1±12.4
FFA(mEq/L)	1.3±0.1	0.9±0.1*	1.4±0.1
AST (IU/L)	52.8±2.1	49.7±0.6	51.1±4.2
ALT (IU/L)	27.8±1.1	24.6±0.6*	25.5±0.5

Fig.5 肝臓における mRNA 発現量



体重は投与6週目にL-Cit群がcontrol群より有意に減少を示し、8週目にはさらに強い減少を示した(Fig.1)。投与6週目までの摂食量はcontrol群とL-Cit群の2群間に差は見られず、8週目において減少を示した。投与期間中の飲水量に差は見られなかった(Table.1)。脂肪の組織重量はcontrol群と比較してL-Cit群が低値を示し、肝臓の組織重量はL-Cit群が有意な低値を示した(Fig.2)。その他の臓器重量においては、2群間に差は見られなかった(Table.2)。血中インスリン濃度が有意に低下し、インスリンの抵抗性の改善を示した(Fig.3)。FFA濃度はL-Cit群がcontrol群と比べ有意な低値を示し、血糖値、TG、T-Cholに差は見られなかった。また、ASTは2群間に差は見られず、ALTがL-Cit群で有意な減少を示した(Fig.3, Table.3)。脂肪組織のadiponectinのmRNA発現量はL-Cit群で増加傾向を示した(Fig.4)。肝臓組織のmRNA発現量において、AdipoR2、ACOはL-Cit群が増加傾向を示し、PPARαは有意な増加を示した(Fig.5)。

