

## 肥満マウスのビタミン A 摂取が脂肪組織の AMPK シグナリングへ与える影響

研究年度 平成 30 年度

研究期間 平成 30 年度

研究代表者名 山口 範晃

共同研究者名 駿河 和仁

### 1. 目的

ビタミン A は体内では合成できず、食事などから必ず摂取しなければならない栄養素である。ビタミン A の生理作用の一つとして、体脂肪量を調節することが報告されている<sup>(1)</sup>。実験動物にビタミン A を摂取させた場合、エネルギー消費量が増大するとともに、脂肪組織において脂肪分解の促進と脂肪合成の抑制が見られた。更に高脂肪食を摂食させて肥満を発症させたマウスにビタミン A を投与した場合、肥満マウスの脂肪組織重量が減少したことが報告されている<sup>(2)</sup>。

AMPK は、体内のエネルギー代謝調節の中樞を担う因子であり、エネルギー消費量の増大による脂肪分解の亢進、および脂肪合成の抑制に寄与している<sup>(3)</sup>。我々は、肥満マウスにビタミン A を投与したところ、脂肪組織の AMPK 活性の上昇に伴い、エネルギー消費量が上昇し、体脂肪量が減少したことを報告した<sup>(4)</sup>。しかし、ビタミン A によって脂肪組織の AMPK 活性がどのように調節されているかは解明されていない。

AMPK は Serine/threonine kinase 11（STK11、LKB1 とも呼ばれる）によりリン酸化されることで活性化される。その LKB1 は protein kinase A（PKA）によってリン酸化されることで活性化される。更に、PKA の活性化は、cAMP に依存しており、PKA→LKB1→AMPK 経路（いわゆる AMPK シグナリング経路）が活性化するためには cAMP が必要とされる。この cAMP を不活性化する cyclic nucleotide phosphodiesterase 3B（PDE3B）のノックアウトマウスにおいて、白色脂肪細胞を褐色脂肪細胞様の機能（ベージュ細胞と呼ばれる）に転換されたことが報告されている<sup>(5)</sup>。つまり、cAMP による AMPK シグナリングの活性化は白色脂肪細胞がベージュ細胞への転換を亢進させる可能性が考えられる。

そこで本研究では、ビタミン A が脂肪組織の AMPK シグナリングをどのように制御しているのかを明らかにすることを目的とする。

### 2. 方法

8 週齢の C57BL/6N マウスに高脂肪食（脂肪エネルギー比約 60%）及び標準食（AIN-93M）を与えて 8 週間飼育後、ビタミン A としてレチニルアセテート（5mg または 20mg/kg weight）または大豆油を 8 週間経口投与した。標準食を与えたマウスでビタミン A を 5mg または 20mg/kg weight、または大豆油を与えた群をそれぞれ CVA5

群、CVA20 群、C 群とした。高脂肪食を与えたマウスで上記のビタミン A 量または大豆油与えた群を HVA5 群、HVA20 群、H 群とした。飼育期間中は、呼気分析装置を用いて各群マウスのエネルギー及び脂肪消費量を解析し、また実験動物 X 線 CT 装置を用いて各群マウスの体組成を測定した。飼育終了後は断頭屠殺し、副睾丸脂肪組織を採取した。副睾丸脂肪組織から総タンパク質および総 RNA を抽出し、AMPK シグナリングおよび AMPK によって調節されるタンパクおよび遺伝子発現量をウェスタンブロットおよびリアルタイム RT-PCR によって測定した。また、脂肪細胞の大きさはヘマトキシリン・エオジン染色によって判別した。

### 3. 結果と考察

#### (1) 体重および体組成

標準食群間において、CVA20 群は C 群と比較して体重と脂肪組織重量が有意に減少したが、CVA5 群と C 群には有意差は無かった。この傾向は高脂肪食群間でも観察され、HVA20 群は H 群と比較して体重と脂肪組織重量が有意に減少した。一方、筋肉量はすべての群間で差はなかった。このことから、CVA20 群および HVA20 群で体重が減少したのは、脂肪組織重量が減少したことが要因であることが示された。

#### (2) 体内のエネルギーおよび脂肪消費量と食餌摂取量

CVA20 群は C 群と比較してエネルギー及び脂肪消費量が有意に減少し、HVA20 群においても H 群と比較してエネルギー及び脂肪消費量が有意に減少した。一方、餌の摂取量は標準食群間および高脂肪食群間で差は無かった。このことから、CVA20 群および HVA20 群では、脂肪由来のエネルギー消費量が増大した結果、脂肪組織重量の減少に繋がったことが示唆された。

#### (3) AMPK シグナリング

CVA20 群の AMPK 活性は C 群と比較して顕著に上昇し、HVA20 群においても H 群と比較して顕著に上昇した。一方、CVA5 群及び HVA5 群においては、C 群と H 群でそれぞれ比較して、差は無かった。一方、AMPK をリン酸化する LKB1 活性は群間に差は無かった。このことから、本研究ではビタミン A は PKA→LKB1→AMPK 経路を調節する可能性は無いことが示唆された。

#### (4) ベージュ細胞の有無

CVA20 群は C 群と比較して脂肪細胞のサイズが縮小していた。また、HVA20 群も H 群と比較して脂肪細胞のサイズが縮小していた。更に褐色脂肪細胞で特異的に発現する脱共役タンパク質 (UCP1) の発現量は、標準食群間及び高脂肪食群間の中で、CVA20 群及び HVA20 群で増大していた。一方、ベージュ細胞のマーカである Transmembrane

protein 26 (TMEM26) の遺伝子発現量は、高脂肪食群間の中で HVA20 群が最も多く、標準食群間の中でも CVA20 群で多くなる傾向が示された。このことから、CVA20 群及び HVA20 群では脂肪組織がベージュ細胞に分化している可能性が示唆された。

#### 4. 結論

ある一定量のビタミン A（少なくとも 5mg/kg weight よりも多い）を投与した場合、AMPK 活性の上昇により脂肪細胞がベージュ細胞化したことで、エネルギー消費量が増大に伴い、脂肪組織重量が減少したことが示唆された。しかし、ビタミン A によって AMPK シグナリングがどのように調節されているかは見いだせないままである。今後の研究の展開として、Calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase (CaMKK) →AMPK 経路<sup>6)</sup>をビタミン A が調節しているかを検討する。

#### 5. 参考文献

1. Bonet ML, Ribot J, Palou A. Lipid metabolism in mammalian tissues and its control by retinoic acid. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1821: 177–189.
2. Berry DC, Noy N. All-trans-retinoic acid represses obesity and insulin resistance by activating both peroxisome proliferation-activated receptor  $\beta/\delta$  and retinoic acid receptor. *Mol Cell Biol*. 2009; 29: 3286–3296.
3. Steinberg GR, Kemp BE. AMPK in Health and Disease. *Physiol Rev*. 2009; 89: 1025–1078.
4. 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、横浜市、平成 29 年 6 月。
5. Chung YW, Ahmad F, Tang Y, Hockman SC, Kee HJ, Berger K, Guirguis E, Choi YH, Schimel DM, Aponte AM, Park S, Degerman E, Manganiello VC. White to beige conversion in PDE3B KO adipose tissue through activation of AMPK signaling and mitochondrial function. *Sci Rep*. 2017 13;7:40445.
6. Tang X, Zhuang J, Chen J, Yu L, Hu L, Jiang H, Shen X. Arctigenin efficiently enhanced sedentary mice treadmill endurance. *PLoS One*. 2011;6:e24224.