

# L-シトルリンの糖代謝に対する影響

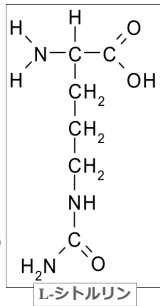
○桃尾 麻岐<sup>1</sup>, 山口 裕子<sup>1</sup>, 畑井 麻友子<sup>1</sup>, 勝呂 栞<sup>2</sup>, 山岸 淑恵<sup>2</sup>, 吉富 久恵<sup>1</sup>, 高明<sup>1</sup>  
(武庫川女子大薬<sup>1</sup>、プロテインケミカル株式会社<sup>2</sup>)

## Introduction

肥満をはじめとする糖尿病、高血圧、高脂血症などの生活習慣病が重積して起こるメタボリックシンドローム(MS)において、インスリン抵抗性(IR)はその根本的な背景の一つとして捉えられている。IRとは、骨格筋・肝・脂肪組織のようなインスリン感受性組織においてインスリンの作用が低下している病態で、糖代謝異常やII型糖尿病(DM2)の要因の一つである。現在DM2とその合併症の患者数の急増に伴い、IRの予防・治療が重要視されている。

近年、脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP/Izm)に、高度な遺伝性肥満を呈するZucker fattyラットの遺伝子変異を導入したコンジュニックラットSHRSP.Z-Lepr<sup>fa</sup>/IzmNDmcr(SHRSP/ZF)が開発された。このラットは若齢よりIRを示す典型的なMSの病態を呈することが確認されており、MSが関与する疾病の発症・進展のメカニズムの解明や新薬の開発等の研究における有用性が期待されている。

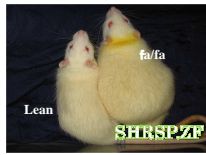
そこで本研究ではこのモデル動物を用いて、スイカをはじめとするウリ科の植物に比較的多く存在する遊離アミノ酸の一種であるL-シトルリンのMSに対する効果を検討することにした。



## Methods

### Animals

6週齢雄性SHRSP.ZFラットを、Control群とL-シトルリン(プロテインケミカル株式会社)投与群の2群(各n=7)に分け、Control群には水道水を、L-シトルリン群には2%L-シトルリンを8週間自由摂取させた。投与前、投与後4週目と8週目のラットの摂食量・飲水量・体重・収縮期血圧(tail-cuff法)を観察し、さらに同時期に12時間絶食後、ラット尾静脈から採血を行い、血中パラメーター(遊離脂肪酸、トリグリセロール、総コレステロール、空腹時血糖値)を測定した。実験終了後ラットを解剖し、肝臓、脂肪、骨格筋の摘出を行った。



### Western Blotting

ホモジナイズした組織からタンパク質を抽出し、そのサンプルをSDS-PAGEにより分離、PVDF膜に転写した。Phospho-Akt(Ser473/Thr308), total-Akt, phospho-GS, β-actinの一次抗体を反応させ、それぞれのタンパク質発現量を測定し、AktとGSの活性化を検討した。なお検出したバンドはImageJ解析ソフト(National Institutes of Health, USA)を用いて定量分析を行った。

### Real time-PCR

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

## Discussion

今回の実験結果より、L-シトルリンには血糖上昇抑制効果のある可能性が示唆された。さらに、血糖をコントロールする肝臓、脂肪、骨格筋のインスリンシグナル経路の一つであるAktの活性化をリン酸化比率により検討したところ、骨格筋では差が見られなかったものの、肝臓、脂肪において有意に増加を示した。このことから、L-シトルリンの肝臓での糖新生抑制及びグリコーゲンの合成促進と、脂肪での糖取り込み促進効果があるのではないかと推測された。そこで、肝臓のAkt下流のグリコーゲン合成酵素(GS)と糖新生律速酵素であるホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ(PEPCK)のmRNA発現への影響を調べたところ、GSでは差が見られなかったが、PEPCKでは減少傾向が見られたことからL-シトルリンは肝臓においてグリコーゲン合成促進作用ではなく、糖新生抑制作用により空腹時血糖値を低下させた可能性が考えられる。

今後は動物数を増やし、再現性を確認するとともに脂肪組織のAkt活性化による下流シグナリングへの影響を調べる予定である。

## Results

Table.1 摂食、飲水量の比較

Groups	投与期間(weeks)		
	0	4	8
摂食量(g)	control 23.4±0.6	30.1±1.4	34.2±2.3
L-シトルリン	23.8±0.3	29.1±1.2	33.8±2.0
飲水量(mL)	control 37.5±0.0	70.0±5.0	51.7±10.1
L-シトルリン	37.5±0.0	65.2±6.0	47.1±8.1

Table.3 遊離脂肪酸、トリグリセロール、総コレステロールに対する影響

Groups	投与期間(weeks)		
	0	4	8
遊離脂肪酸(mEq/L)	control 3.5±0.2	2.9±0.4	1.8±0.8
L-シトルリン	3.4±0.3	3.2±0.4	2.1±0.9
トリグリセロール(mg/dL)	control 464.2±89.0	686.8±95.2	598.7±594.4
L-シトルリン	391.9±87.2	643.9±102.7	594.4±147.9
総コレステロール(mg/dL)	control 127.7±9.4	98.6±4.2	94.6±7.9
L-シトルリン	122.1±7.8	97.2±9.2	101.7±6.8

Table.2 体重、収縮期血圧の比較

Groups	投与期間(weeks)		
	0	4	8
体重(g)	control 121.9±15.6	330.7±11.5	420.5±14.6
L-シトルリン	127.3±11.2	339.4±20.0	415.0±29.9
収縮期血圧(mmHg)	control 131.6±10.2	172.0±8.6	215.2±8.5
L-シトルリン	134.3±9.0	178.3±3.2	222.1±11.2

Fig.1 空腹時血糖値の比較

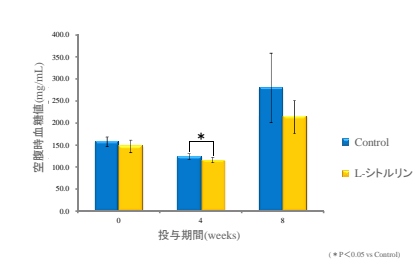
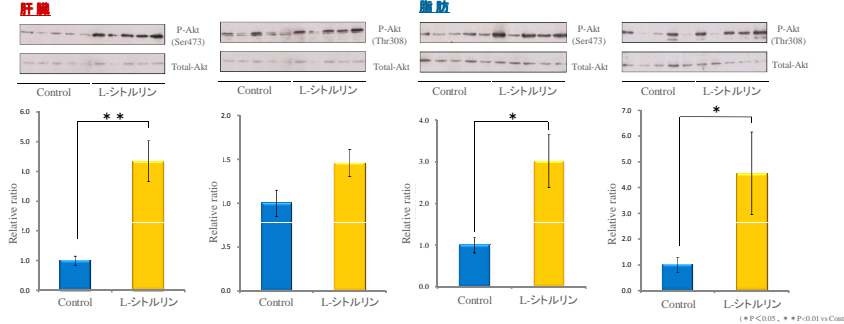


Fig.2 肝臓、骨格筋、脂肪におけるリン酸化Akt発現量



筋肉

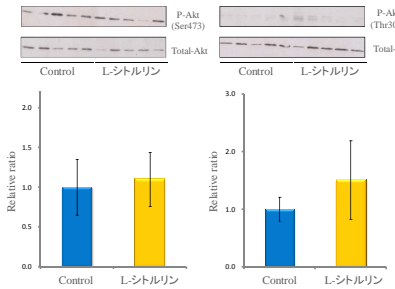
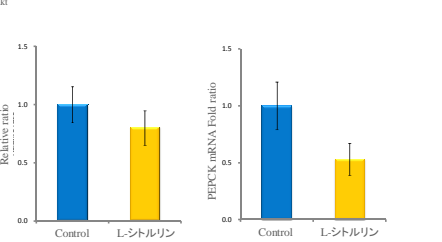


Fig.3 肝臓におけるリン酸化GS発現量



投与開始0,4,8週目において、摂食量、飲水量、体重、収縮期血圧、さらに遊離脂肪酸、トリグリセロール、総コレステロール値に差は見られなかった。(Table.1,2,3) 血糖値は、L-シトルリン群がControl群に比べ、投与4週目では有意に低下し、8週目でも低下傾向を示した。(Fig.1) 各組織のリン酸化Aktの割合は、骨格筋では差が見られなかったものの、肝臓と脂肪のPhospho-Akt(Ser473)は有意に増加し、またPhospho-Akt(Thr308)は肝臓では増加傾向を、脂肪では有意に増加を示した。(Fig.2) 肝臓のリン酸化GS発現量は、両群間に差はみられなかった。(Fig.3) 肝臓におけるPEPCKのmRNA発現量はL-シトルリン群がControl群に比べ減少傾向を示した。(Fig.4)

