

## Supplementation of branched-chain amino acids decreases fat accumulation in the liver through intestinal microbiota-mediated production of acetic acid

Masao Iwao, Koro Gotoh, Mie Arakawa, Mizuki Endo, Koichi Honda, Masataka Seike, Kazunari Murakami, and Hirotaka Shibata

Sci Rep. 2020; 10: 18768.

Published online 2020 Oct 30. doi: 10.1038/s41598-020-75542-3

### 論文内容

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) は、肥満の有病率の劇的な増加に伴い、重大な公衆衛生上の問題となっています。NAFLD の病因については、「multiple-hit hypothesis」が提案されて、腸内細菌叢などの様々な要素が NAFLD の病状の進行に関与していると想定されており、その一つとして腸内細菌叢に関わる変化が挙げられています。

以前、私達の研究室では、NAFLD の実験動物モデルに分岐鎖アミノ酸 (BCAA) を投与すると、筋肉組織での脂肪消費が促進され、肝臓の脂肪蓄積が減少することを報告しました。BCAA は、主に草食動物の胃内で特定の細菌種を増加させることが報告されていますが、BCAA とヒトやげっ歯類などの腸内細菌叢との関連性や、BCAA の投与による腸内細菌叢の変化が NAFLD に及ぼす影響を明らかにした報告はほとんどありません。

本研究では、BCAA の投与が食餌誘導性肥満モデルのラットの腸内細菌叢に影響を及ぼすかどうか、そして、その変化が NAFLD の病態の改善に寄与するかどうかを明らかにすることを目的としました。

まず、8週齢のSDラットに、通常食 (ST群)、BCAAを添加した通常食 (ST-BCAA群)、高脂肪食 (HF群)、BCAAを添加した高脂肪食 (HF-BCAA群) を8週間投与した後、次世代シーケンサーによる腸内細菌叢の解析や肝組織の病理学的評価などを行いました。

その結果、*Coprococcus* 属が減少する HF 群では、BCAA 添加で *Ruminococcus flavefaciens* が増加しました。この細菌種はセルロースを発酵して酢酸を産生するため、門脈血中の酢酸濃度を測定すると、HF-BCAA 群で有意に増加していました。

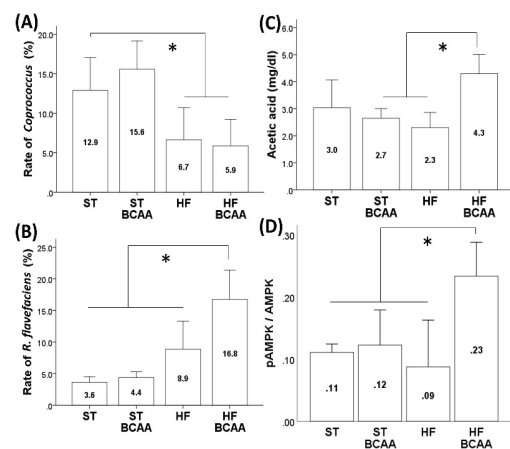


図 1

この酢酸は AMP キナーゼの活性化を介し、脂肪合成関連遺伝子の FAS や ACC の発現を抑制して、肝での脂肪合成を抑制することが報告されており、本実験でも HF-BCAA 群で、他群と比して AMPK が有意に活性化され、FAS と ACC のタンパク発現量は HF 群と比して

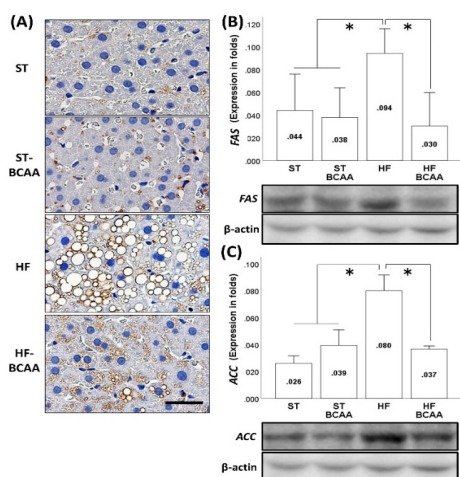


図 2

有意に低下していました (図 1)。肝組織の脂肪化は、脂肪の膜を染める adipophin 抗体を用いた免疫染色で評価して、HF 群と比して HF-BCAA 群で脂肪化が改善されていました (図 2)。この実験結果から、*R. flavefaciens* とその基質となるセルロースが重要と考え、次の実験を行いました。

8 週齢の SD ラットに高脂肪食 (HF 群)、セルロースフリーの高脂肪食 (HF-cel(-)群)、BCAA を添加した高脂肪食 (HF-BCAA 群)、セルロースフリーで BCAA を添加した高脂肪食 (HF-cel(-)-BCAA 群) を 8 週間投与した後、同様の評価を行いました。その結果、HF-BCAA 群で認められた

*R. flavefaciens* の増加は、HF-cel(-)-BCAA 群では認められませんでした。同様に、HF-cel(-)-BCAA 群では門脈血中の酢酸濃度の増加や AMPK の活性化 (図 3)、FAS や ACC の発現の低下や肝組織での脂肪化の改善 (図 4) は認められませんでした。この結果から、BCAA による *R. flavefaciens* の増生促進にはセルロースが必須であり、産生される酢酸量が増加しなければ AMPK の活性化や FAS および ACC の発現抑制は起こらず、肝脂肪化も改善しない

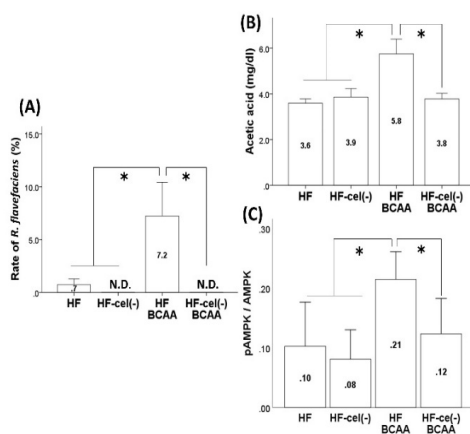


図 3

ことが示唆されました。

今回の実験結果から、BCAA は以下の作用機序で肝脂肪化を改善することが示唆されました。BCAA の投与で、腸内細菌として *R. flavefaciens* が増加します。増加した *R. flavefaciens* はセルロースを基質として酢酸を産生して、その酢酸は門脈血を介して肝臓へ運ばれます。

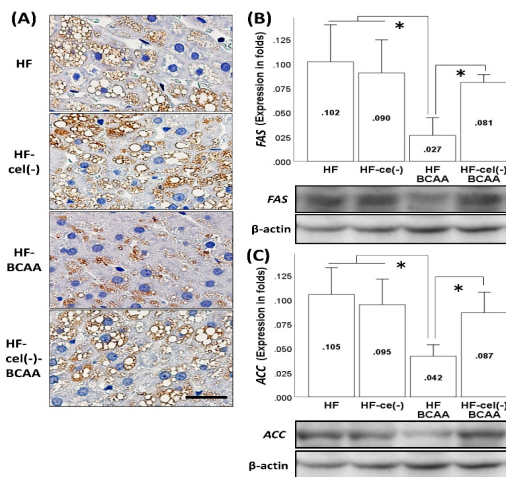
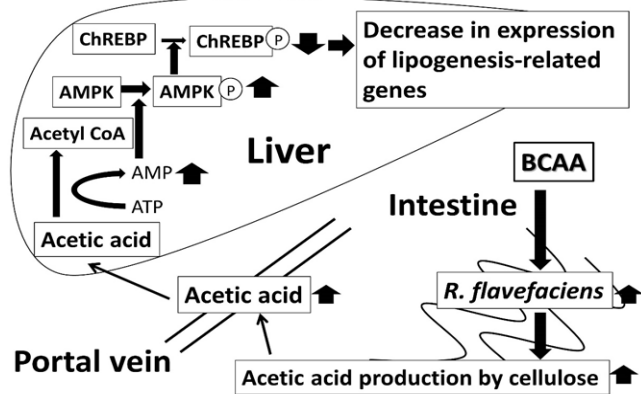


図 4



それにより肝細胞の AMPK が活性化され、脂肪合成関連遺伝子である FAS や ACC の発現が抑制され、肝での脂肪合成が抑制されることで、肝の脂肪化が改善すると考えられます (図 5)。以上の結果から、BCAA は NAFLD における薬物治療の選択肢の一つとなる可能性が考えられます。

図 5

**感想**：大学院での研究期間が 8 年間と非常に長期となってしまいましたが、最終的に論文掲載に辿り着くことが出来ました。今回の研究は、内分泌代謝・膠原病・腎臓内科学講座の先生方のご指導・ご協力の下、消化器内科の先輩である荒川先生や西村先生が行ってきた BCAA と NAFLD との関連性を調べた研究結果が基となっています。そこに昨今のトレンドにもなっている次世代シーケンサーによる腸内細菌叢の解析を加えて、後藤孔郎先生と柴田洋孝教授より多数の御助言・御助力を頂くことで、論文という一つの形に纏めることが出来ました。今回の論文は多くの先生方の御協力の賜物であり、ご協力頂いた全ての先生に感謝申し上げます。

### HIRO'S EYE

消化器内科医員 岩尾正雄先生

内分泌糖尿病内科・講師 後藤孔郎先生



旧第一内科 清家正隆先生グループとの共同研究。

岩尾先生は、次世代シーケンサーを用いた腸内細菌叢の解析方法を学んで、NAFLD モデルラットに分枝鎖アミノ酸を投与すると、腸内細菌叢 (*R. flavefaciens*) の増加と酢酸産生により肝臓内の脂肪蓄積が抑制されることを証明した研究。苦労を重ねて、Sci Rep の reviewer からは、様々な厳しい追加実験などを課されても課されても最後まで粘ってアクセプトを勝ち取った粘り勝ち。本当におめでとう！ (柴田洋孝)

