

## 5-アミノレブリン酸による摂食量減少作用

安澤 俊紀<sup>\*</sup>・佐藤 隆<sup>\*\*</sup>・土屋 京子<sup>\*\*\*</sup>・小林 ゆき子<sup>\*\*\*\*</sup>・桑波田 雅士<sup>\*\*\*\*</sup>・  
泉 可也<sup>\*\*\*\*\*</sup>・上嶋 繁<sup>\*</sup>・木戸 康博<sup>\*\*\*\*</sup>

\* 近畿大学農学部食品栄養学科・\*\* 兵庫大学健康科学部・\*\*\* SBI ファーマ(株)・  
\*\*\*\* 京都府立大学生命環境学部・\*\*\*\*\* (株)バイオマテリアルイン東京

## 5-Aminolevulinic acid reduces food intake

Toshinori YASUZAWA<sup>\*</sup>, Takashi SATO<sup>\*\*</sup>, Kyoko TSUCHIYA<sup>\*\*\*</sup>, Yukiko KOBAYASHI<sup>\*\*\*\*</sup>,  
Masashi KUWAHATA<sup>\*\*\*\*</sup>, Yoshiya IZUMI<sup>\*\*\*\*\*</sup>, Shigeru UESHIMA<sup>\*</sup>, Yasuhiro KIDO<sup>\*\*\*\*</sup>

*\* Department of Food Science and Nutrition, Faculty of Agriculture, Kinki University, 3327-204, Nakamachi, Nara 631-8505, Japan*

*\*\* Faculty of Health Sciences, Hyogo University, 2301, Shinzaike, Hiraoka, Kakogawa, Hyogo 675-0195, Japan*

*\*\*\* SBI Pharmaceuticals Co., Ltd., 1-6-1, Roppongi, Minato-ku, Tokyo 106-6020, Japan*

*\*\*\*\* Department of Food Sciences and Nutritional Health, Faculty of Life and Environmental Sciences, Kyoto Prefectural University 1-5 Hangi, Shimogamo, Sakyo-ku, Kyoto 606-8522, Japan*

*\*\*\*\*\* Biomaterial in Tokyo Co., Ltd., 1-17-25, Kitamoto, Funabashi, Chiba 273-0864, Japan*

### Synopsis

5-aminolevulinic acid (ALA) is precursor of tetrapyrrole compounds such as heme, chlorophyll and cobalamin. Recent study has been shown that ALA reduces glucose levels during fasting and after glucose loading in prediabetic subjects. Previously, we reported that administration of ALA ameliorates diabetic conditions such as blood glucose levels and hemoglobin A1c in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats, a model of type 2 diabetes mellitus. Furthermore, it was indicated that ALA reduces food intake and body weight in OLETF rats. The mechanisms of food intake reduction by ALA is not clear. We demonstrated that the effect of intragastrical and intracerebroventricular administration of ALA and the central GABAergic system of food intake. SD rats were intragastrically or intracerebroventricularly administrated ALA. Food intake reductions was shown in three hours after intragastrical administration of ALA. It was also shown that intracerebroventricular administration of ALA reduces food intake. In this study, the effect of GABAergic

system of food intake of ALA was not clear. However, these results suggest that ALA reduces food intake via central nervous systems.

Keywords : 5-aminolevulinic acid,  $\gamma$ -aminobutyric acid, food intake, GABA<sub>A</sub> receptor, intracerebroventricular administration.

## 1. はじめに

5-アミノレブリン酸 (ALA) は、生物に広く存在する天然のアミノ酸である。生体内ではミトコンドリア中でグリシンとスクシニル CoA から ALA 合成酵素の作用で合成され、テトラピロール化合物の共通前駆体として働いている。テトラピロール化合物には生体内で重要な役割を果たすものが多く、鉄と結合すればヘムとなり、コバルトと結合すればビタミン B<sub>12</sub> を形成する。また植物において、マグネシウムと結合すればクロロフィルとなり、光合成において重要な働きをしている (1)。

近年、境界型糖尿病の被験者を対象にした試験では、ALA 摂取により糖負荷 2 時間後の血糖値が改善されたと報告された (2)。さらに、ALA および鉄の摂取は軽度高血糖を示す被験者の空腹時血糖値、グルコース負荷 2 時間後の血糖値および血清グリコアルブミンのそれぞれがプラセボを摂取した被験者と比較して改善していたことが報告された (3)。

我々は 2 型糖尿病モデル動物である OLETF ラットの空腹時血糖値、経口グルコース負荷試験における耐糖能、HbA1c などの糖尿病病態が ALA 投与により改善したことを報告した (4)。これら ALA の糖尿病病態改善効果の 1 つには、ALA 投与による摂食量の減少が関与していると考えられた。しかし、これまで ALA と摂食調節機構の関

係については検討されていない。摂食調節は生体の恒常性を維持するために非常に重要である。視床下部は栄養素やホルモンなどの作用によって摂食行動を調節している。視床下部において、アグーチ関連ペプチド (AGRP) を発現しているニューロンとプロオピオメラノコルチン (POMC) が食欲や代謝、エネルギーバランスを調節している (5-7)。POMC ニューロンは摂食抑制性に作用し、AGRP やニューロペプチド Y、 $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) を産生している AGRP ニューロンは摂食促進性の作用を示す。

GABA は脳に広範囲で存在する抑制性の神経伝達物質である。GABA<sub>A</sub> 受容体アゴニストは摂食を亢進させることが多くの研究で報告されている (8-10)。GABA は摂食抑制性の POMC ニューロンの作用を抑制すると考えられている (11)。また、AGRP ニューロン特異的に破壊したマウスでは摂食行動が抑制され飢餓に陥るが、GABA<sub>A</sub> 受容体アゴニストの投与により摂食行動を保ち飢餓は回避される (12)。このように GABA<sub>A</sub> 受容体は摂食調節に重要な役割を担っていると考えられる。

ALA は炭素数が 5 個の  $\delta$  アミノ酸で、GABA は炭素数が 4 個の  $\gamma$  アミノ酸であり構造上類似している点がある。ALA は *in vitro* において GABA<sub>A</sub> 受容体に対して阻害能を持つことが示されており (13)、ヒトおよびラットの培養神経細胞では GABA<sub>A</sub> 受容体アゴニストであるムシモールの結合を

阻害することが示されている (14)。

ALA は血液脳関門を通過することが知られており (15), 中枢性に作用することも可能である。これらのことから, ALA は GABA 作動性の摂食調節機構に関与している可能性も考えられる。そこで本研究では, ALA を胃内投与および側脳室内投与することで ALA の摂食抑制作用機序および GABA 作動性摂食調節機構への ALA の影響について検討した。

## 2. 材料および方法

### 実験動物

実験動物は6週齢の雄性SD系ラット(日本エスエルシー株式会社, 浜松)を用いた。ラットは予備飼育後, 実験に供した。飼育期間中は室温  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  に管理した12時間明暗サイクル(21:00 - 9:00 明期)の飼育室で, ステンレスケージにラットを一匹ずつ入れ飼育した。予備飼育・実験期間を通じて20%カゼイン食と蒸留水を自由摂取とした。20%カゼイン食はAIN-93G組成食をもとに調製した(Table 1)。本研究は京都府立大学実験動物委員会の承認を得て実施した。

### 5-アミノレブリン酸単回胃内投与が摂食量に及ぼす影響

5-アミノレブリン酸塩酸塩(ALA)とクエン酸第一鉄ナトリウム(SFC)はSBIファーマ株式会社(東京)より提供された。ALA溶液はモル比が,  $\text{ALA} : \text{SFC} = 1 : 0.05$  となるように調製した。ALA溶液の調製は用時調製とした。予備飼育終了後, 各濃度のALA(1, 3, 10, 30, 100, 300  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )およびメトホルミン(メトグルコ®

錠; 大日本住友製薬株式会社, 大阪: 100, 300  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )を経口ゾンデにより強制胃内投与した。

ラットが夜行性であることを考慮し投与実験は, 暗期(活動期)開始時の9:00より行

**Table 1 Composition of the experimental diets.**

Ingredient	$\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$
Casein <sup>1)</sup>	20.0
Soybean oil <sup>2)</sup>	7.0
Cornstarch <sup>3)</sup>	52.9486
Sucrose <sup>4)</sup>	10.25
Cellulose <sup>1)</sup>	5.0
Vitamin mix <sup>1, 5)</sup>	1.0
Mineral mix <sup>1, 6)</sup>	3.5
L-cystine <sup>2)</sup>	0.3
Tert-butylhydroquinone <sup>7)</sup>	0.014

1) Oriental Yeast Co., Ltd.

2) Wako Pure Chemical Industries Ltd., Japan.

3) Matsutani Chemical Industry Co., Ltd.

4) Itochu Sugar Co., Ltd.

5) AIN-93<sup>TM</sup> vitamin mixture (Containing choline bitartrate)

6) AIN-93<sup>TM</sup> mineral mixture

7) Sigma Aldrich Co. LLC.

った。投与後から3, 6, 9, 12, 24時間後の摂食量を測定し, 暗期, 明期および1日の摂食量を算出した。投与実験前日の摂食量も同様に測定し, 投与前後での摂食行動についても比較した。

### 5-アミノレブリン酸継続胃内投与が摂食量に及ぼす影響

予備飼育終了後, ラットの体重および摂

食量がほぼ等しくなるようにコントロール群と ALA 300 群の 2 群に分けた。コントロール群には溶媒である蒸留水を、ALA 300 群には ALA を  $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  胃内投与した。投与期間は 14 日間とした。投与は毎日、暗期開始時とし 12 時間明暗サイクル毎に摂食量の測定を行った。14 日間の投与終了後、ラットは 12 時間絶食後、頸椎脱臼により安楽死させ、開腹し、下大静脈より血液を採取した。採血後、各臓器を摘出し、生理食塩水で洗浄後、重量を測定した。臓器重量測定後、速やかに液体窒素で凍結し  $-80^{\circ}\text{C}$  で保存した。

## GABA 作動性摂食調節機構に及ぼす

### 5-アミノレブリン酸の影響

ALA は滅菌生理食塩水に溶解し、NaOH 水溶液を用いて pH 調整した。ALA 溶液は用時調製とした。GABA<sub>A</sub> 受容体のアゴニスト、アンタゴニストであるムシモールおよびピククリンメトクロリド（和光純薬工業株式会社、大阪）は滅菌生理食塩水に溶解し、投与まで冷蔵保存した。ラットをペントバルビタールナトリウム ( $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , i.p.) 麻酔下で脳定位固定装置に固定し頭皮を切開した。Paxinos & Watson の脳座標 (16) に従って上顎門歯バーを耳孔バーの 3.3 mm 下に設定して固定した。側脳室 (Anterior-Posterior: -0.8 mm, Lateral: -1.4 mm, Ventral: +3.5 mm) にガイドカニューレを挿入した。頭蓋骨にアンカーとなるネジ 3 本とガイドカニューレをデンタルセメント（マイキー急速硬化即時重合レジン）で固定し、投与時までポリエチレンチューブで密栓した。側脳室へのガイドカニューレ挿入は脳脊髄液の逆流によって確認した。

投与にはマイクロシリンジ (Hamilton Com., Reno, NV) を用いた。

ラットの体重が 200 g に達したことを確認した後、薬物投与のためのガイドカニューレを側脳室に植え込む手術を行った。手術後 1 週間を回復期間とした。ラットが夜行性であることを考慮し暗期開始時より側脳室内投与を開始し、その後経時的に摂食量を測定した。投与した薬物が次の投与実験に影響を与えないようにするため、投与の間隔を 3 日間以上あけた。全ての投与実験が終了した後、側脳室内への投与が確実に行われていたことを確認するためにガイドカニューレより墨汁を投与した。その後、ラットの脳を摘出しガイドカニューレ挿入部位の染色により投与が行われているかを確認した。

### 統計学的処理

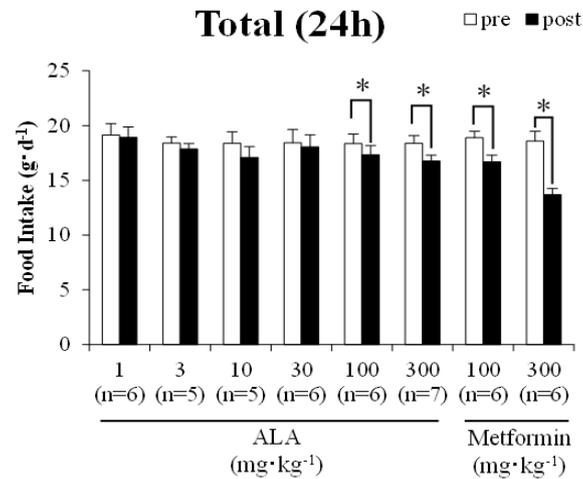
結果は、平均値±標準誤差 (mean ± SE) で示した。統計学的解析は、統計解析 Statcel Ver.3 (オーエムエス出版、埼玉) を用いて行った。ALA 単回胃内投与における投与前後の比較には、paired t test を用いた。ALA 継続胃内投与における 2 群間の比較には F test を行い、等分散であるものは、Student's t test を用い、非等分散であるものは、Welch's t test を用いて検定を行った。側脳室内投与における投与前後の比較には、paired t test を用いた。2 群間の比較には F test を行い、等分散であるものは、Student's t test を用い、非等分散であるものは、Welch's t test を用いて検定を行った。

なお、いずれの検定においても  $P < 0.05$  のものを統計学的に有意であるものとした。

## 3. 結果

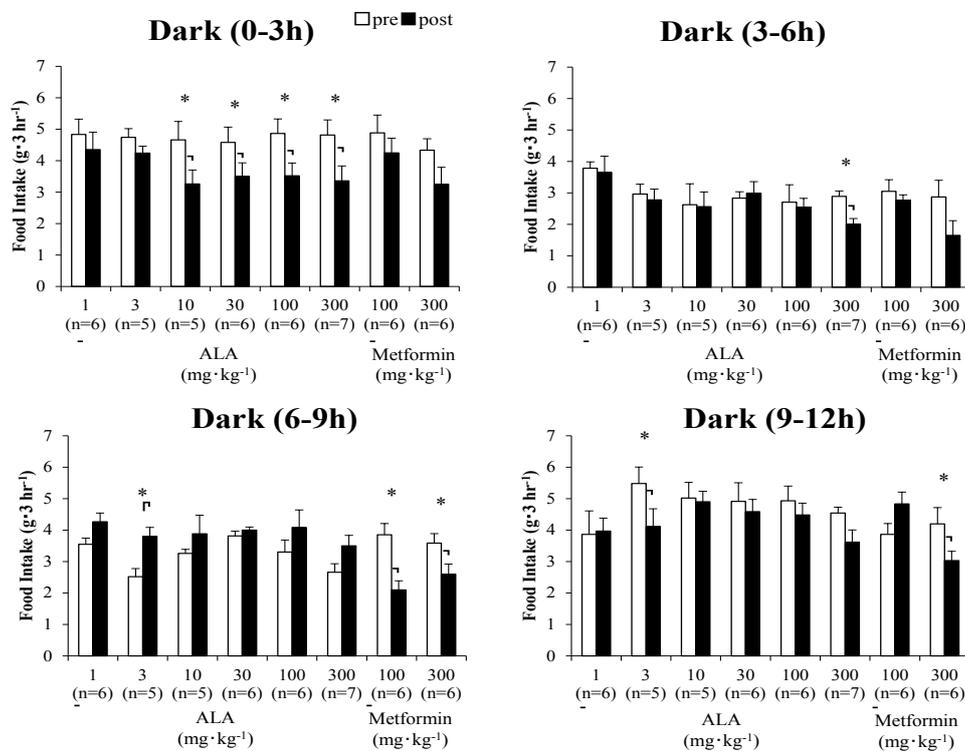
ALA 単回胃内投与が摂食量に及ぼす影響

各濃度の ALA およびメトホルミン胃内投与前後の一日の摂食量を Figure 1 に示した. ALA を 1, 3, 10, 30  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  投与した



**Figure 1** Effect of single intragastric administration of ALA on food intake.

Rats were intragastrically administrated ALA or metformin. Values are mean  $\pm$  SE (n = 5-7). Asterisks indicate significantly different. \*:  $P < 0.05$ .



**Figure 2** Changes in food intake.

Rats were intragastrically administrated ALA or metformin at the dark phase. Values are mean  $\pm$  SE (n = 5-7). Asterisks indicate significantly different. \*:  $P < 0.05$ .

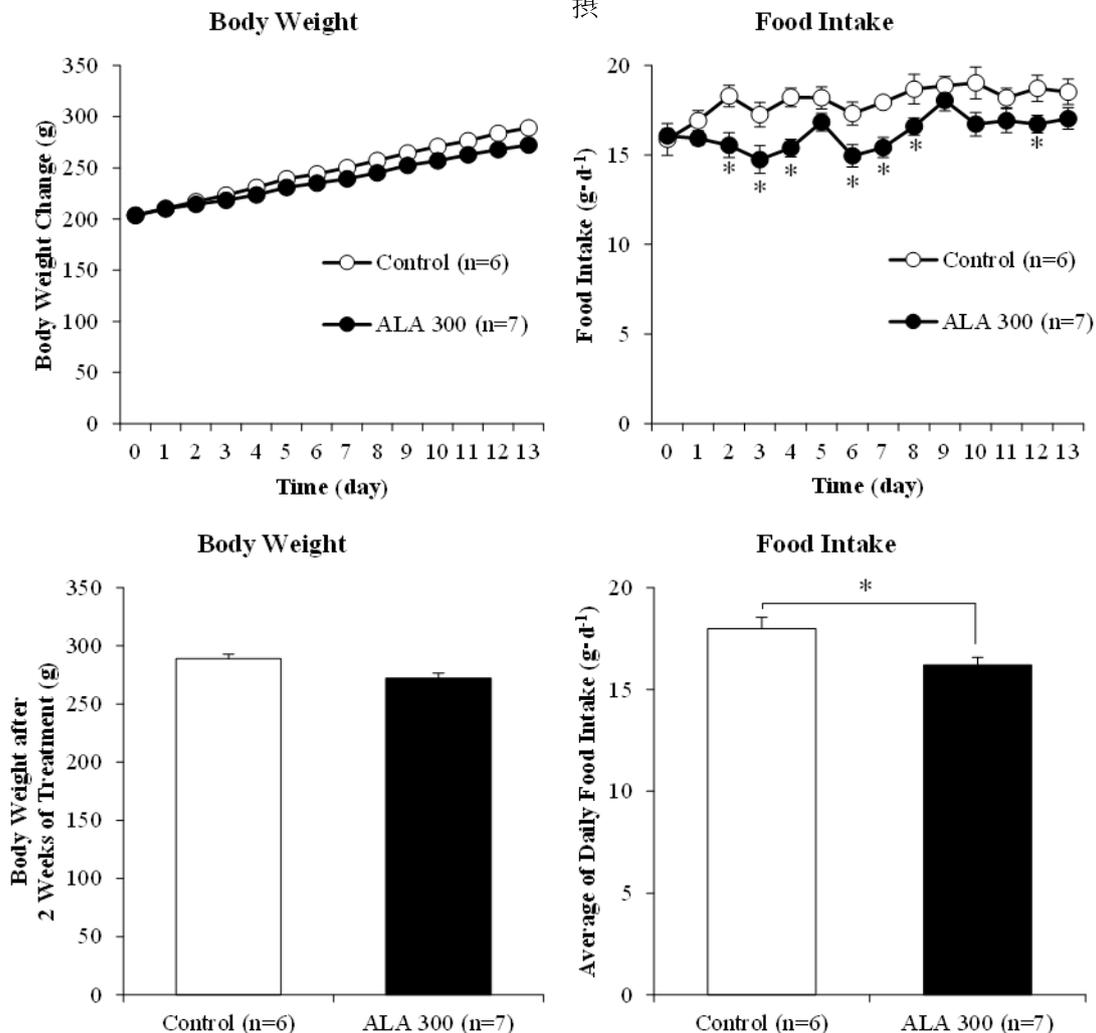
時は、摂食量に有意な変化は認められなかった。ALA100 および  $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  の投与で、摂食量は有意に低値を示した。メトホルミン投与においても用量依存的な摂食量低下を示した。

ALA 単回胃内投与後の摂食量を継続的に示した (Figure 2)。ALA 投与後から 3 時間までの摂食量において ALA  $10\text{-}300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  の投与量で非投与時の摂食量と比較し有意に低値を示した。ALA  $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  の投与量

では、続く 3-6 時間の摂食量においても有意に低値を示した。メトホルミンによる有意な摂食量の抑制は投与後 6-9 時間において示された。

#### ALA 継続胃内投与が摂食量に及ぼす影響

正常ラットに ALA を 2 週間継続胃内投与し、摂食量に及ぼす影響を検討した。ALA 投与期間中コントロール群と比較して ALA 300 群において摂食量は低値を示し、平均摂



**Figure 3** Effect of ALA on body weight and food intake in the experimental period.

Rats were intragastrically administrated ALA for 2 weeks. Values are mean  $\pm$  SE. Asterisks indicate significantly different. \*:  $P < 0.05$

食量は有意に低値を示した (Figure 3)。体重はコントロール群と比較し ALA 300 群で

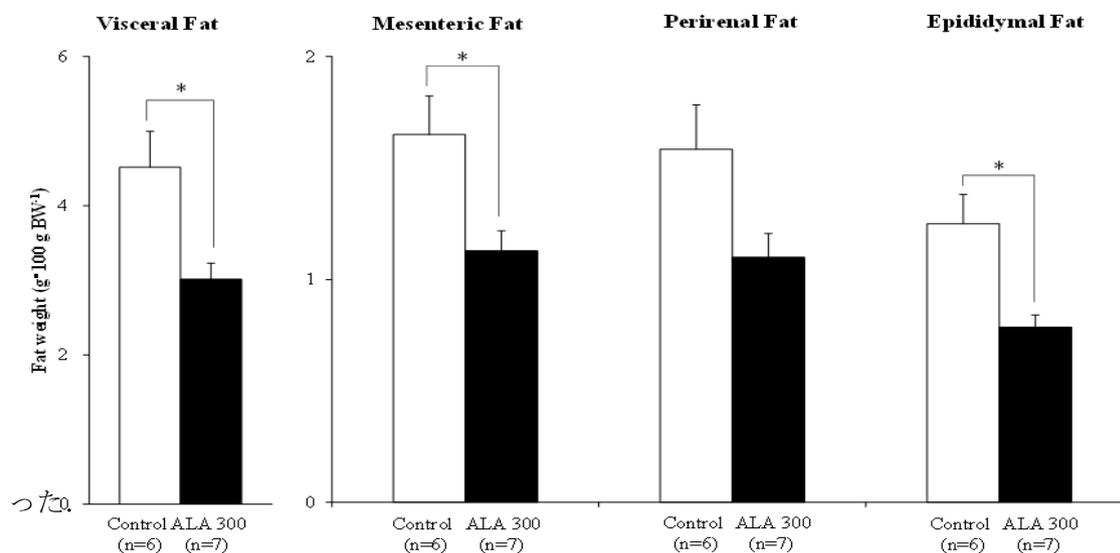
低値を示したが有意な差は認められなかった。

#### ALA 継続胃内投与が摂食量に及ぼす影響

正常ラットに ALA を 2 週間継続胃内投与し、摂食量に及ぼす影響を検討した。ALA 投与期間中コントロール群と比較して ALA 300 群において摂食量は低値を示し、平均摂食量は有意に低値を示した (Figure 3)。体重はコントロール群と比較し ALA 300 群で低値を示したが有意な差は認められな

かった。 ALA 2 週間胃内投与による内臓脂肪重量への影響を Figure 4 に示した。ALA 300 群において総内臓脂肪重量は有意に低値を示した。内臓脂肪重量を部位別に比較すると、腸間膜脂肪および精巣上部周囲脂肪において ALA 300 群で有意な減少が認められた。腎周囲脂肪においても有意な差はないが ALA 300 群でコントロール群と比較して低値を示した。

血漿総コレステロール、トリグリセリド、



**Figure 4** Effect of ALA on visceral fat.

The weight of total visceral fat and visceral fat of 3 different regions were measured and expressed relative to body weight. Values are mean  $\pm$  SE. Asterisks indicate significantly different. \*:  $P < 0.05$ .

**Table 2** Blood analysis.

	TC (mg $\cdot$ dL <sup>-1</sup> )	TG (mg $\cdot$ dL <sup>-1</sup> )	GLU (mg $\cdot$ dL <sup>-1</sup> )	Leptin (ng $\cdot$ mL <sup>-1</sup> )
<b>Control (n=6)</b>	66.3 $\pm$ 10.5	19.8 $\pm$ 1.0	137.2 $\pm$ 29.5	3.0 $\pm$ 0.4
<b>ALA 300 (n=7)</b>	86.0 $\pm$ 3.9	23.1 $\pm$ 1.3	140.9 $\pm$ 5.0	2.7 $\pm$ 0.2

Values are mean  $\pm$  SE.

グルコース、レプチン濃度を Table 2 に示した。各パラメータに有意な差は認められ

なかった。血漿レプチン濃度においても ALA 300 群でわずかに低値を示した程度であった。

#### ALA 側脳室内投与が摂食量に及ぼす影響

ラット側脳室内へ ALA を投与した時の摂食量を Figure 5 に示した。ALA 非投与時の摂食量をコントロールとし、投与後 24 時間の摂食量を測定した。ALA の側脳室内投与により投与量依存的に摂食量は低値を示し、ALA  $3 \mu\text{mol}\cdot\text{rat}^{-1}$  のとき有意に低値を示した。

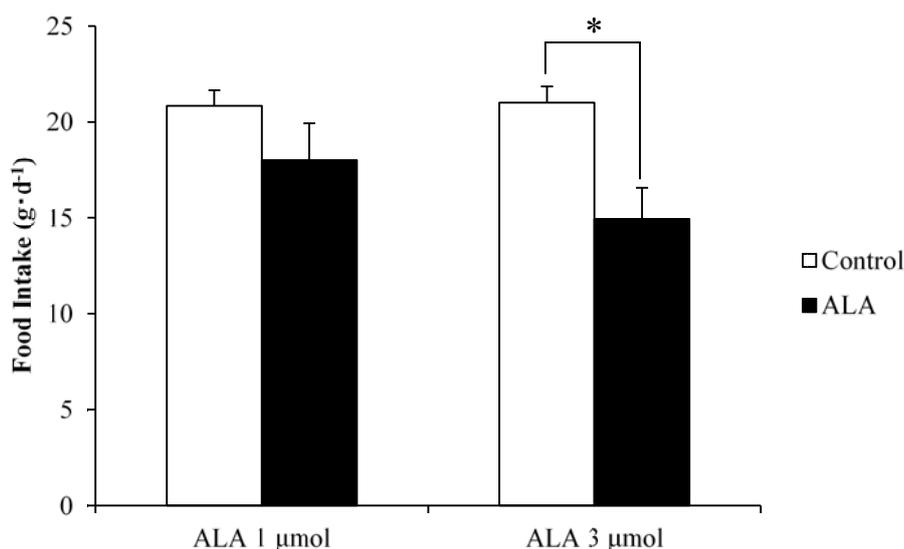
#### GABA 作動性摂食調節機構に及ぼす

##### ALA の影響

ALA および GABA<sub>A</sub> 受容体アゴニストであるムシモールを側脳室内投与した時の摂食量を Figure 6 に示した。ALA の側脳室内投与では投与後 1 時間より、滅菌生理食塩水を投与したコントロールと比較し低値を

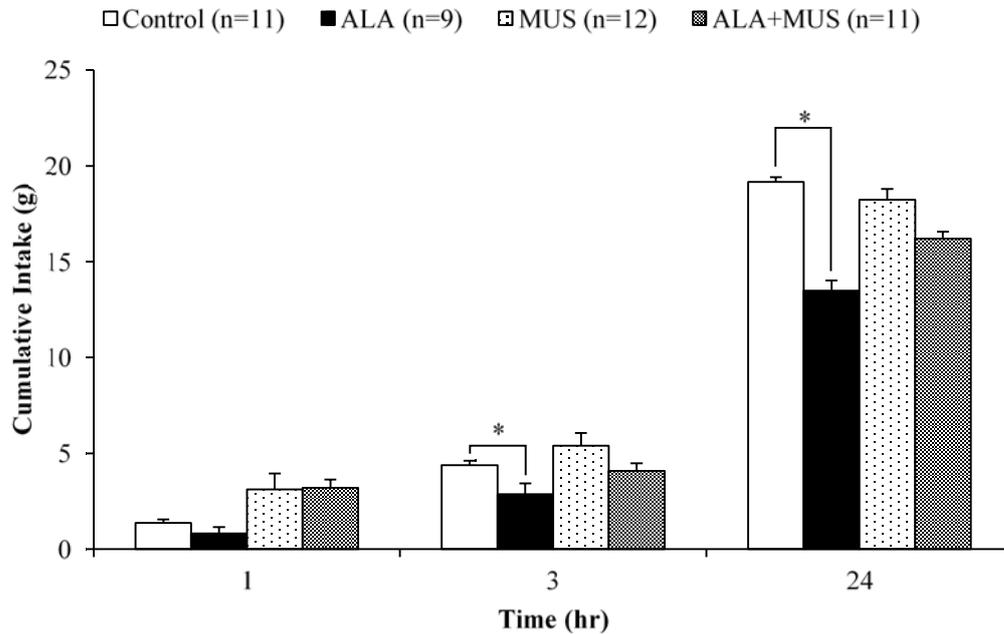
示し、投与後 3, 24 時間では有意な摂食量の減少を示した。ムシモールの投与ではコントロールと比較して、1, 3 時間の摂食量は高値を示す傾向が認められた。ムシモール投与後 24 時間の摂食量はコントロールと同程度の値を示した。ALA とムシモールの同時側脳室内投与において、投与後 1 時間の摂食量はムシモール単独投与と同程度の値を示したが、その後 3, 24 時間の摂食量はムシモール単独投与に比べ低値を示した。

ALA および GABA<sub>A</sub> 受容体アンタゴニストであるビククリンを側脳室内投与した時の摂食量を Figure 7 に示した。ALA の側脳室内投与では投与後 1 時間より、滅菌生理食塩水を投与したコントロールと比較し低値を示し、投与後 3, 24 時間では有意な摂食量の減少を示した。ビククリンの単独投与では、コントロールと比較し投与後 1, 3



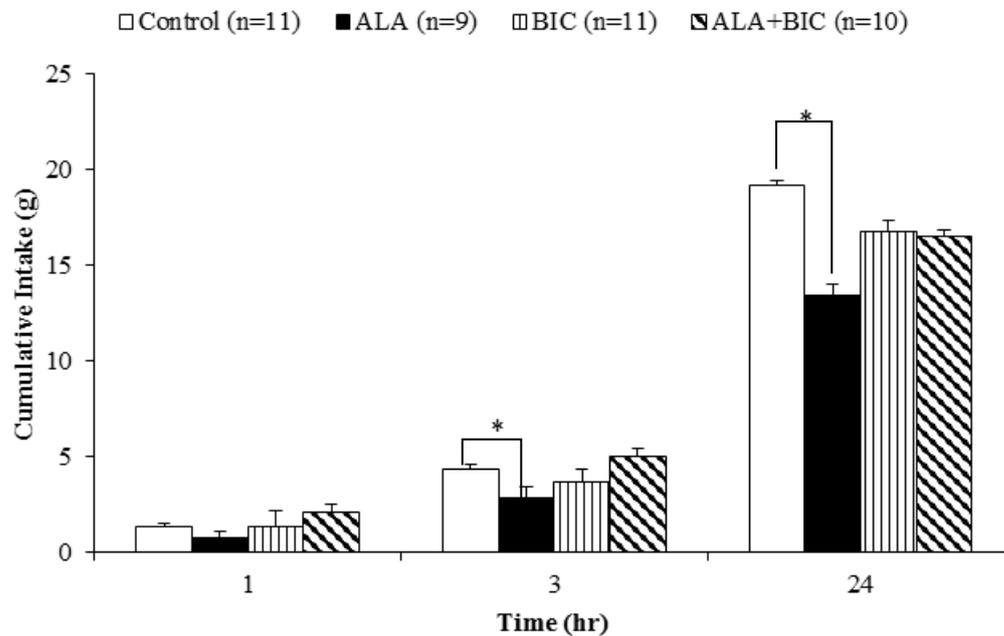
**Figure 5** Effect of Intracerebroventricular administration of ALA on food intake.

Rats were intracerebroventricular administrated ALA at the dark phase. Values are mean  $\pm$  SE. Asterisks indicate significantly different. \*:  $P < 0.05$ .



**Figure 6** Effects of ALA and GABA<sub>A</sub> receptor agonist on food intake.

Cumulative intake of food after intracerebroventricular injections of saline (Control; n=12), ALA 3  $\mu$ mol (ALA; n=9), muscimol 0.35 nmol (MUS; n=12), ALA and muscimol (ALA+MUS; n=11). Values are mean  $\pm$  SE. Asterisks indicate significantly different. \*:  $P < 0.05$ .



**Figure 7** Effects of ALA and GABA<sub>A</sub> receptor antagonist on food intake.

Cumulative intake of food after intracerebroventricular injections of saline (Control; n=12), ALA 3  $\mu$ mol (ALA; n=9), bicuculline 2.4 nmol (BIC; n=12), or ALA and bicuculline (ALA+BIC; n=12). Values are mean  $\pm$  SE. Asterisks indicate significantly different. \*:  $P < 0.05$ .

時間では同程度の値を示し、24時間の摂食量では低値を示す傾向が認められた。ALAとピククリンの同時側脳室内投与ではピククリン単独投与と比較して各時間帯で同程度の値を示した。

#### 4. 考察

本結果よりALAの単回胃内投与は用量依存的に摂食量を減少させることが示された。さらにその作用は、投与後から3時間および6時間までの短時間で作用していると考えられた。一方、メトホルミン胃内投与では投与後6時間から9時間以降の摂食を抑制しており、ALAの摂食抑制とは異なる作用機序を持つと考えられた。メトホルミンは細胞内AMP活性化プロテインキナーゼを活性化することで糖の取り込みや脂質代謝を制御する抗糖尿病薬として知られている。詳細なメカニズムは不明であるがヒトにおいてもメトホルミンは摂食調節作用を示す(17)。メトホルミンが生体内の代謝変化に及ぼす影響が摂食に関与していると考えられる。ALAによる摂食抑制はメトホルミンよりも短時間でみられるため代謝変化が起こるよりも先に摂食抑制作用が起こっていると考えられた。

次に、ALA継続胃内投与では単回胃内投与で摂食抑制が示された $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ を2週間投与した。その結果、投与期間中の摂食抑制がみられ体重も低下する傾向が示された。さらに、内臓脂肪の蓄積抑制作用も示された。ALA投与は

体脂肪量を減少させ、除脂肪体重を増加させる可能性が報告されている(18)。また、血漿レプチン濃度についてはコントロールと比較して減少傾向にあり、レプチンの摂食抑制への寄与は大きくないと考えられた。先行研究(4)におけるOLETFラットに対する摂食抑制作用においても内臓脂肪重量の減少が観察されている。さらにOLETFラットの血漿レプチン濃度はALA投与により減少しており摂食抑制作用に対するレプチンの寄与は大きくないと考えられている。これらのことからALAの摂食抑制作用が2型糖尿病モデルであるOLETFラットに特異的なものではないと考えられた。

ALAは血液脳関門を通過することが知られている(15)。ALAの中枢性摂食調節機構への影響を検討するため、側脳室内へのALA投与を行った。ALA側脳室内投与では濃度依存的に摂食量を減少させることを示した。ALAは中枢性に作用し摂食行動を制御している可能性が考えられた。

コントロールに対して、 $\text{GABA}_A$ 受容体アゴニストであるムシモールの側脳室内投与では投与後1,3時間において摂食量は増加する傾向を示した。AGRPニューロンにおいてGABAシグナルはPOMCの作用を抑制し摂食行動を促進させると考えられており(11)、ムシモールやその他の $\text{GABA}_A$ 受容体アゴニストにより摂食行動が促進されることが示されている(8-10, 12)。本研究の結果からもムシモールによる摂食促進

性の作用が示されたと考えられる。

ALA とムシモールを同時に側脳室内投与した実験では、投与 3 および 24 時間後の摂食量においてムシモール単独投与よりも低値を示し、投与 1 時間ではムシモール単独投与と同様に摂食量はコントロールと比較し増加する傾向を示した。投与直後では摂食促進性のムシモールの作用が強く、その後は ALA が作用したと考えられた。ムシモールの作用は 1 時間とごく短時間のみ作用し、その後 ALA の作用によって摂食量が減少したと考えられる。つまり、ALA の GABA<sub>A</sub> 受容体に対する作用は、単純ではなく、複雑な経路で摂食行動に影響を及ぼしていると推察した。

GABA<sub>A</sub> 受容体アンタゴニストであるビククリンの側脳室内投与において、摂食量はコントロールと同程度かやや低い値を示した。ビククリンは単独でも摂食抑制作用を示す (19) が、摂食抑制作用を示さない用量においてもムシモールの摂食促進作用を阻害することが示されている (8)。

ALA とビククリンの同時側脳室内投与では、コントロールと同程度あるいはやや増加傾向を示し、ALA による摂食量の減少作用は示さなかった。GABA<sub>A</sub> 受容体アンタゴニストであるビククリンと ALA を同時投与した場合、摂食量は減少すると考えられた。しかし、本実験の結果では ALA とビククリンの同時投与により摂食量が減少しなかった。ALA がビククリンとは別

の阻害様式で GABA<sub>A</sub> 受容体に関与しているか、あるいは、GABA<sub>A</sub> 受容体を介した摂食抑制作用ではなく別の摂食抑制作用機序を有していることが考えられた。

本実験では、ALA とムシモールあるいはビククリンの用量を変えた検討や受容体に対する結合実験などは行っておらず GABA<sub>A</sub> 受容体の関与を証明するには今後詳細な検討を行う必要があると考えられた。さらに、GABA<sub>A</sub> 受容体を介した経路だけでなくその他の摂食調節機構への影響も検討する必要がある。

以上の結果より本研究では、ALA が GABA<sub>A</sub> 受容体を介し摂食量を減少させているという確かな証拠は得られなかった。しかし、ALA は中枢性に作用し摂食量を減少させていることが示唆された。

## 5. 要約

5-アミノレブリン酸はヘムやクロロフィル、コバラミンなどのテトラピロール化合物の共通前駆体である。以前に我々は 2 型糖尿病モデル動物である OLETF ラットの空腹時血糖値、経口グルコース負荷試験における耐糖能、インスリン抵抗性および HbA1c などの糖尿病病態を ALA 投与により改善したことを報告した。ALA の糖尿病病態改善効果の 1 つには、ALA 投与による摂食量の減少が関与していると考えられた。そこで、ALA を胃内投与および側脳室内投与す

ることで ALA の摂食抑制作用機序を検討した。また、GABA 作動性摂食調節機構への ALA の影響についても検討した。ALA 胃内投与による摂食量の減少は、投与後短時間で作用しており、側脳室内に ALA を投与した際にも摂食量を減少させることが示された。GABA 作動性摂食調節機構に対する ALA の影響を検討したところ ALA が GABA<sub>A</sub> 受容体を介して摂食量を減少させている確かな証拠は得られなかった。しかし、ALA は中枢性に作用して摂食量を減少させることが示唆された。

## 6. 参考文献

- 1) Tanaka R, Tanaka A. Tetrapyrrole Biosynthesis in Higher Plants. *Annu Rev Plant Biol.* 2007; 58: 321-346.
- 2) Rodriguez BL, Curb JD, Davis J, Shintani T, Perez MH, Apau-Ludlum N, Johnson C, Harrigan RC. Use of the dietary supplement 5-aminolevulinic acid (5-ALA) and its relationship with glucose levels and hemoglobin A1C among individuals with prediabetes. *Clin Transl Sci.* 2012; 5: 314-320.
- 3) Higashikawa F, Noda M, Awaya T, Tanaka T, Sugiyama M. 5-aminolevulinic acid, a precursor of heme, reduces both fasting and postprandial glucose levels in mildly hyperglycemic subjects. *Nutrition.* 2013; 29: 1030-1036.
- 4) Sato T, Yasuzawa T, Uesaka A, Izumi Y, Kamiya A, Tsuchiya K, Kobayashi Y, Kuwahata M, Kido Y. Type 2 diabetic conditions in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats are ameliorated by 5-aminolevulinic acid. *Nutrition Research.* 2014; 34: 544-551.
- 5) Cone RD. Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nat. Neurosci.* 2005; 8: 571-578.
- 6) Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature.* 2006; 443: 289-295.
- 7) Saper CB, Chou TC, Elmquist JK. The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron.* 2002; 36: 199-211.
- 8) Pu S, Jain MR, Horvath TL, Diano S, Kalra PS, Kalra SP. Interactions between neuropeptide Y and  $\gamma$ -aminobutyric acid in stimulation of feeding: A morphological and pharmacological analysis. *Endocrinology.* 1999; 140: 933-940.
- 9) Noguchi Y, Murakami C, Kamata K, Nakamura M. The influence of Ro15-1788, AR95531 and picrotoxin on food intake induced by benzodiazepines and GABA<sub>A</sub> agonists in rats. *J Kyorin Med Soc.* 1997; 28: 3-14.
- 10) Olgiati VR, Netti C, Guidobono F, Pecile A. The central GABAergic system and control of food intake under different experimental conditions.

Psychopharmacology. 1980; 68: 163-167.

11) Qi W, Richard DP. GABAergic signaling by AgRP neurons prevents anorexia via a melanocortin-independent mechanism. *Eur J Pharmacol.* 2011; 660: 21-27.

12) Qi W, Maureen P.B, Richard DP. Loss of GABAergic signaling by AgRP neurons to the parabrachial nucleus leads to starvation. *Cell.* 2009; 137: 1225-1234.

13) TN Robinson, AJ Cross, AR Green, JM Toczek, BR Boar. Effects of the putative antagonists phaclofen and  $\delta$ -aminovaleric acid GABAB receptor biochemistry. *Br J Pharmacol.* 1989; 98: 833-840.

14) Tatiana E, Fernanda WP, Leticia BA, Andrea R, Diogo OS. 5-Aminolevulinic Acid Inhibits [3H] Muscimol Binding to Human and Rat Brain Synaptic Membranes. *Neurochem Res.* 2001; 26: 101-105.

15) García SC, Moretti MB, Garay MV, Batlle A. Delta-aminolevulinic acid transport through blood-brain barrier. *Gen Pharmacol.* 1998; 31:

579-582.

16) Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, New York. 1982.

17) Schultes B, Oltmanns KM, Kern W, Fehm HL, Born J, Peters A. Modulation of hunger by plasma glucose and metformin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 1133-1141.

18) Shimamura Y, Horinouchi I, Matsuda S, Tsuchiya K, Miyanari S, Kobayashi Y, Kuwahata M, Kido Y. Possibility of 5-aminolevulinic acid for nutritional supplement; suppression of visceral fat accumulation in rats. *Aminolevulinic acid, science, technology and application (SBI ALA promo).* 2011; 109-116.

19) Kamatchi GL, Rathanaswami P. Inhibition of deprivation-induced food intake by GABA<sub>A</sub> antagonists: roles of the hypothalamic, endocrine and alimentary mechanisms. *J Clin Biochem Nutr.* 2012; 51: 19-26.