

原 著

ラットにおけるプロピオン酸経口投与による 血中ケトン体濃度低下作用

山口大貴*¹ 三浦紀称嗣*¹ 宮田富弘*²

要 約

本研究では、ラットにおけるプロピオン酸による血中ケトン体濃度低下作用について検討した。24時間絶食させたラットに1 M 短鎖脂肪酸溶液を経口投与し、血中ケトン体濃度の変化を比較した。酢酸投与群および酪酸投与群の血中ケトン体濃度が上昇した。一方、プロピオン酸を経口投与すると、上昇した血中ケトン体濃度が速やかに低下し、血糖値が上昇した。24時間絶食させたラットに、TCA 回路の中間体であるクエン酸、 α -ケトグルタル酸、コハク酸、リンゴ酸、オキサロ酢酸、ピルビン酸、乳酸の1 M 溶液を経口投与した。糖新生の基質であるピルビン酸および乳酸では、プロピオン酸と同様に血中ケトン体濃度低下と血糖上昇が認められた。メトホルミンによる糖新生抑制下において、プロピオン酸投与60分後に血中ケトン体濃度の低下と血糖値の上昇が抑制された。これらの結果から、プロピオン酸による血中ケトン体濃度低下作用には糖新生が関与していることが示唆された。

1. 緒言

酢酸やプロピオン酸、*n*-酪酸等のSCFAs (Short Chain Fatty Acids) は、ペクチンやグァーガム等の易分解性食物繊維あるいは難消化性糖質が大腸内の腸内細菌による発酵を受けて生成される¹⁾。生成されたSCFAsは大腸から吸収され、*n*-酪酸は大腸上皮細胞のエネルギー源として、酢酸は肝臓で脂肪合成やエネルギー基質として利用される²⁾。これらに対して、プロピオン酸は代謝過程でスクシニル CoA (Coenzyme A) に変換されてTCA (Tricarboxylic acid) 回路に入り、糖新生の基質として利用される。一方、糖新生の過程で生じたホスホエノールピルビン酸からピルビン酸への変換(リサイクル経路)も存在するので、一部はピルビン酸からアセチル CoA を経てTCA 回路で代謝される^{3,4)}。プロピオン酸の日常的な摂取はほとんどないが、プロピオン酸が糖新生に利用されるという代謝特性を考慮すると有用なエネルギー源となる可能性が考えられる。例えば、運動時にプロピオン酸を摂取することで、血糖供給と肝グリコーゲン消費を

軽減することにより、持久力を向上させる可能性等が考えられる。

絶食や持久力運動等でグリコーゲンが枯渇して脂肪からのエネルギー供給が上昇した時、肝臓で遊離脂肪酸の代謝によって生じたアセチル CoA の一部からケトン体が生成される。ケトン体は、アセト酢酸、 β -ヒドロキシ酪酸およびアセトンの総称であり、脳や骨格筋等へ運ばれ、エネルギー効率のよい代替エネルギー源として利用される⁵⁾。ケトン体は、ピルビン酸に比べ1分子あたりのATP産生量が多いことから⁶⁾持久力が必要な運動において有益となる可能性が指摘されている⁷⁾。実際、ケトン体食を摂取させたラットは持久力が向上することが報告されている⁸⁾。ケトン体代謝ではスクシニル CoA を必要とするので、スクシニル CoA を供給するプロピオン酸はケトン体代謝の亢進を介して持久力を向上する可能性もある。

先行研究において、プロピオン酸の経口投与によって誘導される生理作用は多数報告されている。例えば、血漿コレステロール低下作用^{9,10)}、GPCR (G

*1 川崎医療福祉大学大学院 医療技術学研究科 健康科学専攻

*2 川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科

(連絡先) 山口大貴 〒701-0193 倉敷市松島288 川崎医療福祉大学

E-mail: gutihiro77@yahoo.co.jp

Protein Coupling Receptor) を介した交感神経の亢進¹¹⁾や脂肪蓄積の抑制¹²⁾, GLP-1 (Glucagon Like Peptide-1) や PYY (Polypeptide YY) の分泌促進等の報告がある^{13,14)}。しかし, プロピオン酸によるケトン体代謝への影響を検討した研究はほとんどない。そこで本研究では, プロピオン酸の経口投与が血中ケトン体濃度に及ぼす影響について検討した。

2. 方法

2.1 動物実験

本研究で行ったすべての動物実験は, 川崎医療福祉大学動物実験委員会の承認を得て行った (承認番号: 16-003, 16-008)。

2.2 実験動物, 飼料および飼育

実験動物は, Wistar 系雄ラット (体重160~350 g, 日本クレア) を用いた。飼料は AIN-93G に準拠した組成の精製飼料 (ただし, 酸化防止剤は加えてはいない) を作成した。α-コーンスターチ, カゼイン, セルロース, AIN-93ビタミン混合および AIN-93ミネラル混合はオリエンタル酵母工業株式会社より購入した。L-シスチンおよび酒石酸コリンは和光純薬工業株式会社より購入した。スクロースは株式会社パルエス, 大豆油は日清オイリオグループ株式会社より購入した。ラットは, 室温23 ± 1 °C, 12時間明暗サイクル (明期: 8:00~20:00, 暗期: 20:00~8:00) の環境下で, 床面と前面がステンレス製メッシュの個別ケージで飼育した。飼料と飲料水 (水道水) は, 毎日新鮮なものに取り換え, 自由に摂取させた。

2.3 試薬および投与液の調製

酢酸 Na, プロピオン酸 Na, *n*-酪酸 Na, クエン酸 Na, α-ケトグルタル酸, コハク酸, リンゴ酸 Na, オキサロ酢酸, ピルビン酸 Na および乳酸は, 和光純薬工業株式会社より購入した。それぞれの有機酸を純水に溶解して1 M 溶液を調製した。メトホルミンは MP Bio Japan 社製を用いた。

2.4 分析

2.4.1 血中ケトン体濃度, 血糖値および血中乳酸濃度の測定

測定には尾静脈血を用いた。血中ケトン体濃度は, ニプロスタッドストリップ XP3 (ノバ・バイオメディカル株式会社) を使用し, 3-ヒドロキシ酪酸を指標として測定した。血糖値は, 自己検査用グルコース測定器グルテストエース R (アークレイ株式会社) を用いて測定した。血中乳酸濃度は, ラクテート・プロ2 (アークレイ株式会社) を用いて測定した。血中ケトン体濃度および血糖値の変化率 (%) は, 投与前の血中ケトン体濃度および血糖値を100 % と

して算出した。

2.4.2 血漿遊離脂肪酸濃度, 血漿グルカゴン濃度および血漿インスリン濃度

血漿遊離脂肪酸濃度 (Non-esterified fatty acid: NEFA) は, NEFA C テストワコー (和光純薬工業株式会社) を用いて測定した。吸光度計には Ultrostec 2100 pro (Amersham Biosciences, USA) を用いた。血漿グルカゴン濃度および血漿インスリン濃度は栄養・病理学研究所 (京都) に分析を依頼した。グルカゴンは, QuantikineR ELISA Glucagon (R&D), インスリンは, レビス R インスリン-ラット T (株式会社 シバヤギ) を用いて, それぞれ ELISA 法により測定した。

2.5 動物実験

2.5.1 SCFAs 溶液の経口投与による血中ケトン体濃度と血糖値の変化

24時間絶食させたラットを4群 (体重 220-240 g, n=6/群) に分けた。投与前に尾静脈から採血し, 血中ケトン体濃度と血糖値を測定した。生理食塩水, 1 M 酢酸溶液, 1 M プロピオン酸溶液あるいは1 M *n*-酪酸溶液2 mL を経口投与し, 90分後に血中ケトン体濃度と血糖値を測定した。経口投与には, 経口ゾンデ (7206K シリーズ フレキシブルタイプ 有限会社フチガミ器械) を取り付けられた5 mL 用のシリンジ (テルモ株式会社) を用いた。

2.5.2 プロピオン酸の経口投与後の血中ケトン体濃度と血糖値の経時的変化

24時間絶食させたラットを2群 (体重 260-300 g, n=6/群) に分けた。対照群には生理食塩水2 mL を投与し, 他の群には1 M プロピオン酸溶液2 mL を投与した。それぞれの群について, 投与前, 投与後30分毎に尾静脈より採血し, 血中ケトン体濃度および血糖値を測定した。両群とも投与120分後まで測定し, さらにプロピオン酸投与群では作用の持続性を確認するために投与300分後まで測定した。

2.5.3 プロピオン酸投与による血漿遊離脂肪酸濃度, 血漿グルカゴン濃度および血漿インスリン濃度への影響

24時間絶食させたラット (体重170-210 g, n=18) を3群 (n=6/群) に分け, 1 M プロピオン酸溶液2 mL を経口投与し, 0, 30および90分後にそれぞれ1群ずつ腹部下大静脈より採血した。血液は10分程度放置してから, 3000 rpm で20分間遠心分離して, 血漿を採取した。

2.5.4 有機酸溶液の経口投与による血中ケトン体濃度と血糖値の変化

24時間絶食させたラット (体重 180-270 g, n=18) を3群 (n=6/群) に分け, 1 M 有機酸溶液を

2 mL ずつ経口投与し、90分後に血中ケトン体濃度および血糖値を測定した。同じラットに別の有機酸溶液を投与する場合は2日間の間隔を空けた。経口投与には、経口ゾンデを取り付けた5 mL用のシリンジを用いた。

2.5.5 メトホルミン投与による糖新生抑制の確認

メトホルミン200mgを純水20 mLに溶解した。メトホルミンの投与量は20 mgに設定した¹⁵⁻¹⁷⁾。メトホルミンの糖新生抑制作用を確認するために、絶食させたラット(体重230-280 g, n=5)に、メトホルミン溶液(10 mg/mL) 2 mLを経口投与し、30、60および120分後に尾静脈より採血し、血中乳酸濃度を測定した。

2.5.6 メトホルミン投与下におけるプロピオン酸投与による血中ケトン体濃度と血糖値の変化

メトホルミン200 mgあるいは400 mgを純水10 mLに溶解した。絶食させたラット(体重190-220 g, n=6)に調製した20 mg/mLメトホルミン溶液あるいは40 mg/mLメトホルミン溶液1 mLを経口投与し、それぞれメトホルミン20 mg投与群とメトホルミン40 mg投与群とした。メトホルミン投与10分後に1 Mプロピオン酸溶液2 mLを経口投与し、投与30分および60分後に血中ケトン体濃度と血糖値を測定した。

2.6 統計処理

結果は平均値±SE(標準誤差)で示した。各データの統計処理は、統計処理ソフトSPSS(Ver.22)を用いた。対応のある実験データの場合は、対応のあるt検定を行い、投与前の値と比較した。対応のない場合は、一元配置分散分析(ANOVA)を行い、有意差がある場合にはTukey-Kramer法を用いて群間で平均値を比較した。いずれの結果も、危険率が5%未満($p<0.05$)を有意とみなした。

3. 結果

3.1 SCFAs溶液の経口投与による血中ケトン体濃度の血糖値の変化

結果を図1に示した。投与前の血中ケトン体濃度あるいは血糖値の差異を除外するため、プロピオン酸投与前の血中ケトン体濃度を100%として投与後の値の変化率で比較した。血中ケトン体濃度の変化率は、酢酸では125%、*n*-酪酸では238%と増加した。一方、プロピオン酸は投与前と比べて74%に低下していた。血糖値の変化率は、酢酸では95%、*n*-酪酸では100%であった。一方、プロピオン酸は投与前と比べて125%に上昇していた。

3.2 プロピオン酸の経口投与後の血中ケトン体濃度と血糖値の経時変化

結果を図2に示した。投与前に比べて、対照群の血中ケトン体濃度は投与90分後でのみ有意に上昇し、血糖値は投与30分後に約20 mg/dL上昇した。プロピオン酸投与群では、投与30分後には血中ケトン体濃度が有意に低下し、60分以後も有意な低下が維持された。血糖値は投与30分後に有意に上昇し、以後120分まで維持していた。投与300分後には血中ケトン体濃度が上昇し、血糖値は投与前の値まで低下していた。

3.3 プロピオン酸投与による血漿 NEFA 濃度、血漿グルカゴン濃度および血漿インスリン濃度への影響

結果を図3に示した。プロピオン酸投与後の血漿NEFA濃度は、有意な変化は見られなかったが、減少傾向にあった。血漿グルカゴン濃度と血漿インスリン濃度には、有意な変化は見られなかった。

3.4 有機酸溶液の経口投与による血中ケトン体濃度と血糖値の変化

結果を図4に示した。TCA回路の中間体のうち、クエン酸投与群および α -ケトグルタル酸投与群においては、血中ケトン体濃度の低下および血糖値の上昇は認められなかった。これに対し、コハク酸投与群、リンゴ酸投与群およびオキサロ酢酸投与群では血中ケトン体濃度は有意に低下したが、血糖値の上昇は認められなかった。ピルビン酸投与群と乳酸投与群は、プロピオン酸と同様に血中ケトン体濃度の低下と血糖値の上昇が認められた。

3.5 メトホルミン投与による糖新生抑制の確認

結果を図5に示した。メトホルミン投与後、血中乳酸濃度は時間経過とともに上昇し、投与30分以後は投与前と比べて、有意に上昇した。

3.6 メトホルミン投与下におけるプロピオン酸投与による血中ケトン体濃度の変化

結果を図6に示した。メトホルミン20 mg投与群において、プロピオン酸投与により血中ケトン体濃度は低下し、血糖値は上昇した。この変化は投与60分後も維持されていた。メトホルミン40 mg投与群では、プロピオン酸投与30分後に血中ケトン体濃度は低下し、血糖値は上昇した。投与60分後には、血中ケトン体濃度の低下と血糖値の上昇が小さくなった。

4. 考察

絶食により血中ケトン体濃度が上昇したラットにプロピオン酸を経口投与すると、血中ケトン体(3-ヒドロキシ酪酸)濃度が低下し、同時に血糖値が上

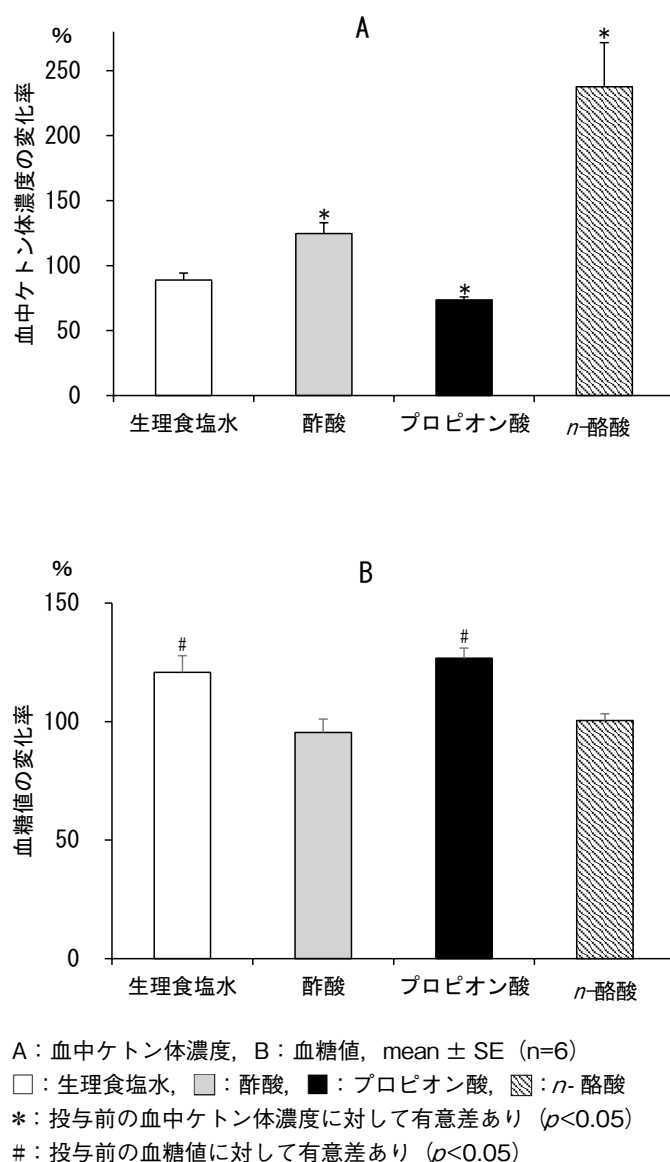
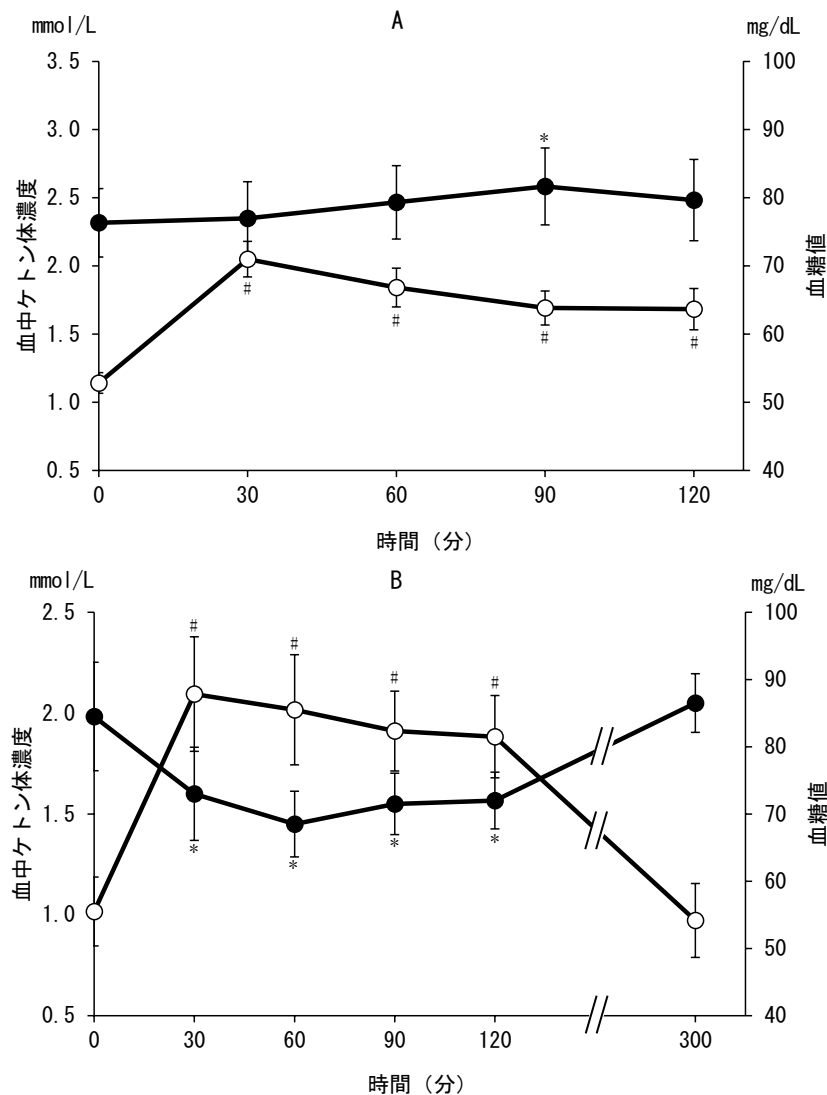


図1 SCFAsの経口投与による血中ケトン体濃度の変化率

昇することを見出した(図1)。ケトン体は、肝臓ミトコンドリアで、アセチルCoAの一部から β -ヒドロキシ- β メチルグルタリルCoA合成酵素(HMG-CoA synthetase)により合成される。酢酸投与群および酪酸投与群における血中ケトン体濃度の上昇は、投与した酢酸および酪酸より生成されたアセチルCoAの一部がケトン体に合成されたためと考えられる。また、血中ケトン体濃度の上昇率における酢酸投与群(125%)と酪酸投与群(238%)の比は、酢酸(炭素数2)とn-酪酸(炭素数4)の炭素数の比とおおよそ一致している。酢酸とn-酪酸の経口投与において、血糖値の有意な変化は認めら

れなかった。酢酸や酪酸は糖新生の基質とはならないため、血糖値に影響しなかったと考えられる¹⁸⁾。

一方、プロピオン酸の経口投与においては血中ケトン体濃度が低下した。肝臓では、プロピオン酸がスクシニルCoAに変換されることによりTCA回路の中間体が供給されるので、結果としてアセチルCoAの代謝が促進し、ケトン体合成量が低下したと考えられる。プロピオン酸による肝臓でのケトン体合成抑制が、血中ケトン体濃度低下に影響した可能性がある。また、プロピオン酸の経口投与により血糖値は上昇していたことから、血糖供給に伴い末梢でのケトン体利用が促進して血中ケトン体濃度

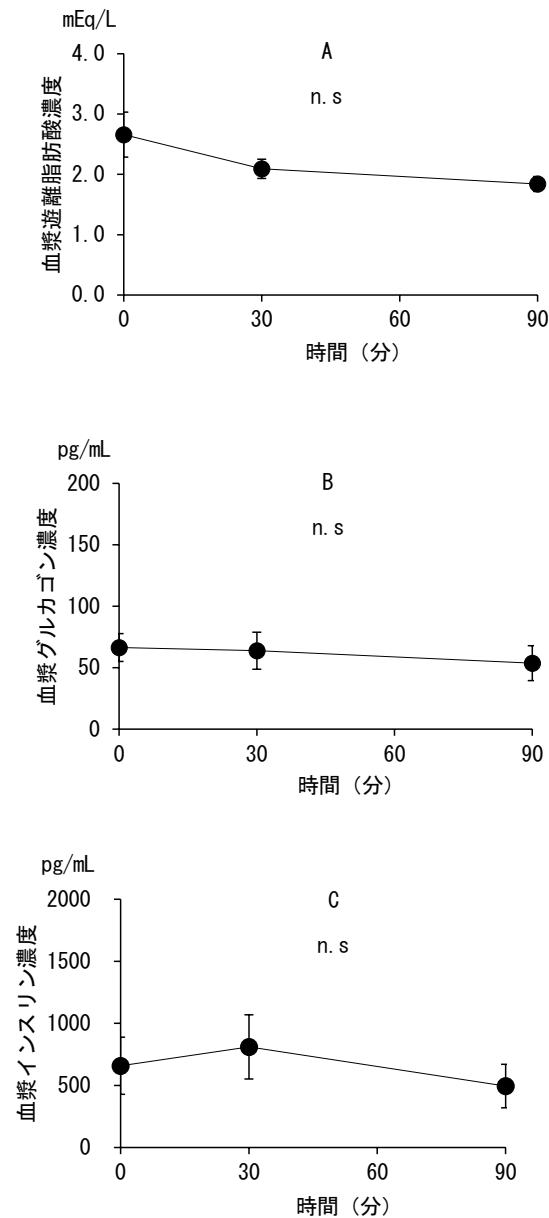


A：生理食塩水投与群，B：プロピオン酸投与群
 ○：血中ケトン体濃度，●：血糖値，mean ± SE (n=6)
 *：投与前の血中ケトン体濃度に対して有意差あり (p<0.05)
 #：投与前の血糖値に対して有意差あり (p<0.05)

図2 プロピオン酸の経口投与による血中ケトン体濃度と血糖値の経時変化

を低下させたとも考えられる。一方、肝外組織でのケトン体代謝では、アセト酢酸がアセトアセチルCoAに変化する反応にCoA供給体としてスクシニルCoAが必要である¹⁹⁾。しかし、消化管から吸収されたプロピオン酸は門脈から肝臓に入ってからほとんどが代謝されるため、末梢血液のプロピオン酸濃度は非常に低い^{20,21)}。それゆえ、プロピオン酸による血中ケトン体濃度低下作用は、肝臓でのケトン体合成の抑制と糖新生による末梢への血糖供給の結果であると考えられる。

プロピオン酸の経口投与による血中ケトン体濃度低下作用と血糖値上昇作用の経時的な変化について検討した。生理食塩水投与群での血中ケトン体濃度上昇と血糖値上昇は、投与する際にラットが興奮したことによる一過性的な変化であると考えられる。これらに対して、プロピオン酸による血糖上昇作用は生理食塩水より大きく、興奮以外の要因が関与していると考えられる。プロピオン酸投与後には血中ケトン体濃度の低下と血糖の上昇が同時に観察されたことから、プロピオン酸の血中ケトン体濃度低下作



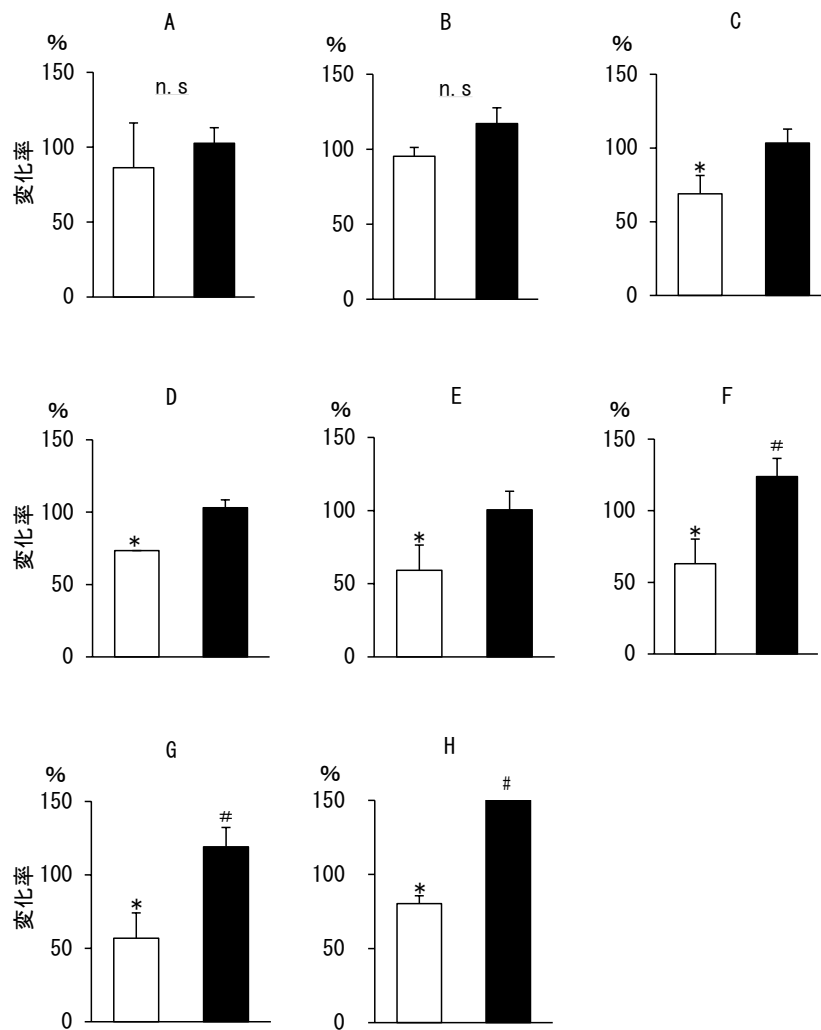
A: 血漿脂肪酸濃度, B: 血漿グルカゴン濃度,
C: 血漿インスリン濃度
mean ± SE (n=6), n.s.: 有意差なし ($p < 0.05$)

図3 プロピオン酸の経口投与による血漿遊離脂肪酸濃度,
血漿グルカゴン濃度, 血漿インスリン濃度の変化

用には糖新生が関与していることが示唆された。

プロピオン酸の作用は、投与30分後には発現したことからグルカゴンやインスリンの関与が考えられた(図2)。しかし、血漿グルカゴン濃度には変化が見られず、プロピオン酸投与による血糖値上昇作用は、肝臓グリコーゲンの分解による血糖供給よりも、プロピオン酸からの糖新生を介した血糖供給によ

ることを示唆している。プロピオン酸により GPCR が刺激され GLP-1 や PYY の分泌が亢進することが報告^{13,14)} されているが、血漿インスリン濃度においては、変化は見られなかった。一方、ラットの脂肪細胞を用いた研究では、脂肪分解を抑制することが報告されている²²⁾。血漿 NEFA 濃度は、プロピオン酸投与後に低下傾向にあった。この結果は、プロ



A: クエン酸, B: α-ケトグルタル酸, C: コハク酸, D: リンゴ酸,
 E: オキサロ酢酸, F: ピルビン酸, G: 乳酸, H: プロピオン酸
 □: 血中ケトン体濃度, ■: 血糖値, mean ± SE (n=6)
 n.s.: 血中ケトン体濃度と血糖値ともに有意差なし
 *: 投与前の血中ケトン体濃度に対して有意差あり (p<0.05)
 #: 投与前の血糖値に対して有意差あり (p<0.05)

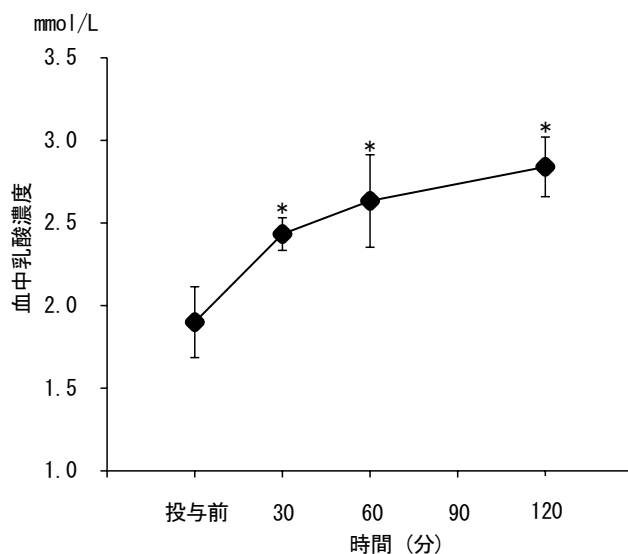
図4 有機酸投与後の血中ケトン体濃度と血糖値の変化率

ピオン酸投与後に脂肪組織の脂肪分解が低下することを示唆しており、血中ケトン体濃度が低下したと関係している可能性が示唆された。

プロピオン酸の作用は、TCA回路の中間体が供給され、結果としてケトン体合成が抑制されたと考えられた。しかしながら、糖新生に利用されて血糖を供給する乳酸とピルビン酸のみがプロピオン酸と同様に血中ケトン体濃度の低下と血糖値の上昇が認められたことは、プロピオン酸の血中ケトン体低下

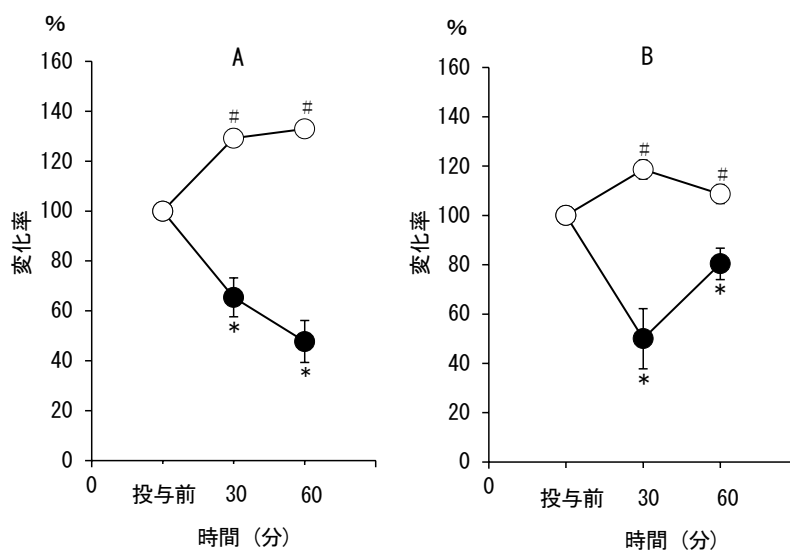
作用には糖新生が関与している可能性を示している。

また、プロピオン酸はGPR41を介して交感神経を亢進する¹¹⁾。GPR41は短鎖脂肪酸をリガンドするGタンパク質共役型受容体の1つであり、交感神経節、腸分泌細胞および脂肪細胞等に多く発現している。交感神経を介した血糖上昇作用、例えば、アドレナリン分泌等による血糖上昇も考えられる。さらに、プロピオン酸は腸管上皮細胞で糖新生に利用されることが報告されている²³⁾。プロピオン酸による



mean ± SE (n=6) *: 投与前の血中乳酸濃度に対して有意差あり ($p < 0.05$)

図5 メトホルミン投与後の血中乳酸濃度の変化



A: メトホルミン20 mM 投与群, B: メトホルミン40 mM 投与群

○: 血中ケトン体濃度, ●: 血糖値, mean ± SE (n=6)

*: 投与前の血中ケトン体濃度に対して有意差あり ($p < 0.05$)

#: 投与前の血糖値に対して有意差あり ($p < 0.05$)

図6 メトホルミン投与下におけるプロピオン酸投与による血中ケトン体濃度と血糖値の変化

血糖の上昇は、腸管上皮細胞での糖新生が一部寄与していることも考えられる。プロピオン酸による、血糖値の上昇に関しては、肝臓での糖新生以外の要因が影響していることも考えられる。

プロピオン酸の作用と糖新生との関与を検討するために、糖新生抑制剤であるメトホルミン投与下におけるプロピオン酸の作用について検討した。メトホルミンは糖新生抑制剤であり、乳酸からの糖新生

の抑制や細胞での GLUT4 を介したグルコースの取り込みを促進する¹⁵⁾。メトホルミンにより肝臓での乳酸からの糖新生が抑制されると、血中乳酸濃度が増加する。メトホルミン投与により血中乳酸濃度は時間経過と共に上昇した。予備実験において、24時間絶食させたラットにメトホルミン (40 mg) を投与すると、経時的な血糖値低下が観察され、糖新生抑制作用を確認している(データは示していない)。

メトホルミン40 mg 群では、血中ケトン体濃度の低下と血糖値の上昇が小さくなった。この結果は、糖新生が抑制されるとプロピオン酸の作用が小さくなることを示している。プロピオン酸からの糖新生が抑制されて血糖の供給が減少したことにより、ケトン体合成に対する抑制が弱まったため血中ケトン体濃度低下作用が小さくなったと考えられる。

本研究において、プロピオン酸だけでなく糖新生の基質となる乳酸やピルビン酸も血糖上昇作用と血中ケトン体濃度低下作用が発現したこと、糖新生抑制下においてプロピオン酸による血中ケトン体濃度

低下作用が抑制されたことから、プロピオン酸の作用には糖新生の関与が示唆された。マウスにプロピオン酸を直腸投与すると持久力が向上することが報告されている²⁴⁾。プロピオン酸の持久力向上作用には、プロピオン酸による血中ケトン体濃度低下作用と血糖値上昇作用が関与しているかもしれない。

最近、GC-MS を用いた微量 SCFA 濃度分析法によって、ごく微量のプロピオン酸が末梢血中に検出されている²⁰⁾。プロピオン酸投与後の末梢血中の微量のプロピオン酸が、肝外細胞でのケトン体の取り込みに働く MCT (モノカルボン酸トランスポーター) 等の輸送体^{25,26)} やケトン体の合成に影響を及ぼす可能性がある。また、プロピオン酸がエピゲノム的に遺伝子制御をすることが報告されている^{27,28)}。プロピオン酸の血中ケトン体濃度低下作用ならびに血糖上昇作用に、遺伝子レベルでの作用が関与している可能性も考えられる。今後、これらの点を検討することで、より詳細な作用機序が解明されることが期待される。

文 献

- 1) 山下亀次郎：食物繊維研究の歴史と流れ。日本食物繊維学会編集委員会編，食物繊維—基礎と応用—，第三版，第一出版，東京，122-136，2008。
- 2) Sakata T：Effects of indigestible dietary bulk and short chain fatty acids on the tissue weight and epithelial cell proliferation rate of the digestive tract in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, **32**(4), 355-362, 1986.
- 3) Perry RJ, Borders CB, Cline GW, Zhang XM, Alves TC, Petersen KF, Rothman DL, Kibbey RG and Shulman GI：Propionate increases hepatic pyruvate cycling and anaplerosis and alters mitochondrial metabolism. *Journal of Biological Chemistry*, **291**(23), 12161-12170, 2016.
- 4) Fukushima M：Chemistry of short-chain fatty acids. In Cummings JH, Rombeau JL, Sakata T eds, *Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids*, Cambridge University Press, New York, 149-170, 1995.
- 5) Manninen AH：Metabolic effects of the very-low-carbohydrate diets: Misunderstood “villains” of human metabolism. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, **1**(2), 7-11, 2004.
- 6) Alberti KG, Zimmet P, Shaw J；IDF Epidemiology Task Force Consensus Group：The metabolic syndrome: A new worldwide definition. *Lancet*, **366**(9501), 1059-1062, 2005.
- 7) American Diabetes Association, Wisdom K and Adams C：Nutrition recommendations and interventions for diabetes: A position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, **30**(suppl 1), S48-S65, 2007.
- 8) Murray AJ, Knight NS, Cole MA, Cochlin LE, Carter E, Tchabanenko K, Pichulik T, Gulston MK, Atherton HJ, Schroeder MA, J Deacon RM, Kashiwaya Y, King MT, Pawlosky R, Rawlins JN, Tyler DJ, Griffin JL, Robertson J, Veech RL and Clarke K：Novel ketone diet enhances physical and cognitive performance. *Federation of American Societies for Experimental Biology*, **30**(12), 4021-4032, 2016.
- 9) Demigne C, Morand C, Lévrat MA, Besson C, Moundras C and Remesy C：Effect of propionate on fatty acid and cholesterol synthesis and on acetate metabolism in isolated rat hepatocytes. *British Journal of Nutrition*, **74**(2), 209-219, 1995.
- 10) Berggren AM, Nyman EM, Lundquist I and Bjorck IM：Influence of orally and rectally administered propionate on cholesterol and glucose metabolism in obese rats. *British Journal of Nutrition*, **76**(2), 287-294, 1996.
- 11) Kimura I, Inoue D, Maeda T, Hara T, Ichimura A, Miyauchi S, Kobayashi M, Hirasawa A and Tsujimoto G：Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor

- 41 (GPR41). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108**(19), 8030-8035, 2011.
- 12) Kimura I, Ozawa K, Inoue D, Imamura T, Kimura K, Maeda T, Terasawa K, Kashiwara D, Hirano K, Tani T, Takahashi T, Miyauchi S, Shioi G, Inoue H and Tsujimoto G : The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nature Communications*, **4**, 1829, 2013.
- 13) Lin H, Frassetto A, Kowalik Jr E, Nawarocki A, Lu M, Kosinski J, Hubert J, Szeto D, Yao X, Forrest G and Marsh D : Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. *Plos One*, **7**(4), e35240, 2012.
- 14) Tolhurst G, Heffron H, Lam YS, Parker HE, Habib AM, Diakogiannaki E, Cameron J, Grosse J, Reimann F and Gribble FM : Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes*, **61**(2), 364-371, 2012.
- 15) 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 : 医薬品に関する情報。
<https://www.pmda.go.jp/safety/info-services/drugs/0001.html>, 2019. (2020.5.28確認)
- 16) 橋本ゆかり, 中村衣里, 松浦寿喜: ラット門脈カテーテル留置法によるキサントンガムと医薬品の相互作用の検討. 日本食品化学学会誌, **23**(3), 126-132, 2016.
- 17) 十亀祥久: ビグアナイド系糖尿病治療薬の薬効・毒性支配要因としてのトランスポーター介在性輸送の解析. 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 薬学専攻 博士論文, 2011.
- 18) Livesey G and Elia M : Chemistry of short-chain fatty acids. In Cummings H, Rombeau L, Sakata T eds, *Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids*, Cambridge University Press, New York, 427-481, 1995.
- 19) Fukao T, Song XQ, Mitchell GA, Yamaguchi S, Sukegawa K, Tadao Or II and Kondo N : Enzymes of ketone body utilization in human tissues : Protein and messenger RNA levels of succinyl-Coenzyme A (CoA): 3-Ketoacid CoA transferase and mitochondrial and cytosolic acetoacetyl-CoA thiolases. *Pediatric Research*, **42**(4), 498-502, 1997.
- 20) 塚原隆充 : 盲腸静脈血, 門脈血, 末梢血中濃度から予測する大腸内短鎖脂肪酸生成量. 日本栄養・食糧学会監修, 森田達也, 園山慶, 辻英明編, 腸内細菌—宿主のクロストークと食事要因, 建帛社, 東京, 97-115, 2019.
- 21) Saad HA, Peppelenbosch MP, Roelofsen H, Vonk RJ and Venema K : Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1801**(11), 1175-1183, 2010.
- 22) Heimann E, Nyman M and Degerman E : Propionic acid and butyric acid inhibit lipolysis and de novo lipogenesis and increase insulin-stimulated glucose uptake in primary rat adipocytes. *Adipocyte*, **4**(2), 81-88, 2015.
- 23) De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, Vinera J, Zitoin C, Duchamp A, Bäckhed F and Mithieux G : Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell*, **156**, 84-96, 2014.
- 24) Scheiman J, Lubner JM, Chavkin TA, MacDonald T, Tung A, Pham L, Wibowo MC, Wurth RC, Punthambaker S, Tierney BT, Yang Z, Hattab MW, Avila-Pacheco J, Clish CB, Lessard S, Church GM and Kostic AD : Metabolomics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism. *Nature Medicine*, **25**, 1104-1109, 2019.
- 25) Juel C and Halestrap AP : Lactate transport in skeletal muscle—role and regulation of the monocarboxylate transporter. *The Journal of Physiology*, **517**(3), 633-642, 1999.
- 26) Van Hasselt PM, Ferdinandusse S, Monroe GR, Ruiter JP, Turkenburg M, Geerlings MJ, Duran K, Harakalova M, Van der Zwaag B, Monavari AA, Okur I, Sharrard MJ, Cleary M, O Connell N, Walker V, Rubio-Gozalbo ME, de Vries MC, Visser G, Houwen RH, van der Smagt JJ, Verhoeven-Duif NM, Wanders RJ and van Haaften G : Monocarboxylate transporter 1 deficiency and ketone utilization. *The New Journal of Medicine*, **371**(20), 1900-1907, 2014.
- 27) Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo T, Nakato G, Takahashi D, Nakanishi Y, Uetake C, Kato K, Kato T, Takahashi M, Fukuda N, Murakami S, Miyauchi E, Hino S, Atarashi K, Onawa S, Fujimura Y, Lockett T, Clarke J, Topping D, Tomita M, Hori S, Ohara O, Morita T, Koseki H, Kikuchi J, Honda K, Hase K and Ohno H : Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*, **504**(7480), 446-50, 2013.

- 28) Luu M, Pautz S, Kohl V, Singh R, Romero R, Lucas S, Hofmann J, Raifer H, Vachharajani N, Carrascosa L, Lamp B, Nist A, Stiewe T, Shaul Y, Adhikary T, Zaiss M, Lauth M, Steinhoff U and Visekruna A : The short-chain fatty acid pentanoate suppresses autoimmunity by modulating the metabolic-epigenetic crosstalk in lymphocytes. *Nature Communication*, **10**(1), 760, 2019.

(令和2年7月17日受理)

The Lowering Effect of Oral Propionate on Blood Ketone Body Concentration in Fasted Rats.

Hiroki YAMAGUCHI, Kiyoshi MIURA and Tomihiro MIYADA

(Accepted Jul. 17, 2020)

Key words : propionate, ketone body, gluconeogenesis, metformin

Abstract

In this study, we examined the lowering effect of propionate on a blood ketone body concentration in fasted rats. Rats were orally administered 1 M short chain fatty acid solution after fasting for 24 h. Acetate and *n*-butyrate increased the blood ketone body concentration. On the other hand, propionate quickly reduced the blood ketone body concentration and the blood glucose concentration increased in the fasted rats. The fasted rats were orally administered 1 M propionate solution or 1 M organic acid solutions, such as citrate, α -ketoglutarate, succinate, malate, oxaloacetate, pyruvate and lactate. Pyruvate and lactate, which are substrates for gluconeogenesis, reduced the blood ketone body concentration and increased the blood glucose concentration, as did propionate. In addition, metformin (gluconeogenesis inhibitor) suppressed the decrease in the blood ketone body concentration and the increase in the blood glucose concentration at 60 min after administration of propionate. These results suggest that the gluconeogenesis from propionate contributed to the lowering effect of it on the blood ketone body concentration.

Correspondence to : Hiroki YAMAGUCHI

Doctoral Program in Health Science

Graduate School of Health Science and Technology

Kawasaki University of Medical Welfare

Kurashiki, 701-0193, Japan

E-mail : gutihiro77@yahoo.co.jp

(Kawasaki Medical Welfare Journal Vol.30, No.1, 2020 189 – 199)