

論文タイトル

PQQ の体脂肪減少機能

肥満マウス、ミジンコ及び脂肪細胞からのエビデンス

著者

辻 シャフィカ¹, 池本 一人^{*1}, 赤川 貢²

1 三菱ガス化学株式会社新潟研究所：950-3112 新潟県新潟市北区太夫浜 182

2 徳島大学大学院医歯薬学研究部：770-8503 徳島市蔵本町 3 丁目 18-15

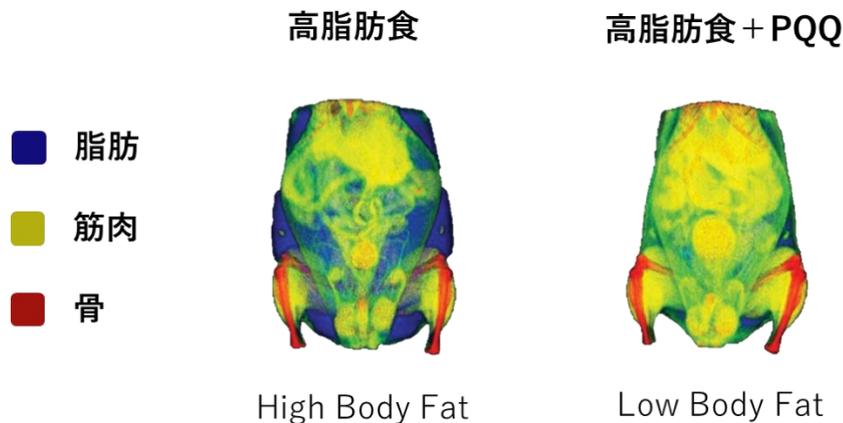
* E-mail : kazuto-ikemoto@mgc.co.jp

Abstract

肥満は体脂肪の蓄積によっておこる大きな健康リスクであり、その対策が求められている。我々は脳機能改善の機能性表示食品であるピロロキノリンキノン二ナトリウム塩（PQQ）が、体脂肪蓄積を減少させる機能を持つことを新たに見出した。高脂肪食または PQQ を添加した高脂肪食を摂取させたマウスでは、後者で有意な体脂肪蓄積の減少が認められ、特に内臓脂肪量が減少していた。さらに PQQ の摂取は肥満による筋肉の減少も防止した。オオミジンコでは餌と脂肪量の関係から、PQQ 摂取は 30% カロリー制限と等しい効果を発揮することを確認した。培養脂肪細胞では細胞内の中性脂肪が減少し、ミトコンドリア量の増加が観察された。分子メカニズムを解析したところ、PQQ による体脂肪蓄積減少は脂肪酸の生合成の抑制とミトコンドリア活性化によるものであることが明らかになった。今後、ダイエット用サプリメントやギルトフリー食品として人々の健康への貢献が期待される。

キーワード：肥満；体脂肪；PQQ；ミトコンドリア；脂肪減少；ダイエット；BioPQQ

Graphic Abstract



解説

PQQ の体脂肪減少機能 肥満マウス、ミジンコ及び脂肪細胞からのエビデンス

辻 シャフィカ¹, 池本 一人^{*1}, 赤川 貢²

1 三菱ガス化学株式会社新潟研究所：950-3112 新潟県新潟市北区太夫浜 182

*E-mail : kazuto-ikemoto@mgc.co.jp

2 徳島大学大学院医歯薬学研究部：770-8503 徳島市蔵本町 3 丁目 18-15

肥満は体脂肪の蓄積によっておこる大きな健康リスクであり、その対策が求められている。我々は脳機能改善の機能性表示食品であるピロロキノリンキノン二ナトリウム塩 (PQQ) が、体脂肪蓄積を減少させる機能を持つことを新たに見出した。高脂肪食または PQQ を添加した高脂肪食を摂取させたマウスでは、後者で有意な体脂肪蓄積の減少が認められ、特に内臓脂肪量が減少していた。さらに PQQ の摂取は肥満による筋肉の減少も防止した。オオミジンコでは餌と脂肪量の関係から、PQQ 摂取は 30% カロリー制限と等しい効果を発揮することを確認した。培養脂肪細胞では細胞内の中性脂肪が減少し、ミトコンドリア量の増加が観察された。分子メカニズムを解析したところ、PQQ による体脂肪蓄積減少は脂肪酸の生合成の抑制とミトコンドリア活性化によるものであることが明らかになった。今後、ダイエット用サプリメントやギルトフリー食品として人々の健康への貢献が期待される。

キーワード：肥満；体脂肪；PQQ；ミトコンドリア；脂肪減少；ダイエット；BioPQQ

1 はじめに

ピロロキノリンキノン二ナトリウム塩 (PQQ) は機能性食品成分として多くの注目を集めている。PQQ (製品名 BioPQQ®) は水溶性の赤色結晶である (Fig. 1)。自然界では、パセリやピーマンなどの緑色野菜、発酵食品である納豆に比較的多く含まれ、幅広い食品に微量であるが含有される¹⁾。PQQ は、メタノール資化性細菌のアルコール脱水素酵素の酸化還元補酵素であり、NAD (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド)、FAD (フラビンアデニンジヌクレオチド) に次ぐ第三の補酵素として発見されたキノン化合物である²⁾³⁾。

微生物発酵と高純度精製により作られる BioPQQ® は三菱ガス化学 (株) の食品向け PQQ 二ナトリウム塩の登録商標であり、GMP 認定工場で製造されている。健康食品素材として BioPQQ は日本での食薬区分における食品、米国の NDI (新規食品素材)、欧州の Novel Food として承認されており、国際的にサプリメント原料として広く認知され



Fig. 1 PQQ 製品 (BioPQQ)

ている。PQQ の日常的な摂取によって脳の認知機能⁴⁾、抗酸化機能、免疫系およびミトコンドリア関連機能⁵⁾が改善することが報告されている。本解説では、新たに見出した PQQ の体脂肪蓄積の抑制機能の研究⁶⁾を紹介する。近年、ダイエットをサポートするサプリメントが注目されており、PQQ はその需要を満たす機能性食品として期待される。

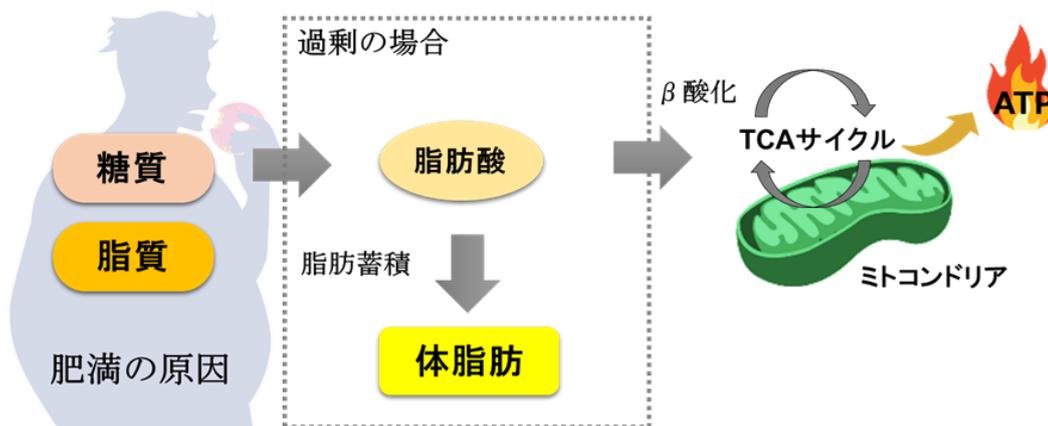


Fig. 2 脂肪蓄積の仕組みと脂肪代謝の基礎

2 脂肪蓄積の仕組みと防止

肥満は過剰な脂質や糖が脂肪酸を増やし、過剰に体脂肪を蓄積している状態を示す。我々は食事をする事で栄養素を体内に取り込んでエネルギーを産生する。その際、使い切れずに余ったエネルギーは体脂肪として蓄積される。肥満はメタボリックシンドロームと呼ばれる疾病のリスクを高める。この脂肪の蓄積を抑制するには2つの方法が考えられる。一つ目は脂肪酸の生成を阻害する方法である。二つ目は代謝を活性化してカロリー消費によって体脂肪を減少させる方法である (Fig. 2)。特に運動はミトコンドリアの増加や活性化を促すことが知られている。ミトコンドリアは細胞内のエネルギー工場といわれるように、 β 酸化によって脂肪を燃焼してATPを産生している (Fig. 2)。我々はPQQが有するミトコンドリア数や機能を改善する機能に注目した。この機能によって脂肪代謝が増加し、体脂肪を減少すると考え、この研究に着手した。

3 PQQは脂肪蓄積を抑制する

我々の研究⁶⁾ではマウスとオオミジンコを用いた肥満モデル試験において、PQQが脂肪の蓄積を抑制することを明らかにした。また、肥満モデル実験に汎用される標準的な培養脂肪様細胞であるマウス由来3T3-L1細胞を用いた実験により、PQQは脂肪酸の合成を抑制し、かつミトコンドリアで行われる脂肪代謝を活性化する働きによって体脂肪の蓄積を抑制していることが判明した。これらを詳しく紹介する。

3.1 高脂肪食負荷に対する体脂肪蓄積抑制効果

PQQによる脂肪代謝への影響を調べるためにカロリーベースで60%脂肪の高脂肪食を餌としてマウスを用いた動

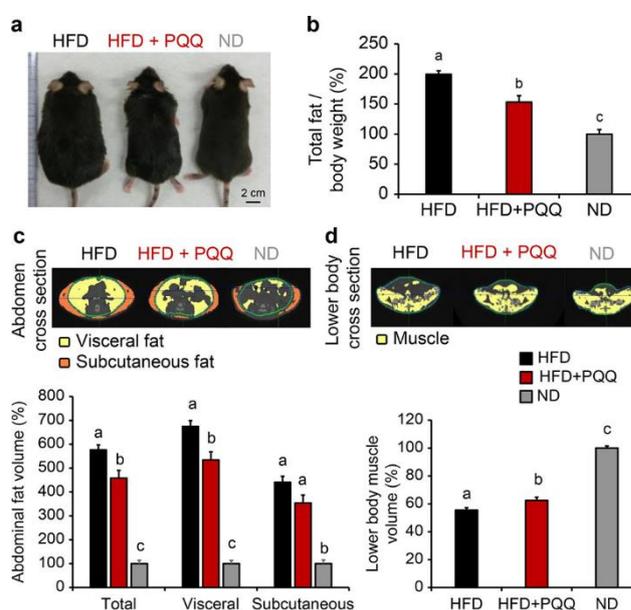


Fig. 3 高脂肪食負荷肥満モデルマウス実験におけるPQQの影響。この図はMohamad Ishak et al., ACS Food Sci. Technol. 2021, 1, 10, 1979–1989, Figure 1を転載。

©2021 The Authors. Licensed under CC BY-NC-ND 4.0

物実験を実施した。15週齢雄性C57BL/6J雄マウスを通常食摂取群、高脂肪食摂取群（高脂肪食群）、及び0.02% PQQ含有高脂肪食摂取群（高脂肪食+PQQ群）の3群に分配した。通常食を摂食したマウスと比較し、高脂肪食を摂食したマウスは明らかに肥満を呈していた。一方でPQQ含有高脂肪食摂取マウスはやや胴回りが細く見えた (Fig. 3a)。有意差は認められなかったがPQQ含有高脂肪食摂取群は体重が減る傾向が観察された。体脂肪率を体組成計（インピーダンス法）で測定した結果、高脂肪食負荷により体脂肪率が50%程度まで増加したが、PQQ含有高脂肪食摂取群は高脂肪食摂取群より体脂肪率は約

11%低減することが判明した (Fig. 3b). さらに, CT スキャンで腹部を解析したところ, 明らかに高脂肪食摂取群と比較して PQQ 含有高脂肪食摂取群で腹部脂肪全体の量が減少し, 特に内臓脂肪で顕著な減少効果が観察された (Fig. 3c). CT スキャンのデータを解析した結果, 高脂肪食摂取群に対し PQQ 含有高脂肪食摂取群において体脂肪が約 8%減少し, そのうち内臓脂肪が約 6%減少することが明らかとなり (Fig. 3c), PQQ による抗肥満作用が示された. より明確なデータとして CT スキャンによる脂肪分布の 3D データを Supplemental data 1 に示した.

肥満は筋肉量の減少を伴うことがある. この様な状態はサルコペニア肥満と呼ばれ, 通常の肥満よりも生活習慣病などにかかりやすく, 運動能力, 特に歩行能力を低下させるため大きな健康問題となっている. 実際, 本研究において高脂肪食を負荷した肥満マウスでは筋肉量が減少したが, 非常に興味深いことに高脂肪食への PQQ の添加が筋肉肉積の減少を約 4%抑えることを見出した (Fig. 3d). また, PQQ の添加は, 高脂肪摂取に起因する AST と ALT 値で示す肝機能障害を減弱させることが分かった. PQQ 摂取は血液中のコレステロールを低下する傾向があった. このように PQQ の摂取は脂肪の蓄積を抑制し, メタボリックシンドロームのバイオマーカーに対しても有効性が認められた.

3.2 PQQ のカロリー制限効果

オオミジンコを用いた脂肪蓄積抑制の機能性評価を行った. 15 mg/L PQQ を添加した飼育水中で通常の食餌を与えながら 4 日間オオミジンコを飼育した. その後, ミジンコの体脂肪を脂肪染色により定量化した. PQQ 添加によって, 餌の摂取による体脂肪量が 14-20%程度減少し, ミジンコの成長に影響せずに体脂肪の増加を抑制する効果が認められた. 餌の量と体脂肪の関係を求め, その関係式から評価した結果, 体脂肪減少は約 30%カロリー制限と等しい効果を示すことが明らかとなった (Fig. 4).

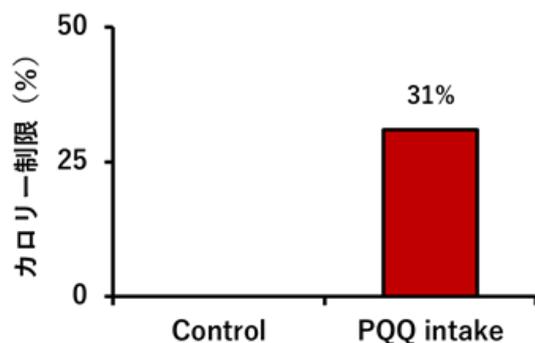


Fig. 4 PQQ のミジンコにおけるカロリー制限相当効果

3.3 PQQ による脂肪蓄積抑制作用の分子機構の検証

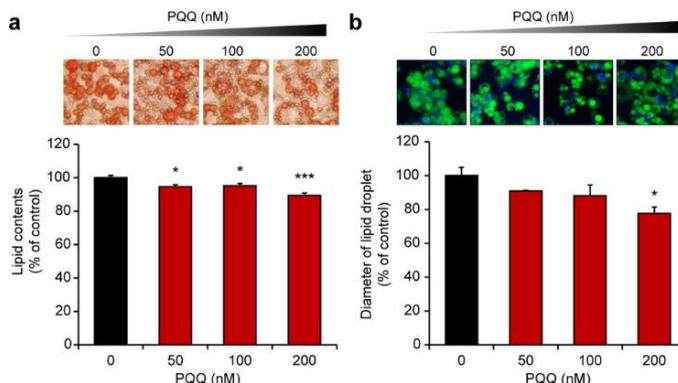


Fig. 5 脂肪細胞における PQQ の影響. Mohamad Ishak et al., ACS Food Sci. Technol. 2021, 1, 10, 1979–1989, Figure 3 を転載. ©2021 The Authors. Licensed under CC BY-NC-ND 4.0

マウス由来脂肪様細胞 3T3-L1 を PQQ 添加培地で生育させ, 細胞内の中性脂肪を染色してその含有量を調べた. その結果, PQQ は処理濃度依存的に中性脂肪含有量を減少させ (Fig. 5a), 脂肪滴を可溶化し定量したところ, PQQ による細胞内脂肪量の有意な減少が認められた (Fig. 5b). 次にミトコンドリアを染色して細胞内ミトコンドリア量を定量した結果, PQQ が濃度依存的にミトコンドリア量を増加させることが判明した. PQQ の脂肪蓄積抑制作用とミトコンドリア新生促進作用の分子機構を解析した結果を Supplemental data 2 に示した.

In vitro 試験でも PQQ の脂肪蓄積抑制効果が見られたため, 詳細な分子機構を検証した. 初めに脂肪合成に関与するシグナル因子への影響を調べた. Liver kinase B1 (LKB1) 及び AMP-activated protein kinase (AMPK) 因子は脂肪細胞における脂質代謝の制御に不可欠な役割を果たすことが知られている. 脂肪様細胞に分化させたマウス由来 3T3-L1 細胞の PQQ 処理は LKB1 と AMPK のリン酸化レベルを上昇させた. AMPK は脂質合成の律速酵素である Acetyl-CoA carboxylase 1 (ACC1) をリン酸化し, 不活性化する. また, Sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c) は, 脂質生成に重要な脂肪酸合成酵素である Fatty acid synthase (FAS) 遺伝子の発現を制御する⁷⁾. PQQ 処理は LKB1/AMPK シグナルを活性化させることで, ACC1 を不活性し, SREBP-1c を阻害した. さらに, FAS の発現を有意に抑制した.

次にミトコンドリア関連遺伝子⁸⁾への PQQ の影響を調べた. その結果, PQQ はミトコンドリア新生を促進する転写共役因子 Peroxisome proliferative activated receptor gamma co-activator 1 alpha (PGC1) α を活性化し, ミトコンドリア新生関連遺伝子 Nuclear respiratory factor 1 (Nrf1) と

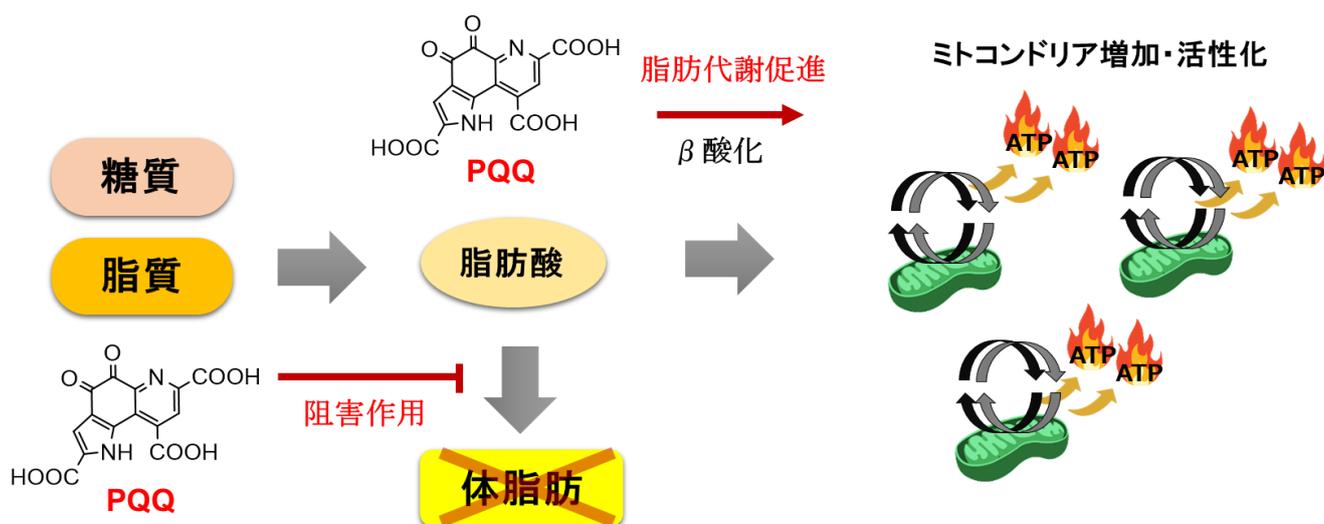


Fig. 6 PQQによる脂肪減少のメカニズム

- 1) 脂質酸の合成を抑制し、体脂肪の蓄積を抑える。2) ミトコンドリア新生と活性化による脂肪代謝を促進。

Transcription factor A mitochondria (Tfam) の発現を促進することが判明した。PQQはミトコンドリア新生を促進してミトコンドリアの脂肪代謝即ちβ酸化を亢進して体脂肪を減少させると考えられた。

4 体脂肪減少へのPQQ作用

PQQは「脂肪酸の合成を阻害」「脂肪の燃焼を促進」の二つのメカニズムによって体脂肪を減少させる効果を発揮することが示唆された (Fig. 6)。人は食べ物から摂取した糖質や脂質などをエネルギー源として毎日の生活で消費する。エネルギー摂取量がエネルギー消費量より多い場合は脂肪酸を合成し、体脂肪として脂肪を蓄積する。体脂肪を過剰にため込んだ時に肥満となる。PQQは脂肪酸の合成を阻害するため、蓄積しにくくなると考えられる。また、PQQがミトコンドリア新生によって脂肪の燃焼を促進するため、エネルギーとして脂肪が消費されやすくなり、体脂肪を減少すると推定された。

5 おわりに

PQQはサプリメントとしてすでに市販されており、BioPQQは1日当たり20mgの摂取で脳機能改善作用を示す機能性表示食品として使用されている。水溶性物質で迅速に吸収されることがPQQのサプリメントとしてのメリットである。PQQの三つの大きな働きは1) 脳や神経の働きを活性化、2) ミトコンドリアの新生促進、及び3) 強力な抗酸化作用である。今回は、新たな機能として高カロリー摂取時の体脂肪減少効果を紹介した。今後、PQQのダイ

エット用サプリメントやギルトフリー食品への期待される。

6 利益相反

本研究は、「三菱ガス化学株式会社」の研究費で実施された。

7 著者貢献

すべての著者が研究の発案し、担当の実験と解釈した。N.S.M. Ishak, K. Ikemotoがマウス、ミジンコを担当した。M. Akagawaが細胞実験を担当した。すべての著者が執筆、改定に加わり、最終原稿の投稿を承認した。

8 備考

本論文は我々の研究成果 *ACS Food Sci. Technol.* 2021, 1, 10, 1979–1989 に掲載された内容を再編集した。

9 謝辞

本研究を進めるにあたり、三菱ガス化学株式会社新潟研究所の菊池緑様には、動物実験に参加頂いて、感謝いたします。さらに、大阪府立大学大学院生命環境科学研究科の小川満利子様及び芥川風乃様には多くのデータを提供頂きました。厚く御礼申し上げます。

10 参考文献

- 1) T. Kumazawa, K. Sato, H. Seno, A. Ishii, O. Suzuki. *Biochem. J.* 307, 331–333 (1995).
- 2) C. Anthony. *Antioxid. Redox Signal.* 3, 757–774 (2001).
- 3) P. Goodwin, C. Anthony. *Adv. Microb. Physiol.* 40, 1–80 (1998).
- 4) I. Yuji, et al. *Oxygen Transport to Tissue XXXVII* (eds. Elwell, C. E., Leung, T. S. & Harrison, D. K.) 319–325 (Springer, 2016).
- 5) C.B. Harris, et al. *J. Nutr. Biochem.* 24, 2076–2084 (2013).
- 6) N.S. Mohamad Ishak, et al. *ACS Food Sci. Technol.* 1, 1979–1989 (2021).
- 7) K. Srivastava, et al. *J. Lipid. Res.* 53, 2490–2514. (2012)
- 8) D.B. Seo, H.W. Jeong, S.J. Lee, S.J. Lee. *J. Agric. Food Chem.* 62, 4298-305. (2014)

Pyrroloquinoline Quinone In Reducing Body Fat Function —The evidence from Obese Mice, *Daphnia magna* and Adipocytes studies—

Nur Syafiqah Mohamad Ishak (ORCID 0000-0002-7818-428X)¹, Kazuto Ikemoto* (kazuto-ikemoto@mgc.co.jp; ORCID 0000-0002-5708-1636)¹ and Mitsugu Akagawa (ORCID 0000-0002-8735-4738)²

¹ Niigata Research Laboratory, Mitsubishi Gas Chemical Company, Inc., 182, Tayuhama, Kita-ku, Niigata City, Niigata 950-3112, Japan

² Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima University, 3-18-15, Kuramoto-cho, Tokushima 770-8503, Japan

Obesity is a significant public health issue and requires an effective countermeasure. Supplementation with functional food ingredient pyrroloquinoline quinone disodium salt (PQQ) has shown to improve brain function. Our study revealed PQQ function of reducing body fat. In obese mouse experiment, we found that PQQ supplementation reduced body fat of high-fat fed mice, especially the visceral fat. Moreover, PQQ supplementation prevented muscle loss due to the obesity. In a model experiment of *daphnia*, the effect of PQQ was confirmed to be equal to 30% calorie restriction. Additionally, experiments using adipocytes revealed that PQQ reduced the lipids in cell and increased the quantity of mitochondria. After investigating the mechanism, it is revealed that PQQ could inhibit the fatty acids production and suppress fat accumulation by improving fat metabolism via mitochondria biogenesis. We expect that PQQ could contribute to improve people's health as diet supplement.

Keywords : obesity; body fat; PQQ; mitochondria; fat reduction; diet; BioPQQ

Graphic Abstract

