

研究の動向

食品成分による骨格筋への新しい作用

岡山県立大学 山下 広美

酢酸は醸造酢の酸味の成分として長い歴史の中で摂取されてきた低分子の成分であるが、肝臓でアルコールの代謝産物^{1)~3)}、また絶食時に脂肪酸から転換される成分でもある⁴⁾。酢酸は、特に反すう動物の腸管において細菌による発酵生成物として生成され、その血中に高濃度で存在することが知られているが^{5)~7)}、近年ではヒトの腸内細菌により食物繊維から生成される短鎖脂肪酸の一つであり、生理機能性を有する成分として注目されている⁸⁾。著者らはこれまで酢酸の生理機能性について研究する過程で、酢酸が骨格筋に作用して機能性を示すことを明らかにしたので紹介する。

1. 酢酸は絶食時に肝臓で脂肪酸から生成され、肝外組織でエネルギー源として利用される

絶食時に肝臓のミトコンドリアでは脂肪酸の β 酸化を経てアセチル CoA からケトン体が生成されるが、同時に酢酸も生成する⁴⁾。ミトコンドリアには、酢酸をアセチル CoA に変換するミトコンドリア型アセチル CoA 合成酵素 (AceCS2) が存在し、組織間に広く発現しているが、肝臓ミトコンドリアには全く発現していない⁹⁾。これより、肝臓で生成された酢酸は肝臓ミトコンドリアではアセチル CoA に変換されず、ケトン体と同様に肝外に放出されて、肝外の組織でエネルギー源として利用されること (図1)⁴⁾、また脂肪酸分解が促進する絶食時などの生理条件下ではその代謝が促進することを示した¹⁰⁾。

2. 酢酸の代謝に伴う AMP/ATP 比の変化

食事や飲料として外因性に摂取された酢酸にはどのような生理機能があるか詳細には示されていなかった。酢酸が AceCS の作用でアセチル CoA へ変換される過程で

絶食時

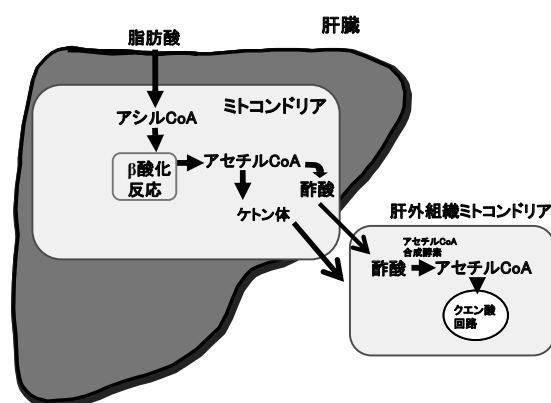


図1 絶食時の肝臓では脂肪酸からケトン体以外に酢酸も生成し、肝外組織でエネルギー源としての利用される (著者作成)

ATP から AMP が生成される。細胞内で AMP/ATP 比が高くなると AMP キナーゼ (AMPK) がリン酸化され活性化されることが知られている^{11)~13)}。AMPK は α , β , γ の3つのサブユニットで構成されているヘテロ3量体タンパク質であり、生体における脂肪酸の酸化や糖の代謝を調節するエネルギー代謝制御因子である。AMPK がリン酸化されて活性化すると、脂肪合成の律速段階を触媒するアセチル CoA カルボキシラーゼがリン酸化されて不活性化され、マロニル CoA 濃度の低下に続くカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼの活性化が起こり、脂肪酸の分解が促進され、脂肪合成は抑制される^{11)~13)}。酢酸の血中への移行と組織における核酸 (ATP, ADP, AMP) レベルの変化について調べたところ、ラットに酢酸を経口投与すると、投与後速やかに血中酢酸濃度が上昇し、10分以内にもとのレベルに戻っていた。血中酢酸濃度は投与した酢酸濃度に依存していた¹⁴⁾。酢酸の血中レベルの変化に伴って肝臓における AMP 濃度の上昇が認められ、AMP/ATP 比が上昇した。また酢酸を投与した動物の肝臓ではリン酸化 AMPK レベルが増加した¹⁴⁾。過食により肥満を引き起こす病態モデル動物である OLETF ラッ

Hiroimi YAMASHITA

岡山県立大学保健福祉学部栄養学科

〔著者紹介〕(略歴) 1993年 奈良女子大学大学院人間文化研究科博士課程生活環境学専攻修了(学術博士)、1993年 岡山県立大学保健福祉学部栄養学科助手、1998年 米国テキサス大学サウスウェスタン医学センター博士研究員(1999年まで)、2009年 岡山県立大学保健福祉学部栄養学科教授、現在に至る。

〔専門分野〕食品機能学、食品栄養学

トに、継続的に酢酸を摂取させると、体重増加が抑制され、脂肪蓄積抑制、耐糖能改善、脂肪肝抑制などの効果が見られた。

3. 酢酸を投与した動物のエネルギー代謝

酢酸を摂取させて肥満が抑制された OLETF ラットのエネルギー代謝量を小動物用代謝計測システムにより測定したところ、酢酸群は対照群に比較して酸素消費量が増加していた。酢酸を継続的に摂取するとエネルギー代謝が促進されると示唆された¹⁵⁾。

4. 骨格筋における酢酸の影響

酢酸を投与した OLETF ラットの骨格筋および脂肪組織における代謝関連因子の動態について解析した。酢酸を投与した動物の骨格筋では脂肪酸酸化分解に関連する酵素の発現増加が推測された。そこで脂肪酸の β 酸化系の酵素である長鎖アシル CoA 脱水素酵素および3-ケトアシル CoA チオラーゼの mRNA 発現レベルを解析したがそれらに変化はなかった。一方、ミオグロビンの発現量が有意に増加していた。ミオグロビンは心筋や骨格筋などの細胞質に発現しているヘムタンパク質で、骨格筋収縮時のミトコンドリアにおける呼吸維持のための酸素運搬の役割を担っている。加えてグルコース輸送体 GLUT4 の発現量も増加した。GLUT4 は筋肉および脂肪組織に発現し、グルコースの取り込みを行う輸送体である。骨格筋における AMP/ATP 比および AMPK のリン酸化のレベルは、肝臓の場合と同様に酢酸投与後に増加していた。これより酢酸は骨格筋に取り込まれた後、AMP を生成して AMPK を活性化すると共に、ミオグロビンの発現増加を介して脂肪代謝を促進すること、また GLUT4 の発現を増加させることにより糖取り込みを促進させると示唆された¹⁵⁾。酢酸による AMPK の活性化とミオグロビンおよび GLUT4 の遺伝子発現増加がどのような機序で生じるのかをラット由来 L6 筋管細胞を用いて調べた。

酢酸を L6 筋管細胞に添加すると、酢酸は速やかに細胞に取り込まれ、AMP/ATP 比が有意に増加した。添加した酢酸の濃度依存的に AMPK のリン酸化レベルが増加した。酢酸によるリン酸化 AMPK の増加は、AMPK 阻害剤である compound C や araA の存在下では阻害された。また酢酸による AMPK のリン酸化は、酢酸の代わりにクエン酸や乳酸を添加した場合には見られなかった。ミオグロビンおよび GLUT4 の遺伝子発現レベルも酢酸の添加により増加し、AMPK 阻害剤の存在により、それらの発現増加が抑制された。ミオグロビンおよび GLUT4 タンパク質発現レベルも遺伝子発現レベルと同じ動態を示した。また酢酸の添加により、L6 筋管細胞におけるグルコースと脂肪酸の取り込みは増加したが、トリグリセリドの蓄

積は減少した。一方、ミオグロビン遺伝子のプロモーター配列には myocyte enhancer factor 2 (MEF2) - 結合モチーフが存在する。MEF2A は骨格筋の分化に関わる転写因子であり^{16)~18)}、GLUT4 の発現は MEF2A 転写因子により制御されていると報告されている¹⁹⁾。そこで、ミオグロビンおよび GLUT4 の酢酸による発現増加における MEF2A の関わりについて検討するために、MEF2A 遺伝子およびタンパク質発現について酢酸および AMPK による影響を調べたところ、MEF2A 遺伝子およびタンパク質の発現は酢酸処理により増加し、AMPK 阻害剤の存在により抑制された。一方、Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α (PGC-1 α) は、ミトコンドリアの増幅やエネルギー代謝に関与する多くの因子の発現に寄与する転写共役因子である。PGC-1 α は MEF2 転写因子と互いに影響しあって転写制御に関わっていることや²⁰⁾、AMPK の活性化による PGC-1 α の活性化増加や発現増加との関わりも報告されている²¹⁾。そこで、酢酸による PGC-1 α の発現に対する影響について検討した。その結果、酢酸により PGC-1 α の遺伝子発現およびタンパク質発現は増加し、AMPK 阻害剤の共存により酢酸による影響は消失した。さらに酢酸を添加した細胞の核抽出画分において MEF2A タンパク質のレベルが増加し、AMPK 阻害剤の共存によりそのレベルは低下した。その様子は共焦点レーザー顕微鏡による細胞内局在の観察によっても確認された。即ち、酢酸を添加すると、AMPK が活性化され、MEF2A が核内に移行し、MEF2A はミオグロビン、GLUT4、PGC-1 α の mRNA の転写を増加させるように作用すること、その結果それらのタンパク質発現も増加することが明らかになった²²⁾。

5. 骨格筋における酢酸の受容体と生理機能

最近、新規の脂肪酸受容体が報告されており、酢酸、プロピオン酸、酪酸などの短鎖脂肪酸をリガンドとする受容体とその機能性が報告されている^{23)~25)}。FFAR (free fatty acid receptor) 2/GPR43 (GPR43) と FFAR3/GPR41 (GPR41) がその受容体としてよく知られているが、酢酸はプロピオン酸や酪酸に比較して、GPR41 よりも GPR43 に対する活性化作用が強いことが示されている²⁶⁾²⁷⁾。GPR43 は、細胞内 cAMP 濃度の抑制に関与する Gi/o と細胞内カルシウム濃度上昇に関与する Gq/11 タンパク質に共役する G タンパク質共役型受容体 GPCR である^{26)~28)}。GPR41 や GPR43 は脂肪組織や腸内分泌細胞に発現し、脂肪細胞ではアディポカインの分泌や脂肪分化、腸内分泌細胞では腸管ホルモンであるインクレチンの分泌に関与する等の報告がある^{29)~32)}。GPR43 は白血球や消化管の細胞に発現して免疫や炎症応答を調節することも報告されており²³⁾²⁴⁾、GPR43 を欠失させた動物では炎症

の悪化が見られている。Maslowski らは、GPR43欠損マウスや無菌マウスを用いた研究により、大腸炎、関節炎、喘息における好中球による炎症反応の抑制には短鎖脂肪酸による GPR43の活性化が重要であること、また腸内細菌による短鎖脂肪酸の産生が重要であることを示している²⁴⁾。また GPR43は脂肪組織において、リポリシスを阻害して脂肪組織からの遊離脂肪酸の放出を抑制する作用があること²⁵⁾、また脂肪蓄積を阻害し、生活習慣病の制御において鍵となる役割を果たしているとの報告もなされている³³⁾。しかしながら、骨格筋における GPR43の生理的な役割についてはほとんど報告がなかった。著者らは酢酸が骨格筋における GPR43を活性化し、その活性化シグナルを介して、骨格筋に特徴的な因子の発現を促進するのではないかと予測して検討を行った。まず筋管細胞の分化過程における GPR43の発現動態を解析したところ、L6筋管細胞の分化レベルが増加するにしたがって、GPR43遺伝子の発現が増加する傾向が見られた。GPR41遺伝子の発現も見られたが GPR43に比較して増加の程度は低かった。また酢酸により GPR43の発現は有意に増加した。8週齢と20週齢のラットの腓腹筋およびヒラメ筋における GPR43遺伝子の発現レベルを比較したところ、8週齢のラットに比較して20週齢のラット骨格筋において GPR43の遺伝子発現レベルが有意に高かった。L6筋管細胞に酢酸を添加した後、5分～1時間後における GPR43の遺伝子発現レベルを比較すると添加後30分で最も発現レベルが増加していた。酢酸が L6筋管細胞の GPR43を活性化すれば細胞内のカルシウムレベルが顕著に高くなるのではないかと考え、酢酸処理後の細胞内カルシウム放出の動態を測定したところ、酢酸処理後時間経過に伴ってカルシウムレベルが有意に増加し、そのレ

ベルは0.5mM 酢酸濃度で最も高かった。さらに酢酸により、GPR43 遺伝子以外にミオグロビン、GLUT4、PGC-1 α 、またミトコンドリアタンパク質であるコハク酸脱水素酵素 (SDH)、シトクロム *c* のそれぞれの遺伝子発現が増加したが、AMPK 阻害剤である araA が共存すると酢酸によるそれぞれの発現増加が抑制された。GPR43 遺伝子発現をノックダウンさせる処理である GPR43の siRNA 処理によっても、酢酸による上記の遺伝子発現増加が著しく抑制された。GPR43の siRNA 処理により、細胞内のカルシウムレベルの増加も抑制された。araA、ならびに GPR43の siRNA 処理は、AMPK のリン酸化レベルの抑制、ミオグロビン、GLUT4、MEF2A、PGC-1 α タンパク質発現を同様に抑制した。一方、酢酸により、遅筋線維関連因子の転写に関わる NFATc1転写因子および AMPK のリン酸化に関わるカルモジュリンキナーゼキナーゼ (CaMKK) β タンパク質の発現が増加した。さらに MEF2A、PGC-1 α 、NFATc1は酢酸の存在により核内への局在が有意に増加した。しかし、GPR43の siRNA 処理によりそれらの核内局在は著しく抑制された。GPR43アゴニストも酢酸と同様の効果を示した。これらの結果より、酢酸は骨格筋において GPR43のリガンドとして作用し、GPR43を活性化した後、細胞内のカルシウム放出を増加させて、カルシウム/カルモジュリン (CaM) の活性化を介して CaMKK β を活性化させる。それにより AMPK のリン酸化が促進し活性化されると共に、CaM の活性化により脱リン酸化酵素であるカルシニューリンが活性化されて NFATc1の脱リン酸化を促進し、NFATc1の活性化と核内移行を促進させて NFATc1の標的遺伝子である遅筋線維関連遺伝子の転写が活性化されると強く示唆された (図2)。GPCRの活性化による細

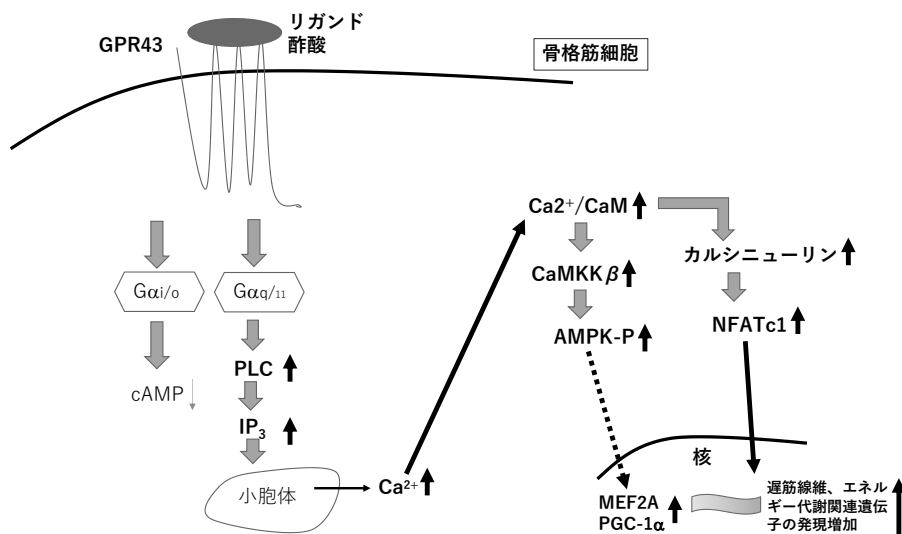


図2 酢酸による骨格筋 GPR43の活性化を介した遅筋線維およびエネルギー代謝関連遺伝子の発現増加の機序 (著者作成)

胞内カルシウム放出はホスホリパーゼ C (PLC) の活性化によるイノシトール1,4,5-三リン酸 (IP₃) の刺激により引き起こされる³⁴⁾³⁵⁾。そこで、PLC 阻害剤の影響を調べた。PLC 阻害剤の処理により、酢酸や GPR43 アゴニストによる細胞内カルシウム放出は抑制され、同様に AMPK のリン酸化も抑制された。またカルシニューリンの阻害剤、および CaM 阻害剤のいずれも、酢酸による MEF2A, GPR43, ミオグロビン, PGC-1 α , SDH, シトクロム *c* の各遺伝子の増加を阻害し、MEF2A, PGC-1 α , NFATc1 および ミオグロビンの各タンパク質の発現を減少させた。それら阻害剤の共存により、酢酸による、核内 MEF2A, PGC-1 α , NFATc1 の各タンパク質の局在も抑制された。以上より、ラット骨格筋には Gq/11 タンパク質に共役する GPR43 が発現しており、酢酸により活性化されること、GPR43 が活性化されると PLC の活性化により IP₃ が生成し、細胞内のカルシウム濃度が増加すること、さらに細胞内カルシウムが増加するとカルシウム/CaM 依存性の脱リン酸化酵素であるカルシニューリンの経路が活性化し、標的タンパク質である転写因子 NFATc1 が脱リン酸化されて活性化され、核内に移行する。核内に移行した NFATc1 は遅筋線維特異的な標的遺伝子の転写活性を MEF2A と共に促進させる。また GPR43 の活性化により、カルシウム/CaM の活性化を介して CaMKK が活性化し AMPK のリン酸化が促進し、結果として骨格筋におけるミトコンドリアの生合成を促進することを明らかにした (図 2)。

以上より、酢酸により活性化した GPR43 を介して AMPK のリン酸化が促進し、MEF2A および PGC-1 α の遺伝子およびタンパク質の発現増加およびミトコンドリアの増幅が生じ、骨格筋の遅筋線維の増加と共に呼吸代謝、エネルギー代謝の活性が増加すると示唆された³⁶⁾。

6. 加齢による骨格筋の変化と酢酸の機能

高齢者人口の増加を背景に、骨格筋機能の低下や慢性疾患の罹患者が増加している。加齢による骨格筋量や骨格筋機能の低下はサルコペニアを引き起こし、QOL (生活の質) の低下を招く。加齢により筋線維の数およびサイズが減少することにより、呼吸代謝能力、エネルギー代謝能力、さらに運動能力が低下する。骨格筋のエネルギー代謝能力はミトコンドリアの機能に依存し、骨格筋におけるミトコンドリアの機能は健康を維持するために重要な役割を担っているため、ミトコンドリア機能が加齢により低下すると、運動や身体活動能力の低下をもたらす^{37)~40)}。実際に高齢者は若齢者に比較して、ミトコンドリア量やその機能が低下するためエネルギー代謝能力が低下することが報告されている⁴¹⁾。高齢者において加齢によりミトコンドリアの酸化能力が低下すると、運動

能力が低下し⁴²⁾、脂肪蓄積が増加する⁴³⁾⁴⁴⁾。加齢によりミトコンドリアの量およびミトコンドリア DNA 量が低下することも報告されている⁴⁵⁾⁴⁶⁾。加齢による骨格筋のミトコンドリア機能低下はミトコンドリア DNA 量の低下に起因し、高齢者における骨格筋の機能変化をもたらす³⁷⁾。これらの知見より、加齢はエネルギー代謝の調節機能の低下に関連しており、少なくともその要因の一部はミトコンドリアの機能低下に起因していると言える。これより、ミトコンドリア機能の低下を防ぐことができれば加齢による骨格筋機能の変化を改善することができると考えられる。我々は酢酸の継続的な摂取により加齢による骨格筋機能の低下を抑制することができないかと考え、ラットを用いて酢酸摂取による効果について検討した。32週齢のラットを4週間の予備飼育後、水投与群 (対照群) と酢酸投与群の2群に分けて、37週齢時よりそれぞれの群に水または1%酢酸溶液を継続的に1週間に5日間、56週齢まで投与した。投与期間中の体重変化はなかったが、1週間ごとに代謝測定を実施すると、対照群においては、加齢により43週齢から1日の平均酸素消費量が有意に低下した。それに対して酢酸投与群では56週齢まで酸素消費量の有意な変化はなかった。これより、継続的な酢酸の摂取により、加齢によるエネルギー代謝の減少を抑制し、エネルギー消費の低下による脂肪蓄積の増加を抑制することができると示唆された⁴⁷⁾。加齢による骨格筋の筋線維の変化を解析したところ、遅筋であるヒラメ筋では、20週齢のラットに比較し、遅筋線維である type I および速筋線維である type II 線維の数が56週齢の対照群で有意に減少していたが、酢酸投与群ではヒラメ筋の type I 線維の数は20週齢のラットと比較して変化は見られず、酢酸摂取により type I 線維数の低下が抑制されていた。一方、速筋である腓腹筋においては対照群ならびに酢酸投与群ともに20週齢と比較して type I および type II 線維の数が有意に減少していた。筋萎縮関連因子である atrogen-1, MuRF1, TGF- β の各遺伝子発現を比較すると、ヒラメ筋および腓腹筋において、対照群に比較して酢酸群では MuRF1, および TGF- β 遺伝子の発現が有意に低下、またヒラメ筋では atrogen-1 遺伝子の低下傾向が見られた。これより、継続的な酢酸の摂取により加齢による筋萎縮が抑制される可能性が示唆された。また酢酸群のヒラメ筋で MEF2A 遺伝子の有意な増加、腓腹筋ではミオグロビン, トロポニン I, SDH, GLUT4 遺伝子がそれぞれ有意に増加していた。タンパク質の発現をウェスタンブロット法により解析すると、ヒラメ筋において PGC-1 α , および MEF2A の発現が増加し、核内への局在も有意に増加していた。腓腹筋においてはそれらのタンパク質の発現増加はみられなかったが、PGC-1 α の核内局在の増加が見られた。骨格筋におけるミトコン

ドリア DNA レベルはヒラメ筋において、酢酸群で有意に増加、腓腹筋においては増加傾向が見られた。骨格筋を薄切して切片を作成し SDH の活性染色によりミトコンドリアレベルを解析すると、酢酸群においてヒラメ筋、腓腹筋ともに活性の増加が観察され、ミトコンドリアの増加が示唆された。骨格筋における GPR43 遺伝子の発現レベルは56週齢の対照群のヒラメ筋では発現が確認されないほど低下していたが、酢酸投与群では発現が観察されるレベルに増加していた。腓腹筋における GPR43 遺伝子の発現は酢酸投与群で増加傾向が見られた。ヒラメ筋の組織切片を HE 染色ならびにオイルレッド染色により観察すると、56週齢の対照群では20週齢と比較して、筋組織中に脂肪滴が蓄積するとともに壊死が観察された。一方、酢酸投与群においては脂肪滴蓄積が抑制されていた。加齢による骨格筋への脂肪滴沈着の要因としてエネルギー代謝に関連する因子の発現低下が考えられたため、酢酸の長期摂取による AMPK のリン酸化レベルおよびエネルギー代謝関連因子への影響を調べた。その結果、酢酸投与群ではヒラメ筋におけるリン酸化 AMPK が56週齢の対照群と比較して著しく増加していた。骨格筋萎縮関連因子 (atrogin-1, MuRF1) の発現誘導に関連する転写因子 FOXO とその阻害型であるリン酸化 FOXO のレベルおよびリン酸化 FOXO を誘導するリン酸化 Akt レベルを調べたところ、それらのリン酸化レベルが酢酸群のヒラメ筋で増加していた。以上より、長期の酢酸摂取は加齢による骨格筋におけるミトコンドリア機能の低下を改善し脂質沈着を予防すること、また筋萎縮の予防に寄与することが示唆された。継続的な酢酸摂取によりエネルギー代謝の調節不全による代謝障害を予防することが期待される。

一方、著者らの研究室では酢酸以外の機能性成分の探索も行っており、遊離アミノ酸であるタウリンにも遅筋線維におけるミトコンドリア機能および呼吸代謝改善の機能があることが示唆されている⁴⁸⁾⁴⁹⁾。タウリンを多く含む食品を摂取することにより同様な機能が得られるかについて、現在研究を進めている。

文 献

- 1) Lundquist, F. Production and Utilization of Free Acetate in Man. *Nature*. 1962, Vol. 193, 579-580.
- 2) Lundquist, F.; Tygstrup, N.; Winkler, K. Ethanol Metabolism and Production of Free Acetate in the Human Liver. *Journal of Clinical Investigation*. 1962, Vol. 41, 955-961.
- 3) Suokas, A.; Forsander, O.; Lindros, K. Distribution and Utilization of Alcohol-Derived Acetate in the Rat. *Journal of Studies on Alcohol*. 1984, Vol. 45, 381-385.
- 4) Yamashita, H.; Kaneyuki, T.; Tagawa, K. Production of Acetate in the Liver and Its Utilization in Peripheral Tissues. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2001, Vol. 1532, No. 1-2, 79-87.
- 5) Annison, E. F.; Armstrong, D. G. "Volatile Fatty Acid Metabolism and Energy Supply". *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*. A. T. Phillipson. Newcastle. Oriel, 1970, 422-436.
- 6) Ballard, F. J. Supply and Utilization of Acetate in Mammals. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1972, Vol. 25, 773-779.
- 7) Knowles, S. E.; Jarrett, I. G.; Filsell, O. H.; Ballard, F. J. Production and Utilization of Acetate in Mammals. *Biochemical Journal*. 1974, Vol. 142, No. 2, 401-411.
- 8) Kasubuchi, M.; Hasegawa, S.; Hiramatsu, T.; Ichimura, A.; Kimura, I. Dietary Gut Microbial Metabolites, Short-Chain Fatty Acids, and Host Metabolic Regulation. *Nutrients*. 2015, Vol. 7, No. 4, 2839-2849.
- 9) Fujino, T.; Kondo, J.; Ishikawa, M.; Morikawa, K.; Yamamoto, T. T. Acetyl-CoA Synthetase 2, a Mitochondrial Matrix Enzyme Involved in the Oxidation of Acetate. *The Journal of Biological Chemistry*. 2001, Vol. 276, No. 14, 11420-11426.
- 10) Yoneda-I, A.; Kimoto, M.; Tsuji, H.; Hiemori, M.; Yamashita, H. Effect of a Hypolipidemic Drug, Di (2-Ethylhexyl) Phthalate, on mRNA-Expression Associated Fatty Acid and Acetate Metabolism in Rat Tissues. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 2007, Vol. 71, No. 2, 414-420.
- 11) Moore, F.; Weekes, J.; Hardie, D. G. Evidence That AMP Triggers Phosphorylation as Well as Direct Allosteric Activation of Rat Liver AMP-Activated Protein Kinase. A Sensitive Mechanism to Protect the Cell against ATP Depletion. *European Journal Biochemistry*. 1991, Vol. 199, No. 3, 691-697.
- 12) Dyck, J. R.; Kudo, N.; Barr, A. J.; Davies, S. P.; Hardie, D. G.; Lopaschuk, G. D. Phosphorylation Control of Cardiac Acetyl-CoA Carboxylase by CAMP-Dependent Protein Kinase and 5'-AMP Activated Protein Kinase. *European Journal Biochemistry*. 1999, Vol. 262, No. 1, 184-190.
- 13) Hardie, D. G.; Carling, D.; Carlson, M. The AMP-Activated/SNF1 Protein Kinase Subfamily: Metabolic Sensors of the Eukaryotic Cell? *Annual Review of Biochemistry*. 1998, Vol. 67, 821-855.
- 14) Yamashita, H.; Fujisawa, K.; Ito, E.; Idei, S.; Kawaguchi, N.; Kimoto, M.; Hiemori, M.; Tsuji, H. Improvement of Obesity and Glucose Tolerance by Acetate in Type 2 Diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) Rats. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 2007, Vol. 71, No. 5, 1236-1243.
- 15) Yamashita, H.; Maruta, Y. H.; Jozuka, M.; Kimura, R.; Iwabuchi, H.; Yamato, M.; Saito, T.; Fujisawa, K.

- Takahashi, Y.; Kimoto, M. Effects of Acetate on Lipid Metabolism in Muscles and Adipose Tissues of Type 2 Diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) Rats. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 2009, Vol. 73, No. 3, 570–576.
- 16) Black, B. L.; Molkentin, J. D.; Olson, E. N. Multiple Roles for the MyoD Basic Region in Transmission of Transcriptional Activation Signals and Interaction with MEF2. *Molecular and Cellular Biology*. 1998, Vol. 18, 69–77.
 - 17) Kaushal, S.; Schneider, J. W.; Nadal-Ginard, B.; Mahdavi, V. Activation of the Myogenic Lineage by MEF2A, a Factor That Induces and Cooperates with MyoD. *Science*. 1994, Vol. 266, No. 5188, 1236–1240.
 - 18) Molkentin, J. D.; Black, B. L.; Martin, J. F.; Olson, E. N. Cooperative Activation of Muscle Gene Expression by MEF2 and Myogenic BHLH Proteins. *Cell*. 1995, Vol. 83, No. 7, 1125–1136.
 - 19) Murgia, M.; Jensen, T. E.; Cusinato, M.; Garcia, M.; Richter, E. A.; Schiaffino, S. Multiple Signalling Pathways Redundantly Control Glucose Transporter GLUT4 Gene Transcription in Skeletal Muscle. *The Journal of Physiology*. 2009, Vol. 587, No. 17, 4319–4327.
 - 20) Handschin, C.; Rhee, J.; Lin, J.; Tarr, P. T.; Spiegelman, B. M. An Autoregulatory Loop Controls Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1alpha Expression in Muscle. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 2003, Vol. 100, No. 12, 7111–7116.
 - 21) Iwabu, M.; Yamauchi, T.; Okada-Iwabu, M.; Sato, K.; Nakagawa, T.; Funata, M.; Yamaguchi, M.; Namiki, S.; Nakayama, R.; Tabata, M.; Ogata, H.; Kubota, N.; Takamoto, I.; K. Hayashi, Y.; Yamauchi, N.; waki, H.; Fukayama, M.; Nishino, I.; Tokuyama, K.; Ueki, K.; Oike, Y.; Ishii, S.; Hirose, K.; Shimizu, T.; Touhara, K.; Kadowaki, T. Adiponectin and AdipoR1 Regulate PGC-1 α and Mitochondria by Ca²⁺ and AMPK/SIRT1. *Nature*. 2010, Vol. 464, 1313–1319.
 - 22) Maruta, H.; Yoshimura, Y.; Araki, A.; Kimoto, M.; Takahashi, Y.; Yamashita, H. Activation of AMP-Activated Protein Kinase and Stimulation of Energy Metabolism by Acetic Acid in L6 Myotube Cells. *PLoS One*. 2016, Vol. 11, No. 6, 1–19.
 - 23) Sina, C.; Gavrilova, O.; Förster, M.; Till, A.; Derer, S.; Hildebrand, F.; Raabe, B.; Chalaris, A.; Scheller, J.; Rehmann, A.; Franke, A.; Ott, S.; Häslner, R.; Nikolaus, S.; Fölsch, U. R.; Rose-John, S.; Jiang, H.-P.; Li, J.; Schreiber, S.; Rosenstiel, P. G Protein-Coupled Receptor 43 Is Essential for Neutrophil Recruitment during Intestinal Inflammation. *The Journal of Immunology*. 2009, Vol. 183, No. 11, 7514–7522.
 - 24) Maslowski, K. M.; Vieira, A. T.; Ng, A.; Kranich, J.; Sierro, F.; Yu, D.; Schilter, H. C.; Rolph, M. S.; MacKay, F.; Artis, D.; Xavier, R. J.; Teixeira, M. M.; Mackay, C. R. Regulation of Inflammatory Responses by Gut Microbiota and Chemoattractant Receptor GPR43. *Nature*. 2009, Vol. 461, No. 7268, 1282–1286.
 - 25) Ge, H.; Li, X.; Weiszmann, J.; Wang, P.; Baribault, H.; Chen, J.-L.; Tian, H.; Li, Y. Activation of G Protein-Coupled Receptor 43 in Adipocytes Leads to Inhibition of Lipolysis and Suppression of Plasma Free Fatty Acids. *Endocrinology*. 2008, Vol. 149, 4519–4526.
 - 26) Le Poul, E.; Loison, C.; Struyf, S.; Springael, J.-Y.; Lannoy, V.; Decobecq, M.-E.; Brezillon, S.; Dupriez, V.; Vassart, G.; Van Damme, J.; Parmentier, M.; Detheux, M. Functional Characterization of Human Receptors for Short Chain Fatty Acids and Their Role in Polymorphonuclear Cell Activation. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003, Vol. 278, No. 28, 25481–25489.
 - 27) Brown, A. J.; Goldsworthy, S. M.; Barnes, A. A.; Eilert, M. M.; Tcheang, L.; Daniels, D.; Muir, A. I.; Wigglesworth, M. J.; Kinghorn, I.; Fraser, N. J.; Pike, N. B.; Strum, J. C.; Steplewski, K. M.; Murdock, P. R.; Holder, J. C.; Marshall, F. H.; Szekeres, P. G.; Wilson, S.; Ignar, D. M.; Foord, S. M.; Wise, A.; Dowell, S. J. The Orphan G Protein-Coupled Receptors GPR41 and GPR43 Are Activated by Propionate and Other Short Chain Carboxylic Acids. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003, Vol. 278, No. 13, 11312–11319.
 - 28) Stoddart, L. A.; Smith, N. J.; Jenkins, L.; Brown, A. J.; Milligan, G. Conserved Polar Residues in Transmembrane Domains V, VI, and VII of Free Fatty Acid Receptor 2 and Free Fatty Acid Receptor 3 Are Required for the Binding and Function of Short Chain Fatty Acids. *The Journal of Biological Chemistry*. 2008, Vol. 283, No. 47, 32913–32924.
 - 29) Samuel, B. S.; Shaito, A.; Motoike, T.; Rey, F. E.; Backhed, F.; Manchester, J. K.; Hammer, R. E.; Williams, S. C.; Crowley, J.; Yanagisawa, M.; Gordon, J. I. Effects of the Gut Microbiota on Host Adiposity Are Modulated by the Short-Chain Fatty-Acid Binding G Protein-Coupled Receptor, Gpr41. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 2008, Vol. 105, No. 43, 16767–16772.
 - 30) Xiong, Y.; Miyamoto, N.; Shibata, K.; Valasek, M. A.; Motoike, T.; Kedzierski, R. M.; Yanagisawa, M. Short-Chain Fatty Acids Stimulate Leptin Production in Adipocytes through the G Protein-Coupled Receptor GPR41. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 2004, Vol. 101, No. 4, 1045–1050.

- 31) Zaibi, M. S.; Stocker, C. J.; O'Dowd, J.; Davies, A.; Bellahcene, M.; Cawthorne, M. A.; Brown, A. J. H.; Smith, D. M.; Arch, J. R. S. Roles of GPR41 and GPR43 in Leptin Secretory Responses of Murine Adipocytes to Short Chain Fatty Acids. *FEBS Letters*. 2010, Vol. 584, No. 11, 2381-2386.
- 32) Tolhurst, G.; Heffron, H.; Lam, Y. S.; Parker, H. E.; Habib, A. M.; Diakogiannaki, E.; Cameron, J.; Grosse, J.; Reimann, F.; Gribble, F. M. Short-Chain Fatty Acids Stimulate Glucagon-like Peptide-1 Secretion via the G-Protein-Coupled Receptor FFAR2. *Diabetes*. 2012, Vol. 61, No. 2, 364-371.
- 33) Kimura, I.; Ozawa, K.; Inoue, D.; Imamura, T.; Kimura, K.; Maeda, T.; Terasawa, K.; Kashihara, D.; Hirano, K.; Tani, T.; Takahashi, T.; Miyauchi, S.; Shioi, G.; Inoue, H.; Tsujimoto, G. The Gut Microbiota Suppresses Insulin-Mediated Fat Accumulation via the Short-Chain Fatty Acid Receptor GPR43. *Nature Communications*. 2013, Vol. 4, No. 1829, 1-12.
- 34) Shen, Z.; Yang, X.; Chen, Y.; Shi, L. CAPA Periviscerokinin-Mediated Activation of MAPK/ERK Signaling through Gq-PLC-PKC-Dependent Cascade and Reciprocal ERK Activation-Dependent Internalized Kinetics of Bom-CAPA-PVK Receptor 2. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 2018, Vol. 98, 1-15.
- 35) Kim, J. K.; Choi, J. W.; Lim, S.; Kwon, O.; Seo, J. K.; Ryu, S. H.; Suh, P.-G. Phospholipase C- H1 Is Activated by Intracellular Ca²⁺ Mobilization and Enhances GPCRs/PLC/Ca²⁺ Signaling. *Cellular Signaling*. 2011, Vol. 23, No. 6, 1022-1029.
- 36) Maruta, H.; Yamashita, H. Acetic Acid Stimulates G-Protein-Coupled Receptor GPR43 and Induces Intracellular Calcium Influx in L6 Myotube Cells. *PLoS One*. 2020, Vol. 15, No. 9, 1-19.
- 37) Short, K. R.; Bigelow, M. L.; Kahl, J.; Singh, R.; Coenen-Schimke, J.; Raghavakaimal, S.; Nair, K. S. Decline in Skeletal Muscle Mitochondrial Function with Aging in Humans. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 2005, Vol. 102, No. 15, 5618-5623.
- 38) Hepple, R. T. Impact of Aging on Mitochondrial Function in Cardiac and Skeletal Muscle. *Free Radic. Biol. Med*. 2016, Vol. 98, 177-186.
- 39) Cartee, G. D.; Hepple, R. T.; Bamman, M. M.; Zierath, J. R. Exercise Promotes Healthy Aging of Skeletal Muscle. *Cell Metabolism*. 2016, Vol. 23, No. 6, 1034-1047.
- 40) Johnson, M. L.; Robinson, M. M.; Nair, S. K. Skeletal Muscle Aging and the Mitochondrion. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2013, 247-256.
- 41) Conley, K. E.; Jubrias, S. A.; Esselman, P. C. Oxidative Capacity and Ageing in Human Muscle. *The Journal of Physiology*. 2000, Vol. 526, No. 1, 203-210.
- 42) Trounce, I.; Byrne, E.; Marzuki, S. Decline in Skeletal Muscle Mitochondrial Respiratory Chain Function: Possible Factor in Ageing. *Lancet*. 1989, Vol. 333, No. 8639, 637-639.
- 43) Zhao, L.; Zou, X.; Feng, Z.; Luo, C.; Liu, J.; Li, H. Evidence for Association of Mitochondrial Metabolism Alteration with Lipid Accumulation in Aging Rats. *Experimental Gerontology*. 2014, Vol. 56, 3-12.
- 44) Liu, H. H.; Li, J. J. "Aging and Dyslipidemia: A Review of Potential Mechanisms". *Ageing Research Reviews*. Elsevier Ireland Ltd., 2015, 43-52.
- 45) Peterson, C. M.; Johannsen, D. L.; Ravussin, E. Skeletal Muscle Mitochondria and Aging: A Review. *J. Aging Res*. 2012, Vol. 2012, 20.
- 46) Russell, A. P.; Foletta, V. C.; Snow, R. J.; Wadley, G. D. Skeletal Muscle Mitochondria: A Major Player in Exercise, Health and Disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Gen. Subj*. 2014, Vol. 1840, No. 4, 1276-1284.
- 47) Maruta, H.; Abe, R.; Yamashita, H. Effect of Long-Term Supplementation with Acetic Acid on the Skeletal Muscle of Aging Sprague Dawley Rats. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022, Vol. 23, No. 4691, 1-15.
- 48) Yun, M.; Maruta, H.; Sun, B.; Wang, C.; Isono, C.; Yamashita, H. Effects of Long-Term Taurine Supplementation on Age-Related Changes in Skeletal Muscle Function of Sprague-Dawley Rats. *Amino Acids*. 2021, Vol. 53, 159-170.
- 49) Sun, B.; Maruta, H.; Ma, Y.; Yamashita, H. Taurine Stimulates AMP-Activated Protein Kinase and Modulates the Skeletal Muscle Functions in Rats via the Induction of Intracellular Calcium Influx. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023, Vol. 24, No. 4125, 1-18.