

異性化糖食で飼育したラットの体脂肪蓄積に対するD-ブシコースの作用

誌名	日本食品科学工学会誌
ISSN	1341027X
著者	山田, 貴子 飯田, 哲郎 林, 範子 大賀, 浩史 大隈, 一裕 何森, 健
巻/号	57巻6号
掲載ページ	p. 263-267
発行年月	2010年6月

異性化糖食で飼育したラットの体脂肪蓄積 に対する D-プシコースの作用

山田貴子[§], 飯田哲郎, 林 範子, 大賀浩史,
大隈一裕, 何森 健*

松谷化学工業株式会社研究所
* 香川大学希少糖研究センター

Effects of D-psicose on Body Fat Accumulation and
High Fructose Corn Syrup Diets in Rats

Takako Yamada[§], Tetsuo Iida, Noriko Hayashi,
Hiroshi Oga, Kazuhiro Okuma and Ken Izumori*

Research Institute, Matsutani Chemical Industry
Co., Ltd., 5-3, Kita-Itami, Itami, Hyogo 664-8508
* Rare Sugar Research Center Kagawa University, 2393,
Ikenobe, Miki-cho, Kita-gun, Kagawa 761-0795

In this study, we examined the preventing effect of D-psicose on the accumulation of body fat in rats. Four-week-old Wistar rats were fed with a high fructose corn syrup (HFCS) diet or a HFCS diet containing 1.3%, 2.6%, 3.9% or 5.2% of D-psicose for 5 weeks. The effects of D-psicose on body weight, food intake, total fat and various blood biochemical parameters were examined. Rats fed with HFCS diet containing 5.2% of D-psicose showed a significant reduction in body weight compared to those fed with HFCS diet. The groups given D-psicose showed dose-dependent decrease in perirenal fat and total fat weight. These results suggest that D-psicose has an effect to prevent the accumulation of body fat against HFCS intake. (Received Sep. 18, 2009; Accepted Feb. 16, 2010)

Keywords: rare sugar, D-psicose, high fructose corn syrup (HFCS), obesity, fat accumulation

キーワード: 希少糖, D-プシコース, 異性化糖, 肥満, 脂肪蓄積

近年, 日本において肥満が社会的問題の一つとして認知され, 2008年4月より特定健康診査・特定保健指導が開始されるなど, その対策に関心が寄せられている¹⁾.

D-プシコース (D-ribo-2-hexulose) は D-フラクトースの C-3 エピマーであり, 自然界には存在量が少ない単糖 (希少糖) の一つである. 希少糖の生理活性に関する研究では D-タガトースが最も研究されており, これまで, 食後血糖低下作用, HDL の増加効果などが明らかにされている²⁾.

また, D-プシコースにおいても, 栄養学的, 代謝学的な検討がなされており, D-プシコースの利用可能なエネルギーはゼロに近く³⁾⁴⁾, 静脈投与6時間後に97~98%が尿

中に排泄されることが示されている⁵⁾.

生理作用としては血糖低下作用⁶⁾, 脂質代謝改善作用⁷⁾ などを有する糖質素材であることが報告されている.

澱粉を糖化して糖化液とし, これをグルコースイソメラーゼで処理して製造される異性化糖は, 砂糖資源の少ない我が国の甘味料として開発されたが, 現在は生産コストの安価さから, アメリカを中心として広く使用されている. また, 近年, アメリカ, メキシコ, イギリス, オーストラリアを始めとする諸外国で肥満が問題視されており, 特にアメリカや日本においては異性化糖が高血糖や肥満などの原因となっている可能性が報告されている⁸⁾⁹⁾. 異性化糖中のグルコースとフラクトースとの比率は, 通常 58:42 程度であるが, フラクトースの比率が 55% と高い異性化糖もある. グルコースと比較してフラクトースの肝臓での代謝は脂質生成を促進しやすく¹⁰⁾, 高脂血症や肥満を誘導しやすい¹¹⁾ ことから, 異性化糖に含まれるフラクトースの影響について注目されている.

D-プシコースには脂質代謝改善作用が期待される. しかしながら, これまでの動物実験では, CE-2 に D-プシコースを添加した飼料, または, 炭水化物源としてスターチを一定量とし, その他の糖質源としてセルロース (エネルギーゼロのコントロール), フラクトース (ケトヘキソースのコントロール), グルコース (主な単糖のコントロール) もしくはプシコースを添加した飼料, あるいは, 食物繊維源としてセルロースを一定量添加し, 炭水化物源であるスターチの一部をプシコースおよびフラクトースで置換えた飼料を用いており, 異性化糖に対する D-プシコースの効果は検討されていない.

本研究では, ラット飼料の糖質源 (資化性糖) を異性化糖の成分であるグルコースとフラクトースとし, そこへ D-プシコースを添加した場合, 非添加群に比べて脂肪蓄積作用を抑制するかどうかラットを用いて検討を行った.

1. 実験方法

(1) 実験動物および飼育条件

3週齢の Wistar 系雄性ラット (日本クレア (株)) を一般飼料 (CE-2, 固形飼料, 日本クレア (株)) で 1 週間の予備飼育後, 体重に基づいて 6 群に分け, 試験に供した. 試験期間中の飼料として, 異性化糖飼料 (グルコース: フラクトース = 58:34, 以下 Control 群), 同じ組成で D-プシコースをそれぞれ異性化糖飼料全体の 1.3, 2.6, 3.9, 5.2% になるように調整した飼料および CE-2 粉末飼料 (日本クレア (株)) の各種飼料を給餌した 6 群で試験を行った. なお, CE-2 粉末飼料を給餌した群を正常対照群 (以下 Normal 群) とした. CE-2 は Rodent Diet のスタンダードとして植物性蛋白質 (大豆粕) を主体に動物性蛋白質もバランス良く配合しており, また, 炭水化物源として小麦粉・トウモロコシなどが配合されたラットの生産・育成に適した飼料である. 各飼料の組成については Table 1 に示した. 飼

〒664-8508 兵庫県伊丹市北伊丹 5-3

* 〒761-0795 香川県木田郡三木町池戸 2393

[§] 連絡先 (Corresponding author), takako-yamada@matsutani.co.jp

Table 1 Composition of tested diets

Constituents (%)	Control	1.3%	2.6%	3.9%	5.2%
Casein	20	20	20	20	20
Glucose	37.7	37.7	37.7	37.7	37.7
Fructose	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1
D-psicose	—	1.3	2.6	3.9	5.2
Cellulose	10.2	8.9	7.6	6.3	5.0
Mineral mixture*	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture*	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
DL-methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Corn oil	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

* AIN-93 mixture

料ならびに飲料水は自由に摂取させ、5週間の飼育を行った。なお、飼料は2日毎に交換し、その都度摂餌量を計測し、体重は1週間毎に測定した。飼育終了後、エーテル麻酔下で順次ラットを開腹し、ヘパリン処理した注射器を用いて腎臓下の腹部大動脈より採血後、肝臓、腎臓および各種脂肪（腸間膜脂肪、腎周囲脂肪、副睾丸脂肪）を摘出し、重量を測定した。血漿および肝臓は、分析時まで -20°C で保存した。

なお、本研究は実験動物の飼育および保管等に関する基準（昭和55年3月、総理府告示第6号）を遵守し、適切な倫理規定等に則って実施した。

(2) 血漿中脂質濃度の測定

血漿を用いて総コレステロール (TC), HDL-コレステロール (HDL-C), 中性脂肪 (TG), グルコース (Glu) および遊離脂肪酸 (NEFA) の測定を行った。また、それぞれの測定は、コレステロール E-テストワコー, HDL コレステロールテストワコー, トリグリセライド E-テストワコー, グルコース CII-テストワコーおよび NEFA C-テストワコー（いずれも和光純薬工業(株)製）を用いて行った。インスリンの測定はモリナガ インスリン測定キット（(株)森永生科学研究所製）を用いて行った。

(3) 肝臓中総脂質濃度の測定

肝臓脂質は Folch らの方法に従い、クロロホルム-メタノール溶液で抽出した後、溶媒を除去して総脂質 (TL) とした¹²⁾。

(4) 統計処理

実験結果は平均値±標準誤差 (mean±SEM) で示した。統計解析ソフトは SPSS (Ver. 13.0J) を用い、各群間の統計的な差は Tukey の多重比較検定により解析した。各群の用量依存性はウィリアムズの多重比較検定によって解析し、有意水準を5%とした。

2. 実験結果および考察

D-プシコースの体重増加抑制効果および体脂肪蓄積抑制効果は既に報告されているが、それは50%以上のスターチを配合した飼料全体の10%以上¹³⁾ もしくは5%⁷⁾¹⁴⁾¹⁵⁾、

又は CE-2 飼料に3%¹⁶⁾ になるように D-プシコースを調整しているものであり、異性化糖負荷食を用いたものではない。本研究では、異性化糖食を用い D-プシコースの体脂肪蓄積抑制効果の検討を行った。

飼育期間中の体重推移を Figure 1 に示した。飼育開始時の体重は各群間で差は認めなかったが、飼育3週目以降、用量依存的に低値で推移し、飼育終了時には、Control 群 301.1 ± 5.4 g, 1.3% 群 296.8 ± 3.5 g, 2.6% 群 295.2 ± 7.8 g, 3.9% 群 281.1 ± 2.8 g および 5.2% 群 269.3 ± 6.3 g となった。

全飼育期間中の体重増加量は、Control 群と比較して D-プシコース摂取群で用量依存的に低下し、かつ 3.9% 群および 5.2% 群で有意に低下した (Table 2)。しかしながら、飼育期間中の摂餌量に有意な差は認められなかった。

腎周囲脂肪および全脂肪重量（腸間膜脂肪、腎周囲脂肪、副睾丸脂肪を合わせた脂肪重量）では、ウィリアムズの多重比較検定によると D-プシコース 2.6% 以上の用量において、その重量は Control 群に比べて低下が認められ、全脂肪重量は Control 群 16.6 ± 0.8 g, 1.3% 群 16.2 ± 0.7 g, 2.6% 群 14.4 ± 1.7 g, 3.9% 群 14.0 ± 0.6 g および 5.2% 群 13.3 ± 0.8 g であった (Table 2)。

肝臓の重量ならびに腎臓の重量を測定した結果を Table 2 に示した。腎臓の重量は、Control 群と比較して用量依存的に増加したが、肝臓の重量には明らかな差は認められなかった。D-プシコース摂取による腎臓ならびに肝臓重量の肥大に関しては、既に幾つかの報告がなされている^{7)13)~17)}。しかしながら、長期間の D-プシコース摂取により血液学的および組織学的に明確な毒性は認められないこと¹⁶⁾、エリスリトールやタガトースなど食実績のある糖質においても同様な現象が認められることから、無症候性の現象であると考えられる¹⁸⁾¹⁹⁾。

D-プシコースの体脂肪蓄積抑制に対する作用機序に関しては、これまでのところ、スターチ食で28日間飼育した場合、5% D-プシコース摂取により脂肪酸合成に関わる2つの酵素（脂肪酸合成酵素およびグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ）の活性が低下することが報告されてい

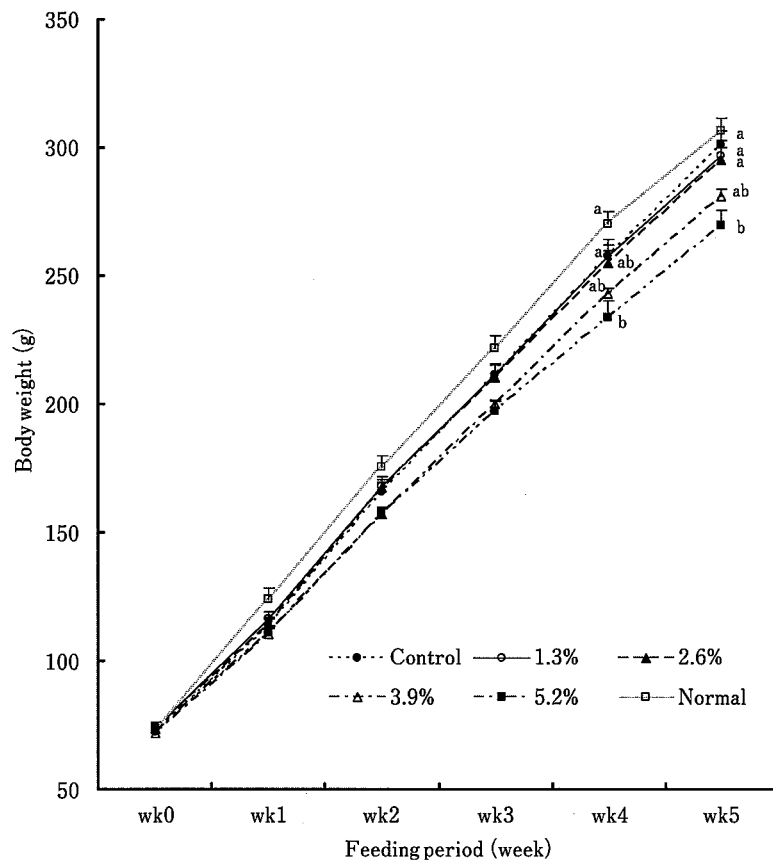


Fig. 1 Change of body weight during feeding period

Forty-two male wistar rats divided into 6 groups. Each point represents mean \pm SEM of 7 rats.

Different superscript letters show significant difference at $P < 0.05$.

●, Control; ○, 1.3%; ▲, 2.6%; △, 3.9%; ■, 5.2%; □, Normal.

る¹⁴⁾。また、21日間5% D-ブシコースを摂取した場合、ホルモン感受性リパーゼなどの脂肪分解系は、活性が変わらないとの報告がなされており、褐色脂肪細胞の関わる食事誘導性産熱にもD-ブシコース摂取は影響しないことが示されている⁷⁾。

一方、肝臓中において、ケトースの一つであるフラクトースは、フラクトキナーゼにより1リン酸化体を増加させ、グリコーゲンの蓄積に関与することが示されている^{20)~22)}が、D-ブシコースも同様な作用があることが予想される。また、D-ブシコースによるCLA-1遺伝子の減少抑制メカニズムがコレステロール逆転送系において関与し、動脈硬化の発症を抑制する報告もある²³⁾。これらのことから、D-ブシコースの作用器官の1つが肝臓であり、この器官での代謝への影響が今回の体脂肪蓄積抑制に関与していることも考えられた。

飼育終了時に各個体から得られた血漿中のTC, HDL-C, TG, Glu, インスリンおよびNEFAを測定した結果をTable 2に示した。5.2%群のNEFAは1.3%群と比較して有意な低値を示したが用量依存性は認められなかった。また、その他の項目においては明らかな差は認められなかった。

肥満の作用機序として関与する脂肪酸、レプチンおよび

アディポネクチンなどのアディポサイトカインに関しては、16週間の高脂肪食負荷ののうち、D-ブシコースの摂取による影響は認められないことが示されている¹⁷⁾。しかしながら、この実験では脂肪の減少量に有意差が認められず、これらアディポサイトカインに反映されなかった可能性がある。これらとD-ブシコースの抗肥満効果の因果関係を明らかにするためには、更に検討が必要だと考えられる。

今回の結果から、D-ブシコースがフラクトースで誘発される肥満を抑制する可能性が示された。そこで、我々はグルコース、フラクトースあるいはショ糖のいずれかを糖質源として、D-ブシコースの肥満抑制効果を検討した(データ未発表)。その結果、脂肪細胞への脂肪の蓄積には、グルコースが必要であることがわかり、フラクトースのみの摂取では肥満そのものが認められなかった。グルコースおよびショ糖の摂取では肥満が認められ、それらに対するD-ブシコースの抗肥満効果が認められた。この結果から、グルコースが脂肪細胞に供給される条件下において、フラクトース負荷による肥満に対して、D-ブシコースが抗肥満効果を示すことが考えられる。実際に、コーンスターチ55%+ショ糖10%の飼料を摂取した群と比較してコーンスターチ50%+ショ糖10%+フラクトース5%の飼料を摂取し

Table 2 Effect of D-psicose on body weight, food efficiency, clinical chemistry value, tissue weight and liver total lipid in rats

Number of rats		Control	1.3%	2.6%	3.9%	5.2%	Normal
		7	7	7	7	7	7
Initial body	(g)	72.2±2.5	73.6±2.2	73.5±2.2	71.8±1.9	72.7±2.4	73.3±2.8
Final body	(g)	301.1±5.4 ^a	296.8±3.5 ^a	295.2±7.8 ^a	281.1±2.8 ^{ab}	269.3±6.3 ^b	306.8±4.8
Weight gain	(g)	228.9±4.1 ^a	223.2±2.3 ^{ab}	221.7±6.3 ^{abc}	209.2±2.9 ^{bcd}	196.6±6.2 ^d	233.5±2.7
Food intake	(g)	769.3±22.4	746.9±17.7	721.1±32.1	708.2±11.8	740.1±28.3	756.3±13.3
Food efficiency*		0.30±0.01 ^a	0.30±0.01 ^a	0.31±0.01 ^a	0.30±0.01 ^{ab}	0.27±0.01 ^b	0.31±0.00
Clinical chemistry values							
Total-cholesterol	(mg/dl)	91.3±3.7	83.5±4.6	78.2±6.1	95.0±4.7	96.6±6.1	65.4±2.1
HDL-cholesterol	(mg/dl)	51.4±2.3	51.7±2.2	49.7±4.5	54.4±3.1	52.5±2.3	41.1±1.1
Triglyceride	(mg/dl)	204.7±21.2	212.2±26.0	196.1±25.4	312.3±35.7	353.2±71.4	213.1±14.9
Glucose	(mg/dl)	213.9±8.0	211.0±10.1	192.9±5.9	207.9±5.9	219.0±9.6	198.0±5.3
Insulin	(pg/ml)	3324.9±349.4	3509.9±617.7	3700.7±870.3	3237.7±298.5	2508.9±337.0	2175.3±135.5
NEFA	(mEq/l)	1.2±0.1 ^{ab}	1.4±0.2 ^a	1.0±0.1 ^{ab}	1.3±0.1 ^{ab}	0.9±0.1 ^b	0.9±0.0
Tissue weights							
Liver	(g)	12.9±0.4	13.5±0.3	14.3±0.6	14.3±0.5	14.3±0.6	13.6±0.5
Kidney	(g)	2.1±0.1 ^a	2.3±0.1 ^{ab}	2.4±0.0 ^b	2.5±0.1 ^b	2.5±0.1 ^b	2.3±0.1
Intra-adipose tissues							
Epididymal fat	(g)	4.2±0.2	3.9±0.2	4.0±0.5	3.6±0.3	3.3±0.3	3.2±0.1
Perirenal fat	(g)	7.5±0.6	7.2±0.4	6.0±0.7	6.1±0.3	5.8±0.4	5.6±0.3
Mesenteric fat	(g)	5.0±0.2	5.0±0.2	4.4±0.6	4.3±0.1	4.2±0.3	4.1±0.3
Total fat	(g)	16.6±0.8	16.2±0.7	14.4±1.7	14.0±0.6	13.3±0.8	12.9±0.7
Liver total lipid (mg/g tissue)		47.5±1.5	47.3±3.8	40.5±4.3	41.7±2.9	40.9±2.1	31.3±4.2

Each value represents mean±SEM.

Different superscript letters show significant difference at $P < 0.05$.

* Food efficiency = Weight gain / Food intake.

た群では、肥満が認められている。また、コーンスターチ 50% + ショ糖 10% + フラクトース 3.75% + D-ブシコース 1.25% の飼料を摂取した群では、抗肥満効果が認められている¹⁵⁾。

グルコースにフラクトースが加わった際の肥満機序およびそれに対する D-ブシコースの抗肥満作用機序に関しては、フラクトースの濃度比も含めて更に検討する余地がある。

以上のことから、D-ブシコースは異性化糖に対して体脂肪蓄積抑制効果を有し、優れた抗肥満作用を有する素材として有用であると考えられる。今後は、飼料組成などを考慮し、D-ブシコースの体脂肪蓄積抑制機序を検討していきたい。

3. 要約

D-ブシコースの体脂肪蓄積抑制効果に関して、ラットを用いて検討した。

4 週齢 Wistar 系雄性ラットに異性化糖食または異性化糖食に D-ブシコースを 1.3%, 2.6%, 3.9%, 5.2% 添加した飼料を 5 週間自由摂取させた。体重、摂餌量、脂肪重量および各種血液生化学的指標に及ぼす影響を検討した結果、D-ブシコースを 5.2% 摂取した群は、異性化糖食と比較し

て、体重において有意な低値を示した。腎周囲脂肪および脂肪組織重量に関しては、用量依存的な低下が認められた。これらのことから、D-ブシコースは異性化糖に対しても体脂肪蓄積抑制効果を示すと考えられた。

文 献

- 1) 厚生労働省, 特定健康診査及び特定保健指導の実施について. 健発第 0310007 号, 保発第 0310001 号, 平成 20 年 3 月 10 日.
- 2) Lu, Y., Levin, G.V. and Donner, T.W., Tagatose, a new antidiabetic and obesity control drug. *Diabetes Obes. Metab.*, **10**, 109-134 (2008).
- 3) Matsuo, T., Suzuki, H., Hashiguchi, M. and Izumori, K., D-psicose is a rare sugar that provides no energy to growing rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **48**, 77-80 (2002).
- 4) Iida, T., Hayashi, N., Yamada, T., Yoshikawa, Y., Miyazato, S., Kishimoto, Y., Okuma, K., Tokuda, M. and Izumori, K., Failure of D-psicose absorbed in the small intestine to metabolize into energy and its low large intestinal fermentability in humans. *Metabolism Clinical and Experimental*, **59**, 206-214 (2010).
- 5) Whistler, R.L., Singh, P.P. and Lake, W.C., D-psicose metabolism in the rat. *Carbohydr. Res.*, **34**, 200-202 (1974).
- 6) 松尾達博, ラットにおける D-ブシコースの血糖値上昇抑制作用, 栄食誌, **59**, 119-121 (2006).

- 7) Matsuo, T., Baba, Y., Hashiguchi, M., Takeshita, K., Izumori, K. and Suzuki, H., Less body fat accumulation with D-xylose diet versus D-fructose diet. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **30**, 55-65 (2001).
- 8) Gross, L.S., Li, L., Ford, E.S. and Liu, S. Increased consumption of refined carbohydrates and the epidemic of type 2 diabetes in the United States : an ecologic assessment. *Am. J. Clin. Nutr.*, **79**, 774-779 (2004).
- 9) Schulze, M.B., Manson, J.E., Ludwig, D.S., Colditz, G.A., Stampfer, M.J., Willett, W.C. and Hu, F.B., Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA*, **292**, 927-934 (2004).
- 10) Mayes, P.A., Intermediary metabolism of fructose. *Am. J. Clin. Nutr.*, **58**, 754-765 (1993).
- 11) Elliott, S.S., Keim, N.L., Stern, J.S., Teff, K. and Havel, P. J., Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *Am. J. Clin. Nutr.*, **76**, 911-922 (2002).
- 12) Folch, J., Lees, M. and Sloane, Stanley, G.H., A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509 (1957).
- 13) Matsuo, T., Tanaka, T., Hashiguchi, M., Izumori, K. and Suzuki, H., Effects of oral acute administration and subchronic feeding of several levels of D-xylose in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **48**, 512-516 (2002).
- 14) Matsuo, T., Baba, Y., Hashiguchi, M., Takeshita, K., Izumori, K. and Suzuki, H., Dietary D-xylose, a C-3 epimer of D-fructose, suppresses the activity of hepatic lipogenic enzymes in rats. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, **10**, 233-237 (2001).
- 15) Matsuo, T. and Izumori, K., Effects of dietary D-xylose on diurnal variation in plasma glucose and insulin concentrations of rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 2081-2085 (2006).
- 16) Yagi, K. and Matsuo, T., The study on long-term toxicity of D-xylose in rats. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **45**, 271-277 (2009).
- 17) Matsuo, T. and Izumori, K., Effects of supplemental D-xylose on glucose tolerance and serum adipocytokine levels in rats fed a high-fat diet or a low-fat diet. *J. Oleo Sci.*, **53**, 453-460 (2004).
- 18) Til, H.P., Kuper, C.F., Falke, H.E. and Bär, A., Subchronic oral toxicity studies with erythritol in mice and rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **24**, 221-231 (1996).
- 19) Bär, A., Lina, B.A., de Groot, D.M., de Bie, B. and Appel, M.J., Effect of D-tagatose on liver weight and glycogen content of rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **29**, 11-28 (1999).
- 20) Raushel, F.M. and Cleland, W.W., Bovine liver fructokinase : purification and kinetic properties. *Biochemistry*, **16**, 2169-2175 (1977).
- 21) Van Schaftingen, E. and Davies, D.R., Fructose administration stimulates glucose phosphorylation in the livers of anesthetized rats. *FASEB J.*, **5**, 326-330 (1991).
- 22) Van Schaftingen, E., Detheux, M. and Veiga da Cunha, M., Short-term control of glucokinase activity : role of a regulatory protein. *FASEB J.*, **8**, 414-419 (1994).
- 23) Tokuda, M., Murao, K., Ishida, T. and Izumori, K., Composition for inhibiting the onset of arteriosclerosis and inhibition method. US Patent Application Publication, US. 2008/0221044, ESep. 11 (2008).

(平成 21 年 9 月 18 日受付, 平成 22 年 2 月 16 日受理)