

希少糖D-プシコースが高脂肪食ラットの糖代謝に及ぼす影響

檜垣俊介*・松尾達博

Effects of rare sugar D-psicose on carbohydrate metabolism in rats fed a high-fat diet

Shunsuke Higaki* and Tatsuhiro Matsuo

Summary

In this study, we investigated the effects of long-term feeding of dietary D-psicose on carbohydrate metabolism in rats fed a high-fat diet. Sixty-one male Wistar rats (3 weeks old) were placed into 3 groups; a high-carbohydrate diet (HC) group, a high-fat diet (HF) group, and a high-fat-3% D-psicose diet (HFP) group. These diets were fed to the rats (n=20-21) *ad libitum* until death. We carried out oral glucose tolerance tests (OGTT) after 6, 18, and 24 months of feeding of each experimental diet, and blood biochemical tests after 12, 18, 24, and 30 months of feeding. Body weight was significantly higher in the HF and HFP groups than in the HC group, but no difference was observed between the HF and HFP groups. In the OGTT, plasma glucose and insulin concentrations after glucose administration, and the area under the curve (AUC) of plasma glucose did not differ among the three groups. The AUC of plasma insulin and HOMA-R were lower in order of the HFP, HF, and HC group, but the difference was not significant. In the blood biochemical tests, indices of carbohydrate and fat metabolism did not differ between the HF and HFP groups. These results suggest that D-psicose did not improve carbohydrate metabolism in rats fed a long-term high-fat diet.

Key Words : D-psicose, long-term feeding, high fat diet, carbohydrate metabolism, rat

緒 言

自然界に存在量が少ない希少糖の一つであるD-プシコースは、生体内でほとんど代謝されない単糖であり、エネルギー価がほぼ0 kcal/gであると報告されている⁽¹⁾。近年、D-プシコースの生理作用に関する研究成果が数多く報告されており、D-プシコースなど希少糖を含む甘味料が食品として利用されるようになり、一般社会に広く普及している。

これまでに、動物実験およびヒトに対する研究において、D-プシコースの食後血糖値上昇抑制作用や体脂肪蓄積抑制作用等が認められたことから、抗肥満・抗糖尿病作用を有する機能性単糖としての可能性が示唆されてきた。また、ラットを用いた急性および慢性毒性試験、ヒト長期摂取試験において安全性も確認されている^(3,4)。

しかし、D-プシコースが糖代謝に与える影響を調べた研究、主に若年から成熟ラットを用いた動物実験では、D-プシコースの摂取期間が数週から長くても数ヶ月間である場合がほとんどである^(5,6,7,8)。甘味料は嗜好飲料など様々な食品に利用されており、ほぼ生涯にわたり摂取される食品であるため、D-プシコースを甘味料として普及させるためには、さらに長期の糖代謝への影響を検討する必要性が考えられる。特に加齢に伴う糖代謝の低下をD-プシコースが抑制できるか否かを調べる意義は大きい。

そこで本研究では、肥満・糖尿病を発症しやすい高脂肪食⁽⁹⁾にD-プシコースを添加し、ラットに生涯摂取させることによる生体への影響を調べることを目的とし、糖代謝に関係する生化学検査および糖負荷試験を実施した。なお本研究は、香川大学動物実験規則（平成19年2

* 愛媛大学大学院連合農学研究科 United Graduate School of Agricultural Sciences, Ehime University

月1日施行)に従い、予め香川大学動物実験委員会の承認を受けた。

実験方法

1. 実験動物および実験食

実験動物には、3週齢のWistar系雄ラット(日本エスエルシー株式会社、静岡)61匹を用い、市販粉末飼料(MF, オリエンタル酵母工業株式会社、東京)で1週間予備飼育した。本飼育開始時に、体重が均等になるようラットを3群に分け、それぞれ高炭水化物食群(HC)群(n=20)、高脂肪食(HF)群(n=20)、3% D-ブシコース添加高脂肪食群(HFP)群(n=21)とした。飼育室については、8時から20時までを明期とする12時間の明暗サイクルとし、室温 22 ± 2 ℃、湿度 55 ± 5 %に調節した。ラットをステンレス製個別ゲージに入れ、水および飼料は自由摂取とした。飼育期間中、毎週火、木、土曜日に各群ラットの体重および食餌摂取量を測定した。

各群ラットに与えた実験食の食餌組成、栄養素組成および栄養素エネルギー比を表1に示した。D-ブシコースの添加量については、先行研究である6ヶ月間長期安全性試験結果より決定した⁽⁴⁾。

2. 経口糖負荷試験(OGTT)

飼育開始後6ヶ月、18ヶ月および24ヶ月に経口糖負荷試験(OGTT)を行った。ラットをOGTT前に6時間絶

表1 食餌組成

	HC	HF	HFP
MF粉末 (g/kg) ¹⁾	810	810	810
スターチ (g/kg)	160	0	0
牛脂 (g/kg)	0	160	160
スクロース (g/kg)	30	30	0
D-ブシコース (g/kg)	0	0	30
合計	1,000	1,000	1,000
【栄養素組成】			
エネルギー (kcal/g) ²⁾	3.60	4.47	4.35
たんぱく質 (g/kg)	187.3	187.1	187.1
脂質 (g/kg)	42.4	201.3	201.3
糖質 (g/kg)	616.0	477.9	477.9
【エネルギー比 ²⁾ 】			
たんぱく質 (%)	20.8	16.7	17.2
脂質 (%)	10.6	40.5	41.6
糖質 (%)	68.5	42.7	41.2
合計	100	100	100

¹⁾ オリエンタル酵母工業株式会社(東京)製

²⁾ D-ブシコースのエネルギー価を0 kcal/gとして計算

食させ、各群無作為に選出した3~7匹に40%グルコース溶液(2g/kg体重)を、ゾンデで経口投与し、投与後120分まで30分間隔で尾静脈穿刺による採血を行った。得られた血液から血漿を分離し、血糖値およびインスリン値の分析を、株式会社モノリス(東京)に委託した。

OGTTで得られた血糖値およびインスリン値から時間曲線下面積(AUC: area under the blood concentration time curve)とインスリン抵抗性の指標であるHOMA-R値(空腹時インスリン値 $\mu\text{U/ml} \times$ 空腹時血糖値 $\text{mg/dl} \div 405$)を算出した。なお、ラットではインスリンの国際単位はないので、参考にヒトの場合の $1 \text{ mg} = 23.1 \text{ IU}$ を採用した。

3. 血液生化学検査

飼育開始後12ヶ月、18ヶ月、24ヶ月および30ヶ月に血液生化学検査のための採血を、6時間絶食後に各群から無作為に選出した5~7匹について尾静脈穿刺により実施した。得られた血液から血漿を分離し、糖代謝および脂質代謝の指標として、血糖値(GLU)、インスリン値(IRI)のほかに、総コレステロール(CHO)、中性脂肪(TG)、遊離脂肪酸(NEFA)の分析を株式会社モノリス(東京)に委託した。また、空腹時血糖値ならびにインスリン値を用いて、HOMA-R値を算出した。

4. 統計学的分析

全ての測定値を、平均値 \pm 標準偏差で表記した。各群間の母平均の差の検定は、Tukey HSD法(SPSS ver.18, 日本アイ・ビー・エム株式会社、東京)で比較し、 $p < 0.05$ を統計学的有意水準とした。群間に有意差を認めた場合、平均値に異なる上付ラテン文字を付して表し、すべての群で有意な差が認められない場合は、その表記を省略した。

結果および考察

1. 体重、食餌摂取量およびエネルギー効率

飼育期間30ヶ月間の体重、食餌摂取量ならびにエネルギー効率を、6ヶ月毎の平均値として表2に示した。

各群ラットの体重は、最初の6ヶ月間に急速に増加し、およそ18ヶ月でピークに到達した後、減少に転じた。飼育30ヶ月まで、6ヶ月毎の体重は、HC群に比べてHF群およびHFP群で有意に高値であった。また、HFP群とHF群の体重には有意差は認められなかったが、飼育6ヶ月から24ヶ月までの間ではHFP群で低値を示す傾向にあった。

飼育24ヶ月まで6ヶ月毎の平均飼料摂取量は、HF群およびHFP群に比べてHC群で有意に高値を示し、ほぼ一定に推移した後、減少に転じた。24ヶ月以降では、各

表2 体重, 食餌摂取量及びエネルギー効率

	期	HC	HF	HFP
体重 ¹⁾ (g)	開始時	80.6 ± 8.9 ^b	81.2 ± 7.5 ^a	83.0 ± 5.7 ^a
	6ヶ月	396.4 ± 29.7 ^b	424.4 ± 32.5 ^a	420.9 ± 20.7 ^a
	12ヶ月	451.1 ± 31.0 ^b	498.0 ± 34.6 ^a	483.6 ± 25.1 ^a
	18ヶ月	476.9 ± 36.4 ^b	531.6 ± 36.1 ^a	512.3 ± 36.8 ^a
	24ヶ月	434.1 ± 58.6 ^b	507.5 ± 31.8 ^a	501.7 ± 45.6 ^a
	30ヶ月	373.8 ± 54.0 ^b	398.5 ± 68.2 ^a	405.7 ± 73.9 ^a
	36ヶ月		244.0	
食餌摂取量 ²⁾ (g/日)	~6ヶ月	15.94 ± 1.06 ^a	13.99 ± 1.13 ^b	14.26 ± 0.74 ^b
	~12ヶ月	16.71 ± 0.97 ^a	14.19 ± 0.94 ^b	14.26 ± 0.73 ^b
	~18ヶ月	17.58 ± 1.02 ^a	14.85 ± 1.03 ^b	14.70 ± 1.20 ^b
	~24ヶ月	16.69 ± 1.26 ^a	15.05 ± 1.00 ^b	14.81 ± 1.12 ^b
	~30ヶ月	13.74 ± 4.50	14.35 ± 1.66	12.94 ± 3.65
	~36ヶ月	13.89 ± 4.05	10.82 ± 4.10	11.65 ± 4.57
エネルギー効率 ³⁾ (g/kcal)	6ヶ月	0.0330 ± 0.0019	0.0329 ± 0.0017	0.0326 ± 0.0014
	12ヶ月	0.0052 ± 0.0015 ^b	0.0068 ± 0.0013 ^a	0.0058 ± 0.0011 ^{ab}
	18ヶ月	0.0029 ± 0.0015	0.0034 ± 0.0013	0.0032 ± 0.0022
	24ヶ月	-0.0037 ± 0.0047	-0.0014 ± 0.0018	-0.0006 ± 0.0041
	30ヶ月	-0.0065 ± 0.0040	-0.0089 ± 0.0071	-0.0097 ± 0.0092
	36ヶ月		-0.0204	

データを平均値±SDで示す.

HC, 高炭水化物食群; HF, 高脂肪食群; HFP, 高脂肪食+ブシコース群.

異なる上付ラテン文字を付した群間に有意差あり (p<0.05, Tukey HSD).

¹⁾ 各期末, ²⁾ 各期生存期間中1日あたり, ³⁾ 各期末生存例のみ.

群間に差は見られなかった.

各群におけるラットのエネルギー効率は, 体重が増加する最初の6ヶ月間で最も高値であり, その後, 12ヶ月まで急速に減少した. 飼育6ヶ月から12ヶ月のエネルギー効率は, HC群に比べてHF群で有意に高値であったが, それ以外の期間では各群間に差を認めなかった.

以上の結果から, D-ブシコースを高脂肪食に添加することによる抗肥満作用を確認することはできなかった. このことはD-ブシコースの添加量が3%と比較的少なかったこと, D-ブシコースを添加した飼料が高脂肪食であったことなどによると推察される. 同様に6ヶ月間, 3% D-ブシコース添加飼料を与えた我々の先行研究においても, 対照群(D-ブシコース無添加)と3% D-ブシコース群の体重に有意な差を認めていない⁽⁴⁾.

2. OGTT

飼育開始後6ヶ月, 18ヶ月および24ヶ月におけるOGTTの結果を, それぞれ図1, 2および3に示した.

血糖値の変動について, 6ヶ月および24ヶ月の実測値および変化率のいずれも各群間に有意な差は認められなかった. 18ヶ月では, 投与60分後および90分後の血糖値と90分後の血糖値変化率が, HC群に比べてHF群で有意に高値であったが, HFP群とHC群およびHF群の間に有意な差は見られなかった. AUCについては, いずれの検

査期においても有意な差を認めなかった.

インスリン値の変動についても, 血糖値と同様に6ヶ月および24ヶ月の実測値および変化率のいずれも各群間に有意な差は認められなかった. 飼育18ヶ月においては, 投与30分および120分後のインスリン値がHC群に比べてHFP群で有意に低値であったが, HF群とHFP群の間に有意な差は見られなかった. 一方, インスリン値の変化率では, いずれの検査期においても各群間に有意な差を認めなかった. また, インスリンAUCについては, 飼育24ヶ月では各群間に有意な差は見られなかったが, 飼育6ヶ月では, HFP群, HF群, HC群の順に低値を示す傾向にあり, 飼育18ヶ月では, HC群に比べてHFP群で有意に低値であった.

HOMA-R値については, いずれの検査期においても有意な差は見られなかったが, HFP群, HF群, HC群の順に低値を示す傾向にあった(図4).

血糖値およびインスリンの経時変動には, D-ブシコースの添加による影響は認められなかった. しかし, インスリン抵抗性指標であるHOMA-R値は, 6ヶ月および18ヶ月の検査時期においてHFP群で最も低く, D-ブシコースのインスリン節約効果が期待される. 豊田らは⁽⁷⁾, 8週齢のWistarラットおよび遺伝性糖尿病ラットであるGoto-Kakizakiラットを用いて糖負荷試験を実施し, D-ブシコースの添加により糖負荷後の血糖値および

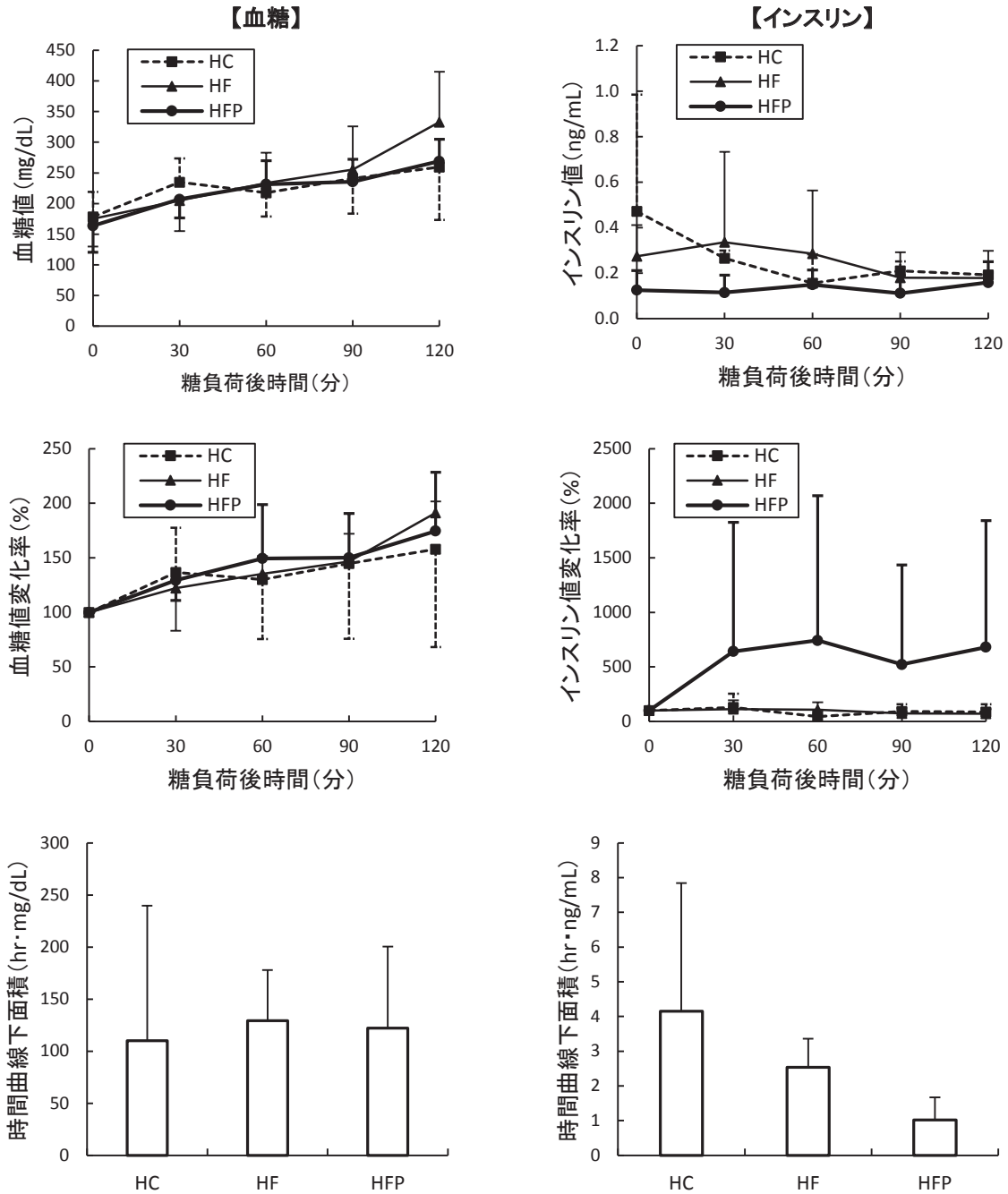


図1 経口糖負荷試験における血糖値とインスリン値の経時変動 (6ヶ月後) データを平均値±SDで示す。HC, 高炭水化物食群 (n=3) : HF, 高脂肪食群 (n=4) : HFP, 高脂肪食+D-プシコース群 (n=4)。

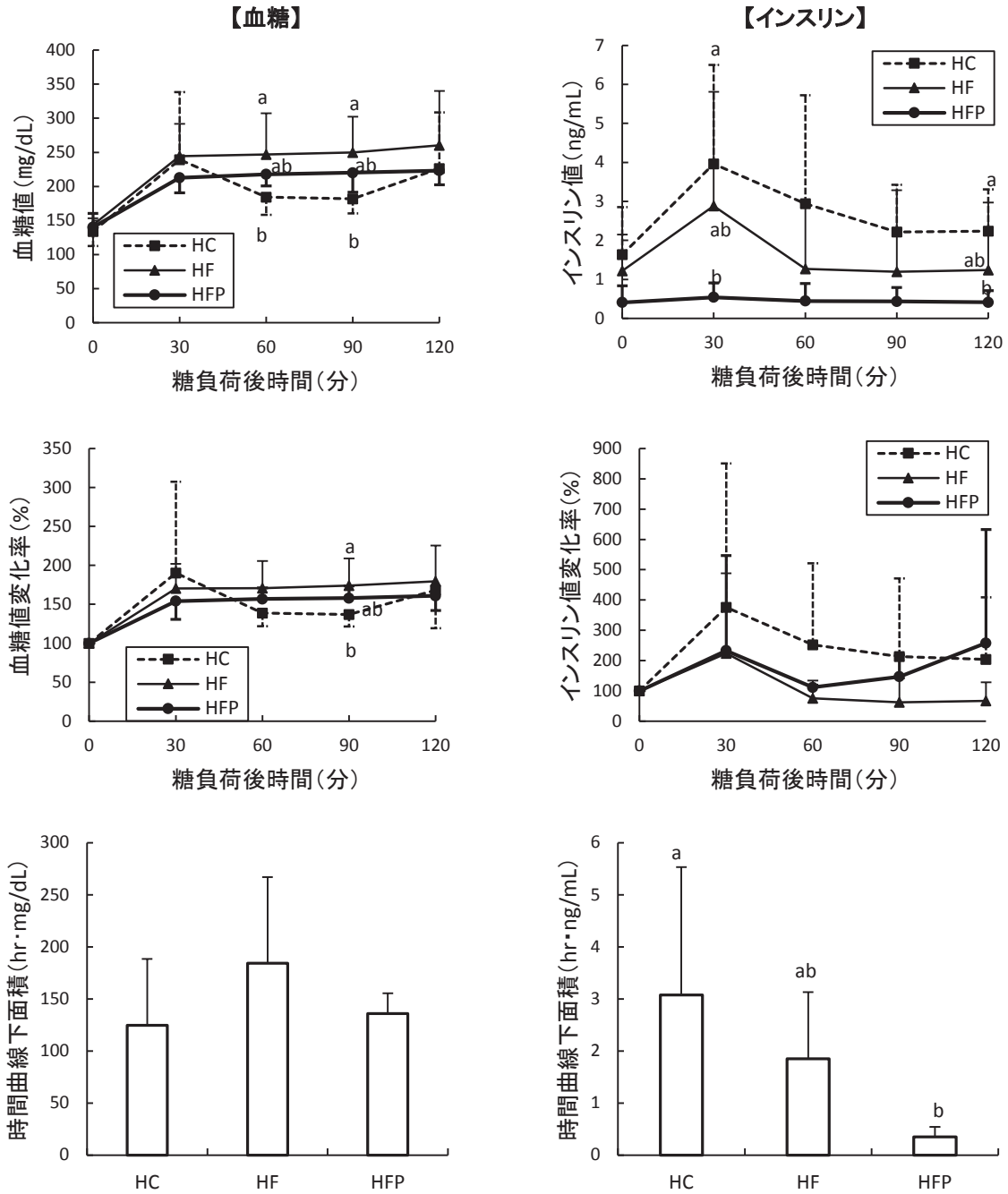


図2 経口糖負荷試験における血糖値とインスリン値の経時変動 (18ヶ月後) データを平均値±SDで示す。HC, 高炭水化物食群 (n=6): HF, 高脂肪食群 (n=6): HFP, 高脂肪食+D-プシコース群 (n=6)。異なる上付ラテン文字を付した群間に有意差 (p<0.05) あり。

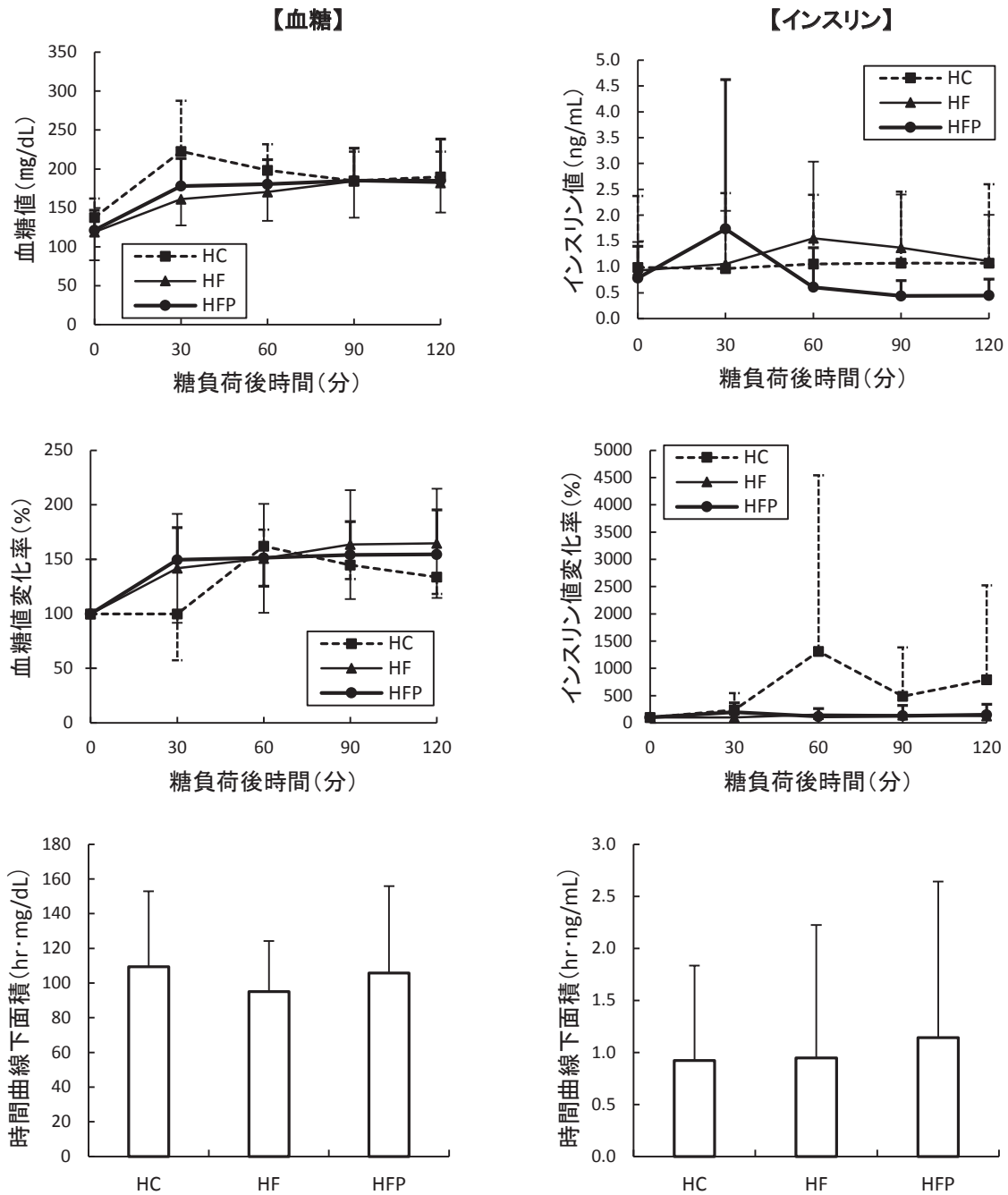


図3 経口糖負荷試験における血糖値とインスリン値の経時変動 (24ヶ月後)
 データを平均値±SDで示す。HC, 高炭水化物食群 (n=3) : HF, 高脂肪食群 (n=4) : HFP, 高脂肪食 + D-プシコース群 (n=4)。

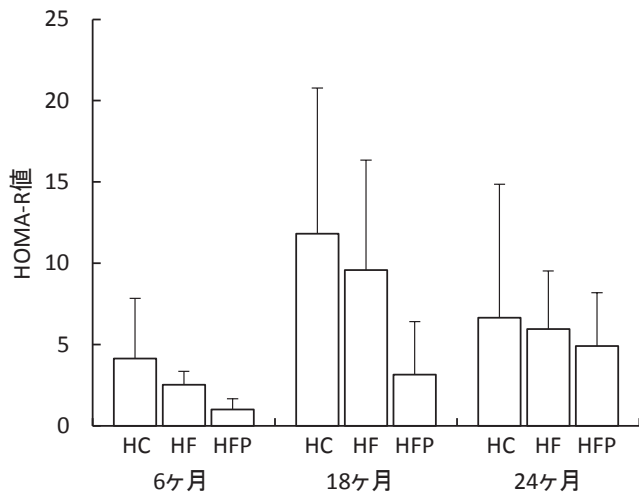


図4 経口糖負荷試験のHOMA-R値
経口糖負荷試験における血糖値とインスリン値の経時変動 (24ヶ月後)
データを平均値±SDで示す。HC, 高炭水化物食群 (n=3) : HF, 高脂肪食群 (n=4) : HFP, 高脂肪食+D-ブシコース群 (n=4)。

血清インスリン濃度が減少することを報告している。また, Hossainらは⁽⁸⁾, 3-14週間, 遺伝性肥満ラットであるOLETFラットにD-ブシコース飲料を与えた結果, 空腹時血漿グルコースおよびインスリン濃度が低下することを認めている。しかし, これらの先行研究は若年あるいは成熟ラットを用いた研究であり, 本研究との結果の差異には, ラットの加齢の影響が関与していると考えられる。また, 本研究ではOGTTに用いたラットの数が少ないため, 正確な結果が得られていない可能性もある。これらについては, 今後詳細に検討すべきかも知れない。

3. 血液生化学検査

血液生化学検査結果を表3に示した。糖代謝に関係するGLU, IRI, HOMA-Rについて, どの期間においても各群間に有意な差は見られなかった。一方, 脂質代謝指標については, 12ヶ月のCHOおよびNEFAが, HF群およびHFP群に比べてHC群で有意に高値であり, TGはHC群に比べてHFP群で有意に高値であった。18ヶ月の

表3 血液生化学検査結果

	HC	HF	HFP
【12ヶ月】	(n=7)	(n=7)	(n=7)
GLU (mg/dL)	166.4 ± 15.4	178.6 ± 31.1	168.0 ± 28.6
IRI (ng/mL)	0.13 ± 0.07	0.37 ± 0.50	0.18 ± 0.12
HOMA-R	1.26 ± 0.67	3.35 ± 3.96	1.71 ± 1.03
CHO (mg/dL)	123.0 ± 17.5 ^a	92.0 ± 11.9 ^b	98.9 ± 10.2 ^b
TG (mg/dL)	88.0 ± 33.8 ^b	128.1 ± 34.8 ^{ab}	179.6 ± 53.6 ^a
NEFA (mEq/L)	1641.7 ± 370.9 ^a	1165.6 ± 177.0 ^b	922.7 ± 154.5 ^b
【18ヶ月】	(n=7)	(n=7)	(n=7)
GLU (mg/dL)	163.3 ± 22.0	156.6 ± 9.5	153.1 ± 18.3
IRI (ng/mL)	0.70 ± 0.79	0.48 ± 0.48	0.37 ± 0.44
HOMA-R	6.13 ± 6.48	4.30 ± 4.34	3.08 ± 3.67
CHO (mg/dL)	127.1 ± 18.6 ^a	101.7 ± 13.5 ^b	99.1 ± 14.6 ^b
TG (mg/dL)	220.7 ± 71.9	191.1 ± 29.9	208.6 ± 78.0
NEFA (mEq/L)	1127.9 ± 344.9	939.4 ± 296.6	802.7 ± 177.9
【24ヶ月】	(n=7)	(n=7)	(n=7)
GLU (mg/dL)	151.3 ± 10.6	154.0 ± 10.8	140.1 ± 16.3
IRI (ng/mL)	0.52 ± 0.59	0.19 ± 0.18	0.30 ± 0.34
HOMA-R	4.34 ± 4.78	1.67 ± 1.49	2.53 ± 2.90
CHO (mg/dL)	139.3 ± 24.1	119.4 ± 19.1	117.4 ± 17.1
TG (mg/dL)	105.3 ± 34.0	141.3 ± 38.2	158.0 ± 79.9
NEFA (mEq/L)	1504.0 ± 375.9	1660.7 ± 388.3	1277.1 ± 418.9
【30ヶ月】	(n=5)	(n=7)	(n=7)
GLU (mg/dL)	112.4 ± 33.2	121.9 ± 39.3	135.9 ± 25.1
IRI (ng/mL)	0.46 ± 0.36	0.61 ± 0.36	0.67 ± 0.48
HOMA-R	3.28 ± 3.56	4.07 ± 2.40	5.54 ± 4.67
CHO (mg/dL)	138.8 ± 27.3	164.6 ± 32.4	148.6 ± 42.2
TG (mg/dL)	121.6 ± 44.7	130.1 ± 38.8	131.7 ± 80.1
NEFA (mEq/L)	1098.6 ± 249.0	1045.7 ± 190.0	794.7 ± 197.0

データを平均値±SDで示す。

HC, 高炭水化物食群; HF, 高脂肪食群; HFP, 高脂肪食+D-ブシコース群。

異なる上付ラテン文字を付した群間に有意差あり (p < 0.05, Tukey HSD)。

CHOは、HF群およびHFP群に比べてHC群で有意に高値であった。他の期間における検査項目については、いずれも各群間に有意な差は見られなかった。

NEFAは、インスリン抵抗性を惹起することが報告されている。このことから、D-プシコースは、長期にわたりNEFAを低く保つことによってインスリン抵抗性の進行を防いでいる可能性がある⁽¹⁰⁾。

以上の結果から、高脂肪食に3% D-プシコースを添加した食餌を非常に長い期間ラットに摂取させても有意な糖代謝改善効果を確認できなかった。このことは、加齢による糖代謝への影響が大きく⁽¹¹⁾、D-プシコースの効果が隠されてしまったのかも知れない。しかし、D-プシコース摂取により、ラットの成長や糖代謝および脂質代謝指標に大きな変化が見られなかったことから、安全性については生涯摂取しても問題ないことが確認された。食品や医療品に応用するにあたっては、今後、疾患モデルなどを用いた同様の研究が必要であると考えられる。

摘 要

希少糖D-プシコースを高脂肪食に添加した食餌を非常に長い期間ラットに摂取させ、D-プシコースが糖代謝に及ぼす影響について検討した。3週齢のWistar系雄ラッ

ト61匹を3群に分け、それぞれ高炭水化物食(HC)、高脂肪食(HF)および3% D-プシコース添加高脂肪食(HFP)を自由に与え、全てのラットが死亡するまで飼育した。実験開始6, 18, 24ヶ月後に経口糖負荷試験(OGTT)を、12, 18, 24, 30ヶ月後に血液生化学試験を実施した。30ヶ月までの体重は、HC群に比べてHF群およびHFP群で有意に高値であったが、HFP群とHF群の間には差を認めず、D-プシコース添加による抗肥満作用は認められなかった。OGTTにおいて、血糖値および血漿インスリン濃度の経時的変動、血糖値時間曲線下面積(AUC)には各群間に差は見られなかったが、インスリンAUCおよびインスリン抵抗性の指標であるHOMA-R値は、HFP, HF, HC群の順に低い傾向にあった。また血液生化学検査において、検査時期に関わらず糖代謝および脂質代謝指標には、HF群およびHFP群の間に有意な差を認めなかった。以上の結果から、非常に長期にわたりD-プシコース添加高脂肪食をラットに摂取させた場合、D-プシコースによる糖代謝改善作用を確認できなかった。

謝 辞

本研究の実施において、助成していただきました松谷化学工業株式会社に深く感謝いたします。

引 用 文 献

- (1) Matsuo, T., Suzuki, H., Hashiguchi, M., Izumori, K. : D-Psicose is a rare sugar that provides no energy to growing rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 48, 77-80 (2002).
- (2) Matsuo, T., Tanaka, T., Hashiguchi, M., Izumori, K., Suzuki, H. : Effects of oral acute administration and subchronic feeding of several levels of D-psicose in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 48, 512-516 (2002).
- (3) Yagi, K., Matsuo, T. : The study on long-term toxicity of D-psicose in rats. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 45, 271-277 (2009).
- (4) 檜垣俊介, 松尾達博 : ラットにおける希少糖D-プシコースの6か月長期試験. *生物工学会誌*, 92, 500-503 (2014).
- (5) Matsuo, T., Izumori, K. : Effects of supplemental D-psicose on glucose tolerance and serum adipocytokine levels in rats fed a high-fat diet or low-fat diet. *J. Oleo. Sci.*, 53, 453-460 (2004).
- (6) Matsuo, T., Izumori, K. : Effects of dietary D-psicose on diurnal variation in plasma glucose and insulin concentrations of rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70, 2081-2085 (2006).
- (7) 豊田行康, 森茂彰, 梅村展子, 二村由里子, 井上博貴, 秦毅司, 三輪一智, 村尾孝児, 西山成, 徳田雅明 : 糖尿病ラットへのグルコース負荷試験におけるD-プシコースの血糖低下作用. *薬理と治療*, 38, 261-269 (2010).
- (8) Hossain, M.A., Kitagaki, S., Nakano, D., Nishiyama, A., Funamoto, Y., Matsunaga, T., Tsukamoto, I., Yamaguchi, F., Kamitori, K., Dong, Y., Hirata, Y., Murao, K., Toyoda, Y., Tokuda, M. : Rare sugar D-psicose improves insulin sensitivity and glucose tolerance in type 2 diabetes Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 405, 7-12 (2011).
- (9) 松尾達博 : 高飽和脂肪食の体脂肪蓄積機構に関する栄養生理学的研究. *日本栄養・食糧学会誌*, 56, 379-387 (2003).
- (10) 中尾一和, 門脇孝 : 脂肪細胞の驚異と肥満. *生活習慣病の解明に向けて*. 講談社, 東京 (1999).
- (11) 宮内秀幸, 南野徹 : 心血管代謝と老化シグナル. *糖代謝と血管老化*. *血管医学*, 9, 65-70 (2008).