蔗糖, グルコース, フルクトース投与の白ネズミ肝臓 ならびに血清脂質量に対する影響について

平沢 芙美子, 下垣 玲子, 時田 昭枝
深川 卯子, 小池 五郎, 吉川 春寿

女子栄養大学栄養生理学研究室

The Effect of Sucrose, Glucose and Fructose Feeding on the Lipid Content of Liver and Serum of Albino Rats

Fumiko Hirasawa, Reiko Shimogaki, Akie Tokita, Shigeko Fukagawa
Goro Koike, Haruhisa Yoshikawa

Laboratory of Nutritional Physiology, Kagawa Nutrition College, Toshima-ku, Tokyo

J. Jap. Soc. Food and Nutr., 25 (4), 328~332 (1972)

Fourty albino rats (70-90 g of body weight) were divided into four groups, and fed low fat (1% corn oil) and high carbohydrate (74% of starch, glucose, fructose and sucrose, respectively) diet for ninety days.

The content of triglyceride, cholesterol and phospholipid were observed in liver and serum, and the activity of hepatic fructokinase were also estimated.

In the fructose and sucrose group the body weight gains were lower, and the ratio of liver, heart, kidneys and spleen per body weight were higher than other two groups. In liver, contents of triglyceride and total cholesterol were high in the starch and the glucose group, free cholesterol in the sucrose group and phospholipid in the fructose group. In serum, contents of triglyceride and total cholesterol were high in the sucrose group. There was no significant difference in the hepatic fructokinase activity. However, somewhat higher activity was observed in the fructose group than the others.

The low content of hepatic triglyceride and total cholesterol observed in the fructose and sucrose group was considered to be caused by the quantity and quality of dietary fat. It was also considered that metabolism of fructose and triglyceride was influenced by the age of experimental animals.

(Received December 14, 1971)

蔗糖を比較的多量摂取すると心筋硬塞の原因になると示唆されているが¹⁾, これはフルクトースが血漿中のトリグリセリドを増加させるためと考えられている²⁾。フルクトースは特異的なフルクトキナーゼによってフルクトース-1-リン酸に変換し, さらにアルドラーゼにより D-glyceraldehyde と dihydroxyacetone-phosphate に分割される^{3) 4)}。しかし, フルクトースが脂質代謝に及ぼす影響に関し, 投与量との関係についてはいまだ充分に解明されてはいない。

そこで, 低脂肪 (コーンオイル 1%) 条件で高糖質食 (デン粉, グルコース, フルクトース, 蔗糖) を白ネズミに投与した場合に血清および肝臓の脂質がどのように

変動するか, またフルクトース代謝に関与するフルクトキナーゼ (E. C. 2. 7. 1. 3) 活性がどのように影響されるかについて観察したので報告する。

実験方法

1. 白ネズミの飼育ならびに処理

体重40~60 gのドンリュース系の雄白ネズミを固型飼料 (オリエンタル酵母 k. k) で飼育し体重が70~90 gとなったものを10匹ずつデン粉投与群, グルコース投与群, フルクトース投与群, 蔗糖投与群の4群にわけ, 表1に示す飼料でさらに90日間飼育した。白ネズミは1匹ずつ金網籠に入れ, 恒温恒湿に保って2日毎に体重測定を行な

Table 1. Composition of the experimental diets (%)

Nutrient	Diet Component	Starch	Glucose	Fructose	Sucrose
C. H.	Starch	74			
	Glucose		74		
	Fructose			74	
	Sucrose				74
Prot.	Casein		17.7		
	DL-Methionine		0.3		
Fat	Corn oil		1		
Mineral	Mineral mix.*		4		
Vitamin	Vitamin mix.*		1		
Cellulose	Powdered Cellulose		2		
	Choline chloride*		100mg/diet Kg		
Calorie/100 g diet		328	346	346	361

* From Tanabe amino acid research foundation.

った。1日当りの飼料投与量は10gから始め、体重増加に従って15g、20gと増量させた。粉末飼料として毎日一定時間に与え、水は自由に飲ませた。

飼育91日目に24時間絶食させた後、白ネズミにイソミタル10%溶液0.8mlを筋注して持続睡眠状態とした後、腹部を開いて心臓より血液5~6mlを注射器で採取後、肝臓、腎臓、心臓、脾臓を切り取り、重量測定を行なった。血液は室温に20分間放置した後遠沈して血清を得た。

2. 血清および肝臓の脂質の定量

肝臓1gを25倍容のクロロホルム-メタノール(2:1)で、60°C、15分間加温抽出した。

肝抽出液ならびに血清について、トリグリセリドはVanhandelの変法である春日法⁵⁾、リン脂質は湿性灰化によるFiske-Subbarow法⁶⁾、総コレステロールはZak-Henly法⁷⁾、遊離コレステロールはジギトニン沈澱法を用いて測定した。

3. 肝臓のフルクトキナーゼ活性の定量⁸⁾

肝臓に4倍量の0.25Mマニトールを加え、ホモジナイザーを用い、1,000rpm1分間ホモジナイズした後、塩酸でpH5.1とし、35,000×g、20分間遠心して得られる上清をすばやくpH7.3にもどし、85°Cの温浴中で65°Cになるまで温めた後、再び、35,000×g、15分間遠心分離した上清について活性度を測定した。分離操作は0~4°Cで行なった。

活性測定の反応組成は、0.05Mトリエタノールアミン緩衝液、(pH7.5)2.0ml、3M KCl 0.1ml、Pyruvate Kinase (P. K) 10U、乳酸脱水素酵素 (L. D. H) 10U、0.005 M NADH 0.1ml、0.05M リンエノールピルビン酸0.2ml、0.45M ATP 0.1ml、0.3M MgCl₂ 0.2ml、0.075M フルクトース0.2mlに酵素液0.05mlを加え、生成するNADHを日立101型の分光光度計を用い340nm

で測定した。

酵素活性は酵素たん白質1mgが1分間に生成されるADPのμmolで表わした。

実験結果

各食餌投与による成長を比較すると(図1)、増加が最も著しかったのはデン粉群で、次いでグルコース群、蔗糖群、フルクトース群の順であった。

体重増加量を食餌摂取あたりで示すと(表2)、デン粉群、グルコース群が、フルクトース群、蔗糖群を上回る結果を示した。

各臓器重量とそれらの体重に対する比率は(表3)、各群間に有意差は認められなかったが、各臓器とも、デン粉群、グルコース群に比較して、フルクトース群、蔗糖群の方が大きい値を示す傾向がみられた。

血清および肝臓中の各成分値に関しては(表4、表

Fig. 1. Weight gains of rats.

Weight gains of rats for 13 weeks, given starch (●—●), glucose (▲—▲), fructose (■—■) and sucrose (○—○).

Table 2. Effect of high-carbohydrate diets on food consumption and body-weight of rats

Diet	No. of rats	Initial weight (g)	Weight increase in 13 weeks (g)	Amount of diet eaten (kg)	g amount of diet eaten/day	g diet eaten/g weight increase	g weight increase/day
1. Starch	10	83	205	1.41	15.5	6.9	2.3
2. Glucose	10	83	209	1.42	15.6	6.8	2.3
3. Fructose	10	83	143	1.27	14.0	8.9	1.5
4. Sucrose	9	84	170	1.28	14.1	7.8	1.8

Table 3. Effect of high-carbohydrate diets on the weight of heart, kidneys, liver and spleen of rats

Diet	No. of rats	body-weight (g)	Heart		Kidneys		Liver		Spleen	
			Weight (g)	% of body-weight	Weight (g)	% of body-weight	Weight (g)	% of body-weight	Weight (g)	% of body-weight
1. Starch	10	288±34	1.2±0.2	0.41	2.3±0.3	0.80	7.8±0.7	2.7	0.6±0.1	0.20
2. Glucose	10	292±26	1.2±0.1	0.40	2.3±0.2	0.77	7.7±0.9	2.6	0.7±0.2	0.23
3. Fructose	10	226±32	1.0±0.1	0.44	2.2±0.3	0.96	7.0±0.4	3.1	0.6±0.1	0.26
4. Sucrose	9	254±27	1.2±0.2	0.47	2.4±0.3	0.95	8.1±1.2	3.2	0.7±0.1	0.26

Table 4. Effect of high-carbohydrate diets on liver lipid content of rats

Diet	No. of rats	Triglyceride (g/100 g)	Cholesterol			Phospholipid (g/100 g)
			Total (mg/100 g)	Free (mg/100 g)	Free/total (%)	
1. Starch	10	8.8±3.1 ⁺	621±121.5	254±29.8	41	3.27±0.09
2. Glucose	10	8.1±1.6	600±81.3	276±19.1	46	3.32±0.24
3. Fructose	10	3.0±1.4	502±68.5	262±36.0	52	3.58±0.21
4. Sucrose	9	5.0±2.3	564±82.8	279±41.6	49	3.34±0.34
Significance of difference between 4 diets.		1>3, 4*; 2>4**	3<1, 2**			1<3*; 2<3**

⁺ Values are the means ± S.D.

* Significant at $P<0.01$

** Significant at $P<0.05$

Table 5. Effect of high-carbohydrate diets on serum lipid content of rats

Diet	No. of rats	Triglyceride (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)
1. Starch	10	23±7.3 ⁺	60±19.6	101±21.5
2. Glucose	10	29±6.6	64±19.4	110±19.9
3. Fructose	10	29±7.0	113±16.2	157±21.7
4. Sucrose	9	36±6.7	98±36.8	134±36.4
Significance of difference between 4 diets.		1<4*	1, 2<3*; 1, 2<4**	1, 2<3*; 3>4**

⁺ Values are the means ± S.D.

* Significant at $P<0.01$

** Significant at $P<0.05$

5), トリグリセリド濃度は血清中ではほとんど差はみられなかったが, 蔗糖群のみが少し高値を示した。肝臓中では, デン粉群, グルコース群が, フルクトース群より有意差をもって高値を示した。総コレステロール濃度は, 血清中では, フルクトース群, 蔗糖群が, 肝臓では, デン粉群, グルコース群がそれぞれ1%および5%の有意差で他群より高値を示した。肝臓中遊離コレステロール濃度は各群間に有意差は認められなかったが, 遊離コレステロールの総コレステロールに対する比率では, フルクトース, 蔗糖, グルコース, デン粉群の順で高かった。

リン脂質濃度は血清中では, フルクトース群が他群よりも有意差をもって高く, 肝臓中濃度でも同様な傾向がみられた。

Table 6. Effect of high-carbohydrate diet on liver fructokinase activity of rats

Diet	No. of rats	Units per mg of liver protein
1. Starch	10	0.019±0.008 ⁺
2. Glucose	10	0.021±0.010
3. Fructose	10	0.024±0.008
4. Sucrose	9	0.022±0.010

⁺ Values are the means ± S.D.

肝臓中フルクトキナーゼ活性は表6に示すとおりで, 各群間における有意差は認められなかったが, フルクトース群が他群より高い傾向を示した。

考 察

本実験で, フルクトース群, 蔗糖群の食餌摂取量が, デン粉群, グルコース群に比較して少なかったが, Allen⁹⁾も同様な事実を報告している。

各臓器の体重に対する比率には有意差は認められなかったが, 平均値でみるとフルクトース群, 蔗糖群で高比率を示している。このことも Allen⁹⁾が認めた傾向とよく一致しており, その理由は明らかではないが興味深い現象である。

肝臓のトリグリセリド, 総コレステロール濃度が予想に反して, フルクトース群, 蔗糖群で低値を示したのは, 脂肪源としてコーンオイルを用いたためと考えられる。今回の実験で脂質量を低くして行なったのは脂肪による影響をできるだけ避けて, 高糖質食の影響を明確にしたいと考えたためであるが, Carroll¹⁰⁾は15%脂肪食で脂肪源としてコーンオイルを用いた時, 他の種類の油(水素添加したコーンオイル, ココナツ油)を用いた時より, フルクトース食では肝臓中の脂質濃度(トリグリセリドおよびコレステロール)は低値を示すことを報告し

ている。

実験期間や摂取脂質量に差があるので厳密には比較できないが, フルクトース投与に際して, 脂質源として用いられる脂肪の種類と量が肝臓脂質に対して何らかの影響を及ぼすものと思われる。

さらに Hill¹¹⁾はフルクトースの10%溶液を食餌と一緒に飲ませた時に, 成熟白ネズミでは肝臓のトリグリセリド濃度は増加するが, 幼若白ネズミでは増加しないことを観察している。飼育期間に差があるが, われわれの実験でも幼若白ネズミを対象としたことが, 肝臓のトリグリセリド濃度が増加しなかった原因であるとも考えられる。Allen⁹⁾もこのことを考慮して成熟白ネズミを用いて肝臓のトリグリセリド濃度の増加を観察している。

しかし, われわれの実験でも, 肝臓中の遊離コレステロールの総コレステロールに対する比率や, リン脂質濃度については, フルクトース群, 蔗糖群で明らかに高値を示すことが認められた。

さらに, 血清中の成分については, トリグリセリド濃度に明確な差は認められなかったが, 総コレステロール, リン脂質濃度では有意差をもって, フルクトース群, 蔗糖群が高値を示した。これはフルクトースが血清に関する脂質代謝に大きく影響することを示し, 肝臓に蓄積されなかった脂肪があるいは血清中へ流出してくるのではないかと考えられる。このことについて, H-Bar-On¹²⁾らは白ネズミにグルコースを与えたときには, リポプロテインリパーゼの作用を促進するため, 血清中のトリグリセリドは分解され脂肪酸として脂肪組織に運ばれるが, フルクトースを与えた場合には, リポプロテインリパーゼに対する作用促進効果が少なく, このため, 血清中に脂肪が増加するのではないかと考察している。

最近, Little¹³⁾らは高脂血症患者において種々の食餌状態での蔗糖の影響について報告している。それによると低コレステロール, 低動物性脂肪食のときはデン粉を蔗糖で置き換えても変化は生じないが, 高動物性脂肪食のときには血清脂質量は明らかに増加するという。また飽和脂肪酸を蔗糖に負荷した場合には血清トリグリセリド濃度は増加するが, 多価不飽和脂肪酸と低コレステロールを負荷した場合には著しい影響がないといっている。

フルクトースとグルコース代謝が異なることについては多くの研究報告がなされ, フルクトース負荷時において, フルクトースからアシル CoA¹⁴⁾やグリセリド-グリセロールへの変換が大であること^{11), 15)-17)}, 腸管や血液からの吸収速度が速いこと¹⁷⁾, リポプロテインリパーゼに対する促進作用が少ないこと¹²⁾, インシュリン分泌に対する影響が少ないこと¹⁷⁾, さらには解糖系の酵素がより多く生成され^{18), 19)}, グルコースよりも脂質代謝中間

代謝物に速く変換されやすいことが明らかにされている。また、Nikkilä らは、フルクトース、蔗糖摂取が人や実験動物で高脂血症を引き起す原因となり得るとしている¹⁹⁾。

しかし、これらの研究は飼料中糖質の種類についてのみ考慮した実験で、糖質と脂質の複雑な相互関係について触れた研究はない。今回の実験の結果、この点について検討すべき点が残されていることが明らかとなった。

フルクトキナーゼ活性は、フルクトース投与群にグルコキナーゼやヘキソキナーゼより増加が著しい^{20) 21)}。これはフルクトースがグルコースに比較して速く代謝されるためと考えられている。今回の実験は長期実験であったので明確な差は認められなかったが、フルクトース投与群が他群より高い傾向を示したのは、この理由によるのではないかと考えられる。

要 約

低脂肪（コーンオイル1%）条件で高糖質食（デン粉、グルコース、フルクトース、蔗糖74%）を雄白ネズミ（70～90g）40匹に90日間与えた場合の血清ならびに肝臓の脂質含量を観察するとともに、肝フルクトキナーゼ活性についても測定した。

その結果、体重増加は、フルクトース群、蔗糖群が他群より少なかったが各臓器（肝臓、心臓、腎臓、脾臓）の体重に対する比率は蔗糖群、フルクトース群で大きかった。また肝臓中の成分については、トリグリセリドおよび総コレステロール濃度は、デン粉、グルコース群で高く、リン脂質濃度はフルクトース群が高値を示した。血清中の成分については、トリグリセリド濃度では蔗糖群が他群より少し高値を示し、総コレステロール濃度は蔗糖群が他群より高値を示した。肝フルクトキナーゼ活性は各群間における有意差は認められなかったが、フルクトース群が他群より高い傾向を示した。

以上の結果から、肝臓のトリグリセリドおよび総コレステロール濃度が予想に反して、フルクトース、蔗糖群で低値を示したのは飼料中の脂肪量が少なかったためと脂肪源としてコーンオイルを用いたためと考えられ、フルクトース投与に際して脂肪源として用いられる脂肪の種類と量が肝臓の脂質に対して何らかの影響を及ぼすも

のと考えられる。また、フルクトースまたはトリグリセリドの代謝は、用いられる白ネズミの年齢により異なるのではないかと思われる。

終わりに、本実験、トリグリセリドの定量にあたり御指導を賜った、関東通信病院第二検査部長、春日誠次博士、ならびに実験に際しグルコースを提供して下さったブドー糖工業会に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) Yudkin, J.: *Lancet*, i, 1335 (1963)
- 2) 五島雄一郎:「脂質代謝異常の臨床」, 216 (1971), 南山堂（東京）
- 3) Herman, R. H. and Zakim, D.: *Am. J. Clin. Nutr.*, 21, 245 (1968)
- 4) Zakim, D. and Herman, R. H.: *Am. J. Clin. Nutr.*, 21, 315 (1968)
- 5) 春日誠次: 私信による
- 6) 吉川春寿: 臨床医化学 I, 298 (1962), 協同医書出版（東京）
- 7) 柴田 進, 北村元仕: 臨床生化学定量法, 142 (1963), 中山書店（東京）
- 8) Adelman, R. C., Balland, F. J. and Weinhouse, S.: *J. B. C.*, 242, 3360 (1967)
- 9) Allen, R. J. L.: *Br. J. Nutr.*, 20, 339 (1966)
- 10) Carroll, C.: *J. Nutr.*, 82, 163 (1964)
- 11) Hill, P.: *Lipids*, 55, 621 (1969)
- 12) H-Bar-On and Stein, Y.: *J. Nutr.*, 94, 95 (1968)
- 13) Little, J. A.: *J. Atherosclerosis Res.*, 11, 173 (1970)
- 14) Zakim, D., Pardini, R. S., Harman, R. H. and Sauberlich, H. E.: *B. B. A.*, 144, 242 (1967)
- 15) Nikkilä, E. A. and Pelkonen, R.: *Soc. Exp. Biol. Med.*, 123, 91 (1966)
- 16) Nikkilä, E. A. and Pelkonen, R.: *Life Sci.*, 5, 89 (1966)
- 17) Nikkilä, E. A.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 18, 76 (1966)
- 18) Bailey, E., Taylar, C. B. and Bartley, W.: *Nature*, 217, 471 (1968)
- 19) Nikkilä, E. A. and Ojala, K.: *Life Sci.*, 4, 937 (1965)
- 20) Zakim, D., Pardini, R. S., Herman, R. H. and Sauberlich, H. E.: *Biochim. Biophys. Acta*, 144, 242 (1967)
- 21) Heinz, F., Lanprecht, W. and Kirsch, J.: *J. Clin. Invest.*, 47, 1826 (1968)

（昭和46年12月14日受理）