

果糖の満腹感誘導作用と作用機序の解明

自治医科大学医学部 生理学講座統合生理学部門

岩崎 有作

1. 研究の目的と背景

食後に甘いデザートを食べることで満足感や満腹感を強く感じることを我々は経験している。このことから、甘味物質が満腹感や満足感を誘導している可能性がある。食品中に含まれる最も代表的な甘味料は、D-グルコース（グルコース、ブドウ糖）、D-フルクトース（フルクトース、果糖）とスクロース（ショ糖）である。これら3種の甘味成分に満腹感誘導作用があるのかについては、これまでの研究報告からは統一的な結論が出ていない。過去にはヒトを対象とした実験が多く報告されているが、様々な方法（投与物質、投与量、投与タイミング、試験食内容、満腹感の測定方法）で実験が試みられ、これら方法によって結論が異なる^{1,2)}。また、実験動物を用いた甘味成分単品の満腹感への作用を解析した報告は少なく、作用機序も全く不明である。

そこで、本研究では、代表的な天然甘味料であるグルコース、フルクトース、スクロース摂取後に摂食行動に与える影響を、マウスを用いて検討した。

2. 研究の方法

動物

日本SLCより購入した雄性C57BL/6Jマウス（8～12週齢）は、個別ケージにて、温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、12時間明暗サイクル（明期7:30～19:30）、自由摂取飲水環境下（動物飼料CE-2、日本クレア）で飼育した。少なくとも実験開始1週間前より当大学の動物飼育室環境下で順化飼育した。動物実験は自治医科大学の動物実験委員会のガイドラインに従い、承認を得て実施した。

摂食行動実験

マウスの摂食行動解析は、以前の報告の通り実施した³⁾。実験前日の18:00よりマウスを絶食させた（16時間絶食）。翌日9:45よりグルコース（1 or 3 g/kg）、フルクトース（0.3, 1 or 3 g/kg）、またはスクロース（1 or 2 g/kg）、コントロールとして生理食塩水（10 ml/kg）を、経口もしくは腹腔内投与した。10:00に動物飼料（CE-2）を与えた。経時的に給餌器の重量を測定し、摂食量を算出した。

条件付け味嫌悪試験

以前の報告の通り実施した³⁾。マウスに、10:00～12:00の2時間のみ二瓶の水を5日間与え、制限水スケジュール

ルに順化させた。6日目、0.15%サッカリン溶液を30分間提示し、その後リチウムクロライド（3 mmol/kg）を腹腔内投与することでサッカリン溶液の味に対する嫌悪学習を形成させた（条件付け）。同様に、生理食塩水（10 ml/kg）を経口投与したコントロール群と、摂食抑制作用を有したフルクトース（1 or 3 g/kg）を経口投与したテスト群を作成した。7日目は休息日として前述の制限水スケジュールを実施した。8日目は試験日として、0.15%サッカリン溶液と水の二瓶を同時に30分間提示し、サッカリン溶液の嗜好比（サッカリン摂取量/二瓶全体の摂取量）を測定した。

カプサイシンを用いた感覚神経脱感作マウスの作成

以前の報告の通り実施した³⁾。Tribromoethanol（200 mg/kg, ip）麻酔下のマウスに、50 mg/kgのカプサイシン（5 ml/kg、溶液組成：10% ethanol, 10% Tween 80, 80% 生理食塩水）を皮下投与した。2日後に、同様に麻酔下でカプサイシンを75 mg/kg、皮下投与した。さらに2日後、5 mg/kgのカプサイシンを無麻酔下で腹腔内投与した。5～7日間の回復期間をとり、上記の摂食行動実験を行った。

高脂肪食誘導肥満マウスの作成と摂食行動実験

高脂肪食として、日本クレアのHFD-32（脂質エネルギーが全体の57%）を用いた。マウスにHFD-32を60日間自由摂取させ、肥満を誘導した。16:30より絶食とし、19:15にフルクトースを経口投与し、暗期直前の19:30にHFD-32を与えた。その後経時的に摂食量と体重を測定した。

3. 研究内容と実施経過

フルクトースの経口投与はマウスの摂食量を低下させる

一晚絶食させたマウスへのフルクトース（1 or 3 g/kg）経口投与は、投与後30分から3時間まで摂食量を有意に抑制した（Fig. 1）。一方、グルコース（1 or 3 g/kg）やスクロース（1 or 2 g/kg）の経口投与は、その後の摂食量に変化はなかった。従って、フルクトースのみに摂食抑制作用が見出された。この実験で投与したフルクトース投与量（1 or 3 g/kg）は、マウスの一日本摂取量における約0.7%と2%であった。

フルクトース（1 or 3 g/kg）の腹腔内投与は、経口投与とは異なり、摂食抑制作用が消失（1 g/kg）、もしくはは減弱（3 g/kg）した。従って、フルクトースの摂食抑制作

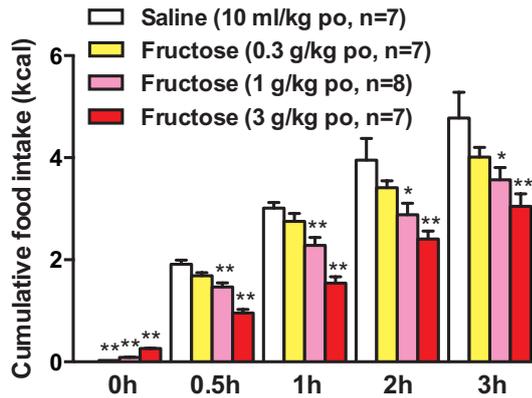


Fig. 1 フルクトースの経口投与は短期的な摂食抑制作用を示す。

16時間絶食させたマウスにおけるフルクトース (0.3~3 g/kg) 経口投与後の累積摂食エネルギー量 (kcal)。0hの摂取エネルギーは、経口投与したフルクトースのエネルギー量 (4 kcal/g) を示し、これはマウスの1日摂取量のおよそ0.2~2%であった。数値は平均値±標準誤差で表し、統計学的検定は一元配置分散分析により解析後、Saline群に対してDunnett's検定を行い、* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ で表記した。

用には消化管や消化管ホルモンの関与が示唆された。

フルクトースの経口投与は摂食量を抑制するが嫌悪行動は惹起させない

フルクトース経口投与による摂食抑制作用が、満腹感によるものなのか、嫌悪感によるものなのかを判別するために、条件付け味嫌悪試験を実施した。嫌悪感を誘導しない生理食塩水投与群 (コントロール群) は、強いサッカリン溶液嗜好性を示した。一方、内臓不快感を誘導するリチウムクロライド投与群はサッカリン溶液に対する嗜好性が著しく減弱した。摂食抑制作用を誘導したフルクトース (1 or 3 g/kg) の経口投与は強いサッカリン溶液嗜好性を示し、このサッカリン嗜好性の程度は生理食塩水群と同程度であった。従って、フルクトースの経口投与は、満腹感が誘導されることにより摂食量が低減することが示唆された。

フルクトースの摂食抑制作用はカプサイシンによる感覚神経脱感作により消失する

摂食中枢は脳視床下部に存在する。一方、フルクトースは血液脳関門を通過しないことが報告されていることから⁴⁾、フルクトースが脳神経へ直接作用する以外の別の経路で摂食量が調節されていることが考えられた。フルクトースは腹腔内投与でなく、経口投与で強く摂食量を抑制したことより、消化管ホルモンの関与が推察された。食後に分泌して摂食量を抑制する消化管ホルモンとしてコレシストキシン (CCK)、グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1)、ペプチド YY₃₋₃₆ (PYY₃₋₃₆) が挙げられる。これらは求心性迷走神経に直接作用し、その情報を脳に伝達して摂食量

を抑制することが知られている⁵⁾。加えて、フルクトースは投与直後から短期間の摂食抑制が観察されるが、このような短期的な摂食調節は求心性迷走神経によって調節されていることも知られている⁶⁾。以上より、フルクトースによる摂食抑制作用には、求心性迷走神経が関与する可能性が考えられる。そこで、本研究では、求心性迷走神経を含む感覚神経をカプサイシンにより脱感作させたマウスを用いて、フルクトースの摂食抑制における感覚神経の関与を検討した。

フルクトース (3 g/kg) の経口投与は、通常マウスにおいて投与後30分から3時間まで有意に摂食量を減少させたが、カプサイシン処理マウスにおいては全ての時間帯において摂食量の低下は観察されなかった。従って、フルクトースの経口摂取は、求心性迷走神経を含む感覚神経系を介して脳に情報を伝達し、摂食量を抑制することが明らかとなった。

フルクトース経口投与は高脂肪食誘導肥満マウスの摂食量を強力に抑制する

肥満の最も重要な成因として「過食」がある。代表的な摂食抑制ホルモンのレプチンやインスリンは、肥満状態ではこれら作用が減弱する「レプチン、インスリン抵抗性」を発症し、これら抵抗性が過食の一原因となっている。フルクトースの摂食抑制作用が、レプチン・インスリン抵抗性発症肥満動物においても有効であるのかを検証するために、高脂肪食で肥満を誘導したマウスを用いて検討した。

高脂肪食誘導肥満マウスへのフルクトース (1または3 g/kg) 経口投与は、通常マウスと同様に、肥満マウスの摂食を有意に抑制し、3 g/kgでは投与後24時間まで抑制効果が持続し、その後の過食 (リバウンド) は生じなかった。この摂食抑制に伴い投与後24と48時間の体重増加量を有意に抑制した。従って、フルクトースの摂食抑制は食事誘発性肥満動物においても有効であることが示された。

4. 研究から得た結論・考察

本研究では、代表的な天然甘味料であるグルコース、フルクトース、スクロースのうち、フルクトースのみに強い摂食抑制作用があることを見出した。このフルクトースの摂食抑制作用は、経口投与により強く誘導され、求心性迷走神経を含む感覚神経からの脳入力が必要であることが示された (Fig. 2)。さらに、高脂肪食誘導肥満マウスにおいてもフルクトースの摂食抑制作用は有効で、むしろ通常の健康状態のマウスに対する効果より強力であった。摂食抑制効果が誘導されるフルクトースの投与量は1~3 g/kgであり、これはマウスの一日の摂取量の0.7~2%程度であった。このことから、適切な量、方法、タイミングでのフルクトース摂取は、過食や肥満の予防・改善に有効である可能性が示された。

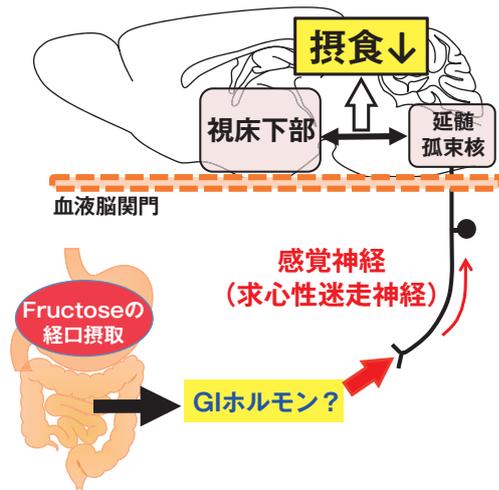


Fig. 2 フルクトースの摂食抑制作用の概念図.

フルクトースの経口投与は、求心性迷走神経を含む感覚神経系を介して摂食量を抑制する。この作用には消化管ホルモン（GIホルモン）が関与する可能性が有り、今後検証する必要がある。

5. 残された問題、今後の課題

フルクトースの摂食抑制作用における消化管と肝臓の関与

フルクトースは、腹腔内投与より経口投与をすることで強く摂食量が抑制された。このことから、フルクトースの摂食抑制作用には消化管・消化管ホルモンの関与が示唆された。GLP-1は食後に分泌される摂食抑制性の消化管ホルモンで有り、近年GLP-1受容体アゴニストが糖尿病治療薬（糖代謝改善、体重減少）としても利用されている。そして、フルクトース摂取はGLP-1分泌を誘導することが既に報告されている⁷⁻⁹。本研究で、フルクトースは求心性迷走神経を含む感覚神経を介した摂食量を抑制することを示したが、GLP-1は求心性迷走神経を直接活性化し¹⁰、摂食量を抑制することが知られている^{11,12}。従って、フルクトースの経口摂取は、消化管からのGLP-1分泌と求心性迷走神経を介して摂食量を抑制しているのかもしれない。この仮説を今後検討する必要がある。

また、フルクトースは頸静脈でなく、門脈投与で摂食量が抑制されることが報告されている¹³。このことから、消化管ホルモンを介さず、肝臓機能を介した摂食抑制作用も考えられる。

フルクトースの摂食抑制作用における脳活性化領域の解析

本研究では、フルクトースの摂食抑制作用における脳機能・神経回路解析が全くできなかった。古典的には「視床下部」が摂食中枢として知られているが、近年では求心性迷走神経投射先の延髄孤束核が存在する「延髄」、視床下部と延髄の中継核となる「結合腕傍核」、報酬・快楽を司る「側坐核」が摂食調節に重要な脳領域である。今後はフルクトース摂取後のこれら脳神経核の活動の変化、及び、その変化における求心性迷走神経の関与を検証する必要がある。

スクロースとフルクトースの摂食抑制作用における効果の違い：摂食抑制作用を誘導する最も有効な摂取方法

本研究により、フルクトース（1～3 g/kg）の経口投与で強い摂食抑制作用があることが示された。一方、スクロースの経口投与は、2 g/kgまでの投与量において、摂食抑制作用は観察されなかった。スクロースはグルコースとフルクトースからなる二糖であることから、小腸膜消化で最終的にグルコースとフルクトースに変換され、吸収される。このことより、フルクトースの摂食抑制作用は腸管腔内や血中のフルクトース濃度が上昇すれば惹起される、という単純な機序では無いことが考察された。ヒトを対象としたフルクトース食前投与による摂食抑制作用は、これまでに複数報告されている²。一方、フルクトース単品でなく、スターチと混合させたフルクトースや¹⁴、異性化糖（グルコースとフルクトースの混合物）¹の食前投与では、その後の摂食量に影響を与えないという報告が多く存在する。本実験結果と以前の報告より、食前のフルクトース単品の投与は摂食量を抑制するが、フルクトースとその他糖質が同時に食前に投与されるとフルクトースの摂食抑制作用が減弱・消失する可能性が示された。フルクトースの摂食抑制作用において、投与方法（内容、タイミング）で効果が異なるのであれば、ヒトへの応用を考えた際に解決しなければならない重要な課題となる。そこで、まず、フルクトースの摂食抑制作用がグルコースやその他の栄養素との同時投与で阻害されるのか検証する必要がある。最終的にはフルクトースの満腹感誘導、摂食抑制作用をヒトへ応用出来るよう、最適で有効な投与方法の確立を目指す。

フルクトースの摂食抑制作用は過食や肥満の予防、改善を有効か

本研究では、健康な正常体重のマウスに有効であった同量のフルクトース（1～3 g/kg）を高脂肪食肥満マウスに経口投与し、強い摂食抑制作用を誘導されることを示した。通常のマウスにおいて、フルクトース（1～3 g/kg）の摂食抑制作用は投与後3時間程度で、その後に抑制された摂取量分の過食が生じ、最終的に1日あたりの摂食量は対照群と等しくなった。一方、高脂肪食肥満マウスにフルクトース（3 g/kg）を経口投与すると、投与後24時間の摂食量が有意に抑制され、その後24～48時間の摂食量は対照群と等しく、抑制された摂食量分の過食（リバウンド）は惹起されなかった。その結果、フルクトース投与2日後も、対照群と比較して有意に体重増加量は低値であった。高脂肪食肥満マウスは、通常の標準食を摂取している健康体重のマウスよりと比較して、過食を呈することが知られている。従って、フルクトースは、一日の必要摂取エネルギー以上の過食分特異的に摂食量を抑制している可能性があり、フルクトースの適量・適切な摂取が肥満者の過食や肥満の予防、治療に役立つ可能性がある。今後は、適量のフルクトースの長期的投与が、過食や肥満の改善に有効であるか、動物実験から検証する必要がある。

フルクトース過剰摂取による有害作用 vs. フルクトースの摂食抑制作用

スクロースや異性化糖を介したフルクトースの過剰摂取は、血中中性脂肪上昇、肥満、高血圧などのメタボリックシンドロームが誘導することが警告されている¹⁵⁻¹⁸⁾。ヒトにおいては1日100g以上の果糖を継続的に摂取することで有害作用が発症すると報告されている¹⁵⁻¹⁸⁾。1日の摂取カロリーを2,000kcalとして考えとして、100g(400kcal)のフルクトースは1日摂取エネルギーの20%に相当する。動物実験では、60~70%のフルクトース含有食で疾患が誘導されている¹⁵⁻¹⁸⁾。一方、低用量のフルクトース摂取は、肝臓での糖利用を高めて耐糖能を向上させ¹⁹⁻²¹⁾、さらに、糖尿病における耐糖能異常を改善させることが報告されている²²⁻²⁴⁾。本研究においては、マウスの1日摂取エネルギーの0.7~2%のフルクトース投与で摂食抑制作用が誘導された。従って、過剰でなく、低用量で有効なフルクトースの摂取は、摂食抑制効果や耐糖能向上作用が期待される。今後、フルクトースの有害作用が惹起されない低用量で、フルクトースの摂食抑制作用が応用できるか、動物からヒトへ検討する必要がある。

6. 参考文献

- Melanson KJ, Angelopoulos TJ, Nguyen V, et al. High-fructose corn syrup, energy intake, and appetite regulation. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88: 1738S-44S
- Moran TH Fructose and satiety. *J Nutr.* 2009; 139: 1253S-6S
- Iwasaki Y, Maejima Y, Suyama S, et al. Peripheral oxytocin activates vagal afferent neurons to suppress feeding in normal and leptin-resistant mice: a route for ameliorating hyperphagia and obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2015; 308: R360-9
- Oldendorf WH Brain uptake of radiolabeled amino acids, amines, and hexoses after arterial injection. *Am J Physiol.* 1971; 221: 1629-39
- Iwasaki Y, Yada T Vagal afferents sense meal-associated gastrointestinal and pancreatic hormones: mechanism and physiological role. *Neuropeptides.* 2012; 46: 291-7
- Heldsinger A, Lu Y, Zhou SY, et al. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript is the neurotransmitter regulating the action of cholecystokinin and leptin on short-term satiety in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012; 303: G1042-51
- Ritzel U, Fromme A, Otleben M, et al. Release of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) by carbohydrates in the perfused rat ileum. *Acta Diabetol.* 1997; 34: 18-21
- Kuhre RE, Gribble FM, Hartmann B, et al. Fructose stimulates GLP-1 but not GIP secretion in mice, rats, and humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2014; 306: G622-30
- Seino Y, Ogata H, Maekawa R, et al. Fructose induces glucose-dependent insulinotropic polypeptide, glucagon-like peptide-1 and insulin secretion: Role of adenosine triphosphate-sensitive K⁺ channels. *J Diabetes Investig.* 2015; 6: 522-6
- Takei M, Yada T, Nakagawa A, et al. Glucagon-like peptide-1 evokes action potentials and increases cytosolic Ca²⁺ in rat nodose ganglion neurons. *Auton Neurosci.* 2002; 102: 39-44
- Abbott CR, Monteiro M, Small CJ, et al. The inhibitory effects of peripheral administration of peptide YY₃₋₃₆ and glucagon-like peptide-1 on food intake are attenuated by ablation of the vagal-brainstem-hypothalamic pathway. *Brain Res.* 2005; 1044: 127-31
- Talsania T, Anini Y, Siu S, et al. Peripheral exendin-4 and peptide YY₃₋₃₆ synergistically reduce food intake through different mechanisms in mice. *Endocrinology.* 2005; 146: 3748-56
- Tordoff MG, Friedman MI Hepatic control of feeding: effect of glucose, fructose, and mannitol infusion. *Am J Physiol.* 1988; 254: R969-76
- Rodin J Effects of pure sugar vs. mixed starch fructose loads on food intake. *Appetite.* 1991; 17: 213-9
- Bantle JP Dietary fructose and metabolic syndrome and diabetes. *J Nutr.* 2009; 139: 1263S-8S
- Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, et al. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2007; 86: 899-906
- Ochoa M, Lalles JP, Malbert CH, et al. Dietary sugars: their detection by the gut-brain axis and their peripheral and central effects in health and diseases. *Eur J Nutr.* 2015; 54: 1-24
- Havel PJ Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev.* 2005; 63: 133-57
- Erejuwa OO, Sulaiman SA, Wahab MS Fructose might contribute to the hypoglycemic effect of honey. *Molecules.* 2012; 17: 1900-15
- Moore MC, Cherrington AD, Mann SL, et al. Acute fructose administration decreases the glycemic response to an oral glucose tolerance test in normal adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 4515-9
- Petersen KF, Laurent D, Yu C, et al. Stimulating effects of low-dose fructose on insulin-stimulated hepatic glycogen synthesis in humans. *Diabetes.*

2001; 50: 1263-8

- 22) Bantle JP, Swanson JE, Thomas W, et al. Metabolic effects of dietary fructose in diabetic subjects. *Diabetes Care*. 1992; 15: 1468-76
- 23) Moore MC, Davis SN, Mann SL, et al. Acute fructose administration improves oral glucose tolerance in adults with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2001; 24: 1882-7
- 24) Hawkins M, Gabriely I, Wozniak R, et al. Fructose improves the ability of hyperglycemia per se to regulate glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002; 51: 606-14

7. 謝辞

本研究を遂行するにあたりご支援を賜りました公益財団法人東洋食品研究所、ならびに審査委員の先生や関係者の方々に厚く御礼申し上げます。

8. 研究発表

○岩崎有作, 荒井健, Kumari Parmila, 矢田俊彦: 果糖の感覚神経を介した摂食抑制作用, 第70回日本栄養・食糧学会大会(神戸), 演題番号2N-01a, 2016年5月13-15日, 口頭発表