

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11711

研究課題名（和文）フルクトースと脂肪酸による脂質代謝変動の臓器特異性の解明

研究課題名（英文）Organ specificity in the variation of lipid metabolism by fructose and fatty acids

研究代表者

岸田 邦博 (Kishida, Kunihiro)

近畿大学・生物理工学部・准教授

研究者番号：30412703

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：フルクトースと脂肪酸の同時摂取により誘導される代謝変動の臓器による違いを明らかにするため、特に肝臓、腸間膜脂肪、小腸に焦点を当てて研究を遂行した。フルクトースによる脂肪酸生合成関連遺伝子発現の上昇は、肝臓では同時に摂取した油脂の種類にかかわらず観察されたが、腸間膜脂肪ではむしろグルコースにより上昇が見られた。

フルクトースによる小腸でのタンパク質発現誘導は、GLUT5、G6Pase、F1,6BPaseといったフルクトース輸送や代謝に関連するものは、油脂の種類に関係なく見られた。また、フルクトースと魚油との同時摂取が小腸での脂肪酸酸化および過酸化を修飾する可能性を示唆する結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

清涼飲料水を由来とするフルクトースの多量摂取や欧米型の食事に多く含まれる動物性油

脂を由来とする飽和脂肪酸の摂取が、肥満やメタボリックシンドローム誘発の原因のひとつである。しかし、食品には飽和脂肪酸だけでなく、さまざまな脂肪酸が含まれ、油脂の種類により生理作用はさまざまである。フルクトースと脂肪酸の同時摂取は、それぞれの生理作用が相加的に現れる臓器もあれば、予想外の影響が発現する臓器もある。本研究は、日常的に摂取するこれらの食品成分が与える影響について、肝臓、内臓脂肪である腸間膜脂肪、小腸に焦点を当て、臓器による作用の違いを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：In order to clarify organ-specific differences in metabolic changes induced by the simultaneous ingestion of fructose and fatty acids, studies were conducted with particular focus on the liver, mesenteric fat, and small intestine. The fructose-induced increase in fatty acid biosynthesis-related gene expression was observed in the liver regardless of the type of fat ingested at the same time, whereas in mesenteric fat the increase was more pronounced for glucose. Fructose induced protein expression in the small intestine related to fructose transport and metabolism, such as GLUT5, G6Pase, and F1,6BPase, regardless of the type of fat or oil. The results also suggest that simultaneous consumption of fructose and fish oil may modulate fatty acid oxidation and peroxidation in the small intestine.

研究分野：食品栄養学

キーワード：フルクトース 脂肪酸 脂質代謝 肝臓 腸間膜脂肪 小腸

1. 研究開始当初の背景

フルクトース (**Fru**) は、グルコース (**Glu**) と同様に生体内で代謝され、エネルギーとなるが、直接的に血糖値を上昇させないことから糖尿病患者にとってのすぐれた糖質源として利用されている。しかし、**Fru** は解糖系でのネガティブフィードバック制御がおこなわれるステップをバイパスして速やかに代謝されることから、脂質合成を亢進させ、脂質異常症、脂肪肝を引き起こすことが知られている。近年、清涼飲料水の摂取とメタボリックシンドロームとの相関が指摘され、その原因として清涼飲料水からの **Fru** 過剰摂取が指摘されている。最近の報告では、小腸で吸収された **Fru** は、小腸内で **Glu** や有機酸に代謝されるが、一度に大量の **Fru** が吸収されると、小腸での代謝を免れた **Fru** が肝臓に流入して脂肪酸合成の基質となることが示唆されている。この報告によると、小腸での **Fru** 代謝許容量は、ヒトでは成人で **3g** (オレンジ **1** 個あるいは約 **60mL** の清涼飲料水) であり、**Fru** 摂取は、公衆衛生上留意すべき問題である。動物性油脂などに多く含まれる飽和脂肪酸は、不飽和脂肪酸と比べ、中性脂肪やコレステロールを上昇させやすく、メタボリックシンドロームのリスク因子のひとつとして認識されている。したがって、**Fru** や飽和脂肪酸は食生活上、取りすぎないように注意すべき食品成分として位置づけられ、それに対して不飽和脂肪酸は健康に良いという認識が一般的である。例外として、中鎖脂肪酸は飽和脂肪酸の一種であるが、生体内で速やかに代謝されるという特性から、特定保健用食品の関与成分として利用される等、健康に良い油として認識されている。応募者らは、**Fru** と中鎖脂肪酸 (中鎖脂肪酸のみを構成脂肪酸とする中性脂肪) をラットに給餌すると、コントロール群 (**Glu**+中鎖脂肪酸) と比較し、腸間膜脂肪での脂肪酸生合成が **mRNA** 発現レベルでは **5** 倍~**50** 倍高まり、著しく変動することを観察している。この現象は、**Fru** と中鎖脂肪酸を同時摂取することで初めて生じる。さらに中鎖脂肪酸の特徴である脂肪酸 β 酸化の亢進は、**Fru** との同時摂取下では、肝臓では認められず、小腸で観察されることを見出している。さらに、**Fru** と魚油 (**n-3** 系脂肪酸を多く含む) をラットに給餌すると、肝臓と腸間膜脂肪での脂質代謝関連遺伝子の発現パターンが大きく異なることを観察している。このように **Fru** と油脂の同時摂取は、その影響が相加的に現れる臓器もあれば、予想外の影響が発現する臓器もあることを示唆している。

2. 研究の目的

これまでの研究は、糖質の違いに焦点をあて、**Fru** の影響を **Glu** やデンプンと比較したものや、脂肪酸の違いに焦点をあて、**n-3** 系や **n-6** 系の脂肪酸の生理作用について検討したものがほとんどである。**Fru** と脂肪酸との相互作用について比較した研究はこれまで実施されていない。本研究は、肝臓、内臓脂肪、小腸をターゲットとして、それぞれの臓器における **Fru** と各種脂肪酸との相互作用を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

実験 1

6 週齢の **SD** 系の雄性ラットを **1** 群 **5** 匹として **Glu** + ラード (**LD**) 食、**Fru** + **LD** 食、**Glu** + 中鎖脂肪酸 (**MCT**) 食、**Fru** + **MCT** 食の **4** 群に分けた。飼料は、それぞれの油脂を **15%** (**w/w**) 含有し、さらに必須脂肪酸の欠乏が起こらないようすべての群に大豆油を **2%** (**w/w**) 含有する。飼料および水は自由摂取とし、室温 20 ± 1 ，午前 **8** 時から午後 **8** 時点灯の明暗サイクルの環境下で **4** 週間の投与試験を実施した。飼育期間中は体重および摂餌量の測定を毎日行った。投与試験終了後、血糖値、血漿中中性脂肪 (**TG**) および総コレステロール (**T-Chol**) の測定を行った。また、肝臓を用いて **TG** および **Chol** 濃度の測定を行った。内臓脂肪として、副睾丸周囲脂肪、腎周囲脂肪を摘出し重量を測定した。遺伝子発現解析のため、肝臓および腸間膜脂肪の一部を採取した。本研究は、近畿大学動物実験委員会の承認を得て、「近畿大学動物実験規程」に則り実施した。

実験 2

6 週齢の **SD** 系の雄性ラットを **1** 群 **5** 匹として **Glu** + 大豆油 (**SO**) 食、**Fru** + **SO** 食、**Glu** + 魚油 (**FO**) 食、**Fru** + **FO** 食の **4** 群に分け、実験 **1** と同様に実施した。

実験 3

6 週齢の **SD** 系の雄性ラットを **1** 群 **5** 匹として **Glu** + **SO** 食、**Glu** + **FO** 食、**Fru** + **SO** 食、**Fru** + **FO** 食の **4** 群に分けて、**1** 週間の投与試験を実施した。空腸 (小腸上部) を一部採取し、**LC-MS/MS** によるタンパク質発現の網羅的解析をおこなった。

4. 研究成果

実験 1

投与試験中の体重、摂餌量には差は認められなかった。肝臓重量は、糖質の影響が認められ、**Fru** 群が高かった。副睾丸周囲脂肪および腎周囲脂肪は群間に差はなく、腸間膜脂肪は油脂と糖質の交互作用が見られたが、群間に差は認められなかった。

血漿中 **Glu** 濃度は、油脂および糖質の影響が観察され、ロード群および **Fru** 群で高かった。**TG** 濃度も油脂および糖質の影響が観察され、ロード群で高く、**Fru** 群で著しく高かった。血漿中 **Chol** 濃度には差は認められなかった。

肝臓脂質は、**TG** 濃度は群間に差はなく、**Chol** 濃度は油脂の影響が観察され、**MCT** 群で低かった。**Fru** 投与により脂肪肝が発症して **TG** 濃度が上昇することが知られているが、本実験では飼料中脂肪含量が 15% と高濃度であったことから、この影響が反映されたものと考えられた。

肝臓における脂質代謝関連遺伝子の発現は、脂肪酸生合成に關与する **Acaca** は油脂および糖質の影響が見られ **MCT** 群および **Fru** 群で高かった。**Fasn** は油脂の影響が見られ、**MCT** 群で高かった。脂肪酸酸化に關与する **Acox1** は糖質の影響が見られ、**Fru** 群で高く、**Cpt1a** は油脂の影響が見られ、ロード群で高かった。コレステロール合成の律速酵素の遺伝子である **Hmgcr** は糖質の影響が見られ、**Fru** 群で低く、コレステロール代謝に關連する **Cyp7a1** は交互作用が観察され、ロード+**Glu** 群が他の 3 群と比較して有意に高かった (**Data not shown**)。

腸間膜脂肪における脂肪酸生合成に關与する遺伝子発現は、**Acaca**、**Fas**、**Chrebp**、**Scd1** の発現量に油脂および糖質の影響が見られ、**MCT** 群および **Glu** 群で有意に高かった。**Me** の発現量に交互作用が見られ、**MCT+Glu** 群が他の 3 群と比較して有意に高かった。**Srebf1c** の発現量に有意差は認められなかった。先行研究では **MCT** と **Fru** を組み合わせることによって脂質合成が促進されると考えられたが、今回の結果より、むしろ **Glu** と **MCT** の組み合わせが腸間膜脂肪における脂肪酸生合成関連遺伝子の発現を著しく上昇させることが分かった。しかし、腸間膜脂肪重量には差はなく、この点についてはさらなる検討が必要である。

実験 2

摂餌量は、魚油 + **Glu** 食群と比較して魚油 + **Fru** 食群で有意に低い日があった。平均摂餌量は糖質の影響が見られ、**Fru** 食群で有意に低かった。

体重は、試験開始 17 日目から試験終了日まで大豆油 + **Fru** 食群と比較して魚油 + **Fru** 食群で有意に低かった。体重増加量は交互作用が見られ、魚油 + **Fru** 食群で有意に低かった。

肝臓重量は糖質の影響が見られ、**Fru** 食群で有意に高かった。副睾丸脂肪および腎周囲脂肪重量は油脂の影響が見られ、魚油食群で有意に低かった。腸間膜脂肪重量に有意な影響は見られなかった。

血漿 **Glu** および **TG** 濃度は糖質と油脂、それぞれの影響が見られ、**Fru** 食群で有意に高くなり、魚油食群で有意に低かった。血漿 **Chol** 濃度は油脂の影響が見られ、魚油食群で有意に低かった。

肝臓中 **TG** 濃度は交互作用が見られ、魚油 + **Fru** 食群で有意に低くなった。肝臓中 **Chol** 濃度も交互作用が見られたが、4 群間に有意な差はなかった。

肝臓における脂質代謝関連遺伝子発現では、**Acaca** は糖質の影響が見られ、**Fru** 食群で有意に高かった。**Fasn** は糖質と油脂、それぞれの影響が見られ、**Fru** 食群で有意に高く、魚油食群で有意に低かった。**Srebf1** は油脂の影響が見られ、魚油食群で有意に低かった。**Acox** は油脂の影響が見られ、魚油食群で有意に高かった。**Cpt1a** は糖質の影響が見られ、**Fru** 食群で有意に低かった。**Hmgcr** および **Ldlr** は糖質と油脂、それぞれの影響が見られ、**Fru** 食群、魚油食群でそれぞれ有意に低かった。**Cyp7a1** に有意な影響は見られなかった。

腸間膜脂肪における脂質代謝関連遺伝子発現では、**Acaca** および **Fasn** は糖質の影響が見られ、**Fru** 食群で有意に低かった。**Ldlr** は交互作用が見られ、魚油 + **Fru** 食群で有意に低かった。**Hsl**、**Cpt1a** および **Atgl** は糖質の影響が見られ、**Fru** 食群で有意に低かった。**Lpl** および **Acox1** は交互作用が見られ、魚油 + **Fru** 食群で有意に低かった。

肝臓における遺伝子発現の結果より、大豆油 + **Fru** 食群は脂肪合成系遺伝子 (**Acaca**、**Srebf1**、**Fas**) の発現が高く、脂肪分解系遺伝子 (**Acox1**、**Cpt1a**) の発現が低かったにもかかわらず、肝臓中 **TG** 濃度は大豆油 + **Glu** 食群と同程度であった。これは血漿 **TG** 濃度の結果より、肝臓で合成された **TG** が血中へ盛んに放出されているからだと考えた。血漿 **Chol** 濃度は魚油食群で有意に低下しており、これは肝臓における **Hmgcr** の発現が魚油食群で有意に低下していることに起因していると考えた。

実験 3

空腸のタンパク質を LC-MS/MS を用いて網羅的に解析し、そのタンパク質発現データを用いた主成分判別分析の結果を図 1 に示す。各サンプルにつき 3 回測定を行い、データを平均し、一つのデータとしてから、主成分分析-判別分析を行った。各群を最も大きく分離させる主成分を第 1 主成分、第 1 主成分と独立な、2 番目に群を大きく分離させる主成分を第 2 主成分として作成した。結果、第 1 主成分は **Glu** 群と **Fru** 群を分離される主成分、第 2 主成分は **SO** 群と **FO** 群を分離させる主成分となった。

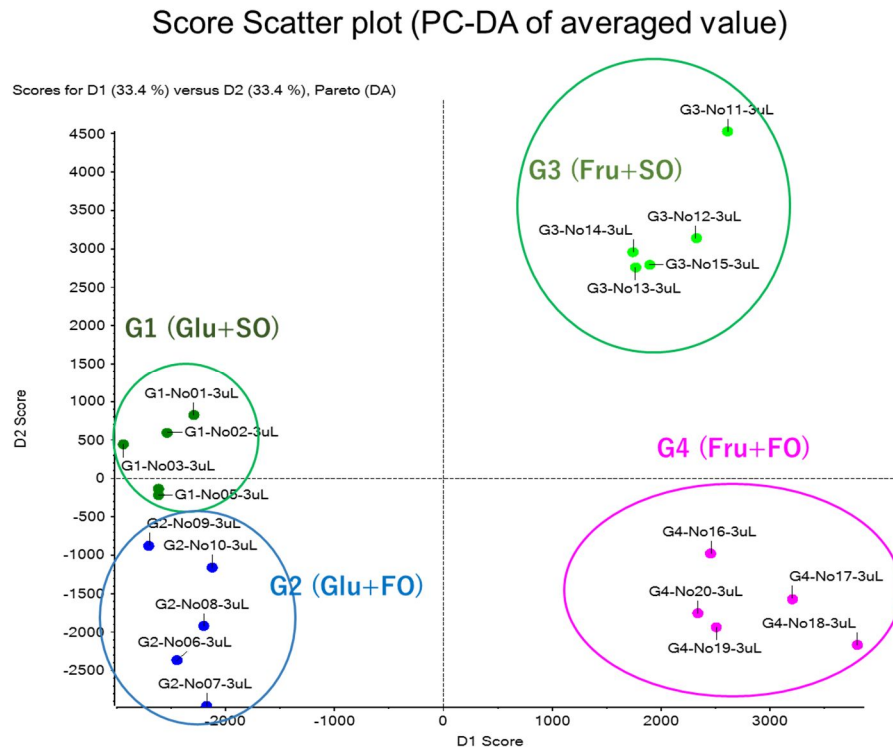


図 1 主成分判別分析 (PCA-discriminate analysis, PCA-DA)

大豆油摂取時または魚油摂取時に **Fru** 食で発現の上昇したタンパク質を調べるため、**Fru+SO/Glu+SO** および **Fru+FO/Glu+FO** を比較し、2 倍以上の上昇が見られたタンパク質をリストアップした(表 1 および 2)。結果、**Fru+SO/Glu+SO** の比較では 9 個のタンパク質、**Fru+FO/Glu+FO** の比較では 13 個のタンパク質に 2 倍以上の上昇が確認された。発現上昇したタンパク質のうち、油脂の違いに関係なく上昇が確認されたタンパク質が 5 個 (**Glucose-6-phosphatase**, **GLUT5**, **Fructose-1,6-bisphosphatase 1**, **Cytochrome P450, family 4, subfamily F**, **polypeptide 2**, **Glutathione S-transferase**) 確認された。

Fru+SO/Glu+SO の比較により 2 倍以上の上昇が見られたタンパク質のうち、**GLUT5** は **Fru** トランスポーターであり、**Fru** 摂取により発現上昇することが知られている。**Glucose-6-phosphatase** および **Fructose-1,6-bisphosphatase 1** は糖新生経路の酵素であり、これらも **Fru** 摂取により発現上昇することが知られている。**Cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 2 (CYP4F2)** は、ビタミン **E** やビタミン **K** の代謝、脂肪酸の ω 酸化、アラキドン酸やロイコトリエン **B4** を基質とし、ヒドロキシル化することによる体内の炎症レベルを調節などの機能を有している。**Glutathione S-transferase (GST)** は、グルタチオン抱合活性、脂質や核酸の過酸化物に対するグルタチオンペルオキシダーゼ活性、ステロイドホルモンやプロスタグランジンなどに対するイソメラーゼ活性を有している。高 **Fru** 食は炎症反応や酸化ストレスを引き起こすことが報告されていることから、この 2 つのタンパク質の上昇はフルクトース摂取による、小腸での炎症反応や酸化ストレス発生を示唆しているものと考えた。

Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase, mitochondrial は、ミトコンドリアの **HMG-CoA** 合成酵素である。ミトコンドリア内で産生された **HMG-CoA** は、**HMG-CoA** リアーゼの作用によってアセト酢酸に変換される。アセト酢酸はヒドロキシ酪酸とアセトンなどのケトン体に変化する。魚油は β 酸化を亢進させることが知られており、 β 酸化酵素である **Acetyl-CoA acyltransferase 1A** が発現上昇していることから、 β 酸化の亢進によってアセチル-CoA の濃度が上昇したことが要因ではないかと考えた。**Phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 (PEPCK1)** は細胞質基質型のホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼであり、糖新生に関係してい

る。**Caco2** 細胞の **DHA** 処理による誘導や腹腔内フルクトース処理により、肝臓 **PEPCK** の発現が上昇が報告されているが **Fru** や魚油による明確な上昇メカニズムは不明である。**Alcohol dehydrogenase class-3 (ADH4)** と **Alcohol dehydrogenase 1 (ADH1)** はどちらもアルコールデヒドロゲナーゼの一種であり、アルコールデヒドロゲナーゼ活性、レチノールデヒドロゲナーゼ活性、脂質過酸化の結果生じる有害なアルデヒド化合物の代謝・無毒化などの機能を有している。**Fru** の摂取が、血漿中や肝臓、腎臓の脂質過酸化を促進させることが報告されていることから、**Fru** の摂取が魚油の過酸化を促進させる可能性が示された。

表 1 Fru+SO/Glu+SO の比較により、2 倍以上の上昇が見られたタンパク質

No	Protein	G3/G1
1150	tr A6HJB1 A6HJB1_RAT Glucose-6-phosphatase	10.160017
959	tr B1WBQ4 B1WBQ4_RAT Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 5 (GLUT5)	6.6008141
1098	tr F7F3E1 F7F3E1_RAT Cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 2	3.3226045
600	tr A6KJ57 A6KJ57_RAT RCG50935	2.3682922
257	tr Q91W30 Q91W30_RAT Aldose reductase-like protein	2.3009473
1026	tr D4A834 D4A834_RAT Proteoglycan 3, pro eosinophil major basic protein 2	2.2124068
799	tr F1LPB8 F1LPB8_RAT Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5	2.1431979
215	tr B6DYQ2 B6DYQ2_RAT Glutathione S-transferase	2.0683401
323	tr A6KQB3 A6KQB3_RAT Fructose-1,6-bisphosphatase 1	2.0307449

表 2 Fru+FO/Glu+FO の比較により、2 倍以上の上昇が見られたタンパク質

No	Protein	G4/G2
959	tr B1WBQ4 B1WBQ4_RAT Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 5	10.3729636
629	sp P22791 HMCS2_RAT Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase, mitochondrial	7.14982839
1150	tr A6HJB1 A6HJB1_RAT Glucose-6-phosphatase	5.14021579
1003	tr A6KKZ7 A6KKZ7_RAT Phosphoenolpyruvate carboxykinase 1, isoform CRA_d	4.5106996
736	tr Q7TQ90 Q7TQ90_RAT Alcohol dehydrogenase class-3	3.26545318
1098	tr F7F3E1 F7F3E1_RAT Cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 2	2.93717024
424	tr F7F6S1 F7F6S1_RAT RCG20653	2.48354328
272	tr Q8K571 Q8K571_RAT Alcohol dehydrogenase 1	2.45876391
836	tr A6HVN5 A6HVN5_RAT Aminopeptidase	2.31188873
323	tr A6KQB3 A6KQB3_RAT Fructose-1,6-bisphosphatase 1	2.26464543
1115	tr Q3V1N7 Q3V1N7_MOU SE 4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase	2.25616093
723	tr F1LPD6 F1LPD6_RAT Acetyl-CoA acyltransferase 1A	2.23177116
215	tr B6DYQ2 B6DYQ2_RAT Glutathione S-transferase	2.1677341

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Oshima Moe, Suzuki Erika, Ihara Hayato, Nagai Kouhei, Kishida Kunihiro	4. 巻 74
2. 論文標題 Comparison of the Effects of Differences in Fats and Oils Contained in a High Fructose Diet on Lipid Metabolism and Hepatic Protein Expression Profile in Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi	6. 最初と最後の頁 155 ~ 169
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4327/jsnfs.74.155	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岸田邦博	4. 巻 5
2. 論文標題 フルクトースと中鎖トリグリセリドの組み合わせ摂取による腸間膜脂肪での脂肪酸生成遺伝子発現の亢進	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 61 ~ 63
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kunihiro Kishida, Kouhei Nagai, Hayato Ihara
2. 発表標題 Comparison of effects on lipid metabolism of different fats and oils in high-fructose and high-glucose diets in rats
3. 学会等名 The 22nd International Congress of Nutrition（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 植田 有咲, 藤田 瑞紀, 井原 勇人, 永井 宏平, 岸田 邦博
2. 発表標題 高糖質（グルコースまたはフルクトース）かつ高脂肪（大豆油または 魚油）食がラット脂質代謝に与える影響の比較
3. 学会等名 第60 回日本栄養・食糧学会 近畿支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤田 瑞紀, 植田 有咲, 井原 勇人, 永井 宏平, 岸田 邦博
2. 発表標題 高糖質（グルコースまたはフルクトース）かつ高脂肪（中鎖脂肪またはラード）食がラット脂質代謝に与える影響の比較
3. 学会等名 第60 回日本栄養・食糧学会 近畿支部大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	井原 勇人 (Ihara Hayato) (00223298)	和歌山県立医科大学・共同利用施設・准教授 (24701)	
研究 分担者	永井 宏平 (Nagai Kouhei) (70500578)	近畿大学・生物理工学部・准教授 (34419)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------