

ノート

## ラットにおける希少糖D-プシコースの 6か月間長期摂食試験

檜垣 俊介<sup>1</sup>・松尾 達博<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>愛媛大学大学院連合農学研究科, <sup>2</sup>香川大学農学部

(2014年5月20日受付 2014年7月25日受理)

### Six months long-term feeding study of rare sugar D-psicose in rats—Note—

Shunsuke Higaki<sup>1</sup> and Tatsuhiro Matsuo<sup>2\*</sup> (*United Graduate School of Agricultural Sciences, Ehime University, 3-5-7 Tarumi, Matsuyama, Ehime 790-8566<sup>1</sup>; Faculty of Agriculture, Kagawa University, 2393 Ikenobe, Miki-cho, Kita-gun, Kagawa 761-0795<sup>2</sup>*) *Seibutsu-kogaku* **92**: 500–503, 2014.

D-Psicose is a rare sugar present in small quantities in natural products. In previous studies, we showed that D-psicose suppresses postprandial blood glucose increase and reduces body fat accumulation in rats. Elucidating the effects of long-term feeding of D-psicose in rats is essential prior to its use as a functional food. In this study, we carried out a 6-months long-term toxicity study of the rare sugar D-psicose in rats. Male Wistar rats (3 weeks old) were fed commercial diets containing 0 (control), 0.3, 1.0 and 3.0% D-psicose for 6 months. No significant difference was observed in body weight gain, energy intake, and energy efficiency between each group. Relative weights of liver and kidneys were significantly higher in the 3.0% D-psicose diet group than in the other groups. Small intestine weight was lower in the D-psicose groups than in the control group. However, almost all results of blood hematological and serum biochemical tests were normal at dietary dose of 0.3–3.0% D-psicose. These results suggest that D-psicose in 0.3–3.0% diets has no adverse effects in rats for long-term feeding.

[**Key words**: rare sugar, D-psicose, long-term feeding, toxicity]

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、エネルギー価がほぼ0 kcal/gであり、生体内でほとんど代謝されない単糖であると考えられている<sup>1)</sup>。D-プシコースの生理作用については、近年、数多くの研究結果が報告されている一方、食品企業においては低カロリー甘味料や食品素材として実用化が進められている。

我々はこれまでに、ラットを用いたD-プシコースの安全性試験を実施してきており、急性毒性試験では普通物(LD<sub>50</sub> = 16 g/kg)と分類された<sup>2)</sup>。また、長期毒性試験では、3% D-プシコース添加飼料、3% ショ糖添加飼料を対照として、12か月(48週)および18か月(72週)間長期摂取させた。その結果、肝臓および腎臓の体

重比重量(相対重量)の増加が確認されたものの、病理学的検査および血液生化学的検査には異常が見られなかった<sup>3)</sup>。しかし、この研究では飼育期間が12か月(48週)および18か月(72週)の長期にわたったため、ラットの老化によりD-プシコースの影響が隠れてしまった可能性が考えられた。さらに、下痢を指標としたD-プシコースの最大無作用量が飼料の10%であったことから<sup>2)</sup>、長期投与量としては3%が妥当か否か再検討する必要も考えられた。

そこで、本研究では、前述の問題点を解決するために、D-プシコースの長期摂取による安全性を再検討することを目的とした。老化の影響を排除するため飼育期間をラットの寿命の約1/4にあたる6か月間(24週)とし、

\*連絡先 E-mail: matsuo@ag.kagawa-u.ac.jp

投与量を飼料の0.3, 1.0, 3.0%の3段階（対照0%）に設定した。なお本実験は、あらかじめ香川大学動物実験委員会の承認を受け、香川大学動物実験規則（2007年2月1日施行）に従って実施された。

実験動物として、3週齢のWistar系雄ラット（日本SLC株式会社）32匹を用い、市販粉末飼料（CE-2, 日本クレア株式会社）で3日間の予備飼育をした。本飼育開始時には、体重が均等になるように、ラットをCE-2摂取（Control）群、CE-2に重量比0.3, 1.0, および3.0%のD-プシコースをそれぞれ添加した食餌を与えるDP 0.3%, DP 1.0%, DP 3.0%群の4群に分けて6か月（24週）間飼育した。飼育最終日、12時間絶食後、ペントバルビタール麻酔下に腹部大動脈より採血し、主要臓器、後肢骨格筋、腹腔内脂肪組織などを摘出して重量を測定した。血液学的検査については、株式会社エスアールエル（東京）に委託した。血清生化学検査については、市販キット（グルコースCII-テストワコー、トリグリセ

リドE-テストワコー、コレステロールE-テストワコー、HDLコレステロールE-テストワコー、A/G B-テストワコー、クレアチニン-テストワコー、尿素窒素B-テストワコー、尿酸C-テストワコー、トランスアミナーゼCII-テストワコー（和光純薬株式会社、大阪）、レビスインスリン-ラットT（株式会社シバヤギ、東京）を用いた。すべての測定値を平均値±標準偏差で表し、各群間の母平均の差の検定は、Tukey HSD（SPSS ver. 18）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た。

Table 1に、体重、摂取エネルギー量、摂取エネルギー効率、および各組織の相対重量をそれぞれ示した。体重増加量、1日あたりの摂取エネルギー量、摂取エネルギー効率には、Control群と各DP群の間に有意な差は認められなかった。これまで、D-プシコースの機能性として、小腸粘膜上皮における二糖類分解酵素を阻害することな

Table 1. Body weight, energy intake and relative tissue weights.

Groups		Control	DP 0.3%	DP 1.0%	DP 3.0%	Reference data <sup>9)</sup>	
						20 weeks	30 weeks
Initial weight (3 weeks old)	(g)	55.6 ± 5.6	55.5 ± 5.9	55.3 ± 4.9	55.5 ± 5.8		
Final weight (24 weeks old)	(g)	356.3 ± 27.3	335.5 ± 28.9	346.1 ± 22.9	334.3 ± 35.9	307.1	364.8
Weight gain	(g)	300.6 ± 23.3	279.5 ± 26.6	290.9 ± 20.2	278.8 ± 31.0		
Energy intake	(kcal/day)	59.9 ± 6.1	55.6 ± 5.7	57.2 ± 4.3	57.4 ± 5.5		
Energy efficiency	(g/kcal)	0.031 ± 0.002	0.031 ± 0.002	0.032 ± 0.001	0.030 ± 0.001		
Brain	(g/100 g)	0.53 ± 0.03	0.57 ± 0.04	0.55 ± 0.04	0.58 ± 0.04	0.62	0.55
Heart	(g/100 g)	0.22 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.23 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.23 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.25 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.28	0.26
Lungs	(g/100 g)	0.28 ± 0.01	0.29 ± 0.03	0.28 ± 0.02	0.29 ± 0.03	0.35	0.34
Liver	(g/100 g)	2.82 ± 0.10 <sup>b</sup>	2.78 ± 0.10 <sup>b</sup>	2.84 ± 0.16 <sup>b</sup>	3.19 ± 0.24 <sup>a</sup>	2.53	2.54
Pancreas	(g/100 g)	0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.15 ± 0.04		
Kidneys	(g/100 g)	0.60 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.61 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.63 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.69 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.59	0.57
Adrenal	(g/100 g)	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01	0.01
Spleen	(g/100 g)	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.01	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.22	0.22
Testicle	(g/100 g)	0.75 ± 0.18	0.89 ± 0.08	0.85 ± 0.08	0.83 ± 0.22	0.94	0.85
Intra-adipose	(g/100 g)	14.31 ± 1.08	13.65 ± 2.69	14.82 ± 2.13	13.96 ± 2.80		
Hind-limb muscles	(g/100 g)	1.16 ± 0.05	1.15 ± 0.06	1.16 ± 0.05	1.14 ± 0.07		
Stomach	(g/100 g)	0.30 ± 0.02	0.29 ± 0.03	0.30 ± 0.03	0.31 ± 0.04		
Small intestine	(g/100 g)	0.70 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.46 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.48 ± 0.10 <sup>b</sup>	0.49 ± 0.14 <sup>b</sup>		
Large intestine	(g/100 g)	0.23 ± 0.05	0.20 ± 0.03	0.21 ± 0.05	0.22 ± 0.05		
Cecum	(g/100 g)	0.16 ± 0.03	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.03		

Values are means ± SD ( $n = 8$ /group).

Maker data: 2007 data by “Japan SLC, Inc.”. When two organs were separately measured, it totaled the value.

Means not sharing a common letter are significantly different by multiple comparison official approval of Tukey HSD tests ( $p < 0.05$ ).

どにより食後の血糖値上昇を抑制すること<sup>4,5)</sup>、それに伴って体重増加量を抑制することが報告されてきた<sup>3,6)</sup>。体重増加量について本研究結果が先行研究と異なる要因については、先行研究における対照群にはショ糖が使用されていることや、飼料のD-ブシコース含量が低い(0.3~3.0%)こと、摂取期間が先行研究では12~18か月(48~72週)<sup>3)</sup>であるのに対して本研究では6か月(24週)であることが推察された。

組織相対重量 (Table 1) については、脳、肺、脾臓、副腎、精巣、腹腔内脂肪組織、後肢骨格筋(ひらめ筋、腓腹筋、足底筋の合計)には、Control群と各DP群の間に有意な差は見られなかった。心臓重量はControl群に比べてDP 3.0%群で有意な高値を示し、肝臓および腎臓重量は、他の3群に比べてDP 3.0%群で有意に高値であった。小腸重量は、Control群に比べて各DP群の間で有意に低値を示したが、各DP群間には有意な差は見られなかった。また、その他の消化管重量には、各群間に差を認めなかった。先行研究では、D-ブシコースが小腸マルターゼおよびスクラーゼ活性を阻害す

ることが確認されているが<sup>4)</sup>、小腸重量との関連については報告されていない。先行研究<sup>3)</sup>では、12か月(48週)および18か月(72週)におけるD-ブシコース3%添加群において、対照群に比べて小腸重量が大きくなることを認めており、本研究とは異なる結果であった。この要因については、詳細は不明であり今後の検討課題と考えている。また、D-ブシコース摂取による肝臓および腎臓の肥大は、先行研究においても報告されており<sup>3,7,8)</sup>、本研究も同様の結果を示した。これまでに病理学的な所見および血清生化学検査値との関係性が認められていないことから、肝臓および腎臓の肥大に伴う弊害はないものと考えられている。また、肥大のメカニズムについては肝グリコーゲンの蓄積、D-ブシコースの排泄に伴う適応などが推察されるが、詳細は不明である。また、DP 0.3%群およびDP 1.0%群には肝臓および腎臓の相対重量の増加が認められなかったことから、D-ブシコースによる組織肥大の閾値は、1~3%の間にあると推察された。

Table 2に血液学的検査および血清生化学検査の結果を示した。血液学的検査結果については、血色素量(Hb)、

Table 2. Results of blood hematological and serum chemical tests (24 weeks old: 12 hrs fasted).

Groups		Control	DP 0.3%	DP 1.0%	DP 3.0%	Reference data <sup>9)</sup>	
						20 weeks	30 weeks
Hb	(g/100 ml)	15.2 ± 0.6	15.0 ± 0.5	15.0 ± 1.0	14.9 ± 0.6	16.5	16.0
RBC	(× 10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	895 ± 38	876 ± 36	897 ± 50	901 ± 33	902	880
WBC	(/mm <sup>3</sup> )	4,100 ± 1,086	3,863 ± 1,596	4,013 ± 1,749	3,600 ± 1,612	5,400	4,800
HCT	(%)	46.7 ± 2.2	46.6 ± 1.9	46.7 ± 2.6	45.5 ± 2.0	43.4	42.1
MCV	(μ <sup>3</sup> )	52.1 ± 1.5 <sup>ab</sup>	53.4 ± 1.8 <sup>a</sup>	52.1 ± 1.4 <sup>ab</sup>	50.5 ± 1.8 <sup>b</sup>	58.1	47.4
MCH	(pg)	17.0 ± 0.0	17.1 ± 0.4	17.0 ± 0.5	16.6 ± 0.5	18.3	17.9
MCHC	(%)	32.8 ± 0.7	32.3 ± 0.9	32.3 ± 1.4	32.5 ± 0.5	38.0	37.8
GLU	(mg/dl)	233.5 ± 82.1	191.5 ± 33.6	212.5 ± 49.4	223.3 ± 71.1	148.0	149.0
IRI	(ng/ml)	8.7 ± 2.3	9.0 ± 2.0	9.8 ± 4.1	9.7 ± 4.6		
TG	(mg/dl)	188.7 ± 56.6	215.0 ± 83.0	206.4 ± 55.5	213.1 ± 69.4	70.0	71.0
CHO	(mg/dl)	121.2 ± 21.4	99.9 ± 22.8	118.4 ± 28.6	105.7 ± 14.3	78.0	111.0
HDL	(mg/dl)	91.0 ± 21.2	75.8 ± 24.9	82.1 ± 24.2	76.7 ± 21.0		
TP	(g/dl)	8.7 ± 1.4	7.2 ± 0.5	7.4 ± 1.0	7.8 ± 1.3	6.4	6.4
ALB	(g/dl)	4.5 ± 1.0	5.3 ± 0.5	5.4 ± 0.9	4.8 ± 0.7	4.6	4.3
A/G		1.4 ± 0.9 <sup>b</sup>	2.9 ± 0.9 <sup>a</sup>	2.8 ± 1.1 <sup>ab</sup>	2.2 ± 1.2 <sup>ab</sup>	2.6	2.1
AST	(IU/l)	259.5 ± 91.5	229.0 ± 45.8	284.8 ± 107.1	273.0 ± 64.3	97.0	140.0
ALT	(IU/l)	60.0 ± 16.3	48.5 ± 16.0	66.6 ± 28.0	78.9 ± 30.4	56.0	87.0
CREA	(mg/100 ml)	1.1 ± 0.3	1.0 ± 0.4	1.0 ± 0.4	1.1 ± 0.3	0.4	0.4
BUN	(mg/100 ml)	28.0 ± 5.7	23.5 ± 2.4	24.5 ± 2.1	27.2 ± 6.1	19.2	21.9
UA	(mg/100 ml)	2.5 ± 0.6	2.1 ± 0.3	2.2 ± 0.7	2.2 ± 0.4		

Values are means ± SD (n = 8/group).

Maker data: 2007 data by "Japan SLC, Inc." . The maker publication data are the measurement after the fast of 16 hours.

Means not sharing a common letter are significantly different by multiple comparison official approval of Tukey HSD tests (p < 0.05).

赤血球数 (RBC), 白血球数 (WBC), ヘマトクリット値 (HCT) は, Control群と各DP群の間に有意な差は見られなかった. 平均赤血球容積 (MCV) は, DP 0.3%群に比べてDP 3.0%群で有意に低値を示したが, その他の群間には有意な差は認められなかった. 平均赤血球色素量 (MCH) および平均赤血球色素濃度 (MCHC) には, いずれも各群間に有意差を認めなかった. 4週齢 Wistar系雄ラット10匹に一般的な市販固形飼料 (ラボMRストック, 日本農産工業) を摂取させ, 長期間飼育した日本エスエルシー株式会社の実験データ (Table 2, Reference data)<sup>9)</sup>と比較すると, 本研究で得られた値はいずれも正常値の範囲内であり, D-プシコースの血球への影響はないと考えられる.

一方, 血清生化学検査結果については, アルブミン/グロブリン (A/G) 比が, Control群に比べてDP 0.3%群で有意な高値を示したが, グルコース (GLU), インスリン (IRI), 中性脂肪 (TG), 総コレステロール (CHO), HDLコレステロール (HDL), 総タンパク質 (TP), アルブミン (ALB), アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST), アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT), クレアチニン (CREA), 尿素窒素 (BUN), および尿酸 (UA) 濃度には, いずれも各群間に差を認めなかった. DP 0.3%群を除くすべての群でGLU濃度が200 mg/dl以上と高値であり, 各群間に有意な差は認められないことから, この高血糖はD-プシコースによるものでなく, 加齢に伴う耐糖能低下の影響によるものと推察された. 高齢ラットの空腹時血糖値はヒトと比べて高く, 20週齢時でも150 mg/dl程度である<sup>9)</sup>. また, 麻酔剤に用いたペントバルビタールが血糖値に影響した可能性も否定できないが, 詳細は不明である. 一方, 肝機能の指標として用いられるASTおよびALT活性, 腎機能の指標であるBUN濃度およびUA濃度についても各群間に有意な差は認められなかったことから, D-プシコースによる肝臓および腎臓の軽微な肥大が特に重篤な毒性によるものではないことが示唆された. また, A/G比がDP 0.3%群で有意な高値であったが, この現象はD-プシコース添加群においてALBの上昇によるものと考えられることから, 全身的な栄養状況は良い状況と推察された.

以上, 本研究結果から長期摂食試験において飼料の3.0%のD-プシコース投与が妥当であることが確認され,

安全性についても先行研究を支持するものであった. しかし, 食品や医療品に応用するにあたり, D-プシコースの有効性を考慮した長期にわたる詳細な検討が必要であるかも知れない.

## 要 約

D-プシコースは自然界に非常にわずかしかな存在しない希少糖の一つである. これまでに動物実験やヒト試験において, 抗糖尿病作用や抗肥満作用などが認められている. 本研究では, D-プシコースの長期摂取における安全性を再検討するため, ラットにおける希少糖D-プシコースの6か月 (24週) 間長期摂食試験を実施した. 3週齢のWistar系雄ラットにD-プシコースを市販飼料に0.3%, 1.0%, 3.0%の割合で添加した食餌を摂取させる群を設定し, 対照群には市販飼料を摂取させた. その結果, 体重増加量, 摂取エネルギー量および摂取エネルギー効率には各群間に有意差は認められなかった. 小腸相対重量は対照群に比べて各D-プシコース添加群で有意に低値を示し, 肝臓および腎臓相対重量は3.0% D-プシコース添加群で有意に高値を示したが, 関連する血清生化学検査結果には各群間で差を認めなかった. 以上の結果から, D-プシコースの6か月間長期摂取における安全性が示された.

## 文 献

- 1) Matsuo, T., Suzuki, H., Hashiguchi, M., and Izumori, K.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **48**, 77–80 (2002).
- 2) Matsuo, T., Tanaka, T., Hashiguchi, M., Izumori, K., and Suzuki, H.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **48**, 512–516 (2002).
- 3) Yagi, K. and Matsuo, T.: *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **45**, 271–277 (2009).
- 4) Matsuo, T. and Izumori, K.: *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **45**, 202–206 (2009).
- 5) Matsuo, T., Baba, Y., Hashiguchi, M., Takeshita, K., Izumori, K., and Suzuki, H.: *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, **10**, 233–237 (2001).
- 6) Matsuo, T., Baba, Y., Hashiguchi, M., Takeshita, K., Izumori, K., and Suzuki, H.: *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **30**, 55–65 (2001).
- 7) Matsuo, T. and Izumori, K.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 2081–2085 (2006).
- 8) Matsuo, T., Ishii, R., and Shirai, Y.: *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **50**, 158–161 (2012).
- 9) <http://www.jslc.co.jp/>