

## 36

助成番号 0036

## 食事誘導性熱産生における食塩および浸透圧の意義と作用機構

助成研究者：大坂 寿雅 (国立健康・栄養研究所)

共同研究者：小林 章子 (国立健康・栄養研究所)

麻酔動物での食事誘導性熱産生の新たなモデルを開発する目的で、十二指腸カニューレを用いて各種栄養素溶液を注入したときの熱産生反応を調べた。一晚絶食後にウレタン麻酔したウィスターラットの腹部を正中切開し、前胃を通して十二指腸にカニューレを留置した。5-20%ブドウ糖、0.9-3.6%食塩水、20%メチルブドウ糖、20%果糖、7.2%尿素、5-10%のグリシン、アルギニン、スレオニン、セリン溶液、蒸留水、紅花油を10 ml/kg、10分間で投与した。呼気ガス分析により熱産生率と呼吸交換率を、深部体温の代表として結腸温度を経時的に測定した。

ブドウ糖や果糖の溶液を注入すると呼吸商の上昇を伴って熱産生量が増加した。この反応は投与後約1時間でピークになり、3時間で元のレベルに戻った。結腸温は約0.5度上昇した。この反応によって投与した糖のエネルギー量の9-16%が消費された。これらの結果は無麻酔の動物やヒトが糖質を経口摂取した後で誘起されるエネルギー消費反応と一致したので、この標本は食事誘導性熱産生の浸透圧成分を研究する上でのよいモデルであると思われた。

しかしながら、本研究で最も興味深かったことは、栄養素でない食塩水やメチルブドウ糖溶液の腸内投与によっても熱産生量が増加したことである。このときは呼吸交換率は変化しなかった。アミノ酸溶液の投与によっても熱産生量が増えたが、この反応は投与したアミノ酸のモル数に比例しており、投与したアミノ酸の重量とは相関しなかった。細胞膜を比較的自由に通過できるために生体にとって浸透圧刺激となりにくい尿素溶液の投与では熱産生は少なかった。したがって、腸内に各種の溶液を投与して誘起される熱産生は、個々の溶質に固有の化学的性質によるのではなく、溶液の浸透圧に依存した反応であった。さらに、腸内投与と同量の食塩を30分間かけて大腿静脈や肝門脈内に投与すると、血漿浸透圧は腸内投与の場合と同程度の大きさと時間経過で上昇したが、誘起された熱産生反応の大きさは腸内投与に比べて有意に小さかった。したがって、熱産生に関わる浸透圧受容部位の少なくとも一部は腸内かその近傍にあると考えられる。

一方、自由摂食ラットの腸内容物の浸透圧は、注入実験に用いた1.8%食塩水や10%ブドウ糖と同レベルの600-800 mosmol/kgであった。したがって、摂食後に腸内浸透圧の上昇によって熱産生が誘起される。腸内浸透圧受容器刺激が食事誘導性熱産生の誘起機構の一部である可能性が示唆された。



## 1

助成番号 0036

## 食事誘導性熱産生における食塩および浸透圧の意義と作用機構

助成研究者：大坂 寿雅 (国立健康・栄養研究所)

共同研究者：小林 章子 (国立健康・栄養研究所)

## 1. 研究目的

食事誘導性熱産生(diet-induced thermogenesis, DIT)とは、食事を摂った後の数時間にわたって安静時代謝率以上のレベルにエネルギー代謝率が増加する現象である。DIT は時間的に少なくとも二つの相からなっている。第一相は摂食中からおこり 40 分以内に最大値となる反応で、食物による視覚・嗅覚・味覚刺激や摂食行動に伴う熱産生で脳が関与している。数時間続く第二相の熱産生は徐々に大きくなり、食物が生体内で消化され、栄養素が吸収・代謝・貯蔵されるのに不可欠な熱産生が含まれているとされる。この熱産生の場合は義務的エネルギー消費が必要な肝臓や筋肉などの臓器と考えられている。摂取した個々の栄養素によってエネルギー要求がおきる臓器は異なるので、栄養素に特異的な機構によって熱産生が誘起されるという見解がある一方、栄養素のどの様な因子によって熱産生が誘起されるのか不明である。こういった点が不明である主な原因は、DIT を研究するための手軽な動物実験モデルがなかったことにあると私たち考えた。摂食という自由行動を前提とする実験系では、身体活動に伴うエネルギー消費が DIT を上回るため解析が困難であり、ヒトや訓練されたイヌなどに研究対象が限られていた。そこで、麻酔動物での食事誘導性熱産生の新たなモデルを開発する目的で、十二指腸カニューレを用いて各種栄養素溶液を注入したときの熱産生反応を調べた。

## 2. 研究方法

体重 250-340 g のウィスター雄ラットを一晩絶食後にウレタン(1.2 g/kg, ip)で麻酔した。腹部を正中切開し、前胃に開けた小孔からカニューレを十二指腸に挿入して留置した。腹部筋肉および皮膚は縫合して、ラットは 30-31 °C の保温台の上に背位に置き、腹部はキムタオルで被って体温低下を防止した。いくつかの実験では大腿静脈や肝門脈にカニューレを挿入して、溶液の投与に用いた。外頸静脈に挿入したカニューレは採血のために用いた。

ラットの頭部は円筒状のフードで被って、呼気ガスを環境ガスと共に 1 l/min の速度で採取した。採取したガスと環境ガスの差を差動型酸素分析器(東レ LC700E)ならびに二つの二酸化炭素分析器(ヴァイサラ GMW22D)を用いて測定することにより、代謝率  $M$  ( $\text{kJ}/\text{min}$ ) =  $15.8 \text{ O}_2 + 5.2 \text{ CO}_2$  を算出した。同時に深部体温の指標として結腸温度を、皮膚温の代表として尾部皮膚温度を測定した。これらのデータは個々のラットから 5 分

ごとの平均値を経時的に求めた。

5-20%ブドウ糖、0.9-3.6%食塩水、20%メチルブドウ糖、20%果糖、7.2%尿素、蒸留水、紅花油、5-10%のグリシン、アルギニン、スレオニン、セリン溶液を 10 ml/kg, 10 分間で投与した。これらの溶液のうちで、0.9%食塩水と 5%ブドウ糖は正常体液とほぼ等張であり、1.8%食塩水、10%ブドウ糖は正常体液のほぼ二倍の浸透圧である。同様に、3.6%食塩水、20%ブドウ糖、20%メチルブドウ糖、20%果糖、7.2%尿素は正常体液の 4 倍の浸透圧である。静脈内投与には体液量が急速に増加することを防ぐために 10.8%食塩水を 3.33 ml/kg で 30 分かけて投与した。このときの食塩の総量は腸内注入と同一にした。投与した溶液は 38-39 °C に暖めた。各ラットには一つの溶液を投与し、各実験は 5-6 匹のラットで行った。

高張液を腸内注入することは体液を管腔内に引き込む効果があると考えられる。これによって下痢が起きる可能性があり得るが、本実験ではそのような徴候は観察されなかった。また、実験終了時に開腹して腸の様子を観察したところ、十二指腸と上部空腸には少量の粘性に富んだ黄色の内容物があつたが、下部空腸と回腸はほとんど空であり、投与した溶液は効率よく吸収されたことが示唆された。

浸透圧刺激後の血漿浸透圧を測定するためには腸内に 3.6%食塩水または 20%ブドウ糖注入、あるいは静脈内に 10.8%食塩水注入後の 0, 20, 40, 60, 120 分に血液を外頸静脈カニューレから 0.7 ml とり、遠心して血漿を採取し、凝固点降下法を用いて浸透圧を測定した。

正常ラットの胃および腸内容物の浸透圧を測定するためには早朝にラットをネンブターール(50 mg/kg, ip)で麻酔し、胃、十二指腸および空腸上部、下部回腸の三カ所の内容物と心臓穿刺により血液を取り出し、遠心後に上清を採取した。

すべてのデータは平均 ± 標準誤差であらわし、分散分析と Tukey 法による他群比較法により統計検定を行った。

### 3. 研究結果

5-20%ブドウ糖溶液を腸内注入すると呼吸交換率の上昇を伴って熱産生量が増加した (Fig. 1)。この反応は投与後約 1 時間でピークになり、約 3 時間で元のレベルに戻った。結腸温は約 0.5 度上昇した。この反応によって投与した糖のエネルギー量の 9-16%が消費された。

しかしながら、1.8-3.6%食塩水の投与によっても熱産生反応が誘起され、体温も約 0.5 度上昇した (Fig. 2)。このときは呼吸交換率は変化しなかった。そこで、投与する溶液の浸透圧を一定にして、非栄養素である 20%メチルブドウ糖や栄養素である 20%果糖の注入したところ、3.6%食塩水と同程度の熱産生反応が誘起された。一方、細胞膜に透過性があるために生体中では浸透圧刺激になりにくい尿素溶液は腸内注入しても誘起される熱

産生反応の大きさは小さかった。5-10%アミノ酸溶液の投与によっても熱産生量が増えたが、この反応は投与したアミノ酸のモル数に比例しており、投与したアミノ酸の重量とは相関しなかった。グリシン、セリン、スレオニン投与後には呼吸交換率は上昇したが、アルギニン投与後には呼吸交換率は低下し、熱産生反応と呼吸交換率変化との間には一定の関係はなかった。蒸留水や紅花油を注入しても熱産生率や体温に影響しなかった。

腸内投与したのと同量の食塩を30分間かけて大腿静脈や肝門脈内に投与すると、血漿浸透圧は腸内投与後と同じ大きさと時間経過で約20 mosmol/kg 上昇した。しかし、誘起された熱産生反応は腸内投与の場合が約2倍の大きさだった。

自由摂食ラットの小腸内容物の浸透圧は上部空腸で  $678 \pm 27$  mosmol/kg であり、下部回腸では  $556 \pm 18$  mosmol/kg であった。これらは血漿浸透圧の  $306 \pm 1$  mosmol/kg より有意に高かった。

#### 4. 考察

麻酔ラットの腸内に各種栄養素を投与したときに熱産生反応が誘起され、覚醒動物やヒトでの食事誘導性熱産生反応とその大きさや時間経過が似ていた。そこで、この標本は食事誘導性熱産生の実験モデルとして有用であることが分かった。

本研究の最も興味深い結果は熱産生反応が溶液の浸透圧に依存した反応であったことである。本研究結果は注入した栄養素や化学物質に固有な性質による熱産生誘起反応を否定するものではないが、本実験で観察された熱産生反応の大部分は溶液の浸透圧に相関していた。すなわち、腸内に注入した溶液の浸透圧によって熱産生が誘起された。

同量の食塩を静脈内投与したときの血漿浸透圧変化は腸内投与の場合と同様であったが、熱産生反応は腸内投与の場合が大腿静脈や肝門脈に注入したときよりも反応が大きかった。この結果は熱産生に関与する浸透圧受容部位の少なくとも一部は腸内にあることを示唆する。

自由摂食ラットの腸内浸透圧の大きさは、注入実験に用いた1.8%食塩水や10%ブドウ糖と同レベルであった。したがって、摂食後に腸内浸透圧の上昇によって熱産生が誘起されうる。腸内浸透圧受容器刺激が食事誘導性熱産生の誘起機構の一部である可能性が示唆された。

#### 5. 文献

Osaka, T., Kobayashi, A. and Inoue, S. Thermogenesis induced by osmotic stimulation of the intestines in the rat. *Journal of Physiology*, 532:261-269, 2001.

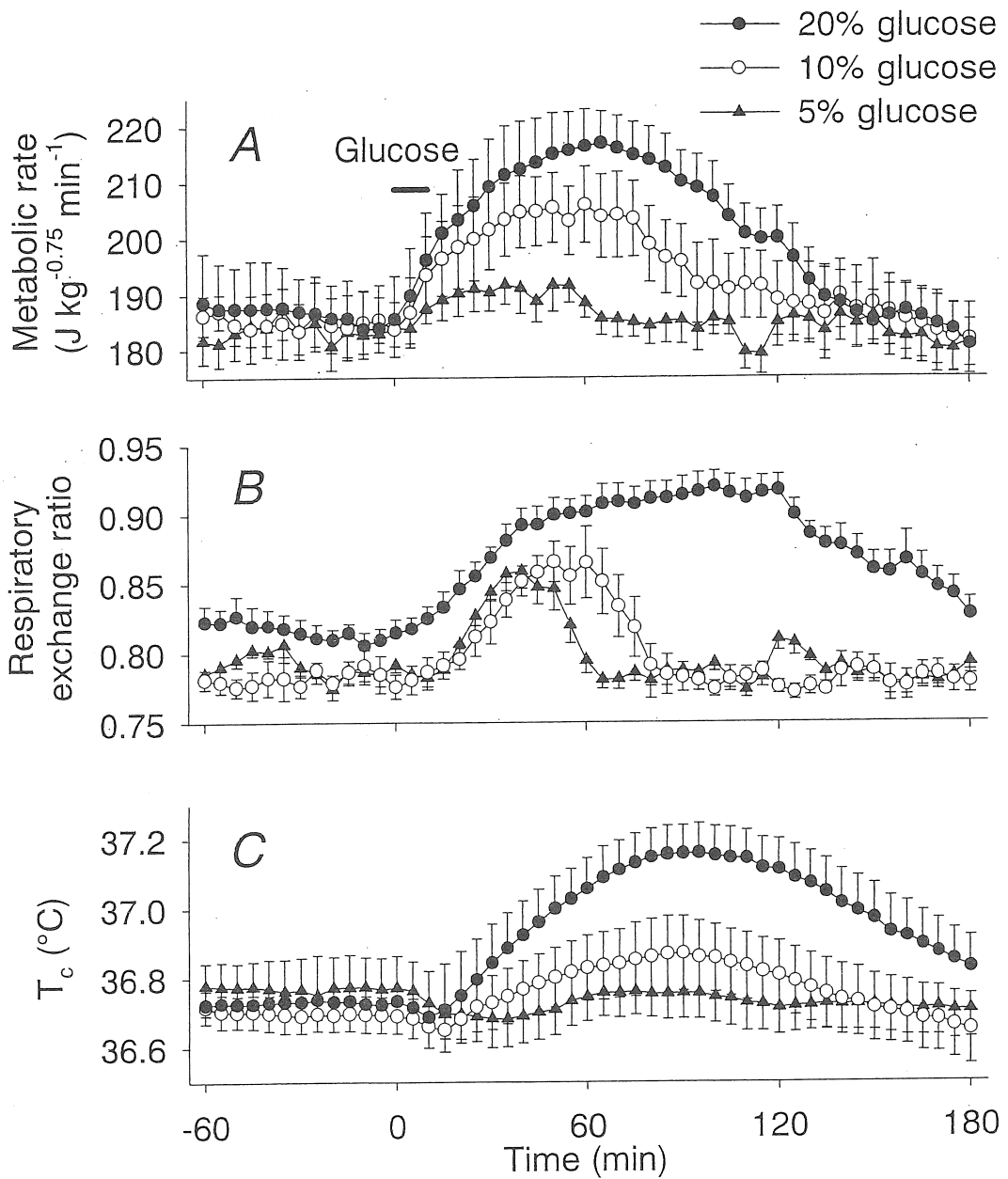


Fig. 1. Dose-dependent effects of intestinal infusion of glucose solutions on the metabolic rate (A), respiratory exchange ratio (B) and T<sub>c</sub> (C).

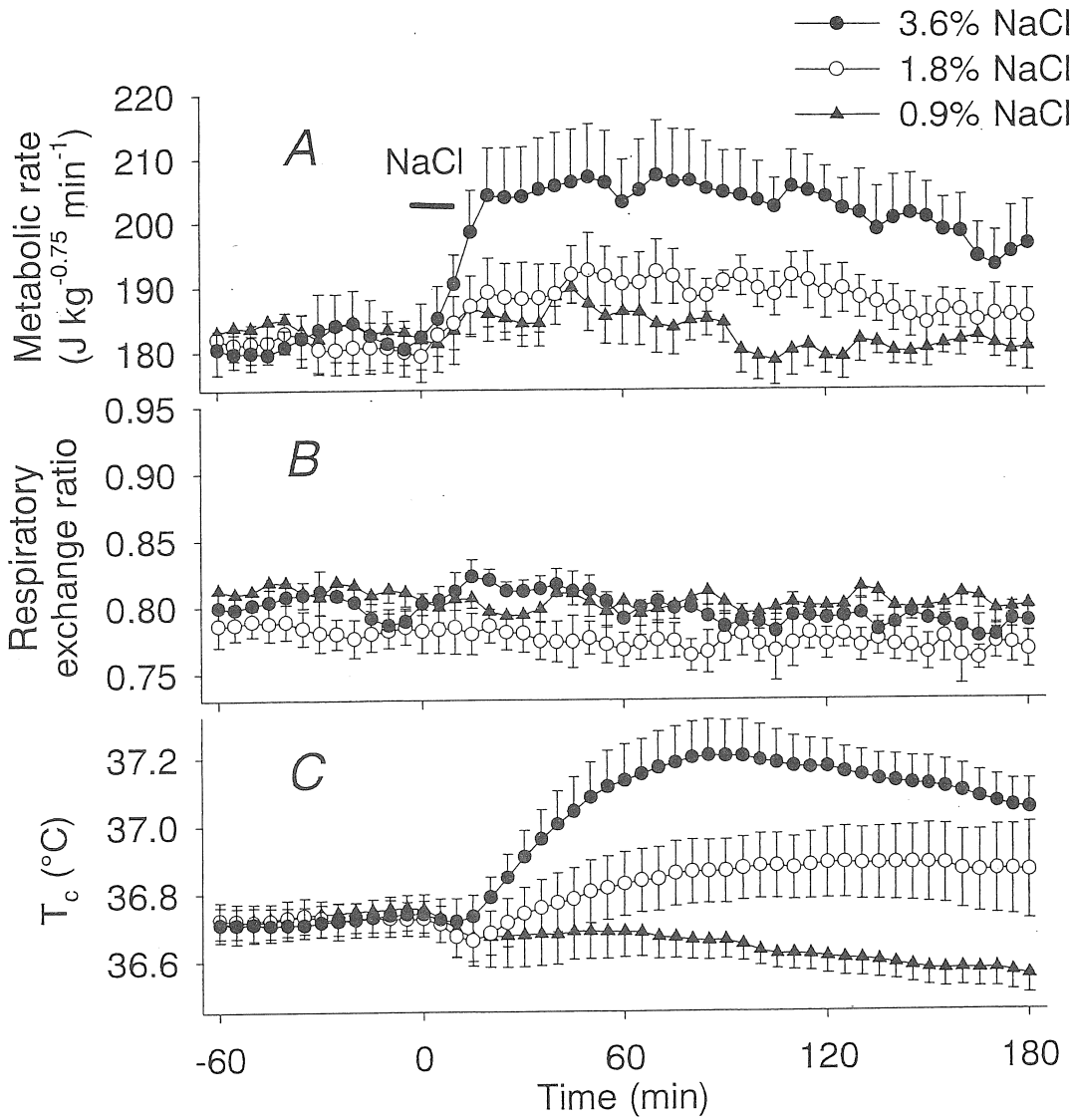


Fig. 2. Dose-dependent effects of intestinal infusion of NaCl solutions on the metabolic rate (A), respiratory exchange ratio (B) and  $T_c$  (C).

## Significance of osmotic stimulation of the intestines in diet-induced thermogenesis

Toshimasa Osaka and Akiko Kobayashi

National Institute of Health and Nutrition, Shinjuku 162-8636, Japan.

### Summary

Diet-induced thermogenesis (DIT) is the increase in whole body energy expenditure following food ingestion. We studied the signals by which the ingested nutrients stimulate the energy expenditure in urethan-anesthetized rats. Infusion of 5-20% glucose, 1.8-3.6% NaCl, 20% methylglucose, 20% fructose, or 5-10% solutions of various amino acids (10 ml/kg) into the duodenum induced dose-dependent thermogenesis. In contrast, infusion of 0.9% NaCl, distilled water, or safflower oil had no effect on the metabolic rate. Infusion of 7.2% urea induced a small and transient increase in the metabolic rate. These results suggested that the thermogenesis was caused mainly by changes in osmolality rather than by a specific action of the different solute molecules. The respiratory exchange ratio increased after the infusion of glucose, fructose, glycine, or serine, did not change after the infusion of NaCl, methylglucose, safflower oil, or distilled water, and decreased after infusion of arginine. Therefore, there was no relationship between substrate utilization and the occurrence of thermogenesis. Intestinal infusion of 3.6% NaCl elevated the plasma osmolality, with a plateau increase of ~20 mosmol/kg. However, intravenous infusion of the same amount of NaCl induced a significantly smaller thermogenic response, although it elevated the plasma osmolality with a time course and magnitude similar to those obtained after the intestinal infusion. Infusion of NaCl into the hepatic portal vein or the peritoneal cavity also produced a significantly small thermogenic response. These results suggested an intestinal or mesenteric location for osmoreceptors. To test for possible stimulation of intestinal osmoreceptors after intake of a normal meal, we measured the osmolality of the intestinal contents. The osmolality of the duodeno-jejunal contents was 600-800 mosmol/kg, whereas the plasma osmolality was  $306 \pm 1$  mosmol/kg, which suggests that the intestinal osmoreceptors are stimulated after meals and are involved in diet-induced thermogenesis. In conclusion, the present study demonstrates that the intestinal osmotic pressure, but not specific properties of nutrients, is critically involved in the initiation of DIT.