

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 20 日現在

機関番号：13902

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24700723

研究課題名(和文)二重標識水法を用いた短期間エネルギー消費量評価法の開発

研究課題名(英文) Estimation of short-term energy expenditure using the doubly labeled water method

研究代表者

寺本 圭輔 (TERAMOTO, Keisuke)

愛知教育大学・教育学部・准教授

研究者番号：70362308

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)：DLW法を用いた短期間エネルギー消費量の算出を試みた。一般成人を対象に6、12時間、1日の実測値、5、7日間のTEE平均値を算出したが、明らかに12時間以下ではばらつきが大きくマイナス値を示すものもあり、1日ではそれは小さくなるもののPALの理論値を超えるものも存在した。また、陸上長距離選手によるトレーニング期別のTEEは、1日以下では被験者内・測定時内での繰り返し分析の値にばらつきがみられ、各TEE間にもマイナス値が多くみられた。しかし、2日間の平均値ではオフ日を含んでいる7日間の平均値と比較して大きな違いなく評価でき、測定精度を高める工夫により短期間評価が可能になると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to examine the feasibility of calculating short-term total energy expenditure (TEE) using the doubly labeled water (DLW) method. TEE was determined at 6 and 12 hours, and at 1, 5, and 7 days, in healthy adults. At 6 and 12 hours, some subjects showed negative TEE values, thus making the values unreliable. At 1 day, although the unevenness of the TEE value was reduced, the physical activity level (PAL) of some subjects exceeded the theoretical values. Furthermore, in endurance athletes, the short-term TEE was determined during normal training and tapering training. Similarly, repetition analysis showed that for periods of less than 1 day, TEE values appeared to be uneven, and to vary among the subjects. However, the average TEE values at 2 days were similar to those at 7 days, including days of rest from training. These results indicate that inventions for increasing the measurement accuracy for short-term TEE calculation may be feasible.

研究分野：運動生理学

キーワード：二重標識水法 エネルギー消費量 短期間

1. 研究開始当初の背景

1日総エネルギー消費量(TEE)の測定方法は、実験室的方法とフィールドスタディー法に分けられる。TEE評価法のゴールドスタンダードとされる呼気ガスチャンバー法は実験室的方法に分類されるが、活動が実験室内に限定されるため本来の自由な生活におけるエネルギー消費量を測定することが困難である。一方、フィールドスタディー法に分類され多用されている評価法として質問紙法や加速度計法、心拍数法が挙げられるが、実験室的方法と比較して評価精度が低い。その中で、近年、エネルギー摂取基準策定のためのTEE評価の方法として、グローバルスタンダードとして用いられている方法が二重標識水法(DLW法)である。この方法は、呼気ガスチャンバー法と比較しても精度 $\pm 4\%$ 、確度 $\pm 5\%$ 以内であり、活動が制限する必要がないため、フィールドスタディー法の中で最も精密度、正確度ともに高いことが報告されている(柏崎, 2001)。

DLW法の原理は、安定同位体である ^{18}O と ^2H により二重にラベルされた二重標識水(DLW)を被測定者に経口投与し、その後、1週間から2週間程度の測定期間中に尿を数回採取し、その尿に含まれる ^{18}O と ^2H の濃度を分析することにより、期間中の体内の ^{18}O と ^2H の減衰率を算出する。 ^2H は H_2O として体外に排出されるのに対して ^{18}O は H_2O に加えて CO_2 としても排出されることから、 ^{18}O と ^2H の濃度の減衰率の差から二酸化炭素の排出量(rCO_2)を計算することができる。それを、Weir(1987)の間接熱量測定のに式に rCO_2 を代入して、TEEを求めることができる。このDLW法の重要な利点は、測定精度が高いことに加えて、被測定者は数回尿を採取するのみで、日常生活を全く制限されることはないことである。

しかしながら、これまでTEEは1週間から2週間の生活中の平均のTEEを明らかにしてきたためTEEの日間や日内の変動についての

情報を得ることはできず、日常生活に大きな変化がない一般成人ではこの期間の平均値で十分であるが、生活に大きな変化を伴う労働者やスポーツ選手では、日毎や日内の短時間のエネルギー消費量(EE)の値を示すことが望ましいと推測でき、例えば、競技スポーツ選手では、トレーニングの有無や負荷レベルによって評価することができ、コンディション管理やトレーニング効果を把握しやすくなるであろう。

短期間・短時間のEEの評価法は、未だにトライアスリート1名を対象に検討したCuddyら(2010)によるもののみであり、その理由として分析機器そのものの精度が1つとして挙げられるが、現在では、高精度の安定同位体比質量分析計の登場によって方法開発の可能性は大きくなったと考えられる。この短期間評価法は、ヒトの身体負荷レベルに見合ったエネルギー必要量や食事摂取基準を提示するために必要とされる技術であり、重要な研究課題である。

2. 研究の目的

本研究は、二重標識水法(DLW法)を用いて、短期間のエネルギー消費量(EE)評価法を開発することを目的とした。具体的には、DLW法を用いた短期間(数日および数時間)のEEの評価方法論を検討するため、呼気ガス分析法、加速度計法によるEEと比較検討し、短期間DLW法の測定の有効性を確かめること、さらに、競技スポーツ選手を対象として、通常トレーニング期(高強度、NT期)と調整期(低強度、TT期)における期、日間および日内のEEおよびPhysical Activity Energy Expenditure(PAEE)、Physical Activity Level(PAL)を定量し、その違いを明らかにすることとした。

3. 研究の方法

(1) 被験者

被験者は、健康な一般成人として12名（男性5名、女性7名、 22.3 ± 0.7 歳）と大学陸上競技部に所属しトレーニングを継続している健康な男性陸上長距離選手5名（ 19.8 ± 0.9 歳、競技歴 8.2 ± 2.2 年）を対象として研究を行った。対象とした大学陸上競技部は研究を実施した年度に関東学生選手権1部に所属していた。

(2) 実験概要

DLW法によるEEの測定に先立ち、身長は0.1cm、体重は0.05 kg単位で測定し、体脂肪率(%BF)および除脂肪量(FFM)はDPX-L(Lunar社製)を用いて二重エネルギーX線吸収(DEXA)法により測定を行った。なお、FFMは除脂肪除骨塩量(LTM)に骨塩量を加えることで算出した。また、安静時エネルギー消費量(REE)は早朝空腹状態により室内で30分以上仰臥させ、その後仰臥位のまま呼気ガス分析器(METAMAX 3B, Cortrex社製)を用いて7分間測定を実施し、酸素摂取量と二酸化炭素産生量によりWeir(1949)の式により1日あたりのREEを算出した。

DLW法によるEEの測定は、DLW投与日の早朝に被験者を空腹状態で来室させてベースラインとなる尿サンプルを採取した。その後、一般人および競技選手の対象者には総体水分量(TBW)を体重の60%と仮定してDLWは ^2H (99.8atm%:大陽日酸)を0.05 g/kg TBW、 ^{18}O (10.0 atm%:大陽日酸)を0.25 g/kg TBWの割合で経口摂取させた。DLW摂取の3時間後に尿を採取し、その尿中の ^2H の希釈容積の平均値からTBWを以下の式により算出した。

$$\text{TBW (L)} = ((\text{dose} \cdot 99.9/20) (18.01/\text{Ne} (\text{APe} - \text{Apb})) / 1.041$$

ここで、doseは被験者が服用した $^2\text{H}_2\text{O}$ の重さ(g)、99.9は被験者が服用した $^2\text{H}_2\text{O}$ 中の同位体存在率、20は1molあたりの $^2\text{H}_2\text{O}$ の重さ(g)、

18.01は1molあたりの水の重さ(g)、Neは重水素の自然界存在比、APeとAPbはそれぞれ平衡時およびベースライン尿の同位体存在率である。

そして、一般成人では、投与後6時間、12時間、1日、2日、5日、7日に、競技選手では、投与後12時間、1日、2日、3日、7日の早朝尿を採取し、その尿中の ^2H と ^{18}O の同位体の減少率を求め、以下の式により二酸化炭素産生量(rCO_2)を求めた。

$$\text{rCO}_2 (\text{L/day}) = 0.4556\text{TBW} (1.007\text{ko} - 1.041\text{kh})$$

ここで、koは ^{18}O の1日当たりの排出率、khは ^2H の1日当たりの排出率である。

TEEの算出は、Weir(1949)の間接熱量測定の式を用いて rCO_2 から算出した。

$$\text{TEE (kcal/day)} = 3.941 (\text{rCO}_2 / \text{FQ}) + 1.106 (\text{rCO}_2)$$

なお、食物商であるFQは一律に0.85としても誤差は僅かとされていることからFQは0.85とした(Black, et al., 1986)。また、PALはTEEをREEで除すことで、PAEEはTEEからREEおよび食事誘発性耐熱産生量(DIT = 10% TEE)を減じることで算出した。

採取された尿はすべてプラスチック製の容器に入れ、パラフィルムで密封した後、 -80°C で凍結保存した。 ^2H はHOKKOビーズ白金を触媒として H_2 ガスで、 ^{18}O は CO_2 ガスで平衡法を用いて水試料前処理装置(MultiFlow, Micromass UK Ltd.社製)により前処理を行った後、 ^2H と ^{18}O の安定同位体比を質量比分析計(IsoPrime, Micromass UK Ltd.社製)により分析した。なお、分析はすべて3回繰り返し行い、平均値を各被験者の測定値とした。

4. 研究成果

(1) 二重標識水法(DLW法)の分析精度

DLW法がヒトに応用がされ始めたSchoellerら(1983)によると、成人における測定期間や投与量の限界について示しており、短期間では同位体の減衰率の程度を正確に得るには短すぎるとされ、成人の最適な測定期間は14日であり短期間のエネルギー消費量の測定はできないとされていた。しかし、この研究において、最大の投与量を用いれば2日間という短期間のエネルギー消費量が5%という精度の許容範囲に含まれることを示しており、投与量を増やすことにより短期間測定の可能性を示唆している。つまり、同位体を分析する機器の分析精度が低かった当時であっても、理論上では2日間という短期間のエネルギー消費量は測定可能であったと推測される。しかしながら、同位体の投与量を最小に抑えたとしても当時はDLWがとても高価であったことから、投与量を増やしての短期間の測定は研究にかかる費用の面を考慮するとほぼ不可能であり、また、1993年には同位体分析の機器の精度が徐々に上向きしていたものの分析を3回行った際の精度が ^2H で $\pm 4.4\%$ 、 ^{18}O が $\pm 0.36\%$ であり、1993年においても ^2H の分析には変動範囲は大きく、極小の同位体の変動を分析することは困難であったと考えられる。一方、本研究で用いたガス・水・炭酸塩用前処理装置および同位体比質量分析計(IRMS, GV Instruments社製, IsoPrime-MultiFlow)の分析精度は ^2H が $\pm 1\%$ 、 ^{18}O が $\pm 0.3\%$ と分析精度は高く、より小さい安定同位体の変動を分析できる可能性が考えられた。本研究で行った蒸留水を用いた安定同位体の分析精度は ^2H で 0.41% 、 ^{18}O で 0.05% であり、機器の分析精度範囲内で稼働しているため、 ^2H では $\pm 1\%$ 、 ^{18}O では $\pm 0.3\%$ 以上の変動であれば、安定同位体の変動を捉えることができると考えられた。

(2) 一般成人における短期間エネルギー消費量の評価

健康な一般成人12名を対象に短期間のTEE(6時間、12時間、1日の実測値、2日、5日間と7日間からの平均値、kcal/day)を算出した。しかし、明らかに6時間と12時間の実測値では、ばらつきがたいへん大きく、マイナスの値を示す被験者が多く見られた(実測値より1日あたりのkcalを算出、6時間:-147001kcal/dayから24713kcal/day、12時間:-2446kcal/dayから12480kcal/day)。さらに、呼気ガス分析により算出した安静時エネルギー消費量に運動負荷試験中のEEを加味したEEと短期間DLW法によるEEとの比較を行ったが、6時間、12時間の実測値とは明らかに異なる結果を示した。一方、1日の実測値では、ばらつきがかなり小さくなり成人の標準値に近くなるものの(1930kcal/dayから6929kcal/day)、PALの一般人の理論値($1.21 < \text{PAL} < 2.50$)を超える被験者も存在した。また、1日の実測値と7日間の平均値と比較すると、休日や活動的な日を含むため被験者によって差はあるものの、多くの被験者が1000kcal/day未満の差であったが、なかには3557kcal/dayや2619kcal/day多く算出されたものも存在した。

6時間から12時間の実測値評価が困難な理由として、TEEがCuddyら(2010)が示した被験者と比較して、単位時間当たりのエネルギー消費量が明らかに小さいことが1つの可能性として考えられた。しかしながら、PALとの比較によりやや疑問があるものの1日の実測値は有効である可能性を示した。そのため、一般成人と比較して1日あたりのエネルギー消費量が多い競技スポーツ選手で再度検討を試みた。

(3) 競技スポーツ選手における短期間エネルギー消費量とトレーニング期別エネルギー消費量の評価

陸上長距離選手における通常トレーニング期(NT期)と調整期(TT期)の7日間の平均値

のTEE、REE、PAL、PAEEの結果を示した。TEEはNT期で4939±1259kcal/day、TT期で4634±868kcal/day、REEはNT期で1653±154kcal/day、TT期で1674±160kcal/dayを示し、TEEおよびREEともに両期間に有意差は認められなかった。PAEEはNT期で2793±1052kcal/day、TT期で2497±811kcal/dayであり、PALはNT期で2.98±0.66、TT期で2.79±0.62を示し、両期間に有意差は認められなかったものの、NT期の身体活動強度が高い傾向がみられた。

Summary of energy expenditure and related measures in endurance athletes.		
	Normal training	Tapering training
TEE (kcal/day)	4939 ± 1259	4634 ± 868
REE (kcal/day)	1653 ± 154	1674 ± 160
PAL	2.98 ± 0.66	2.79 ± 0.62
PAEE (kcal/day)	2793 ± 1052	2497 ± 811
TEE/FFM (kcal/kg/day)	90.4 ± 26.6	84.6 ± 13.8
REE/FFM (kcal/kg/day)	30.0 ± 3.7	30.7 ± 3.2
PAEE/FFM (kcal/kg/day)	51.3 ± 21.2	45.5 ± 13.8

Average ± S.D., TEE : total energy expenditure, REE : resting energy expenditure
 PAL : physical activity level, PAEE : physical active energy expenditure
 FFM : fat free mass

そこで、12時間と1日の実測値、2日間と7日間からの平均値のTEE (kcal/day) をNT期とTT期のトレーニング負荷量別に評価することを試みた。その結果、NT期、TT期ともに一般成人と比較して単位時間あたりに消費するEEは大きいものの、12時間および1日の実測値では、各被験者内・各測定時内での繰り返しの分析の値にばらつきがみられ、12時間の実測値として評価されたTEE (kcal/day) では一般成人の実験と同様にマイナスの値が多くみられた。また、1日の実測値として隣合う2日間(測定1日目と2日目)を比較すると、各日に差が生じることは推測できるものの、被験者の中には5000kcal以上の違いが生じたものもいた。つまり、一般成人と同様に、本研究では、1日以下の実測値の算出は困難であることを示す結果であった。

一方、2日間の平均値によるTEE(kcal/day)では、分析に欠損値を生じた1名を除いて、7日間の平均値と比較すると大きくて1500kcal/day程度の違いで評価でき、具体的

には、ある被験者のTT期の7日間の平均TEEが3205kcal/dayであったのに対してその期間中の2日間の平均TEEは3736kcal/day、NT期の7日間の平均値が4930kcal/dayに対して2日間の平均値が3458kcal/dayであった。7日間の平均値がトレーニングオフ日を含んでいることとNT期のTEEが高いことを考慮すると、この932kcal/day、1472kcal/dayの違いが測定精度によるものか、トレーニングオフの有無によるものかは本測定では明確にできないが、測定精度を高める工夫により短期間評価が可能になると考えられた。

競技スポーツ選手では1週間のうち1~2日間の休息日を挟んでトレーニングすることが多く、2日間の平均値よりTEEを評価できるようになればトレーニングスケジュールや強度に合わせて評価することが可能となり、スポーツ栄養学的観点から有効な方法となると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- (1) 村松愛梨奈, 寺本圭輔, 井川正治, ほか2名, 試合調整期における陸上短距離選手のエネルギーバランスと主観的コンディションの検討. 人間と生活環境, 22(1), 2015 (印刷中)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寺本 圭輔 (TERAMOTO, Keisuke)
 愛知教育大学・教育学部・准教授
 研究者番号：70362308

研究協力者

井川 正治 (IGAWA, Shoji)
 日本体育大学・体育学部・教授
 研究者番号：60112976

村松 愛梨奈 (MURAMATSU, Erina)
 日本体育大学・体育学部・助教
 研究者番号：60757996