

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月13日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23650471

研究課題名（和文） 食習慣の違いがエネルギー代謝や内臓脂肪蓄積に与える影響

研究課題名（英文） Influence of eating patterns on energy metabolism and visceral fat deposition in rats

研究代表者

池田 郁男（IKEDA IKUO）

東北大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：40136544

研究成果の概要（和文）：

一般的に夜のどか食いは肥満すると言われているが、その証明は不十分である。そこで、ラットを用いて摂食量を同一にし、一日の食事回数が1および3回の場合で、どのような影響が得られるかを検討した。その結果、内臓脂肪重量には両群に差はなかった。エネルギー代謝では1回摂食群で脂肪消費量の亢進が認められたが、総エネルギー消費量に有意差はなかった。一方、血糖、血清インスリン濃度、肝臓トリアシルグリセロール濃度は両群で違いが認められた。本実験条件下では、摂食回数の違いにより内臓脂肪蓄積に影響は認められなかったが、糖および脂質代謝に影響することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Generally, gorging pattern of eating has been thought to increase visceral fat deposition compared to nibbling pattern of eating. However, sufficient scientific proof has never been available. In the present study, we compared effects of meal frequency, once a day (gorging group) and thrice a day (nibbling group), on energy metabolism, visceral fat deposition and hepatic lipid metabolism in rats fed a high fat diet. Respiratory quotient (RQ) was higher and fat consumption was lower in the gorging group compared with the nibbling group. Total energy consumption was the same between the two groups. Final body weight and visceral fat weight were almost the same between the groups. However, concentrations of blood glucose, serum insulin, serum adiponectin and hepatic triacylglycerol were influenced by different meal frequency. These observations suggest that visceral fat deposition is not influenced by meal frequency at least in this experimental condition, but carbohydrate and lipid metabolisms are altered by eating habits.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：どか食い、ちょこちょこ食い、内臓脂肪、エネルギー代謝

1. 研究開始当初の背景

日本人の食事エネルギー摂取量は最近25年間では漸減しているにも関わらず、特に男性の内臓肥満者は増加の一途をたどってお

り社会問題となっている。この原因の一つには運動不足が挙げられるが、生活習慣の変化もまた大きく影響していると考えられている。よく知られる生活習慣の違いによる肥満

の原因には、朝食欠食に伴う夕食での「どか食い」が挙げられる。同じ摂取エネルギーでも、①少量で数回に分けて摂食する場合と②多量で1~2回摂食する場合では、②が肥満するという報告がいくつかある。しかしながら、同一摂取エネルギー条件下で①と②を厳密に試験することはかなり難しく、②が肥満しやすいという確証は得られていない。

摂取エネルギーが同じでも摂食回数が少ない方が肥満する原因として、摂食回数が少ないと一回に摂取する量が増え、そのため、血糖の上昇割合が高くインスリン分泌が増加することによるとされている。インスリンは糖からの脂肪酸合成を活性化し、中性脂肪の脂肪組織への取り込みを促進する。従って、同じ摂取エネルギーでもインスリン分泌量が高いと、摂取エネルギーは脂肪蓄積へ向かうと考えられる。しかし、科学的証明は得られていないのが現状である。

また、血糖上昇を抑制する機能性食品成分や脂肪吸収を遅延させる機能性成分（緑茶カテキン、難消化性デキストリンなど）では、内臓脂肪減少も同時に観察される場合が多い。この作用機構は上記の考え方と同じであり、摂食後のインスリン分泌量の抑制、あるいは、血中インスリン濃度の高い時に脂肪吸収が低いために起こると推定されるが、この点の証明もまた全くなされていない。機能性食品成分が特定保健用食品として認定されるためには、作用機構を明らかにする必要がある。しかし、上述の点が証明されない限り、この作用メカニズムで血糖上昇抑制あるいは脂肪吸収遅延作用を有する食品成分が肥満を防止する特定保健用食品として認定されることはありえない。

インスリンの作用により糖からの脂肪酸合成や中性脂肪の蓄積が増加すると、エネルギー消費量は減少するはずである。この点は、呼気中の酸素消費量と二酸化炭素排出量を測定できる生体ガス質量分析装置で連続的にモニターすれば検出できる。しかし、現在の生体ガス質量分析装置では、自由摂食での測定しかできず、摂食回数や摂食量を調節することはできない。一方、摂食回数や摂食量を調節できる摂餌制限機能付き摂餌量測定装置は別に市販されているが、この両者を組み合わせた装置は存在しなかった。

2. 研究の目的

食事回数が少なく1回の食事で大量摂取する食べ方、例えば、朝食欠食に伴う夕食でのどか食い (gorging) は、食事回数が多く1回の食事が少ない、いわゆる、ちょこちょこ食い (nibbling) よりも内臓脂肪が蓄積しやすいと広く信じられている。しかし、文献を精査してみると、人でどか食いが肥満しやすいことを証明する信頼に足るデータは得

られていない。実験動物でも、摂食回数および摂食量を厳密に調節することが難しいことから、正確な情報は得られていない。本研究では、ラットを用いて摂取エネルギー量および摂食回数を厳密にコントロールした上で、エネルギー代謝を測定できる装置を製作し、一日の摂食回数が1~2回の場合と3~数回の場合で内臓脂肪蓄積量が異なるかを検討する。さらに、そのときに起こる代謝応答を調べることで、摂食回数の違いが内臓脂肪蓄積の違いに影響するメカニズムを明らかにする。

具体的には、まず、摂餌制限機能付き摂餌量測定装置と生体ガス質量分析装置を組み合わせることで、等しい摂取エネルギー条件下で摂食回数が異なる場合のエネルギー代謝を連続的にモニターする装置を開発する。この開発が成功すれば、これを用いて、摂食回数が異なる条件下での、酸素消費量、二酸化炭素排泄量、エネルギー消費量、呼吸商を連続的に計測し、摂食回数の違いがエネルギー代謝に影響するかをラットを用いて検討する。生体ガス質量分析装置での酸素および二酸化炭素のモニターはかなり微妙な調整が必要であるため、両装置の単純な組み合わせでは計測がうまくいかないことが予想されるが、すくなくとも装置の改良によりこの点を改善し、実用可能な装置を作り上げることが第1の目標である。完成後、ラットを用いて摂食回数をいくつか変更し、エネルギー代謝を計測することで、摂食回数とエネルギー代謝の関連性を明らかにすることが第2の目標である。

本研究が順調に進めば、朝食欠食やどか食いではなぜ肥満するかを科学的に実証できる可能性が高い。また、脂肪や糖の吸収を抑制する食品成分が肥満予防に有効であることも初めて立証できる可能性があり、肥満予防に関わる機能性食品素材の開発に大きな弾みがつくと考えられる。

3. 研究の方法

(1) 摂餌制限機能付き摂餌量測定装置と生体ガス質量分析装置の連結

摂餌制限機能付き摂餌量測定装置は市販されているが、そのままでは、生体ガス質量分析装置に連結できないことから、業者と話し合いつつ、連結方法を検討し、作製を依頼した。

試作品を実際に使用してみると、摂餌制限機能付き摂餌量測定装置側に動物飼育装置としてのいくつかの基本的な問題点が浮上し、未完成の装置であることが判明した。これらの改良が終了した後、両装置を実際に連結した状態でラットを用いて呼気ガスを測定してみた。しかしながら、空気の流れに問題があり、呼気ガス測定が困難であることが

判明し、更なる改良の必要が生じた。

摂餌制限機能付き摂餌量測定装置は、給餌器と居住区の間がシャッターで隔てられており、給餌時間になるとシャッターが開き、ラットが餌にアクセスできるようになっている。当初、呼気ガス測定用の空気は、シャッターの隙間から流入するように設計されていたが、この状態では、空気の流れが十分でなく、また、シャッターが開いているときとの空気の流れ方が違いすぎる問題があった。そこで、シャッターに小さな穴を多数開けることにより、空気の流れをスムーズにし、シャッターが開いている場合と閉じている場合で空気の流れに大きな変動がないようにしたところ、呼気ガス測定が一応可能となった。

なお、研究費の関係で、摂餌制限機能付き摂餌量測定装置を6台しか揃えることができなかった。これでは、2群を設けると1群3匹ずつしか試験できず、全く同じ実験を時期をずらして2回行う必要があり、時間が2倍かかること、および、実験条件を揃えることが困難であるなど実験遂行上の大きな問題であった。

(2) ラットを用いた摂餌制限の試験

何匹かのラットを用いて、一日の摂食回数を変化させた時、摂餌量をうまく調節できるかを検討した。目的では、摂食回数が1~2回の場合と3~数回の場合とで比較することを想定したが、摂食回数を自由自在に変えて、摂餌量を合わせることは想像以上に容易ではないことが明らかとなってきた。

摂餌制限機能付き摂餌量測定装置では、シャッター開放時に、摂食する量を設定でき、設定値に達するとシャッターが閉じるようになっている。しかしながら、実際には、設定量よりも多く食べる場合が起こった。ラットを観察してみると、シャッターが閉じる際に、閉じないようにラットがシャッターを押さえていることが判明した。シャッターはラットが挟まれる可能性を想定して、一定の力がかかると、閉じずに一旦戻るように設計されており、その後、再度閉じるように作動する。ラットはこれを学習し、シャッターがなかなか閉じず、摂食量が増加することが判明した。そこで、シャッターの閉じ方を改良したが、あまり強い力で閉じるとラットが挟まれる可能性があり、想定摂食量通りに閉じることは困難であった。そこで、若干少なめの摂食量でシャッターが閉じる動作を開始するように設定することで、摂食量を調整することとした。これは、各ラットで毎日微調整していくしか方法がなかった。

また、摂食回数については、一日1回の摂食と一日3回の摂食で摂餌量を合わせる事が可能であることが明らかとなり、これらの

方法で実験してみることにした。

これらの摂食回数以外の回数については、なんだか試験してみたが、摂食量を合わせる事が容易でないこと、また、装置が6台しかなく、バラツキを考慮すると、うまく行くかどうかの判断に時間がかかるため、研究期間内で十分な検討を行う時間的余裕がなかった。そこで、比較的うまく行くと考えられた、上記の条件で試験することとした。

(3) ラット飼育試験

5週齢雄性SDラットを購入し、摂食の訓練を行った。(2)の予備試験で得られた情報を基にして、数日の予備飼育後、夕方、深夜、朝方の3回それぞれ2時間の摂食時間を設定し、4日間訓練した。その後2群に分け、gorging(どか食い)群には、夕方および朝方の2回それぞれ1時間の摂食時間で4日間訓練し、その後、朝方の1回、2時間の摂食訓練を1日行った。一方、nibbling(ちょこちょこ食い)群では、群分け後、夕方、深夜、朝方の3回それぞれ40分間を設定し5日間訓練した。

このように、gorging群は朝1回、2時間摂食、nibbling群は夕方、深夜、朝方の3回、それぞれ40分摂食の条件で、本試験を開始した。食餌は、重量で24%(カロリーで45%)の高脂肪食(ラード主体)を用いた。以上の条件下で、33日間の飼育を行い、途中、22日目にエネルギー代謝の測定を行った。飼育最終日は、朝9時より屠殺を行った。

4. 研究成果

(1) エネルギー代謝量

22日目に呼気ガスを測定し、エネルギー代謝を調べた。その結果、24時間の総エネルギー消費量には両群間で有意差はなかったが、gorging群で若干低い値を示した。呼吸商はgorging群で有意に高く、脂肪消費量は有意に低かった。炭水化物消費量に差はなかった。

(2) 摂食量および体重

平均摂食量は両群で全く差がなく、摂食量を同等にすることは、成功したと考えられる。屠殺時の終体重、体重増加量、摂食効率に有意差はなかった。

(3) 臓器重量

肝臓重量は、gorging群で低い傾向にあったが(P=0.077)、白色脂肪組織重量は、精巣周囲、腎周囲、腸間膜いずれも差はなかった。腓腹筋および肩胛骨間褐色脂肪組織重量に有意な違いはなかった。

(4) 血清パラメータ

トリアシルグリセロールおよびコレステロール濃度に違いはなかった。遊離脂肪酸濃

度は gorging 群で nibbling 群よりも有意に高かった。

血糖は gorging 群で nibbling 群よりも有意に高く、インスリン濃度は有意に低かった。また、アディポネクチン濃度は gorging 群で有意に高かった。

(5) 肝臓脂質パラメータ

肝臓トリアシルグリセロールおよびコレステロール濃度は、gorging 群で nibbling 群よりも有意に低かった。

(6) 肝臓脂質代謝関連酵素活性

肝臓における脂肪酸生合成系である、fatty acid synthase (FAS)、glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) および、malic enzyme (ME) の酵素活性は、gorging 群で高く、G6PDH および ME では有意であった。一方、 β 酸化系酵素である carnitine palmitoyl transferase (CPT)-2 および acyl CoA oxidase (ACO) の酵素活性には有意差はなかった。

(7) 肝臓脂質代謝関連酵素 mRNA 発現量

(6) で測定した酵素の mRNA 発現量を測定したところ、CPT-2 の mRNA 発現量が Gorging 群で有意に高かったが、CPT-1 では差がなかった。また、その他の酵素では有意な変動は認められなかった。

(8) 腓腹筋および褐色脂肪組織の CPT-2 活性

腓腹筋での CPT-2 活性は差がなかった。一方、褐色脂肪組織では、gorging 群で有意に低い値を示した。

【考察】

本試験は、等カロリー摂取条件下で、gorging と nibbling の食べ方が内臓脂肪蓄積に影響するかを検討する事を主目的として行った。本試験の結果からは、少なくとも本試験の実験条件下では、gorging と nibbling で内臓脂肪量に差はなかった。

エネルギー代謝を見ると、gorging 群では nibbling 群よりも脂肪消費量が有意に低く、エネルギー消費量も若干低かった。これらのことは、gorging 群で内臓脂肪が蓄積する可能性を示唆するが、結果的には、内臓脂肪重量には差がなかった。本試験では 33 日間の飼育であるが、もし違いがでるとすると、かなり長期間の飼育が必要と考えられる。いずれにしても、一日あたりにすると微弱な違いであり、この微弱な違いの積み重ねで、長期間飼育すると内臓脂肪蓄積に違いが現れるのかも知れない。

血糖や血清インスリンおよびアディポネクチン濃度さらには肝臓トリアシルグリセ

ロール濃度は摂食パターンの違いの影響を受け、有意な変動が認められた。また、肝臓脂肪酸生合成系酵素の活性も変動した。ただし、これらのパラメータは屠殺直前の摂食状態の影響を受ける。本実験条件下では、両群共に屠殺直前に摂食している。しかし、gorging 群の方が、nibbling 群よりも多量に摂食している。この点が上記パラメータに影響している可能性があり、摂食回数の違いの影響だけとは言い難いため、結果の解釈は容易ではない。この点を解決するためには、経時的な屠殺による測定が必要であるが、装置の現状では不可能である。

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)

[学会発表] (計 1 件)

①石田良衡、井上奈穂、池田郁男、摂食回数の違いがラットの内臓脂肪蓄積およびエネルギー代謝に与える影響、日本肥満学会、平成 25 年 10 月 11-12 日、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田 郁男 (IKEDA IKUO)

東北大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：40136544