

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26282021

研究課題名(和文) 食事成分の量と質がエネルギー代謝および内臓脂肪蓄積に与える影響

研究課題名(英文) Influence of quantity and quality of diet components on energy metabolism and deposition of visceral fat in experimental animals

研究代表者

池田 郁男 (IKEDA, IKUO)

東北大学・農学研究科・教授

研究者番号：40136544

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：等カロリー条件下において低脂肪高炭水化物食と高脂肪低炭水化物食で内臓脂肪蓄積の違いが起こるかをSDラットおよびいくつかのマウス系統を用いて調べた。21%食では7%食と比較して、高い内臓脂肪蓄積が認められた。しかし、その程度はわずかであった。食餌脂肪の違い(大豆油、ラード、魚油添加大豆油)は高脂肪食群での内臓脂肪蓄積の程度に影響しなかった。肝臓トリアシルグリセロール濃度は食餌脂肪の量と質で変動したが、内臓脂肪蓄積の程度と連動しなかった。以上の結果、高脂肪食群で起こる内臓脂肪蓄積増加は、食餌脂肪の種類には関係がなく、食餌脂肪流入量が脂肪燃焼能力を超えたときに少しずつ起こると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Effects of low-fat high-carbohydrate and high-fat low-carbohydrate diets on visceral fat deposition and energy metabolism were investigated in rats and mice under an isocaloric feeding condition. Deposition of visceral fats was higher in animals fed a 21% fat diet compared with those fed a 7% fat diet. However, the difference was small. Difference in dietary fat types did not influence the extent of visceral fat deposition induced by a high fat diet. Hepatic triacylglycerol concentration was varied by the quantity and quality of dietary fats, but it did not relate to visceral fat deposition. These results suggest that an increase in visceral fat deposition induced by a high fat diet is gradually caused when dietary fat intake exceeds the upper limit of ability of fat expenditure in the body.

研究分野：栄養化学

キーワード：エネルギー代謝 高脂肪食 低脂肪食 内臓脂肪 肝臓トリアシルグリセロール 肥満

### 1. 研究開始当初の背景

過食が肥満を誘発することは間違いないが、食事の脂肪と炭水化物の量と質が内臓脂肪蓄積に影響する可能性も多くの研究で指摘されている。しかし、過食の影響を排除し、等カロリー条件で食事脂肪と炭水化物の量と質の影響を調べた研究は意外に少ない。さらに、この種の研究にはエネルギー代謝測定が必須と考えられるが、ほとんど情報がないのが実態である。本研究では、いくつかの実験動物を用いて厳密な等カロリー条件下で、食事脂肪および炭水化物の質と量がエネルギー代謝および内臓脂肪蓄積に与える影響を系統的に研究することを目的とする。この研究により肥満予防に役立つ食習慣に関する基礎的な知見が得られると期待できる。

### 2. 研究の目的

内臓脂肪肥満はメタボリックシンドロームを引き起こし、動脈硬化性心疾患のリスクとなることから、その予防は喫緊の課題である。肥満は摂取エネルギーが消費エネルギーを上まわることによって起こることは、ほぼ常識と捉えられている。一方で、摂取する脂肪および炭水化物の量と質の違いが内臓脂肪蓄積に影響することもまた多くの研究で指摘されてきた。一般的に、高脂肪低炭水化物食、特に、飽和脂肪酸の多い高飽和脂肪食摂取は肥満や脂肪肝を誘発しやすいと考えられており、動物試験でも高飽和脂肪低炭水化物食を与え、肥満を誘導する実験が多く報告されている。このことから、食事脂肪、特に動物性脂肪は肥満にとって悪者というイメージが定着している。しかし、高脂肪低炭水化物食は高カロリー食である。高カロリーの高脂肪食で肥満が誘発されたとしても、それが高脂肪のためか、カロリー摂取が高いためなのかを明らかにすることはできない。高カロリーの影響を排除するためには、等カロリー条件での試験が不可欠であるが、ヒトではこの種の研究を行うことは容易ではないため報告はほとんどない。一方、動物試験においても、意外なことに、等カロリー条件で行われた厳密な研究は多くない。

ヒトを含めて哺乳動物がある一定の体重を保っている状態では、エネルギーは摂取と消費のバランスがとれていると考えられる。過食ではこのバランスが崩れ、摂取 > 消費となれば肥満することとなる。もし、摂取エネルギー量が同等の状態、内臓脂肪が蓄積し肥満する食事条件があると仮定するならば、なんらかの代謝的破綻が起こっており、摂取エネルギーが内臓脂肪へシフトすると考えられ、また、体重が増えるためには消費エネルギー量が減少しているはずである。この点は肥満の成因を知る上で重要であるが、どのような状況でどのような代謝的破綻が起こるのかは正確には理解されていない。

また、食餌脂肪の質も内臓脂肪蓄積に影響することが報告されている。特に、飽和脂肪

酸を多く含む飽和脂肪は肥満しやすいと広く信じられている。その原因は、モノ不飽和脂肪酸や多価不飽和脂肪に比較し飽和脂肪酸は燃焼されにくく蓄積されやすいこと、エネルギー代謝効率や食事誘発性体熱産生 (diet induced thermogenesis, DIT) が低いこと、不飽和脂肪酸よりも肝臓での脂肪酸合成を高めることなどが指摘されている。しかしながら、これらの作用機構に関する詳細な研究は行われておらず、単発的な報告に留まっている。また、このような食餌脂肪の質の影響は、食事の脂肪量が違えば変動する可能性があるが、この点に関する情報もほとんどない。もし、脂肪燃焼の抑制や食餌誘発性体熱産生 (DIT) の抑制が起こるならば、エネルギー代謝の変動を詳細に解析すれば捉えることができると予想されるが、食餌脂肪の種類の違いとエネルギー代謝との関係を系統的に調べた研究はほとんどないのが現状である。

本研究では、実験動物を用いて食事脂肪の質と量がエネルギー、脂質および糖質代謝に与える影響を系統的小および統合的に解析し、もし、内臓脂肪蓄積に影響しエネルギー代謝の破綻が起こるならば、どのような条件で、どのような機構で起こるのかを詳細に検討し、明らかにすることを目的とする。また、各種食餌脂肪が DIT に影響するかについては、摂取量制限装置とエネルギー代謝測定装置を組み合わせ、厳密に摂食タイミングを合わせることで、精密な測定を試みる。

### 3. 研究の方法

(1) 低脂肪高炭水化物即と高脂肪低炭水化物食の腹腔内脂肪重量およびエネルギー代謝に与える影響

各種ラット、マウスを 7%大豆油食で 1 週間予備飼育し、試験食に切り替えた。飼育期間は 4 週間あるいは 9 週間である。飼育開始 1 日目、3 週目、あるいは 7 週目にエネルギー代謝の測定を行った。飼育終了後、絶食なしで屠殺した。エネルギー代謝測定は、生体ガス質量分析装置 (ARCO2000) を用いた。

試験に用いた食餌脂肪は、大豆油、ラードあるいは魚油添加大豆油である。試験食は、7%大豆油を含む AIN93G 食を低脂肪高炭水化物食 (低脂肪食) と定義した。脂肪含量を 21% とした食餌を高脂肪低炭水化物食 (高脂肪食) と定義した。セルロースを添加することで、単位重量当たりのカロリーを同一に合わせた食餌で自由摂取で行った試験、あるいは、セルロースは増量せず、単位重量当たりのカロリーが異なる食餌で、pair-feeding で等カロリー摂取となるように調整した場合の 2 種類の試験を行った。すべての試験を通じて、群間の摂取エネルギー量には、有意な差は認められなかった。

(2) DIT への食餌脂肪の影響

マウスに、大豆油とラード、あるいは、大豆油と魚油添加大豆の 2 種類の食餌を与え

た。大豆油食を摂餌時間帯が一定となるように、摂食訓練を行った。摂餌制限装置を用いて、基本的にマウスにとって朝、昼、夕に相当する、20-22時、1-3時、6-8時のみに摂食できるようにした。試験1では、大豆油食とラード食とし C57BL/6J マウスを用いて訓練を行ったが、初めての試みであったことから、上記時間帯に安定的に摂食する条件を探索するため、時間をかけて様々な訓練を行った。その後、24時間のエネルギー代謝測定および20-22時に摂食させてエネルギー代謝を追跡し、DIT に差があるかどうかを調べた。試験2では、ICR マウスを用いて、大豆油食と魚油添加大豆油食で実験1と同様の訓練を行い、20-22時あるいは1-3時に摂食させた後のDIT に違いがあるかどうかを調べた。

#### 4. 研究成果

(1) 低脂肪高炭水化物即と高脂肪低炭水化物食の腹腔内脂肪重量およびエネルギー代謝に与える影響

試験1: SD ラット、ラード、7%および21%食、セルロースで調整食、5および9週間飼育

体重増加量は、5週目、9週目共に、21%群で有意に高かった。しかし、腹腔内脂肪重量は、5週目では差はなく、9週目で21%群で高い傾向にあった。しかし、100g体重あたりに換算すると、その傾向は見られないことから、体重が増加したためにその分腹腔内脂肪も増加したと考えられた。従って、高脂肪食で肥満したのではなく、成長が高まったと考えられた。

3週目、7週目のエネルギー消費量には差がなかったが、21%群で脂肪消費量が高く、炭水化物消費量は低かった。

糞便への脂肪酸排泄量は、21%群でかなり高い値を示した。摂取カロリーに対するカロリーロスで換算すると、21%群で3%程度高かった。

肝臓トリアシルグリセロール濃度は、5週間飼育では21%群で有意に高かったが、9週間飼育では差はなかった。5週よりも9週間飼育でかなり高くなった。

試験2: C57BL/6J マウス、ラード、7%および21%食、セルロースで調整食、4週間飼育

体重増加量、腹腔内脂肪重量に2群間で差はなかった。

飼育開始1日目および3週間目のエネルギー消費量には、2群間で差はなかった。21%群で脂肪消費量は高く、炭水化物消費量は低かった。

糞便への脂肪酸排泄量は、21%群でかなり高い値を示した。摂取カロリーから換算したカロリー損失は、7%群で0.22%、21%群で3.64%であり、SD ラットの場合と同程度の差であった。

肝臓トリアシルグリセロール濃度にも差はなかった。

実験1のSD ラットおよびこの試験のC57BL/6J マウスで腹腔内脂肪重量に差がなかった原因は、21%群での高いカロリー損失による可能性を否定することはできないと考えられた。そこで、次以降の試験では、食餌をセルロース調整せず、pair-feedingで試験することとした。

試験3: C57BL/6J マウス、7%および21%食、pair-feeding、9週間飼育

食餌脂肪は、ラード、大豆油あるいは魚油添加大豆油で3つの試験を行った。

体重増加量は、大豆油では、21%群で7%群よりも有意に高く、ラードでは高い傾向があったが、魚油添加大豆油では、ほとんど差がなかった。

腹腔内脂肪総量は、21%群で、3種の食餌脂肪いずれも有意な上昇が認められた。7%に比較して21%群での上昇の程度は、100g体重当たりで換算すると1g程度であった。3種の食餌脂肪で同程度であり、食餌脂肪の種類の違いが、腹腔内脂肪重量に影響するとは考えられなかった。また、21%群での体重の増加は、腹腔内脂肪の上昇だけでは説明できなかった。

7週目でのエネルギー消費量は大豆油および魚油添加大豆油では有意差はなく、ラード群では、21%群でわずかではあるが、有意に低値を示した。

糞便への脂肪酸排泄量は、21%群でもそれほど高くなく、7%群よりもカロリー損失で0.5%程度(大豆油およびラードの試験)および1.7%程度(魚油添加大豆油の試験)であった。

肝臓トリアシルグリセロール濃度は、21%群で、大豆油では有意に高く、ラードでは高い傾向があったが、魚油添加大豆油群では、逆に著しく低値を示した。魚油添加により21%群では7%群に比べ、DHA や EPA の含量が3倍高くなるため、そのトリアシルグリセロール濃度低減作用が発揮されたと考えられた。腹腔内脂肪重量は、21%群で増加が見られたことから、肝臓トリアシルグリセロール濃度と腹腔内脂肪重量の変動は一致せず、肝臓トリアシルグリセロールが腹腔内脂肪に影響するとは考えられなかった。

試験4: ddY マウス、7%および21%食、pair-feeding、9週間飼育

ddY マウスは、リポタンパク質リパーゼの活性が弱く、食後高トリアシルグリセロール血症を呈し、肥満すると考えられている。従って、高脂肪食や低脂肪食の影響を受けやすいと考えて、試験に用いた。2つの試験を行った。実験4-1は、大豆油とラードで7%と21%、実験4-2は、大豆油と魚油添加大豆油で7%と21%、それぞれ4群で行った。いずれの実験でも、体重増加量および腹腔内脂肪

重量は、7%に比較し 21%群で高かった。しかし、7%群に対する 21%群の体重増加量は、腹腔内脂肪重量よりもかなり高かったことから、除脂肪体重および皮下脂肪が増加したと考えられた。なお、食餌脂肪の違いの影響は認められなかった。

エネルギー消費量は、2つの試験で有意差はなかったが、体重に差があることから、100g 体重当たりで換算したところ、21%群では、7%群よりもエネルギー消費量が低い傾向にあった。このことから、21%群では単位体重あたりのエネルギー消費量が低いために体重や腹腔内脂肪が増加したと考えられた。

糞便への脂肪酸としてのカロリー排泄率は、21%群で高かったが、21%ラード群以外は、1%以下であった。21%ラード群では、2.3%であった。21%ラード群の体重増加量は他の 21%群よりも若干低い傾向にあったが、糞便への脂肪酸排泄が高かったことが原因かも知れない。しかし、腹腔内脂肪重量は低くはなかった。

肝臓トリアシルグリセロール濃度は、21%群で 7%群よりも高く、大豆油に比べ、ラードで高く、魚油で低かった。

このように、食餌脂肪の違いは肝臓トリアシルグリセロール濃度に影響したが、腹腔内脂肪重量には違いはなく、肝臓トリアシルグリセロール濃度は腹腔内脂肪重量とは連動していないと考えられた。

尿糖量は、1-4mg/日で極めて低く、エネルギー損失はほとんどなかった。

試験 5：db/db マウス、7%および 21%食、pair-feeding、9週間飼育

db/db マウスは肥満糖尿病モデルである。レプチン受容体が欠損しており、過食により肥満を呈する。

試験 4と同様の食餌条件で2つの実験を行った。実験 5-1 は、大豆油とラードで 7%と 21%、実験 5-2 は、大豆油と魚油添加大豆油で 7%と 21%、それぞれ 4 群で行った。

いずれの実験でも、体重増加量、腹腔内脂肪重量および皮下脂肪重量は、21%群で 7%群よりも高かった。その程度は、ddY マウスの場合よりも大きかった。大豆油とラード、および大豆と魚油添加大豆油の間の違いは全く認められなかった。腹腔内脂肪および皮下脂肪の合計は、体重増加量の 20-40%程度であり、残りは除脂肪体重が増加したと考えられた。

エネルギー消費量は、21%群で 7%群よりも高い傾向にあり、体重が増加している上に、エネルギー消費量も高いことが示された。

糞便への脂肪酸のカロリー排泄率は、21%群で 7%群よりも高かったが、その差は、0.5%以下であり、また、食餌脂肪の違いの影響はなかった。

肝臓トリアシルグリセロール濃度は、21%群で 7%群よりも高く、大豆油に比べ、ラ-

ードで高く、魚油で低かった。この変動は、ddY マウスの場合と全く同様であった。

db/db マウスでは、他の系統よりも 21%群での体重増加量、腹腔内脂肪重量増加量が高く、エネルギー消費量も高かった。摂取カロリーは同じであるから、エネルギー消費量が高いと、基本的に体重は減少するはずであるが、そうはなっていない。

そこで、実験 5-2 では尿糖量を測定した。その結果、このマウスは、尿糖量が極めて高く、有意差は認められないものの、7%群で 21%群よりも約 0.5g/日高かった。カロリーとして、2kcal/日である。このマウスの摂取カロリーは約 18kcal/日であったことから、7%群では、11%のカロリー損失が起こっていることが示された。このことにより、7%群では、21%群よりも体重増加が少なかったと考えられた。従って、db/db マウスの場合、21%脂肪食で肥満したというよりも、尿糖のロスが少ないために、結果的に成長が亢進し体重、腹腔内脂肪が増加したことが大きな要因と考えられた。

(2) 食餌誘発性体熱産生 (DIT) に及ぼす食餌脂肪の影響

試験 1：3 回に分けて摂食させた場合のエネルギー代謝測定の結果、24 時間のエネルギー消費量には 2 群間で差がなかった。また、20-22 時に摂食後の DIT に大豆油食とラード食で違いが認められなかった。しかし、摂食訓練によりマウスが必ずしも思い通りに摂食してくれない場合があり、さらに検討する必要があると考えられた。

試験 2：試験 1 の経験を元に訓練を行い、ある程度摂食条件を揃えることができた。3 回に分けて摂食させた場合のエネルギー代謝測定の結果、摂食時と摂食していない時のエネルギー消費量の変動幅が極めて小さく、DIT を検出することは困難と考えられた。また、1-3 時に摂食させ、その後でエネルギー代謝を測定したところ、魚油添加大豆油では大豆油よりもエネルギー消費量が高かった。この時増加したのは炭水化物消費量であり、脂肪消費量は差がなかった。このことは、魚油により DIT が増加したことを示唆するが、1-3 時の摂食時より前から、魚油添加大豆油のエネルギー消費量が大豆油よりも高かったため、エネルギー消費量が高くなったと考えられたことから、魚油添加大豆油で DIT が増加したかどうか判断は困難であった。

この DIT を調べる試験は多くの問題点を提起した。正確な情報を得るためには、種々の条件下でかなりの予備試験を行い、試験条件を確立する必要がある。また、マウスは 1 日の摂食量が少なく、それを 3 回に分けて与えることから 1 回の摂食量がかなり少なくなる。そのため、発生するエネルギー消費量も少なく、誤差も大きくなり、食餌脂肪の違いの検出が困難である可能性がある。摂食量が多く代謝量も高いラットを用いて試験すべきか

も知れない。今回用いた摂餌制限装置はラットでは使用できないためさらなる検討は行わなかった。

以上の研究の結果、7%脂肪食に対して、21%脂肪食では、腹腔内脂肪重量が増加するが、その量はわずかであり、代謝変動測定で検知するのは容易でないことが示された。また、食餌脂肪の種類は腹腔内脂肪蓄積と直接連動しなかった。肝臓トリアシルグリセロール濃度は、脂肪の量と質により変動したが、マウスの系統やラットでそれぞれ異なる応答を示した。しかし、この変動は腹腔内脂肪重量とは連動していないと考えられた。

これらの結果を総合すると、等カロリー条件において高脂肪食で起こるわずかな内臓脂肪蓄積増加は、食餌脂肪の種類には関係がなく、食餌脂肪流入量が脂肪燃焼能力を超えたときに少しずつ起こると考えられた。一般的に高脂肪食で肥満すると言われ、動物試験では肥満させる試験が行われているが、これらで起こる肥満の原因の大部分は摂取エネルギーが高いためと推定され、脂肪の量の影響はそれほど大きくないと考えられる。

#### 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 0 件)

[学会発表](計 9 件)

池田郁男、等カロリー条件下での食餌脂肪の量と質がエネルギー代謝及び内臓脂肪蓄積に及ぼす影響-ラット及びマウスでの検討-、第 72 回日本栄養・食糧学会大会 シンポジウム、2018 年 5 月 11-13 日(岡山市、総社市)

奥野綾夏、池田郁男、佐藤歩実、中村珠子、井上奈穂、高脂肪食と低脂肪食が ddY マウスのエネルギー代謝に与える影響-大豆油と魚油添加大豆油の比較-、第 38 回日本肥満学会、2017 年 10 月 7-8 日(大阪市)

池田郁男、池田英介、奥野綾夏、佐藤歩実、中村珠子、井上奈穂、db/db マウスにおける等カロリーの大豆油および魚油添加大豆油を含む低脂肪食と高脂肪食がエネルギー代謝および腹腔内脂肪に与える影響、日本農芸化学会 2017 年度大会、2017 年 3 月 17 日-20 日(京都市)

池田英介、奥野綾夏、佐藤歩実、中村珠子、井上奈穂、池田郁男、高脂肪食と低脂肪食が db/db マウスのエネルギー代謝に与える影響-大豆油とラードの比較-、第 37 回日本肥満学会、2016 年 10 月 7-8 日(東京)

池田郁男、池田英介、井上奈穂、マウスの食餌誘発性熱産生に及ぼす魚油添加大

豆油の影響、第 37 回日本肥満学会、2016 年 10 月 7-8 日(東京)

井上奈穂、林中佳、池田郁男、EPA,DHA 含有高脂肪食は低脂肪食に比べ肝臓中性脂肪は減らすが腹腔内脂肪重量は増加させる、第 70 回日本栄養・食糧学会大会、2016 年 5 月 13-15 日(西宮市)

池田英介、井上奈穂、池田郁男、db/db マウスが等カロリー条件下の高脂肪食で肥満する機構の探索、日本農芸化学会 2016 年度大会、2016 年 3 月 27-30 日(札幌市)

池田郁男、小川裕香里、井上奈穂、厳密に等カロリー摂取した低脂肪食と高脂肪食が内臓脂肪蓄積に及ぼす影響、第 36 回日本肥満学会、2015 年 10 月 2-3 日(名古屋市)

Ikuo Ikeda, Nozomi Ogawa, Yukari Ogawa, Nao Inoue, Effects of isocaloric high-fat low-carbohydrate and low-fat high-carbohydrate diets on energy and lipid metabolism in rats and mice, 12<sup>th</sup> Asian Congress of Nutrition, 14-17 May, 2015 (Yokohama, Japan)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

#### 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

(2)研究分担者

井上 奈穂 (INOUE, Nao)  
山形大学・農学部・准教授  
研究者番号：90510529