名古屋女子大学紀要　第52号（家・自）53～58　2006

脂質代謝におよぼす摂食パターンの影響

丹野　聖子[1]・川原　光子[2]・坂口　由佳[3]・高木　麻衣[4]・
前田　純子[5]・皆本　紘子[6]・谷　由美子

Effect of Diet Rhythm on Lipid Metabolism in Rats

Seiko TANNO, Mitsuko KAWAHARA, Yuka SAKAGUTI, Mai TAKAGI,
Junko MAEDA, Hiroko MINAMOTO and Yumiko TANI

緒　言

健康日本21では「朝食を欠食する人の減少」という目標が設定されている．平成14年度国民栄養調査によると，若年者を中心に欠食習慣がある者の割合が増加し，朝食欠食率は20～29歳が最も多く，男性で26.5%，女性が20.6%であった．また不規則な食習慣が健康状態に大きな影響を与え，平成５年度国民栄養調査では，欠食率の高い人で健康不良と感じている人の割合が65.1%と，欠食がない人に比べ約20%高かった．これはホルモンの分泌，栄養素の消化・吸収や代謝に関与する酵素系などの日内リズムとのずれがその要因の１つと考えられている．小田ら[1)]は，Wistar系雄ラットに高コレステロール食を与え，高コレステロール血症を誘発させた後，自由摂取群と昼夜の摂取量が同じになる群に分けペアフィーディングし，肝細胞の日周リズムと食事摂取タイミングの関係についてその生理的意義の研究を行い，肝臓の日周リズムの維持がコレステロール代謝を制御していることを報告している．

絶食における栄養素代謝への影響についてはHortonら[2)]が，健康な20～40歳の男性８人を被験者として13時間絶食または72時間絶食後に普通の食事を与えたときの栄養素の酸化分解とそのバランスの変化などを検討し，長期絶食後の摂食では炭水化物の酸化分解が有意に減少し，脂肪の酸化分解が増加することを報告している．また横井ら[3)]は，ラットを用いて１日おきの絶食を５週間行い，血漿中の総コレステロール濃度および肝臓中のトリグリセリド濃度の増加を認め，脂質代謝異常を報告している．

三食規則正しい食習慣は，栄養素の補給のみではなくホルモン分泌，消化酵素活性，代謝系酵素活性などのリズムとの関係から，摂取栄養素を効率よく利用するために重要なことである．しかし，欠食または不規則な食事が脂質代謝に及ぼす影響を詳細に検討した報告はみられない．そこで本実験では，摂食パターンが血清および肝臓脂質ならびに脂質代謝系酵素活性に及ぼす影響を，規則正しく食餌を与えたラットを対照として詳細に比較検討した．

[1]名古屋女子大学大学院生　[2]メグリアクック株式会社　[3]愛知県学校栄養職員　[4]豊田市職員
[5]名古屋女子大学技術職員　[6]カゴメ株式会社

実　験　方　法

１．実験動物および飼育方法

５週齢（平均体重約130g）のSprague-Dawley（SD）系雄ラット（日本エスエルシー（株））24匹を用いて，自由摂取群，規則群，欠食群，不規則群に分け，各群６匹として４週間飼育した．なお飼育は既報[4]と同様の条件で行った．ラットは購入後，（株）日本クレアの粉末飼料（CE-２）で３日間予備飼育した．その後，自由摂取群は自由に食餌を摂取させ，規則群は食餌を制限して毎日投与し，欠食群は１日おきに絶食させ，不規則群は週に２日以上連続して絶食させて飼育した．このうち規則群，欠食群，不規則群は制限食群として，欠食群の飼料摂取量に揃えてペアフィーディングした．水は各群とも水道水を自由摂取で与えた．

血清採取，肝臓・脂肪組織の摘出方法は既報[4]と同様に行い，血清については総コレステロール（T-chol），HDL-コレステロール（HDL-chol），トリグリセリド（TG）を，肝臓については総脂質（TL），Chol，TG，アセチルCoAカルボキシラーゼ［EC　６，４，１，２］（ACC）活性，脂肪酸合成酵素（FAS）活性，肝トリグリセリドリパーゼ［EC　３，１，１，33］（HTGL）活性について測定し，また脂肪組織のリポプロテインリパーゼ［EC　３，１，１，34］（LPL）活性，ホルモン感受性リパーゼ［EC　３，１，１，79］（HSL）活性について測定した．

本動物実験は「名古屋女子大学動物実験指針」ならびに「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」（昭和55年３月総理府告示６号）に準じて実施した．

２．血清および肝臓脂質の分析

既報[5]と同様に血清T-chol，HDL-chol，TGおよび肝臓のTL，Chol，TGを測定した．TGは，クロロフォルム・メタノール混液（２：１　v/v）による抽出液を蒸発乾固後，残渣をイソプロピルアルコールに溶解して，和光純薬工業（株）のトリグリセライドE-テストワコーを用いて測定した．

３．肝臓の脂質代謝系酵素活性の測定

FASは既報[5]と同様にNepokroeff et al.[6]および仲佐ら[7]の方法に準じて測定した．1unitは30℃で１分間に１μmolのNADPHを減少させる酵素活性とした．ACCは既報[5]と同様にTanabe et al.[8]および仲佐ら[7]の方法に準じて測定した．１unitは37℃で１分間に１μmolのNADHを減少させる酵素活性とした．HTGLはMorimoto et al.[9]の方法を一部改変した既報[4]と同様に測定した．酵素活性は60分間に生成するオレイン酸のμEqで示した．酵素液のタンパク質濃度は，Pierce製のBCA Protein assay reagentを使用して測定した．

４．脂肪組織の脂質代謝系酵素活性の測定

脂肪組織（腎周囲および副睾丸周囲脂肪組織）のLPLはMasuno et al.[10]の方法に準じて既報[4]と同様に測定した．酵素活性は総脂肪組織当たりおよび酵素タンパク質１mg当たりの生成オレイン酸μEqで表した．HSLはMorimoto et al.[9]の方法に準じて測定した．酵素活性は総脂肪組織当たりおよび酵素タンパク質１mg当たりの生成オレイン酸μEqで表した．

５．統計処理

データは平均値±標準誤差で示し，統計ソフト（SPSS，ver 11.0 J　Windows XP）を使用してANOVAによる検定後，TurkeyのHSDテストによって群間の有意差（$p<0.05$）を判定した．

実 験 結 果

1．体重増加率および脂肪組織量

体重増加率は自由摂取群に比べて，制限食群で有意に低下した．腎周囲脂肪比率は自由摂取群に比べて，欠食群，不規則群で有意に低下し，規則群に対しても欠食群で低下，不規則群で低下傾向を示した．副睾丸周囲脂肪比率は自由摂取群に比べて，規則群，欠食群で低下傾向，不規則群で有意に低下したが，制限食群３群間で差はみられなかった（表１）．

表１　ラットの体重増加率・脂肪組織の体重比率に及ぼす摂食パターンの影響

区　分	体重増加率(%)	脂肪組織の体重比率(%)	
		腎　周　囲	副睾丸周囲
自由摂取群	226± 2 ^{a}	1.5±0.3^{a}	1.3±0.2^{a}
規　則　群	151± 2 ^{b}	1.0±0.1^{ac}	1.0±0.1^{ab}
欠　食　群	158± 3 ^{b}	0.4±0.1^{b}	0.8±0.1^{ab}
不 規 則 群	157± 4 ^{b}	0.5±0.0^{bc}	0.8±0.1^{b}

データはM±SEを示す．
異なるアルファベット間に$p<0.05$で有意差があることを示す．

2．血清および肝臓の脂質濃度

血清脂質については，表２に示した通り，T-cholは自由摂取群に比べて，規則群と欠食群は増加傾向，不規則群で有意に増加した．規則群に比べても不規則群は増加傾向を示し，４群間で最も高値を示した．HDL-cholは，自由摂取群に比べて，制限食群で有意に増加し，制限食群３群間で差はみられなかった．血清TGは自由摂取群に比べて，規則群と欠食群では有意に減少し，不規則群で減少傾向を示した．不規則群は規則群，欠食群に比べて増加した．

肝臓脂質については，TLは自由摂取群に比べて，規則群で有意に増加し，欠食群と不規則群で増加傾向を示した．制限食群３群間で差はみられなかった．Cholは自由摂取群に比べて，制限食群各群とも差はみられなかったが，制限食群において規則群，欠食群に比べて，不規則群で有意に増加した．TGは自由摂取群に比べて，制限食群でいずれの群も有意に低下したが，制限食群３群間で差はみられなかった（表３）．

表２　ラットの血清脂質に及ぼす摂食パターンの影響

区　分	総コレステロール (mg/dl)	HDL-コレステロール (mg/dl)	トリグリセリド (mg/dl)
自由摂取群	54.1±2.9^{a}	36.0±2.2^{a}	77.7±6.2^{a}
規　則　群	66.4±3.2^{ab}	43.7±1.2^{b}	48.8±5.3^{b}
欠　食　群	60.9±0.9^{a}	48.4±1.3^{b}	35.5±4.4^{b}
不 規 則 群	77.5±4.7^{b}	46.6±1.6^{b}	70.4±3.7^{a}

データはM±SEを示す．
異なるアルファベット間に$p<0.05$で有意差があることを示す．

表３　ラットの肝臓脂質に及ぼす摂食パターンの影響

区　分	総　脂　質 (mg/g)	コレステロール (mg/g)	トリグリセリド (mg/g)
自由摂取群	44.3±1.8^{a}	3.7±0.1^{ab}	6.3±0.7^{a}
規　則　群	53.1±1.5^{b}	3.6±0.1^{a}	3.3±0.1^{b}
欠　食　群	50.0±1.4^{ab}	3.5±0.2^{a}	2.0±0.1^{b}
不 規 則 群	50.0±0.8^{ab}	4.1±0.1^{b}	2.9±0.2^{b}

データはM±SEを示す．
異なるアルファベット間に$p<0.05$で有意差があることを示す．

３．肝臓の脂質代謝系酵素活性

脂肪酸合成の律速酵素であるACC活性は４群間で差はみられなかった．脂肪酸合成に関与する酵素であるFAS活性は自由摂取群に比べて，規則群で増加傾向を示し，欠食群と不規則群で有意に増加した．制限食３群間で差はみられなかった．血中のTGを分解し，肝臓への取り込みに関与するHTGL活性は自由摂取群に比べて，規則群で有意に増加し，欠食群と不規則群で増加傾向を示した．制限食群３群間で差はみられなかった（表４）．

表４　ラットの肝臓におけるACC活性，FAS活性，HTGL活性に及ぼす摂食パターンの影響

区　分	ACC （unit/mg タンパク質）	FAS （unit/mg タンパク質）	HTGL （μEq/mg タンパク質）
自由摂取群	0.10±0.00[a]	0.0032±0.0008[a]	0.035±0.002[a]
規　則　群	0.11±0.01[a]	0.0036±0.0014[ab]	0.066±0.002[b]
欠　食　群	0.12±0.01[a]	0.0043±0.0003[b]	0.058±0.012[ab]
不規則群	0.12±0.01[a]	0.0040±0.0001[b]	0.056±0.001[ab]

データはM±SEを示す．
異なるアルファベット間に$p<0.05$で有意差があることを示す．
ACC：acetyl CoA carboxylase,FAS：fatty acid synthase,HTGL:hepatic triglyceride lipase.

４．脂肪組織の脂質代謝系酵素活性

表５に示した通り，血中脂質の脂肪組織への脂肪酸取り込みに関係するLPLの脂肪組織当たりの活性は，自由摂取群に比べて，制限食群で低下傾向を示し，制限食群３群間で差はみられなかった．LPLの酵素タンパク質１mg当たりの活性は４群間で差はみられなかった．脂肪組織中のTGを分解し，血中に脂肪酸を放出してエネルギー産生に関与するHSL活性は，脂肪組織当たり，酵素タンパク質１mg当たりとも４群間で差はみられなかった．

表５　ラットの脂肪組織におけるLPL活性，HSL活性に及ぼす摂食パターンの影響

区　分	LPL （μEq/総脂肪組織）	LPL （μEq/mgタンパク質）	HSL （μEq/総脂肪組織）	HSL （μEq/mgタンパク質）
自由摂取群	5.2±1.2[a]	0.14±0.01[a]	2.5±0.1[a]	0.08±0.01[a]
規　則　群	3.3±0.3[a]	0.15±0.01[a]	2.2±0.1[a]	0.07±0.01[a]
欠　食　群	2.4±0.8[a]	0.12±0.03[a]	2.0±0.7[a]	0.08±0.03[a]
不規則群	3.2±0.3[a]	0.18±0.01[a]	2.4±0.3[a]	0.10±0.01[a]

データはM±SEを示す．
異なるアルファベット間に$p<0.05$で有意差があることを示す．
LPL: lipoprotein lipase ，HSL: hormone-sensitive lipase.

考　察

体重増加率および腎周囲脂肪比率，副睾丸周囲脂肪比率，血清および肝臓TGは自由摂取群に比べて，制限食群で有意に低下または低下傾向を示し，飼料摂取量と相関性がみられた．またHDL-cholは，自由摂取群に比べて，制限食群で有意に上昇し，飼料摂取量および血清TGと逆の相関がみられた．

腎周囲脂肪比率は，規則群に対しても欠食群で有意に低下し，不規則群で低下傾向を示した．腎周囲脂肪は臓器の固定やエネルギー貯蔵など重要な意義があり，極端な減少は問題である．

Hortonら[2]は72時間絶食後の摂食によって脂肪の燃焼が高まることを報告しており，本研究においても同様に，脂肪組織中のTGを分解し，血中に脂肪酸を放出してエネルギー産生に関与するHSL活性（タンパク質１mg当たり）は，規則群に比べて欠食群，不規則群で上昇傾向を示した．また，血中TGを分解し脂肪組織への脂肪酸取り込み作用に関与するLPL活性は，欠食群で低下傾向がみられたことが欠食群における腎周囲脂肪比率の低下に反映したと考えられる．

血清のT-cholは、自由摂取群に比べて，規則群と欠食群は増加傾向，不規則群で有意に増加した．規則群に比べても不規則群は増加傾向を示し，４群間で最も高値を示した．Hortonら[2]は72時間絶食後の摂食によりノルエピネフリンなどの脂肪分解を促進するホルモンが増加し，炭水化物よりも脂肪の分解が促進されることを報告している．そのためコレステロールの原料となるアセチルCoAの生成が増加し，結果的にコレステロール濃度が上昇したことが考えられる．また，小田ら[1]は，高コレステロール食投与の場合，摂食リズムを崩したラットにおいて血中コレステロール濃度の増加を認め，肝臓の日周リズムの維持がコレステロール代謝を制御しているためであると報告している．普通食投与の本研究においても，不規則群の血清および肝臓cholの増加は，摂食リズムの不規則性が肝臓におけるコレステロール代謝の制御に影響したと考えられる．

HDL-cholについては，Purnellら[11]が21人の健康な高齢男性に３ヶ月間エネルギー制限食(1200 kcal/day）を与え，体重の減少に伴ってHDL-cholが増加することを報告しており，本研究でも同様に自由摂取群に比べて，制限食群で有意に増加した．

血清TGは自由摂取群に比べて規則群と欠食群では有意に減少し，不規則群は自由摂取群と同レベルであった．規則群と欠食群が減少したのは，Purnellら[11]の脂肪量の減少に伴って血清TGが減少するという報告と一致する．しかし不規則群は脂肪量が少ないにもかかわらずTGが高いのは，腎周囲脂肪比率と肝臓TGにおいては規則群，欠食群と差がないことから，これらの組織由来ではなく，脂質代謝系の何らかの異常と考えられる．

肝臓TLは自由摂取群に比べて，規則群で有意に増加し，欠食群と不規則群で増加傾向を示した．これは，血中のTGを分解し，肝臓への取り込みに関与するHTGL活性および脂質酸合成に関与するFAS活性が増加，または増加傾向を示したことに関連していると考えられる．しかし自由摂取群に比べて制限食群において，肝臓cholは差がなくTGは低下したにもかかわらずTLが増加または増加傾向がみられたのは，肝臓TLの大部分を占めるリン脂質の増加が推察される．

近年，不規則な生活やダイエット目的で欠食する20代の男女が増加しているが，本実験において規則群に比べて不規則群で，血清T-chol，TG，肝臓cholが増加したことから，摂食パターンが脂質代謝へ影響することが明らかになった．

要　約

日本クレア株式会社製の（CE-２）を飼料として，自由に食餌を摂取させた自由摂取群，食餌を制限して規則正しく投与した規則群，１日おきに絶食させた欠食群，週に２日以上連続して絶食させた不規則群について，血清・肝臓脂質および脂質代謝系酵素活性を測定し，摂食パターンが脂質代謝に及ぼす影響を検討した．

自由摂取群に比べて，制限食群（規則群，欠食群，不規則群）では，体重増加率，腎周囲および副睾丸周囲脂肪比率，血清TG，肝臓TGは減少または減少傾向がみられ，血清T-chol，肝臓TL，FAS活性，HTGL活性は増加または増加傾向を示した．制限食群においては，規則群に

比べて不規則群の血清T-chol，TG，肝臓cholが増加または増加傾向を示し，摂食パターンの影響が認められた．

文　献

1）小田裕昭，山宿大介，春間智統：肝臓の時間栄養学，―肝細胞の日周リズムと食事摂取タイミングの生理的意義―，第58回日本栄養食糧学会大会講演要旨集，242（2004）

2）Horton T. J. and Hill J. O.: Prolonged fasting significantly changes nutrient oxidation and glucose tolerance after a normal mixed meal, *J. Appl. Physiol.*, **90**, 155-163（2001）

3）横井克彦，藤居彩子，松沢祥代，山崎千春，齋藤美幸，小沼洋子，中嶋洋子，江指隆年：１日おきの絶食がラットの健康状態に及ぼす影響，第58回日本栄養食糧学会大会講演要旨集，2004，**86**（2004）

4）谷由美子，藤岡敏明，浜田博喜，国松己歳，古市幸生：バニリルノナンアミド-β-D-グルコシドによる高脂血症ラットの血清脂質低下作用. 日本栄養・食糧学会誌, **56**, 181-７(2003)

5）辻原命子，谷由美子：高脂肪高コレステロール食飼育ラットの脂質代謝におよぼすユッカサポニンおよびコンニャク精粉の影響．日本栄養・食糧学会誌，**51**，157-63（1998）

6）Nepokroeff C. M., Lakshmamnan M. R. and Porter J. W.: Fatty acid synthase from rat liver. In : Methods in Enzymology(Lowenstein J. M. ed), **35**, 34-44. Academic Press, New York.（1975）

7）仲佐輝子，山口真由美，沖中靖，目島幸一，高橋周士：高脂肪高コレステロール食投与ラットの血漿および肝臓中の脂質に及ぼす杜仲茶抽出物の影響．日本農芸化学会誌　**69**，1491-1498（1995）

8）Tanabe T., Nakanishi S., Hashimoto T., Hashimoto H., Ogiwara H., Nikawa J. and Numa S.: Acetyl-CoA carboxylase from rat liver. In : Methods in Enzymology (Lowen-stein JM ed), **71**, 5-16. Academic Press, New York (1981)

9）Morimoto C., Tsujita T. and Okuda H.: Norepinephrine-induced lipolysis in ratfat cells from visceral and subcutaneous sites; role of hormone-sensitive lipase and lipid droplets. *J. Lipid Res.*, **38**, 132-138（1997）

10）Masuno H.,, Blanchette-Mackie E. J., Chernick S. S. and Scow R. O.: Synthesisof unactive nonsecretable high mannose-type lipoprotein by cultured brown adipocytes of combined lipase-deficient cld/cld mise, *J. Biol. Chem.*, **265**, 1628-1638（1990）

11）Purnell J. Q., Kahn S. E., Albers J. J., Nevin D. N., Brunzell J. D. and Schwartz R.S.: Effect of weight loss with reduction of intra-abdominal fat on lipid metabolism in older men, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **85**., 977-982, The Endocrine Society（2000）