

糖質代謝リズムにおける食餌蛋白質の組み合わせと 摂食時刻による影響

植田さつき*1・保手濱由基*1・出口佳奈絵*1・市川 知美*2
佐野 尚美*1・加藤 秀夫*1・西田 由香*1

結 言

生活スタイルの多様化による生活習慣の乱れから、朝食欠食者や夜遅くに食事をする者が増加している^{1,2)}。健康維持に大切な生体リズムが不規則な生活によって乱れると、肥満やメタボリックシンドロームになりやすいことがよく知られている³⁾。体調を整える内分泌・代謝や消化吸収の機能は、生活環境の変化に適応した日内リズムを形成する。特に、内分泌系の生体リズムとして代表的な血中副腎皮質ホルモンは、摂食によって左右される⁴⁾。1日3回の規則的な食生活は生体リズムの形成に大きく関与しており⁵⁾、健康の維持だけでなく、生活習慣病の予防に不可欠である。

一方、蛋白質は生体の構成成分として生命活動に深く関わっている。蛋白質は様々なアミノ酸から構成されているため、生体との関わりには量と質の双方について考慮しなければならない。これまでに、食餌蛋白質の量と質の違いがグリコーゲン代謝リズムに影響することが報告されている^{6,7)}。しかし、1日に単一の食餌蛋白質を摂取させる研究が多く、異なる食餌蛋白質を組み合わせた摂食パターンによる影響を検討した報告はほとんど見受けられない。また、食生活の指針となる「食事バランスガイド」⁸⁾は、1日にどのくらい食べると良いかを示しており、1日3食の配分については考慮されていない。1日の食事内容は同じでも、異なる摂食パターンによって代謝リズムが異なる可能性が考えられる。従って、いつ、何を、どのくらい食べると良いかという時間栄養学の観点から、1日3食それぞれの食事の意義を明らかにすることが重要である。

本研究では、摂食時刻と食餌蛋白質の2要因を組み合わせ、栄養素の代謝リズムへの影響を検討した。

方 法

1. 実験動物の飼育条件と実験食組成

実験動物は9週齢のWistar系雄ラットを用い、暗期を9:00~21:00とした12時間明暗サイクルの照明条件とした。実験食のエネルギー比は蛋白質20%、脂肪20%、糖質60%とし、蛋白質源のみを変えて、必須アミノ酸をバランスよく含むカゼイン食と、必須アミノ酸バランスの良くない小麦食の2種類を設定した(表1)。1週間の予備飼育中は、カゼイン食と小麦食を1対1に混ぜた混合食を与えた。本実験の食餌は、活動期(暗期)である9時、13時、17時の3回に均等に分けて摂食させ、3回の食餌のうち、2回を小麦食、1回をカゼイン食とし、カゼイン食の摂取時刻の違いにより3群に分類した。カゼイン食を活動期の最初の時間帯(9時)に摂取させる群を朝・カゼイン食、活動期中盤(13時)に摂取させる群を昼・カゼイン食、活動期終盤(17時)に摂取させる群を夕・カゼイン食と

*1 県立広島大学

*2 広島女学院大学

した (図1)。なお, 1日3回の各食餌の摂取量は各群同一にした。

表1 実験食の組成

	カゼイン食	小麦食
	(g/実験食1kg)	
カゼイン	204	—
小麦蛋白	—	204
ショ糖	189	189
デキストリン	212	212
αコーンスターチ	210	210
ラード	45.5	45.5
大豆油	45.5	45.5
コレステロール	4	4
ビタミン混合	10	10
ミネラル混合	40	40
セルロース	40	40
蛋白質エネルギー比 (%)	20	20
脂肪エネルギー比 (%)	20	20
糖質エネルギー比 (%)	60	60

	9:00			21:00			9:00
	暗 期						明 期
	9:00~	13:00~	17:00~				
朝・カゼイン食	カゼイン	小麦	小麦				
昼・カゼイン食	小麦	カゼイン	小麦				
夕・カゼイン食	小麦	小麦	カゼイン				

図1 摂食パターン (食餌蛋白質の組み合わせ)

この摂食パターンで約3週間の飼育後, 8:00, 12:00, 16:00, 20:00, 24:00の各時刻に門脈と肝静脈から同時採血をおこなった。解剖時には, 肝臓と筋肉 (ヒラメ筋), 内臓脂肪 (後腹壁, 副睾丸) を採取し, 血液と肝臓および筋肉は分析に用いるまで -80°C で凍結保存した。

2. 体重測定

体重測定は週に2回, 同一時刻に実施した。また, 以下の式を用いて, 体重と摂食量から食物効率 (%) を算出した。

$$\text{食物効率 (\%)} = \frac{\text{期間中の体重増加量 (g)}}{\text{期間中の食餌摂取量 (g)}} \times 100$$

3. 分析方法

血糖の測定には、グルコースCII-テストワコー（和光純薬工業株式会社）を用い、血中尿素の測定には尿素窒素B-テストワコー（和光純薬工業株式会社）を用いた。血中中性脂肪はデタミナーL-TGII（協和メデックス株式会社）で測定を行った。

肝臓グリコーゲンは、グリコーゲン以外の肝臓成分を強アルカリで加水分解し、収集したグリコーゲンを希塩酸に溶かして沸騰水浴中で加水分解した後、生成されたグルコースをグルコースCII-テストワコー（和光純薬工業株式会社）で測定した。肝臓中性脂肪は、肝臓をホモジナイザーで摩砕し均一に調整した後、デタミナーL-TGII（協和メデックス株式会社）で測定した。

筋肉グリコーゲンは、グリコーゲン以外の筋肉成分を強アルカリで加水分解し、収集したグリコーゲンはフェノール硫酸法で測定した。

4. 統計処理

実験結果は、平均値±標準誤差で示した。経時変化の比較には一元配置分散分析を行い、有意差を認めた場合にはTukey HSD法による多重比較検定を行った。統計解析には、統計用ソフトウェア（PASW Statistics 18 for windows ; SPSS Japan Inc.）を用い、有意水準を5%未満とした。

結 果

異なる食餌蛋白質の組み合わせによる体重への影響を図2に示した。いずれの実験食群においても類似した体重増加がみられた。また、栄養評価の指標である食物効率は、いずれの群も実験開始時において環境不適応により低値であったが、その後回復し、常に正の値を示した（図3）。

体重100gあたりの体脂肪量は、図4に示したように副睾丸と後腹壁の脂肪組織で差はみられなかった。

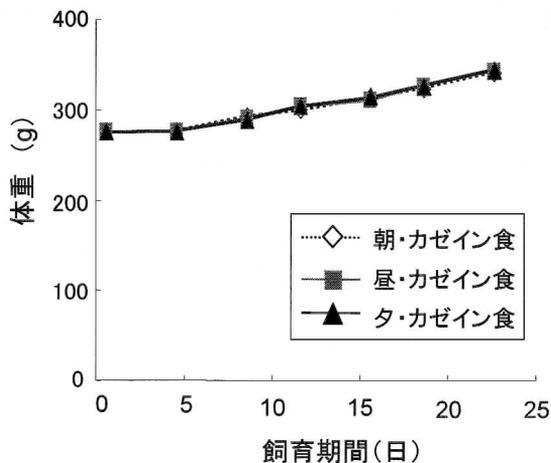


図2 食餌蛋白質の組み合わせによる体重の経時的変化

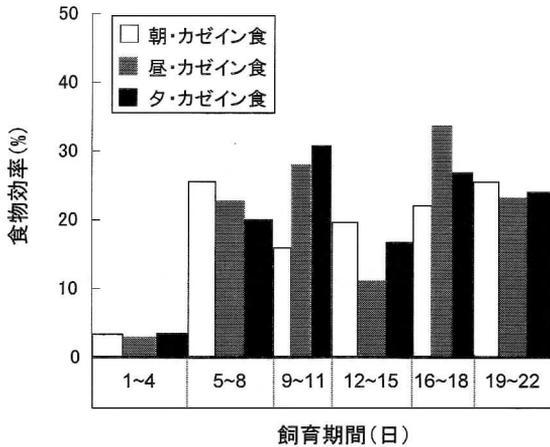


図3 食餌蛋白質の組み合わせによる食物効率への影響

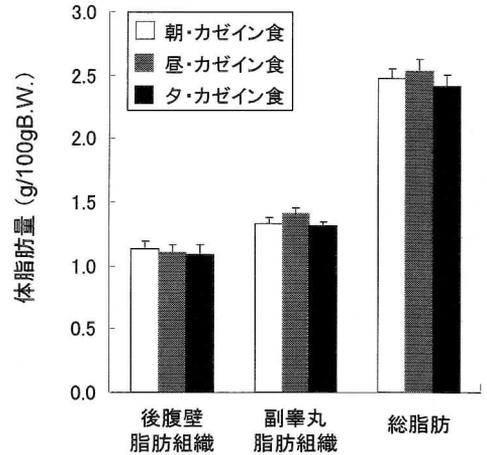


図4 食餌蛋白質の組み合わせによる体脂肪量への影響

血液生化学成分への影響

門脈血糖はいずれの群も摂食後に上昇し、その後低下する日内変動がみられた。肝静脈血糖は摂食による変化はほとんどなく、一定の範囲内に調節されていた(図5)。門脈血糖から肝静脈血糖を差し引いて、肝臓での糖質代謝の動きを図6に示した。食餌蛋白質の摂食パターンに関係なく、摂食後は肝臓で糖質が代謝(利用)され、空腹時には肝臓から糖質が放出(糖新生)されていた。

蛋白質やアミノ酸など窒素化合物の最終代謝産物である尿素は、食餌蛋白質の組み合わせによる影響がなく、摂食によって上昇する日内変動がみられた(図7)。

血中中性脂肪はいずれの群も摂食によって直ちに増加せず、むしろ摂食終了後の非活動期に相当する24時にピークを示した(図8)。

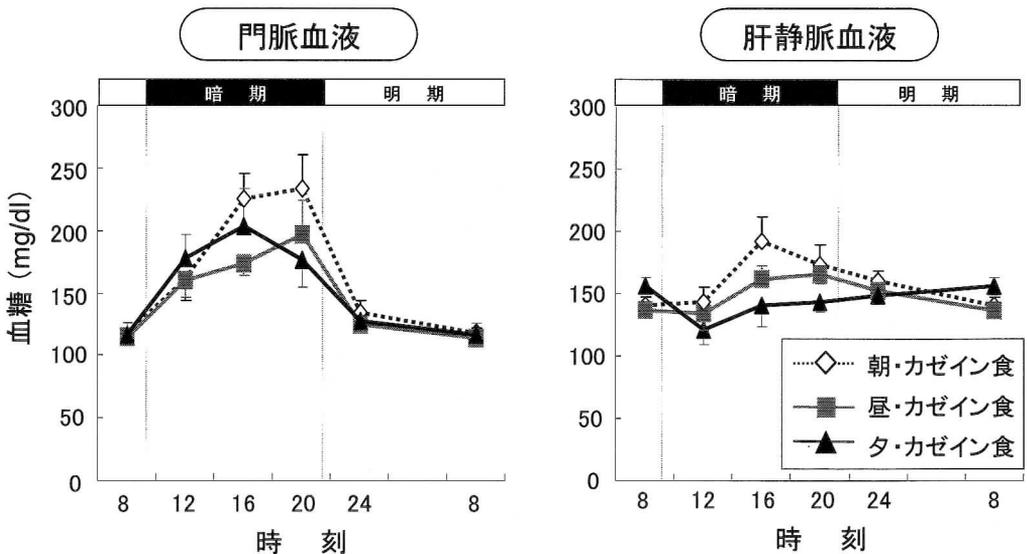


図5 食餌蛋白質の組み合わせによる血糖への影響

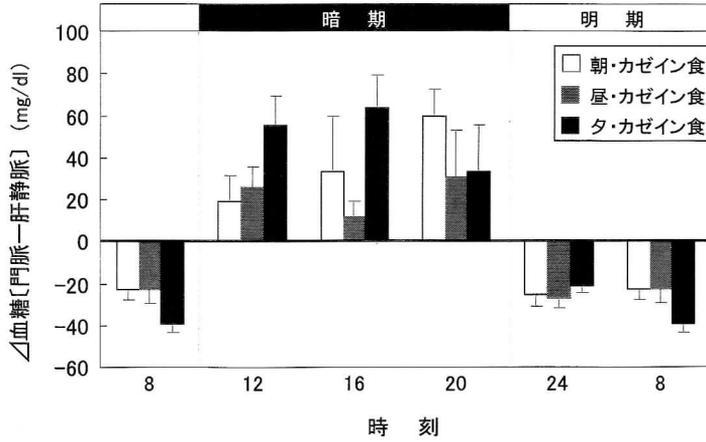


図6 食餌蛋白質の組み合わせによる肝臓における糖質代謝リズム

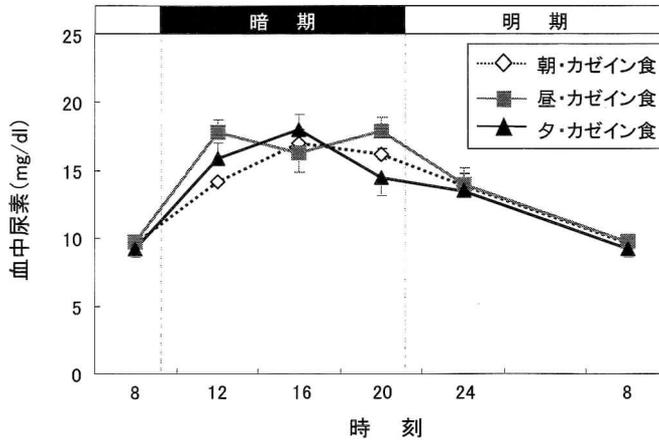


図7 食餌蛋白質の組み合わせによる血中尿素への影響

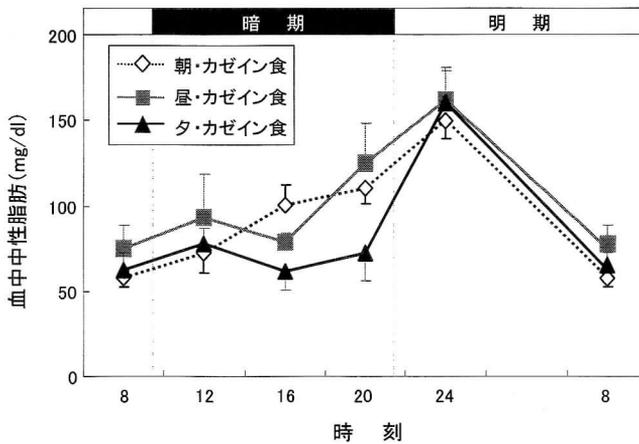


図8 食餌蛋白質の組み合わせによる血中中性脂肪への影響

肝臓グリコーゲンと筋肉グリコーゲンの日内リズム

図9は肝臓グリコーゲンの日内リズムにおける食餌蛋白質の組み合わせによる影響を示した結果である。朝・カゼイン食と昼・カゼイン食では、両群とも摂食によりゆっくりと上昇し始め、摂食終了後の20時から24時にピークとなる日内リズムがみられた。一方、夕・カゼイン食では、肝臓グリコーゲンは大きく上昇する日内リズムを示した。

筋肉（ヒラメ筋）グリコーゲンの日内リズムを図10に示した。1回目の食後は食餌蛋白質の種類に関係なくいずれの群も増加した。その後、朝・カゼイン食では増加がみられず、昼・カゼイン食においても、ほとんど増加しなかった。しかし、夕・カゼイン食の筋肉グリコーゲンは、著しく上昇する日内リズムを示した。

肝臓と筋肉のグリコーゲン代謝は食餌蛋白質の異なる食餌パターンによって影響されることが認められた。特に、1日3回の食餌で1回目と2回目に小麦食、最後の3回目にカゼイン食がグリコーゲン代謝のリズム形成に適合していると考えられる。

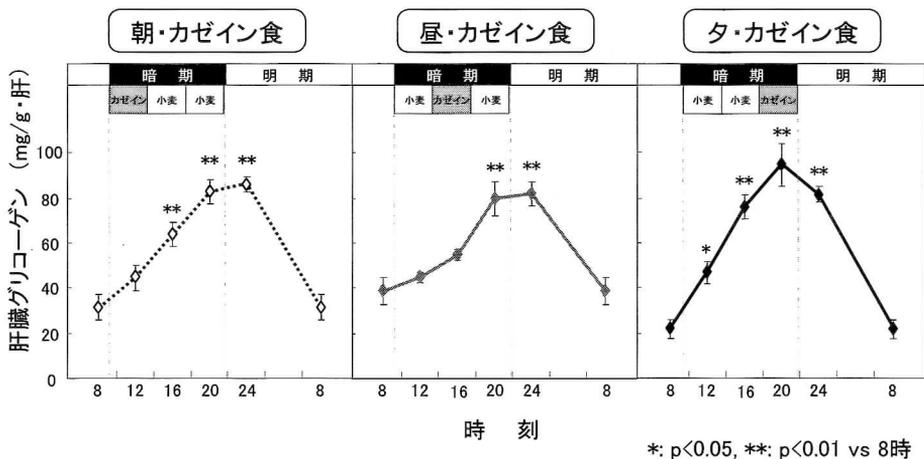


図9 食餌蛋白質の組み合わせと肝臓グリコーゲンの日内リズム

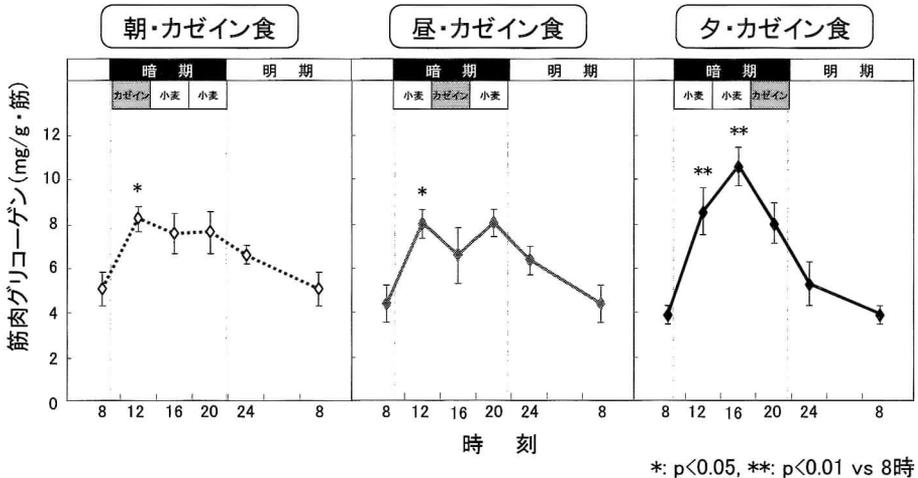


図10 食餌蛋白質の組み合わせによる筋肉（ヒラメ筋）グリコーゲンへの影響

肝臓中性脂肪の日内変動

朝・カゼイン食の肝臓中性脂肪は、摂食によって上昇し、20時をピークとする日内変動がみられた。昼・カゼイン食は1日中高いレベルを維持し、摂食による日内変動はなかった。朝カゼイン食と昼カゼイン食の20時ではやや脂肪肝(40mg/g・肝)の傾向が認められた。しかし、夕・カゼイン食は摂食によりほとんど増加せず、一定の低いレベルを維持していた(図11)。

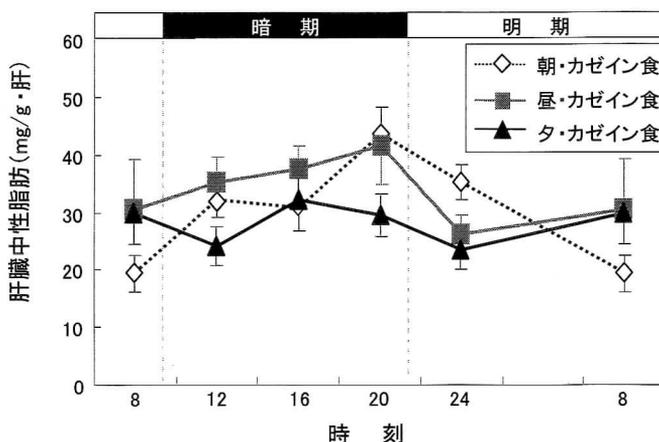


図11 食餌蛋白質の組み合わせによる肝臓中性脂肪への影響

考 察

本研究は、異なる食餌蛋白質を組み合わせ、摂食パターンと摂食時刻の違いによる生体内代謝への影響を調べた。実験食は必須アミノ酸をバランスよく含むカゼイン食を1日1回、リジンが制限アミノ酸である小麦食を1日2回とし、カゼイン食の摂取時刻を変えて朝・カゼイン食、昼・カゼイン食、夕・カゼイン食の3つの摂食パターンに分けて検討した。すべての群において、体重や100gあたりの体脂肪量には差はみられなかったことから、摂取栄養量だけでなく消費エネルギー量もほぼ同じであったと考えられる。また、食物効率で栄養状態を評価すると常に正の値であったことから、1日に2食、蛋白質の質が低い小麦食を与えても、緩やかではあるが順調に成長することが確認された。

血中尿素は、食餌蛋白質の質や摂食時刻に関係なく、摂食によって上昇する日内変動がみられた。

脂質代謝について検討すると、血中中性脂肪は食餌蛋白質の質に関係なく摂食によって上昇する日内変動を示した。肝臓中性脂肪量は朝・カゼイン食と昼・カゼイン食の20時にやや脂肪肝の傾向があったが、夕・カゼイン食は低いレベルを維持していた。夕・カゼイン食の20時は、肝臓中性脂肪量だけでなく血中中性脂肪でも他群より低い傾向を示した。肝臓中性脂肪を中心とする脂質代謝の面からみると、カゼイン食の摂取時刻は活動期終盤の夕方が適していると考えられる。

門脈血液の血糖値は、いずれの群も摂食後に上昇し、その後低下する日内変動がみられた。一方で、肝臓を経由した肝静脈血糖はほぼ一定に保たれていた。門脈血液から肝静脈血液を差し引いて肝臓での糖質代謝を調べてみると、摂食後は肝臓で糖質が取り込まれて代謝・利用されていた。24時から翌朝の8時には脳などの組織や器官にエネルギーを補給するために肝臓グリコーゲンを中心に糖新生が行われていた。

今回、食餌蛋白質の摂食パターンを変えてグリコーゲンの日内リズムへの影響を検討したところ、

筋肉グリコーゲンは摂食後直ちに上昇するのに対し、肝臓グリコーゲンは摂食開始からかなり遅れた時間にピークを示し、出口ら^{6,9)}、中村ら¹⁰⁾の報告と一致した。筋肉グリコーゲンは摂食によって増加した糖質を優先的に取り込み、肝臓グリコーゲンは空腹時の糖質補給に備えて徐々に上昇したと考えられる。

一方、カゼイン食の摂食時刻と肝臓グリコーゲンの関係をみてみると、朝・カゼイン食と昼・カゼイン食において類似した日内リズムがみられた。しかし、夕・カゼイン食の摂食パターンでは、20時にかけて肝臓グリコーゲンが大きく上昇する日内リズムが認められた。グリコーゲン合成に関する副腎皮質ホルモンには日内リズムがあり、ヒト⁵⁾とラット⁴⁾で活動開始時に高く、摂食と共に低くなることが知られている。先行研究では、副腎を全摘出すると、副腎髄質のみを摘出したラットに比べて肝臓グリコーゲン合成が高まった¹¹⁾。したがって、夕・カゼイン食で肝臓グリコーゲンが高くなった理由には、摂食後の副腎皮質ホルモン分泌がより低下していた可能性が考えられる。さらに、門脈と肝静脈の血糖値差において、小麦食摂取後の12時と16時で糖質の取り込みが多く、この糖質の取り込み増加も糖貯蔵物質であるグリコーゲンの合成を促進したと考えられる。

次に、筋肉グリコーゲンにおいて、いずれの摂食パターンも1回目の摂食後である12時に大きく上昇した。筋肉における糖取り込みはインスリンに依存¹²⁾しており、筋肉グリコーゲンは摂食直後から上昇するリズムを示す。また、副腎を摘出したラットでは筋肉グリコーゲン量が低下した¹¹⁾ことから、副腎皮質ホルモンの高い活動開始時は、摂食によって分泌されたインスリンの作用が増強され、食餌蛋白質の種類に関係なく筋肉グリコーゲンは増加したと考えられる。16時以降では、1回目の食餌から小麦食を2回連続して摂取する夕・カゼイン食で大きく上昇するリズムが認められた。しかし、2回目、3回目に小麦食を摂取する朝・カゼイン食では、筋肉グリコーゲンの増加がみられなかった。Zawadzkiら¹³⁾は糖質のみの食事より糖質と蛋白質の混合食のほうが筋肉グリコーゲン量は増加すると報告しており、食餌蛋白質の質や摂食パターン、さらに摂食時刻がグリコーゲン合成に複雑に関与していると考えられる。このように、食餌蛋白質の組み合わせはグリコーゲン代謝に大きく影響することが明らかになった。

今回の研究結果から、1日の摂食内容は同じでも、どの時間帯に食べるかによって生体内代謝に影響することを明白にした。1回目と2回目に小麦食、3回目に良質蛋白質のカゼイン食を摂取する夕・カゼイン食が最も適していると考えられ、夕食の重要性が示唆された。これらの知見は、1日3食の摂食パターンの検討が重要であることを示す基礎研究であり、今後の時間栄養学の発展に寄与すると考える。

要 約

異なる食餌蛋白質と摂食時刻の違いによる糖質代謝リズムへの影響を調べるために、カゼイン食と小麦食を組み合わせ、どの摂食パターンが適切かを検討した。その結果、血糖、血中尿素、血中中性脂肪は、いずれの群も摂食に対応した日内変動を示した。一方、肝臓と筋肉のグリコーゲンは、夕・カゼイン食において顕著な日内リズムが認められ、夕食の重要性が示唆された。1日の摂食内容は同じでも、食餌蛋白質の組み合わせと摂食時刻の違いがグリコーゲン代謝に影響することを明らかにした。

文 献

- 1) 厚生労働省：平成9年国民栄養調査結果
- 2) 厚生労働省：平成20年国民健康・栄養調査結果
- 3) Turek F.W, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, McDearmon E, Laposky A, Losee-Olson S, Easton A, Jensen D.R, Eckel R.H, Takahashi J.S and Bass J: Obesity and metabolic syndrome in circadian clock mutant mice. *Science*, 308, 1043-1045 (2005)
- 4) Kato H, Saito M and Suda M: Effect of starvation on the circadian adrenocortical rhythm in the rats. *Endocrinology*, 106(3), 918-20 (1980)
- 5) 加藤秀夫, 斉藤昌之, 嶋津孝, 大ヶ瀬浩史, 谷岡博昭: ヒト副腎皮質ホルモンの日内変動におよぼす経腸栄養の効果. *日本栄養・食糧学会誌*37(1), 9-12 (1984)
- 6) 出口佳奈絵, 保手濱由基, 国信清香, 中田麻衣, 佐野尚美, 加藤秀夫, 西田由香: 肝臓の糖質代謝リズムに関する研究(2)～食餌蛋白質量の影響について～. *県立広島大学人間文化学部紀要*, 6, 35-43 (2011)
- 7) 出口佳奈絵, 福島圭織, 永田泰葉, 国信清香, 佐野尚美, 加藤秀夫, 西田由香: 食餌蛋白質の違いによるグリコーゲン代謝と自発的運動への影響. *広島スポーツ医学研究会誌*, 12, 31-35 (2011)
- 8) 厚生労働省, 農林水産省: 食事バランスガイド. (2005)
- 9) 出口佳奈絵, 植田さつき, 齋藤亜衣子, 佐野尚美, 加藤秀夫, 西田由香: 肝臓の糖質代謝リズムに関する研究(1)～特に摂食時刻に関して～. *県立広島大学人間文化学部紀要*, 6, 25-33 (2011)
- 10) 中村亜紀, 渡邊宏美, 高津有紀, 加藤秀夫, 高野優: 摂食パターンの違いによる肝臓および筋肉グリコーゲンの日内リズム. *県立広島女子大学生活科学部紀要*, 9, 55-63 (2003)
- 11) 森朝美, 高津有紀, 加藤悠, 渡邊宏美, 鄭継華, 加藤秀夫, 亀田健治: グリコーゲン代謝における肝臓と筋肉の相違点と副腎ホルモンの関与. *第60回日本栄養・食糧学会学術総会要旨集*, 260 (2006)
- 12) 上代淑人監訳: *イラストレイテッドハーパー・生化学*. 168-169, 丸善株式会社 (2003)
- 13) Zawadzki K.M, Yaspelkis B.B 3rd and Ivy J.L: Carbohydrate-protein complex increases the rate of muscle glycogen storage after exercise. *J. Appl. Physiol*, 72, 1854-1859 (1992)

Abstract

Clock time difference of food intake on circadian rhythm of carbohydrate metabolism in the rats fed various protein diets.

Satsuki UEDA^{*1}, Yuuki HOTEHAMA^{*1}, Kanae IDEGUCHI^{*1}, Tomomi ICHIKAWA^{*2}
Naomi SANO^{*1}, Hideo KATO^{*1}, Yuka NISHIDA^{*1}

The purpose of this study was to investigate the influence on the carbohydrate metabolism rhythm by the difference between various protein diets and feeding times. The rats were fed food three times per day; dietary patterns were combined casein diets and wheat protein diets.

Plasma glucose, urea nitrogen and triglyceride were shown circadian rhythms that were related to the food intake. On the other hand, the hepatic and muscle glycogen were shown the clear circadian rhythms in the dietary pattern of evening-casein diet. The importance of supper was suggested. It clarified the combination of dietary proteins and the difference of feeding times influenced glycogen metabolism while the feeding contents on the day were the same.

*1 Prefectural University of Hiroshima

*2 Hiroshima Jogakuin University