

カフェテリア形式における雌雄ラットの摂食行動について

苧坂 枝織^{*1}・農澤奈穂子^{*1}・国信 清香^{*2}
佐野 尚美^{*1}・加藤 秀夫^{*1}・西田 由香^{*1}

緒 言

食のグローバル化による動物性脂肪の摂食過多、カルシウムや食物繊維の摂取不足、加工食品や外食など栄養バランスの偏った食生活、慢性的な運動不足が原因となって糖尿病、動脈硬化、痛風などの生活習慣病が急増している¹⁾。この生活習慣病を予防するためには、いつ、何を、どのようにして、どれくらい食べるのかを提唱している食育と時間栄養学が重要な役割を果たすと考えられる²⁾⁻⁶⁾。しかし、食育に関する科学的根拠を示した研究はあまり多くなく、食育の実践報告に関するエビデンスも少ない⁷⁾。

一方、食に関する知識の普及が進展しているにもかかわらず、本能的に砂糖や油脂の富む嗜好性を優先した食品を無意識に摂取しやすい傾向にあるというヒトやラットでの報告がある⁸⁾⁹⁾。高等動物には、現状の体重を保って活発に活動するための摂食行動を調節するために「食欲」という本能が備わっている。食欲は健康に生きるために大切なバロメーターであり、体に不足している栄養素を補うように働く生理的欲求である。しかし、自由勝手に食べ物を選択できる食環境下において、どの時間帯にどのような栄養組成を欲求するのか、また、生理的欲求によって得られた食餌が健康上どのような問題があるかを調べた研究はほとんどない。

本研究は、本能的嗜好性と生活リズムが健康にどのように関与しているかを明らかにするために1日3回の食餌に栄養組成の異なる4種類の餌を雄と雌のラットにカフェテリア形式で選択させ、「食と健康」における食育と摂食リズムの役割を検討した。

方 法

1. 実験動物の飼育条件と解剖方法

実験動物は9週齢のWistar系ラット（雄・雌）を用いた。飼育条件は12時間の明暗サイクル（暗期9時～21時）にて、食餌を暗期に3回（9時～11時、13時～15時、17時～19時）、2時間ずつ自由摂食させ、摂食量を記録した。実験食は栄養組成の異なる4種類の餌を同時に与え、自由に選択させて嗜好性の違いを調べた。4種類の実験食のエネルギー組成比を図1に示した。標準食を基準に、高脂肪・高蛋白質食、高脂肪・高砂糖食とし、さらに高脂肪・高蛋白質食は蛋白質を種類の異なる小麦蛋白質食、ミルクカゼイン食に分類した。この飼育条件で約3週間飼育後、空腹時の8時と摂食後の12時に麻酔下で門脈と肝静脈から同時に採血した。解剖時には、肝臓および筋肉、3種類の脂肪組織（腎臓周囲、後腹壁、腸間膜）の摘出を行った。血漿と肝臓および筋肉は、分析に用いるまで-80℃で凍結保存した。

* 1 県立広島大学

* 2 安田女子大学

(%)

	蛋白質	脂肪	糖質	砂糖
①標準食 (N)	15	15	50	20
②高脂肪・高蛋白質食 (HF・HP) 【カゼイン】	30	30	20	20
③高脂肪・高蛋白質食 (HF・HP) 【小麦】	30	30	20	20
④高脂肪・高砂糖食 (HF・FS)	15	30	15	40

図1 実験食のエネルギー組成比

2. 測定方法

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、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）、アルブミンの測定にはA/G 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Ⅱ（協和メディックス株式会社）を用い、血中遊離脂肪酸はデタミナー NEFA755（協和メディックス株式会社）を用いて測定を行った。

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）を用いて測定した。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Ⅱ（協和メディックス株式会社）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フェノール硫酸法で測定した。

3. 統計処理

実験結果は、平均値±標準誤差で示した。血液・肝臓データの性差および解剖時刻の比較には対応のない t 検定を行い、危険率5%未満を有意差ありとして比較検討を行った。また、摂食量の経時変化の比較には一元配置分散分析を行い、有意差が認められた場合には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 19 for Windows ; SPSS japan Inc.）を用い、有意水準を5%未満とした。

結 果

1. 体重と摂食量について

カフェテリア形式で自由摂食させたラットは、雄と雌ともに順調な体重増加が認められた（図2）。実験期間中の平均エネルギー摂取量は雄の29±2.3 kcal/100gB.W.、雌の30±0.6 kcal/100g B.W.で両群に差がなかった。この摂取エネルギー量の内訳と嗜好性との関係を調べるために、給餌量の安定した3日目から実験終了時までの4種類の実験食の摂食量を図3に示した。雌雄ともに高脂肪・高蛋白質（小麦）食と高脂肪・高砂糖食の摂食量が著しく多く、この嗜好性は実験期間中変動はみられなかった。一方、最も栄養組成的に優れている標準食およびカゼインを含む高脂肪・高蛋白質食は摂食量が少なかった。次に、摂取エネルギーに占める各実験食の割合を図4に示した。雌雄ともに高脂肪・

高蛋白質食（小麦）と高脂肪・高砂糖食で全体の80%のエネルギーを占め、雄より雌の方が標準食の摂取割合が低かった。PFC比（%）は雄雌ともに糖質が50%未満、脂肪が25%以上で、蛋白質比は同一であった。蛋白質について動物性（カゼイン）：植物性（小麦蛋白質）の摂取割合をみると、雄=37：63、雌=44：56となり、雌の方が動物性蛋白質の摂取割合が高かった。

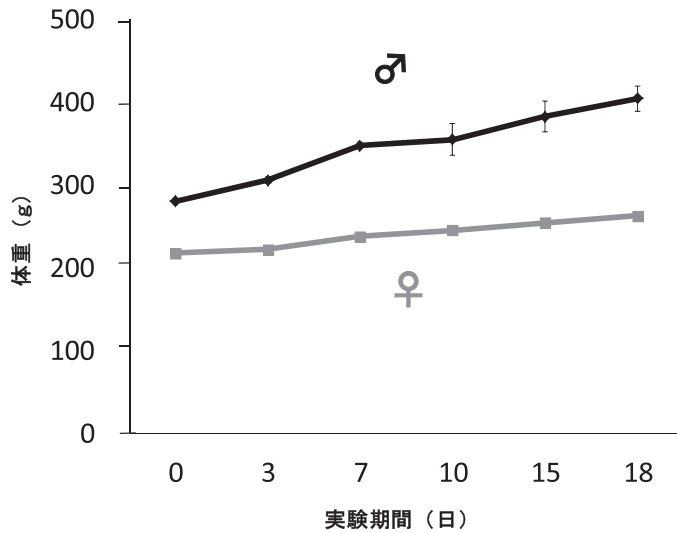


図2 カフェテリア形式による体重の経時的変化

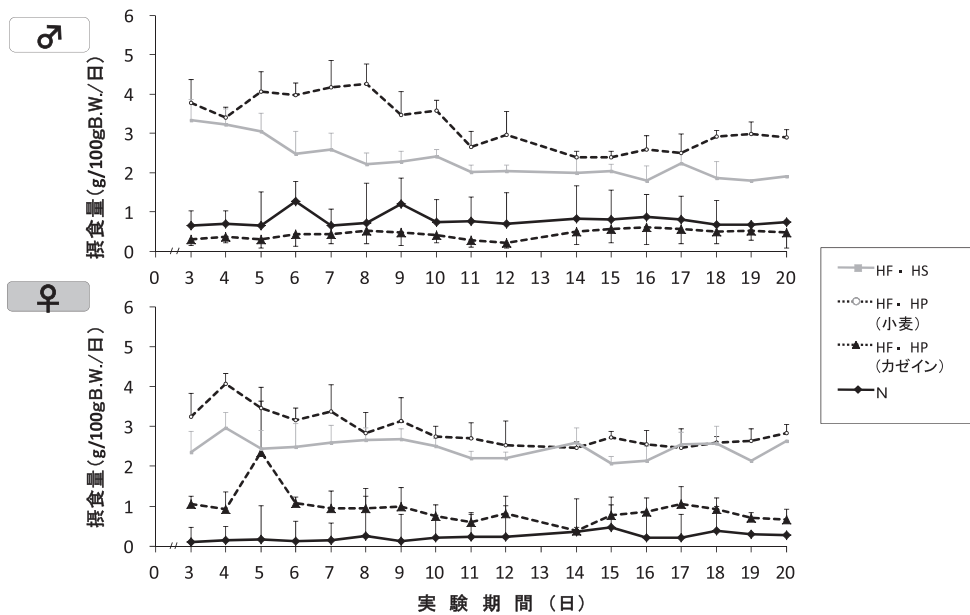


図3 カフェテリア形式における1日摂食量の経時的変化

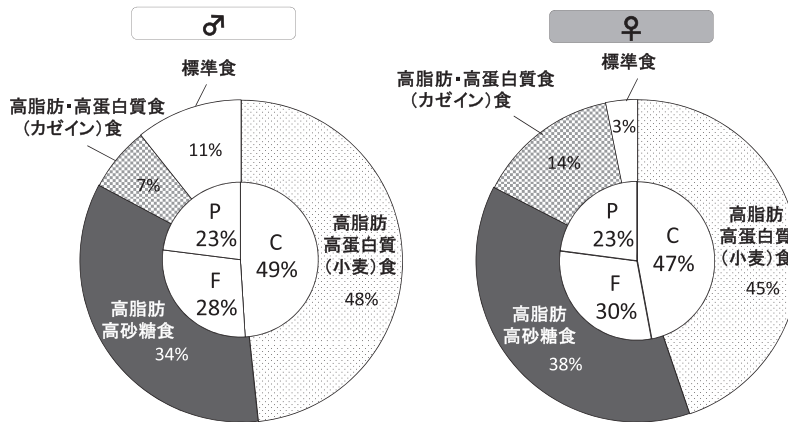


図4 摂取エネルギーに占める各実験食の割合

2. 活動時間別の摂食量について

ラットの活動期を3回に分けて自由摂食させ、活動時間帯の違いによる摂食量の結果を図5に示した。雌雄ともに活動期最初の摂食量が最も少なく、活動期後半になるにつれて増加した。特に、活動期最後の食餌は活動期最初の食餌に比べて雄で30%、雌で17%増加した。このことより、本能のまま食欲を満たしながら1日3回で摂取する食習慣の場合、活動開始時の食餌つまり朝食の割合が最も低く、活動終了期の食餌つまり夕食の割合が多くなった。どの時間帯においても高脂肪・高蛋白質食(小麦)と高脂肪・高砂糖食の摂食量が他の2つの食事に比べて多く、活動時間帯の違いによる嗜好の差がなかった。

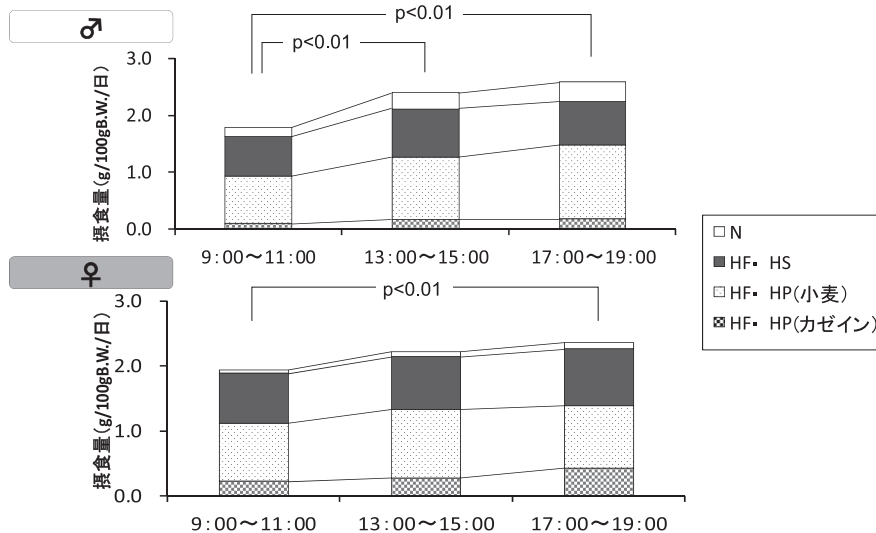


図5 活動期における食餌摂食量の違い

3. 肝臓および血液生化学成分について

本能的な食欲による食餌摂取が生体にどのような影響を及ぼすかを調べるために脂肪重量および血液や肝臓の生化学分析を行った。3種類の脂肪組織の重量を体重100g当たりで図6に示した。脂肪組織の部位別にみると後腹壁脂肪量は雄で有意に高かった。脂肪合計量は雄が高いが(雄 18.3±0.9g、雌 10.1±0.8g)、体重当たりでみると性差がなかった(雄 4.4±0.7g/100g B.W.、雌 3.8±0.6g/100g B.W.)。

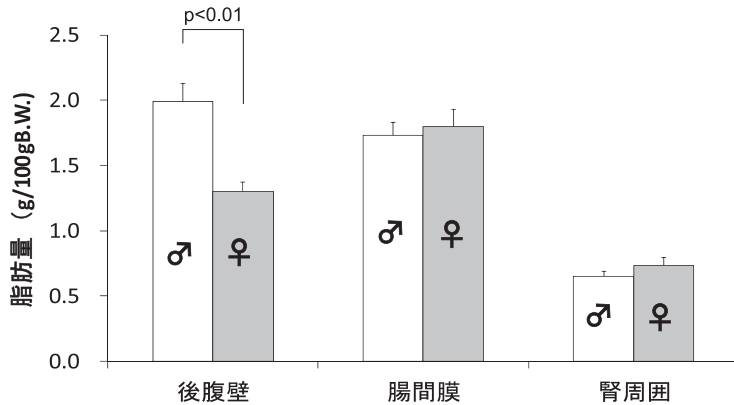


図6 カフェテリア形式による体脂肪量への影響

摂食前後の各血液成分の変化について表1に示した。血中尿素量は雌雄の差がなく、摂食によって増加した。脂肪組織から放出される遊離脂肪酸も性差がなく摂食前に高く、摂食後に減少した。中期的な蛋白質の栄養状態を反映する血中のアルブミンは摂食前後での増減がなく雌雄ともに3.5g/dl以下で低栄養状態を示した。

表1 カフェテリア形式による血液成分の変化

		♂		♀	
		摂食前	摂食後	摂食前	摂食後
アルブミン	(g/dl)	3.2±0.1	3.3±0.2	3.2±0.1	3.2±0.1
尿素	(mg/dl)	12.3±0.5	17.1±1.6	12.4±0.8	18.0±1.9
遊離脂肪酸	(mEq/L)	0.66±0.1	0.55±0.1	0.78±0.1	0.34±0.0
血糖	門脈 (mg/dl)	131±7	184±14	108±8	164±13
	肝静脈 (mg/dl)	159±11	160±7	136±10	138±12

糖質は小腸で消化吸収されるため、門脈血糖は雌雄ともに摂食後に上昇した。肝静脈血糖は摂食による変化はほとんどなく、肝臓において常に調節されていた。門脈血糖から肝静脈血糖を差し引き、摂食前後の肝臓での糖質代謝をみると、雌雄ともに空腹時の摂食前には負の値(雄 -27.8±6.3mg/dl、雌 -27.7±4.6mg/dl)であることから肝臓の糖新生によって糖が放出されていた。一方で、摂食後は正の値(雄 23.2±8.2mg/dl、雌 26.3±13.1mg/dl)であることから、肝臓での糖質利用が増大していた。この摂食後の糖代謝をさらに詳しくみるために、肝臓と筋肉(ヒラメ筋)のグリコーゲン量を調べた結果を図7に示した。肝臓、筋肉ともにグリコーゲンの蓄積量に雌雄の差がなかった。

カフェテリア形式による脂質代謝への影響を図8に示した。血中中性脂肪は雌に比べて雄は有意に高い値を示した。一方肝臓中性脂肪は雌雄どちらも40mg/gを越え、脂肪肝を呈していた。特に雌の肝臓中性脂肪は雄に比べて高い傾向にあった。

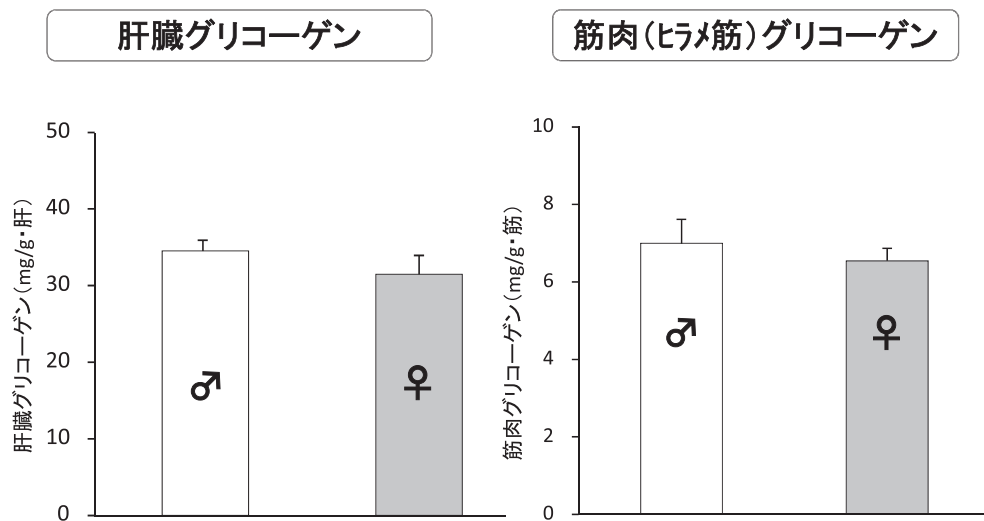


図7 摂食後のグリコーゲンの性差

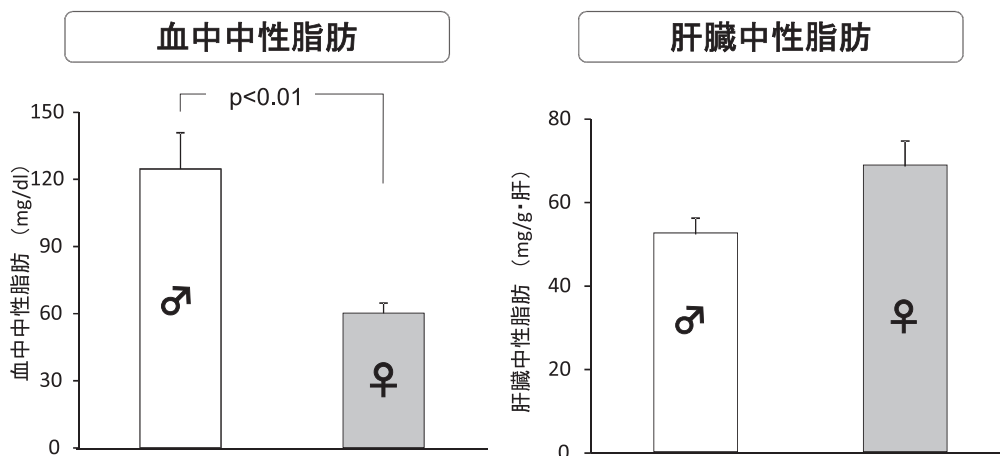


図8 摂食後の中性脂肪の性差

考 察

本研究では、数種類の異なる栄養組成の食餌をラットに摂食させ、体重、体脂肪量、肝臓・筋肉および血液生化学成分を調べた。雌雄ともにバランスの良い標準食よりも高脂肪・高砂糖食を好み、アミノ酸スコアの低いカゼインよりもアミノ酸スコアの低い小麦蛋白質の摂取量が高いという嗜好の偏りが認められた。Drewnowski ら⁸⁾によると、本能的に砂糖や油脂を豊富に含んだ嗜好性の高い食品は過剰に摂取されやすいという報告がある。これは、高脂肪・高砂糖食が好まれ、脂肪割合の少ない標準食が好まれた今回の結果と類似した。しかし、同じ脂肪割合でも高脂肪・高蛋白質（小麦）食は好まれ、高脂肪・高蛋白質（カゼイン）食は好まれなかったことから、蛋白質の質も嗜好性に影響を与えたと考えられる。出口ら¹⁰⁾の報告では 蛋白質の質を変えてラットに自由摂食させたところ、蛋白質をカゼインのみとする群に比べて小麦蛋白質のみとする群の方は摂食量が少なかった。これまで、ラットはリジンの欠乏程度を消化過程で感知し、食欲を低下させ、体内の蛋白質合成や成長を抑制することが明らかにされている¹¹⁾¹²⁾。また、リジンが欠乏した飼料をラットに与え、同時にすべての必須アミノ酸を含む14種類のアミノ酸水溶液を自由に選択摂取させると、リジンの水溶液を摂取するようになった¹³⁾。しかし、リジン欠乏食を摂取したラットが自発的にリジン溶液を選択する理由とそのメカニズムは不明である。本研究で多く摂取された小麦蛋白質には必須アミノ酸であるリジンが不足している。このことにより、今回の実験ではリジンが欠乏しないように小麦蛋白質とカゼイン蛋白質の割合を調節して摂食していた可能性が考えられる。

この本能的な蛋白質の質の選択が生体の恒常性や代謝を調節するためのものであるかどうかを明らかにするために、脂肪重量および血液や肝臓成分を調べた。カフェテリア形式で飼育した本研究の体脂肪重量は、一定量の標準食を1日3回摂食させた同様の先行研究¹⁴⁾の結果に比べ、どの部位においても体重100gあたりの脂肪量が高かった。つまり、本能的な嗜好性で自由に摂食させると、みかけの体重は同レベルでも体脂肪が蓄積しやすく肥満を誘発しやすいと考えられる。

次に、嗜好の偏りによる糖質、脂質、蛋白質代謝について検討した。雌雄ともに血糖調節は正常で、摂食後には肝臓に糖質が取り込まれ、糖質の代謝産物である筋肉と肝臓のグリコーゲンは正常に貯蔵されていた。カフェテリア形式で選択した食餌組成は糖質エネルギー比が50%未満の低糖質食であるにもかかわらず、グリコーゲン貯蔵量が低下しなかった。蛋白質の質を変えてラットに自由摂食させた研究では、カゼインよりも小麦蛋白質のほうが肝臓グリコーゲンが高い傾向にあった¹⁰⁾。今回の研究においても小麦蛋白質の割合が全体の5割以上を占める高い割合であったことから、この結果と一致している。小麦蛋白質はグルタミン酸に代表される糖原性アミノ酸が多いことから、糖原性アミノ酸由来の炭素骨格がグリコーゲンとして蓄えられたと考えられる。

一方、蛋白質代謝を見ると血中アルブミン値が雌雄とも3.2g/dlと低く、低栄養状態を示していた。これは、植物性蛋白質（小麦蛋白質）優位の摂取割合の影響であると考えられる。先述したように、小麦蛋白質にはリジンが制限アミノ酸として存在し、他のアミノ酸は制限アミノ酸の量に見合った栄養生理学的な効果しか認められない。したがって、本能的な摂食調節ではリジン欠乏に対応し、小麦蛋白質に偏らない食選択ができていない。しかし、その量的調節はアルブミンを代表とする内臓蛋白質の合成を正常に調整するレベルには至っていないことが本研究で示唆された。

脂質代謝に性差が認められ、血中中性脂肪は雌に比べ雄の値が高いにもかかわらず、肝臓中性脂肪は雄に比べ雌の方が高かった。これは、アルブミンの合成低下という観点からリポタンパク質（特にVLDL）合成が低下し、肝臓からの中性脂肪の放出が雌で低下したと考えられる。しかし、雄に比べ雌の方が動物性蛋白質摂取が高いにもかかわらず雌の血中中性脂肪が低いことから、食餌の影響のほ

かに性差が脂質代謝に影響していると考えられる。一方で、肝臓の中性脂肪量はカフェテリア形式の食習慣によって、雌雄ともに肝臓への脂肪蓄積が顕著に認められた。これには、摂食量の8割以上を占める高脂肪食の影響と蛋白質の質的な問題の双方が関与していると考えられる。佐藤らはラットを高脂肪食（脂肪約40%）で3週間飼育した結果、脂肪肝を認めたと報告している¹⁵⁾。また、蛋白質を小麦蛋白質のみの食餌にすると、肝臓に脂肪の蓄積が見られることが明らかにされている¹⁶⁾。これは小麦の制限アミノ酸であるリジンの不足が原因であるアミノ酸インバランスで起こるとされている¹⁷⁾。今回の実験では、摂取脂肪エネルギー比が約30%の高脂肪食であることとアミノ酸スコアの低い小麦食の割合が高いことが、脂肪肝の発症に関与していると考えられる。さらに通常ヒトは1日3回に分けて食事をしているが、3回の栄養量の分配割合はライフスタイルや生活習慣の違いによって異なる。この分配割合の必要性として生理的欲求があげられるが、この生理的欲求に応じて3回食事を摂取する場合の分配割合は明らかになっていない。また、通常ラットは1日自由摂食させると、暗期開始直後と暗期のおわりに摂食量が多くなる¹⁸⁾。しかし、本実験では暗期を3回に分けて2時間ずつ摂食させたところ、暗期の終わりの摂食量が高いことは一致したが、暗期の開始直後の食餌では摂食量が他の時間より低い結果となった。非活動期は、休息のために活動量が減少し、消費エネルギーも少なくなるので、この非活動期直前に高エネルギーを摂取するとほとんどの摂取エネルギーが体脂肪になりやすく、肝臓に中性脂肪が増加する一因と考えられる。

以上の結果から、本能的な嗜好性で自由に食餌摂食させると、摂食量は活動期の最初が最も低く、活動期後半になると高くなった。また、肥満や肝臓への脂肪蓄積の方向へ嗜好が偏ることが明らかになった。つまり、健康的な食生活を育むためには、本能的な嗜好性を調節する役割を担う食育の必要性が示唆された。

要 約

本研究では、食生活の乱れの原因に本能的な食行動と食習慣が関わっているかを調べるために、1日3回、栄養組成の異なる4種類の食餌をカフェテリア形式で雄と雌のラットに摂食させ、嗜好性と肝臓・血液生化学成分を検討した。

実験食の摂食パターンは、性別に関係なく高脂肪・高蛋白質（小麦）食と高脂肪・高砂糖食に依存し、嗜好性に偏りがみられた。また、摂食量は活動期最初が最も低く、活動期後半になるにつれて高かった。このような食習慣を継続することにより、体脂肪が増加し、肝臓中性脂肪蓄積、血中アルブミン低値といった肝臓・血液生化学成分に異常が認められた。このことから、健康的な食生活を育むためには本能的な嗜好性を調節する知識が必要であり、食育の重要性を浮き彫りにした。

文 献

- 1) 尾立純子ほか：生活習慣病と食育. 生活衛生, 50, 372-377 (2006)
- 2) 加藤秀夫：食とからだのリズム. 日本栄養士会雑誌, 51, 4-11 (2008)
- 3) 加藤秀夫ほか：からだのリズムと生活習慣病. 日本体質学会誌, 63, 19-21 (1980)
- 4) Kato H et al : Effects of cyclic and continuous total enteral nutrition on circadian cortical rhythm. J Clin Biochem Nutr, 2, 83-89 (1987)

- 5) 森朝美ほか：児童生徒の身体状況と生活習慣の季節的变化. 県立広島大学人間文化学部紀要, 2, 27-32 (2007)
- 6) Fabry P et al : Meal frequency – a possible factor in human pathology. *Am J Clin Nutr*, 18, 358-361 (1996)
- 7) 武見ゆかりほか：食育の科学的根拠づくりと今後の展開 日本調理科学会誌, 44(4), 299-305 (2011)
- 8) Drewnowski A et al : Metabolic determinants of binge eating. *Addict Behav*, 20(6), 733-745 (1995)
- 9) Lmaizumi M et al : Effects of oil intake in the conditioned place preference test in mice. *Brain Res*, 870, 150-156 (2000)
- 10) 出口佳奈絵ほか：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, 32-35 (2011)
- 11) 鳥居邦夫：リジン欠乏の認知とリジン嗜好性発現の仕組み. *臨床栄養*, 90, 229-232 (1997)
- 12) Canfield LM et al : Effect of low lysine diet on rat protein metabolism. *J Nutr*, 108(8), 1343-1347 (1978)
- 13) 鳥居邦夫：味覚と嗜好性-栄養バランスと生体恒常性の担い手-. *栄養学雑誌*, 58(2), 49-58 (2000)
- 14) 保手濱由基ほか：非活動期の食餌摂取による糖質代謝リズムへの影響. 県立広島大学人間文化学部紀要, 7, 43-51 (2012)
- 15) Sato F. : Studies on lipid metabolism in rats fed on high fat and high carbohydrate diets with reference to the induction of fatty liver. Part I. Biochemical observations *J Exp Med* (1977)
- 16) Bahl S et al : Mechanism of lipid accumulation in rats fed wheat diets. *J Nutr*, 107(8), 1385-1393 (1977)
- 17) Thapar M, et al : Effects of feeding lysine-deficient diet on the metabolism of lipids in various tissues of rats. *Z Ernährungswiss*, 22(1), 27-33 (1983)
- 18) 江指隆年ほか：ラットの摂食リズムに及ぼす飼料カゼインレベル, トリプトファン添加, メラトニン注射および連続暗黒飼育の影響. *栄養学雑誌*, 35(4), 183-192 (1977)

Abstract

Feeding behavior of male and female rats fed with cafeteria system diets.

Shiori OSAKA ^{*1}, Nahoko NOUZAWA ^{*1}, Kiyoka KUNINOBU ^{*2}
Naomi SANO ^{*1}, Hideo KATO ^{*1}, Yuka NISHIDA ^{*1}

The present study was to investigate cause of disturbance of the diet refer to instinctive feeding behavior or diet habit. The rats were fed three times per day four types of cafeteria system diets differ of nutritional composition. Feeding patterns of rats were no sex difference and dependent on high fat / high protein diet and high fat / high sugar diet. The time lowest food consumption was first half of the active phase, food consumption became higher with second half of the active phase. By continuing this diet habit, we observed biochemistry index of blood and liver : increase body fat, depot liver fat, low serum albmin.

Thus it is necessary for developing healthy diet habits to learn knowledge of controlling instinctive palatability, and this study suggested nutrition physiologic significance of diet education.

*1 Prefectural University of Hiroshima

*2 Yasuda Women's University