

11. 生体リズムの積極的改善を目指す生活習慣の開発

徳山 薫平

筑波大学 体育系

Key words : 生体リズム, エネルギー代謝, 脂肪酸化

緒 言

運動時の代謝・内分泌反応は、運動する時間帯の違いにより大きく異なるが、生活習慣の多様化に伴い、運動をする時間帯には大きな個人差が生じている。総務省の統計によると、有職者が週日に運動する時間帯のピークは午後8時頃だが、午前6時頃にも小さなピークがあり、就業前（おそらくは早朝空腹時）に運動する者と就業後（2回、あるいは3回の食事を摂取した後）に運動する者が混在している。また、代謝・内分泌機能への影響は運動後も続くので、運動が代謝に及ぼす影響はこれも含めて評価する必要がある。例えば、運動時の代謝測定に基づいて「体脂肪の燃焼には低強度運動が適している」と考えられているが、運動後の代謝応答を含めた24時間の脂肪酸化で評価すると「運動強度の違いは脂肪酸化量には影響しない」と結論が異なってくる¹⁾。本研究では、運動する時間帯の違いが24時間の脂肪酸化に及ぼす影響についてヒューマン・カロリメータを用いた連続間接熱量測定から検討した。

方 法

健康で特異的疾患や喫煙習慣を持たない若年成人男性を対象とした。全ての被験者には研究の目的、方法、危険性を十分に説明し、同意書への署名を得た上で実験を行った。なお、本研究は筑波大学体育系研究倫理委員会の承諾を得た後に実施した。

1. 運動時刻の違いが24時間の脂肪酸化に及ぼす影響

10名の男性被験者が朝運動試行、昼運動試行、夕方運動試行、コントロール（非運動）試行の4試行を行った。試行の順はランダムとし、各試行間は5日間以上の間隔をあげた（図1）。

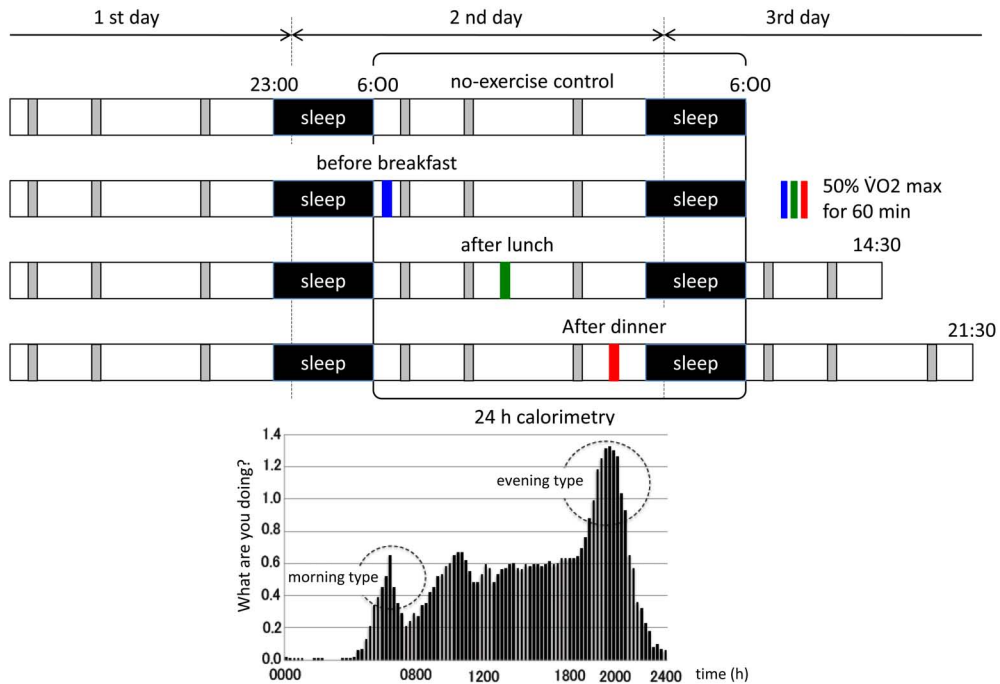


図1. 実験プロトコール

総務省統計局の調査によると、有職者が週日に運動するのは夕方が多いが、早朝に運動する者も居り、生活習慣の多様化が進んでいる（下図）。朝食前（青）、昼食後（緑）、あるいは夕食後（赤）に運動する条件と非運動条件（黒）を設定して24時間の脂肪酸化を比較した。

運動負荷には自転車エルゴメータを用い、事前に測定した最大酸素摂取量の50%強度で60分間の運動を行った。被験者には各試行の第1日目の朝食から測定終了までの計6回の規定食を提供した。食事量は24時間の摂取エネルギー量と消費エネルギー量が等しくなるよう設定した。第1日目の食事量は身体活動レベルを1.75とし、食事摂取基準の年代別の基礎代謝基準値を用い、 $\text{体重 (kg)} \times \text{基礎代謝基準値} \times 1.75$ の式で算出した。第2日目の食事量は、身体活動レベルを1.35~1.45で設定し、 $\text{体重} \times \text{基礎代謝基準値} \times (1.35 \sim 1.45) + 60 \text{ 分間運動時のエネルギー消費量 (kcal)}$ （事前測定2より）の式を用いて算出した。食事のたんぱく質：脂質：炭水化物比は日本人の一般的な食事とされる15：25：60に設定した。

ヒューマンカロリメーターを用いて、実験第2日目の23:00から第3日目の6:00までの計31時間のエネルギー代謝の間接熱量測定を実施し、脂肪酸化量は第2日目の6:00から第3日目の6:00までの24時間について算出した。測定中のカロリメータ内は室温25℃、湿度55%、空気流入量は非運動試行で110 L/分、運動試行で130 L/分とした（図2）。



図2. ヒューマン・カロリメータによる間接熱量測定

間接熱量測定とは酸素と二酸化炭素濃度の変化からエネルギー代謝を測定する方法で、ヒューマン・カロリメータでは呼気採取用マスクを用いずに、部屋全体の空気を測定する（左2枚）。そのために、食事の搬入は採血は特殊な二重扉を介して行う（右2枚）。

毎分のカロリメータ内の酸素濃度及び二酸化炭素濃度を測定し、デコンボリューション法を用いて1分毎の酸素摂取量、及び二酸化炭素排出量を算出した。酸素摂取量、二酸化炭素排出量および尿中窒素量から1分毎の炭水化物酸化量、脂質酸化量、たんぱく質酸化量およびエネルギー消費量を算出した²⁾。

2. 運動時刻の違いが血中脂肪酸組成に及ぼす影響

男性若年成人10名が、朝運動試行（6:00開始）、昼運動試行（16:00開始）、コントロール（非運動）試行の3試行を行った。試行の順はランダムとし、各試行間は5日間以上の間隔をあげた。カロリメータの扉に採血用の小窓を設置することにより、代謝測定を中断することなく採血を行った（実験第2日目の6:30、8:30、15:30、17:30、実験第3日目の6:30の計5回）。採血は朝運動、夕方運動それぞれの30分後に行う設定とした。運動後に採血を行った先行研究では、運動30分後、1時間後の血漿中脂肪酸濃度は安静時ベースラインや運動直後の値と比較し有意に上昇し、その後の食事でベースラインまで低下したことが報告されており、運動終了30分後から食事までの間が遊離脂肪酸濃度のピークであると考えた³⁾。

採取した血液を血漿分離、脂肪酸抽出、薄層クロマトグラフでの遊離脂肪酸分画の採取、メチルエステル化の処理をし、ガスクロマトグラフ質量分析計（QP-2010 SE、島津製作所製）でキャピラリー GCMS カラム（DB-23（膜厚 0.25 μm 、長さ 60 m、内径 0.25 mm、Agilent Technologies 社製）を用いて脂肪酸組成分析を行った。

結 果

1. 運動時刻の違いが24時間の脂肪酸化に及ぼす影響

24時間のエネルギーの摂取と消費のバランスが釣り合った条件下では、運動を行わなかった試行に比べて24時間の脂肪酸酸化を増大させたのは朝食前に運動を行った試行のみであった。エネルギー消費や炭水化物酸化の経時変化と食事の摂取時刻からエネルギーや炭水化物の体内貯蔵量の経時変化を解析すると、朝食前に運動を行うことで貯蔵エネルギーや貯蔵炭水化物（グリコーゲン量）が著しく減少することが明らかになった。この貯蔵エネルギー（ $r=-0.72$ ）や貯蔵炭水化物（ $r=-0.51$ ）の減少の程度は24時間の脂肪酸化と負の相関が認められた（図3）。これまでの私達の研究成果を合わせて考察すると、体内グリコーゲンの枯渇が24時間の脂肪酸化量増大の機序の一部であることが示唆された⁴⁾。

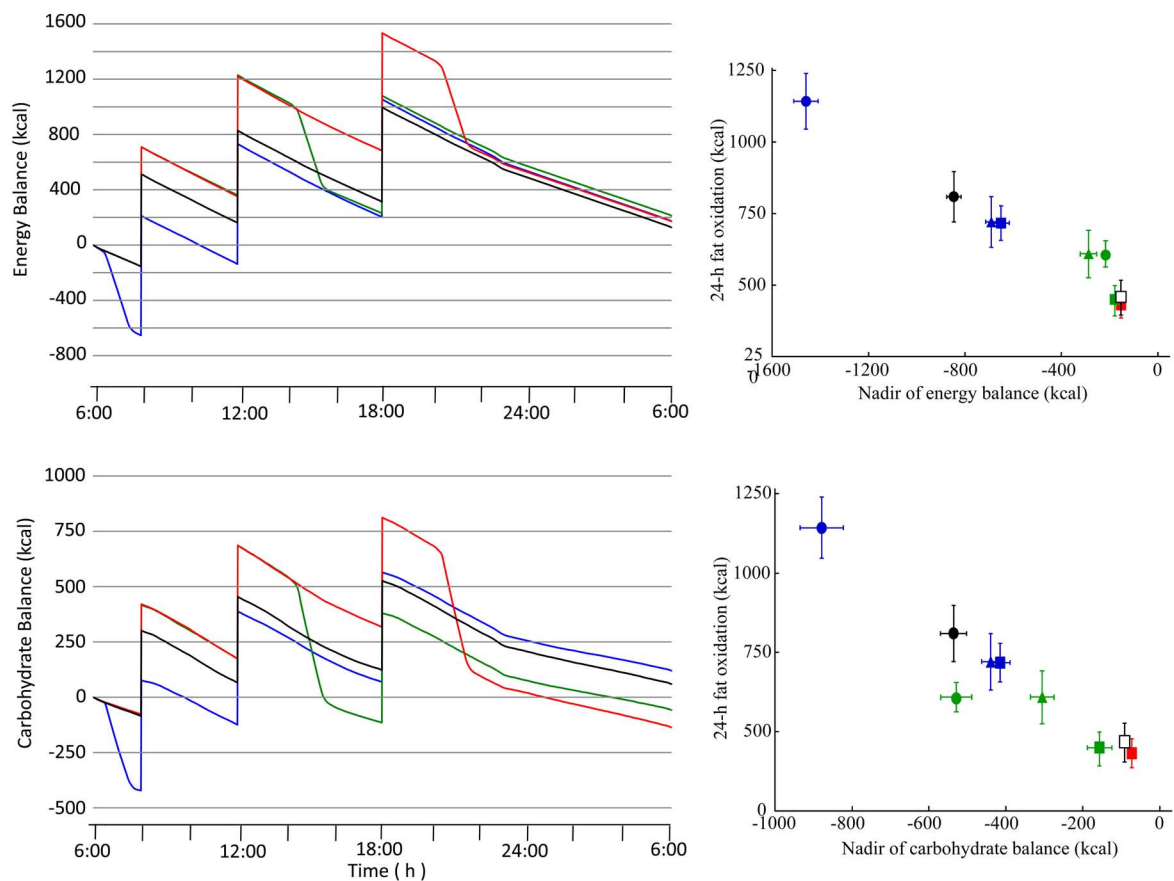


図3. エネルギーと炭水化物バランスの経時変化と24時間の脂肪酸酸化
 エネルギー（上）と炭水化物（下）バランスの経時変化（左）とそれらの最低値は24時間の脂肪酸化量と負の相関を示す（右）。

2. 運動時刻の違いが血中脂肪酸組成に及ぼす影響

24時間の脂肪酸酸化は運動を行わなかった試行に比べて、朝食前の運動では増えたが（+47%、 $P < 0.05$ ）、昼食前の運動では増えなかった（+7%）。血中の総脂肪酸、飽和脂肪酸、一価不飽和脂肪酸及び多価不飽和脂肪酸（n3系、n6系いずれも）朝食前の運動後に上昇し（ $P < 0.05$ ）、また不飽和脂肪酸/飽和脂肪酸比も上昇したが（ $P < 0.05$ ）、昼食後の運動では統計学的に有意な上昇は認められなかった（図4）。

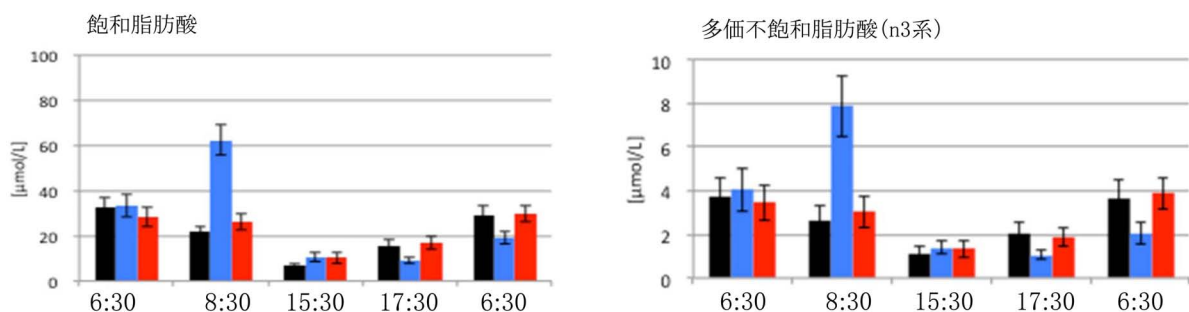


図4. 血中脂肪酸濃度
 血中の飽和脂肪酸（左）と不飽和脂肪酸（右）は、午後の運動や非運動条件に比べて、早朝空腹時の運動直後に上昇した。

考 察

運動が脂肪酸化を亢進する効果は運動する時間帯に大きく依存し、早朝空腹時の運動にその効果が大きい。機序としては、エネルギー（グリコーゲン）貯蔵量の少ない時間帯での運動がさらにグリコーゲンを減少させることで、グリコーゲンに親和性のある転写因子の細胞内分布を変えることで脂肪の酸化に関与する遺伝子の発現が上昇すること可能性が考えられる⁵⁾。更に脂肪酸（特に n3 系）濃度の上昇も早朝空腹時の運動で顕著であり、これが遺伝子発現の変化を介して脂肪酸酸化を亢進して 24 時間の脂肪酸酸化量が増大する機序も考えられる。血液中の脂肪酸濃度の上昇はピルビン酸脱水素酵素キナーゼの活性化を介して炭水化物の酸化を抑制する（脂肪酸化の亢進）⁶⁾。また n3 系脂肪酸は PPAR α の活性化を介して脂肪酸の β 酸化を亢進させる作用のあることが報告されている⁷⁾。

これまで運動が代謝内分泌機能に及ぼす影響についての運動生理学実験は食事摂取の影響を除外することを意図して早朝空腹時に行われることが多かった。一方、多くの人々は夕方運動しており、実験室で実証された運動の脂肪燃焼効果を享受していない可能性が大きい。女性は男性に比べて運動時の脂肪酸酸化が多く、運動後の脂肪酸酸化は少ないという特徴があると報告されているが⁸⁾、24 時間の脂肪酸酸化を増大させるには早朝空腹時の運動が効果的であるという点では一致している（小川、岩山、緒形、麻見ら未発表データ）。

私たちは、1) 動物実験の知見をもとに、睡眠障害や生体リズムの新規バイオマーカーの有用性をヒトにおいて評価し、2) 時間栄養学及び時間運動学的な視点から積極的な生体リズムの改善を提案する、という視点からヒトの実験と動物実験で得られた知見を共有して研究を進めている。平成 27 年度の動物実験の成果としては、食事摂取の時間帯の違いが時計遺伝子発現に及ぼす影響について研究成果を発表した⁹⁾。これを受けて、血液や唾液を検体として時計遺伝子発現の定量法を確立し、朝食欠食が時計遺伝子発現に及ぼす影響について検討の検討を開始した。また、人工甘味料摂取が睡眠とエネルギー代謝に及ぼすことを示した動物実験に基づき¹⁰⁾、ヒトでの研究計画を立案している。

共同研究者

本研究の共同研究者は、筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構の佐藤誠、産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門の大石勝隆、筑波大学人間総合科学研究科の麻見直美である。また脂肪酸組成の分析は大阪府立大学の山本公平先生との共同研究として行った。最後に、本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Melanson EL, Sharp TA, Seagle HM, Horton TJ, Donahoo WT, Grunwald GK, Hamilton JT, Hill JO. Effect of exercise intensity on 24-h energy expenditure and nutrient oxidation. *J Appl Physiol* (1985). 2002 Mar; 92(3):1045-52. PubMed PMID: 11842038.
- 2) Ferrannini E. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism*. 1988 Mar;37(3):287-301. Review. PubMed PMID: 3278194.
- 3) Kimber NE, Heigenhauser GJ, Spriet LL, Dyck DJ. Skeletal muscle fat and carbohydrate metabolism during recovery from glycogen-depleting exercise in humans. *J Physiol*. 2003 May 1;548(Pt 3):919-27. PubMed PMID: 12651914; PubMed Central PMCID: PMC2342904.
- 4) Iwayama K, Kurihara R, Nabekura Y, Kawabuchi R, Park I, Kobayashi M, Ogata H, Kayaba M, Satoh M, Tokuyama K. Exercise Increases 24-h Fat Oxidation Only When It Is Performed Before Breakfast. *EBioMedicine*. 2015 Oct 30;2(12):2003-9. doi: 10.1016/j.ebiom.2015.10.029. PubMed PMID: 26844280; PubMed Central PMCID: PMC4703705.
- 5) Philp A, Hargreaves M, Baar K. More than a store: regulatory roles for glycogen in skeletal muscle adaptation to exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012; 302(11): E1343-E1351. doi: 10.1152/ajpendo.00004.2012.
- 6) Horowitz JF, Kaufman AE, Fox AK, Harber MP. Energy deficit without reducing dietary carbohydrate alters resting carbohydrate oxidation and fatty acid availability. *J Appl Physiol* (1985). 2005 May;98(5): 1612-8. PubMed PMID: 15608091.
- 7) Clarke SD. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a molecular mechanism to improve the metabolic syndrome. *J Nutr*. 2001 Apr;131(4):1129-32. Review. PubMed PMID: 11285313.
- 8) Henderson GC, Fattor JA, Horning MA, Faghini N, Johnson ML, Mau TL, Luke-Zeitoun M, Brooks GA. Lipolysis and fatty acid metabolism in men and women during the postexercise recovery period. *J Physiol*. 2007 Nov 1;584(Pt3):963-81. PubMed PMID: 17855762; PubMed Central PMCID: PMC2277001.
- 9) Yasumoto Y, Hashimoto C, Nakao R, et al. Short-term feeding at the wrong time is sufficient to induce obesity with hyperphagia, physical inactivity, hyperleptinemia, hyperinsulinemia, hypercholesterolemia and fatty liver in mice. *Metabolism* 2016; 65(5):714-27. doi: 10.1016/j.metabol.2016.02.003.

- 10) Oishi K, Higo-Yamamoto S, Yasumoto Y. Moderately high-dose of the artificial sweetener saccharin potentially induces sleep disorders in mice. *Nutrition* 2016; 32(10):1159-61. doi: 10.1016/j.nut.2016.03.013.