

ラットの除脂肪組織の 増加に必要なエネルギー

スポーツ科学研究科 スポーツ科学専攻

学籍番号 222M22

氏 名 前川 賀洋

指導教員 岡村 浩嗣 教授

論文等内容の要旨

題 目 ラットの除脂肪組織の増加に必要なエネルギー

学籍番号 222M22

氏 名 前川 賀洋

指導教員 岡村 浩嗣

除脂肪組織 (LT) に蓄積されるエネルギーは知られているが、LT を合成するために必要なエネルギーは明らかではない。理論的には、体重増加 (ΔBW) に占める LT の増加割合 ($\Delta LT/\Delta BW$) が 100%のときの体重を増加させるために消費されるエネルギーが LT を合成するためのエネルギーと考えられる。そこで本研究では $\Delta LT/\Delta BW$ の異なるラットを作製し、LT を合成するためのエネルギーを明らかにすることを目的とした。実験 1 では 5 週齢のラットをテストステロン投与群 (T 群、5 匹) とグルココルチコイド投与群 (G 群、6 匹) に分け、それぞれのステロイドホルモンを毎日投与し、標準飼料と水を自由摂取させて 2 週間飼育した。実験 2 では 6 週齢のラットを標準飼料群 (N 群、5 匹) と高脂肪飼料群 (HF 群、6 匹) に分け、それぞれの飼料と 10%ショ糖溶液を自由摂取させて 4 週間飼育した。体重、代謝可能エネルギー (ME) および消費エネルギー (EX) を毎日測定した。蓄積された LT と脂肪組織 (FT) は、① ΔLT と ΔFT の合計が ΔBW であること② ΔLT と ΔFT へ蓄積されたエネルギーの合計が全身に蓄積されたエネルギー (ME-EX) であることに基づく連立方程式で算出した。 $\Delta LT/\Delta BW$ は、実験 1 の T 群が 76%、G 群が 61%、実験 2 の N 群が 71%、HF が 63% でいずれも群間に差はなかった。本研究では、 $\Delta LT/\Delta BW$ と体重を 1 g 増加させるために消費されたエネルギーには相関関係は認められなかったが、先行研究の結果とまとめると、LT を 1 g 増加させるために消費されるエネルギーは 3.1 kcal だった。

Energy requirement to increase lean tissue in rats

Yoshihiro Maekawa

【Abstract】

Energy requirement to increase lean tissue in rats

Yoshihiro Maekawa

The energy stored in lean tissue (LT) is known; however, the energy required to synthesize LT remains unclear. Theoretically, the energy for synthesis, when the ratio of an increase in LT to body weight (BW) gain ($\Delta\text{LT}/\Delta\text{BW}$) is 100%, is thus considered to be the energy expended to increase LT to weight gain. The purpose of this study was to determine the energy required for the synthesis of LT using rats with different ratios of $\Delta\text{LT}/\Delta\text{BW}$. In Experiment 1, 5-week-old male rats were divided into testosterone (T group, $n = 5$) and glucocorticoid (G group, $n = 6$) groups. The study period was two weeks, each steroid hormone was administered daily, and a standard diet and water were provided *ad libitum*. In Experiment 2, 6-week-old male rats were divided into a standard diet group (N group, $n = 5$) and a high-fat diet group (HF group, $n = 6$). The study period was four weeks, and each diet and 10% sucrose solution were provided *ad libitum*. The BW, metabolizable energy (ME), and expended energy were measured daily. The accreted LT (ΔLT) and fat tissue (ΔFT) were determined using simultaneous equations based on ΔBW , which was calculated as the sum of ΔLT and ΔFT , and the energy stored in the body (ME-EE) was calculated as the sum of the energy stored in ΔLT and ΔFT . The ratio of $\Delta\text{LT}/\Delta\text{BW}$ was 76% in the T group and 61% in the G group in Experiment 1, 71% in the N group, and 63% in the HF group in Experiment 2. In this study, no correlation was observed between $\Delta\text{LT}/\Delta\text{BW}$ and the energy expended to increase BW by 1 g, but when analyzed together with previous research results, the energy expended to increase LT by 1 g was 3.1 kcal.

【目次】

緒言	・ ・ ・	1
方法	・ ・ ・	4
結果	・ ・ ・	9
考察	・ ・ ・	12
謝辞	・ ・ ・	16
参考文献	・ ・ ・	17
図および表	・ ・ ・	22

【緒言】

ラグビーやアメリカンフットボールなどの選手では、体重を増やすことでパフォーマンスの向上が期待できる。体重の増減はエネルギーバランスによって決定されるため、体重を増やすためには、エネルギー摂取量を増やすか、エネルギー消費量を減らして、エネルギーバランスを正にする必要がある。

減量は生活習慣病予防などの観点から数多くの研究がなされているが、増量はアスリートや拒食症の患者などが対象となるため、減量と比較し研究数が少ない。アスリートが増量を行う場合、エネルギー必要量を算定した上で、500～1,000 kcal のエネルギーを付加する方法が用いられている^{8) 18) 19)}。これらの研究結果について除脂肪組織 (Lean Tissue, LT) と脂肪組織 (Fat Tissue, FT) の増加量とそれぞれの組織のエネルギー密度 (LT: 1,250 kcal/kg、FT: 7,400 kcal/kg) とから蓄積したエネルギーを計算すると、約 80% が FT に蓄積している。LT が 1 kg 増加したときは、1,250 kcal のエネルギーが蓄積したことになる。しかし、LT が 2～3 日で 1 kg 増加することはない。これらのことは 1 日当たりの付加エネルギーとして、500～1,000 kcal は多すぎることを示唆している。

体重の重いアスリートが更に増量する場合、筋肉だけではなく、皮下脂肪や内臓脂肪が増加し、メタボリックシンドロームや循環器疾患などの健康被害をきたすことが報告されている^{2) 23)}。そのため、エネルギー付加は日々の身体組成の変化を確認しながら慎重に行う必要がある。また付加するエネルギー量は、新たに体に増加する組織に蓄積されるエネルギーと、その合成に必要なエネルギーの合計であることが合理的である。一般的にアスリートは LT による増量を目的としている。LT に蓄積されるエネルギーは知られているが、LT を

合成するために必要なエネルギーは明らかではない。理論的には、体重増加に占める LT の増加割合 ($\Delta LT/\Delta BW$) と、増加した組織を合成するために利用されるエネルギーとの関係において、体重増加の全てが LT のときの合成エネルギーが LT を合成するためのエネルギーと考えられる。この合成エネルギーを明らかにするためには、 $\Delta LT/\Delta BW$ の増加割合の異なる個体で調べる必要がある。

$\Delta LT/\Delta BW$ の増加割合が高い個体を作製するためには、LT の蓄積を増加させる必要がある。LT の蓄積を増加させる方法として運動が考えられるが、関口はラットに運動を行わせても、LT と FT の蓄積割合に明らかな影響がなかったことを報告している²⁴⁾。一方、Bhasin らはヒトを対象とした研究で、運動を行わなくても、テストステロンを投与することで上腕三頭筋と大腿四頭筋の横断面積が増加したことを報告している¹⁾。そのためテストステロンを投与することで体重増加に占める LT の増加割合を高めることができると考えられた。

ラットは若齢期では LT の増加が多く、週齢を経るにつれて FT の増加が多くなることが報告されている³²⁾。また、Tirapegui らは成長期のラットの屠体を生化学分析した結果、屠体重量の 90%以上が LT であったことを報告している²⁹⁾。これらのことから成長期のラットでは、 $\Delta LT/\Delta BW$ が少ないモデルを作製しにくいと考えられる。ところで、副腎皮質ホルモンの一種であるグルコルチコイドが慢性的過剰状態になると中心性肥満すなわち脂質の蓄積が起こる²²⁾。このため、若齢期でもグルコルチコイドを投与することで、 $\Delta LT/\Delta BW$ が少ないモデルを作製できる可能性が考えられる。

帯川は成長期ラットの $\Delta LT/\Delta BW$ の増加割合は高脂肪飼料群が 70.5%で、標準飼料群

76.6%や高タンパク飼料群の 87.3%より低かったことを報告している²⁰⁾。また、Virgen-Carrillo らはショ糖溶液の消費量と全身の FT の割合との間に正の相関があったことを報告している³¹⁾。これらのことは高脂肪食やショ糖溶液を摂取させることで、 $\Delta LT/\Delta BW$ の増加割合を低くできる可能性を示唆している。

そこで本研究では、実験 1 ではテストステロンとグルココルチコイドを投与し、実験 2 ではショ糖溶液と高脂肪食を与えて、 $\Delta LT/\Delta BW$ の異なるラットを作製し、 $\Delta LT/\Delta BW$ と増加した組織を合成するために利用されるエネルギーとの関係から、LT を合成するためのエネルギーを明らかにすることを目的とした。

【方法】

動物および飼育方法

実験 1：ステロイドホルモン投与

4 週齢の Sprague-Dawley (SD) 系雄性ラット（日本クレア株式会社、東京）11 匹を用いた。1 週間の予備飼育後、テストステロン投与群（T 群：n = 5）とグルココルチコイド投与群（G 群：n = 6）に分けた。ホルモン投与は毎日 9:00～11:45 に行い、T 群にはエナルモンデポー（あすか製薬株式会社、東京）をゴマ油（富士フイルム和光純薬株式会社、大阪）に溶解（12.5 mg/ml）し、体重 1 kg 当たり 20 mg 筋肉内投与した。G 群にはプレドニゾロン（富士フイルム和光純薬株式会社）を 1%カルボキシメチルセルロース（富士フイルム和光純薬株式会社）溶液に溶解（2 mg/ml）し、体重 1 kg 当たり 2 mg 皮下投与した。テストステロンは骨格筋重量の増加が認められたと報告されている研究²⁷⁾、グルココルチコイドは筋萎縮が報告されている研究¹⁷⁾に基づき、投与量を決定した。飼育期間は 2 週間で、飼育期間中は標準飼料（CE-2、日本クレア株式会社）と水を自由摂取させた。飼育室の温度は $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ とし、8 時から 20 時までを暗期、20 時から 8 時までを明期とした。体重、摂食量および消費エネルギーを毎日測定した。

実験 2：シヨ糖溶液と標準飼料および高脂肪飼料の組み合わせ

ラットが最も多く飲用するシヨ糖溶液の濃度を検討するため、5 週齢の Sprague-Dawley (SD) 系雄性ラット（日本クレア株式会社）11 匹に標準飼料（CE-2、日本クレア株式会社、東京）と水を自由摂取させ、2 日間個別ケージで飼育した後、3 群に分け、標準飼料とともに

に、各ケージに給水瓶を 2 本セットし、一方は水道水、他方はグラニュー糖（富士フイルム和光純薬株式会社）を蒸留水に溶解した濃度の異なるショ糖溶液（5%：n = 3、10%：n = 4、15%：n = 4）として、自由に選択飲水させ、飲水量を測定する 2 瓶選択法⁴⁾を用いて 3 日間、嗜好調査を行った。その結果、最も飲水量が多かった 10%ショ糖溶液（393 kcal/kg）を本実験の濃度として採用した。その後、ラットを標準飼料群（N 群：n = 5）と高脂肪飼料群（HF 群：n = 6）に分けた。飼料組成は表 1 に示した。

ラットは実験 1 と同様に代謝チャンバーで個別飼育した。最初の 2 日間、それぞれの飼料と 10%ショ糖溶液を与え、順化させた。飼育期間は 4 週間で、飼育期間中はそれぞれの飼料と 10%ショ糖溶液を自由摂取させた。飼育環境は実験 1 と同条件とし、測定項目は実験 1 の項目に加えて飲水量も測定した。

本研究では先行研究と比較を行うため、実験 1、2 ともにコントロール群は設けなかった。

本研究計画は実験に先立って、大阪体育大学研究公正委員会実験動物部会で承認された（承認番号 22-5、23-4）。

飼料の代謝可能エネルギー（Metabolizable Energy, ME）

摂取したエネルギーは全てが吸収されるわけではなく、吸収されても全てが利用されず、尿や糞便に排泄されるものがある²⁶⁾。実際に吸収され、利用されるエネルギーを代謝可能エネルギー（Metabolizable Energy, ME）という。ME は摂取エネルギー（Energy Intake, EI）から尿と糞に排泄されるエネルギーの差として求められる。実験 2 で用いた標準飼料の ME

は 316 kcal/100g、高脂肪飼料の ME は 537 kcal/100g であることが報告されている²⁰⁾。

ステロイドホルモン投与が飼料の ME に影響するかどうか明らかではなかったので、実験 1 と同様の条件でテストステロンまたはプレドニゾロンを 2 週間投与して、実験 1 で用いた標準飼料の ME を測定した。その結果、テストステロンを投与したときの ME は 328.8 kcal/100g、プレドニゾロンを投与したときの ME は 333.2 kcal/100g だった。

ME の理論的分布

ME の理論的分布を図 1 に示した。ME は利用効率で補正した値を用いた。実験 2 では ME はそれぞれの飼料からのエネルギー (Energy from Diet, ED) と飲料からのエネルギー (Energy from Beverage, EB) との合計とした。ME は消費 (Expended Energy, EX) されるか蓄積 (Stored Energy, ST) される。EX は、体を維持するためのエネルギー (Maintenance Energy, MT)、体に新たに蓄積する組織の合成に利用されるエネルギー (Energy for Synthesis, SY)、および身体活動のために消費されるエネルギーに分けられる。本研究では、ラットはチャンバー内で静的な活動が中心であるため、日本人の食事摂取基準¹³⁾の身体活動レベル I のときの平均値である 1.50 を推定基礎代謝量に乗じて MT とし、身体活動のために消費されるエネルギーは EX の中に含めなかった。推定基礎代謝量は、Terpstra の式²⁸⁾を用いて算出した。SY は EX と MT の差として求めた。ST は、LT か FT に蓄積される。LT と FT に蓄積されたエネルギーは、以下の連立方程式で求めた LT と FT の増加量に、それぞれのエネルギー密度 (LT;1.25 kcal/g、FT;7.4 kcal/g)¹⁰⁾ を乗じて求めた。

$$\Delta LT \text{ (g)} + \Delta FT \text{ (g)} = \text{体重増加量 (g)} \cdots \text{①}$$

$$\Delta LT \text{ (g)} \times 1.25 \text{ (kcal/g)} + \Delta FT \text{ (g)} \times 7.4 \text{ (kcal/g)} = \text{蓄積エネルギー (kcal)} \cdots \textcircled{2}$$

式①は LT と FT の増加重量の合計が体重増加量であること、式②は LT と FT それぞれに蓄積したエネルギーの合計が全身に蓄積したエネルギーであることを示している。

エネルギー消費量の測定

エネルギー消費量は Open-Circuit システム¹⁴⁾で測定した。ラットは、幅 22.2 cm×奥行 33.8 cm×高さ 14.0 cm の代謝チャンバーで個別飼育した。チャンバーの換気量は、ラットの酸素消費量に応じて調節した。実験 1 では 2,000～3,000 ml/分、実験 2 では 2,000～3,500 ml/分で換気した。実験期間中は毎日、チャンバー内の空気の一部 (100 ml/分) を 250 L のダグラスバッグ (株式会社ヤガミ、大阪) に 23 時間 45 分ずつ採取し、酸素濃度をポータブルガスモニター (VO2000、有限会社エスアンドエムイー、東京) で分析した。大気中および採取した空気中の酸素濃度の差とチャンバーの換気量とからラットの酸素消費量を算出し、4.8 kcal/L 酸素として EX を算出した。EX は 24 時間当たりに換算した。

屠殺および検体採取

ラットはイソフルラン麻酔下で開腹し、腹部大動脈から採血し脱血死させた。その後、内臓 (心臓、肝臓、腎臓、副腎、消化管)、骨格筋 (長母趾屈筋、ヒラメ筋、腓腹筋、足底筋)、脂肪組織 (腎周囲、生殖器、後腹壁、腸間膜) を採取し、秤量した。実験 1 では睪丸も採取した。消化管の重量は、消化管内容物を除いて、秤量した。採取した血液と内臓・筋肉などの組織は屠体の腹腔内に戻して生化学分析まで -30℃で凍結保存した。屠体と皮は一緒に均

質化できないため、屠体から皮を剥がして皮も秤量し、皮も分析まで-30℃で凍結保存した。

生化学分析

皮および屠体の水分量は、短鎖脂肪酸が損失しないように 60℃のオーブン¹²⁾で恒量になるまで乾燥させ、乾燥前後の重量差で算出した。乾燥後のサンプルは、皮と屠体に分け、1 匹分ずつアブソリュートミル (Vita-Mix Absolute Blender、大阪ケミカル株式会社、大阪) で粉末状に粉碎して均質化した。タンパク質量は、ケルダール法¹¹⁾で測定した窒素量に係数 6.25 を乗じて算出し、総脂質量は Folch 法⁶⁾、グリコーゲン量は Lo ら¹⁵⁾の方法で算出した。

全身のエネルギー含量は、分析により定量した、タンパク質量、総脂質量およびグリコーゲン量にそれぞれの物理的燃焼エネルギー⁵⁾ (タンパク質;5.7 kcal/g、脂質;9.4 kcal/g、グリコーゲン;4.1 kcal/g) を乗じたものを合計して算出した。

統計処理

データは平均値 (標準誤差) で示した。群間の比較には対応のない t 検定を用いた (IBM SPSS Statistics Version 27)。危険率 5%未満を統計的に有意とした。

【結果】

実験期間中の体重変化を図 2 に示した。実験 1 の体重増加量は T 群が G 群より有意に多かった。最終体重も T 群が G 群より有意に重かった。実験 2 の体重増加量は N 群と HF 群で有意差はなく、最終体重も N 群と HF 群で有意差はなかった。

実験 1 の摂食量は T 群(303.9 g [SE 8.1]) が G 群(263.6 g [SE 8.8]) より有意に多かった。実験 2 の摂食量は N 群(426.5 g [SE 26.4])と HF 群(378.1 g [SE 32.4])で有意差はなかったが、脂質摂取量は HF 群が N 群より有意に多かった (表 3)。シヨ糖溶液の摂取量は N 群(3115.9 g [SE 227.5]) が HF 群(1698.2 g [SE 319.7]) より有意に多く、炭水化物摂取量も N 群が HF 群より有意に多かった。

ME の分布を図 3 に示した。実験 1 では ME、EX、MT および LT は G 群が T 群より有意に少なかったが、ST、SY および FT には G 群と T 群で差はなかった。実験 2 では ED で HF 群が N 群より有意に多く、EB は HF 群が N 群より有意に少なかった。また、SY は HF 群が N 群より少ない傾向 ($P = 0.08$) が認められたが、そのほかの項目では HF 群と N 群で差はなかった。

LT と FT へ蓄積したエネルギーの比率 (LT:FT) は、実験 1 では T 群が 38 : 62 、G 群が 22 : 78 で群間に差はなく、実験 2 でも N 群が 29 : 71、HF 群が 26 : 74 で群間に差はなかった。

LT と FT の重量の増加比率は、実験 1 では T 群が 76 : 24 、G 群が 61 : 39 で有意差はなく、実験 2 でも N 群が 71 : 29、HF 群が 63 : 37 で群間に有意差はなかった。

ST を ΔBW で除して算出した増加した体重 1 g 当たりに蓄積されたエネルギーは、実験 1 では T 群(2.7 kcal [SE 0.3])と G 群(3.6 kcal [SE 0.2])の間に有意差はなかった。実験 2 でも N 群(3.1 kcal [SE 0.1])と HF 群(3.5 kcal [SE 0.5])の間に有意差はなかった。

SY を ΔBW で除して算出した体重を 1 g 増加させるために消費されたエネルギーは、実験 1 では G 群(2.3 kcal [SE 0.2])が T 群(1.8 kcal [SE 0.1])より多い傾向がみられた ($P = 0.06$)。実験 2 では HF 群(2.0 kcal [SE 0.1])が N 群(2.8 kcal [SE 0.2])より有意に少なかった。

$\Delta LT/\Delta BW$ と体重を 1 g 増加させるために消費されたエネルギーとは相関関係は認められず (図 4)、 $\Delta LT/\Delta BW$ が 100 %のときの SY は 2.4 kcal/g だった。

実験終了時の組織重量は、実験 1 では肝臓以外の内臓と骨格筋で G 群が T 群より有意に低値だった。脂肪組織では群間に有意差はなかったが、皮は G 群が T 群より有意に低値だった (表 4)。睪丸の重量は群間で差はなかったが (表 4)、体重 100 g 当たりで比較すると、T 群が G 群より有意に低値だった (表 5)。副腎の重量は G 群が T 群より有意に低値で (表 4)、体重 100 g 当たりでも G 群が T 群より有意に低値だった (表 5)。

実験 2 では内臓と骨格筋には HF 群と N 群で差はなかったが、脂肪組織は HF 群が N 群より有意に高値だった (表 6)。皮の重量は群間で差はなかったが、体重 100 g 当たりで比較すると、HF 群が N 群より有意に高値だった (表 7)。

生化学分析による全身の水分、タンパク質、総脂質およびグリコーゲン含量を表 8、9 に示した。実験 1 では全ての項目で G 群が T 群より有意に少なかった。実験 2 では総脂

質において、HF 群が N 群より有意に多かったが、その他の項目では群間に有意差はなかった。

【考察】

本研究では、 $\Delta LT/\Delta BW$ の異なるラットを作製し、 $\Delta LT/\Delta BW$ と増加した組織を合成するために利用されるエネルギーとの関係から、LT を合成するためのエネルギーを明らかにすることを目的として実験を行った。実験 1 の T 群はテストステロンを投与することで体重増加に占める LT の増加割合をより 100%に近いモデルを作製しようとしたが 76%に留まった。ヒトを対象とした研究において、アナボリックステロイドによる除脂肪組織量の増加には曲線的な反応があり、総投与量が 3,500 mg を超すと顕著に除脂肪組織量が増加すると報告されている⁷⁾。そのためテストステロンの投与量を増やすか、実験期間を長くすることでより LT を増やすことができる可能性が考えられた。

G 群ではグルココルチコイドの筋萎縮と脂肪合成促進作用によって体重増加に占める LT の増加割合が低いモデルを作製しようとしたが、LT の増加割合は 61%だった。G 群ではグルココルチコイド投与を行っても日々体重は増加していたことから、グルココルチコイドの筋萎縮作用よりも成長が優位であったことが考えられた。

実験 1 では、外因性に投与されたステロイドホルモンの血中濃度は測定しなかったが、睪丸重量は T 群が G 群より低値で、副腎重量は G 群が T 群より低値だった。睪丸はテストステロン、副腎はグルココルチコイドの主な分泌器官でありそれぞれの器官が萎縮したことから、ホルモン投与の影響はあったと考えられた。

実験 2 の体重増加に占める LT の増加割合は N 群と HF 群がそれぞれ 71%と 63%であり、先行研究^{20) 24) 25)}で観察されている範囲内 (44~87%) だった。成長期は増加する組織の大部分が内臓や骨格筋などの LT であるため²⁹⁾、FT が蓄積しにくいことが考えられ

た。実験 2 では ME に群間で差はみられなかったが、脂質の摂取量は HF 群が N 群より有意に多かった（表 3）。このことから ME に差がなくても脂質の摂取量が多いと FT が増加することが考えられる。実験終了時に解剖した結果、脂肪組織重量は HF 群の方が N 群より多く（表 6）、体重 100 g 当たりの皮の重量は HF 群が N 群より高値だった（表 7）。皮には皮下脂肪が含まれているため、このことから HF 群が N 群より FT の増加は大きかったと考えられる。

実験 2 ではそれぞれの飼料とシヨ糖溶液から得られるエネルギーの合計を ME とした。飼料からの摂取エネルギーは先行研究²²⁾の利用効率で補正し、シヨ糖溶液からのエネルギーは全て吸収されたとして計算した。しかし、シヨ糖溶液を摂取させることで飼料の ME が変化した可能性がある。このためシヨ糖溶液を摂取させたときの ME を検討する必要があるかもしれない。

本研究では、 $\Delta LT/\Delta BW$ と体重を 1 g 増加させるために消費されたエネルギーとはは関係関係は認められなかった（図 4）が、 $\Delta LT/\Delta BW$ が 100 %のときの SY は 2.4 kcal/g だった。体重を 1 g 増加させるために消費されたエネルギーは $\Delta LT/\Delta BW$ と関係している一方でこれ以外の要因とも関係していると考えられる。例えば成長期やテストステロン投与は分解に比べて合成を相対的に高めて、体重を 1 g 増加させるために消費されたエネルギーを少なくする可能性が考えられる。実験 1 の T 群の $\Delta LT/\Delta BW$ (76%) は標準飼料を摂食させた先行研究での 77%²⁰⁾、75%²⁵⁾と同程度であるが、体重を 1 g 増加させるために消費されたエネルギーは 1.8 kcal/g で、先行研究の 2.1 kcal/g²⁰⁾、2.2 kcal/g²⁵⁾より少なかった。一方、加齢やグルココルチコイドの投与は合成に比べて分解を相対的に高め

て、体重を 1 g 増加させるために消費されたエネルギーを増やす可能性が考えられる。グルココルチコイドの投与は筋肉分解の指標である 3-メチルヒスチジンの排泄量を増加させる⁹⁾。実験 1 の G 群のこのエネルギー (2.3 kcal/g) が先行研究の 1.7 kcal/g²⁰⁾、1.3 kcal/g²⁴⁾、2.1 kcal/g²⁵⁾ よりも高い値だったのは、生体内で体タンパク質の分解が活発になり、体重を増加させるために多くのタンパク質を合成する必要があったためと考えられる。また実験 2 の N 群の体重を 1 g 増加させるために消費されたエネルギー (2.8 kcal/g) も上記の先行研究の値より高い値だった。脂肪酸はグルコースやアミノ酸に変換されないため、消費されなかったものは中性脂肪となり FT に蓄積される。一方、炭水化物は消費しきれないほど摂取した場合に脂肪酸合成酵素の活性が高まることが報告されており^{3) 30)}、炭水化物から脂肪への de novo 合成¹⁶⁾が亢進する。このように中性脂肪が FT へ蓄積するときは中性脂肪の基質によって代謝過程が異なり、理論的には関与する代謝過程が多いほど蓄積のために消費されるエネルギーは多いと考えられる。帯川の研究²⁰⁾で体重を 1 g 増加させるために消費されたエネルギーは HF 群より N 群の方が多かったことは、この考え方を支持している。このように体重を 1 g 増加させるために消費されるエネルギーには $\Delta LT / \Delta BW$ 以外の要因も影響すると考えられるが、本研究での結果と先行研究での結果をまとめて考察することには意味があると考えた。

図 5 は本研究の結果とわれわれの研究室で行った先行研究の結果をまとめたものである。 $\Delta LT / \Delta BW$ が大きいほど SY が増加することが認められた。図 5 の回帰式から体重増加に占める LT の増加割合が 100% の場合の SY は 3.1 kcal と算出された。

LT のエネルギー密度は 1.25 kcal である。したがって LT を 1 g 増加させるためには蓄積させるエネルギーである 3.1 kcal との合計の 4.35 kcal が必要だと考えられる。1 か月で LT が 1 kg 増加する場合は、4,350 kcal/月（30 日）が必要なので、1 日当たりのエネルギー付加量は 145 kcal である。これは先行研究^{8) 18) 19)}の一日当たり 500~1,000 kcal と大きな乖離がある。LT を増加させるためにはレジスタンストレーニングが必須である。また、エネルギー摂取量を増やすと、基礎代謝や食事誘発性熱産生の増加などで EX が増加することが考えられる。付加したエネルギーがこれらに消費されていれば FT は増加しないと考えられる。しかし、これらの研究では FT が増加しているため、エネルギー摂取量が過剰だったと考えられる。

本研究の結果、 $\Delta LT/\Delta BW$ は G 群が 61%で最も少なく、T 群が 76%で最も多かったが、これらはこれまで観察された範囲内だった。本研究では $\Delta LT/\Delta BW$ と体重を 1 g 増加させるために消費されたエネルギーとは相関関係は認められなかったが、本研究の結果と先行研究の結果をまとめると、体重を増加させるために消費されたエネルギーは 3.1 kcal/g だった。

【謝辞】

研究に際してご指導くださった岡村浩嗣教授、浜田拓教授、前島悦子教授に深く感謝いたします。そして、本研究の遂行にあたりご協力くださいました、運動栄養学研究室の皆さまに深く御礼申し上げます。

【文献】

- 1) Bhasin S, Storer T W, Berman N, Callegari C, Clevenger B, Phillips J, Bunnell T J, Tricker R, Shirazi A and Casaburi R. (1996) The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. *N Engl J Med.*, 335:1-7
- 2) Borchers JR, Clem KL, Habash DL, Nagaraja HN, Stokley LM and Best TM. (2009) Metabolic syndrome and insulin resistance in Division 1 collegiate football players. *Med Sci Sports Exerc.*, 41:2105-10.
- 3) Dankel SN, Bjørndal B, Lindquist C, Grinna ML, Rossmann CR, Bohov P, Nygård O, Hallström S, Strand E and Berge RK. (2021) Hepatic energy metabolism underlying differential lipidomic response to high-carbohydrate and high-fat diets in male Wistar rats. *J Nutr.*, 151:2610-21
- 4) 出嶋靖志・一條優華・高坂宏一 (2001) 異なる判定方法による甘味識別閾値のマウス系統差および ICR 系マウスにおけるショ糖嗜好と閾値との関係. *日本栄養・食糧学会誌*, 54:331-7.
- 5) Feinstein HI. (1983) Average heat of combustion and available energy of carbohydrate, fat and protein. *Iowa Science Teachers Journal.*, 20:2-2
- 6) Folch J, Less M and Sloane Stanley G H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissue. *J Biol Chem.*, 226:497-509.
- 7) Forbes GB. (1985) The effect of anabolic steroids on lean body mass: the dose response curve. *Metabolism.*, 34:571-3.

- 8) Garthe I, Raastad T, Refsnes PE and Sundgot-Borgen J (2013) Effect of nutritional intervention on body composition and performance in elite athletes. *Eur J Sport Sci.*, 13:295-303
- 9) Hayashi K, Kayali A G and Tomita Y. (1992) Reduction of Corticosterone-Induced Growth Impairment by Testosterone and Its Mechanism. *Anim Sci Technol.*, 63:1001-8.
- 10) 井上春奈 (2017) ラットの体重増加時の身体組成の変化と体重増加のために必要なエネルギー. 大阪体育大学大学院スポーツ科学研究科 修士論文.
- 11) Kjeldahl J. (1883) Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Zeitschrift für analytische Chemie.*, 22:366-82
- 12) Krol E and Speakman JR. (1999) Isotope dilution spaces of mice injected simultaneously with deuterium, tritium and oxygen-18. *J Exp Biol.*, 202:2839-49.
- 13) 厚生労働省 (2020) 日本人の食事摂取基準 (2020 年度版) .
<https://www.mhlw.go.jp/content/10904750/000586556.pdf>, (参照日 2024 年 2 月 8 日)
- 14) Lim K, Murakami E, Lee S, Shimomura Y and Suzuki M. (1996) Effects of intermittent food restriction and refeeding on energy efficiency and body fat deposition in sedentary and exercised rats. *J Nutr Sci Vitaminol.*, 42:449-68.
- 15) Lo S, Russell J C and Taylor A W. (1970) Determination of glycogen in small tissue samples. *J Apple Physical.*, 28:234-6.

- 16) Marcelino H, Veyrat-Durebex C, Summermatter S, Sarafian D, Miles-Chan J, Arsenijevic D, Zani F, Montani JP, Seydoux J, Solinas G, Rohner-Jeanrenaud F and Dulloo AG. (2013) A role for adipose tissue de novo lipogenesis in glucose homeostasis during catch-up growth. *Diabetes.*, 62:362-72
- 17) Matsuo T. (2003) Effects of tower climbing exercise on muscle mass and hematological status in glucocorticoid-injected rats. *Tech Bull Fac Agr Kagawa Univ.*, 55:49-55.
- 18) Miyauchi S, Oshima S, Asaka M, Kawano H, Torii S and Higuchi M. (2013) Organ size increases with weight gain power-trained athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.*, 23:617-23.
- 19) 永澤貴昭・村田浩子・村岡慈歩・夏井裕明・田口素子 (2013) 競技者の増量に適した食事方法の検討. *日本臨床スポーツ医学会誌*, 21:422-430.
- 20) 帯川きよら (2022) 飼料の三大栄養素の比率が成長期ラットの体組成および成長のためのエネルギーに及ぼす影響. *大阪体育大学大学院スポーツ科学研究科 修士論文*.
- 21) 岡村浩嗣・前田めぐみ (2022) ラットにおける標準・高脂肪および高タンパク質飼料の代謝可能エネルギー. *大阪体育大学紀要*, 53:17-22.
- 22) Robert C. Andrews and Brian R.Walker. (1999) Glucocorticoids and insulin resistance:old hormones, new targets. *Clinical Science.*, 96:513-23
- 23) Selden MA, Helzberg JH, Waeckerle JF, Browne JE, Brewer JH, Monaco ME, Tang F, O'Keefe JH. (2009) Cardiometabolic abnormalities in current national football league players. *Am J Cardiol.*, 103:969-71.

- 24) 関口詞子 (2019) ラットの体重増加時の体組成の変化とエネルギー必要量との関係に対する運動の影響. 大阪体育大学大学院スポーツ科学研究科 修士論文.
- 25) 田井勇毅・長谷川尋之・近藤衣美・前田めぐみ・岡村浩嗣 (2018) 体重増加速度の違いが成長期ラットの身体組成に及ぼす影響. 日本スポーツ栄養研究誌, 11:41-50.
- 26) 高田和子 (2007) 摂取したエネルギーの体内での吸収と利用. 体力科学, 56:287-90.
- 27) 竹倉宏明・渡辺留美・春日規克・吉岡利忠 (1992) 外因性のテストステロン投与がトレーニングラット骨格筋の重量並びに機能的特性に及ぼす影響. 体育学研究, 36:337-48.
- 28) Terpstra A H. (2001) Differences between humans and mice in efficacy of the body fat lowering effect of conjugated linoleic acid: Role of metabolic rate. J Nutr., 131:2067-8
- 29) Tirapegui J, Ribeiro SM, Pires IS and Rogero MM. (2012) Effects of two different levels of dietary protein on body composition and protein nutritional status of growing rats. Nutrients., 4:1328-37.
- 30) Torres-Villalobos G, Hamdan-Pérez N, Tovar AR, Ordaz-Nava G, Martínez-Benítez B, Torre-Villalvazo I, Morán-Ramos S, Díaz-Villaseñor A, Noriega LG, Hiriart M, Medina-Santillán R, Castillo-Hernandez Mdel C, Méndez-Sánchez N, Uribe M and Torres N. (2015) Combined high-fat diet and sustained high sucrose consumption promotes NAFLD in a murine model. Ann Hepatol., 14:540-6
- 31) Virgen-Carrillo CA, Martínez Moreno AG, Rodríguez-Gudiño JJ and Pineda-Lozano JE. (2021) Feeding pattern, biochemical, anthropometric and histological effects of

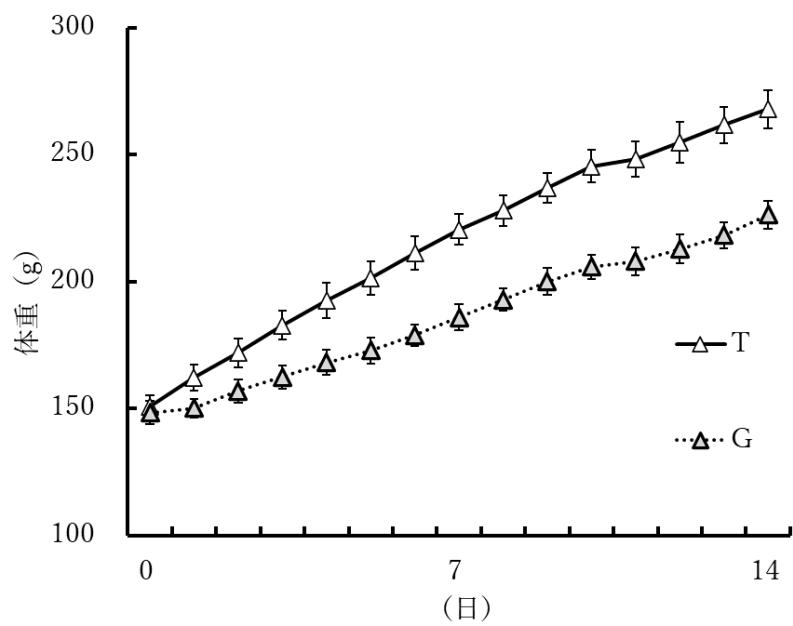
prolonged *ad libitum* access to sucrose, honey and glucose-fructose solutions in Wistar rats. Nutr Res Pract., 15:187-202

- 32) Wolden-Hanson T. (2010) Changes in body composition in response to challenges during aging in rats. Interdiscipl Top Gerontol., 37:64-83

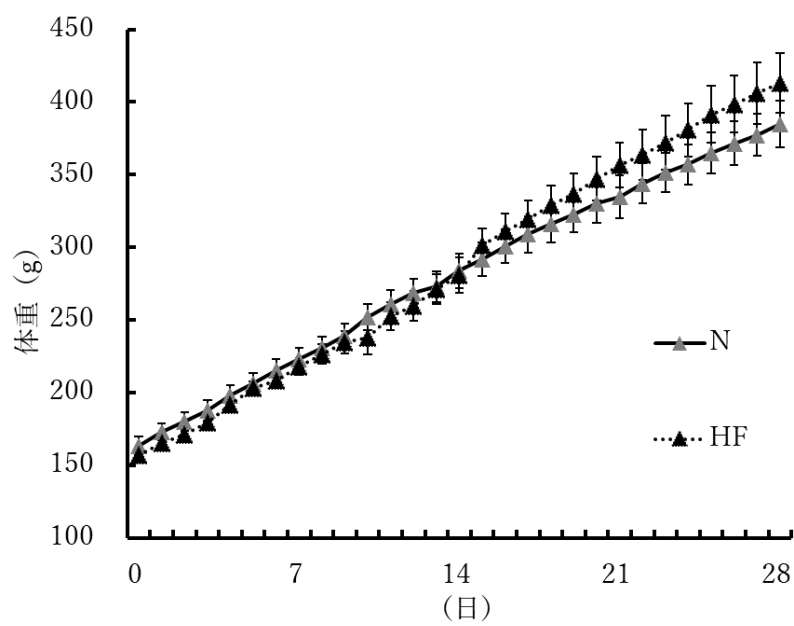
代謝可能 (ME)			
飼料由来 (ED) [*]		飲料由来 (EB) [*]	
蓄積 (ST)		消費 (EX)	
		合成 (SY)	維持 (MT)
除脂肪組織 (LT)	脂肪組織 (FT)		

*実験2のみ

図1 体重増加時の代謝可能エネルギーの理論的配分



実験 1



実験 2

図 2 実験期間中の体重の変化

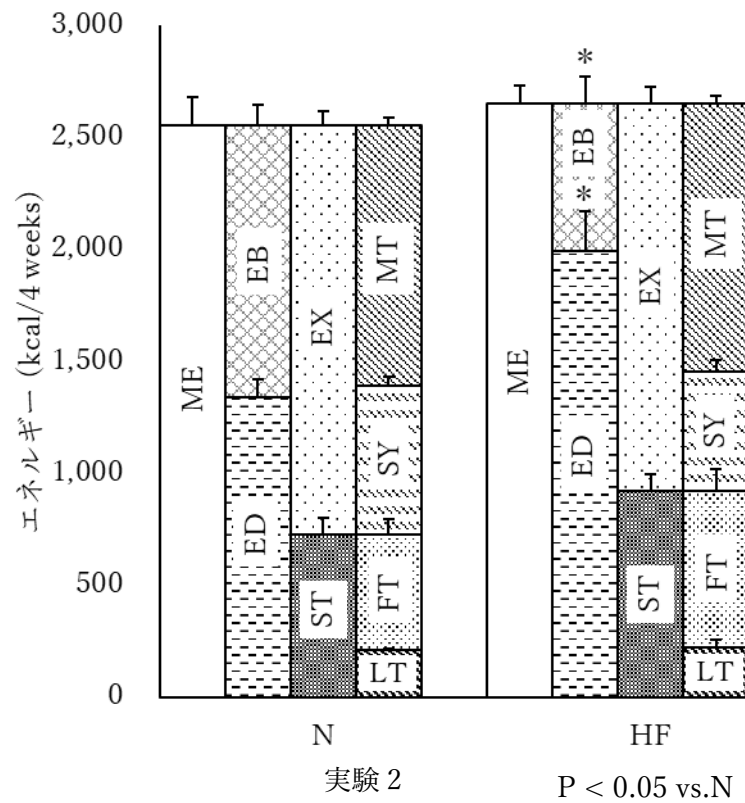
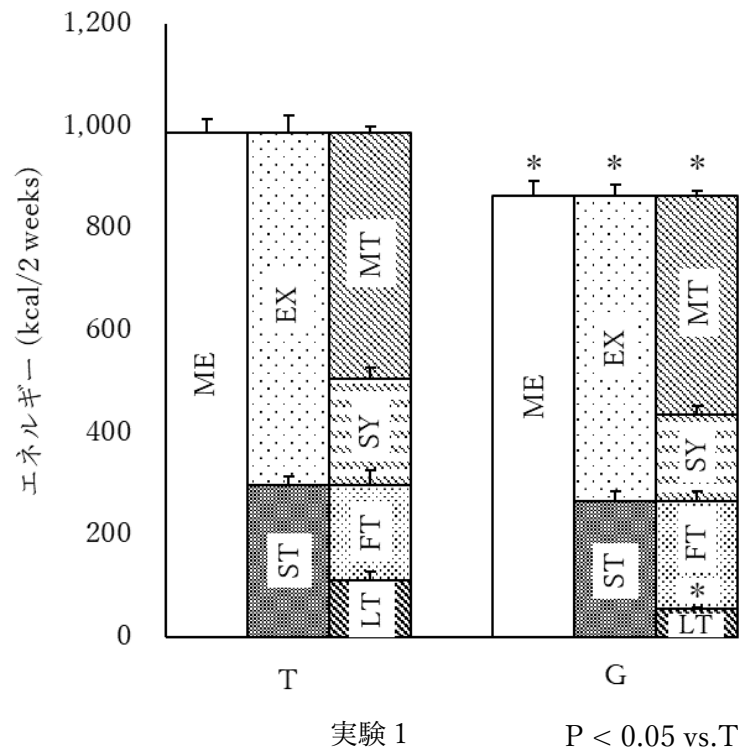


図3 エネルギー分布

ME, 代謝可能エネルギー; ED, 飼料からのエネルギー; EB, 飲料からのエネルギー;
ST, 蓄積エネルギー; EX, 消費エネルギー; LT, 除脂肪組織; FT, 脂肪組織; SY, 合成
エネルギー; MT, 維持エネルギー

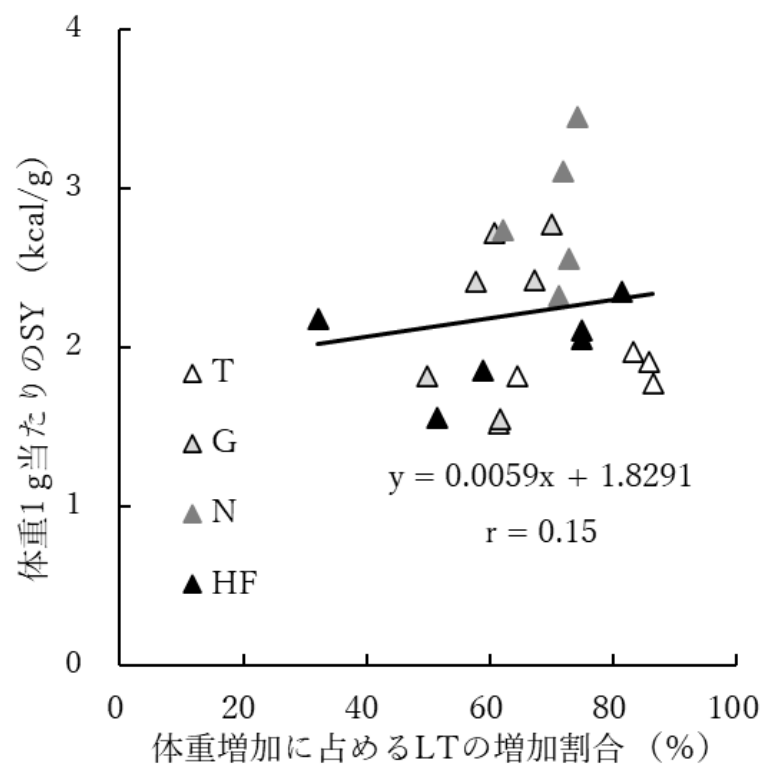


図4 体重増加に占める LT の増加割合と体重 1 g 当たりの SY との関係

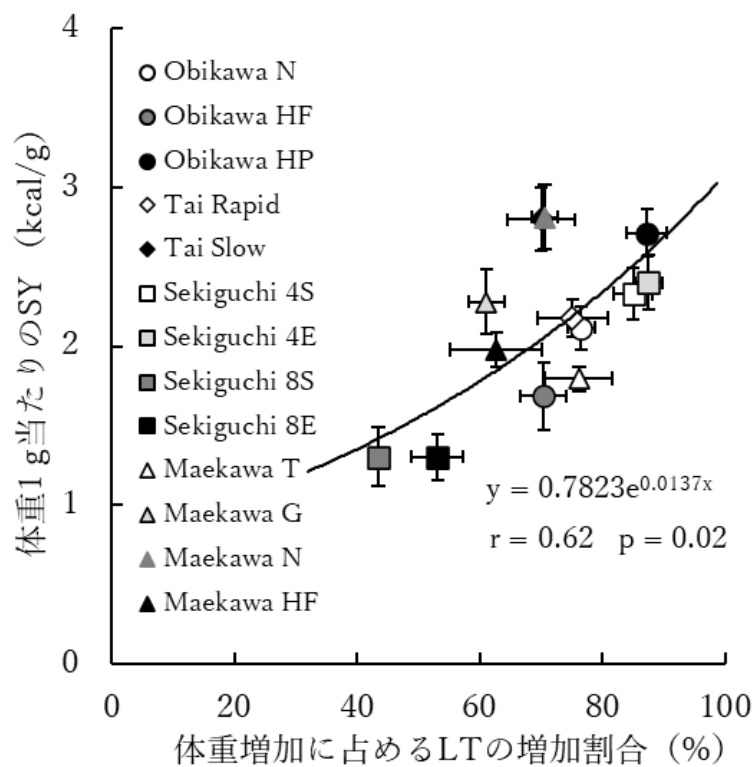


図5 体重増加に占める LT の増加割合と体重 1 g 当たりの SY との関係

○Obikawa N, 6 週齢 標準飼料; ●Obikawa HF, 6 週齢 高脂肪飼料; ●Obikawa HP, 6 週齢 高タンパク飼料; ◇Tai Rapid, 6 週齢 急速増量; ◆Tai Slow, 6 週齢 緩徐増量; □Sekiguchi 4S, 4 週齢 安静; □Sekiguchi 4E, 4 週齢 運動; ■Sekiguchi 8S, 8 週齢 安静; ■Sekiguchi 8E, 8 週齢 運動; △Maekawa T, 5 週齢 テストステロン; △Maekawa G, 5 週齢 グルココルチコイド; ▲Maekawa N, 6 週齢 標準飼料+シヨ糖溶液; ▲Maekawa HF, 6 週齢 高脂肪飼料+シヨ糖溶液

表 1 飼料組成

	N	HF
ミルクカゼイン (g/kg)		264
精製大豆油 (g/kg)		345.5
コーンスターチ (g/kg)		182.986
α -コーンスターチ (g/kg)		60
グラニュー糖 (g/kg)		46.5
結晶セルロース (g/kg)		50
AIN-93G ミネラルミックス (g/kg)		35
AIN-93 ビタミンミックス (g/kg)		10
L-シスチン (g/kg)		3
重酒石酸コリン (g/kg)		3
第三ブチルヒドロキノン (g/kg)		0.014
たんぱく質 (g/100g)	25.1	22.78
脂質 (g/100g)	4.51	35.12
炭水化物 (g/100g)	49.72	27.37
Bomb Calorimetryによる燃焼値 (kcal/100g)	421	588
代謝可能エネルギー (kcal/100g)	316	537

表 2 実験 1 のエネルギー産生栄養素摂取量

		T (n = 5)	G (n = 6)
重量 (g)	タンパク質	76.3 (2.0)	66.2 (2.2) *
	脂質	13.7 (0.4)	11.9 (0.4) *
	炭水化物	151.1 (4.0)	131.0 (4.4) *
エネルギー (kcal)	タンパク質	305.1 (8.1)	264.6 (8.8) *
	脂質	123.4 (3.3)	107.0 (3.6) *
	炭水化物	604.4 (16.1)	524.2 (17.5) *
	合計	1032.9 (27.5)	895.8 (29.9) *
mean (SE)			

* P < 0.05 vs. T群

エネルギーはタンパク質4 kcal/g、脂質9 kcal/g、炭水化物4 kcal/gを乗じて算出した。

表3 実験2のエネルギー産生栄養素摂取量

		N (n = 5)	HF (n = 6)	
重量 (g)	タンパク質	107.1 (6.6)	86.1 (7.4)	
	脂質	19.2 (1.2)	132.8 (11.4)	**
	炭水化物	523.7 (27.6)	273.3 (24.4)	**
	—飼料由来	212.1 (13.1)	103.5 (8.9)	**
	—シヨ糖溶液由来	311.6 (22.8)	169.8 (32.0)	**
エネルギー (kcal)	タンパク質	428.2 (26.5)	344.5 (29.5)	
	脂質	173.1 (10.7)	1195.1 (102.5)	**
	炭水化物	2094.6 (110.6)	1080.2 (95.7)	**
	—飼料由来	848.3 (52.5)	413.9 (35.5)	**
	—シヨ糖溶液由来	1246.3 (91.0)	666.3 (126.5)	**
	合計	2696.0 (135.5)	2619.9 (76.0)	
mean (SE)				** P < 0.05 vs. N群

エネルギーはタンパク質4 kcal/g、脂質9 kcal/g、炭水化物4 kcal/gを乗じて算出した。

表 4 実験 1 の解剖結果 (g)

		T (n = 5)	G (n = 6)	
内臓	心臓	0.77 (0.04)	0.63 (0.01)	*
	肝臓	11.08 (0.41)	9.77 (0.42)	
	腎臓	2.57 (0.05)	2.03 (0.08)	*
	副腎	0.027 (0.002)	0.011 (0.001)	*
	脾臓	0.54 (0.02)	0.38 (0.02)	*
	膵臓	1.61 (0.04)	0.90 (0.04)	*
	消化管	5.40 (0.16)	4.58 (0.21)	*
	睾丸	2.31 (0.02)	2.40 (0.10)	
骨格筋	長母趾屈筋	0.73 (0.03)	0.55 (0.02)	*
	ヒラメ筋	0.17 (0.01)	0.13 (0.00)	*
	腓腹筋	2.66 (0.12)	2.13 (0.09)	*
	足底筋	0.51 (0.02)	0.39 (0.01)	*
脂肪組織	腎周囲脂肪	0.26 (0.04)	0.17 (0.03)	
	後腹壁	0.66 (0.05)	0.51 (0.08)	
	生殖器周囲	1.63 (0.20)	1.33 (0.12)	
	腸間膜	1.67 (0.22)	1.10 (0.15)	
	皮	43.8 (1.7)	34.3 (0.9)	*
	屠体	154.9 (4.4)	130.5 (3.3)	*
mean (SE)				* P < 0.05 vs. T群

表 5 実験 1 の体重 100 g 当たりの解剖結果 (g)

		T (n = 5)	G (n = 6)
内臓	心臓	0.31 (0.01)	0.31 (0.01)
	肝臓	4.42 (0.11)	4.70 (0.14)
	腎臓	1.03 (0.03)	0.98 (0.04)
	副腎	0.011 (0.001)	0.005 (0.000) *
	脾臓	0.22 (0.01)	0.18 (0.01) *
	膵臓	0.64 (0.02)	0.43 (0.02) *
	消化管	2.16 (0.07)	2.21 (0.10)
	睪丸	0.92 (0.02)	1.16 (0.04) *
骨格筋	長母趾屈筋	0.29 (0.01)	0.26 (0.01)
	ヒラメ筋	0.07 (0.00)	0.06 (0.00)
	腓腹筋	1.06 (0.03)	1.02 (0.03)
	足底筋	0.20 (0.00)	0.19 (0.00) *
脂肪組織	腎周囲脂肪	0.10 (0.01)	0.08 (0.01)
	後腹壁	0.26 (0.01)	0.24 (0.04)
	生殖器周囲	0.64 (0.07)	0.64 (0.05)
	腸間膜	0.66 (0.08)	0.53 (0.07)
	皮	17.4 (0.2)	16.5 (0.3)
	屠体	61.8 (0.4)	63.0 (0.5)
mean (SE)			* P < 0.05 vs. T群

表 6 実験 2 の解剖結果 (g)

		N (n = 5)	HF (n = 6)	
内臓	心臓	0.97 (0.05)	0.95 (0.04)	
	肝臓	15.84 (1.15)	18.03 (0.90)	
	腎臓	2.54 (0.09)	2.73 (0.11)	
	副腎	0.025 (0.002)	0.025 (0.002)	
	脾臓	1.11 (0.18)	1.12 (0.05)	
	膵臓	0.78 (0.07)	0.74 (0.06)	
	消化管	6.87 (0.19)	6.88 (0.36)	
骨格筋	長母趾屈筋	1.03 (0.04)	0.86 (0.17)	
	ヒラメ筋	0.23 (0.01)	0.22 (0.01)	
	腓腹筋	3.68 (0.12)	3.74 (0.21)	
	足底筋	0.68 (0.05)	0.66 (0.04)	
脂肪組織	腎周囲脂肪	1.11 (0.16)	1.71 (0.16)	**
	後腹壁	4.37 (0.61)	7.37 (0.40)	**
	生殖器周囲	4.03 (0.26)	6.21 (0.93)	
	腸間膜	4.98 (0.70)	7.19 (0.52)	**
	皮	68.9 (4.6)	83.2 (5.6)	
	屠体	222.8 (6.9)	234.8 (11.1)	
mean (SE)				** P < 0.05 vs. N群

表 7 実験 2 の体重 100 g 当たりの解剖結果 (g)

		N (n = 5)	HF (n = 6)	
内臓	心臓	0.26 (0.01)	0.24 (0.00)	**
	肝臓	4.29 (0.20)	4.50 (0.11)	
	腎臓	0.69 (0.02)	0.68 (0.02)	
	副腎	0.007 (0.001)	0.006 (0.000)	
	脾臓	0.30 (0.05)	0.28 (0.01)	
	膵臓	0.21 (0.01)	0.18 (0.01)	
	消化管	1.87 (0.06)	1.73 (0.11)	
骨格筋	長母趾屈筋	0.28 (0.01)	0.21 (0.04)	
	ヒラメ筋	0.06 (0.00)	0.06 (0.00)	
	腓腹筋	1.00 (0.03)	0.93 (0.02)	
	足底筋	0.19 (0.01)	0.16 (0.00)	
脂肪組織	腎周囲脂肪	0.30 (0.04)	0.43 (0.04)	**
	後腹壁	1.10 (0.06)	1.52 (0.21)	
	生殖器周囲	1.18 (0.14)	1.84 (0.07)	**
	腸間膜	1.33 (0.13)	1.82 (0.18)	
	皮	18.7 (0.5)	20.6 (0.5)	**
屠体		60.7 (1.1)	58.5 (0.6)	
mean (SE)				** P < 0.05 vs. N群

表 8 実験 1 の生化学分析による全身の水分、タンパク質、脂質、グリコーゲン

		T (n = 5)	G (n = 6)
重量 (g)	水分	154.7 (4.4)	129.3 (3.0) *
	タンパク質	49.4 (1.5)	41.7 (1.2) *
	総脂質	15.7 (0.7)	11.1 (0.9) *
	グリコーゲン	0.11 (0.01)	0.09 (0.01) *
エネルギー (kcal)	タンパク質	281.7 (8.7)	237.9 (7.0) *
	総脂質	148.0 (6.5)	104.8 (8.0) *
	グリコーゲン	0.44 (0.02)	0.36 (0.02) *
	合計	430.1 (14.7)	343.1 (12.2) *
mean (SE)			

* P < 0.05 vs. T群
 エネルギーはタンパク質5.7 kcal/g、脂質9.4 kcal/g、グリコーゲン4.1 kcal/gを乗じて算出した。

表9 実験2の生化学分析による全身の水分、タンパク質、脂質、グリコーゲン

		N (n = 5)	HF (n = 6)
重量 (g)	水分	216.2 (8.0)	218.6 (11.3)
	タンパク質	64.4 (3.8)	69.5 (3.5)
	総脂質	43.1 (3.0)	65.6 (4.7) **
	グリコーゲン	0.23 (0.02)	0.21 (0.04)
エネルギー (kcal)	タンパク質	366.9 (21.7)	396.3 (20.1)
	総脂質	405.1 (28.3)	616.2 (44.2) **
	グリコーゲン	0.92 (0.08)	0.85 (0.14)
	合計	773.0 (48.3)	1013.3 (58.1) **
mean (SE)			** P < 0.05 vs. N群

エネルギーはタンパク質5.7 kcal/g、脂質9.4 kcal/g、グリコーゲン4.1 kcal/gを乗じて算出した。