

## ラットの自発ランニング運動の日内リズム におよぼす摂食様式の影響

鈴木正成 橋場直彦\* 菅野住子

### Effect of Various Feeding Patterns on Circadian Rhythm of Voluntary Running Activity in Rats

Masashige SUZUKI, Naohiko HASHIBA and Sumiko KANNO

Effect of various feeding patterns on circadian rhythm of voluntary running activity was studied in Sprague-Dawley rats. Animals were fed ad libitum, meal-fed once a day at 07-09, 13-15, 19-21, or 01-03 hours (MF-1), or meal-fed twice a day at 08-09 and 21-22 hours (MF-2). Rats were housed in cage with wheel, and the room light was on from 07 to 19 hours. Amounts and circadian rhythm of voluntary running activity, food intake, and body weight were measured in each experiment. The results were as follows;

- 1) In ad libitum-fed rats, there found peaks of food intake at 21-23 hours and 05-07 hours and these were consistent with the peaks obtained in the circadian rhythm of voluntary running activity.
- 2) MF-1 rats consumed only a half amount of food as compared with ad libitum-fed rats. Voluntary running activity was increased 4-times from ad libitum-fed rats, but its circadian rhythm was similar to that obtained in ad libitum-fed rats.
- 3) MF-2 rats consumed the same amount of food at each meal time and total consumption per day was equal to that of ad libitum-fed rats. Voluntary running activity was increased 4-times from ad libitum-fed rats and its circadian rhythm was bi-phase pattern showing high peak levels before and after the meal times.
- 4) In MF-2 rats whose voluntary running activity was restricted from 08 to 22 hours, no alteration was observed in either amounts or circadian rhythm of voluntary running activity. However, in MF-2 rats whose voluntary running activity was restricted during dark period from 21 to 09 hours, the amounts of voluntary running activity reduced to 80% from those obtained before the restriction, and 54% of daily activity was performed between 19 hours and 21 hours.
- 5) When two diets (basal and 35% sucrose diets) were alternately provided at different timing to two groups of MF-2 rats and voluntary running activity was restricted from 08 to 22 hours, the rats consumed more sucrose diet than basal diet, but consumption per day was similar to that of ad libitum-fed rats. The rate of body weight loss after the sucrose meal was significantly different between the groups, suggesting the different nutritional consequence of sucrose meal in two ani-

---

\* 筑波大学研究生

mal groups.

These results indicate that feeding pattern strongly affects voluntary running activity and its circadian rhythm of rats. It is also suggested that the regulation of both feeding pattern and voluntary running activity in animal experiments may be effective to investigate nutritional consequence of nutrients or foods in relation to their ingestion timing.

ラットを用いた栄養実験に運動条件を取り入れる場合、トレッドミル・ランニングや遊泳運動などの強制運動の他に、これらよりストレスが少ないと言われる回転カゴ付ケージを用いた自発ランニング運動が用いられている<sup>21)</sup>この自発ランニング運動はラットの夜行性を反映して、暗期に運動量が上昇し明期には低下するという著明な日内リズムを示すことが報告されている<sup>3)</sup>

日内リズムの発現は、視交叉上核付近にあると考えられている外因性リズムの発生部位から信号が出され、光刺激や温度変化などの周期的に変動する外部環境因子を外因性リズムとして、ほぼ24時間周期となるように調節されている<sup>6)</sup>自発ランニング運動の他に、摂食や飲水のような行動<sup>2)</sup><sup>20)</sup>に加えて、体内の種々の酵素活性<sup>3)</sup>代謝産物<sup>4)</sup><sup>5)</sup><sup>8)</sup>ホルモン<sup>9)</sup>等の生化学的項目や神経系の作用<sup>1)</sup><sup>14)</sup>にも日内リズムの存在することが明らかにされている。

摂食様式は生体内物質代謝の日内リズムを支配する主要な外的刺激であることが知られている。著者らもラットの脂肪組織の脂肪分解能の日内リズムが、ad libitum-feeding に対して1日1回2時間の meal-feeding によって変動することを報告した<sup>22)</sup>摂食様式がラットの自発運動量に影響をおよぼすことは既に報告されているが<sup>1)</sup><sup>17)</sup>運動の日内リズムに対する影響についてはほとんど検討されていない。

ヒトの生活が食事-活動-休息のリズムを基本に成り立っていることに基づき、ヒトの栄養問題をラットなどの実験動物を用いて追求していくには、これら実験動物の飼育条件にも上記の生活リズムをとり入れることが必要と考えられる。このような意味で、摂食様式が実験動物の運動の日内リズムに対する影響を検討することは意義のあることと言える。

本研究では、ラットを用いて回転カゴ付ケージによる自発ランニング運動の日内リズムが、摂食様式の違いによりどのように変動するかを検討した。

## 実験方法

### 1. 自発ランニング運動用回転カゴ付ケージ

ラットの自発ランニング運動のために、給餌器と給水瓶を取りつけた13×15×40cmのステンレス製金網ケージの側面に、幅10cm、周囲116cmのステンレス製車輪型回転カゴを取りつけたケージを用いた。回転カゴとケージの間には8×8cmの出入り口があり、仕切り板で閉じた時以外はラットは自由に往来ができる。回転カゴの回転数をマイクロスイッチによって別室のデジタルカウンターに導き、ここに表示されたカウント数をカメラで1時間毎に自動撮影し、自発ランニング運動の日内リズムと1日の総運動量を測定した。

### 2. 自動給餌装置<sup>21)</sup>

Meal-feeding 実験では、鈴木らが開発した自動給餌装置(インターバル・フィーディング・システム、日本クレア株式会社)を用いて給餌した。

### 3. 実験動物および食餌

全ての実験にJCL-SD系ラットを用いた。週令、性別、初体重はそれぞれの実験ごとに述べる。食餌は市販粉末飼料(CE-7、日本クレア株式会社)を基本食とし、これに35%蔗糖を添加したものを蔗糖食として用いた。水は常に自由に飲水できるようにした。飼育室は07-19時を明期とした。

実験I: 24時間自由食におけるラットの自発ランニング運動の日内リズム

5週令の雄ラットを5匹用いた。初体重は120.4±1.8g(mean±SE)であった。基本食を24時間自由摂食させた。5日間普通ケージで飼育した後、個別に回転カゴ付ケージに移して飼育した。3日

間の慣らしの後、6週令から7週令にかけての12日間を実験期間とした。1日目から4日目まで(6週令)と9日目から12日目まで(7週令)のそれぞれ3日間に、毎日の摂食量、体重、自発ランニング運動量とその日内リズムを測定した。5日目と8日目に摂食量の日内リズムを2時間単位で測定した。

実験Ⅱ：タイミングの異なる1日1食制の meal-feeding におけるラットの自発ランニング運動の日内リズム

4週令(体重 $77.5 \pm 3.2$ g)の雄ラット10匹を用い、3日間普通ケージによる飼育の後、1日1食制 meal-feeding を始めた。体重の平均値が同じになるように5匹ずつ2群に区分けし、一方には07-09時に、他方には19-21時に1日1回だけ自由に摂食できる時間帯を設定し個別飼育した(07-09時群および19-21時群)。さらにこれとは時期を別にして5週令(体重 $123.2 \pm 3.9$ g)の雄ラット8匹を用い、同様に4匹ずつ2群に区分けして、このうちの一方には13-15時に、他方には01-03時に同様に meal-feeding した(13-15時群および01-03時群)。全群を6週令から回転カゴ付ケージに移し、7-9週令を実験期間とした。それぞれの週令において連続した3日間に、摂食量、体重、自発ランニング運動量とその日内リズムを測定した。

実験Ⅲ：1日2食制の meal-feeding におけるラットの自発ランニング運動の日内リズム

実験Ⅰの24時間自由食条件で得られた結果から、摂食の日内リズムに2相性パターンが認められたので、1日2食制の摂食様式と自発ランニング運動の日内リズムの関係について検討した。すなわち、08-09時と21-22時の1日2回、それぞれ1時間ずつ基本食を自由摂食する給餌条件を設定した。4週令(体重 $80.2 \pm 1.2$ g)の雄ラット5匹を用い、初めの1週間は普通ケージで飼育し、基本食を24時間自由摂食させた。5週令から2食制 meal-feeding を開始し、6週令から11週令まで回転カゴ付ケージで飼育した。5週令より各食餌の摂食量と体重を、6週令からはさらに自発ランニング運動量とその日内リズムを測定した。

実験Ⅳ：1日2食制下に明期の運動を規制したときのラットの自発ランニング運動の日内リズム

実験Ⅲと同様に基本食を用いて4週令(体重 $79.2 \pm 1.2$ g)の雄ラット5匹を予備飼育した。5週令から実験Ⅲと同様に1日2食制(08-09時と21-22時)で基本食を meal-feeding し、6週令から回転カゴ付ケージで飼育した。9-11週令の2週間は08-22時の間仕切り板を入れて、この間自発ランニング運動を規制した。実験Ⅲと同様の項目について測定した。

実験Ⅴ：1日2食制下に暗期の運動を規制したときのラットの自発ランニング運動の日内リズム

基本食を用いて24時間自由食下に飼育された20週令(体重 $248.4 \pm 7.8$ g)の雌ラット5匹を実験ⅢおよびⅣと同様に1日2食制 meal-feeding のもとに回転カゴ付ケージで飼育した。25日間の実験期間のうち最後の10日間は、実験Ⅳとは逆に21-09時の間回転カゴへの出入りを禁じて自発ランニング運動を規制した。体重と自発ランニング運動量とその日内リズムを測定した。

実験Ⅵ：1日2食制下に2種類の食餌を交互に給餌し明期の運動を規制したときのラットの自発ランニング運動の日内リズム

3週令(体重 $47.1 \pm 0.5$ g)の雄ラット20匹を回転カゴ付ケージに直ちに投入し、1週間基本食を24時間自由摂食させた後、4週令から1日2食制(08-09時と21-22時)で基本食を meal-feeding した。6週令時に体重の平均値に差がないように10匹ずつ2群に区分けした。一方には08-09時食で基本食に蔗糖を35%添加した蔗糖食を与え、21-22時食で基本食を与え(I群)、他方には08-09時食に基本食を、21-22時食に蔗糖食を与えた(II群)。16週令までの10週間にわたって各食餌の摂食量、体重そして自発ランニング運動の量とその日内リズムを測定した。また、14週令時に3日間インターバルを置いて2回、体重を2時間ごとに測定して体重変動の日内リズムを調べた。

## 実験結果

実験Ⅰ：24時間自由食におけるラットの自発ラ

ランニング運動の日内リズム

1日あたりの摂食量、体重増加量および自発ランニング運動量は Table 1 に、また、摂食および自発ランニング運動の日内リズムは Fig. 1 に示された通りである。摂食量は21-23時と05-07時に、また自発ランニング運動は21-01時と06-08時にそれぞれピークを示し、両者ともに暗期初期の数時間と暗期終期にピークを持つ2相性の日内リズムを示した。18-19時および12-13時に見られる自発ランニング運動のピークは、この時間に飼育室内で動物の管理作業を行なった刺激によってもたらされたものと考えられる。

Table 1. Food intake, body weight gain, and voluntary running activity in ad libitum-fed rats (Experiment I).

	Age, week	
	6	7
Food intake, g/day	25.8 ± 0.2	28.5 ± 0.8
Body weight gain, g/day	7.9 ± 0.4	8.3 ± 0.7
Voluntary running activity, km/day	2.1 ± 0.4	2.5 ± 0.6

Values are mean ± SE of 5 rats.

Every item was measured for 3 days in each week of age.

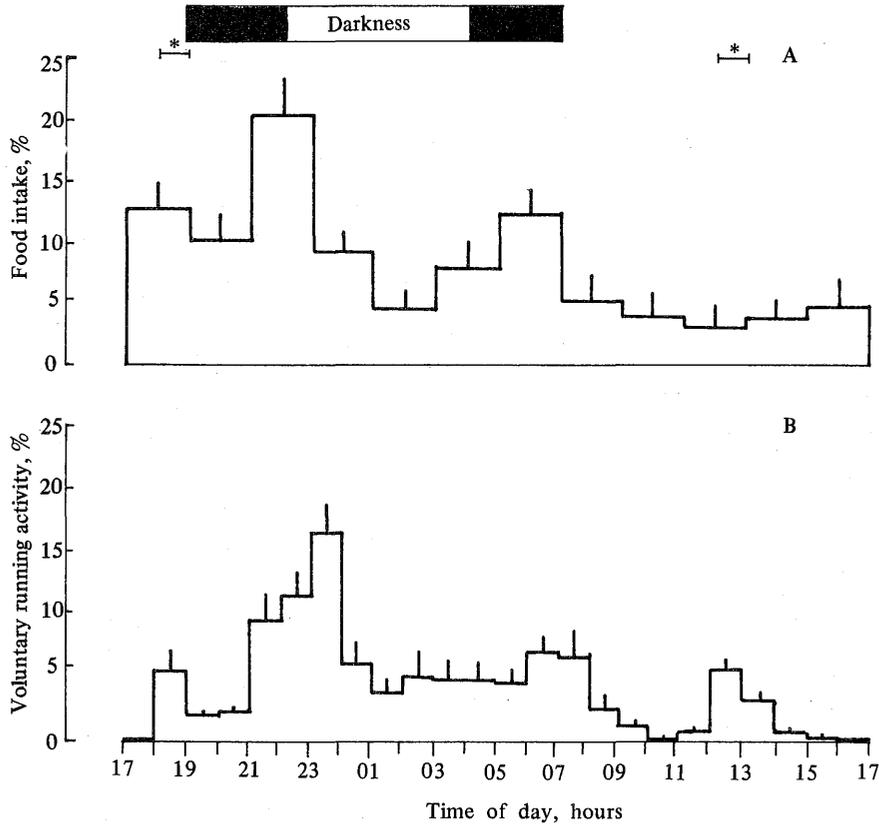


Fig. 1 Circadian rhythm of food intake (A) and voluntary running activity (B) in ad libitum-fed rats at 6 to 7 weeks of age (Experiment I). Data are mean and SE of 5 rats.

\* Time of animal care.

実験Ⅱ：タイミングの異なる1日1食制の meal-feeding におけるラットの自発ランニング運動の日内リズム

1日あたりの摂食量、体重増加量および自発ランニング運動量は Table 2 に、また、自発ランニング運動の日内リズムは Fig. 2 に示された通りである。摂食量は、24時間自由食群（実験Ⅰ；Table 1）のそれにくらべて約半分であった。自発ランニング運動は、全群とも暗期初期および終期にピークを持つ2相性パターンを示し、13-15時群は暗期終期のピークが摂食開始時刻（13時）までずれ込んでいるのが認められる（Fig. 2-B）。1日あたりの自発ランニング運動量は、24時間自由食群（実験Ⅰ；Table 1）のそれにくらべて著明に大きかった。また、01-03時群の1日あたりの運動量は、他の3群にくらべて著しく大きかった（Table 2）。

実験Ⅲ：1日2食制 meal-feeding におけるラットの自発ランニング運動の日内リズム

24時間自由食群（実験Ⅰ）のラットについて、摂食に2相性の日内リズムが認められたので（Fig. 1-A）、それらのピーク時間帯に摂食時間を設けた1日2食制の摂食様式が、ラットの生活リズムに比較的合致する meal-feeding 条件と思われる。そこで、08-09時と21-22時のそれぞれ1時間づつ1日2回 meal-feeding したが、その結果は Fig. 3-A に示した通りである。自発ランニング運動量は、24時間自由食群（実験Ⅰ）のそれにく

らべて非常に大きく、6週令では  $6.5 \pm 1.9$  km/day、7週令では  $12.3 \pm 2.3$  km/day の運動量を示し、10週令時には  $18.1 \pm 1.3$  km/day であった。摂食量は徐々に増加し、7週令時には  $22.1 \pm 0.5$  g/day と、24時間自由食群のそれ（ $28.5 \pm 0.8$  g/day、Table 1）よりも少ないが、10週令時には  $27.8 \pm 0.4$  g/day であった。また、08-09時と21-22時の1日2回の食餌の摂食量は、実験期間中はほぼ1:1の比率にあった。

自発ランニング運動の日内リズムは、2回の摂食時間帯を中心に2相性を示した（Fig. 4-A, B）。特に各食餌前の2-3時間に高い運動量が認められた。Meal-feeding への適応が進んだと思われる9-10週令においては、23-03時にも高い運動量が認められ、明期の運動量が著しく低下した（Fig. 4-B）。

実験Ⅳ：1日2食制下に明期の運動を規制したときのラットの自発ランニング運動の日内リズム

摂食量は実験Ⅲと同様の変動を示し、1日2回の各々の食餌の摂食量はほぼ1:1の比率にあった。9週令以降は自発ランニング運動を08-22時の間規制したため、運動量は停滞し、体重増加は実験Ⅲにくらべてやや大きかった（Fig. 3-B）。自発ランニング運動を規制された場合でも、22-08時の10時間における運動量は、運動時間帯を規制される以前と同程度にあった。運動時間帯を規制した場合の自発ランニング運動の日内リズムは

Table 2. Food intake, body weight gain, and voluntary running activity in rats meal-fed once a day (Experiment II)<sup>a</sup>

	Group			
	07-09 (5)	13-15 (4)	19-21 (5)	01-03 (4)
Food intake, g/day	$13.0 \pm 0.4$	$13.7 \pm 0.5$	$10.6 \pm 0.3$	$13.3 \pm 0.8$
Body weight gain, g/day	$3.5 \pm 1.1$	$1.0 \pm 0.9$	$2.6 \pm 1.9$	$-0.8 \pm 1.6$
Voluntary running activity, km/day	$9.3 \pm 0.5$	$9.1 \pm 0.8$	$9.2 \pm 0.6$	$15.2 \pm 1.1$

Values are mean  $\pm$  SE. Numbers of rats are in parentheses.

a: 7 to 9 weeks of age.

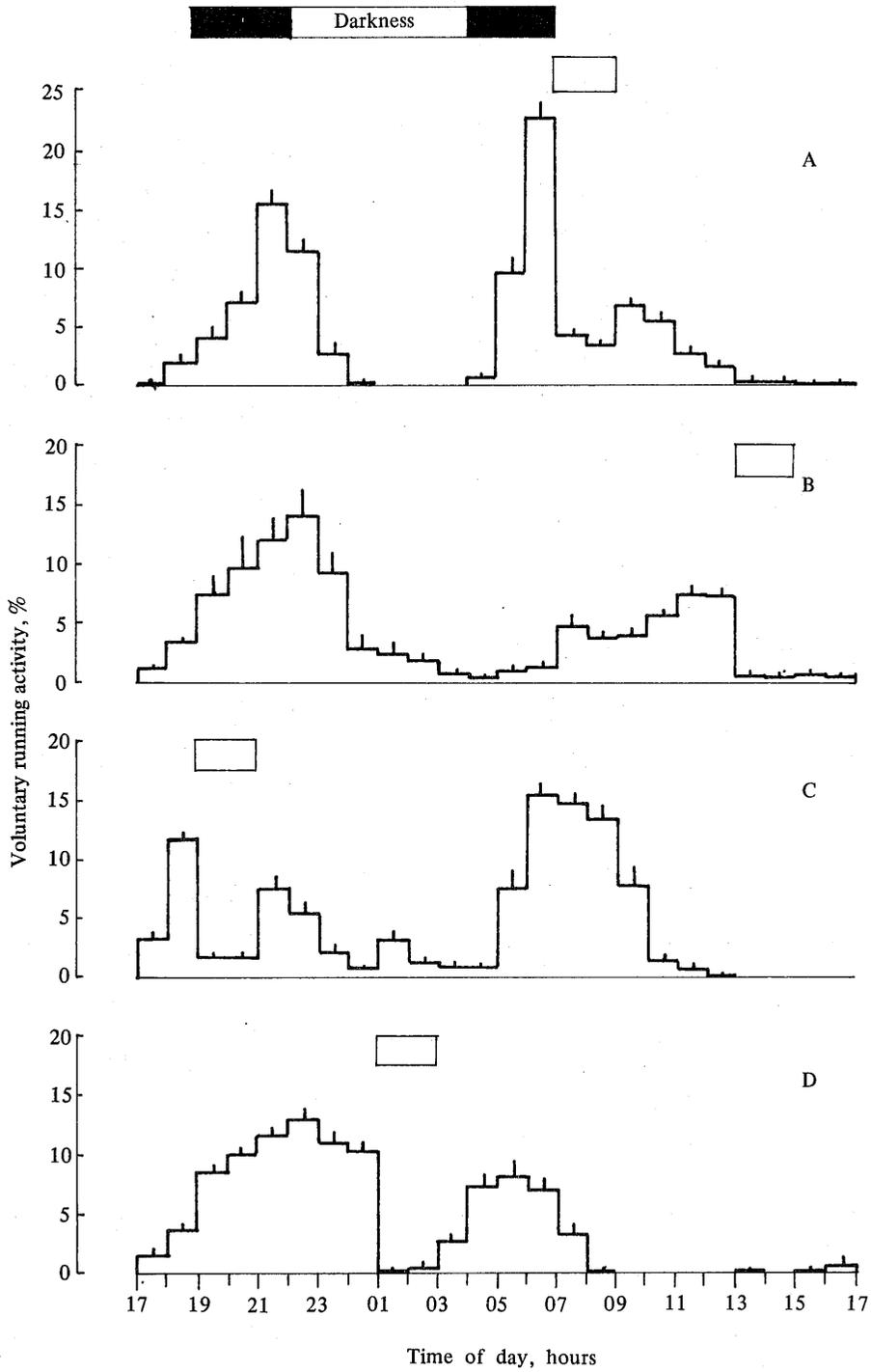


Fig. 2 Circadian rhythm of voluntary running activity in rats meal-fed once a day (Experiment II). Values are mean and SE of 4 to 5 rats. A: 07-09 group, B: 13-15 group, C: 19-21 group, and D: 01-03 group.  : Meal time

Fig. 4-Dに示されている。21-22時食後と08-09時食前に運動のピークが認められ、03-06時の間は運動が低下した。しかし、基本的には運動を規制しない場合と同様の2相性日内リズムであった (Fig. 4-C, D)。

実験V：1日2食制下に暗期の運動を規制したときのラットの自発ランニング運動の日内リズム

ラットの活動性の高い暗期(21-09時)に運動を規制した前後の期間の自発ランニング運動の日内リズムは Fig. 5 に示された通りである。運動を規制する以前は、摂食時間前後と01-04時の間に高い運動量を示していた (Fig. 5-A)。しかし、21-09時の間運動を規制した期間には、21-22時食前と08-09時食後に運動量が大きくなり、19-21時の間の運動量は1日総運動量の54%を占めており、10-17時の間にもかなり運動していることが認められた (Fig. 5-B)。体重は meal-feeding を始めてから10日間に、meal-feeding 開始前の体重  $248.4 \pm 7.8\text{g}$  から  $199.8 \pm 10.9\text{g}$  に減少し、その後ゆるやかに上昇した。運動を規制する以前の自発ランニング運動量は1日あたり  $9.4 \pm 1.2\text{km}$  であったのが、規制後は  $7.2 \pm 0.7\text{km}$  と約20%減少した。09-21時の間の運動量は、運動規制前は  $1.9 \pm 0.3\text{km}$  であったが、運動規制後のこの時間帯の運動量は規制前の約4倍に増加した。

実験VI：1日2食制下に2種類の食餌を交互に給餌し明期の運動を規制したときのラットの自発ランニング運動の日内リズム  
4週令から始めた基本食による2食制 meal-feeding における各食餌の摂食量は、08-09時食で  $5.6 \pm 0.2\text{g}$ 、21-22時食で  $5.7 \pm 0.2\text{g}$  であり、5週令ではそれぞれ  $9.0 \pm 0.2\text{g}$ 、 $8.7 \pm 0.2\text{g}$  であった。両食餌の摂食量の比率は、実験III、IVと同様に1:1となっている (Fig. 3)。ところが、1日2回の食餌の一方を蔗糖食に変えた6週令から16週令の間は、いずれの群も基本食より蔗糖食を多量に摂食していた (Table 3)。すなわち、08-09時食に蔗糖食を与えたI群のラットは、10週令の総摂食量に対し65%をこの食餌より摂食し、21-22時食に蔗糖食を与えたII群のラットは63%をこの食餌より摂食した。実験期間中の体重増加

量および自発ランニング運動量は Table 3 に示されている。

Table 3. Food intake, body weight, and voluntary running activity in rats meal-fed on basal and sucrose diets alternately (Experiment VI).

	Group I	Group II
Food intake		
	g/10 weeks	
08-09 hrs.	$1094.3 \pm 32.3$ (Sucrose diet)	$618.4 \pm 19.3$ (Basal diet)
21-22 hrs.	$585.1 \pm 27.3$ (Basal diet)	$1056.8 \pm 21.1$ (Sucrose diet)
Total	$1679.4 \pm 28.1$	$1675.2 \pm 24.5$
Body weight		
	g	
Initial	$47.1 \pm 0.5$	
6 weeks of age	$129.6 \pm 6.3$	$129.7 \pm 7.9$
16 weeks of age	$409.2 \pm 11.3$	$410.1 \pm 15.5$
Gain from 6 to 16 weeks of age	$280.4 \pm 12.6$	$279.6 \pm 10.5$
Voluntary running activity		
	km/10 weeks	
	$438.7 \pm 53.9$	$454.7 \pm 67.0$

Values are mean  $\pm$  SE of 10 rats for each group.

Group I and II were daily fed with a sucrose diet at 08-09 hrs. and 21-22 hrs., respectively, and a basal diet was given at 21-22 hrs. to Group I and at 08-09 hrs. to Group II.

各週令における自発ランニング運動量、体重変動、そして1日あたりの摂食量は Fig. 6 に示されている。自発ランニング運動量は5週令から11週令までは1日あたり7-9kmを示し、12週令から著明に低下し、15週令では1日あたり3kmであった。高い運動量を示した6-10週令の間は、摂食量が増加したにもかかわらず体重増加は徐々にゆるやかになった。その後運動量が低下したが、摂食量も低下したので体重増加には変化がなかった (Fig. 6)。

自発ランニング運動の日内リズムは、両群とも22-01時と06-08時にピークを示し、03-05時に低下していた (Fig. 7)。21-22時食で多量の蔗糖食を摂食するII群は、I群にくらべて22-03時の運動量が大きい傾向にあった。

14週令時に測定した体重変動の日内リズムはFig. 8に示されている。08-09時食に多量の蔗糖食を摂食したI群は、この時間の体重増加がII群より大きい。21-22時の体重増加量はこの時間に多量に蔗糖食を摂食したII群でより大きくなっ

ており、結局24時間の体重増加量は両群とも同程度であった。各群の蔗糖食摂食後の10時間における体重減少量は、I群では $7.9 \pm 0.6$ gであるのに対し、II群では $19.2 \pm 1.0$ gと有意に大きかった ( $P < 0.001$ )。

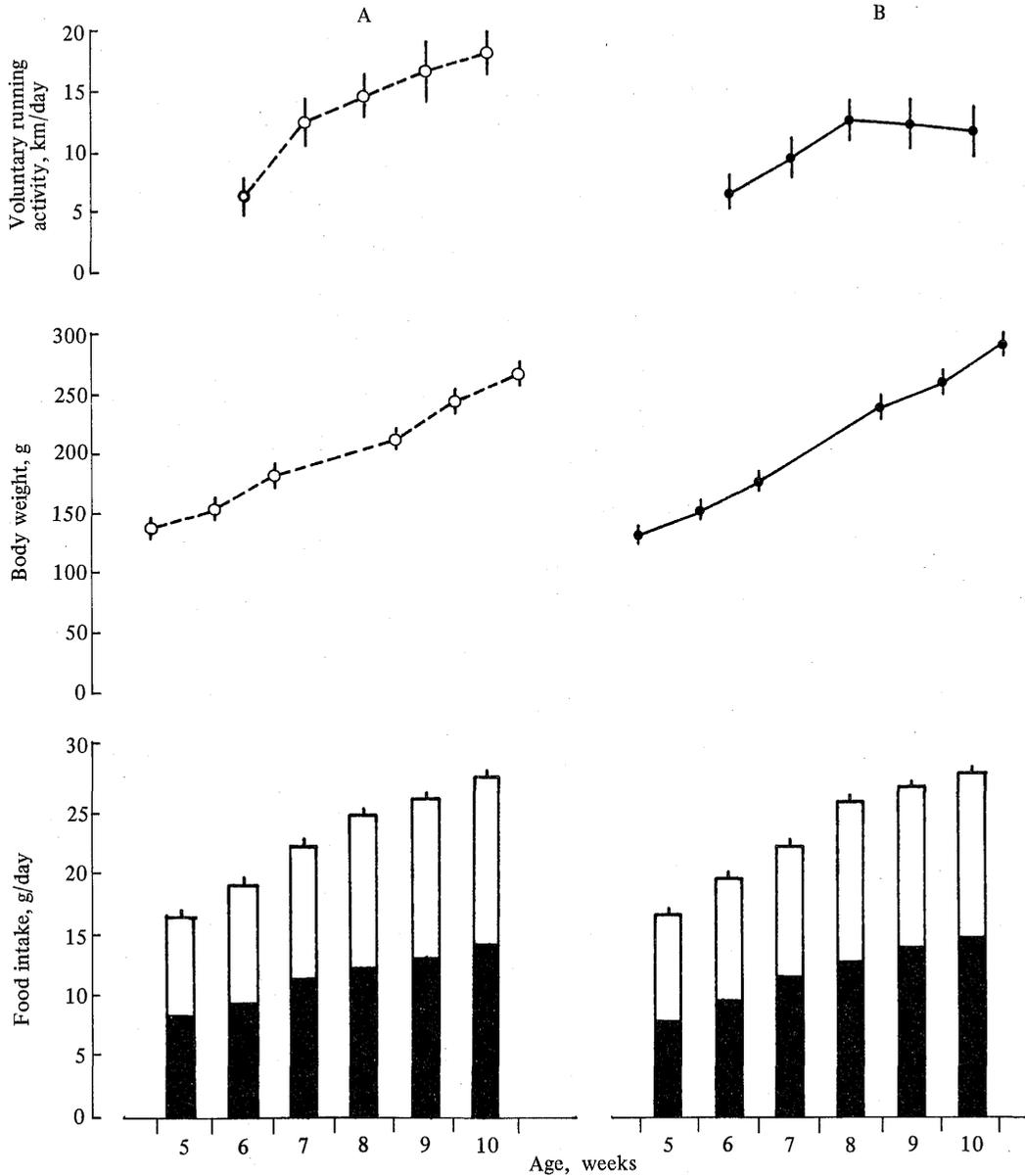


Fig. 3 Food intake, body weight change, and voluntary running activity in rats meal-fed twice a day. A: Experiment III, B: Experiment IV. Values are mean and SE of 5 rats for each experiment.

■ Meal at 08-09 hours    □ Meal at 21-22 hours

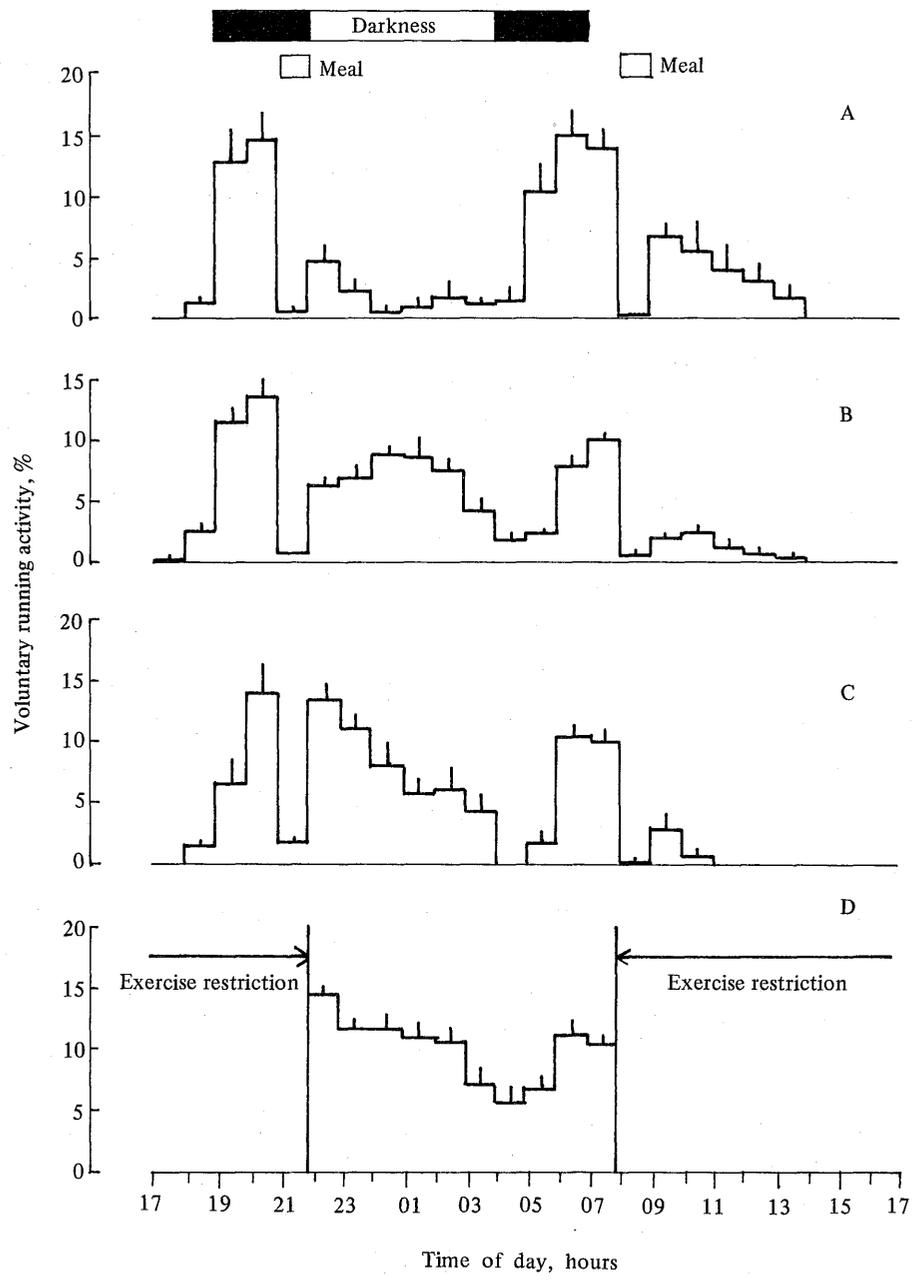


Fig. 4 Circadian rhythm of voluntary running activity in rats meal-fed twice a day ( 7(A) and 9 to 10(B) weeks of age; Experiment III) and before (7 weeks of age (C) and after (9 to 10 weeks of age(D)) the daily exercise restriction from 08 to 22 hours (Experiment IV). Values are mean and SE of 5 rats for each experiment.

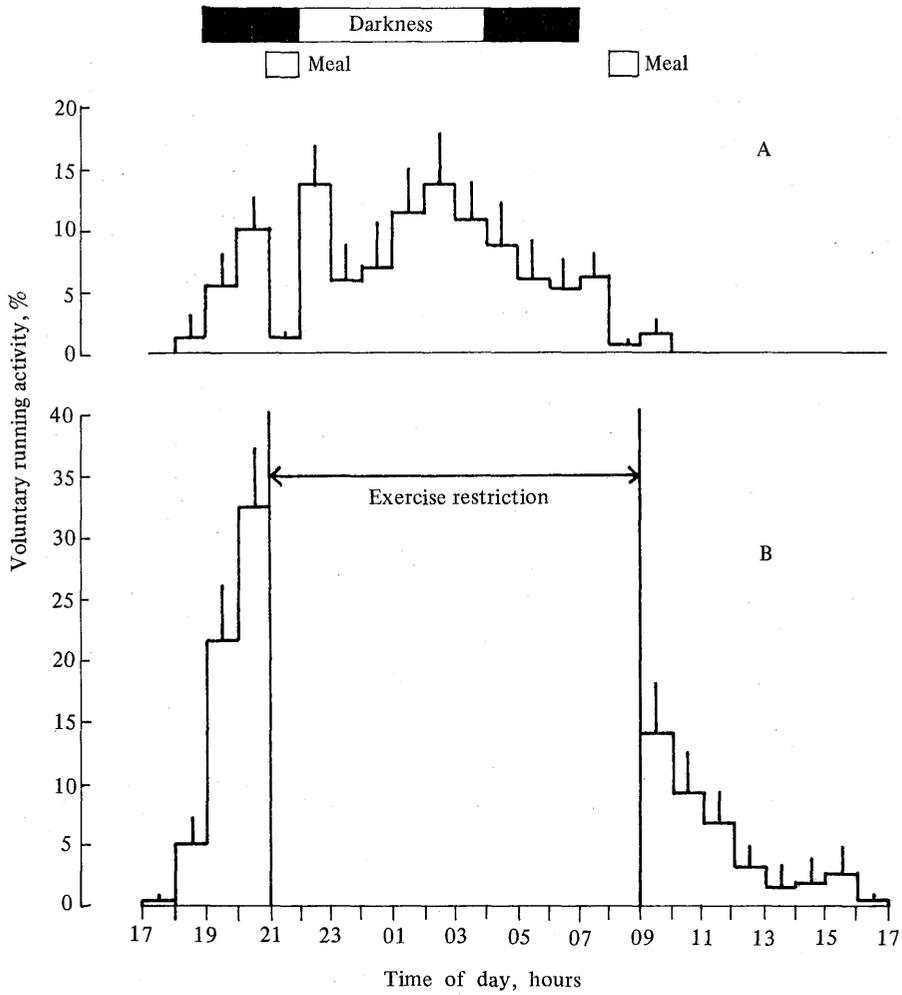


Fig. 5 Circadian rhythm of voluntary running activity in rats meal-fed twice a day before (A: 21 weeks of age) and after (B: 23 weeks of age) the daily exercise restriction from 21 to 09 hours (Experiment V). Values are mean and SE of 5 rats.

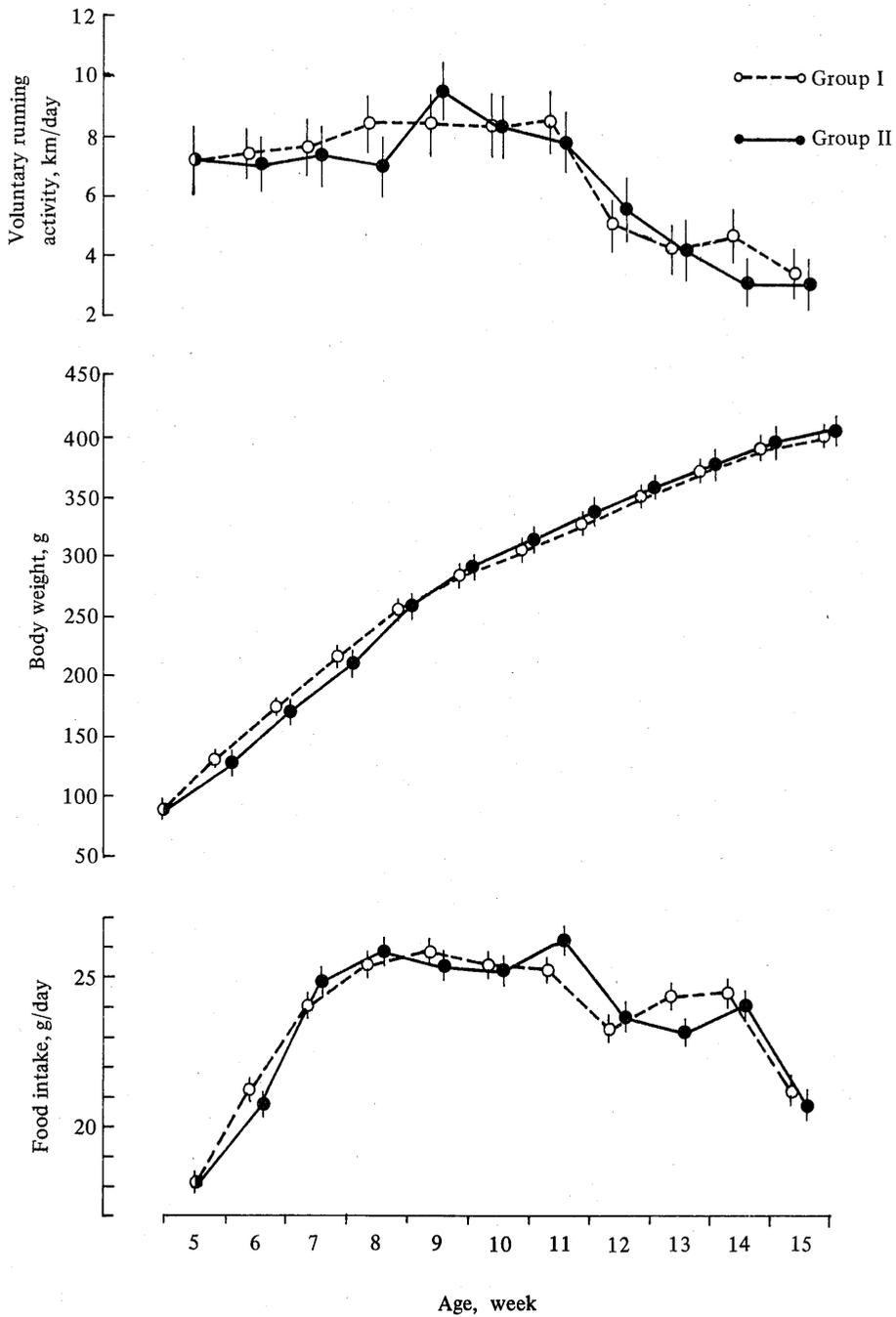


Fig. 6 Food intake, body weight, and voluntary running activity in rats meal-fed on basal and sucrose diets alternately (Experiment VI). Values are mean and SE of 10 rats for each group. Group I and II: see legend to Table 3.  
 ● values at pre-experimental period.

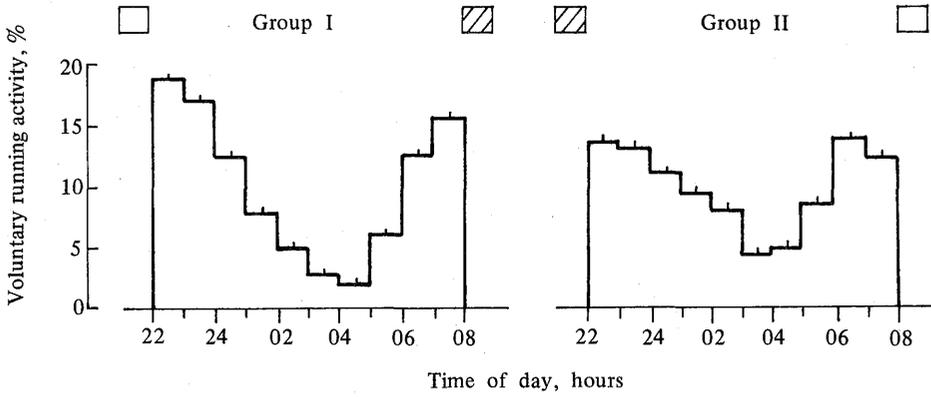


Fig. 7 Circadian rhythm of voluntary running activity in rats meal-fed on basal and sucrose diets alternately (Experiment VI). Values are mean and SE of 10 rats for each group. Group I and II: see legend to Table 3.

□ Basal diet      ▨ Sucrose diet

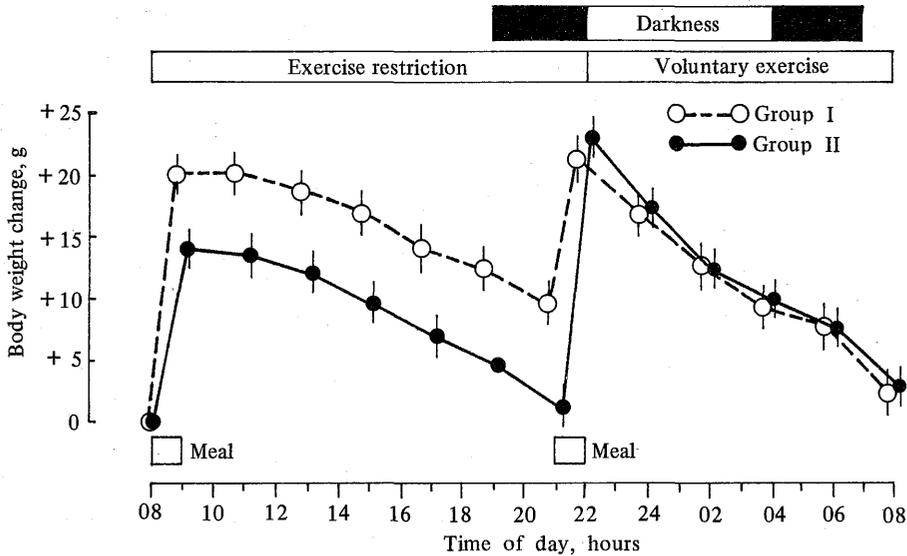


Fig. 8 Circadian rhythm of body weight change in rats meal-fed on basal and sucrose diets alternately (Experiment VI). Values are expressed as differences from the body weight at 08 hours ( $390.5 \pm 7.6$  g for Group I and  $402.0 \pm 9.2$  for Group II at 14 weeks of age). Mean and SE of 10 rats for each group. Measurements were performed twice at 3-day interval. Group I and II: see legend to Table 3.

## 考 察

回転カゴ付ケージを用いた実験において、ラットの自発ランニング運動量は絶食により増加することが Sclafani & Rendel<sup>17)</sup>によって報告されている。本研究で ad libitum-feeding のラットは、7週令時に1日あたり  $2.5 \pm 0.6$  km の運動量を示したのに対し(実験Ⅰ, Table 1), 同一週令において1日1食制 meal-feeding ラットでは9-15 km (実験Ⅱ, Table 2), 1日2食制 meal-feeding ラットでは8-12 km (実験Ⅲ, Ⅳ, Fig. 3-A, B) と, meal-feedig によって運動量が著明に増大することを認めた。Meal-feeding によって運動量が増大する1つの理由は、ラットが強い飢餓感のもとに食餌を求める行動が活発になることによると考えられている。<sup>25)</sup>

Gibbs<sup>6)</sup> は, ad libitum-feeding から1日1回2時間の meal-feeding に切り替えることによってラットの自発ランニング運動量は増大し、さらにこれが食餌時間の前後に集中することを報告している。本研究の ad libitum-feeding ラットでは, 摂食行動と自発ランニング運動に見られる2つのピークが一致していた(実験Ⅰ, Fig. 1)。また, 1日1食制あるいは2食制の meal-feeding ラットでも摂食時間前後に高い運動量が示された(実験Ⅱ, Fig. 2; 実験Ⅲ, Ⅳ, Fig. 4)。これらのことから, 摂食行動と自発ランニング運動とは密接な関係にあることが認められる。

自発ランニング運動を08-22時の間規制し, 22-08時の間だけ許した場合(実験Ⅳ), この運動時間帯がラットにとり活動的な時間帯であるため,<sup>19)</sup> 規制する以前と同程度の運動量を示し(Fig. 3-B), 運動のリズムのパターンも同様であった(Fig. 4-C, D)。これに対し, ラットの活動期にあたる暗期の21-09時の間自発ランニング運動を規制すると(実験Ⅴ), 19-21時における運動量が1日総運動量の54%を占めるという運動リズムのパターンになった(Fig. 5-B)。これは, 19-21時が自発ランニング運動を許された時間帯の中でラット活動期である暗期にあたることと, 食餌直前の時間帯であることによるものであろう。

実験Ⅵでは, 飼育初期(4週令)から自発ラン

ニング運動を08-22時の間規制し, 16週令までこの条件下で飼育したが, 加齢による運動量の低下が認められた(Fig. 6)。加齢による運動量の低下は他にも報告されている。<sup>7) 18)</sup> Slonaker<sup>18)</sup> は, ad libitum-feeding ラットの生涯にわたっての運動量を測定し, 大きい運動量を示すピークが4, 9, 13, および17月令にあることを報告している。実験Ⅴで20-23週令のラットが, 2食制 meal-feeding によって1日あたり  $9.4 \pm 1.2$  km と高い運動量を示したことは, 摂食様式の違いによることのほかに, この群のラットが4-5月令であることによとも考えられる。実験Ⅵの自発ランニング運動の日内リズムを見ると, Ⅰ群にくらべてⅡ群の方が22-03時の運動量が大きな割合を占めている(Fig. 7)。これは, Ⅱ群が21-22時食で多量の蔗糖食を摂食したと関係があると考えられる(Table 3)。

Ad libitum-feeding の場合, ラットは基本食を1日あたり25-28gを摂食していた(実験Ⅰ, Table 1)。1日1食制 meal-feeding ラットでは, 同一週令でもこの半分以下の量(10-13g/day)しか摂食していない(実験Ⅱ, Table 2)。これに対し, 1日2食制 meal-feedig ラットでは, 1日あたり meal-feeding 開始4週間目の7週令時で, ad libitum-feeding ラットに匹敵する摂食量を示した(実験Ⅲ, Fig. 3-A)。このことは, ad libitum-feeding ラットの摂食行動の日内リズムに認められた摂食量のピークに合わせた時間帯に, 1時間づつ摂食させるという本研究の1日2食制の meal-feeding が, ラットの生活リズムにより適合している摂食様式であることを示唆するものと思われる。

基本食と蔗糖食を1日2食制下に交互に与え, 蔗糖食の摂食タイミングを変えた場合(実験Ⅵ), 体重変動の日内リズムにおいて, 摂食後の体重減少に大きな差異が認められた(Fig. 8)。すなわち, Ⅰ群とⅡ群はほぼ等量の蔗糖食をそれぞれ08-09時食と21-22時食に摂食し, これによる体重増加は同程度であったにもかかわらず, その後の体重減少はⅡ群が著しく大きかった。これは, 蔗糖食摂取後に自発ランニング運動が規制されたⅠ群にくらべて, 運動が許されたⅡ群の方が運動による

エネルギー消費が大きいため体重減少も大きくなったと言える。この事実は、1日2食制 meal-feeding のそれぞれの食餌が異なる栄養的効果を持つことを示していると思われる。

摂取栄養成分の栄養効果は、運動によって影響されることがよく知られている。<sup>7) 10) 11) 12) 15)</sup> 1日あたりの運動量が同じで、同一食餌を等量摂食しても、運動する前に摂取する場合と運動後に摂取する場合とでは、摂取する食餌ないし栄養成分の栄養効果に大きな差異の生ずることが予想される。著者らが、本研究のような1日2食制 meal-feeding で自発ランニング運動を08-22時の間規制するという飼育様式を用いて蔗糖の栄養効果について検討した結果、蔗糖の摂取タイミングの違いによって脂質代謝に差異がもたされることがわかった。<sup>23) 24)</sup> それゆえ、本研究のような飼育様式を用いて、食餌摂取タイミングの違いによる摂取栄養成分の栄養効果に対する影響を検討することは、ヒトの栄養学を追求するための実験栄養学において大きな意味を持つことを示唆している。

## 要 約

種々の摂取様式が、SD系ラットの自発ランニング運動の日内リズムにおよぼす影響について検討した。動物は24時間自由食、1日1食制(07-09時, 13-15時, 19-21時, または01-03時)の meal-feeding (MF-1)、または、1日2食制(08-09時と21-22時)の meal-feeding (MF-2)で飼育された。ラットは07-19時が明期の照明条件下で回転カゴ付ケージで飼育された。自発ランニング運動の量とその日内リズム、摂食量、そして体重をそれぞれの実験で測定した。結果は以下のとおりである。

- 1) 24時間自由食群では、摂食量のピークが21-23時と05-07時に見られ、これは自発ランニング運動の日内リズムに見られたピークと一致した。
- 2) MF-1群は、24時間自由食群にくらべて約半分の食餌摂取量であった。自発ランニング運動量は、24時間自由食群の4倍に増加したが、その日内リズムは24時間自由食群のものと同様であった。

3) MF-2群は、それぞれの食餌時間に等量の食餌を摂食し、1日あたりの摂食量は24時間自由食群と等しかった。自発ランニング運動量は24時間自由食群の4倍に増加し、その日内リズムは食餌時間前後に高いピークを示す2相性パターンを示した。

4) MF-2群の自発ランニング運動を08-22時の間規制したとき、自発ランニング運動の量とその日内リズムには変化がなかった。しかし、暗期の21-09時の間運動を規制したときは、自発ランニング運動量は規制前の80%に減少し、1日総運動量の54%が19-21時の間に示された。

5) 2群のMF-2群に2種類の食餌(基本食と35%蔗糖食)をそれぞれ異なるタイミングで交互に与え、自発ランニング運動を08-22時の間規制したとき、いずれも基本食より蔗糖食を多量に摂食したが、同一食餌の摂食量は等しく、1日あたりの摂食量は24時間自由食群と同等であった。蔗糖食摂取後の体重減少は有意に差があり、このことは、この2群における蔗糖食の栄養効果が異なることを示唆している。

以上の結果は、摂食様式がラットの自発ランニング運動の量とその日内リズムに強く影響することを示している。また、摂食様式と自発ランニング運動の両者を調節することによって、食餌または栄養成分の摂取タイミングの栄養的効果におよぼす影響を検討する栄養実験が可能であることが示唆された。

## 引 用 文 献

- 1) Ibuka, N. and H. Kawamura, "Loss of circadian rhythm in sleep-wakefulness cycle in the rat by suprachiasmatic nucleus lesions" *Brain Res.* 96: 76-81 (1975).
- 2) De Castro, J. M., A. Stoerzinger, D. Barkmeier, and P. Ellen, "Medial septal lesions: Disruptions of microregulatory patterns and circadian rhythmicity in rats" *J. Comp. Physiol. Psychol.* 92: 71-84 (1978).
- 3) Deguchi, T., "Circadian rhythm of enzyme and running activity under ultradian lighting schedule" *Am. J. Physiol.* 232: E375-E381 (1977).

- 4) Garthwaite, S. M., R. F. Morgan, and D. K. Meyer, "Circadian rhythms of glycogen, free fatty acids, and triglycerides in rat heart and diaphragm" *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 160: 401-403 (1979).
- 5) Gasquet, P., S. Griglio, E. Pequignot-Planche, and M. I. Malewiak, "Diurnal changes in plasma and liver lipids and lipoprotein lipase activity in heart and adipose tissue in rats fed a high and low fat diet" *J. Nutr.* 107: 199-212 (1977).
- 6) Gibbs, F. P., "Fixed interval feeding does not entrain the circadian pacemaker in blind rats" *Am. J. Physiol.* 236: R249-R253 (1979).
- 7) Hebert, J. A., L. Kerkhoff, L. Bell, and A. Lopez-S, "Effect of exercise on lipid metabolism of rats fed high carbohydrate diets" *J. Nutr.* 105: 718-725 (1975).
- 8) Kalopissis, A. D., A. Girard, and S. Griglio, "Diurnal variations of plasma lipoproteins and liver lipids in rats fed starch, sucrose or fat" *Horm. Metabol. Res.* 11: 118-122 (1979).
- 9) Knox, A. M., R. G. Sturton, J. Cooling, and D. N. Brindly, "Control of hepatic triacylglycerol synthesis" *Biochem. J.* 180: 441-443 (1979).
- 10) Lau, H. C., E. Flaim, and S. J. Ritchey, "Body weight and depot fat changes as influenced by exercise and dietary fat sources in adult BHE rats" *J. Nutr.* 109: 495-500 (1979).
- 11) Leveille, G. A. and E. K. O'Hea, "Influence of periodicity of eating on energy metabolism in the rat" *J. Nutr.* 93: 541-545 (1967).
- 12) Lopez-S, A., A. René, L. Bell, and J. A. Hebert, "Metabolic effects of exercise. 1. Effect of exercise on serum lipids and lipogenesis in rats" *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 148: 640-645 (1975).
- 13) Mack, D. O., J. J. Watson, and B. C. Johnson, "Effect of dietary fat and sucrose on the activities of several rat hepatic enzymes and their diurnal response to a meal" *J. Nutr.* 105: 701-713 (1975).
- 14) Moore, R. Y., and D. C. Klein, "Visual pathways and central neural control of a circadian rhythm in pineal serotonin N-acyltransferase activity" *Brain Res.* 71: 17-33 (1974).
- 15) Pitts, G. C. and L. S. Bull, "Exercise, dietary obesity, and growth in the rat" *Am. J. Physiol.* 232: R38-R44 (1977).
- 16) Rusak, B., "Neural mechanisms for entrainment and generation of mammalian circadian rhythms" *Fed. Proc.* 38: 2589-2595 (1979).
- 17) Sclafani, A. and A. Rendel, "Food deprivation-induced activity in normal and hypothalamic obese rats" *Behav. Biol.* 22: 244-255 (1978).
- 18) Slonaker, J. R., "The normal activity of the albino rat from birth to natural death, its rate of growth and the duration of life" *J. Anim. Behav.* 2: 20-42 (1912).
- 19) Slonaker, J. R., "Analysis of daily activity of the albino rat" *Am. J. Physiol.* 73: 485-503 (1925).
- 20) Stephan, F. K., and I. Zucker, "Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions" *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 69: 1583-1586 (1972).
- 21) 鈴木正成, 「小動物を用いる栄養実験」(細谷, 印南, 五島編) pp.29-60, 第一出版(1980)
- 22) 鈴木正成, 下村吉治, 佐藤雄二, "ラット adipocytes の lipolytic activity と glycogen level の diurnal rhythm に及ぼす meal-feeding の影響" 脂質生化学研究
- 23) 鈴木正成, 橋場直彦, 佐藤雄二, 加重 剛, 運動・休息・摂食の日内リズム調節下にラットに異なるタイミングでショ糖を与えることが血中脂質に及ぼす影響" 脂質生化学研究 22: 208-210 (1980)
- 24) Suzuki, M., N. Hashiba, and Y. Satoh, "Effects of different timing of sucrose meal-feeding on plasma lipids in rats under controlled diurnal activity-rest rhythm" *Fed. Proc.* 39: 290 (1980).
- 25) Wald, G. and J. Jackson, "Activity and nutritional deprivation" *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 30: 255-263 (1944).