

## ラットの各種臓器, 骨格筋および脂肪組織のグリコーゲン蓄積・消失の日内リズムに及ぼす meal-feeding の影響

鈴木正成 佐藤雄二

### Effects of Meal-feeding on Diurnal Variation of Glycogen Levels in Some Organs, Skeletal Muscles and Adipose Tissues in Rats

Masashige SUZUKI and Yuji SATO

Male 4-wk-old rats of Sprague-Dawley strain were divided into ad libitum-fed and meal-fed groups (animals having access to food for a single, daily, 2-hour meal from 20 to 22 hours). Rats were housed in light-dark cycle (darkness from 20 to 80 hours). Three weeks later, rats were killed at every 4 hour and diurnal rhythms of serum glucose level or tissue glycogen levels were investigated. The results were as follows:

- 1) Over-all 24-hour mean of serum glucose level in ad libitum-fed rats was significantly higher than in meal-fed rats.
- 2) Diurnal rhythm of liver glycogen level in ad libitum-fed rats was almost stable, but that in meal-fed rats increased after meal ingestion. The highest level was observed 11 hours after the initiation of meal ingestion.
- 3) Diurnal rhythms of soleus and gastrocnemius muscle glycogen levels in ad libitum-fed rats were higher during the dark period than the light period. In meal-fed rats the both muscle glycogen levels were highest 3 hours after the initiation of meal ingestion.
- 4) Diurnal rhythms of glycogen levels were similar pattern in subcutaneous, mesenteric, perirenal and epididymal adipose tissues in both groups. In meal-fed rats adipose tissue accumulated glycogen rapidly after meal ingestion, and attained the peak glycogen level at 7 hours after the initiation of meal ingestion, and thereafter that level fell sharply. Moreover, in meal-fed rats the peak value of perirenal adipose tissue glycogen level was about twice as high as those of the other three adipose tissue glycogen levels.
- 5) Diurnal rhythms of kidney glycogen level in ad libitum-fed rats and heart, spleen and testis glycogen levels in meal-fed rats exhibited bi-phase patterns.
- 6) In liver, soleus muscle, and three adipose tissues except epididymal adipose tissue, the peak glycogen levels were obviously elevated by meal-feeding. Furthermore, in soleus muscle, heart and three adipose tissues except epididymal adipose tissue, over-all 24-hour means of tissue glycogen levels were significantly increased by meal-feeding.

These results confirm that meal-feeding is available for elevating the peak glycogen levels of several tissues in rats. But the time to reach the peak glycogen level after the initiation of meal ingestion is various in different tissues or organs. Therefore, it is suggested that meal timing is as important as meal frequency to consider the effect of nutrition on tissue glycogen level and physical capacity.

肝臓、骨格筋および心筋などのグリコーゲン含量は日内リズムを示し、feeding pattern がリズムの位相や振幅に強く影響することが知られている<sup>4, 8, 19-24, 29)</sup>。また、上記組織のグリコーゲン含量は運動能力と密接な関係をもつことが従来より知られていたが、最近 Hicksonらは<sup>12)</sup>、ラットに長時間のトレッドミルランニングを負荷した場合、予め血中遊離脂肪酸 (FFA) レベルを高めておくと、肝臓、骨格筋のグリコーゲンの利用が抑制され、走行時間が延長することから血中 FFA レベルの高低も運動能力に密接に関係していることが明らかにされた。

一方、血液中に存在する FFA は脂肪組織内における lipolysis により生ずるが、脂肪細胞内の FFA はグリコーゲン由来の  $\alpha$ -glycerophosphate により再エステル化されることから、脂肪組織のグリコーゲンは FFA 放出を調節する可能性が考えられる。また、運動時に産生する乳酸は心筋において活発に酸化される一方、腎臓においては gluconeogenesis の主要な原料となる<sup>35)</sup>。さらに、ラットの脾臓および睪丸において、glucose-*b*-phosphatase の存在が報告されていることから<sup>25)</sup>、この2つの器官は血液中へのグルコース供給に寄与する可能性が考えられる。しかし、ラットの脂肪組織、腎臓、脾臓、および睪丸のグリコーゲンの生理的機能については従来あまり検討されていない。

このような関連において、動物体組織グリコーゲン含量を高めるには、いかなる栄養成分をどのようなタイミングで摂取するのが有効であるかなど feeding pattern のありかたを明らかにすることは、運動能力を高める意味で重要であると思われる。

そこで著者らは、これに関する基礎的知見を得る目的で、動物体の種々の部位の組織グリコーゲン蓄積・消失の日内リズムを、ad libitum feeding および 1 日 1 回 2 時間の meal-feeding を負荷したラットを用いて、比較・検討した。

## 実験方法

### 1. 実験動物および飼育法

生後 4 週令の JCL<sup>®</sup>: SD 系雄ラット 62 匹 (80

-92g, 日本クレア株式会社) を用い、そのうち 30 匹 (80-92g) を Ad lib 群, および 32 匹 (81-89g) を meal-fed 群に分け、1 ゲージに 1 匹ずつ入れて飼育した。飼育室の照明は、08-20 時の 12 時間を人工照明し、20-08 時の 12 時間を暗くする 12 時間の明暗サイクルとした。飼料は粉末飼料 (CE-7, 日本クレア株式会社) を用い、Ad lib 群は飼料を 24 時間中自由に摂食出来るが、meal-fed 群は自動給餌装置 (日本クレア株式会社) を用いて 24 時間中 20-22 時の 2 時間だけ摂食出来るように制限した。水は両群とも自由に摂取出来るようにした。飼料と水の補給、糞尿の処理および体重計測は、明期の終り 18-20 時の間に行なった。

上記の条件で両群を 3 週間飼育し、meal-fed 群には meal-feeding に十分に適応させたのち<sup>18)</sup>、両群とも 1 時点に 4-5 匹ずつのラットを 23-03, 15, 19, 07 および 11 時の順に 2 日間にわたって殺した。但し、meal-fed 群のみ摂食開始 1 時間後にあたる 21 時にも殺した。

### 2. 血清の分離と血糖の測定

屠殺法は頭部を軽く打撲して失神させたのち、頸静脈より瀉血して殺した。採取した血液を 4°C の温度下で 30 分間放置したのち、3,000 r.p.m. で 10 分間遠心して血清を得た。ただちに 0.1 ml の血清を用いて glucose-oxidase 法<sup>2)</sup> により血糖値を測定した。

### 3. 組織グリコーゲンの定量

屠殺後、各組織をグリコーゲン測定まで -80°C で凍結保存した。測定日にその組織を融解させたのち、ただちに秤量して Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で飽和した 30% KOH 溶液に入れ、沸騰水浴中で 30 分間加熱分解した。室温にもどしたのち、1.2 容の 95% エタノールを加えて水中に 30 分間放置した。ついで、3,000 r.p.m. で 30 分間遠心してグリコーゲンを沈澱させたのち、上清液を吸引除去した<sup>20)</sup>。グリコーゲンの沈澱に 2 ml の 2N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を加え、再び沸騰水浴中で 3 時間加熱してグリコーゲンを加水分解した。その溶液に 2 ml の 2N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を加え中和し、さらに 0.5 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) を加えて一定量に fill up した。この溶液にはわずかに非分解物が含まれるため濾過してこれを取り

除き、その濾液 0.1 ml を用いて glucose-oxidase 法<sup>2)</sup>によりグルコースを測定した。グリコーゲンを加水分解する以後の操作をカキグリコーゲン(和光純薬製)を用いて検体と同様に行ない、これを対照としてグリコーゲン量を算出した。

### 実験結果

#### 1. 体重増加および食下量に及ぼす meal-feeding の影響

飼育期間中の両群の体重および食下量の変動は Fig. 1 および Table 1 に示すとおりである。Ad lib 群は、飼育期間中ほぼ一定した割合で体重が増加し、meal-fed 群では、meal-feeding 開始後一旦体重が減少したが、6 日目にはほぼ初体重レベルに回復したあと、ほぼ一定した割合で増加した。(Fig. 1, Table 1)

しかし、6 日目以後の 1 日あたりの体重増加量は Ad lib 群にくらべて meal-fed 群はその増加量が著しく低く、meal-fed 群の最終体重は Ad lib 群のその 63% であった。

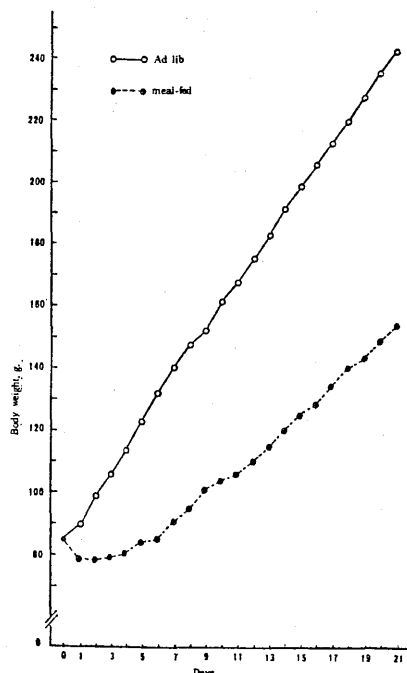


Fig. 1 Body weight gain of ad lib. and meal-fed rats. Each point represents the mean for 30 ad lib. or 32 meal-fed rats.

Table 1. Body weight gain, epididymal fat pads weight, and food intake of ad lib. and meal-fed rats.

	group		p
	ad libitum	meal-fed	
Body weight			
initial (g)	84.9 ± 0.6 <sup>(1)</sup>	85.0 ± 0.4	
weight gain (g/rat/day)			
0 - 6 day	7.8 ± 0.1	0.4 ± 0.1	< 0.001
6 - 14 day	7.5 ± 0.1	4.1 ± 0.1	< 0.001
14 - 21 day	7.3 ± 0.2	4.8 ± 0.1	< 0.001
final (g)	242.8 ± 2.9	153.1 ± 2.0 (63.1) <sup>(3)</sup>	< 0.001
epididymal fat pads weight (g)	1.93 ± 0.05	0.89 ± 0.03 (46.1)	< 0.001
Food intake (2)			
(g/rat/day)			
5 - 7 day	17.7 ± 0.3	8.1 ± 0.2 (45.8)	< 0.001
12 - 14 day	21.2 ± 0.3	11.7 ± 0.2 (55.2)	< 0.001
19 - 20 day	23.0 ± 0.4	12.9 ± 0.1 (56.1)	< 0.001
(g/100g of rat/day)			
5 - 7 day	13.5 ± 0.1	9.3 ± 0.1 (68.9)	< 0.001
12 - 14 day	11.6 ± 0.1	10.3 ± 0.1 (88.8)	< 0.001
19 - 20 day	10.0 ± 0.1	8.8 ± 0.1 (88.0)	< 0.001

(1) Values are means ± SE for 30 ad lib. or 32 meal-fed rats.

(2) Food intake was measured at the day shown in the table.

(3) Number in parentheses expresses percentages of body weight, tissue weight and food intake of meal-fed rats to those of ad lib-fed rats.

Meal-fed 群の1日あたりの食下量は、ラットあたりおよびラットの100g体重あたりのいずれにおいても、飼育期間をとおしてAd lib 群のそれより有意に少なかった。

2. 血清グルコースレベルおよび肝臓グリコーゲンレベルの日内リズムに及ぼす meal-feeding の影響

血清グルコースレベルの日内リズムは、Ad lib群では一定のリズムがあるように見受けられるが、最高値-最低値の間に有意な差はなかった。meal-fed 群は摂食開始5時間前(15時)から7時間後(03時)まで高いレベルにあった(Fig.2)。両群のリズムの振幅はほぼ同じであったが、24時間の平均値では Ad lib 群が meal-fed 群より有意に高い傾向にあった (Table 2)。

肝臓グリコーゲン含量の日内リズムは、Ad lib群では暗期の初めに最低値、暗期の終わりから明期の初めにかけてピークをもつパターンを示し、meal-fed 群では、食餌中を最低値に、摂食後徐々に増加し、摂食開始11時間後(07時)にピークに達する日内リズムを示した (Fig. 2)。

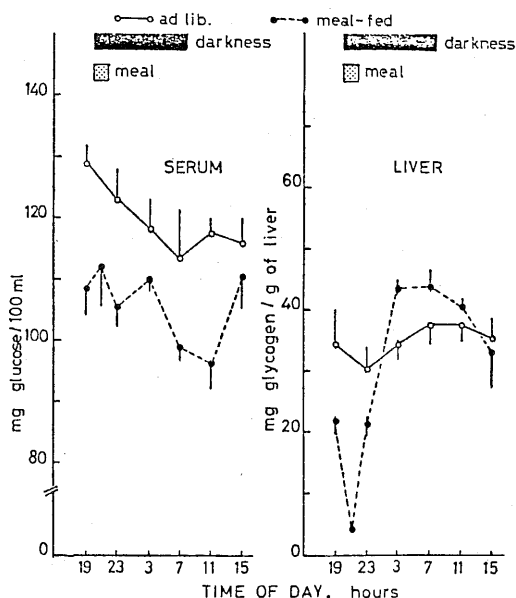


Fig. 2 Diurnal changes in serum glucose level and liver glycogen level in ad lib. and meal-fed rats. Each point represents the mean and SE of 4 to 5 rats.

Table 2. Over-all 24-hour means of 14 different variables in adlibi and meal-fed rats.

variables	group		p
	ad libitum	meal-fed	
Serum glucose (mg/100 ml)	120.4 ± 2.3(1)	105.9 ± 1.7	< 0.005
Liver glycogen			
(mg/g)	35.0 ± 1.5	29.6 ± 2.7	N. S.(2)
(mg/whole liver)	456.9 ± 22.3	222.4 ± 21.4	< 0.001
Muscle glycogen			
soleus M. (mg/g)	2.02 ± 0.29	3.74 ± 0.43	< 0.005
gastrocuemins M. (mg/g)	1.06 ± 0.24	0.88 ± 0.19	N. S.
Adipose tissue glycogen			
mesentric (μg/g)	133.5 ± 33.1	640.9 ± 198.6	< 0.025
subcutaneous (μg/g)	40.3 ± 11.3	554.4 ± 178.5	< 0.01
perirenal (μg/g)	180.7 ± 43.3	916.3 ± 310.5	< 0.025
epididymal (μg/g)	156.0 ± 37.6	330.4 ± 130.7	N. S.
(μg/whole tissue)	312.6 ± 85.9	287.8 ± 115.4	N. S.
Heart glycogen (μg/g)	40.3 ± 9.1	236.6 ± 54.0	< 0.005
Kidney glycogen (μg/g)	49.8 ± 2.0	56.4 ± 3.9	N. S.
Spleen glycogen (μg/g)	77.1 ± 4.3	67.8 ± 4.3	N. S.
Testis glycogen (μg/g)	56.4 ± 3.4	58.3 ± 3.8	N. S.

(1) Values are means ± SE for 30 ad lib. or 32 meal-fed rats.

(2) N. S. means not significant.

3. 骨格筋グリコーゲンレベルの日内リズムに及ぼす meal-feeding の影響

Fig. 3 に示すように、骨格筋グリコーゲンレベルの日内リズムは、Ad lib群では、ヒラメ筋、腓腹筋ともに摂食開始3時間後(23時)にピークを示した。24時間の平均値では、Ad lib群、meal-fed群いずれも、ヒラメ筋のほうが腓腹筋よりも高く、さらにヒラメ筋においてはmeal-fed群のほうがAd lib群よりも高い傾向にあった ( $p < 0.005$ , Table 2)。

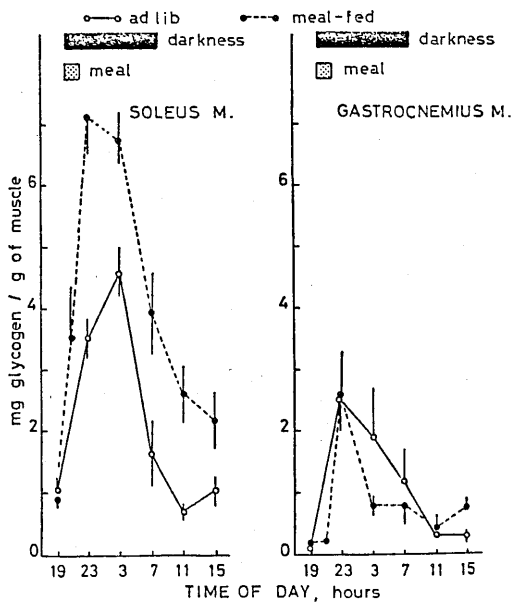


Fig. 3 Diurnal changes in soleus and gastrocnemius muscle glycogen level in ad lib. and meal-fed rats. Each point represents the mean and SE of 4 to 5 rats.

4. 脂肪組織グリコーゲンレベルの日内リズムに及ぼす meal-feeding の影響

脂肪組織グリコーゲン含量の日内リズムは、Fig. 4 に示すように、皮下、腸間膜、腎周囲および副睪丸の各脂肪組織で、Ad lib群、meal-fed群のいずれも同じパターンを示した。すなわち Ad lib 群03時にピークを示し、meal-fed群では、摂食後急激に増加し、摂食開始7時間後(03時)にピークに達し、その後急激に減少した。両群のピーク時の値を比較すると、

副睪丸脂肪組織では両群間に有意な差はないが、他の3つの脂肪組織においては meal-fed 群が Ad lib群より有意に高かった(Table 2)。さらに meal fed群のなかでのピーク時の値を比較すると、腎周囲脂肪組織が他の3つの脂肪組織の約2倍の高値を示した。

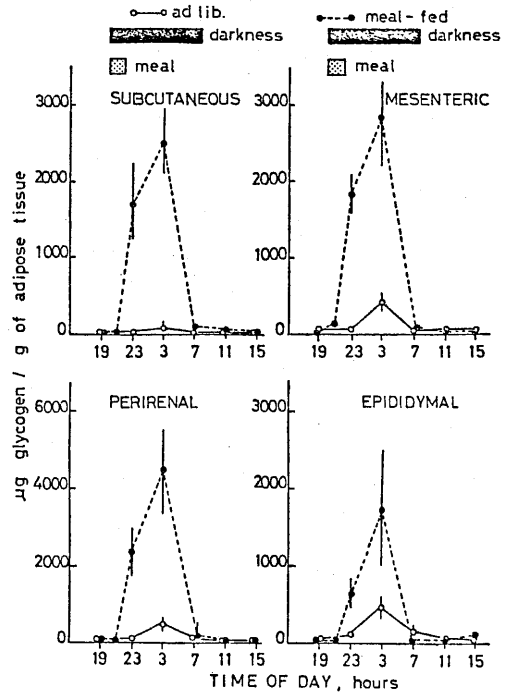


Fig. 4 Diurnal changes in 4 different adipose tissue glycogen level in ad lib. and meal-fed rats. Each point represents the mean and SE of 4 to 5 rats.

5. 心筋、腎臓、脾臓および睪丸のグリコーゲンレベルの日内リズムに及ぼす meal-feeding の影響

心筋グリコーゲン含量の日内リズムは、Ad lib群では明期の方が暗期よりもやや高い傾向にあった。また meal-fed 群では2相性のリズムが認められた (Fig. 5)。腎臓グリコーゲン含量の日内リズムは、Ad lib群では2相性のリズムを示し、meal-fed 群では摂食開始3時間後(23時)にピークを示した (Fig. 5)。次に、脾臓のグリコーゲン含量の日内リズムは、Ad lib群、meal-fed群ともに同様のパターンを示し、暗期の初めにピーク、暗期の終わりから明期の初めに最低値が認められた (Fig. 5)。

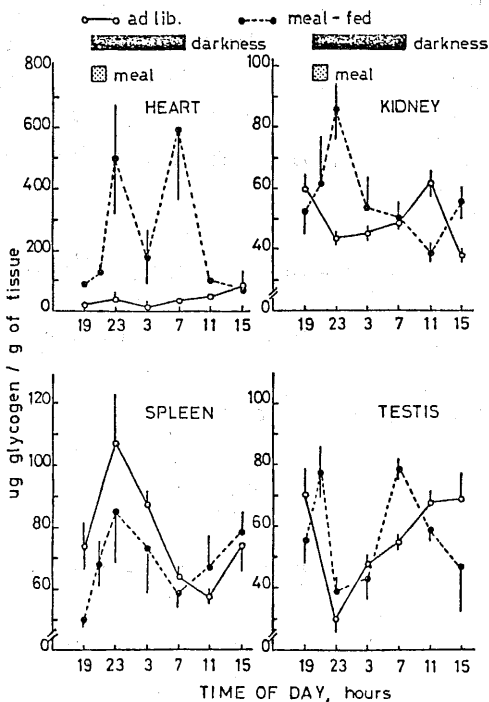


Fig. 5 Diurnal changes in heart, kidney, spleen and testis glycogen level in ad lib. and meal-fed rats. Each point represents the mean and SE of 4 to 5 rats.

また、睪丸グリコーゲン含量の日内リズムは、Ad lib群では明期のほうが暗期よりも高いレベルにあり、meal-fed群では2相性のリズムが認められた。

考 察

Ad lib 群

本実験における血清グルコースレベルの日内リズム (Fig. 2) を従来の報告と比較すると、明期の終わりにピークを示し、振幅が小さい点で Conlee ら<sup>5)</sup>の報告と一致している。またマウスを使った Gagliardino ら<sup>10)</sup>の報告とも、ほぼ同様のパターンを示した。しかし、他の報告<sup>13, 15, 26, 27)</sup>では暗期に最高値を示し、振幅も大きい点で今回の実験結果とは異なるパターンを示しており、この違いは実験条件その他によるものと思われる。

次に肝臓グリコーゲン含量の日内リズムは、従来の多くの報告と一致していた<sup>4, 5, 8, 24, 29)</sup>。しか

し、従来の報告にくらべて振幅が著しく小さい傾向にあった (Fig. 2)。Ishikawa ら<sup>14)</sup>はラットに暗期の12時間だけ摂食させると、肝の glycogen synthetase -I 活性と phosphorylase -a 活性は12時間シフトした日内リズムを示し、グリコーゲン含量の日内リズムは、双方の酵素活性のバランスによって変動することを観察している。さらに、ラットに24時間の絶食を負荷しても日内リズムは残ることから、食餌摂取は日内リズムの同調因子と成り得るが、それ以外の因子、たとえばホルモンおよび自律神経系などが関係していることを示唆した。また、McVerry and Kim<sup>22)</sup>は肝の glycogen synthetase の (D+I) 活性と I 活性の日内リズムは同調し、cyclo heximide 投与により、(D+I) 活性および I 活性は消失し、同時に肝グリコーゲン含量も激減することから、肝 glycogen synthetase 活性の変動はD型からI型への転換ではなく、新しい酵素の合成に依存していることを観察した。

次に、本実験における骨格筋グリコーゲン含量の日内リズムは (Fig. 3)、ヒラメ筋、腓腹筋とも暗期に高く、明期に低い日内リズムを示し、振幅はヒラメ筋のほうが腓腹筋よりも大きい傾向にあったが、これは Conlee ら<sup>5)</sup>の報告と一致している。しかし、24時間の平均値はヒラメ筋のほうが腓腹筋よりも高かった点は彼らの実験結果と異なっており、ラットの系統その他の違いによるものと思われる。Pessacq<sup>28)</sup>はマウスを用いて、横隔膜のグリコーゲン含量の日内リズムを4つの季節で観察したところ季節による差はなく、振幅および絶対値には差があるものの、時期の終わり04時付近にピークをもつ日内リズムを示すと報告している。

脂肪組織グリコーゲン含量の日内リズムは (Fig. 4)、Cohn and Joseph<sup>4)</sup>の報告と同様に暗期にピークを示した。

心筋グリコーゲン含量の日内リズムは (Fig. 5)、従来の報告<sup>3, 5, 33)</sup>と同様に明期のほうが暗期よりも高いレベルにあった。Segel ら<sup>33)</sup>はラットに強度の違う運動を負荷した場合、心筋グリコーゲン含量の消失および運動終了後の心筋グリコーゲンの "supercompensation" は glycogen synthetase

％I活性と glucose *b*-phosphate レベルの双方の増加の結果起ることを示唆した。古くから心筋グリコーゲンが低酸素状態における糖質の供給源とされている<sup>7)</sup>。従って、心筋グリコーゲンレベルの日内リズムは生体の生理的状态によって微妙に影響をうけると考えられる。

腎臓グリコーゲン含量の日内リズムについては (Fig. 5), Cohn and Joseph<sup>4)</sup> の報告があるが、本実験結果と異なり一相性のリズムを観察しているが、この原因については不明である。

次に、ラットの睪丸グリコーゲン含量は、生後間もない時期が一番多く、生後2週間目頃から徐々に減少することが報告され<sup>16)</sup>、生殖腺の発達に必要なエネルギー源の一つであることが示唆されている<sup>17)</sup>。しかし、脾臓および睪丸のグリコーゲン含量の日内リズムについては従来の報告は見あたらない。

#### Meal-fed群

Meal-fed群の血清グルコースレベルの日内リズムは、摂食開始5時間前(15時)から摂食開始7時間後(03時)まで高いレベルを維持していたが (Fig. 2), これは Kaul and Berdanier<sup>15)</sup> の行なった1日2時間の meal-feeding における血清グルコースレベルの日内リズムとほぼ同じ傾向である。しかし、Philippensら<sup>29)</sup> が行なった1日4時間の meal-feeding および Ipら<sup>13)</sup> の行なった1日2時間の meal-feeding のいずれの実験においても摂食開始後に血清グルコースレベルが上昇する日内リズムを報告している。また本実験において、meal-fed群の血清グルコースレベルの24時間の平均値は Ad lib群のそれにくらべて有意に低かったが、Ipら<sup>13)</sup> も同様の傾向を観察している。これは meal-feeding による糖耐容性の上昇<sup>31, 34)</sup>、および末梢組織のインスリン感受性の亢進<sup>30)</sup> などによるものと考えられているが、肝からのグルコース放出の抑制も原因である可能性が考えられる。しかし Philippensら<sup>29)</sup> および Kaul and Berdanier<sup>15)</sup> の報告では Ad lib群と meal-fed群の24時間の平均値には差がなかったという。

次に肝グリコーゲン含量の日内リズムは摂食開始11時間後(07時)にピークに達するリズムを示したが (Fig. 2), これは Leveilleら<sup>19)</sup> の行なっ

Diller<sup>8)</sup> はラットで、また Nelsonら<sup>24)</sup> はマウスで同様のことを見ている。また、いずれの meal-feeding 実験においても、摂食開始時には肝グリコーゲンはほとんど枯渇していることがわかる。Leveilleら<sup>19)</sup> は Ad lib群, meal-fed群の両群のラットにグルコースを腹腔内投与した場合、肝グリコーゲン蓄積速度は両群で差がないことから、meal-fed群の肝グリコーゲンレベルの日内レベルは meal-feeding の影響をうけた結果出来上がるものではないことを示した。

本実験における meal-fed群の骨格筋グリコーゲン含量の日内リズムを見ると、ヒラメ筋では摂食開始3~7時間後(23-03時)にピークに達しており、腓腹筋では摂食開始3時間後(23時)にピークに達したのち急激に減少したことがわかる (Fig. 3)。Leveilleら<sup>19)</sup> および Funabikiら<sup>9)</sup> の行なった1日2時間の meal-feeding 実験では、横隔膜および腓腹筋において摂食開始8時間後にピークに達し、その後急激に減少するリズムを観察しており、本実験結果とは異なる。これは従来の2つの報告では、摂食タイミングが明期の初め2時間であるのに対し、本実験では暗期の初め2時間であること、その他の実験条件によるものと思われる。

次に脂肪組織グリコーゲン含量の日内リズムは従来の Leveilleら<sup>19)</sup> の報告と同様のパターンを示しているが、本実験では副睪丸脂肪組織に限らず、皮下、腸間膜および腎周囲脂肪組織においても同様のパターンを示したことは興味深い。さらに腎周囲脂肪組織が、そのピーク時の値では他の3つの部位の脂肪組織にくらべて著しく高いことは、従来、脂肪組織の代表として用いられる副睪丸脂肪組織よりも、代謝的には活発であることを示唆しており、脂肪組織の研究にはこの点に留意する必要があると思われる。Leveilleら<sup>19)</sup> によると、等量のグルコース投与による脂肪組織のグリコーゲン蓄積速度は meal-fed群が Ad lib群よりも速いことを報告しており、また摂食開始7~8時間後から12時間後にみられるグリコーゲンレベルの急激な低下はエネルギー源としての利用によることを示唆している。

次に心筋グリコーゲン含量の日内リズムは2相

た1日2時間の meal-feeding 実験の成績とはほぼ一致する。さらに Philippensら<sup>29)</sup>と Fuller and 性を示したが (Fig. 5), これは Matsumotoら<sup>21)</sup>の報告とは異なっており, また従来摂食時よりも絶食時の方が高いレベルにあると報告されているが<sup>1, 32)</sup>, そのような結果とは異なったパターンを示したが, その原因については不明である。

腎臓グリコーゲン含量の日内リズムは, 摂食開始3時間後(23時)にピークを持つ時点で骨格筋における日内リズムと類似している。腎臓は肝臓と同様に血液中にグルコースを供給するが<sup>11)</sup>, 腎臓で生成されるグルコースの主な原料は筋肉の解糖によって生ずる乳酸であるといわれている<sup>35)</sup>。この点で, 肝臓, 骨格筋および腎臓のグリコーゲンレベルの日内リズムを比較すると, 骨格筋および腎臓のほうが, 肝臓にくらべピークに達する時間およびその後の減少度も速やかである。このことは上記3つの組織のグリコーゲン合成酵素活性は, 肝臓と骨格筋では同レベルにあり, 腎臓での活性はこれらの組織の1/7程度であることから<sup>23)</sup>, 摂食後にみられる蓄積・消失の日内リズムの違いは3つの組織のグリコーゲンプールの大きさに関係している可能性が高い。

また, 脾臓および睪丸のグリコーゲン含量の日内リズムに2相性のリズムが認められたが, 脾臓においては摂食後速やかに増加する傾向にあった (Fig. 5), これに対し睪丸においては摂食後減少する傾向がみられ (Fig. 5), 両臓器ともそのグリコーゲンレベルは食餌の影響を受けるとされる。

以上の結果から, 肝臓, ヒラメ筋, 副睪丸を除く他の3つの脂肪組織および心臓のグリコーゲンレベルは meal-feeding により著明に上昇したことがわかる。また, ヒラメ筋と副睪丸を除く他の3つの脂肪組織および心臓において, グリコーゲンレベルの24時間の平均値が meal-feeding によって有意に増大した (Table 2)。しかしながら, 摂食開始からピークレベルに達する時間が組織によって異なることは, 摂食頻度とともに食餌摂食のタイミングが重要であることを示している。一方, 食餌組成もグリコーゲンのピークレベルおよびそれに達する時間に影響を及ぼす可能性があるが, 今後検討すべき課題である。

## 要 約

生後4週令のSD系雄ラットを自由摂食群 (Ad lib 群) と1日1回2時間 (20-22時)だけ摂食させる群 (meal-fed 群)に分け, 20-08時を暗期とする明暗サイクル下で飼育した。3週間飼育したのちにラットを4時間間隔で殺し, 血清グルコースレベルおよび各種臓器・組織のグリコーゲンレベルの日内リズムを検討した。

1. 血清グルコースレベルの24時間の平均値は Ad lib 群が meal-fed 群より有意に高かった。
2. 肝臓グリコーゲンレベルの日内リズムは, Ad lib 群ではその振幅が小さいのにくらべ, meal-fed 群では摂食後急激に増加し, 摂食開始11時間後にピークに達する日内リズムを示した。
3. ヒラメ筋および腓腹筋のグリコーゲンレベルの日内リズムは, Ad lib 群では暗期のほうが明期よりも高いリズムを示し, meal-fed 群では, 両筋肉とも摂食開始3時間後にピークをもつリズムを示した。
4. 脂肪組織グリコーゲンレベルは, 皮下, 腸間膜, 腎周囲および副睪丸の各脂肪組織で両群とも同様の日内リズムを示した。Meal-fed 群では, 摂食後急激に増加し, 摂食開始7時間後にピークに達し, その後急激に減少した。また meal-fed 群において, 腎周囲脂肪組織が他の3つの脂肪組織の約2倍高いピークレベルを示した。
5. Ad lib 群の腎臓グリコーゲン含量の日内リズム, および meal-fed 群の心臓, 脾臓および睪丸のグリコーゲン含量の日内リズムに2相性のリズムが認められた。
6. 肝臓, ヒラメ筋および副睪丸を除く他の3つの脂肪組織においては, 組織グリコーゲンのピークレベルは meal-feeding により著明に上昇した。またこれらの組織では, 組織グリコーゲンレベルの24時間の平均値も meal-feeding によって有意に増大した。

以上の結果から, meal-feeding がいくつかの臓器において, そのグリコーゲンのピークレベルを高めるのに有効であることが確認された。しかし, 摂食開始からピークレベルに達する時間は組織によって異なるので, 組織グリコーゲ



ンレベルと運動能力に対する栄養の効果を考えるには、摂食回数とともに摂食タイミングが重要であることが同時に示唆された。

本研究にあたって、名古屋大学博士課程医学研究科、下村吉治氏に多大な協力をいただいた。紙上にて深謝致します。

#### 参 考 文 献

- 1) Adrouny, G.A. and J.A. Russell, "Effects of growth hormone and nutritional status on cardiac glycogen in the rat," *Endocrinology*. 59: 241-251, 1956.
- 2) Bergmeyer, H.U. and E. Bernt, "Methods of enzymatic analysis," 1205, Academic Press, 1974.
- 3) Bockman, E.L., D.K. Meyer, and F.A. Purdy, "Synthesis of cardiac glycogen in relation to its 24-hr rhythm in rats," *Am. J. Physiol.* 221(2): 383-387, 1971.
- 4) Cohn, C. and D. Joseph, "Feeding habits and daily rhythms in tissue glycogens in the rat," *Pro. Soc. Exp. Biol. Med.* 137: 1303-1306, 1971.
- 5) Conlee, R.K., M.J. Rennie, and W.W. Winder, "Skeletal muscle glycogen content: diurnal variation and effects of fasting," *Am. J. Physiol.* 231(2): 614-618, 1976.
- 6) Conlee, R.K. and C.M. Tipton, "Cardiac glycogen repletion after exercise: influence of synthase and glucose 6-phosphate," *Am. J. Physiol.* 42(2): 240-244, 1977.
- 7) Evans, G., "The glycogen content of the rat heart," *J. Physiol.* 82: 468-480, 1934.
- 8) Fuller, R.W. and E.R. Diler, "Diurnal variation of liver glycogen and plasma free fatty acids in rats fed ad libitum or single daily meal," *Metabolism*. 19(3): 226-229, 1970.
- 9) Funabiki, R., S. Ide., N. Ebe., O. Taguchi, and K. Yasuda, "Diurnal changes in glycogen content in skeletal muscle of meal-fed rats during starvation," *Agr. Biol. Chem.* 39(4): 791-793, 1975.
- 10) Gagliardino, J.J. and M.T. Pessacq, "Diurnal variations in the action of insulin on muscle glycogen synthesis," *J. Endocr.* 61: 171-177, 1974.
- 11) Harper, H.A., V.W. Rodwell, and P.A. Meyes, "Review of physiological chemistry," 327, 16th ed, Lange medical publications, 1977.
- 12) Hickson, R.C., M.J. Rennie, R.K. Conlee, W.W. Winder, and J.O. Holloszy, "Effects of increased plasma fatty acids on glycogen utilization and endurance," *J. Appl. Physiol.* 43(5): 829-833, 1977.
- 13) Ip, M.M., C. Ip., Y.M. Tepperman and J. Tepperman, "Effect of adaptation to meat-feeding on insulin, glucagon and the cyclic nucleotide protein kinase system in rats," *J. Nutr.* 107: 746-757, 1977.
- 14) Ishikawa, K. and T. Shimazu, "Daily rhythms of glycogen synthetase and phosphorylase activities in rat liver: influence of food and light," *Life Sciences*. 19: 1873-1878, 1976.
- 15) Kaul, L. and C.D. Berdanier, "Effect of meal-feeding on the daily variations of insulin, glucose, and NADP-like dehydrogenases in rats," *J. Nutr.* 105: 1132-1140, 1975.
- 16) Leiderman, B. and R.E. Mancini, "Glycogen content in the rat testis from postnatal to adult ages," *Endocrinology*. 85: 607-609, 1969.
- 17) Leiderman, B. and R.E. Mancini, "Effect of FSH and LH on the glycogen concentration in the testis of intact and hypophysectomized rats," *Acta. Physiol. Latinoam.* 24: 305-311, 1974.
- 18) Leveille, G.A., "Glycogen metabolism in meal-fed rats and chicks and the time sequence of lipogenic and enzymatic adaptive changes," *J. Nutr.* 90: 449-459, 1966.
- 19) Leveille, G.A. and K. Chakrabarty, "Diurnal variations in tissue glycogen and liver weight of meal-fed rats," *J. Nutr.* 93: 546-554, 1967.
- 20) Lo, S., J.C. Russell and A.W. Taylor, "Determination of glycogen in small tissue samples," *J. Appl. Physiol.* 28(2): 234-236, 1970.
- 21) Matsumoto, M. and R. Funabiki, "Effects of diet on cyclic change of cardiac content in meal-fed rats," *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 23: 471-474, 1977.
- 22) McVerry, P. and K.H. Kim, "Diurnal rhythm of rat liver glycogen synthetase," *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 46(3): 1242-1246, 1972.
- 23) 中沢淳, 森正敬訳, 「動物の代謝調節」, 163, 講談社, 1977.
- 24) Nelson, W., L. Scheving and F. Halberg, "Circadian rhythms in mice fed a single daily meal at different stages of lighting regimen," *J. Nutr.* 105: 171-184, 1975.
- 25) Nordie R.C., "The Enzymes (ed. Boyer, P.D.)," 543, 3rd ed., Academic Press Inc., 1971.

- 26) Pauly, J.E. and L.W. Scheving, "Circadian rhythms in blood glucose and the effect of different lighting schedules, hypophysectomy, adrenal medullectomy and starvation," *Am. J. Anat.* 120: 627-633, 1967.
- 27) Peret, J., I. Macaire and M. Chanez, "Schedule of protein ingestion, nitrogen and energy utilization and circadian rhythm of hepatic glycogen, plasma corticosterone and insulin in rats," *J. Nutr.* 103: 866-874, 1973.
- 28) Pessacq, M.T. and J.J. Gagliardino, "Glycogen metabolism in muscle: its circadian and seasonal variations," *Metabolism*, 24(60): 737-743, 1975.
- 29) Philippens, K.M.H., H.V. Meyersbach and L.E. Scheving, "Effects of the scheduling of meal-feeding at different phases of circadian system in rats," *J. Nutr.* 107: 176-193, 1977.
- 30) Reiser, S. and J. Hallfrisch, "Insulin sensitivity and adipose tissue weight of rats fed starch or sucrose diets ad libitum or in meals," *J. Nutr.* 107: 147-155, 1977.
- 31) Romsos, D.R. and G.A. Leveille, "Effects of meal frequency and diet composition on glucose tolerance in the rat," *J. Nutr.* 104: 503-512, 1974.
- 32) Russell, J.A. and W. Bloom, "Hormonal control of glycogen in the heart and other tissues in rats," *Endocrinology*, 58: 83-94, 1956.
- 33) Segel, L.D., A. Chung, D.T. Mason, and E.A. Amsterdam, "Cardiac glycogen in Long-Evans rats: diurnal pattern and response to exercise," *Am. J. Physiol.* 229(2): 398-401, 1975.
- 34) Wiley, J.H. and G.A. Leveille, "Significance of insulin in the metabolic adaptation of rats to meal ingestion," *J. Nutr.* 100: 1073-1080, 1970.
- 35) 山田正篤・石橋貞彦訳, 「組織機能の生化学」50, 共立出版, 1972.