

平成 30 年度

博士論文

摂取する栄養素の量や種類の差異がエネルギー代謝、  
および睡眠を含む生体リズムに及ぼす影響

筑波大学大学院

人間総合科学研究科 スポーツ医学専攻

201630388

矢 島 克 彦

## 目次

### 関連論文

緒言	-----	1
文献研究	-----	3
研究課題の設定	-----	17
研究課題 1	-----	19
研究課題 2-1	-----	36
研究課題 2-2	-----	53
総合考察	-----	72
結論	-----	79
謝辞	-----	81
参考文献	-----	82

## 関連論文

本論文は、以下に示した論文に未発表の実験結果を加えてまとめた。

Katsuhiko Yajima, Tomomi Seya, Kaito Iwayama, Masanobu Hibi, Sayaka Hari, Yu Nakashima, Hitomi Ogata, Naomi Omi, Makoto Sato, Kumpei Tokuyama (2014) Effects of Nutrient Composition of Dinner on Sleep Architecture and Energy Metabolism during Sleep. *Journal of Nutrition Science and Vitaminology*. Vol 60, p114-121.

矢島克彦、緒形ひとみ、徳山薫平(2015) 夕食時における高炭水化物食ならびに低炭水化物食が睡眠の深さに与える影響 —周波数解析を用いた検討—. *東京聖栄大学紀要*. 第7号, p13-20.

Katsuhiko Yajima, Kaito Iwayama, Hitomi Ogata, Insung Park, Kumpei Tokuyama (2018) Meal rich in rapeseed oil increases 24-h fat oxidation more than meal rich in palm oil. *PLOS ONE*. 13: e0198858.

## 緒言

スポーツ栄養の目的として、アスリートのパフォーマンス向上とコンディション維持の2つが挙げられる。マラソンなどの持久性スポーツでは、試合日の数日前から高炭水化物食を摂取することで一時的に体内のグリコーゲン貯蔵量を高める方法（カーボローディング）が有効だと考えられており（Bergström. 1967）、多くの競技選手や運動愛好家によって実践されている。持久性スポーツでは骨格筋および肝臓のグリコーゲンを枯渇させないことが高いパフォーマンスを維持するために重要であると考えられていることがその理由であり、カーボローディングはアスリートにおける栄養摂取の代表的手法の1つであると言える。

一方もう1つの手法として高脂肪食を摂取するファットローディングが挙げられる。近年、運動パフォーマンスに及ぼす高脂肪食摂取の有効性を検討する価値があるとの総説が発表され（Burke. 2015）、高糖質食と高脂肪食をどのように組み合わせるかが鍵であるという考えが示された。高脂肪食を摂取した後は血中の遊離脂肪酸が増大し、一時的に脂質代謝が亢進する（Schmitz. 2008）。運動時の脂質代謝の亢進はグリコーゲン消費を抑制し、持久性運動パフォーマンスの向上が期待できる。また、食事に含まれている脂肪には二重結合の有無によって飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸に分類することができ、飽和脂肪酸に比べて二重結合の多い不飽和脂肪酸は摂取後にエネルギーとして利用される速度が速い（DeLany. 2000）。運動前に摂取する脂肪酸の種類に関する先行研究では、飽和脂肪酸に比べ不飽和脂肪酸を摂取した方が運動時の呼吸交換比が低下すると報告されている（Bradley. 2008）。

摂取する脂肪酸の種類の違いは、エネルギー代謝以外の生理的パラメータにも影響を及ぼす。高不飽和脂肪酸食と比較し高飽和脂肪酸食は喫食者の血圧、食後血糖値およびインスリン分泌量を増加させる (Gillingham. 2011)。近年では、コントロール食と比較し高脂肪食の摂取によってマウスの概日行動周期が延長し、末梢組織の時計遺伝子の発現リズムが減弱すると報告されている (Kohsaka. 2007)。特に高一価不飽和脂肪酸と比較し高飽和脂肪酸食は暗期におけるマウスの活動量を減少させ NREM 睡眠を増加させると報告された (Sartorius. 2012)。高炭水化物食および高脂肪食の摂取と、本研究で着目している睡眠を含む生体リズムとの関係については先行研究がほとんど報告されていない。アスリートが最高のパフォーマンスを発揮するためには、試合前日や当日の食事、および摂取する栄養素の差異による影響を明確にすることが求められる。睡眠を含む生体リズムを整えることはアスリートが最高のパフォーマンスを発揮するために重要であることに加え、コンディショニングの調整、さらには一般の人々の健康管理にも大切である。以上の背景より本研究では、摂取する栄養素の量や種類の差異がエネルギー代謝、および睡眠を含む生体リズムに及ぼす影響を検討することを目的とした。

## 文献研究

### 1. アスリートのための栄養摂取法

#### 1-1. カーボローディング

運動前に炭水化物の多い食事を摂取し、筋グリコーゲン濃度を高めておくことが、長時間運動時のパフォーマンスを向上させるうえで重要であると考えられている。被験者が自転車運動をどのくらい長く続けられるかというパフォーマンス試験を行った研究により、炭水化物の摂取量が多い群ほど筋グリコーゲン濃度が高く、運動の持続時間が長くなると 1967 年に報告された (Bergström. 1967)。そこでスポーツの現場では、筋グリコーゲン量を高めるために「カーボローディング」と呼ばれる栄養学的手法が行われている。カーボローディングが最初に提案された方法としては、3 日間低炭水化物食を摂りながら運動を行うことで全身の筋グリコーゲンを枯渇した状態を維持させ、その後高糖質食を摂取し筋グリコーゲンを回復させる。このような方法により、筋グリコーゲンを枯渇させる以前の水準より高く保持することができるようになる超回復を起こすことができる (HultmanL and Nilsson. 1971)。その後も、運動前の高炭水化物食によって疲労困憊までの時間が改善したという研究が複数報告されている (Chryssanthopoulos. 2002, Okano. 1988, Schabort. 1999)。実際に高炭水化物食摂取によって持久的ランニング能力が 22%改善したという報告 (Chryssanthopoulos. 1997) や、1 週間のカーボローディングを行う前と後では、30km 走のタイムトライアルが約 4 分短縮されたという報告 (Williams. 1992) もあり、アスリートのパフォーマンス向上に繋がるとされている。

## 1-2. ファットローディング

試合や運動前の食事で高脂肪食を摂取し、脂質代謝を亢進させる手法を「ファットローディング」という。動物実験では、運動前に高脂肪食を摂取することによる有効性が報告されている。高脂肪食を長期間摂取したラットは、運動中の筋グリコーゲン利用が大きく抑えられたことによって、疲労困憊に至るまでの運動持続時間が延長した (Miller. 1984)。また、長期にわたり高脂肪食を摂取することにより、筋肉が脂質を効率的にエネルギーとして利用できるよう身体を適応させていく方法は「fat adaptation」と呼称されている (Hawley. 2011)。炭水化物比率を 20%以下、脂質比率を 60%以上とした高脂肪食を少なくとも 6 ヶ月継続した fat adaptation を行なっている運動選手と、カーボローディングをしている運動選手の運動時エネルギー基質と血液成分を調べる研究では、fat adaptation を行なっている選手は安定して脂質をエネルギー基質として利用していた (Volek. 2016)。一方で、カーボローディングを行っている選手は、運動を始めた直後はグリコーゲンをエネルギー基質として利用し、時間の経過とともにエネルギー基質を脂質へと移行している。その結果、血清乳酸値が大きく増加した。この研究で fat adaptation を行った被験者の食事摂取状況調査の結果では、食事脂質のうち飽和脂肪酸が約 43%、一価不飽和脂肪酸が約 41%、多価不飽和脂肪酸が約 16%の割合で摂取されていた。

ヒトを対象とした実験では、高脂肪食が運動パフォーマンスの結果を向上させたという明確な結果は得られていない。しかしながら、高脂肪食の中には、「ケトン食」と呼ばれる血中のケトン体濃度が増加するような低炭水化物・高脂肪食の食事があり (Wilder. 1921)、このケトン体を増加させる食事がアスリートにとって有効であるという知見が報告されている (Cox. 2016)。ケトン体は、脳、骨格筋、心筋などに取り込ま

れ、エネルギー源として利用される (Sato, 1995)。実際に、ケトン食の長期摂取により、運動中の脂質酸化量が著しく増大することが明らかとなっている。高糖質食を摂取している選手に比べて、ケトン食を長期間 (9–36 ヶ月間) 摂取したウルトラマラソン選手およびトライアスロン選手では、脂質酸化量が2倍以上高い値を示し、より高強度の運動でも脂質が利用できる体質となっていることが報告されている (Volek, 2016)。さらに、このような選手では、中強度でのランニング運動を行なった場合、その時のエネルギーの約9割が脂質から供給されていることも示されている。このように、ケトン食によって通常の高脂肪食以上に脂質酸化能力が向上することで、炭水化物の枯渇さらには疲労の発生を予防できることが期待されている。近年では、ケトン体にエステルを結合させケトン体モノエステルとすることで、アスリートに直接ケトン体サプリメントを摂取させる検討も行われている。ケトン体モノエステルを服用させると、カーボローディングをしているときよりも、30分間全力で自転車を漕いだ走行距離が400mほど増加し、パフォーマンスの向上が観察されたと報告された (Cox, 2016)。しかしながら、高脂肪食がアスリートの疲労やパフォーマンスに及ぼす影響についてはまだまだエビデンスが不足している状況である。

### 1-3. 高炭水化物食と高脂肪食との組み合わせ

アスリートの食事としてカーボローディングおよびファットローディングのどちらがより有効であるか、結論は出ていない。先行研究では、高炭水化物食と高脂肪食とを組み合わせた実験が行われている。Fat adaptation を行なっている選手に運動試験前日のみ高炭水化物食を摂取させることで、カーボローディングを行なっている選手よりも運動期間における脂質酸化量を高く維持することができたと報告されている (Burke,



2002, Rowlands, 2002)。運動中の脂質酸化量が高まるという結果は、貯蔵されているグリコーゲンを温存できるという利点へと繋がる。それらの研究を踏まえ 2015 年に発表された総説では、アスリートに最適な食事を明らかにするためには、高炭水化物食と高脂肪食をどのように組み合わせるか検討することが鍵であると説明された (Burke, 2015)。

## 2. 高炭水化物食、高脂肪食摂取による生理的变化

アスリートの食事手法として取り入れられている高炭水化物食および高脂肪食は、食後に様々な生理的な変化を引き起こす。筋肉・肝臓グリコーゲン貯蔵や温存に注目するだけでなく、身体に及ぼすその他の作用も理解しておく必要がある。

### 2-1. 高炭水化物食

アスリートのための栄養摂取法は、筋肉・肝臓グリコーゲン貯蔵量の増加や温存に着目したものであるが、極端な栄養素組成の食事は様々な生理的な変化を引き起こす。具体例の1つとして、高炭水化物食を摂取することで血糖値が上昇し、インスリンの分泌が誘発される (Himsworth, 1934)。運動開始前に炭水化物を摂取した研究では、インスリンの分泌が増加することにより血糖値の低下が引き起こされるが、この初期の血糖値の低下は運動パフォーマンスには悪影響を及ぼさないと報告している (Febbraio, 2000)。しかしながら、インスリンは糖代謝を促進する代わりに脂質酸化を抑制し (Sidossis, 1996)、血圧を上昇させ (DeFronzo, 1975, Scherrer, 1997)、慢性的な分泌の増加は動脈硬化を引き起こすなど生活習慣病の要因となる (Pyörälä, 1979)。肥満者においては、高炭水化物食は摂取してから4時間後の血清グレリン濃度を食前よりも上昇させ、ペプチド

YY 濃度を低下させるため、食欲も亢進させる (Lomenick. 2009)。

## 2-2. 高脂肪食

高脂肪食によって生体が受ける影響はより複雑である。脂肪酸は、炭素 (C)、水素 (H)、酸素 (O) の 3 種類の原子で構成され、炭素の数や炭素と炭素のつながり方などの違いにより、様々な種類に分類される (表 1)。脂肪酸は、構造の違いにより「飽和脂肪酸」と「不飽和脂肪酸」の 2 種類に分類される。炭素と炭素の間に二重結合がない脂肪酸を飽和脂肪酸、二重結合がある脂肪酸を不飽和脂肪酸と呼ぶ。また、不飽和脂肪酸のうち炭素の二重結合が一つのものを「一価不飽和脂肪酸」、2 つ以上あるものを「多価不飽和脂肪酸」と分けている。多価不飽和脂肪酸はさらに、炭化水素鎖の末端のメチル基から数えて、6 番目の炭素に二重結合が最初に存在する「n-6 系」、3 番目の炭素に二重結合が最初に存在する「n-3 系」の脂肪酸と分類している。哺乳類は体内で脂肪酸を長鎖不飽和化できる機構を備えているが、リノール酸 (18:2. n-6 系) と  $\alpha$ -リノレン酸 (18:3. n-3 系) を産生できないため、これらは必須脂肪酸と呼ばれる。

一般的に、ランダム化比較試験であってもクロスオーバー試験であっても、食事で摂取する脂質を飽和脂肪酸から一価不飽和脂肪酸に一部置き換える介入を行うことによって、内臓脂肪型肥満を予防でき、中性脂質、血圧および血糖値が低下する (Gillingham. 2011)。多価不飽和脂肪酸であるドコサヘキサエン酸やエイコサペンタエン酸の健康効果はより顕著であり、生活習慣病予防効果に加え認知症や鬱病の予防などのメンタルヘルスにも効果を示す (Simopoulos. 2016, Hashimoto. 2017)。さらに、飽和脂肪酸を主とした食事と比較し、不飽和脂肪酸を主とした食事を摂取することによって、食後数時間の脂質酸化量が増大するという報告が多数ある (Casas-Agustench. 2009, Piers. 2002, Flint. 2003, Soares. 2004)。

表 1. 食品中に含まれる主な脂肪酸の例と分類（農林水産省, 2018）

二重結合の数や位置による分類		炭素数	二重結合数	略記	名称と化学構造	備考	
飽和脂肪酸		2	0	C2:0	酢酸 $\text{CH}_3\text{-COOH}$	酢の酸味成分	
		4	0	C4:0	酪酸 $\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_2\text{-COOH}$	バターやチーズなどに含まれる成分の一つ	
		16	0	C16:0	 パルミチン酸	パーム油に多く含まれる成分	
		18	0	C18:0	 ステアリン酸	ココアバターに多く含まれる成分	
不飽和脂肪酸	一価不飽和脂肪酸	18	1	C18:1	 オレイン酸	オリーブオイルの主要成分	
	多価不飽和脂肪酸	n-6系	18	2	C18:2	 リノール酸	大豆油、コーン油、サフラワー油など植物油の主要成分
			18	3	C18:3	 γ-リノレン酸	月見草油など特殊な植物油に含まれる成分
			20	4	C20:4	 アラキドン酸	肉、卵、魚、肝油などに含まれる成分
		n-3系	18	3	C18:3	 α-リノレン酸	シソ油、エゴマ油、キャノーラ油、大豆油などの主要成分
			20	5	C20:5	 イコサペンタエン酸（又はエイコサペンタエン酸） [EPA]	魚油に含まれる成分
			22	6	C22:6	 ドコサヘキサエン酸 (DHA)	魚油に含まれる成分

### 3. 食事と睡眠を含む生体リズムの関係

#### 3-1. 生体リズムの発生機序

多くの生物が、昼夜の環境サイクルに同調した 24 時間のリズムを示す。このような周期性をもった事象・性質をサーカディアンリズム（概日リズム）と呼び、このリズムは人間の生理機能（睡眠-覚醒、体温、食事-排泄、ホルモン分泌など）の多くに存在する（King, 2000）。「体内時計」とは、このような生命活動に関わるサーカディアンリズムを発生させる機構のことであり、様々な生理現象が時計遺伝子の発現に制御されて日内変動を繰り返している。脳には視交叉上核（suprachiasmatic nucleus ; SCN）という神経細胞の塊があり、哺乳類における体内時計は SCN が調節の中核となっている（Abe, 2002）。また、末梢の臓器、すなわち肺、肝臓、腎臓、心臓、筋肉などの全身の細胞中には時計遺伝子が発現していると分かっており、それらは末梢時計と呼ばれている。

SCN が作り出しているサーカディアンリズムは時計遺伝子という遺伝子の働きにより発生している。代表的なコア時計遺伝子として、Clock、Bmal1、Per、Cry などが挙

げられる。これらのコア時計遺伝子は、全身の細胞において転写制御タンパク質として時計遺伝子やその他の遺伝子の転写の促進-抑制のフィードバック機構を制御しており（図 1）、それらは中枢から切り離されても自立した mRNA 発現レベルのリズムを維持し続けられることが知られている。この時計遺伝子の発現リズムを基盤として神経活動、体温、ホルモン分泌といったマクロな生理現象のサーカディアンリズムを形成していると考えられている。

サーカディアンリズムを生み出す振動現象の三要素として、周期、位相、振幅があり、日本時間生物学会(Chiba, 1998)では以下のように定義している(図 2)。

#### ①周期

リズムにおける最大値から最大値または最小値から最小値までの長さのことで、動物のサーカディアンリズムではほぼ 24 時間である。時計や外部環境サイクルの特定の位相（例えば、午前 6 時、日没時など）を基準にして、そこからの時間であらわしたり、体内リズムの特定の位相（例えば覚醒時刻）からの時間であらわしたりする。

#### ②位相

タイミングの尺度であり、リズムに最も近似する関数（例えば正弦関数）の頂点（最大値）の位相角を意味する。時計や外部環境サイクルの特定の位相（例えば、午前 6 時、日没時など）を基準とし、その基準からの時間で表す。または体内リズムの特定の位相（例えば覚醒時刻）からの時間で表す。

#### ③振幅

測定値の時間変動の幅を示す。リズムにおける最大値から最小値までの長さ、すなわち振動の大きさを意味する。

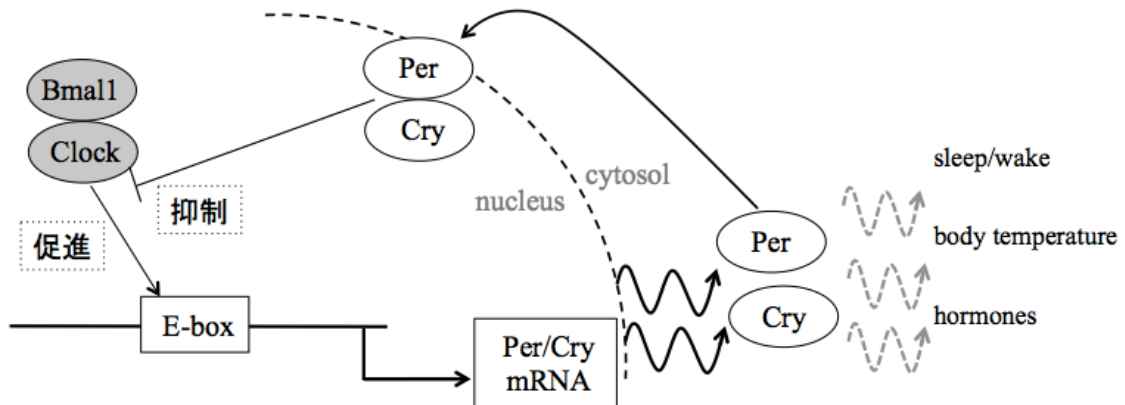


図1. 時計遺伝子のフィードバック機構の概念図(King. 2000, Arendt. 2010 改変)

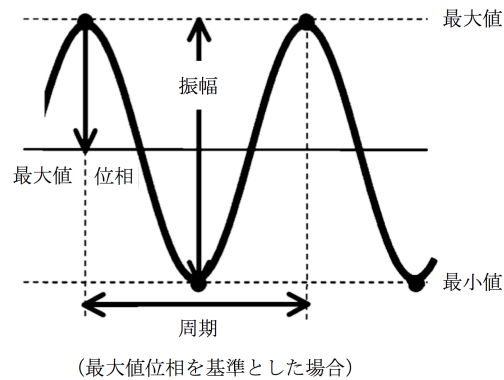


図2. サーカディアンリズムを生み出す振動現象の三要素

### 3-2. 睡眠の構造と仕組み

睡眠は、急速眼球運動 (rapid eye movement: REM) が出現する睡眠と、REM が出現しない睡眠 (non-rapid eye movement: NREM)、そして目は覚めてはいないが脳波的には覚醒を示す wake の3種類の脳波から構成される(Koike. 2010)。睡眠にはステージが存在し、浅いNREM睡眠(睡眠ステージ1,2)から始まり、深いNREM睡眠(睡眠ステージ3:

深睡眠)へと移行する。入眠後 90 分程度で最初の REM 睡眠が出現し、その後、NREM 睡眠と REM 睡眠が交互に対となって、90 分から 120 分周期(睡眠周期)を形成し一晩で 3 回から 5 回繰り返される。最初の睡眠周期で多く出現する NREM 睡眠は、睡眠全体の中で最も深い眠りであり、明け方になるにつれて浅い NREM 睡眠や REM 睡眠の出現時間が多くなっていくというのが通常の睡眠パターンである。NREM-REM 睡眠の各睡眠段階に関して、その出現する量や時期、持続性などの総合的な特徴を睡眠構築と呼ぶ。

### 3-3.時計遺伝子と睡眠の関係

コア時計遺伝子の一つである *Per* をノックアウトしたマウスの活動リズムは崩壊し、明期の活動量が増加し暗期の活動量が減少し明暗サイクルにおけるメリハリが失われる (Cermakian. 2001)。この原因は、*Per* をノックアウトしたことによって CLOCK/BMAL1 複合体と PER/CRY 複合体のネガティブフィードバック機構が成り立たなくなったためであると考察される。正常な時計遺伝子のフィードバックループが生み出す発現リズムが覚醒-睡眠を制御しており、実際に *Clock* を変異させたマウスの睡眠構築は変化し、野生型マウスと比較して変異マウスは総睡眠時間が減少、NREM 睡眠の量も減少、REM 睡眠の量は増加した (Naylor. 2000)。ヒトの場合も時計遺伝子発現リズムの振幅が減弱するとともに、ほとんどの生理機能でそのサーカディアンリズムの振幅が減弱し、周期長が短くなっていく (Yamazaki. 2002, Hofman. 2006)。若年者と比較して高齢者では昼夜の深部体温の差、つまり振幅が低下しており、深部体温の最低点が 2 時間近く前進している (Czeisler. 1992)。加えて、加齢とともにメラトニンリズムも前進することがわかっている (Tozawa. 2003)。高齢化に伴う早朝覚醒の背景には、生体リズムが睡眠時間帯に対して相対的に前倒しになり、望ましい就床時刻より早くから眠気が出現し、望ま

しい起床時刻になる前に覚醒してしまうようになると考えられている (Lack, 2008)。以上の知見より、睡眠-覚醒や深部体温などの生体リズムは時計遺伝子の発現に影響を受けていると考えられる。

#### 3-4. 食事との関係を示す先行研究

睡眠や生体リズムに影響を与える要因は、ストレス、光、活動量、雑音などいくつも挙げられる (Brainard, 2001, Shapiro, 1981, Fontvieille, 1994) が、興味深いことに、それらの生理機能には摂取する食事の量や種類も深く関わっている。

高炭水化物食は、消灯してから睡眠のステージ 2 が出現するまでの期間を意味する入眠潜時を短縮する。高たんぱく質食 (たんぱく質 : 脂質 : 炭水化物 = 56:22:22)、高炭水化物食 (たんぱく質 : 脂質 : 炭水化物 = 22:22:56) および高脂肪食 (たんぱく質 : 脂質 : 炭水化物 = 22:56:22) を摂取した群を、コントロール群 (たんぱく質 : 脂質 : 炭水化物 = 15:35:50) と比較した研究では、高炭水化物食群のみ入眠潜時が有意に短縮された (Lindseth, 2013)。さらに、同じ内容の高炭水化物食 (炭水化物エネルギー比率 90%) でも就寝前の食事時間によって違いが現れ、就寝 1 時間前に摂取する群と比較して就寝 4 時間前に摂取する群において入眠潜時が短縮した (Afaghi, 2007)。

しかしながら睡眠構築へ与える影響に関しては、高炭水化物食が深い睡眠を減少させるという報告で一致している。ヒトを対象とした研究としては、Phillips 等が 1975 年に、低炭水化物食 (たんぱく質 : 脂質 : 炭水化物 = 10:77:13) と比較して高炭水化物食 (たんぱく質 : 脂質 : 炭水化物 = 10:10:80) を摂取した群において、深睡眠が減少し REM 睡眠が増加すると報告した (Phillips, 1975)。その後も、Afaghi 等が通常食 (たんぱく質 : 脂質 : 炭水化物 = 15.5:12.5:72) と比較し超低炭水化物食 (たんぱく質 : 脂質 : 炭水化物 =

38:61:1)を摂取した群において深睡眠が増加すると報告した (Afaghi. 2008)。

一方で高脂肪食の摂取がヒトの睡眠構築に与える影響については検討されていない。しかしながら、動物実験からは高脂肪食が睡眠-覚醒サイクルを変化させる知見が得られている。明暗サイクルの影響を除外するために恒暗状態としたマウスに通常食(たんぱく質：脂質：炭水化物=16:27:57) または高脂肪食(たんぱく質：脂質：炭水化物=10:45:35)を与えると、高脂肪食を与えている群では概日行動周期が後退すると報告された (Kohsaka. 2007)。さらに、この高脂肪食による行動周期の遅延は、摂取する食事に含まれる飽和脂肪酸によって引き起こされている可能性が示唆されている。通常食、高飽和脂肪酸食、高一価不飽和脂肪酸食のそれぞれで飼育したマウスは、摂食リズム、睡眠-覚醒リズムに差異が観察され、高飽和脂肪酸食群において明期の NREM 睡眠が減少し、暗期の覚醒が減少したと報告された (Sartorius. 2012)。また、高脂肪食の中でも、炭水化物比率を 1%以下として脂質比率を高めたケトン体ダイエットをマウスに 14 日間投与すると、時計遺伝子の 1 つである *Period2* の頂点位相が 4 時間から 8 時間程度前進し、早い時刻に目覚めて活動を始めるようになることが確認された (Oishi. 2009)。これらの知見は、高脂肪食の摂取がヒトの睡眠や生体リズムにも影響を与える可能性を示す。

高炭水化物食が深い睡眠を減少させるという知見に関しては、2 つの先行研究で結果が一致している (Phillips. 1975, Afaghi. 2008)。しかしながら、Phillips 等は睡眠ステージの経時変化を示していないため、睡眠構築に関する評価は不完全である。Afaghi 等は通常食と超低炭水化物食とで、たんぱく質エネルギー比率が異なっている。たんぱく質の構成材料であるアミノ酸には、睡眠に影響を与えるアミノ酸もあると分かっている (Spinweber. 1983)。これらの理由より、高炭水化物食が睡眠に与える影響について、



条件を統一して再検討を行う必要があると考えられる。また、高脂肪食が睡眠構築のどのような影響を及ぼすのかは不明であるが、詳細な検討を行うためには食品中に含まれる脂肪酸の種類に注目する必要があると言える。

#### 4. アスリートにとって睡眠の意義

健康づくりの3要素とされている運動・栄養・休養の中で、休養に含まれる要素である睡眠は、アスリートにとって極めて重要である。十分な睡眠を確保することが運動パフォーマンスを向上させると示した先行研究として、バスケットボール選手についての介入研究がある。バスケットボール選手を被験者とし、10時間睡眠を6週間継続させる介入をすることで、フリーシュートやスリーポイントシュートの成功率や心理テストの成績が介入前よりも向上したと報告された (Mah. 2011)。また、アスリートを被験者としたクロスオーバー試験において、睡眠時間が6時間以下の睡眠不足試行と比較し睡眠時間が8時間以上の試行では、ベンチプレスやスクワットなどの多関節トレーニングの成績が向上し、各種目の総負荷量が増加した (Cook. 2012)。急性効果を検討する研究では、30時間睡眠を取っていない睡眠不足群と比較し、十分に睡眠をとった群ではトレッドミルによる持久力テストの成績が優れていた (Oliver. 2009)。睡眠とアスリートのパフォーマンスに関するエビデンスをまとめた総説では、「自律神経系や免疫系、思考能力など、運動に直接関連するさまざまな機能を低下させる。結果として、運動能力に悪影響を及ぼす可能性がある」と説明されている (Fullagar. 2015)。

睡眠の中で第一周期の深睡眠が最も重要であると考えられている。第一周期の深睡眠出現期間には交感神経活動が大きく低下する。そのため自律神経のバランスを整える働きとして必要不可欠であり (Ako. 2003)、加えて第一周期の深睡眠が不足することが夜

間の睡眠-覚醒サイクル全体を乱れさせるということも知られている (Endo. 1998)。さらに、入眠直後に出現する睡眠第一周期の深睡眠の間には、成長ホルモンの分泌が引き起こされる (Takahashi. 1968)。成長ホルモン受容体作用阻害薬を投与し、成長ホルモンの生理作用を抑制した結果、持久力の低下が認められたという報告もあるため (Goto. 2008)、睡眠第一周期の深睡眠をしっかりと確保することが、アスリートにとって重要であると言える。第一周期の深睡眠が減少すると、翌日の主観的な眠気指数が高まる (Yoshida. 1998)。これらの報告は、休養として十分な時間と深い睡眠をとることはアスリートの体調管理、およびパフォーマンス向上のための重要な要素であることを示している。

## 5. 睡眠とエネルギー代謝との関連

エネルギー代謝と睡眠は、多くの生体内分子機構を共有している。その関連性を示す1つとして、睡眠ステージとエネルギー代謝、および酸化基質には相互関係があることを私の所属する研究グループはすでに明らかにしている (Katayose. 2009)。睡眠ステージ2および深睡眠と比較し、REM 睡眠の間のエネルギー消費量は有意に高値を示し、さらに深睡眠と比較しREM 睡眠の間の炭水化物酸化量は有意に高値を示した。加えて、睡眠時のエネルギー消費量と炭水化物酸化量は、REM 睡眠や入眠後の短時間の覚醒時と比較し深睡眠で低値となることを報告している (Kayaba. 2017)。一方で、動物実験では長期間絶食させることでエネルギーの主な酸化基質が炭水化物から脂質へと移行するが、絶食を続けることで深睡眠も増加していくと報告された (Dewasmes. 1984)。ヒトを対象とした実験でも同様に、2-3 日の絶食を行うと深睡眠が増加する (MacFadyen. 1973)。これらの報告は、生体内のエネルギー基質が睡眠の深さに関与しており、酸化

基質の変化に伴って睡眠構築も変化する可能性を示唆した。以上の知見より、食事が睡眠に与える影響をより明確にするためには、エネルギー代謝と脳波を同時に測定し結果を検討する必要があることが示された。

## 研究課題の設定

文献研究の結果、以下の点が課題であると考えられる。

1. 高炭水化物食や高脂肪食は、アスリートの食事として最も実践されている手法であるが、それらの栄養素の摂取量が睡眠に及ぼす影響に関して検討した研究は十分ではない。さらに、栄養摂取条件を変化させた場合の、睡眠時脳波とエネルギー代謝の変化を同時に評価した研究は行われていない。
2. 食事に含まれる脂質を構成する脂肪酸組成の異なる食事が、睡眠を含む生体リズムに及ぼす影響について検討した研究は行われていない。

そこで本研究では、以下の3つの研究課題を設定した。

### 【研究課題 1】

就寝前の高炭水化物食または高脂肪食の摂取がエネルギー代謝と脳波に及ぼす影響

高炭水化物食または高脂肪食の摂取が、エネルギー代謝の変化を伴い睡眠構築に影響を及ぼすかどうか検討する。

### 【研究課題 2-1】

脂肪酸組成の異なる食事が、エネルギー代謝に及ぼす影響

高飽和脂肪酸食、または高一価不飽和脂肪酸食の含有率を高めた試験食を開発し、摂取した被験者のエネルギー代謝に及ぼす影響を検討する。

**【研究課題 2-2】**

脂肪酸組成の異なる食事が、エネルギー代謝と睡眠を含む生体リズムに及ぼす影響

研究課題 2-1 で開発した試験食の摂取が、エネルギー代謝および睡眠を含む生体リズムに及ぼす影響を検討する。

# 研究課題 1

## 1. 緒言

持久性スポーツでは、試合日の数日前から高糖質食を摂取することで一時的に体内のグリコーゲン貯蔵量を高める方法（グリコーゲンローディング）が有効だと考えられており、多くの競技選手や運動愛好家によって実践されている。しかしながら、コンディション維持やパフォーマンス向上に有効な食事計画を立てるためには、高炭水化物食の摂取によって引き起こされる食後の生理学的変化を正確に理解する必要がある。

食事は睡眠構築に影響を与える。ヒトを対象とした先行研究では、高炭水化物食は深睡眠を減少させ（Phillips. 1975）、反対に食事の炭水化物を減らすことで深睡眠は増加すると報告されている（Afaghi. 2008）。十分な睡眠をとることはバスケットボールのシュート成功率や多関節トレーニングの成績を向上させる（Mah. 2011）ため、アスリートにとって十分な睡眠時間と良質な睡眠をとることは重要である。一般の人々にとっても、睡眠不足や深睡眠の減少が肥満、インスリン抵抗性、2型糖尿病などの様々な生活習慣病のリスクファクターとなることが明らかとなっている（Chaput. 2011, Hsieh. 2011, Chandola. 2010）。筋肉・肝臓へのグリコーゲン貯蔵のみに着目するだけでなく、高炭水化物食が睡眠構築に与えている影響を明確にすることは、アスリートおよびスポーツ愛好家の食事内容を検討する上で必要不可欠である。

私の所属する研究グループは、エネルギー代謝と睡眠ステージが相互関係を持つことを報告している（Katayose. 2009, Kayaba. 2017）が、高炭水化物食や高脂質食の摂取が睡眠に及ぼす影響を検討した先行研究では、睡眠時のエネルギー代謝を評価していない

(Phillips. 1975, Afaghi. 2008, Kohsaka. 2007, Sartorius. 2012)。我々の使用するヒューマン・カロリメータはマスクを必要としない間接熱量測定室であるため、通常の睡眠を妨げることなくエネルギー代謝と睡眠時脳波を同時に測定することができる。本研究では、夕食の栄養素組成を変化させることによって睡眠期間の酸化基質を変化させた。そして、ヒューマン・カロリメータと睡眠ポリグラフを用いてエネルギー代謝の変化が睡眠構築に及ぼす影響を検討した。

## 2. 方法

### 2-1. 被験者

健康な若年男性 10 名を対象とした。対象者には、喫煙習慣のある者、定期的に服薬している者は含まれていなかった。本研究への参加に際して被験者には事前に実験の主旨、内容および起こりうる危険性について説明し、被験者本人が同意書への署名をした後に実験を実施した。被験者の身体特性を表 2 に示す。

表 2. 被験者の身体特性

年齢 (歳)	身長 (cm)	体重 (kg)	体脂肪率 (%)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
24.6 ± 0.7	173.8 ± 1.0	68.3 ± 2.5	17.2 ± 1.4	22.8 ± 0.7

(平均値 ± 標準誤差)

### 2-2. 実験プロトコル

本研究ではヒューマン・カロリメータを用いエネルギー代謝の測定を行った。ヒューマン・カロリメータ内は、温度、湿度が一定に保たれている。睡眠ポリグラフィの装着を行っているため、睡眠環境への適応期間が必要である。このため、より正確なデ

ータを得るために、本実験の測定前に、ヒューマン・カロリメータ内の環境と睡眠ポリグラフィの装着に慣れることを目的に予備試験を実施した。全ての被験者に通常の睡眠が得られたことを確認したうえ、3日から10日の期間を空けて本試験の測定を行った。

#### 2-2-1. 予備試験

被験者には21:00にヒューマン・カロリメータに来室してもらい、心拍呼吸送信機と睡眠ポリグラフィの装着を行った。装着終了後ヒューマン・カロリメータに入室してもらい、心拍呼吸送信機と睡眠ポリグラフィの動作確認を行った。本試験同様の0:00に消灯し、翌朝8:00に点灯を行いその期間のエネルギー代謝、脳波を測定した。点灯時刻以前に目が覚めてしまった場合にも点灯まではベッドに仰向けの状態で安静に過ごすように指示した。起床後には被験者に主観的睡眠に問題がなかったかを確認し、十分な睡眠の取れた被験者のみ本試験に参加してもらった。

#### 2-2-2. 本試験

本試験前日をDay1、当日をDay2、翌日をDay3とした。被験者はDay1の23:00にアクティグラフ(マイクロミニ ZP 型)を装着し、0:00から1:00の間に就寝し7:00から8:00の間に起床した。Day2の8:00から9:00の間に朝食を、12:00から13:00の間に昼食を摂取した。Day2には提供した規定食、水、麦茶以外の飲食は禁止し、運動、昼寝も禁止とした。19:30に被験者は研究室に来研し、身体測定(体重・身長・体脂肪率・血圧・体温)を行い体調異常がないか確認した。20:00に試験食を摂取し、就寝準備を済ませ21:30から心拍呼吸送信機と睡眠ポリグラフィの装着を開始した。



装着終了後ヒューマン・カロリーメータに入室してもらい、心拍呼吸送信機と睡眠ポリグラフィの動作確認を行った。23:40 から 15 分間の仰臥位安静時代謝を測定し、0:00 に消灯した。Day3 の 8:00 に点灯を行いその期間(0:00 から 8:00 までの 8 時間)のエネルギー代謝、脳波を測定した。点灯時刻以前に目が覚めてしまった場合にも点灯まではベッドに仰向けになって過ごした。8:05 から 15 分間の仰臥位安静時代謝を測定し、全尿を採取し 8:35 に退室とし、全ての測定を終了とした。上記試行を高脂肪食または高炭水化物食として 2 試行、ランダムな順番に行った。朝、昼の規定食と試験食の内容は以下に記載した(表 3、 4)。

表 3. Day2 の規定食

	エネルギー(kcal)	たんぱく質 (g)	脂質 (g)	炭水化物 (g)
朝食	842.8 ± 124.0	28.8 ± 4.9	17.9 ± 5.6	130.5 ± 15.3
昼食	842.8 ± 118.9	32.4 ± 3.8	21.9 ± 23.6	126.2 ± 7.0

(平均値 ± 標準誤差)

表 4. Day2 の夕食 (試験食)

	高炭水化物食試行				高脂肪食試行			
	エネルギー (kcal)	たんぱく質 (g)	脂質 (g)	炭水化物 (g)	エネルギー (kcal)	たんぱく質 (g)	脂質 (g)	炭水化物 (g)
ご飯	453	6.3	1.2	104.1				
パン	158	4.8	2.2	29.8	163	5.1	9.3	14.7
春雨	98	1.9	0.6	21.3				
クラッカー					30	0.8	1.3	3.6
乳製品	88	6.2	5.0	4.3	577	13.5	56.1	4.4
合計	798	19.2	9.0	159.5	770	19.4	66.7	22.7
PFC 比率(%)		10	10	80		10	78	12

## 2-3. 測定項目

### 2-3-1. ヒューマン・カロリメータについて

ヒューマン・カロリメータ(富士医科産業、FHC-15S)は、被験者が密閉された部屋(2.00 × 3.45 × 2.10 m)に滞在することで、エネルギー消費量を連続的に測定する方法である。日常生活に近い環境での測定を可能にするため、トイレ、洗面台、テレビ、ベッド、机、椅子などを備え付けてある。またトレッドミルや自転車エルゴメーターを持ち込むことも可能である。従来のダグラスバッグによる方法とは違い、身体に特別な機器を取り付けず、食事や睡眠、運動などによるエネルギー消費量やエネルギー基質の酸化量を24時間あるいはそれ以上の長時間にわたって測定できることが最大の特徴である。

その仕組みは酸素摂取量( $\dot{V}O_2$ )と二酸化炭素排出量( $\dot{V}CO_2$ )、および尿中窒素排泄( $\dot{N}$ )からエネルギー消費量を推定する間接熱量測定である。室内は気温 25°C、湿度 55%に制御されている。常に一定量の新鮮な外気が供給されており、外部から取り入れられた空気が室内で十分に混合された後、排気口に吸引される。室内からの排気流量の計測、温度、湿度、気圧の計測を行い、質量分析計によって酸素濃度と二酸化炭素濃度が計測される。

ヒューマン・カロリメータを用いて酸素濃度および二酸化炭素濃度変化を記録し、Deconvolution 法(Tokuyama, 2009)を用いて被験者1分毎の $\dot{V}O_2$ および $\dot{V}CO_2$ を算出した。得られた $\dot{V}O_2$ と $\dot{V}CO_2$ 、尿中窒素排泄量( $\dot{N}$ )により、以下の式から三大栄養素の酸化量を推定した(Ferrannini, 1988)。

$$\text{式①：炭水化物酸化量(kcal/min)} = 4.55 \times \dot{V}CO_2 \text{ (l/min)} - 3.21 \times \dot{V}O_2 \text{ (l/min)} - 2.87 \times \dot{N} \text{ (g/min)} \times 3.74$$

式②：脂質酸化量(kcal/min) =  $1.67 \times \dot{V}O_2$  (l/min) -  $1.67 \times \dot{V}CO_2$  (l/min) -  $1.92 \times \dot{N}$  (g/min) ×

9.5

式③：たんぱく質異化量(kcal/min) =  $\dot{N}$  (g/min) × 25.625

式④：エネルギー消費量(kcal) = 炭水化物酸化量(kcal/min) + 脂質酸化量(kcal/min) + た  
んぱく質異化量(kcal/min)

### 2-3-2. ヒューマン・カロリメータの精度検証について

使用する質量分析計に4種類の校正ガス(校正ガス 1 CO<sub>2</sub>: 5.11%, <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>: 0.0573%, Ar: balance、校正ガス 2 O<sub>2</sub>: 15.03%, CO<sub>2</sub>: 5.10%, Ar: 1.004%, <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>: 0.0572%, N<sub>2</sub>: balance、校正ガス 3 O<sub>2</sub>: 21.05%, CO<sub>2</sub>: 0.0329%, Ar: 0.932%, N<sub>2</sub>: balance、校正ガス 4 He)による感度校正を実施して使用した。アルゴリズムを用いたエネルギー代謝の測定精度を評価するため、アルコール燃焼試験を実施した。チャンバー内部に、組成が判明しているアルコール(エタノール:99.5%、メタノール:0.02%、キシダ化学)を満たしたアルコールランプを電子天秤に乗せ、内部の空気を外部の空気と一致させるため一晩以上扉を閉めておく。アルコールランプに点火する際に室内の酸素および二酸化炭素濃度を変化させないよう素早く、極力呼吸をしないよう留意して行なう。アルコールランプを一定時間燃焼させ、その間の重量変化を記録することで燃焼したアルコールの量を計測した。燃焼したアルコールの重量と1molのエタノールおよびメタノールが完全燃焼する際に必要な酸素、生じる二酸化炭素を以下の燃焼反応式からそれぞれ産出し、合計を理論値とした。

・エタノール由来の酸素消費量および二酸化炭素産生量

エタノールの燃焼反応式(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH + 3O<sub>2</sub> → 2CO<sub>2</sub> + 3H<sub>2</sub>O)から、エタノール1molの燃焼

に対して 3mol の酸素が消費され、2mol の二酸化炭素が産生される。エタノールの分子量が 46 であること、標準状態の気体の体積が 1mol あたり 22.4L であることから以下の式によって酸素消費量と二酸化炭素産生量を算出した。

酸素消費量： 燃焼したアルコール重量  $\times 0.995/46 \times 3\text{mol} \times 22.4\text{L}$  二酸化炭素産生量:  
燃焼したアルコール重量  $\times 0.995/46 \times 2\text{mol} \times 22.4\text{L}$

・メタノール由来の酸素消費量および二酸化炭素産生量

メタノールの燃焼反応式( $2\text{CH}_3\text{OH} + 3\text{O}_2 \rightarrow 2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2\text{O}$ )から、メタノール 1mol の燃焼に対して 1.5mol の酸素が消費され、1mol の二酸化炭素が産生される。メタノールの分子量が 32 であること、標準状態の気体の体積が 1mol あたり 22.4L であることから以下の式によって酸素消費量と二酸化炭素産生量を算出した。

酸素消費量： 燃焼したアルコール重量  $\times 0.0002/32 \times 1.5\text{mol} \times 22.4\text{L}$  二酸化炭素産生量:  
燃焼したアルコール重量  $\times 0.0002/32 \times 1\text{mol} \times 22.4\text{L}$

以上の手順で得られた理論値と Henning のアルゴリズムで算出した実測値から、酸素消費量、二酸化炭素産生量および呼吸商の回収率(実測値/理論値  $\times 100$ )を求めることで精度検証を行なった。その結果、回収率は 98~102%の範囲内であることを確認した。

### 2-3-3. 睡眠構築と脳波の周波数解析

睡眠を客観的に評価する方法としては、睡眠ポリグラフィ(PSG)検査があり、睡眠医学の臨床や睡眠実験研究において最も標準的に行われている。睡眠時の脳波は、急速眼球運動(REM: rapid eye movement)がみられる REM 睡眠と NREM 睡眠に分けられ、NREM 睡眠はさらに stage 1、stage 2、stage 3 (深睡眠)に分けられる。R&K 法(Rechtschaffen, 1968)

に基づいた睡眠段階判定基準 (Hori. 2001) によると、stage 1 では眼球運動が緩徐であり、脳波は覚醒閉眼時にみられた周期的なアルファ活動に代わり、低電位の様々な周波数が混在した脳波活動(low voltage mixed frequency: LVMF)が背景波を構成するようになる (図 3)。アルファ波の占める割合が 1 エポック(30 秒)の 50%未満になると stage 1 と判定される。Stage 2 では、眼球運動が消失し、LVMF 活動に睡眠紡錘波や K 複合が混入する。徐波睡眠は 高振幅なデルタ波が主流になるのが特徴で眠りが深い状態である。睡眠ポリグラフィ検査を実施し、脳波(C3/A2, C4/A1, O1/A2, O2/A1)と眼電図、頤筋電図を測定した。機器は Alice5 (Philips Respironics, Tokyo, Japan)を使用した。睡眠段階は、どちらの試行か知らされていない技師により、R&K 法に基づいて視察判定が行なわれた。また、得られたデータは 5 秒ごとに分割し、各時系列から直線成分を除き、ハニング窓関数を当てはめデータの平滑化を行なったのち、周波数分解能は 0.2Hz でスペクトル解析を行い、30 秒ごとの平均スペクトルを計算した(Zhang. 2008)。周波数領域はデルタパワー(0.75-4.00Hz)とし、2 試行間で比較した。デルタ波は深睡眠の期間に出現し正常成人の閉眼安静時脳波にはほとんど出現しないという特徴がある(大熊. 1991)ため、睡眠の深さを客観的に評価するために解析した。

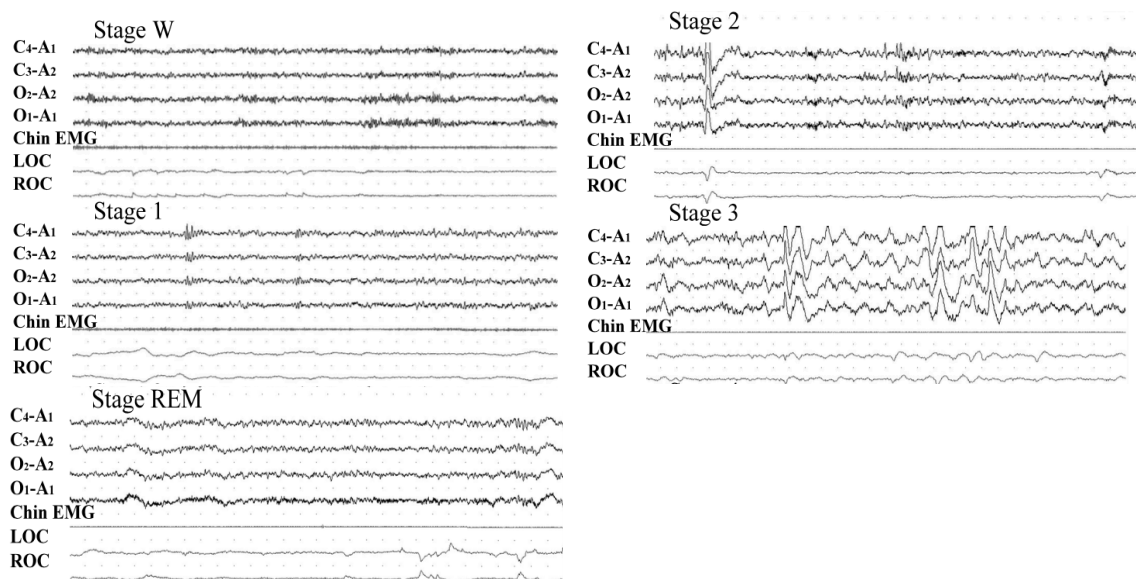


図3. 各ステージの睡眠脳波 (野田, 2008)

#### 2-3-4. 心拍数および自律神経活動

ヒューマン・カロリメータ入室前に心拍呼吸送信機(FUKUDA 電子株式会社、東京)を装着させた。測定データは患者監視用装置(FUKUDA 電子株式会社、東京)に送信、パーソナルコンピュータに転送した。転送されたデータは、心拍ゆらぎリアルタイム解析システム Mem Calc/Tawara(株式会社ジー・エム・エス、東京)により解析した。本測定装置では、心拍数と同時に自律神経の活動の指標として LF、HF 値を得た。LF 値は 0.004 から 0.15Hz の同波数帯のパワースペクトルのことである。この値は、交感神経と副交感神経の両方の活動を反映すると言われている。LF 周波数帯は 1/1000 秒の 2 乗で計算される。HF 値は 0.15 から 4Hz の周波帯のパワースペクトルのことである。この値は、副交感神経の活動を反映すると言われている。HF 帯は 1/1000 秒の 2 乗で計算される。LF/HF は LF と HF のパワーの比率のことで、この値は交感神経と副交感神経の活動の全体のバランスを表す。数値が高いと交感神経の活動の優位を、低い場合は副交感神経の活動の優位を示すことから交感神経の活動の指標として用いられている。

## 2-3-5. 活動量

被験者は Day1 の就寝前から Day3 にヒューマン・カロリメータから退室するまで、非利き腕にアクチグラフを装着し、身体活動量を記録した。

## 2-4. 統計処理

各測定項目の値は特記がない場合、平均値±標準誤差(Mean ± SEM)で示した。

統計処理には SPSS(SPSS Ver19、エスピーエスエス株式会社、東京)を用いた。本研究では消灯を 0:00 とし、点灯を 8:00 とした。そのため、0:00 から 8:00 までの 480 分を睡眠全体と表記する。また、睡眠周期毎に第三周期までの解析を行った。

睡眠全体の検定は対応のある t 検定により比較検討した。睡眠周期毎の検定は、条件(高脂肪食または高炭水化物食)、時間(第一周期、第二周期、第三周期)を要因とし、2 要因の分散分析(Two-way analysis of variation; ANOVA)を用い、交互作用(条件×時間)および主効果の有無を検定した。ANOVA により交互作用または主効果が認められた場合には、Bonferroni の方法を用い多重比較検定を行った。有意差の検定には危険率 5% 未満を採用した。

## 3. 結果

### 3-1. 睡眠中エネルギー代謝の経時変化および睡眠ステージ

睡眠中エネルギー代謝の経時変化および睡眠ステージの結果として 1 例を図 4 に示した。エネルギー消費量は、高炭水化物食試行は 463kcal/480 分、高脂肪食試行は 463kcal/480 分であり、同等の値となった。しかしながら、睡眠中の酸化基質は夕食の栄養素組成の影響を受け大きな差異を示した。高脂肪食試行と比較し高炭水化物食試行

において、炭水化物酸化量は高値を示し脂質酸化量は低値を示した。その酸化基質の差異は、特に睡眠の前半に明確に観察された。入眠後最初の睡眠ステージ2が出現してからREM睡眠の終了までを睡眠周期とし、この例では睡眠期間中に第四周期までが出現した。睡眠期間全体の深睡眠出現時間は、高炭水化物食試行は35.5分、高脂肪食試行は35.0分であり、2試行間で同等の値であった。

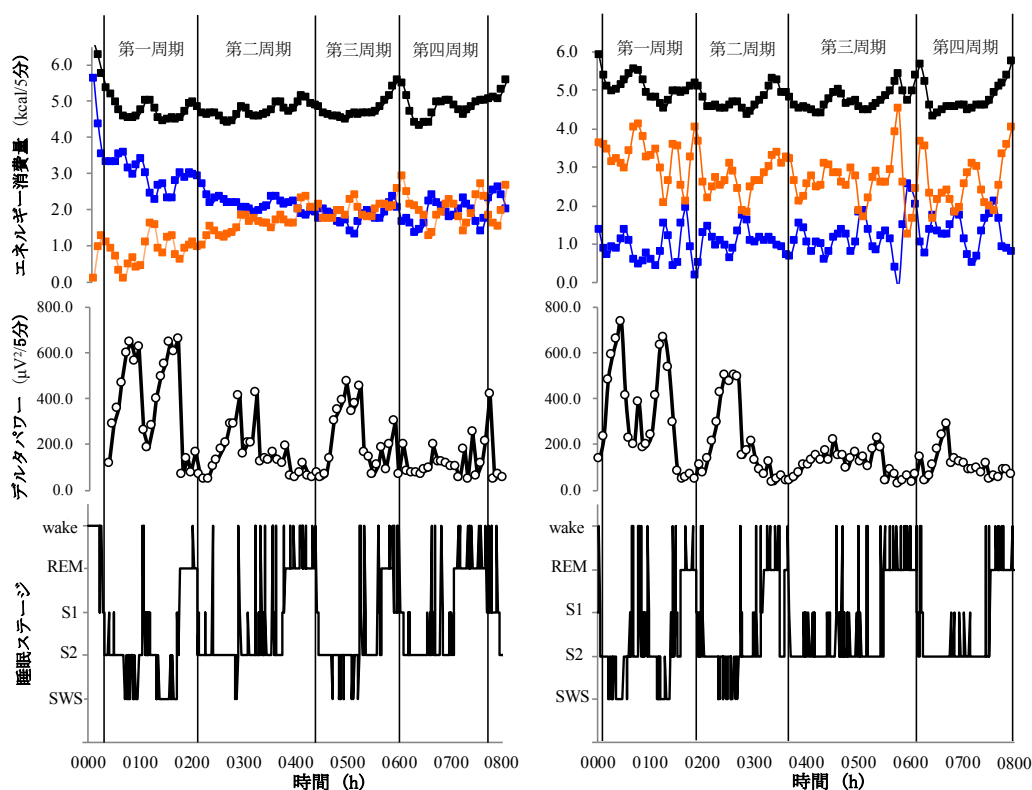


図4. エネルギー代謝、デルタパワーおよび睡眠ステージの経時変化  
 高炭水化物食試行（左図）、高脂肪食試行（右図）  
 (■：エネルギー消費量、■：炭水化物酸化量、■：脂質酸化量)

### 3-2. 睡眠構築

睡眠構築の各パラメータを表5に示した。睡眠時全体で評価した場合には、2試行間



の各パラメータに有意な差は観察されなかった。睡眠周期ごとに評価した場合には、高脂肪食試行と比較し高炭水化物食試行において睡眠第一周期の深睡眠出現時間が有意に減少した (P<0.05) (図 5)。睡眠第四周期には深睡眠は出現しなかったため、データの記載はない。

周波数解析に関しても睡眠周期ごとに評価した場合には、高脂肪食試行と比較し高炭水化物食試行において睡眠第一周期のデルタパワーは有意に減少した (高炭水化物食試行 :  $410569 \pm 48059 \mu V^2$ 、高脂肪食試行 :  $553152 \pm 75790 \mu V^2$ 、P<0.05) が、第二、第三周期に差は観察されなかった。

表 5. 睡眠全体の各パラメータ

	高脂肪食試行(分)		高炭水化物食試行(分)		Pvalue
総臥床時間	480		480		
総睡眠時間	454.4	± 2.1	447.3	± 5.8	0.155
Wake	20.1	± 1.9	29.8	± 8.7	0.314
REM	81.3	± 8.9	87.2	± 5.6	0.545
ステージ 1	61.3	± 5.8	74.4	± 24.7	0.607
ステージ 2	290.5	± 8.3	261.4	± 29.9	0.265
ステージ 3	20.4	± 5.7	17.3	± 6.7	0.450
睡眠潜時	5.1	± 0.9	11.7	± 5.5	0.236
睡眠効率(%)	94.6	± 0.4	93.3	± 1.4	0.142

(平均値 ± 標準誤差)

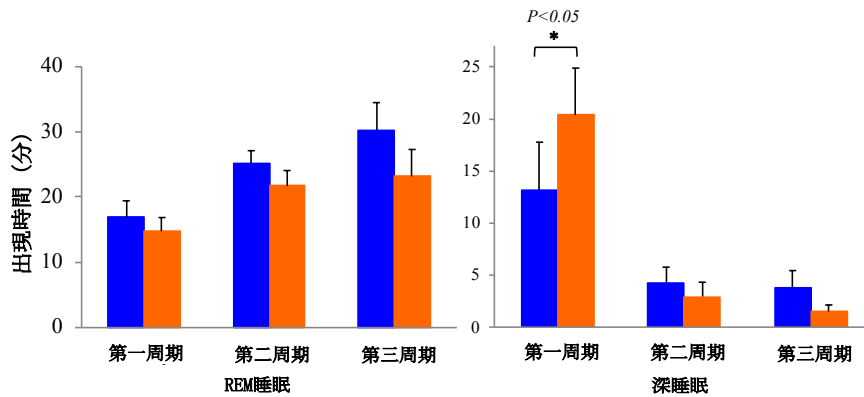


図 5. 睡眠周期毎の REM 睡眠（左図）、および深睡眠出現時間（右図）  
 (■：高炭水化物食試行、■：高脂肪食試行 \*：P<0.05)

### 3-3. 睡眠時エネルギー代謝

睡眠期間におけるエネルギー代謝の経時変化を図 6 に示した。高脂肪食試行と比較し、高炭水化物食試行は睡眠期間全体における炭水化物酸化量が有意に高値を示し（高炭水化物食試行：265 ± 20 kcal/480 分、高脂肪食試行：167 ± 22 kcal/480 分、P<0.05）、脂質酸化量が有意に低値を示した（高炭水化物食試行：158 ± 22 kcal/480 分、高脂肪食試行：269 ± 13 kcal/480 分、P<0.05）。一方、エネルギー消費量は 2 試行間に有意な差は観察されなかった（高炭水化物食試行：514 ± 18 kcal/480 分、高脂肪食試行：522 ± 21 kcal/480 分、NS）。

睡眠周期ごとに 2 試行のエネルギー代謝を評価した場合には、酸化基質の有意な差異は睡眠第一周期、および第二周期でのみ観察された（図 7）。

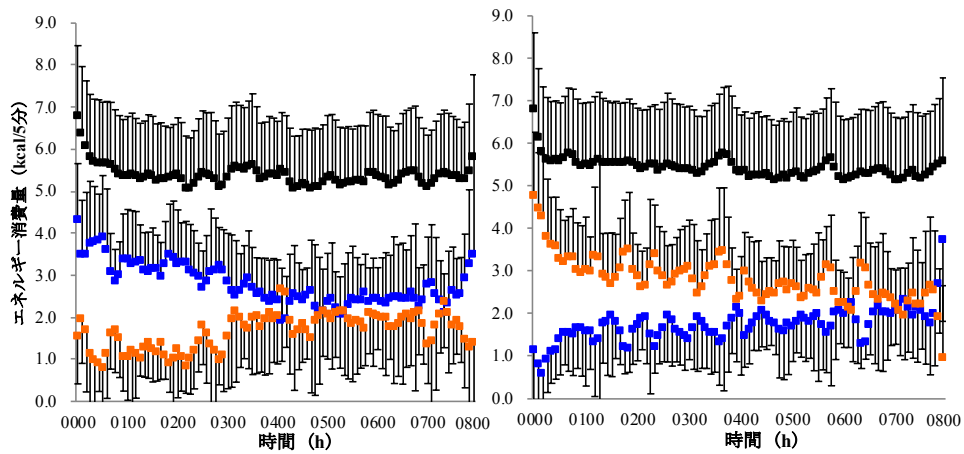


図 6. 睡眠時エネルギー代謝の経時変化  
 高炭水化物試行（左図）、高脂肪食試行（右図）  
 (■：エネルギー消費量、■：炭水化物酸化量、■：脂質酸化量)

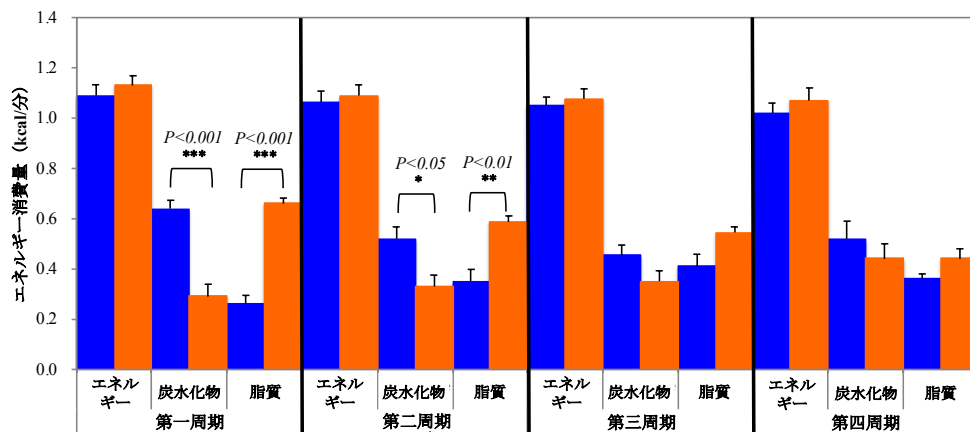


図 7. 睡眠周期毎のエネルギー代謝  
 (■：高炭水化物食試行、■：高脂肪食試行 \*：P<0.05、\*\*：P<0.01、\*\*\*：P<0.001)

### 3-4. 睡眠期間における自律神経活動

睡眠期間全体における交感神経活動は、2 試行間に有意な差は観察されなかった（高炭水化物食試行： $2.92 \pm 0.34$ 、高脂肪食試行： $2.75 \pm 0.24$  /480 分、N.S）。また、副交

感神経活動も同様に2試行間に有意な差は観察されなかった（高炭水化物食試行：850 ± 159、高脂肪食試行：896 ± 188 /480分、N.S）。睡眠周期ごとに評価した場合にも、自律神経活動には2試行間の有意な差は観察されなかった。

### 3-5. 試験当日の身体活動

Day1 から Day2 にかけての睡眠時間は、2試行間に有意な差は観察されなかった（高炭水化物食試行：440.5 ± 16.0分、高脂肪食試行：428.5 ± 16.0分、N.S）。また、Day2 の6:00 から24:00 の間の身体活動（高炭水化物食試行：157.0 ± 12.2 counts/分、高脂肪食試行：155.2 ± 8.6 counts/分、N.S）、および睡眠期間の身体活動（高炭水化物食試行：12.3 ± 2.4 counts/分、高脂肪食試行：11.2 ± 1.5 counts/分、N.S）に有意な差は観察されなかった。

## 4. 考察

本研究の主たる知見は、夕食での高脂肪食摂取と比較し高炭水化物食摂取により、睡眠の第一周期にて出現する深睡眠が減少したことである。さらにエネルギー代謝に関しては、高脂肪食摂取と比較し高炭水化物食摂取により睡眠の第一周期、第二周期の炭水化物酸化量が増加し、脂質酸化量が低下した。

夕食の栄養素組成の差異が及ぼす睡眠への影響は、本研究においては睡眠第一周期でのみ観察された。Phillips 等は、低炭水化物食（たんぱく質：脂質：炭水化物=10:77:13）と比較し高炭水化物（たんぱく質：脂質：炭水化物=10:10:80）が睡眠期間全体の深睡眠を減少させることを1975年に報告した（Phillips, 1975）。この実験で被験者が摂取した食事は、本研究で採用した食事と同等の栄養素組成であるが、夕食のみの介入である本研

究と異なり 2 日間連続の食事介入を行っていた。本研究との結果の差異は、食事介入期間の違いによるものであると考えられるが、夕食のみの介入であっても入眠初期の睡眠構築に影響を与えることが示された。

私の所属する研究グループは以前に、炭水化物酸化量が睡眠ステージによって異なることを報告している (Katayose. 2009, Kayaba. 2017)。具体的には、REM 睡眠、ステージ 1 および 2、深睡眠の順で炭水化物酸化量は大きい。炭水化物酸化量と睡眠ステージとの間の相互関係は現在まで明確になっていないが、高炭水化物食摂取による炭水化物酸化量の増大が、深睡眠の出現を抑制している可能性がある。この仮説と一致して、通常食 (たんぱく質 : 脂質 : 炭水化物=15.5:12.5:72) と比較して炭水化物のエネルギー比率を 1%とした超低炭水化物食(たんぱく質 : 脂質 : 炭水化物=38:61:1)の摂取が、深睡眠を増加させたという報告もある (Afaghi. 2008)。一方で、脂質酸化量が増大したことによって深睡眠の出現が促進されたという考え方もある。Jenkins 等は高脂肪の食餌を摂取させることで肥満化していくマウスの睡眠を測定した (Jenkins. 2006)。その結果、深睡眠の増加は体重の増大と有意な相関を示した。しかしながら、高脂肪の給餌が深睡眠を増加させる効果は肥満が誘発されるよりも先に観察されており、マウスの体重増加よりも脂質酸化量の増大と深睡眠とが関連があった可能性が考察されている。ガチョウまたはヒトを対象とした実験でも、断食によってエネルギー基質が炭水化物から脂質に移行した場合に、深睡眠も増加していた (Dewasmes. 1984)。酸化基質と睡眠構築との相互関係はまだ十分に明らかとなっていないが、高脂肪食の摂取によって増加するケトン体には深睡眠を増加させる働きがあると報告されている (Chikahisa. 2008) ため、脂質酸化量の増大が睡眠調節の重要な要因となっているのかもしれない。

カーボローディングを目的とした高炭水化物食は、アスリートの食事手法として最も

主流なものである。しかしながら、高炭水化物食を摂取した後の睡眠構築への影響に関する知見はほとんど報告されていない。第一周期の深睡眠の減少は、睡眠全体の質の低下につながり、運動パフォーマンスおよび自律神経系、免疫系および思考能力など運動に直接関連する多くの生体機能を低下させる（Mah. 2011, Cook. 2012, Oliver. 2009, Fullagar. 2015）ため、極端な高炭水化物を試合前日やトレーニング期間の夕食に摂取する際には、睡眠への影響を考慮する食事計画を立てることが必要である。

## 5. 結論

夕食での高炭水化物食摂取は、高脂肪食摂取と比較し睡眠中の炭水化物酸化量を増加させ、脂質酸化量を低下させる。そして、入眠初期の深睡眠を減少させる。本研究結果より試合前やトレーニング期間の夕食での高炭水化物食摂取は、喫食者の睡眠の質を低下させている可能性が示された。

## 研究課題 2-1

### 1. 緒言

研究課題 1 の結果から、高炭水化物食の摂取は睡眠の質を低下させる可能性が示唆された。高炭水化物食を摂取するカーボローディングはアスリートの最も主流な食事手法であるとされるが、一方で高脂肪食を摂取することで脂質代謝を亢進させるファットローディング という手法もある。近年、ファットローディングの有効性を示す総説が発表され、高脂肪食によってパフォーマンスが向上する可能性を示す結果が報告されている (Burke. 2015, Miller. 1984)。食事で摂取した脂質をエネルギーとして効率的に利用できるようになる「fat adaptation」の状態に達するためには、数ヶ月の適応期間が必要であるとされているため (Volek. 2016, Hawley. 2011)、高脂肪食の効果を活用するためには中・長期間に渡る食事介入が必要となる。

食事に含まれる脂質の主成分である脂肪酸は、構造の違いにより「飽和脂肪酸」と「不飽和脂肪酸」の 2 種類に分類される。一般的に飽和脂肪酸の豊富な食事と比較し、一価不飽和脂肪酸や多価不飽和脂肪酸の豊富な食事を摂取することで、体脂肪が減少し血糖値の上昇を抑制することができると報告されている (Gillingham. 2011, Simopoulos. 2016, Hashimoto. 2017)。近年では、通常食、飽和脂肪酸食、一価不飽和脂肪酸食で飼育したマウスは、摂食リズムや睡眠-覚醒リズムに差異が観察されることが分かり、高飽和脂肪酸食群において明期の NREM 睡眠が減少し、暗期の覚醒が減少すると報告された (Sartorius. 2012)。この報告は、摂取する脂肪酸の種類によって生体リズムが影響を受ける可能性を示した。

Fat adaptation による運動パフォーマンス向上やコンディション維持の効果を最大限に

発揮するためには、摂取する高脂肪食に含まれる脂肪酸の種類の違いがエネルギー代謝や生体リズムに及ぼす影響を明確にする必要がある。特定の種類の脂肪酸を摂取させるために、本研究では小麦粉に異なる油脂（高飽和脂肪酸または高不飽和脂肪酸）を練りこんで焼きあげた試験食を開発した。研究課題 2-1 ではその試験食を用いて、脂肪酸組成の異なる食事がエネルギー代謝に及ぼす影響を検討した。

## 2. 方法

### 2-1. 被験者

健康な若年男性 10 名を対象とした。対象者には、喫煙習慣のある者、定期的に服薬している者は含まれていなかった。本研究への参加に際して被験者には事前に実験の主旨、内容および起こりうる危険性について説明し、被験者本人が同意書への署名をした後に実験を実施した。被験者の身体特性を表 6 に示す。

表 6. 被験者の身体特性

年齢 (歳)	身長 (cm)	体重 (kg)	体脂肪率(%)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
25.3 ± 1.0	171.7 ± 1.6	67.2 ± 3.6	16.3 ± 1.7	22.7 ± 0.9

(平均値 ± 標準誤差)

### 2-2. 本実験プロトコル

本実験は、被験者 1 人が 2 試行を行うシングルブラインド・クロスオーバーデザインで実施した。本試験前日を Day1、当日を Day2、翌日を Day3 とした。被験者は Day1 の起床時 (7:00~8:00 の間) にアクチグラフ(マイクロミニ ZP 型)を装着した。21:00 に研究室に来研し、身体測定(体重・身長・体脂肪率・血圧・体温)を行い体調異常がな



いか確認した。心拍呼吸送信機の装着、深部体温計を装着し 22:00 にヒューマン・カロリーメータに入室、22:40 から就寝準備を整え 23:00 に消灯した。Day2 の 7:00 に点灯を行い、トイレを済ませその後は座位安静とした。8:00、12:30、19:00 に食事を摂取し、22:45 から就寝準備を済ませ 23:00 に消灯した。Day3 の 7:00 に点灯し、全尿を採取、7:30 に退室した。Day3 の 7:30 退出後全ての測定を終了とし、Day2 の 7:00 から Day3 の 7:00 まで、24 時間を結果として採用した。上記試行を高飽和脂肪酸食または高不飽和脂肪酸食として用いて、ランダムな順番に行った。

### 2-3. 食事

被験者には Day1 の朝食から Day2 の夕食まで計 6 食が提供され、Day1 は自宅、Day2 はヒューマン・カロリーメータ内で摂取した。食事量は日本人の食事摂取基準（2015 年版）をもとに、身体活動レベルを Day1 : 1.75、Day2 : 1.30 として一日の食事量を算出し、それを 3 分割して 1 食の量を決定した。Day1 の規定食の平均エネルギー量は  $2625 \pm 132$  kcal/Day、エネルギー量に対する 3 大栄養素エネルギー比率はたんぱく質 15%、脂質 24%、炭水化物 64%であった。

Day2 に摂取した試験食では、油脂の材料をパーム油（高飽和脂肪酸）、またはレイプシード油（高不飽和脂肪酸）としたマフィンを主食として摂取した。このマフィンの調理方法は、パーム油またはレイプシード油（8g）を小麦粉に練りこみ、卵(11g)、砂糖（3g）、水（8g）を加え、180℃に加熱したオーブンで約 25 分焼くことで作成した（図 8）。1 個当たりのエネルギー量、および 3 大栄養素の量は同等であり、外観や味に特別な違いはない。被験者はこのマフィンに加えて主菜、副菜を組み合わせる試験食とした。Day2 の試験食の平均エネルギー量は  $2085 \pm 101$  kcal/day、エネルギー量に対する 3 大栄

養素エネルギー比率はたんぱく質 15%、脂質 42%、炭水化物 43%であった。Day2 の試験食の脂肪酸組成は以下に記載した（表 7）。



図 8. 脂肪酸組成の異なるマフィン

高飽和脂肪酸マフィン（左図）、高不飽和脂肪酸マフィン（右図）

表 7. Day2 試験食の脂肪酸組成

	高飽和脂肪酸食	高不飽和脂肪酸食
栄養素比率(%エネルギー)		
たんぱく質	15	15
脂質	42	42
炭水化物	43	43
脂肪酸プロフィール (g/100g)		
パルミチン酸	37.6	7.8
オレイン酸	41.6	57.6
リノール酸	12.5	19.9
ステアリン酸	4.9	2.9
$\alpha$ -リノレン酸	0.7	8.7
ミリスチン酸	1.0	0.2
パルミトオレイン酸	0.5	0.5
エイコサペンタエン酸	0.0	0.0
ドコサヘキサエン酸	0.1	0.1
アラキドン酸	0.2	0.2
脂肪酸の割合 (%)		
飽和脂肪酸	44.3	11.7
一価不飽和脂肪酸	42.3	59.3
多価不飽和脂肪酸	13.4	29.0

## 2-4. 測定項目

### 2-4-1. エネルギー代謝

ヒューマン・カロリメーター(富士医科産業 FHC-15S)を用いて酸素濃度および二酸化炭素濃度変化を記録し、Deconvolution 法(Tokuyama, 2009)を用いて被験者 1 分毎の $\dot{V}O_2$  および $\dot{V}CO_2$ を算出した。エネルギー消費量および三大栄養素の酸化量の推定は研究課題 1 と同様の手順で行なった。

#### 2-4-2. ヒューマン・カロリメータの精度検証

研究課題1と同じ手順で得られた理論値と Deconvolution 法(Tokuyama. 2009)によって算出した実測値から、酸素消費量、二酸化炭素産生量および呼吸商の回収率(実測値/理論値×100)を求めることで精度検証を行なった。その結果、回収率 98~102% 範囲内であることを確認した。

#### 2-4-3. 心拍数および自律神経活動

ヒューマン・カロリメータ入室前に心拍呼吸送信機(FUKUDA 電子株式会社、東京)を装着させた。データの処理については研究課題1と同様の方法で行なった。

#### 2-4-4. 深部体温

カプセル型の深部体温センサー (CorTemp™ 中核体温モニタリングシステム、HQInc.) を使用し、深部体温を測定した。Day1 のヒューマン・カロリメータ入室前に深部体温センサーを飲み込み、受信機の電源を入れベルト型の装着具に収納し腰部に装着し、深部体温センサーの測定値を受信し記録した。日内変動を示すパラメータから統計学的に周期や振幅、頂点の位相を定量する手法であるコサイナー法を用い、周期的に変動する深部体温データから周期回帰曲線を引き振幅、頂点位相を求めた。

#### 2-4-5. 活動量

被験者は Day1 の起床時から Day3 にヒューマン・カロリメータから退室するまで、非利き腕にアクチグラフを装着し、身体活動量を記録した。

## 2-5. 統計処理

各測定項目の値は特記がない場合、平均値 ± 標準誤差 (Mean ± SEM)で示した。深部体温に関してはデータ欠損が確認された3名を除き、n=7として処理を行い、統計処理にはSPSS(SPSS Ver 21、エスピーエスエス株式会社、東京)を用いた。24時間の検定は、各測定項目について対応のあるt検定により比較検討した。食後4時間毎についての検定は、条件(高飽和脂肪酸食、高不飽和脂肪酸食)、時間(after breakfast、after lunch、after dinner)を要因とし、2要因の分散分析(Two-way analysis of variation; ANOVA)を用い、交互作用(条件×時間)および主効果の有無を検定した。ANOVAにより交互作用または主効果が認められた場合には、Bonferroniの方法を用い多重比較検定を行った。各時間帯の食後脂質酸化量の試行間差についての検定は、時間(after breakfast、after lunch、after dinner)を要因とした1要因の分散分析(One-way ANOVA)を用いた。深部体温の日内変動をコサイナー法で分析した各値の検定については、対応のあるt検定により比較検討した。有意差の検定には危険率5%未満を採用した。

## 3. 結果

### 3-1. エネルギー代謝

24時間のエネルギー消費量および炭水化物酸化量に2試行間の差は観察されなかった。24時間の脂質酸化量は、高飽和脂肪酸食と比較し高不飽和脂肪酸食において有意に高値を示した(P<0.05)(表8)。

24時間のエネルギー代謝経時変化、およびafter breakfast、after lunch、after dinnerの4時間のエネルギー消費量および酸化基質に関して、全ての項目において交互作用(条件×時間)は見られなかった。また、条件間の主効果がみられ(P<0.05)、高飽和脂肪酸

食試行と比較し高不飽和脂肪食試行において、脂質酸化量が after breakfast (P<0.05)、after lunch (P<0.05) に有意に高値を示した (図 9) が、エネルギー消費量および炭水化物酸化量に差は観察されなかった。After dinner の時間帯においては、エネルギー代謝に 2 試行間の差を観察する項目はなかった。

脂質酸化量に関して、after breakfast、after lunch、after dinner の 4 時間における 2 試行間の差は、after breakfast が  $23 \pm 7$  kcal/4h、after lunch が  $12 \pm 6$  kcal/4h、after dinner が  $12 \pm 9$  kcal/4h であった (図 10)。After lunch と比較し、after breakfast において 2 試行間の脂質酸化量の差異は有意に高値を示した (P<0.05)。

表 8. 24 時間エネルギー代謝、自律神経活動および深部体温

	高飽和脂肪酸食試行	高不飽和脂肪酸食試行	Pvalue
エネルギーバランス(kcal/24h)	$39 \pm 126$	$26 \pm 12$	NS
エネルギー消費量(kcal/24h)	$2046 \pm 275$	$2059 \pm 264$	NS
呼吸商(/分)	$0.866 \pm 0.013$	$0.859 \pm 0.020$	0.046*
炭水化物酸化量(kcal/24h)	$1057 \pm 172$	$1020 \pm 175$	NS
脂質酸化量(kcal/24h)	$703 \pm 158$	$779 \pm 202$	0.047*
心拍数(回/分)	$62 \pm 7$	$60 \pm 8$	0.057
副交感神経(ms <sup>2</sup> /分)	$935 \pm 476$	$1040 \pm 512$	0.015*
交感神経(/分)	$2.7 \pm 1.6$	$2.8 \pm 1.7$	NS
深部体温(°C/分)	$36.8 \pm 0.02$	$36.7 \pm 0.01$	NS

(平均値  $\pm$  標準誤差) \* : P<0.05

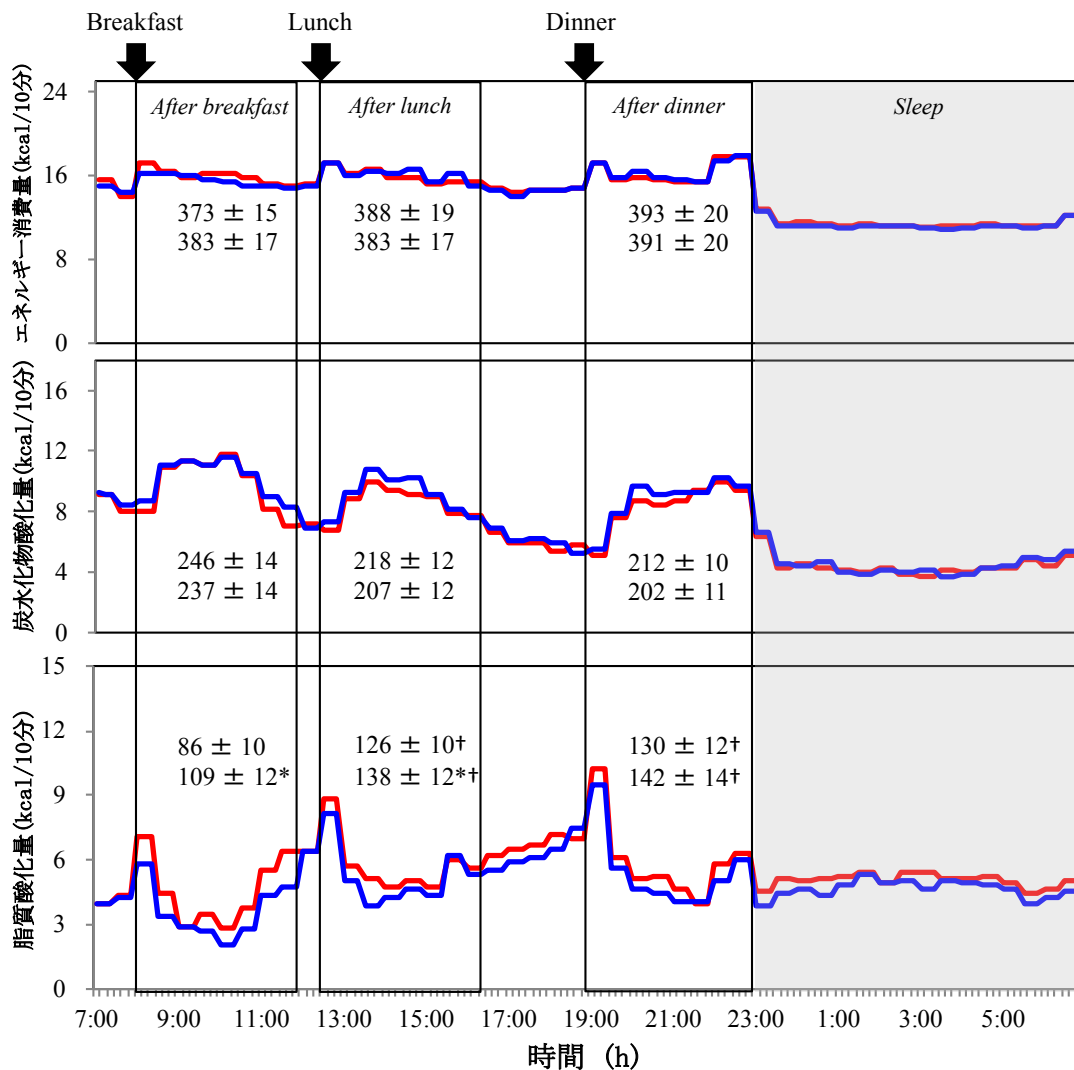


図9. 24時間エネルギー代謝の経時変化

(—: 高飽和脂肪酸食試行、—: 高不飽和脂肪酸食試行)

\*: P<0.05 vs. 高飽和脂肪酸食試行 †: P<0.05 vs. 同試行における after breakfast)

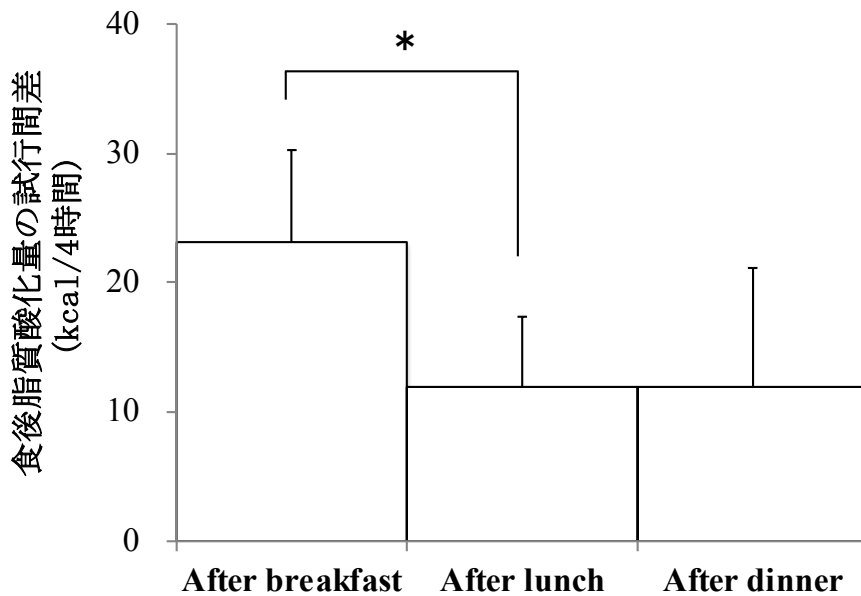


図 10. 食後 4 時間毎の脂質酸化量 試行間差 \* :  $P < 0.05$

### 3-2. 自律神経活動

24 時間の交換神経活動および心拍数においては、2 試行間に差は観察されなかったが、高飽和脂肪酸と比較し高不飽和脂肪酸の摂取によって副交感神経は有意な高値を示した ( $P < 0.05$ ) (表 8)。また、after breakfast、after lunch、after dinner の 4 時間の自律神経活動の結果を図 11 に示した。全ての項目において、交互作用 (条件×時間) は見られなかった。また、条件間の主効果がみられ ( $P < 0.05$ )、after dinner の 4 時間において、高飽和脂肪酸食試行と比較し高不飽和脂肪酸食試行において、心拍数が有意に低下 ( $P < 0.05$ ) し副交感神経活動が有意に高値を示した ( $P < 0.05$ ) (図 11)。



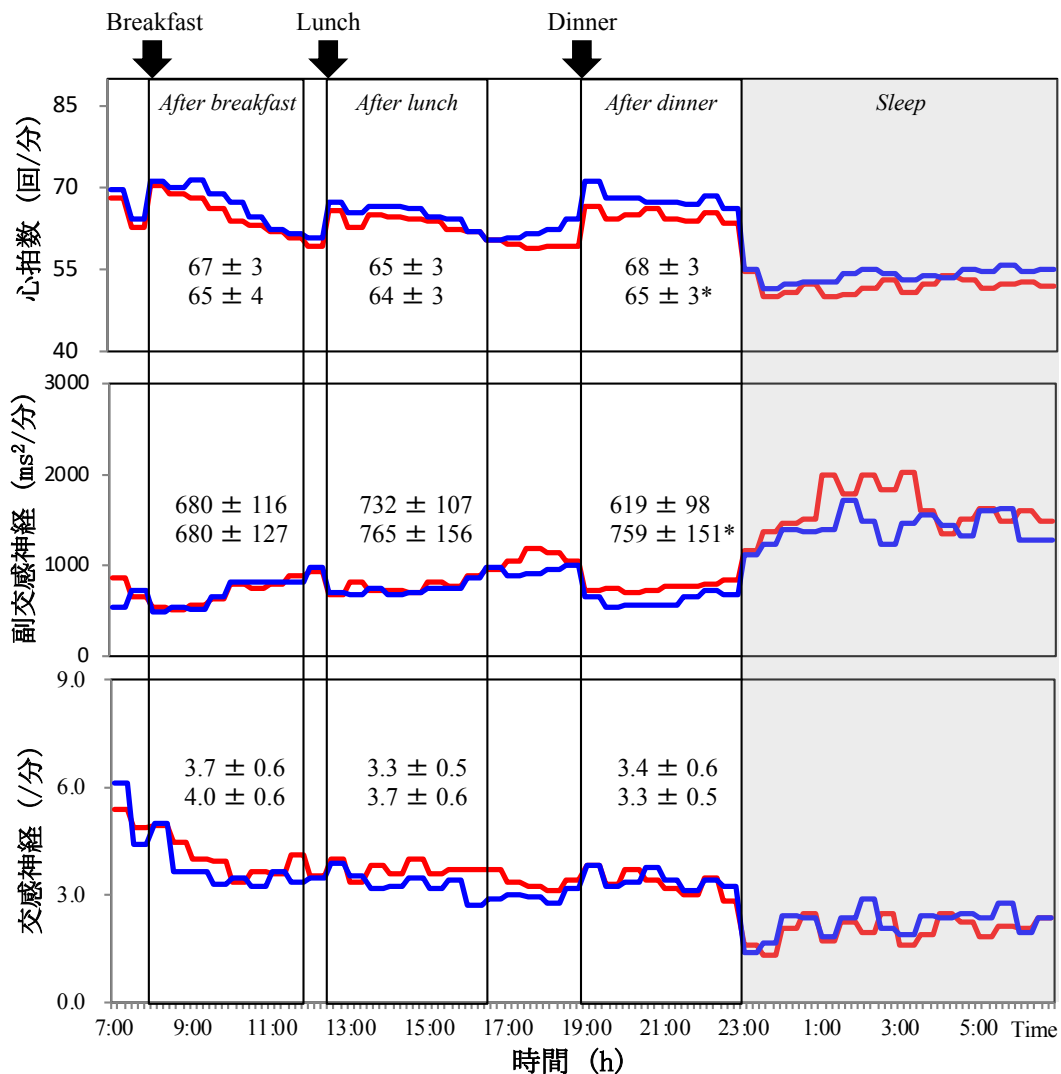


図 11. 24 時間自律神経活動の経時変化

(—: 高飽和脂肪酸食試行、—: 高不飽和脂肪酸食試行 \* : P<0.05)

### 3-3. 深部体温

24 時間の平均の深部体温に、2 試行間の差は観察されなかった (表 8)。24 時間の経時変化を図 12 に示した。コサイン法による分析を行った結果、振幅および頂点位相のいずれの値にも、有意な差は観察されなかった (表 9)。

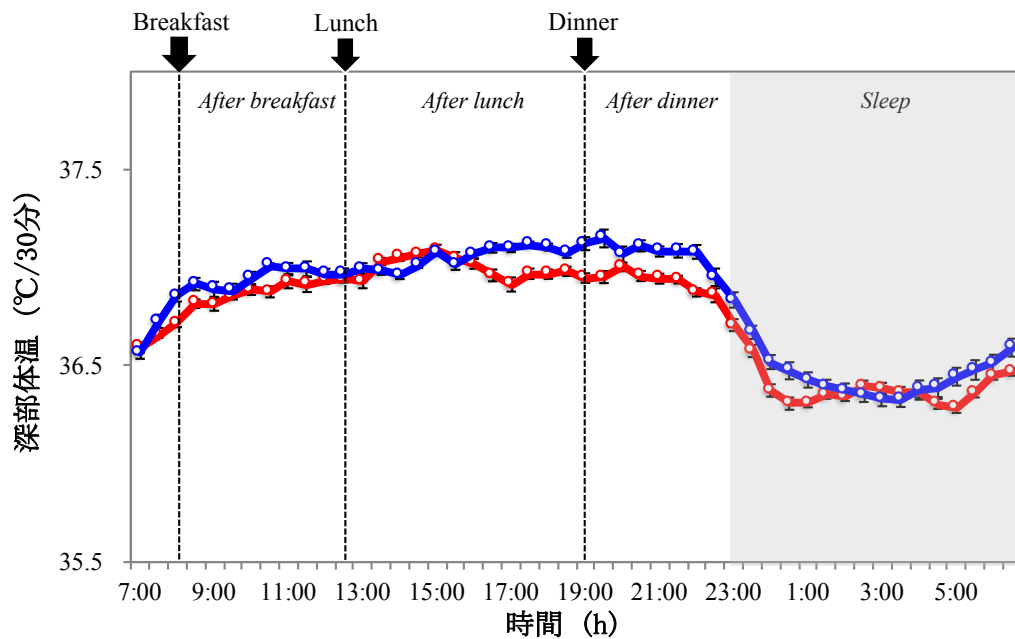


図 12. 24 時間深部体温の経時変化

(—: 高飽和脂肪酸食試行、—: 高不飽和脂肪酸食試行)

表 9. コサインナー法による定量結果

	振幅	P value	頂点位相	P value
高飽和脂肪酸食試行	0.38 ± 0.13	0.59	16.2 ± 1.9	0.30
高不飽和脂肪酸食試行	0.36 ± 0.11		15.5 ± 0.9	

(平均値 ± 標準誤差)

### 3-4. 試験前日と試験当日の身体活動

試験前日 (Day1 の 7:00 から 24:00) (高飽和脂肪酸食試行 : 100.6 ± 14.8、高脂肪食試行 : 99.4 ± 8.0、N.S) および試験当日 (Day2 の 7:00 から 23:00) (高飽和脂肪酸食試行 : 69.2 ± 18.8、高脂肪食試行 : 65.1 ± 4.3、N.S) の身体活動量には、2 試行間に有意な差は観察されなかった。

#### 4. 考察

本研究の主たる発見は、高飽和脂肪酸食と比較し高不飽和脂肪酸食の摂取が、24 時間の脂質酸化量を増大させることである。高不飽和脂肪酸食の摂取による脂質酸化量の増大は 76kcal (約 10%) であった。本研究で得られた結果は、間接熱量測定装置を使用して行われてきた食後数時間の測定を行った先行研究の結果と一致するものであった (Casas-Agustench. 2009, Piers. 2002, Flint. 2003, Soares. 2004)。また、本研究で作成したオリジナルレシピで調理した試験食を摂取することにより、被験者の脂質酸化量を変化させることができた。このことから、特定の脂肪酸を摂取させるための試験食を開発することに成功した。

高飽和脂肪酸食と比較し高不飽和脂肪酸食が 24 時間の脂質酸化量を増大させるメカニズムとして、2つの機構が考えられる。第1に、外因性の脂質酸化量の増大である。消化・吸収された後、飽和脂肪酸と比較し一価不飽和脂肪酸は、優先的にサイズの大きなキロミクロンに取り込まれる (Mekki. 2002)。サイズの大きなキロミクロンは、サイズの小さなキロミクロンよりもリポタンパク質リパーゼの作用を受けやすく、脂肪酸の加水分解が行われやすい (Bergouignan. 2009)。さらに、一価不飽和脂肪酸は速やかに脂肪酸輸送体や脂肪酸結合タンパク質を介して抹消組織の細胞内に取り込まれるため、飽和脂肪酸よりも優先的にミトコンドリアやペルオキシソームにて  $\beta$  酸化を受ける (Richieri. 2000)。第2に、内因性の脂質酸化量の増大も考えられる。Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR $\alpha$ )の活性化は、ペルオキシソームの増殖と、ミトコンドリアおよびペルオキシソームに内在する  $\beta$  酸化関連遺伝子の誘導を調節する (Forman. 1997)。In vitro の実験では、飽和脂肪酸よりも不飽和脂肪酸の曝露によって、より効果的に PPAR $\alpha$  を活性化させることができると分かっている (Mandard. 2004)。動

物実験では、高不飽和脂肪酸の摂取によって肝臓のアシル CoA オキシターゼや、脂肪組織のホルモン感受性リパーゼが活性化することにより、脂質代謝が亢進すると報告されている (Liao. 2010, Awad. 1986)。そのため、本研究でも高不飽和脂肪酸食の摂取によって内因性脂質の酸化量が増大した可能性が考えられる。

本研究では、ヒューマン・カロリメータを用いて求めた  $\dot{V}O$  および  $\dot{V}CO_2$ 、そして尿中から求めた  $\dot{N}$  を使用し、Ferrannini 等の推定式より脂質酸化量を算出した (Ferrannini. 1988)。しかしながら、この脂質酸化量の推定式は、food quotient (FQ) が 0.705 である palmitoyl-oleoyl-stearoyl-triglyceride が酸化する化学反応式に基づいて作られた式である。体内で酸化基質となる脂肪酸には多様な種類があり (表 1)、化学構造式の違いによって FQ も異なる。具体的には、tripalmitin、triolein、trilinolein および trilinolenin の FQ はそれぞれ 0.703、0.713、0.726 そして 0.740 である (表 10)。また、酸化するトリグリセリドの構造式の差異を反映して、脂質酸化量の推定式も異なってくるのが分かる (表 10 : 推定式 A-E)。1 mole の tripalmitin(807.34g)が酸化する場合には、1624 L の酸素が消費され、1142.4 L の二酸化炭素が産生される。これらの値を推定式 A に代入するとトリグリセリドの酸化量は 804.3 g と推定されるが、この値は実際の tripalmitin の酸化量よりもわずかに過小評価された値となっている(99.6 %)。1 mole の triolein (885.432 g) が酸化した場合には、1792 L の酸素が消費され、1276.8 L の二酸化炭素が産生される。これらの値を推定式 A に代入するとトリグリセリドの酸化量は 860.4 g と推定されるが、この値も実際の triolein の酸化量よりも過小評価された値となっている(97.2 %)。同様にして trilinolein と trilinolenin においても過小評価された値となる (91.5 %および 85.7 %)。よって、本研究で脂質酸化量を推定するのに使用した推定式 A は、不飽和脂肪酸で構成されたトリグリセリドが酸化した場合には過小評価した値を算出している。

ヒューマン・カロリメータを用いての測定では、酸化したトリグリセリドの脂肪酸構成を明らかにすることはできない。ここで言及した問題は間接熱量測定の **limitation** であると言えるが、本研究ではパーム油を使用した高飽和脂肪酸食と比較し、レイプシード油を使用した高不飽和脂肪酸食を摂取した試行において、24 時間の脂質酸化量は 8.3 g 多くなった。この値は過小評価された値であるため、不飽和脂肪酸の摂取によって引き起こされた脂質代謝の亢進はより大きなものであったと考えられる。

長期的な高脂肪の食事を必要とする **fat adaptation** を実施するにあたり、脂肪酸の種類の違いによって 24 時間で 10%以上の脂質酸化量の差が現れるという結果は、無視できるものではない。さらに、高飽和脂肪酸食試行と比較し、高不飽和脂肪酸食試行において 24 時間の副交感神経が有意に高値を示し、特に夕食後の時間帯から睡眠期間に大きな差が観察された。副交感神経が優位になっていることにより、睡眠の質の向上や疲労回復に効果があると予想される (Vandewalle. 2007)。長期にわたり **fat adaptation** を実践するアスリートにとって、高不飽和脂肪酸の割合を高める食事を意識することはパフォーマンス向上にもつながると考えられる。

深部体温については、日内変動の平均値を比較すると、高不飽和脂肪酸食試行と比較し高飽和脂肪酸食試行において、頂点位相が後退しているように見える。しかしながら、コサイナー法による分析結果では、有意な差の観察される項目はなかった。本研究では、深部体温の測定データに欠損値のある被験者を結果から除外したことにより、n 数が 7 人と少なくなっている。また、被験者のスクリーニングに朝型夜型質問紙 (Ishihara. 1986) を使用していなかったため、生活特性を揃えることができていない。深部体温の結果にはこれらの要因が影響を与えている可能性があり、本研究のリミテーションであると考えられる。

表 10. 各トリグリセリドの酸化量推定式と発生エネルギー量

トリグリセリド	化学構造式	FQ	発生エネルギー量 (kcal/g)	脂質酸化量の推定式(g)
Palmitoyl-oleoyl-stearoyl- triglyceride	$C_{55}H_{104}O_6$	0.705	9.50 ( Ferrannini. 1988 )	(A) 1.67 VO <sub>2</sub> -1.67 VCO <sub>2</sub> -1.92 N
Tripalmitin	$C_{51}H_{98}O_6$	0.703	9.36(a)	(B) 1.68 VO <sub>2</sub> -1.68 VCO <sub>2</sub> -1.93 N
Triolein	$C_{57}H_{104}O_6$	0.713	9.47 (b)	(C) 1.72 VO <sub>2</sub> -1.72 VCO <sub>2</sub> -1.98 N
Trilinolein	$C_{57}H_{98}O_6$	0.726	9.39 (c)	(D) 1.83 VO <sub>2</sub> -1.83 VCO <sub>2</sub> -2.10 N
Trilinolenin	$C_{57}H_{92}O_6$	0.740	9.33 (d)	(E) 1.95 VO <sub>2</sub> -1.95 VCO <sub>2</sub> -2.55 N

a: Available from: <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C555442&Units=SI&Mask=2#Thermo-Condensed>.

b: Available from: <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C122327&Units=SI&Mask=2#Thermo-Condensed>.

c: Available from: <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C537406&Units=SI&Mask=2#Thermo-Condensed>.

d: Available from: <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C14465680&Units=SI&Mask=2#Thermo-Condensed>.

## 結論

高飽和脂肪酸食と比較し、高不飽和脂肪酸食に調整した試験食の摂取によって、内因性および外因性を合わせた 24 時間の総脂質酸化量が約 10%増大した。同等のエネルギー量、たんぱく質・脂質・炭水化物比率の食事であっても、食事に含まれる飽和脂肪酸の一部を不飽和脂肪酸に置き換えることで脂質酸化量を増大させることができると明らかにした。

## 研究課題 2-2

### 1. 緒言

研究課題 2-1 の結果より、摂取することでエネルギー代謝を変化させることのできる試験食を開発した。エネルギー代謝関連遺伝子と生体リズム関連遺伝子の発現との間の関連については多くの報告がなされている。具体的には、マウスの脂肪細胞における *Bmal1* の発現は脂肪合成関連遺伝子の発現増加とともに増加し (Shimba. 2005)、*Clock* をノックアウトしたマウスの肝細胞をメタボローム解析することにより、*Clock* の発現が脂質代謝を含む多くの代謝経路を制御していることも報告された (Eckel-Mahan. 2012)。さらに、*Rev-erb*  $\alpha$  および  $\beta$  をノックアウトすると肝細胞の *PPAR*  $\alpha$  やチトクローム P450 オキシドレダクターゼ (POR) の遺伝子発現は増加せず、日内変動は消失した (Cho. 2012)。

一方で、高脂肪食の摂取によってマウスの概日行動周期が延長し、末梢組織の時計遺伝子の発現リズムが減弱すると報告されている (Kohsaka. 2007) が、その原因は高脂肪食に含まれる飽和脂肪酸であるという可能性が指摘されている (Fick. 2011)。実際に、オレイン酸を主とした高一価不飽和脂肪酸食と比較し、パルミチン酸を主とする高飽和脂肪酸食を摂取したマウスは睡眠-覚醒リズムが変化し、暗期の活動が減少し NREM 睡眠が増加した (Sartorius. 2012)。これらの先行研究では、エネルギー代謝の測定を行っていないが、活動リズムの変化と同時にエネルギー消費量や酸化基質も変化していることが予想できる。

また、肝臓や脂肪細胞などの末梢時計遺伝子をリセットし、24 時間に同調させる働



きを持つホルモンとしてインスリンが挙げられる (Yamajuku. 2012)。単回食の介入であっても、炭水化物とともに不飽和脂肪酸の豊富な脂質を摂取する食事群と比較し、飽和脂肪酸の豊富な脂質を摂取する食事群において食後の血清インスリン分泌量は高値を示す (López. 2008)。本研究で使用する試験食の摂取により、エネルギー代謝に加えてインスリン分泌量にも差異が生じている可能性が考えられるため、呼気分析と同時に採血を行いインスリン分泌の経時変化を明らかにしていく。

研究課題 2-1 では、深部体温の日内変動に有意な差は観察されなかったが平均値の経時変化を示したグラフからは、高不飽和脂肪酸食試行と比較し高飽和脂肪酸食試行において深部体温が低下に転ずるタイミングが後退しているように見える (図 12)。深部体温の低下と眠気や入眠には関連があり (Campbell. 1998)、深部体温の低下速度が最大となった状態から数時間以内に入眠することで、深い睡眠が得られると考えられている。また、開発した試験食を摂取することによって、自律神経活動にも差が観察され、高飽和脂肪酸食と比較し高不飽和脂肪酸食の摂取が心拍数を低下させ、副交感神経活動を高めた (表 8)。これらの結果を踏まえ研究課題 2-2 では、高飽和脂肪酸食または高不飽和脂肪酸食の摂取が、エネルギー代謝と睡眠を含む生体リズムに及ぼす影響を検討した。

## 2. 方法

### 2-1. 被験者

健康な若年男性 10 名を対象とした。対象者には、喫煙習慣のある者、定期的に服薬している者は含まれていなかった。本研究への参加に際して被験者には事前に実験の主旨、内容および起こりうる危険性について説明し、被験者本人が同意書への署名をした後に実験を実施した。被験者の身体特性を表 11 に示す。被験者のスクリーニングには

朝型・夜型質問紙を使用し、朝型および中間型と判定された被験者のみを採用した。

表 11. 被験者の身体特性

年齢 (歳)	身長 (cm)	体重 (kg)	体脂肪率(%)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
22.3 ± 0.3	172.5 ± 1.9	67.1 ± 1.9	15.1 ± 1.5	22.6 ± 0.6

(平均値 ± 標準誤差)

## 2-2. 実験プロトコル

### 2-2-1. 事前測定

被験者には 21 : 00 にヒューマン・カロリメータに入室してもらい、心拍呼吸送信機と睡眠ポリグラフィの装着を行った。装着終了後ヒューマン・カロリメータに入室してもらい、心拍呼吸送信機と睡眠ポリグラフィの動作確認を行った。本試験同様の 23 : 00 に消灯し、翌朝 7 : 00 に点灯を行いその期間のエネルギー代謝、脳波を測定した。点灯時刻以前に目が覚めてしまった場合にも点灯まではベッドに仰向けの状態で安静に過ごしてもらった。起床後には被験者に主観的睡眠に問題がなかったかを確認し、十分な睡眠の取れた被験者のみ本試験に参加してもらった。

### 2-2-2. 本試験

本実験は、被験者 1 人が 2 試行を行うシングルブラインド・クロスオーバーデザインで実施し、7 日間で 1 試行とした (図 13)。Day1 から Day4 の期間には、起床時刻を 7:00 ± 1 時間、就寝時刻を 23:00 ± 1 時間と規定し、激しい運動を禁止した。被験者は Day5 の起床時 (7:00~8:00 の間) にアクチグラフ(マイクロミニ ZP 型)を装着し、体格に合わせた規定食を朝、昼、夕食と摂取した。21 : 00 に研究室に来研し、身体測定(体重・

身長・体脂肪率・血圧・体温)を行い体調異常がないか確認した。心拍呼吸送信機の装着、深部体温計を装着し 22:00 にヒューマン・カロリメータに入室、22:40 から就寝準備を整え 23:00 に消灯した。Day6 の 7:00 に点灯を行い、トイレを済ませその後は座位安静とした。食事は 8:00、12:30、19:00 に摂取した。21:00 にヒューマン・カロリメータを退出し、睡眠ポリグラフィを装着し、22:45 から就寝準備を済ませ 23:00 に消灯した。Day7 の 7:00 に点灯し、全尿を採取、7:30 に退室した。Day7 の 7:30 退出後全ての測定を終了とし、Day6 の 7:00 から Day7 の 7:00 まで、24 時間を結果として採用した。Day6 の 7:00、9:00、12:00、15:00、18:00、21:00、23:00 および Day7 の 7:00 に採血を行った。上記試行を高飽和脂肪酸食または高不飽和脂肪酸食を用いてランダムな順番に行った。

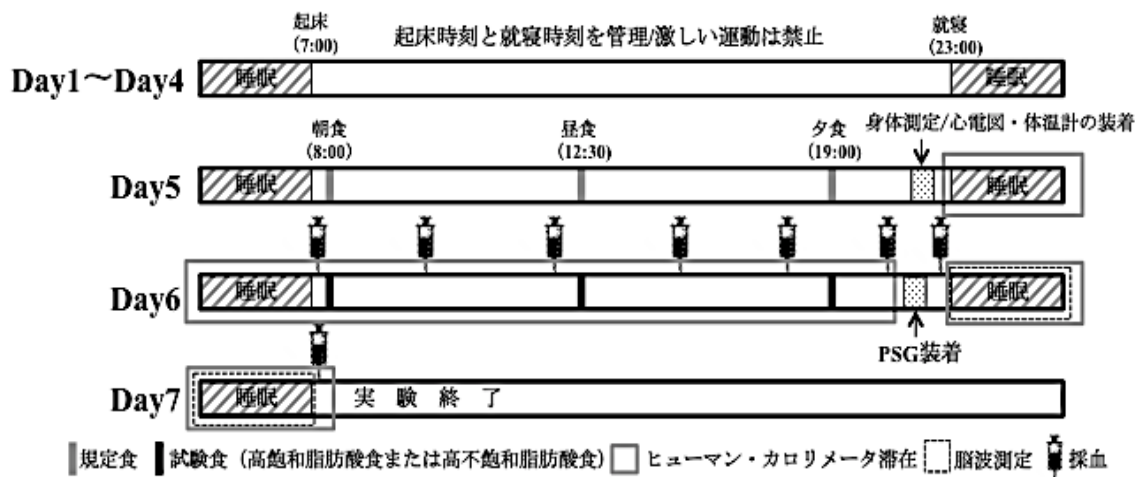


図 13. 実験スケジュール

### 2-3. 食事

被験者には Day5 の朝食から Day6 の夕食まで計 6 食が提供され、Day5 は自宅、Day6

はヒューマン・カロリメータ内で摂取した。食事量は日本人の食事摂取基準（2015 年版）をもとに、身体活動レベルを Day5 : 1.70、Day6 : 1.30 として一日の食事量を算出し、それを 3 分割して 1 食の量を決定した。Day5 の規定食の平均エネルギー量は  $2666 \pm 39$  kcal/day、エネルギー量に対する 3 大栄養素エネルギー比率はたんぱく質 14%、脂質 24%、炭水化物 61%であった。

Day6 に摂取した試験食では、油脂の材料をパーム油（高飽和脂肪酸）、またはレイプシード油（高不飽和脂肪酸）としたマフィンを主食として摂取した。このマフィンの調理方法は、課題 2-1 と同様の手順で作成した。被験者はこのマフィンに加えて主菜、副菜を摂取した。Day6 の試験食の平均エネルギー量は  $2075 \pm 61$  kcal/day、エネルギー量に対する 3 大栄養素エネルギー比率はたんぱく質 11%、脂質 46%、炭水化物 43%であった。Day6 の試験食の脂肪酸組成は以下に記載した（表 12）。

表 12. Day6 の試験食 脂肪酸組成

	高飽和脂肪酸食	高不飽和脂肪酸食
栄養素比率(%エネルギー)		
たんぱく質	11	11
脂質	46	46
炭水化物	43	43
脂肪酸プロフィール (g/100g)		
パルミチン酸	37.6	7.8
オレイン酸	41.6	57.6
リノール酸	12.5	19.9
ステアリン酸	4.9	2.9
$\alpha$ -リノレン酸	0.7	8.7
ミリスチン酸	1.0	0.2
パルミトオレイン酸	0.5	0.5
エイコサペンタエン酸	0.0	0.0
ドコサヘキサエン酸	0.1	0.1
アラキドン酸	0.2	0.2
脂肪酸の割合 (%)		
飽和脂肪酸	44.3	11.7
一価不飽和脂肪酸	42.3	59.3
多価不飽和脂肪酸	13.4	29.0

## 2-4. 測定項目

### 2-4-1. エネルギー代謝

ヒューマン・カロリメーター(富士医科産業 FHC-15S)を用いて酸素濃度および二酸化炭素濃度変化を記録し、Deconvolution 法(Tokuyama, 2009)を用いて被験者 1 分毎の $\dot{V}O_2$  および $\dot{V}CO_2$ を算出した。エネルギー消費量および三大栄養素の酸化量の推定は研究課題 1 と同様の手順で行なった。

#### 2-4-2. ヒューマン・カロリメータの精度検証

研究課題1と同じ手順で得られた理論値と Deconvolution 法(Tokuyama. 2009)によって算出した実測値から、酸素消費量、二酸化炭素産生量および呼吸商の回収率(実測値/理論値×100)を求めることで精度検証を行なった。その結果、回収率 98~102% 範囲内であることを確認した。

#### 2-4-3. 睡眠構築

PSG-1100 (日本光電, 東京, 日本)を使用し睡眠時脳波を測定した。脳波解析および睡眠構築の評価方法は研究課題1と同様の手順で行なった。

#### 2-4-4. 心拍数および自律神経活動

ヒューマン・カロリメータ入室前に心拍呼吸送信機(FUKUDA 電子株式会社, 東京)を装着させた。データの処理については研究課題1と同様の方法で行なった。

#### 2-4-5. 深部体温

カプセル型の深部体温センサー (CorTemp™ 中核体温モニタリングシステム, HQInc.) を使用し、深部体温を測定した。Day6 起床時に深部体温センサーを飲み込み、受信機の電源を入れベルト型の装着具に収納し腰部に装着し、深部体温センサーの測定値を受信し記録した。日内変動を統計学的に周期や振幅、頂点の位相を求める手法であるコサイン法を用い、周期的に変動する深部体温データから周期回帰曲線を引き振幅、頂点位相を求めた。

#### 2-4-6. 血液サンプリングとグルコースおよびインスリンの分析

採血は Day6 の 7:00、9:00、12:00、15:00、18:00、21:00、23:00、Day7 の 7:00 の計 8 回行った。1 回の採血量は 6ml とした。ヒューマン・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実施可能とした(図 14)。抗凝固剤(EDTA)が入った採血管に採取した血液は、採血直後に 3000rpm、15°C で 20 分間遠心分離した後、血漿を保存容器に移し分析まで-30°C で冷凍保存した。血清グルコース濃度は市販の測定キット(グルコース CII-テストワコー)を用い、血清インスリン濃度は測定キット(Mercodia insulin ELISA)を用いて測定した。



図 14. カロリメータ外(左図)  
カロリメータ内(右図)

#### 2-4-7. 活動量

被験者は Day1 の起床時から Day7 にヒューマン・カロリメータから退室するまで、非利き腕にアクチグラフを装着し、身体活動量を記録した。

#### 2-4-8. 朝型夜型質問紙

日本語版朝型-夜型(Morningness-Eveningness)質問紙

(Ishihara, 1986) によって被験者の朝型夜型得点を判定した。40 点から 60 点までの中間型、および 60 点から 70 点までの朝型の被験者のみ、本実験に参加してもらった。

## 2-5. 統計処理

各測定項目の値は特記がない場合、平均値  $\pm$  標準誤差 (Mean  $\pm$  SEM) で示した。深部体温に関してはデータ欠損が確認された 1 名を除き、 $n=9$  として処理を行い、統計処理には SPSS(SPSS Ver23、エスピーエスエス株式会社、東京)を用いた。

被験者は睡眠ポリグラフィを装着するために 21 時にヒューマン・カロリメータを一時退室しているため、7:00 から 21:00 までの 14 時間のエネルギー代謝に関する検定、および 23:00 から翌朝 7:00 までの 8 時間のエネルギー代謝に関しては、対応のある  $t$  検定により比較検討した。自律神経の活動、心拍数および深部体温の 24 時間の値を対応のある  $t$  検定により比較検討した。深部体温の日内変動をコサイナー法で定量した各値については、対応のある  $t$  検定により比較検討した。23:00 から翌朝 7:00 までの 8 時間の睡眠時脳波の各値については、対応のある  $t$  検定により比較検討した。また、睡眠周期毎の値については、条件(高飽和脂肪酸食、高不飽和脂肪酸食)、周期(第一周期、第二周期、第三周期)を要因とし、2 要因の分散分析(Two-way analysis of variation; ANOVA)を用い、交互作用(条件 $\times$ 周期)および主効果の有無を検定した。ANOVA により交互作用または主効果が認められた場合には、Bonferroni の方法を用い多重比較検定を行った。血清グルコースおよび血清インスリンの検定には、2 要因の分散分析(Two-way analysis of variation; ANOVA)を用い、交互作用(条件 $\times$ 時間)および主効果の有無を検定した。ANOVA により交互作用または主効果が認められた場合には、Bonferroni の方法を用い多重比較検定を行った。有意差の検定には危険率 5%未満を採用した。



### 3. 結果

#### 3-1. エネルギー代謝

14 時間のエネルギー消費量および炭水化物酸化量に 2 試行間の差は観察されなかった (表 13)。14 時間の脂質酸化量は、高飽和脂肪酸食と比較し高不飽和脂肪酸食において有意に高値を示した ( $P<0.05$ ) (表 13)。睡眠期間 8 時間のエネルギー代謝に関しても、脂質酸化には有意な差が観察され、高飽和脂肪酸食と比較し高不飽和脂肪酸食において有意に高値を示した ( $P<0.05$ ) (表 13)。エネルギー代謝測定期間中の経時変化を図 15 に示した。

表 13. エネルギー代謝、24 時間自律神経活動および深部体温

	高飽和脂肪酸食試行	高不飽和脂肪酸食試行	Pvalue
エネルギー消費量(kcal/14h)	1346 ± 35	1365 ± 32	0.395
呼吸商(/分)	0.876 ± 0.008	0.864 ± 0.006	0.139
炭水化物酸化量(kcal/14h)	704 ± 44	713 ± 29	0.799
脂質酸化量(kcal/14h)	458 ± 39	516 ± 37	0.027*
エネルギー消費量(kcal/sleep)	538 ± 14	554 ± 12	0.199
呼吸商(/分)	0.830 ± 0.008	0.820 ± 0.006	0.045*
炭水化物酸化量(kcal/sleep)	205 ± 15	195 ± 11	0.315
脂質酸化量(kcal/sleep)	260 ± 20	294 ± 17	0.027*
心拍数(回/分)	60 ± 3	59 ± 3	0.022*
副交感神経( $ms^2$ /分)	857 ± 224	1388 ± 402	0.033*
交感神経活動(/分)	2.5 ± 0.4	2.3 ± 0.4	0.164
深部体温 (°C/分)	36.7 ± 0.02	36.6 ± 0.02	0.430

(平均値 ± 標準誤差) \* :  $P<0.05$

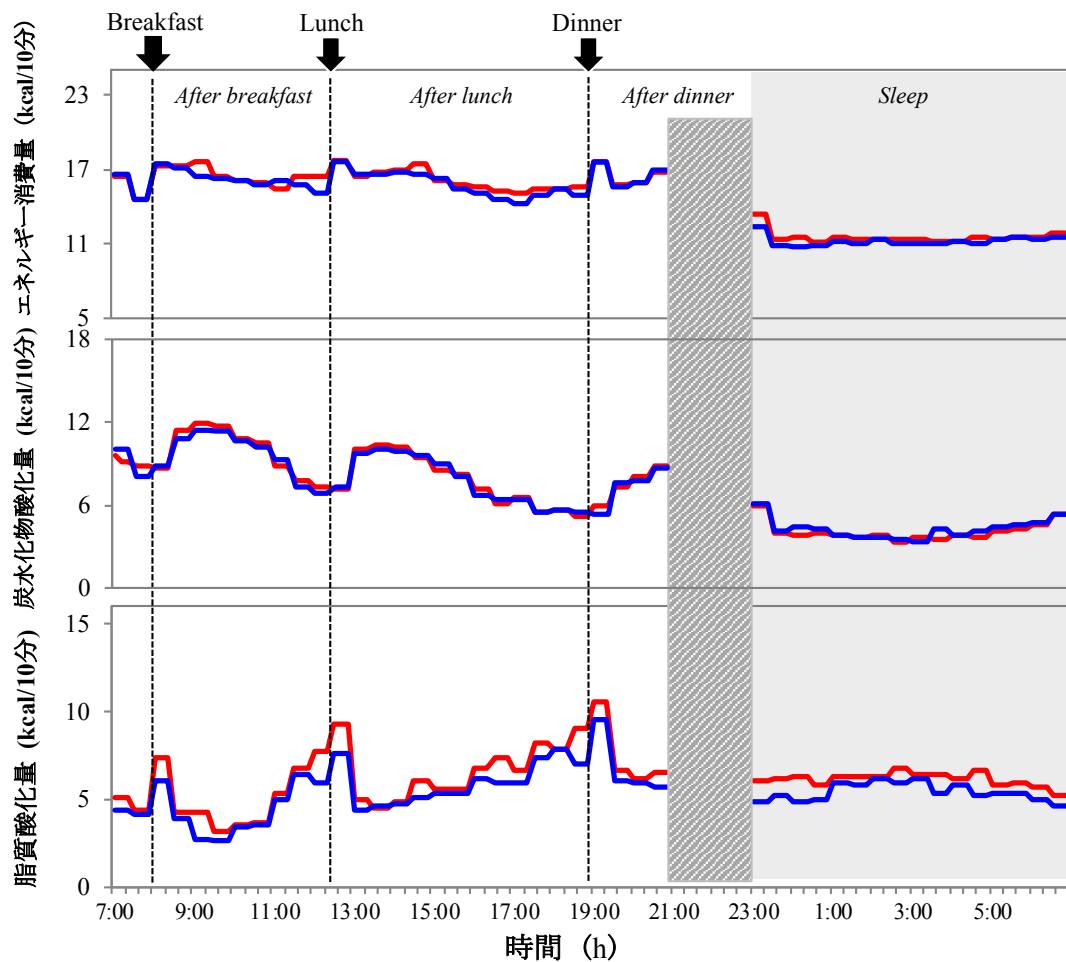


図 15. 24 時間エネルギー代謝の経時変化

(—: 高飽和脂肪酸食試行、—: 高不飽和脂肪酸食試行)

### 3-2 自律神経活動

24 時間の交換神経活動においては、2 試行間に差は観察されなかったが、高飽和脂肪酸と比較し高不飽和脂肪酸の摂取によって心拍数は低下し、副交感神経は高値を示した ( $P < 0.05$ ) (表 13)。24 時間の経時変化を図 16 に示した。

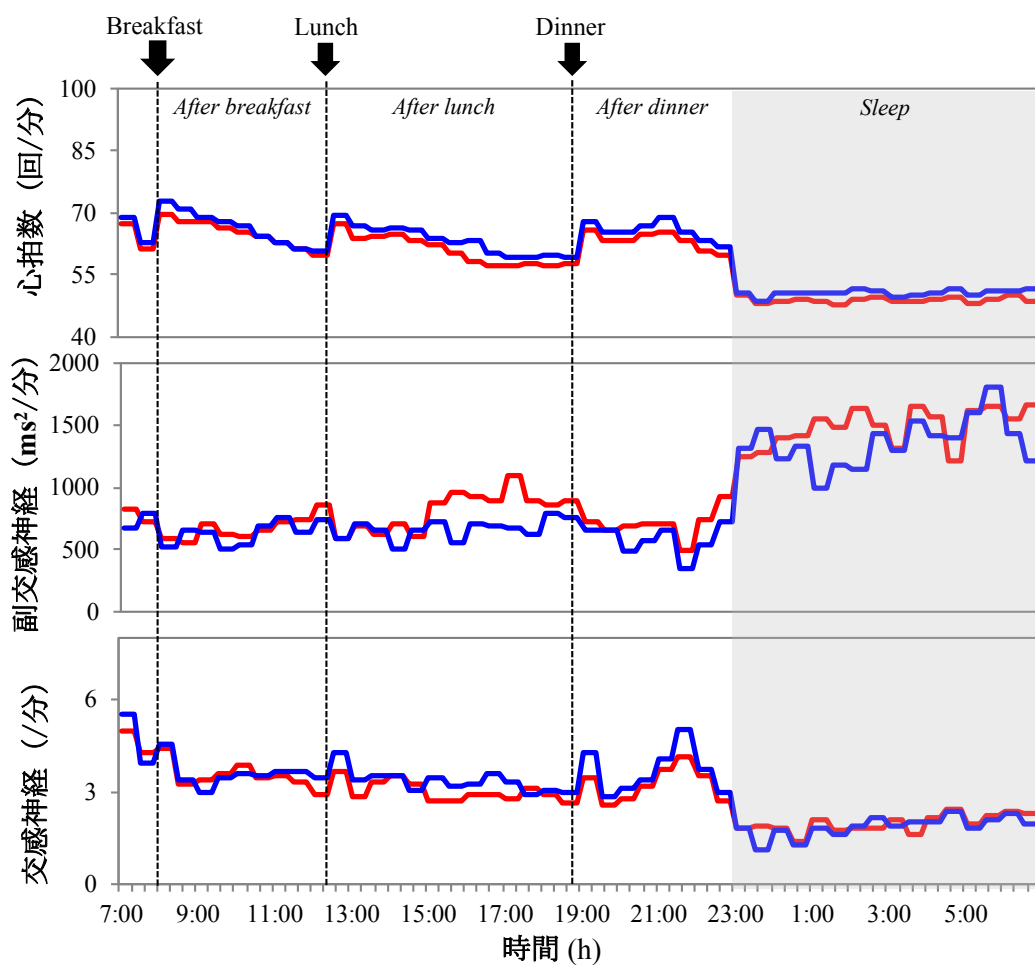


図 16. 24 時間自律神経活動の経時変化

(—: 高飽和脂肪酸食試行、—: 高不飽和脂肪酸食試行)

### 3-3 深部体温

24 時間の平均の深部体温に、2 試行間の差は観察されなかった (表 13)。24 時間の経時変化を図 17 に示した。コサイン法による分析を行った結果、高不飽和脂肪酸食と比較し高飽和脂肪酸食の摂取によって頂点位相が後退した ( $P < 0.05$ ) (表 14)。

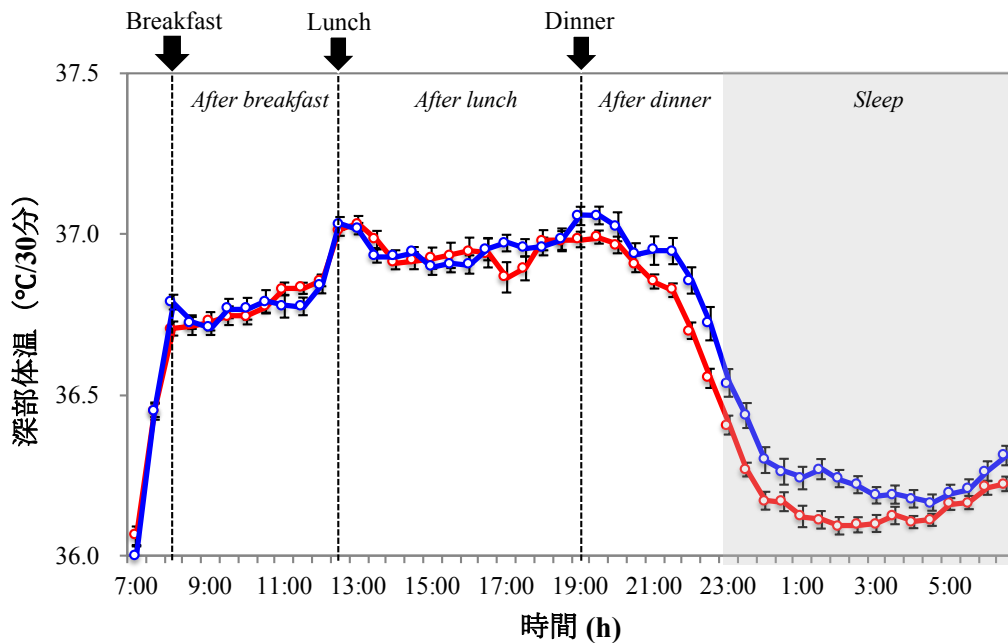


図 17. 24 時間深部体温の経時変化

(—: 高飽和脂肪酸食試行、—: 高不飽和脂肪酸食試行)

表 14. コサイナー法による定量結果

	振幅	P value	頂点位相	P value
高飽和脂肪酸食試行	0.44 ± 0.01	0.23	16.2 ± 0.2	0.03*
高不飽和脂肪酸食試行	0.49 ± 0.01		15.4 ± 0.1	

(平均値 ± 標準誤差) \* : P<0.05

### 3-4. 睡眠構築

睡眠構築の各値を表 15 に示した。睡眠期間全体で評価した場合には、2 試行間の各値に有意な差は観察されなかった。睡眠周期毎に評価した場合には、全ての項目に交互作用 (条件×時間) は見られなかった。また、深睡眠については条件間の主効果がみら

れ ( $P<0.05$ )、高飽和脂肪酸食試行と比較し高不飽和脂肪酸食試行において第一周期の深睡眠出現期間が有意に増加した ( $P<0.05$ ) (図 18)。睡眠第四周期には深睡眠は出現しなかったため、データの記載はない。

表 15. 睡眠全体の各パラメータ

	高不飽和脂肪酸食試行(分)			高飽和脂肪酸食試行 (分)			Pvalue
総臥床時間	480			480			
総睡眠時間	458.3	±	3.4	462.6	±	1.0	0.19
Wake	21.7	±	3.4	17.0	±	1.2	0.15
REM	97.7	±	7.5	100.9	±	4.5	0.63
ステージ1	48.1	±	5.7	47.1	±	4.8	0.64
ステージ2	220.0	±	6.3	225.4	±	7.5	0.34
ステージ3	92.6	±	7.5	89.3	±	7.6	0.57
睡眠潜時	15.9	±	3.4	12.9	±	2.3	0.21
睡眠効率(%)	95.5	±	0.4	96.4	±	1.4	0.50

(平均値 ± 標準誤差)

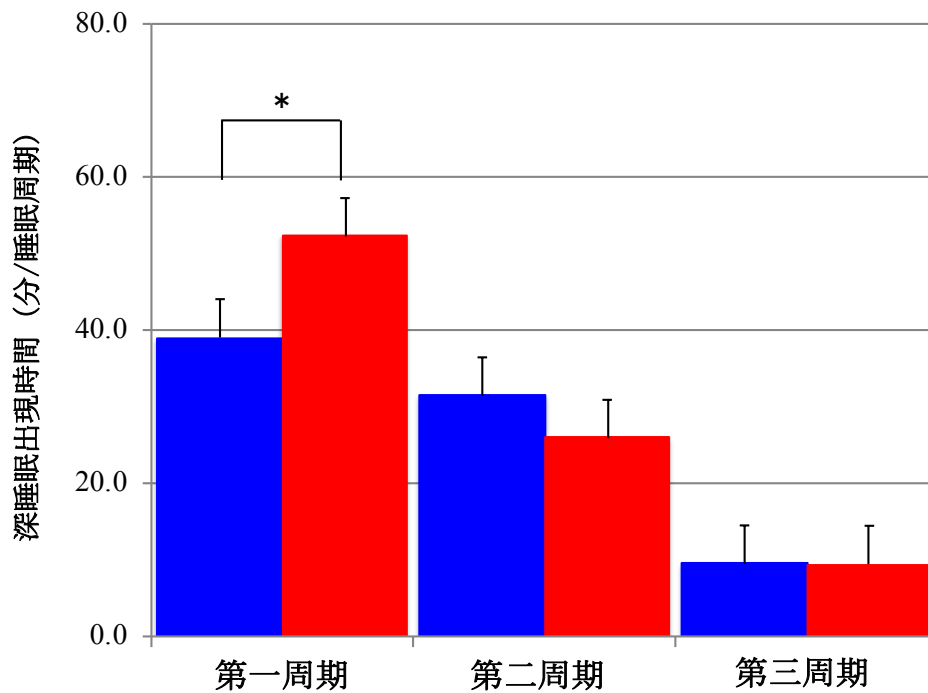


図 18. 睡眠周期毎の深睡眠出現時間

(■ : 高飽和脂肪酸食試行、■ : 高不飽和脂肪酸食試行 \* : P<0.05)

### 3-5. 血清グルコースおよび血清インスリン

交互作用 (条件×時間) は見られなかった。また、条件間の主効果がみられ (P<0.05)、高不飽和脂肪酸食試行と比較し高飽和脂肪食試行において、15:00 のインスリン濃度が有意な高値を示した (図 19)。

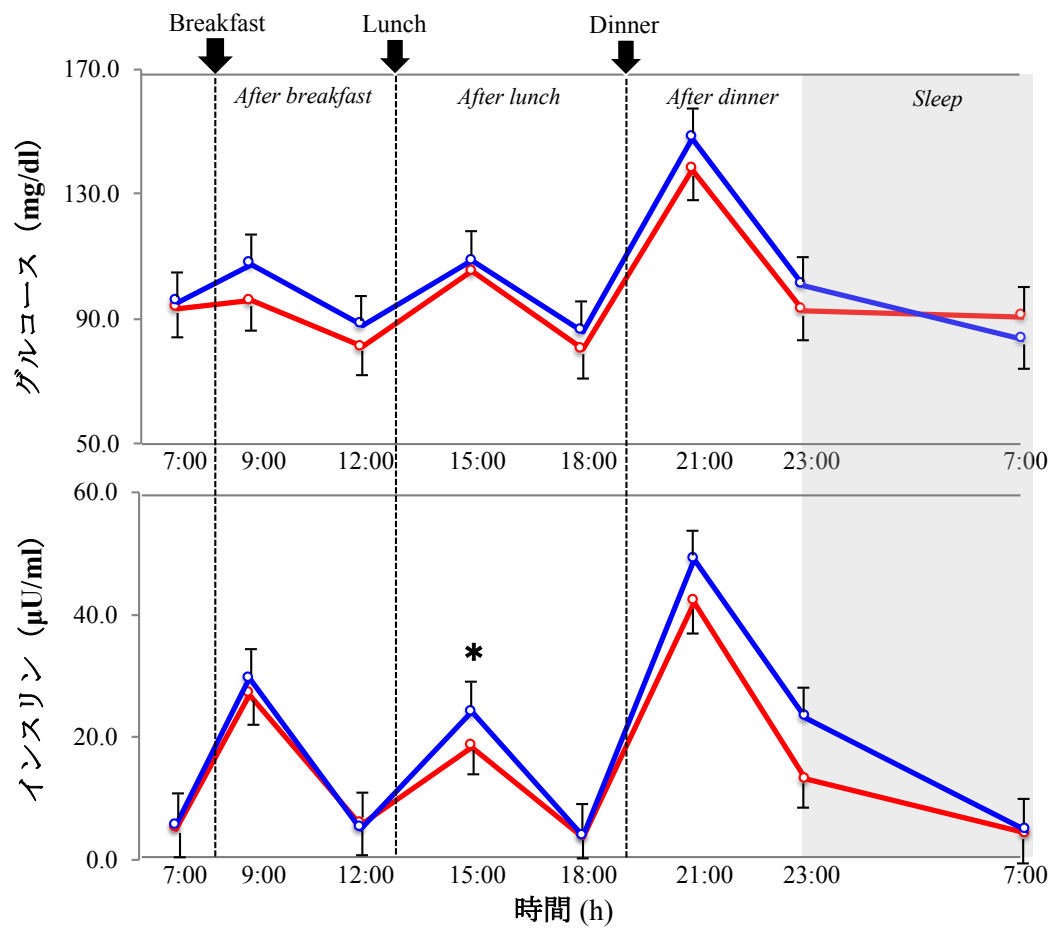


図 19. グルコースおよびインスリンの経時変化  
 (—: 高飽和脂肪酸食試行、—: 高不飽和脂肪酸食試行 \* : P<0.05)

#### 4. 考察

本研究の主たる知見は、高飽和脂肪酸食と比較し高不飽和脂肪酸食の摂取によって、生体リズムの代表的な指標である深部体温の頂点位相が有意に後退し、睡眠第一周期における深睡眠出現時間が有意に減少したことである。加えて、高不飽和脂肪酸の摂取によって脂質酸化量が増大するとともに、心拍数が低下し副交感神経が高値となった。血清中のインスリン濃度は、高飽和脂肪酸食の摂取によって昼食後に高値を示した。

エネルギー代謝関連遺伝子と脂質代謝関連遺伝子、炎症性物質の関連遺伝子および睡眠を制御する時計遺伝子は、互いに影響を与え合うネットワーク関係を構築していると示される (Pivovarova. 2016)。特に *Bmal1*、*Clock*、*Rev-erb α* および *Rev-erb β* などのコア時計遺伝子をノックアウトすると、脂質代謝関連遺伝子の発現は増加しなくなり、日内変動を示さなくなる (Shimba. 2005, ckel-Mahan. 2012, Cho. 2012)。研究課題 2-1、2-2 では高飽和脂肪酸食と比較し高不飽和脂肪酸食の摂取によって脂質酸化量が増大した。本研究の結果は高不飽和脂肪酸食の摂取によって被験者の *PPARα* が活性化し、脂質代謝能力が亢進した可能性を示している。*PPARα* は *Bmal1* のプロモーター領域に直接結合することで遺伝子発現を調節している (Oishi. 2005, Canaple. 2006)。またその一方で *PPARα* 遺伝子上には、*Clock/Bmal1* の転写結合配列となる E-box が密に存在している領域があり、*Clock/Bmal1* が *PPARα* 遺伝子の転写を直接制御している可能性が示されている (Oishi. 2005)。実際に、*PPARα* のリガンドであるフィブラートの投与によって、マウスの活動開始時刻は徐々に前進し、約 2 週間後には 3~4 時間の位相前進を示した (Shirai. 2007)。

活動リズム以外にもフィブラートは、体温低下や睡眠の位相前進を引き起こし、さらには睡眠の深さを示す NREM 睡眠期の脳波に含まれるデルタ波を増大させる



(Chikahisa, 2008)。この機序には PPAR $\alpha$  の活性化による fibroblast growth factor 21 (FGF21)の増加が関与する。FGF21 は速やかに脳内に移行し、低体温状態を引き起こす (Inagaki, 2007)。PPAR $\alpha$  のリガンド投与によって FGF21 依存的に低体温が誘導され、時刻依存的に暗期の後半に体温の低下が起こることが示された (Chikahisa, 2008)。これらの知見は、PPAR $\alpha$  は脂質代謝と生体リズムとを結びつける鍵分子であり、生体リズムは PPAR $\alpha$  の活性が強まることで前進し、活性が弱まることで後退すると考えられる。

インスリンは肝臓や脂肪組織の時計遺伝子をリセットし、24 時間に同調させる (Yamajuku, 2012)。血糖値の上昇し易さを示すグリセミック・インデックス (GI 値) の高い食餌はインスリン分泌量の増加を伴い、GI 値の低い食餌よりもより強くマウスの肝臓時計遺伝子を 24 時間に同調させることもわかっている (Hirao, 2009)。本研究では昼食後の時間帯にて、高不飽和脂肪酸食と比較し高飽和脂肪酸食の摂取がインスリン濃度を上昇させており、このインスリンの高値が被験者の生体リズムを変化させた可能性が考えられる。また、本研究では測定できていないが、炎症反応に関与する NF- $\kappa$ B や TNF- $\alpha$  が時計遺伝子発現を調節することも分かっており (Pivovarova, 2015)、高脂肪食の摂取によって増加するこれらの物質の存在も、本研究の結果に影響を与えたと考察した。

本研究で得られた知見は、fat adaptation を実施しているアスリートの体重管理、コンディション管理に極めて重要な発見である。研究課題 2-1 にて得られた脂質酸化量への影響に加えて、研究課題 2-2 では高不飽和脂肪酸食と比較し高飽和脂肪酸食において深部体温の頂点位相の後退や睡眠の質の低下が観察された。文献研究や研究課題 1 にて述べたように、睡眠の第一周期における深睡眠出現時間は、睡眠の質を決定する。また、主要な時計遺伝子である Clock を変異させることでサーカディアンリズムを著しく減

衰させたマウスは、肥満や代謝異常を引き起こす (Turek. 2005)。血清のインスリン濃度が増加することで、脂質酸化が抑制されることも報告されている (Sidossis. 1996)。長期的な高脂肪食摂取によって **fat adaptation** を実践しているアスリートの食事内容に関して、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸をどの程度の割合で摂取しているかによって、生体リズムが後退することによる悪影響が生じている可能性が考えられる。

本研究では 24 時間の食事介入を行った。筋肉が脂質を効率的にエネルギーとして利用できるように身体を適応させる **fat adaptation** に至るためには、数ヶ月に渡り高脂肪食を摂取する必要がある (Hawley. 2011) ため、中・長期的な高脂肪食の介入試験を実施しその影響を今後は検討する必要がある。

## 5. 結論

高不飽和脂肪酸食と比較し、高飽和脂肪酸食は生体リズムを後退させ、睡眠の質と脂質代謝能力を低下させる。加えて、副交感神経活動を低下させ血清インスリン濃度も上昇させる。ファットローディングのような高脂肪の食事を実践するアスリートの食事は、飽和脂肪酸の一部を不飽和脂肪酸に置き換える工夫を行うことで、体調管理やパフォーマンス向上に役立てることができると示唆された。

## 総合考察

本研究は、摂取する栄養素の量や種類の差異がエネルギー代謝、および睡眠を含む生体リズムに及ぼす影響を検討することを目的とした。

研究課題 1 によって、高脂肪食と比較し高炭水化物食を摂取することで、睡眠の第一周期の深睡眠を減少させることが確認された。加えて、ヒューマン・カロリメータによるエネルギー代謝測定によって、高炭水化物食摂取試行の炭水化物酸化量が睡眠第一周期および第二周期にて有意に増加したことも観察した。食事の炭水化物量を増やすカーボローディングは試合前のアスリートに対しての最も主流な食事手法であるが、研究課題 1 の結果より試合前日の就寝前に高炭水化物食を摂取することは睡眠の質を低下させるデメリットを引き起こしている可能性が示された。一方、食事の脂肪量を増やすファットローディングという食事手法の有効性も検討されているが、脂質は化学構造式の違いにより多様な分類がなされており、摂取することに伴う機能性をひとまとめに考えることはできない (Gillingham. 2011, Simopoulos. 2016, Hashimoto. 2017)。摂取する脂質の種類によって脂質代謝、睡眠および生体リズムにどのような影響を受けているのか検討する必要がある。

研究課題 2-1、2-2 では、摂取する脂肪酸の種類がエネルギー代謝、および睡眠を含む生体リズムに与える影響について検討した。特定の種類の脂肪酸を被験者に摂取させるための方法として、小麦粉に脂肪酸組成の異なる油脂（高飽和脂肪酸または高不飽和脂肪酸が豊富に含まれる油脂）を練りこみ焼き上げた試験食を作成した。研究課題 2-1 ではその試験食を使用して、高飽和脂肪酸食の摂取と比較し高不飽和脂肪酸食の摂取が 24 時間の脂質酸化量を約 10%増加させること、睡眠期間を中心に副交感神経を高める

ことを確認した。研究課題 2-1 では副次評価項目として、深部体温の測定も行った。有意な差が観察される項目はなかったが、コサイナー法によって定量した頂点位相を被験者ごとに確認したところ、高飽和脂肪酸食の摂取によって 7 人中 6 人が頂点位相を後退させているのがわかる (図 20)。入眠の良し悪しや睡眠の深さと深部体温には関連があるという報告が多数あり (Krauchi. 1999, Campbell. 1998, Lack. 2008)、消灯時や入眠初期の深部体温の違いが、副交感神経の差異と併せて睡眠構築にも影響を与える可能性を示した。研究課題 2-1 では、被験者の生活特性を統一するスクリーニングを行っていなかったことが、深部体温の日内リズムに有意な差を観察できなかった原因ではないかと考えた。

研究課題 2-2 では、朝型・夜型質問紙を使用し、朝型または中間型の被験者のみを対象に実験を行なった。さらに、ヒューマン・カロリメータに入室する本試験当日の 5 日前からアクチグラフを装着し、起床時刻と就寝時刻を本試験のスケジュールと統一する介入を行った。研究課題 2-1 にて開発した試験食を研究課題 2-2 でも使用し、高飽和脂肪酸食の摂取と比較し高不飽和脂肪酸食の摂取が脂質酸化量を約 10%増加させること、睡眠期間を中心に副交感神経を高めることを改めて確認した。深部体温に関して、コサイナー法によって定量した頂点位相を被験者ごとに確認したところ、高飽和脂肪酸食によって 9 人中 7 人が頂点位相を後退させており、有意な差を観察した (図 21)。さらに、睡眠時脳波を測定し、高飽和脂肪酸食の摂取によって睡眠第一周期の深睡眠出現時間が減少することを確認した。前述の通り、睡眠第一周期の深睡眠出現の減少は、アスリートのコンディション調節の不都合やパフォーマンスの低下を引き起こすデメリットにつながる。

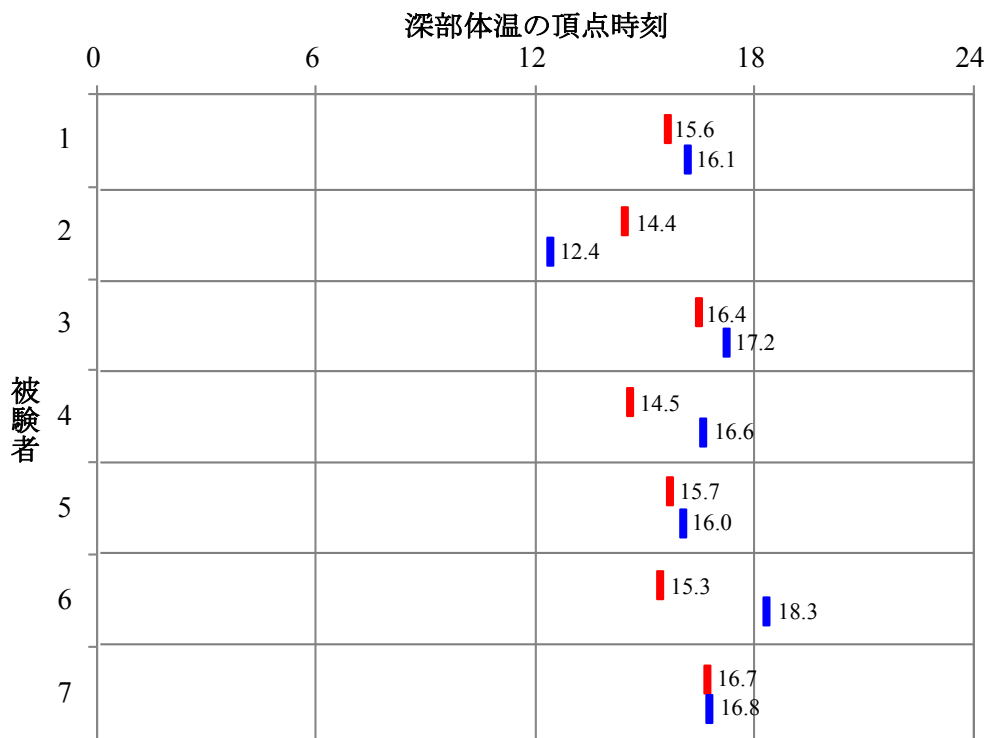


図 20. 研究課題 2-1 各被験者の深部体温 頂点位相  
 (■ : 高飽和脂肪酸食試行、■ : 高不飽和脂肪酸食試行)



図 21. 研究課題 2-2 各被験者の深部体温 頂点位相  
 (■：高飽和脂肪酸食試行、■：高不飽和脂肪酸食試行)

アスリーの食事手法に関するこれまでの先行研究では、睡眠や生体リズムへの影響について注目している研究は皆無である。研究課題 1 で得られた結果から、栄養素組成の異なる夕食を摂取したあと、7~8 時間にわたり酸化基質に明確な差が現れている。つまり、夕食後 7~8 時間以内に就寝をすることは睡眠の質に影響を与える可能性があることを、アスリート本人およびサポートするスタッフは理解しておくべきであると言える。一方、研究課題 2-1、2-2 の結果で得られた結果から、高脂肪食を摂取する場合には脂質の種類によって脂質代謝の低下に加え睡眠の質や生体リズムが変化する。厚生労働省の国民健康・栄養調査（厚生労働省, 2016）によると 2016 年の日本人の脂質エネルギー

ギー比率は全体としては 27.4%であり、3 人に 1 人は 30%を越えている (図 22)。その摂取している脂質の内訳の年毎の推移を見ると、肉類と菓子類が増加し魚介類が低下している (図 23)。一般的に肉類に含まれる脂質は飽和脂肪酸の割合が多い (医歯薬出版. 2016)。さらに、菓子類の代表であるチョコレートやドーナツなどの嗜好品には大量の飽和脂肪酸が使用されている。反対に魚介類に含まれる脂質は不飽和脂肪酸の割合が多い。これらの調査から日本人の摂取する脂質の中身は飽和脂肪酸の割合が多くなる食生活に移行していると考えられる。長期間にわたる高脂肪食の場合には飽和脂肪酸の摂取割合が多くなる食材や調理法を避け、不飽和脂肪酸の摂取割合が多くなるような食材選びや工夫をする必要がある。

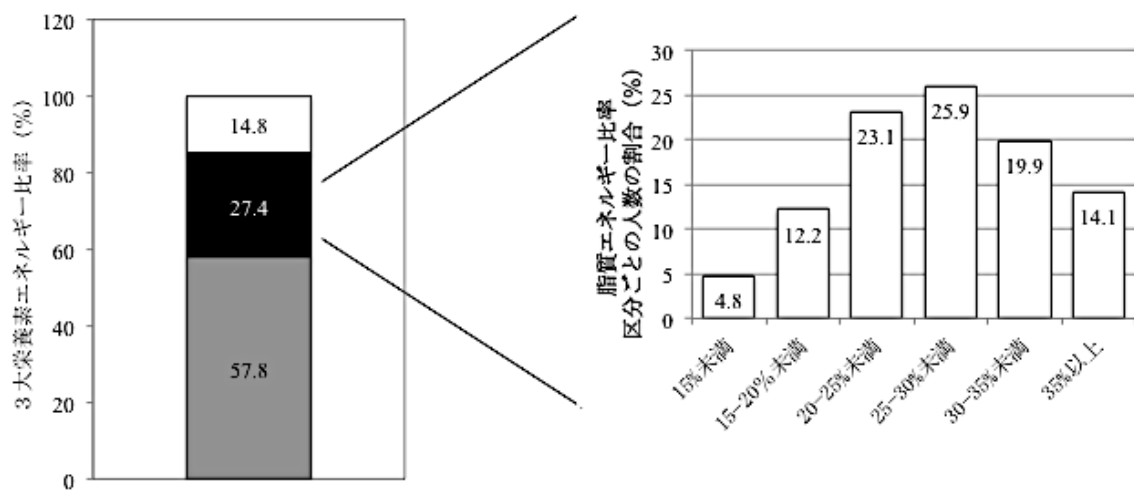


図 22. 3 大栄養素エネルギー比率 (左図)、  
脂質エネルギー比率区分ごとの人数の割合 (右図)  
(□ : たんぱく質エネルギー比率、■ : 脂質エネルギー比率、  
■ : 炭水化物エネルギー比率)

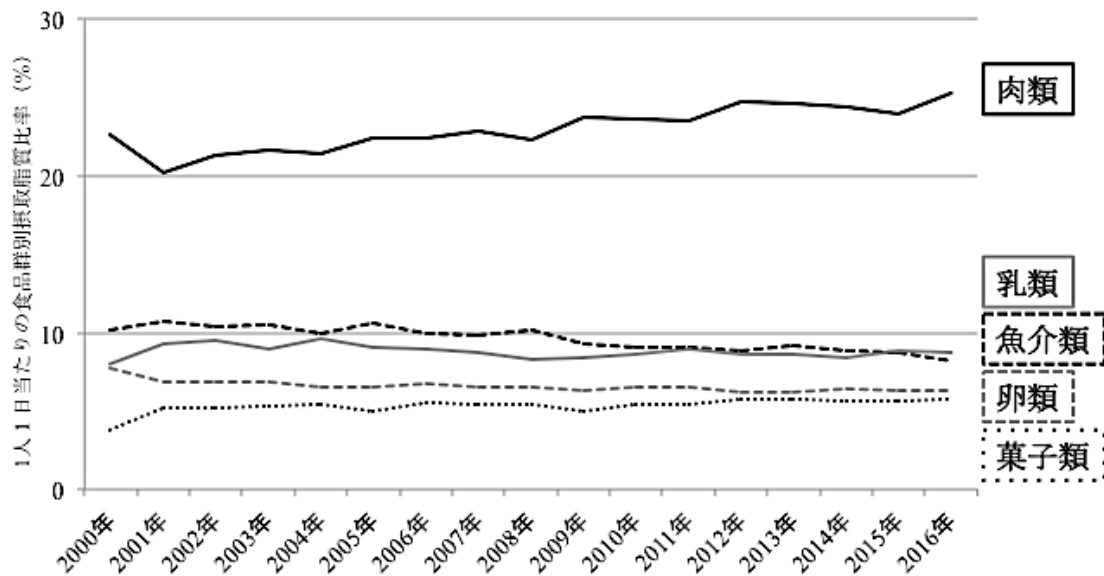


図 23. 食品群別摂取脂質比率の年次推移

今後の検討課題がいくつか考えられる。研究課題 2-1、2-2 から得られた生体リズムの遅延現象の根本的メカニズムを突き止めるためには、血清の脂肪酸を分画し遊離脂肪酸やリン脂質の脂肪酸組成を分析する必要がある。試験食として摂取した高飽和脂肪酸食にはパルミチン酸が最も多く含まれている。In vitro の研究では、骨格筋細胞、肝臓細胞、視床下部ニューロンの培養の際にパルミチン酸の暴露を行うことによって、小胞体ストレスや活性化酸素の産生 (Nakamura. 2009, Mayer. 2010)、炎症性物質の増加 (Savage. 2007)、インスリン抵抗性が生じるようになる (Alkhateeb. 2007) ことが分かっている。同様に、細胞培養の際にパルミチン酸の曝露を行うことによって Clock、Bmal1、Rev-erba などのコア時計遺伝子発現の頂点位相が遅延したという報告が近年なされている (Fick. 2011, Greco. 2014) ため、血清を分画することでより詳細な脂肪酸組成のデータを得る必要がある。また、本研究ではヒトを対象として実験を行っているため、脳や肝臓の細胞をサンプリングすることができていない。生体リズムを生み出す体



内の中枢時計は脳の視床下部にあるとされており、末梢時計の中でも食事の影響を最も強く受けるとされている組織は肝臓細胞の時計遺伝子である (Poggiogalle. 2018)。白血球細胞の transcriptome は生体内の多数の臓器における transcriptome を動的に反映していると報告している論文もある (Liew. 2006) ため、今後は白血球の時計遺伝子発現を測定することを計画している。

また、本研究の研究課題 1、2-1、2-2 は全て短期的な食事介入による影響を検討している。アスリートの食事手法は試合当日まで複数日に渡って実施する場合や、数カ月に及ぶ長期的に実施する場合もあり得るため、今後は中・長期的な食事介入試験での検討が必要である。本研究は全て健常な男性を対象に行っている。本研究の結果を一般化につなげるためには、肥満者や高齢者といったエネルギー代謝や生活リズムの異なる対象による検討も必要であると考えられる。さらに女性の検討も忘れてはいけない。脂質の代謝には男女差があると考えられており、女性は不飽和脂肪酸の摂取によって男性よりも脂質酸化量の増大割合が大きいと報告されている (Kien. 2008)。食事によるエネルギー代謝反応が男性と異なるという事実は、睡眠や生体リズムへの影響にも男女差が観察されることを予想させる。

食事による生理的な変化を検討する基礎研究にとどまるのではなく、睡眠を経た翌日のコンディションや運動パフォーマンスへの影響も多角的に検討するような研究へと本研究を発展させていきたいと考えている。

## 結論

本研究では摂取する栄養素の量や種類の差異がエネルギー代謝、および睡眠を含む生体リズムに与える影響を評価し、高炭水化物食または高脂肪食の摂取によって引き起こされる影響を検討した。その結果、以下のことが明らかになった。

1. 就寝前の高炭水化物食の摂取は、高脂肪食の摂取と比較し睡眠前半の炭水化物酸化量を増大させ、睡眠第一周期の深睡眠出現時間を減少させた。
2. 同程度の脂質割合の食事であっても、脂肪酸組成の差異によってエネルギー代謝が変化する。高飽和脂肪酸食と比較して高不飽和脂肪酸食の摂取は食後の脂質酸化量を増大させ、さらに 24 時間の脂質酸化量も増大させた。
3. 高不飽和脂肪酸食と比較し、高飽和脂肪酸食の摂取は深部体温の日内変動の頂点位相を後退させ、睡眠第一周期における深睡眠出現時間を減少させた。
4. 高不飽和脂肪酸食と比較し、高飽和脂肪酸食の摂取は心拍数を増加させ副交感神経活動を低下させた。さらに、昼食後の血清インスリン濃度を上昇させた。

以上のことから、食事で摂取する栄養素の量や、種類の差異がエネルギー代謝や睡眠

を含む生体リズムを変化させることが明らかになった。エネルギー代謝および生体リズムの乱れは両方とも肥満をはじめとした生活習慣病の発症につながる要因である。本研究結果は、体調管理やパフォーマンスの向上を目指すアスリート、さらには一般の人々も毎日の食事内容に配慮するエビデンスとできると考えられる。

## 謝辞

本稿を終えるにあたり、指導教員として今日までご指導を賜りました筑波大学 徳山薫平先生に多大な感謝の意を表します。私は徳山先生に出会って人生が変わりました。運動栄養学研究室で大学院生活を送れたことを幸せに思います。筑波大学 佐藤誠先生には、睡眠の基礎からご指導いただきました。感謝申し上げます。筑波大学 前田清司先生には副指導教員をお引き受けいただき、多くのアドバイスをいただきました。厚く御礼申し上げます。筑波大学 麻見直美先生には、研究計画、結果の検討の仕方について、修士課程の頃からご指導頂きました。ありがとうございました。

ヒューマン・カロリメータの稼働、調整におきまして多大なるご協力を賜りました富士医科産業株式会社の中島茂社長をはじめとする社員の皆様。データの解析、および分析に関してご助言いただきました広島大学 緒形ひとみ先生。研究の基礎からご指導いただき今日まで育てていただきました天理大学 岩山海渡先生。統計処理方法の相談に乗って下さいました東京医科大学 萱場桃子先生。研究の遂行に協力していただいた運動栄養学研究室の皆様。皆様に、心より感謝申し上げます。

現職を続けながら博士課程に入学することを許可していただき、快く送り出してくださいました東京聖栄大学 田所忠弘先生にも厚く御礼を申し上げます。最後に、試験食の調理やサンプル分析に無償で協力してくれた東京聖栄大学 管理栄養学科 7期、8期、9期、10期の学生達にも心より感謝致します。

多くの方々にご助力いただき、支えられ、本論文を書き終えることができました。お世話になった方々へ恩返しをすべく、これからも頑張ります。ありがとうございました。

## 参考文献

1. Abe M, Herzog ED, Yamazaki S, Straume M, Tei H, et al. Circadian rhythms in isolated brain regions. *J Neurosci*. 2002. 22:350-356.
2. Afaghi A, O'Connor H, Chow CM. Acute effects of the very low carbohydrate diet on sleep indices. *Nutr Neurosci*. 2008. 11: 146-154.
3. Afaghi A, O'Connor H, Chow CM. High-glycemic-index carbohydrate meals shorten sleep onset. *Am J Clin Nutr*. 2007. 85: 426-430.
4. Ako M, Kawara T, Uchida S, Miyazaki S, Nishihara K, Mukai J, Hirao K, Ako J, Okubo Y. Correlation between electroencephalography and heart rate variability during sleep. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2003. 57: 59-65.
5. Alkhateeb H, Chabowski A, Glatz JF, Luiken JF, Bonen A. Two phases of palmitate-induced insulin resistance in skeletal muscle: impaired GLUT4 translocation is followed by a reduced GLUT4 intrinsic activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007. 293:783-793.
6. Arendt J. Shift work: coping with the biological clock. *Occup Med*. 2010. 60: 10-20.
7. Awad AB, Chattopadhyay JP. Effect of dietary saturated fatty acids on hormone-sensitive lipolysis in rat adipocytes. *J Nutr*. 1986. 116: 1088-1094.
8. Bergouignan A, Momken I, Schoeller DA, Simon C, Blanc S. Metabolic fate of saturated and monoun- saturated dietary fats: the Mediterranean diet revisited from epidemiological evidence to cellular mecha- nisms. *Prog Lipid Res*. 2009. 48: 128-147.

9. Bergström J, Hermansen L, Hultman E, Saltin B. Diet, muscle glycogen and physical performance. *Acta Physiol Scand.* 1967. 71:140-150.
10. Bradley NS, Heigenhauser GJ, Roy BD, Staples EM, Inglis JG, LeBlanc PJ, Peters SJ. The acute effects of differential dietary fatty acids on human skeletal muscle pyruvate dehydrogenase activity. *J Appl Physiol.* 2008. 104: 1-9.
11. Brainard GC, Hanifin JP, Greeson JM, Byrne B, Glickman G, Gerner E, Rollag. Action spectrum for melatonin regulation in humans: evidence for a novel circadian photoreceptor. *J Neurosci.* 2001. 21: 6405-6412.
12. Burke LM, Hawley JA, Angus DJ, Cox GR, Clark SA, Cummings NK, Desbrow B, Hargreaves M. Adaptations to short-term high-fat diet persist during exercise despite high carbohydrate availability. *Med Sci Sports Exerc.* 2002. 34: 83-91.
13. Burke LM. Re-Examining High-Fat Diets for Sports Performance: Did We Call the 'Nail in the Coffin' Too Soon? *Sports Med.* 2015. 45: 33-49.
14. Campbell SS, Murphy PJ. Relationships between sleep and body temperature in middle-aged and older subjects. *J Am Geriatr Soc.* 1998. 46: 458-462.
15. Canaple L, Rambaud J, Dkhissi-Benyahya O, Rayet B, Tan NS, Michalik L, Delaunay F, Wahli W, Laudet V. Reciprocal regulation of brain and muscle Arnt-like protein 1 and peroxisome proliferator-activated receptor alpha defines a novel positive feedback loop in the rodent liver circadian clock. *Mol Endocrinol.* 2006. 20: 1715-1727.
16. Casas-Agustench P , Lo´pez-Uriarte P , Bullo´ M, Ros E, Go´mez-Flores A, Salas-Salvado´ J. Acute effects of three high-fat meals with different fat saturations on energy expenditure, substrate oxidation and sati-ety. *Clin Nutr.* 2009; 28: 39–45

17. Cermakian N, Monaco L, Pando MP, Dierich A, Sassone-Corsi P. Altered behavioral rhythms and clock gene expression in mice with a targeted mutation in the *Period1* gene. *EMBO J.* 2001. 20: 3967-3974.
18. Chandola T, Ferrie JE, Perski A, Akbaraly T, Marmot MG. The effect of short sleep duration on coronary heart disease risk is greatest among those with sleep disturbance: a prospective study from the Whitehall II cohort. *Sleep.* 2010. 33: 739-744.
19. Chaput JP, Després JP, Bouchard C, Tremblay A. The association between short sleep duration and weight gain is dependent on disinhibited eating behavior in adults. *Sleep.* 2011. 34: 1291-1297.
20. Chikahisa S, Tominaga K, Kawai T, Kitaoka K, Oishi K, Ishida N, Rokutan K, Séi H. Bezafibrate, a peroxisome proliferator-activated receptors agonist, decreases body temperature and enhances electroencephalogram delta-oscillation during sleep in mice. *Endocrinology.* 2008.149: 5262-5271.
21. Cho H, Zhao X, Hatori M, Yu RT, Barish GD, Lam MT, Chong LW, DiTacchio L, Atkins AR, Glass CK, Liddle C, Auwerx J, Downes M, Panda S, Evans RM. Regulation of circadian behaviour and metabolism by REV-ERB- $\alpha$  and REV-ERB- $\beta$ . *Nature.* 2012. 485: 123-127.
22. Chryssanthopoulos C, Williams C, Nowitz A, Kotsiopolou C, Vleck V. The effect of a high carbohydrate meal on endurance running capacity. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2002. 12:157-171.
23. Chryssanthopoulos C, Williams C. Pre-exercise carbohydrate meal and endurance running capacity when carbohydrates are ingested during exercise. *Int J Sports Med.* 1997.

18:543-548.

24. Cook C, Beaven CM, Kilduff LP, Drawer S. Acute caffeine ingestion's increase of voluntarily chosen resistance-training load after limited sleep. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2012. 22: 157-164.
25. Cox PJ, Kirk T, Ashmore T, Willerton K, Evans R, Smith A, Murray AJ, Stubbs B, West J, McLure SW, King MT, Dodd MS, Holloway C, Neubauer S, Drawer S, Veech RL, Griffin JL, Clarke K. Nutritional Ketosis Alters Fuel Preference and Thereby Endurance Performance in Athletes. *Cell Metab.* 2016. 24: 256-268.
26. Czeisler CA, Dumont M, Duffy JF, Steinberg JD, Richardson GS, Brown EN, Sánchez R, Ríos CD, Ronda JM. Association of sleep-wake habits in older people with changes in output of circadian pacemaker. *Lancet.* 1992. 340: 933-936.
27. DeFronzo RA, Cooke CR, Andres R, Faloona GR, Davis PJ. The effect of insulin on renal handling of sodium, potassium, calcium, and phosphate in man. *J Clin Invest.* 1975. 55: 845-855.
28. DeLany JP, Windhauser MM, Champagne CM, Bray GA. Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr.* 2000. 72: 905-911.
29. Dewasmes G, Cohen-Adad F, Koubi H, Le Maho Y. Sleep changes in long-term fasting geese in relation to lipid and protein metabolism. *Am J Physiol.* 1984. 247: 663-671.
30. E. Hultman L. H. Nilsson. Liver Glycogen in Man. Effect of Different Diets and Muscular Exercise. *Advances in Experimental Medicine and Biology, vol II, Muscle Metabolism During Exercise.* 1971. 143-151.
31. Eckel-Mahan KL, Patel VR, Mohny RP, Vignola KS, Baldi P, Sassone-Corsi P.



- Coordination of the transcriptome and metabolome by the circadian clock. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012. 109: 5541-5546.
32. Endo T, Roth C, Landolt HP, Werth E, Aeschbach D, Achermann P, Borbély AA. Selective REM sleep deprivation in humans: effects on sleep and sleep EEG. *Am J Physiol*. 1998. 274: 1186-1194.
  33. Febbraio MA, Keenan J, Angus DJ, Campbell SE, Garnham AP. Preexercise carbohydrate ingestion, glucose kinetics, and muscle glycogen use: effect of the glycemic index. *J Appl Physiol*. 2000. 89:1845-1851.
  34. Ferrannini E. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism*. 1988. 37: 287-301.
  35. Fick LJ, Fick GH, Belsham DD. Palmitate alters the rhythmic expression of molecular clock genes and orexigenic neuropeptide Y mRNA levels within immortalized, hypothalamic neurons. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011. 413: 414-419.
  36. Flint A, Helt B, Raben A, Toubro S, Astrup A. Effects of different dietary fat types on afterprandial appetite and energy expenditure. *Obes Res*. 2003; 11: 1449–1455.
  37. Fontvieille A, Rising M, Spraul D, Larson E, Tavassin. Relationship between sleep stages and metabolic rate in human. *Am J Physiol*. 1994. 267:732-737.
  38. Forman BM, Chen J, Evans RM. Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors  $\alpha$  and  $\delta$ . *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997. 94: 4312–4317.
  39. Fullagar HH, Skorski S, Duffield R, Hammes D, Coutts AJ, Meyer T. Sleep and athletic performance: the effects of sleep loss on exercise performance, and physiological and

- cognitive responses to exercise. *Sports Med.* 2015. 45: 161-186.
40. Gillingham LG, Harris-Janz S, Jones PJ. Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. *Lipids.* 2011. 46: 209-228.
  41. Greco JA, Oosterman JE, Belsham DD. Differential effects of omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid and palmitate on the circadian transcriptional profile of clock genes in immortalized hypothalamic neurons. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2014. 307: 1049-1060.
  42. Hashimoto M, Hossain S, Al Mamun A, Matsuzaki K, Arai H. Docosahexaenoic acid: one molecule diverse functions. *Crit Rev Biotechnol.* 2017. 37: 579-597.
  43. Hawley JA. Fat adaptation science: low-carbohydrate, high- fat diets to alter fuel utilization and promote training adaptation. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser.* 2011. 69:59-71.
  44. Himsworth HP. High Carbohydrate diet and insulin efficiency. *Br Med J.* 1934. 2: 57-60.
  45. Hirao A, Tahara Y, Kimura I, Shibata S. A balanced diet is necessary for proper entrainment signals of the mouse liver clock. *PLoS One.* 2009. 4: e6909.
  46. Hofman MA, Swaab DF. Living by the clock: the circadian pacemaker in older people. *Ageing Res Rev.* 2006. 5: 33-51.
  47. Hori T, Sugita Y, Koga E, Shirakawa S, Inoue K, Uchida S, Kuwahara H, Kousaka M, Kobayashi T, Tsuji Y, Terashima M, Fukuda K, Fukuda N. Proposed supplements and amendments to 'A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System for Sleep Stages of Human Subjects', the Rechtschaffen & Kales (1968) standard. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2001. 55: 305-310.

48. Hsieh SD, Muto T, Murase T, Tsuji H, Arase Y. Association of short sleep duration with obesity, diabetes, fatty liver and behavioral factors in Japanese men. *Intern Med.* 2011. 50: 2499-2502.
49. Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, Ding X, Gautron L, Parameswara V, Li Y, Goetz R, Mohammadi M, Esser V, Elmquist JK, Gerard RD, Burgess SC, Hammer RE, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA. Endocrine regulation of the fasting response by PPARalpha-mediated induction of fibroblast growth factor 21. *Cell Metab.* 2007. 5: 415-425.
50. Jenkins JB, Omori T, Guan Z, Vgontzas AN, Bixler EO, Fang J. Sleep is increased in mice with obesity induced by high-fat food. *Physiol Behav.* 2006. 87: 255-62.
51. Katayose Y, Tasaki M, Ogata H, Nakata Y, Tokuyama K, Satoh M. Metabolic rate and fuel utilization during sleep assessed by whole-body indirect calorimetry. *Metabolism.* 2009. 58: 920-926.
52. Kayaba M, Park I, Iwayama K, Seya Y, Ogata H, Yajima K, Satoh M, Tokuyama K. Energy metabolism differs between sleep stages and begins to increase prior to awakening. *Metabolism.* 2017. 69: 14-23.
53. Kien CL, Bunn JY. Gender alters the effects of palmitate and oleate on fat oxidation and energy expenditure. *Obesity.* 2008. 16: 29-33.
54. King DP, Takahashi JS. Molecular genetics of circadian rhythms in mammals. *Annu Rev Neurosci.* 2000. 3:713-742.
55. Kohsaka A, Laposky AD, Ramsey KM, Estrada C, Joshu C, Kobayashi Y, Turek FW, Bass J. High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. *Cell Metab.* 2007. 6: 414-421.

56. Kräuchi K, Cajochen C, Werth E, Wirz-Justice A. Warm feet promote the rapid onset of sleep. *Nature*. 1999. 401: 36-37.
57. Lack LC, Gradisar M, Van Someren EJ, Wright HR, Lushington K. The relationship between insomnia and body temperatures. *Sleep Med Rev*. 2008. 12: 307-317.
58. Liao FH, Liou TH, Chiu WC, Shieh MJ, Chien YW. Differential effects of high MUFA with high or low P/S ratio (polyunsaturated to saturated fatty acids) on improving hepatic lipolytic enzymes and mediating PPAR $\gamma$  related with lipoprotein lipase and hormone-sensitive lipase of white adipose tissue in diet- induced obese hamster. *Int J Obes*. 2010. 34:1608–1617.
59. Liew CC, Ma J, Tang HC, Zheng R, Dempsey AA. The peripheral blood transcriptome dynamically reflects system wide biology: a potential diagnostic tool. *J Lab Clin Med*. 2006. 147: 126-132.
60. Lindseth G, Lindseth P, Thompson M. Nutritional effects on sleep. *West J Nurs Res*. 2013. 35: 497-513.
61. Linstrom PJ, Mallard, W.G.(eds.) NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute of Standards and Technology. 2017 June 21 [cited 4 June 2018]. In: NIST webbook [Internet]. Gaithersburg MD. Available from: <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C122327&Units=SI&Mask=2#Thermo-Condensed>.
62. Linstrom PJ, Mallard, W.G.(eds.) NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute of Standards and Technology. 2017 June 21 [cited 4 June 2018]. In: NIST webbook [Internet]. Gaithersburg MD. Available from:

<http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C14465680&Units=SI&Mask=2#Thermo-Condensed>.

63. Linstrom PJ, Mallard, W.G.(eds.) NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute of Standards and Technology. 2017 June 21 [cited 4 June 2018]. In: NIST webbook [Internet]. Gaithersburg MD. Available from: <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C537406&Units=SI&Mask=2#Thermo-Condensed>.
64. Linstrom PJ, Mallard, W.G.(eds.) NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute of Standards and Technology. 2017 June 21 [cited 4 June 2018]. In: NIST webbook [Internet]. Gaithersburg MD. Available from: <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C555442&Units=SI&Mask=2#Thermo-Condensed>.
65. Lomenick JP, Melguizo MS, Mitchell SL, Summar ML, Anderson JW. Effects of meals high in carbohydrate, protein, and fat on ghrelin and peptide YY secretion in prepubertal children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009. 94: 4463-4471.
66. López S, Bermúdez B, Pacheco YM, Villar J, Abia R, Muriana FJ. Distinctive postprandial modulation of beta cell function and insulin sensitivity by dietary fats: monounsaturated compared with saturated fatty acids. *Am J Clin Nutr.* 2008. 88: 638-644.
67. MacFadyen UM, Oswald I, Lewis SA. Starvation and human slow-wave sleep. *J Appl Physiol.* 1973. 35: 391-394.
68. Mah CD, Mah KE, Kezirian EJ, Dement WC. The effects of sleep extension on the athletic performance of collegiate basketball players. *Sleep.* 2011. 34: 943-50.

69. Mandar S, Müller M, Kersten S. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha target genes. *Cell Mol Life Sci.* 2004. 61: 393–416.
70. Mayer CM, Belsham DD. Palmitate attenuates insulin signaling and induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis in hypothalamic neurons: rescue of resistance and apoptosis through adenosine 5' monophosphate-activated protein kinase activation. *Endocrinology.* 2010.
71. Mekki N, Charbonnier M, Borel P, Leonardi J, Juhel C, Portugal H et al. Butter differs from olive oil and sunflower oil in its effects on postprandial lipemia and triacylglycerol-rich lipoproteins after single mixed meals in healthy young men. *J Nutr.* 2002. 132: 3642–3649.
72. Miller WC, Bryce GR, Conlee RK. Adaptations to a high-fat diet that increase exercise endurance in male rats. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1984. 56:78-83.
73. Nakamura S, Takamura T, Matsuzawa-Nagata N, Takayama H, Misu H, Noda H, Nabemoto S, Kurita S, Ota T, Ando H, Miyamoto K, Kaneko S. Palmitate induces insulin resistance in H4IIEC3 hepatocytes through reactive oxygen species produced by mitochondria. *J Biol Chem.* 2009. 284: 14809-14818.
74. Naylor E, Bergmann BM, Krauski K, Zee PC, Takahashi JS, Vitaterna MH, Turek FW. The circadian clock mutation alters sleep homeostasis in the mouse. *J Neurosci.* 2000. 20: 8138-8143.
75. Oishi K, Shirai H, Ishida N. CLOCK is involved in the circadian transactivation of peroxisome-proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) in mice. *Biochem J.* 2005. 386: 575-581.
76. Oishi K, Uchida D, Ohkura N, Doi R, Ishida N, Kadota K, Horie S. Ketogenic diet disrupts

- the circadian clock and increases hypofibrinolytic risk by inducing expression of plasminogen activator inhibitor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009. 29: 1571-1577.
77. Okano G, Takeda H, Morita I, Katoh M, Mu Z, Miyake S. Effect of pre-exercise fructose ingestion on endurance performance in fed men. *Med Sci Sports Exerc.* 1988. 20:105-109.
78. Oliver SJ, Costa RJ, Laing SJ, Bilzon JL, Walsh NP. One night of sleep deprivation decreases treadmill endurance performance. *Eur J Appl Physiol.* 2009. 107: 155-161.
79. Phillips F, Crisp AH, McGuinness B, Kalucy EC, Chen CN, Koval J. Isocaloric diet changes and electroencephalographic sleep. *Lancet.* 1975. 2: 723–725.
80. Piers LS, Walker KZ, Stoney RM, Soares MJ, O’Dea K. The influence of the type of dietary fat on after- prandial fat oxidation rates: monounsaturated (olive oil) vs saturated fat (cream). *Int J Obesity.* 2002; 26: 814–821.
81. Pivovarova O, Gögebakan Ö, Sucher S, Groth J, Murahovschi V, Kessler K, Osterhoff M, Rudovich N, Kramer A, Pfeiffer AF. Regulation of the clock gene expression in human adipose tissue by weight loss. *Int J Obes.* 2016. 40: 899-906.
82. Pivovarova O, Jürchott K, Rudovich N, Hornemann S, Ye L, Möckel S, Murahovschi V, Kessler K, Seltmann AC, Maser-Gluth C, Mazuch J, Kruse M, Busjahn A, Kramer A, Pfeiffer AF. Changes of Dietary Fat and Carbohydrate Content Alter Central and Peripheral Clock in Humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015.
83. Poggiogalle E, Jamshed H, Peterson CM. Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans. *Metabolism.* 2018. 84: 11-27.
84. Pyörälä K. Relationship of glucose tolerance and plasma insulin to the incidence of coronary heart disease: results from two population studies in Finland. *Diabetes Care.* 1979.

2: 131-141.

85. Rechtschaffen A, Kales A. A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Washington DC: US Government Printing Office: 1968.
86. Richieri GV, Ogata RT, Zimmerman AW, Veerkamp JH, Kleinfeld AM. Fatty acid binding proteins from different tissues show distinct patterns of fatty acid interactions. *Biochemistry*. 2000. 39: 7197–7204.
87. Rowlands DS, Hopkins WG. Effects of high-fat and high-carbohydrate diets on metabolism and performance in cycling. *Metabolism*. 2002. 51: 678-690.
88. Sartorius T, Ketterer C, Kullmann S, Balzer M, Rotermund C, Binder S, Hallschmid M, Machann J, Schick F, Somoza V, Preissl H, Fritsche A, Häring HU, Hennige AM. Monounsaturated fatty acids prevent the aversive effects of obesity on locomotion, brain activity, and sleep behavior. *Diabetes*. 2012. 61: 1669-1679.
89. Sato K, Kashiwaya Y, Keon CA, Tsuchiya N, King MT, Radda GK, Chance B, Clarke K, Veech RL. Insulin, ketone bodies, and mitochondrial energy transduction. *FASEB J*. 1995. 9: 651-658.
90. Savage DB, Petersen KF, Shulman GI. Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance. *Physiol Rev*. 2007. 87: 507-520.
91. Schabort EJ, Bosch AN, Weltan SM, Noakes TD. The effect of a preexercise meal on time to fatigue during prolonged cycling exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 1999. 31:464-471.
92. Scherrer U, Sartori C. Insulin as a vascular and sympathoexcitatory hormone: implications for blood pressure regulation, insulin sensitivity, and cardiovascular morbidity. *Circulation*.



1997. 96: 4104-4113.
93. Schmitz G, Ecker J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Prog Lipid Res.* 2008. 47: 147-155.
  94. Shapiro CM, Bortz R, Mitchell D, Bartel P, Jooste P. Slow-wave sleep: a recovery period after exercise. *Science.* 1981. 214: 1253-1254.
  95. Shimba S, Ishii N, Ohta Y, Ohno T, Watabe Y, Hayashi M, Wada T, Aoyagi T, Tezuka M. Brain and muscle Arnt-like protein-1 (BMAL1), a component of the molecular clock, regulates adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005. 102: 12071-12076.
  96. Shirai H, Oishi K, Kudo T, Shibata S, Ishida N. PPARalpha is a potential therapeutic target of drugs to treat circadian rhythm sleep disorders. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007. 357: 679-682.
  97. Sidossis LS, Wolfe RR. Glucose and insulin-induced inhibition of fatty acid oxidation: the glucose-fatty acid cycle reversed. *Am J Physiol.* 1996. 270:733-738.
  98. Simopoulos AP. An Increase in the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Increases the Risk for Obesity. *Nutrients.* 2016. 8, 128, doi: 10.3390
  99. Soares MJ, Cummings SJ, Mamo JC, Kenrick M, Piers LS. The acute effects of olive oil v. cream on afterprandial thermogenesis and substrate oxidation in aftermenopausal women. *Brit J Nutr.* 2004; 91: 245–252.
  100. Spinweber CL, Ursin R, Hilbert RP, Hilderbrand RL. L-tryptophan: effects on daytime sleep latency and the waking EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1983. 55: 652-661.
  101. Takahashi Y, Kipnis DM. Growth hormone secretion during sleep. *J Clin Invest.* 1968. 47:

2079–2090.

102. Tokuyama K, Ogata H, Katayose Y, Satoh M. Algorithm for transient response of whole body indirect calorimeter: deconvolution with a regularization parameter. *J Appl Physiol.* 2009. 106: 640-650.
103. Tozawa T, Mishima K, Satoh K, Echizenya M, Shimizu T, Hishikawa Y. Stability of sleep timing against the melatonin secretion rhythm with advancing age: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003. 88: 4689-4695.
104. Turek FW, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, McDearmon E, Laposky A, Losee-Olson S, Easton A, Jensen DR, Eckel RH, Takahashi JS, Bass J. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science.* 2005. 308: 1043-1045.
105. Vandewalle G, Middleton B, Rajaratnam SM, Stone BM, Thorleifsdottir B, Arendt J, Dijk DJ. Robust circadian rhythm in heart rate and its variability: influence of exogenous melatonin and photoperiod. *J Sleep Res.* 2007. 16: 148-155.
106. Volek JS, Freidenreich DJ, Saenz C, Kunces LJ, Creighton BC, Bartley JM, Davitt PM, Munoz CX, Anderson JM, Maresh CM, Lee EC, Schuenke MD, Aerni G, Kraemer WJ, Phinney SD. Metabolic characteristics of keto-adapted ultra-endurance runners. *Metabolism.* 2016. 65:100-110.
107. Wilder RM. The effects of ketonemia on the course of epilepsy. *Mayo Clinic Proc.* 1921. 2:307-308.
108. Williams C, Brewer J, Walker M. The effect of a high carbohydrate diet on running performance during a 30-km treadmill time trial. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1992. 65: 18-24.

109. Yamajuku D, Inagaki T, Haruma T, Okubo S, Kataoka Y, Kobayashi S, Ikegami K, Laurent T, Kojima T, Noutomi K, Hashimoto S, Oda H. Real-time monitoring in three-dimensional hepatocytes reveals that insulin acts as a synchronizer for liver clock. *Sci Rep.* 2012. 2: 439.
110. Yamazaki S, Straume M, Tei H, Sakaki Y, Menaker M, Block GD. Effects of aging on central and peripheral mammalian clocks. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002. 99: 10801-1086.
111. Yoshida H, Ishikawa T, Shiraishi F, Kobayashi T. Effects of the timing of exercise on the night sleep. *Psychiatry Clin Neurosci.* 1998. 52: 139-140.
112. Zhang L, Samet J, Caffo B, Bankman I, Punjabi NM. Power spectral analysis of EEG activity during sleep in cigarette smokers. *Chest.* 2008. 133: 427-432.
113. 千葉喜彦, 井上慎一, 田村康二, 永山治男, 本間研一. 時間生物学用語集. 日本時間生物学会誌. 1998. 4, 2.
114. 野田明子, 古池保雄. 終夜睡眠ポリグラフィ. *生体医工学.* 2008. 46: 134-143.
115. 農林水産省. 食品に含まれる主な脂肪酸の例. [http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/trans\\_fat/t\\_kihon/fatty\\_acid.html](http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/trans_fat/t_kihon/fatty_acid.html). (2018年8月)
116. 古池保雄, 野田明子, 中田誠一, 尾崎紀夫. 基礎からの睡眠医学. 名古屋大学出版会. 2010
117. 後藤一成. 成長ホルモンは持久性運動パフォーマンスに影響するか?—成長ホルモン受容体作用阻害薬を用いた検討. *体力科学.* 2008. 57: 743.
118. 石原金由, 宮下彰夫, 犬上牧, 福田一彦, 山崎勝男, 宮田洋. 日本語版朝型-夜型 (Morningness-Eveningness) 質問紙による調査結果. 1986. *心理学研究.* 57: 87-91.

119. 大熊輝雄. 臨床脳波学第 4 版. 医学書院. 1991.

120. 日本食品成分表 2015 年版(七訂) アミノ酸成分表・脂肪酸成分表・炭水化物成分表.  
医歯薬出版. 2016.