

A. 目的

糖尿病患者の食事療法において、ビタミンに関しては、明確な指示量などは示されていない。また、糖尿病患者において欠乏症がみられるとの報告はない。糖代謝異常である糖尿病では、糖質代謝に関わるビタミンであるビタミン B₁、B₂、ナイアシンの代謝変動が考えられる。実際、ビタミン B₁ が糖尿病の進行または進展予防に効果があると報告されている¹⁾。また、これまでに糖尿病患者におけるビタミン摂取が糖尿病の進展予防に効果があった²⁾との報告はあるが、一致した結果は得られていない。本研究では、非インスリン依存性糖尿病ラットにおけるビタミン量が血糖値におよぼす影響について検討した。

B. 実験方法

1. 動物飼育

本実験は滋賀県立大学動物実験委員会の承認を受けた。飼育室の温度は 22°C 前後、湿度は 50% 前後、午前 6 時～午後 6 時を明、午後 6 時～午前 6 時を暗とした。3 週齢雄性 Wistar 系ラット、GK ラットを日本クレア株式会社（東京）より購入し、それぞれ 2 群、計 4 群に分け、約 7 週間飼育した。20% カゼイン食に 0.3%、1.0% となるように AIN-93 VX を添加したものを Wistar 系ラット (Ctrl-0.3%、Ctrl-1.0%)、GK ラット (GK-0.3%、GK-1.0%) に与えた。飼料と水は自由摂取とし、1 日ないし 2 日おきの午前 9 時～10 時に新しいものと交換した。また、その際に体重と飼料摂取量を測定した。飼育最終日の採尿後にラットを断頭屠殺し、血液を採取した。

2. 血糖値の測定

血糖値は毎週空腹時にラット尾静脈より

採血を行い、小型血糖測定機（株式会社三和科学研究所、愛知）にて血糖測定を行った。また、4、9 週齢に経口ブドウ糖付加試験 (OGTT) を行った。

3. 統計処理

数値はすべて平均値 ± 標準誤差 (SEM) で表した。検定は、One-way Analysis of Variance (ANOVA) により行い、*p* 値が 0.05 以下のとき統計的有意差があるものとした。計算には GraphPad Software 社 (San Diego, CA, USA) の GraphPad Prism 4 を使用した。

C. 結果

1. ビタミン量の違いが、体重増加量・飼料摂取量に及ぼす影響

実験期間中の飼料摂取量、体重増加量を図 1 に示した。最終日の体重増加量、飼料摂取量において、Ctrl 群と GK 群との間にそれぞれ約 1.2 倍の差が認められた。一方、ビタミン量 (0.3% と 1.0%) の違いによる差は Ctrl 群、GK 群ともに認められなかった。

2. ビタミン量が血糖値におよぼす影響

実験期間中、毎週ラットの血糖値測定を行った (図 2)。4、5 週齢では 4 群間の血糖値に差は認められなかったが、6 週齢以降 GK 群の血糖値は Ctrl 群に比して約 2 倍に増加していた。ビタミン量 (0.3% と 1.0%) の違いによる差は Ctrl 群、GK 群ともに認められなかった。

4、9 週齢における OGTT では、Ctrl 群、GK 群間で各血糖値測定時間 (30、60、90、120 分) における血糖値および血糖下面積 (AUC) に差が認められた。ビタミン量 (0.3% と 1.0%) の違いによる差は Ctrl 群、GK 群ともに認められなかった (図 3)。

D. 考察

持続する高血糖状態を呈する糖尿病では特に、糖代謝異常であることから糖代謝に関わるビタミン B₁, ビタミン B₂, ナイアシンの必要量が高まると考えられる. これまでに Wistar 系雄性ラットでは, AIN-93 VX ビタミン mix を 0.3%含む飼料摂取による成長障害は見られないことからラットにおけるビタミン必要量としている. しかし, ビタミン必要量が充進していると示唆される糖尿病では, 0.3%ビタミン食でも生体に何らかの影響が見られるのではないかと考えた. また, ビタミンを負荷することによる血糖上昇抑制効果を期待した. 本実験では 0.3%ビタミンを含む飼料をラットの必要量とし, 1.0%ビタミンを含む飼料はビタミンを負荷した飼料とし, ビタミン量の違いが糖付加後の血糖上昇抑制効果に与える影響について検討した.

本実験において 0.3%, 1.0%のビタミン量の違いによる血糖上昇抑制効果は認められなかった. 2 型糖尿病患者のモデルとして汎用される GK ラットは多因子遺伝によって発症すると考えられており, 胎生期より膵ランゲルハンス島の形成不全・ベータ細胞数減少が見られる. 血糖値の上昇は 4 週齢以降からではあるが 生まれながらにして糖尿病のリスクをもっているモデル動物である. 本研究でのビタミン量が糖尿病の発症と発症後の糖付加後血糖上昇に対し抑制効果が見られなかったことより, 既に糖尿病発症遺伝子を有するものではビタミン負荷は血糖抑制に有効ではないと考えられる.

E. 健康危機情報

特記する情報なし

F. 研究発表

1. 発表論文
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許予定
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

H. 引用文献

1. Thornalley PJ, Babaei-Jadidi R, Al Ali H, Rabbani N, Antonysunil A, Larkin J, Ahmed A, Rayman G, Bodmer CW. High prevalence of low plasma thiamine concentration in diabetes linked to a marker of vascular disease. *Diabetologia*. (2007) 50, 2164-70.
2. Kamal M, Abbasy AJ, Muslemanni AA, Bener A. Effect of nicotinamide on newly diagnosed type 1 diabetic children. *Acta Pharmacol Sin* (2006) 27, 724-7.

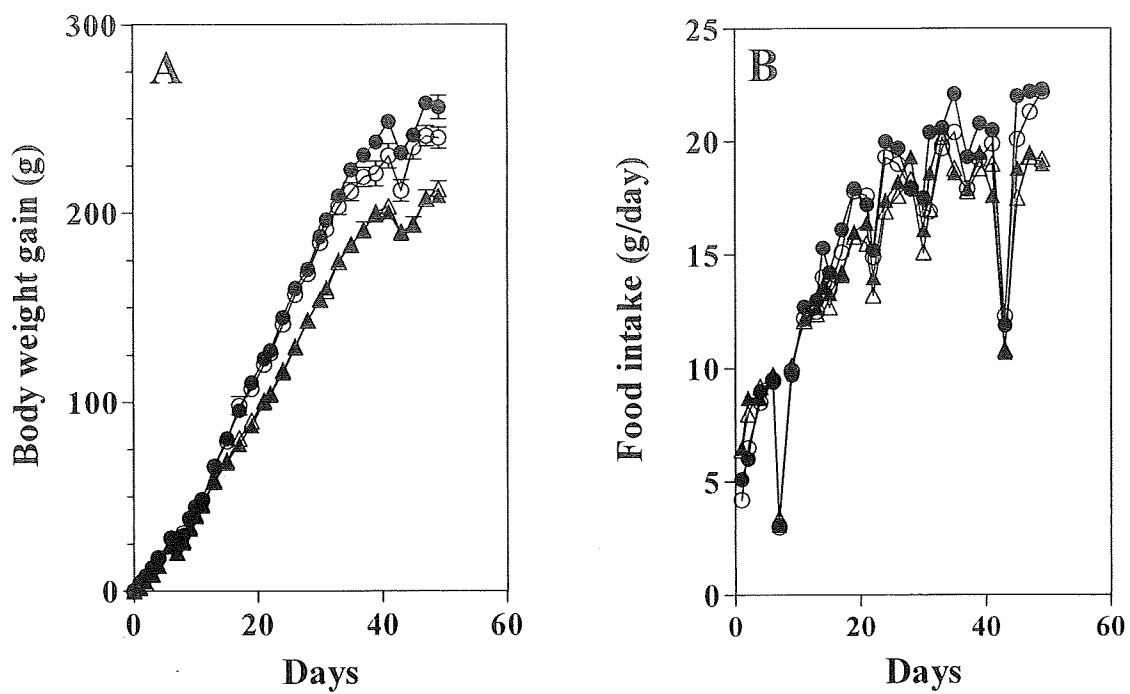


図1. ビタミン量が GK ラットの体重増加量 (A) および飼料摂取量 (B) におよぼす影響
 ○ : Ctrl-1.0% VX 群, ● : Ctrl-0.3% VX 群, △ : GK-0.3% VX 群, ▲ : GK-1.0% VX 群
 数字は平均値 ± 標準偏差で示した.

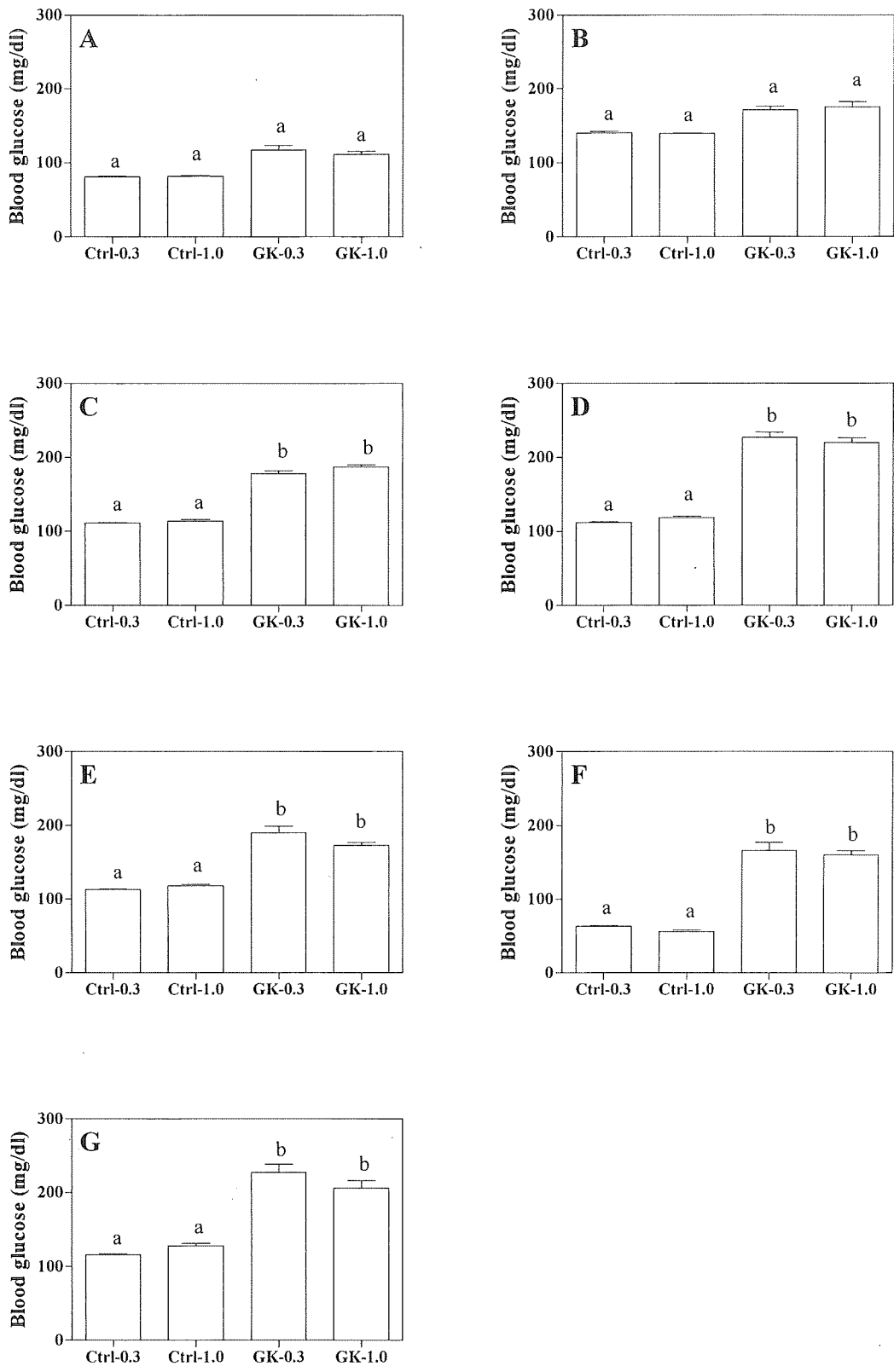


図2. ビタミン量が血糖値におよぼす影響

血糖値は、毎週（A：4週目，B：5週目，C：6週目，D：7週目，E：8週目，F：9週目，G：10週目）ラット尾静脈より採血を行った。値は平均値 ± 標準誤差として示した。異なる添え字は有意差を示す。

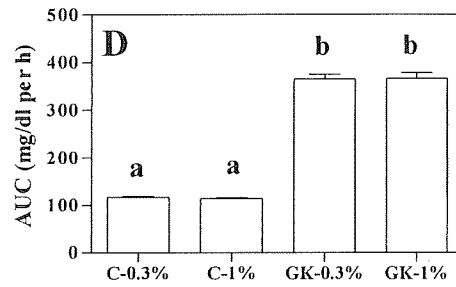
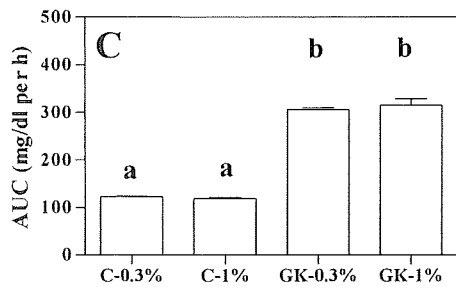
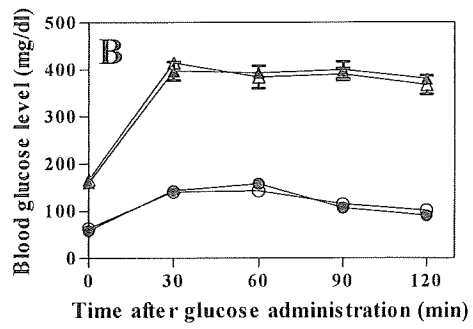
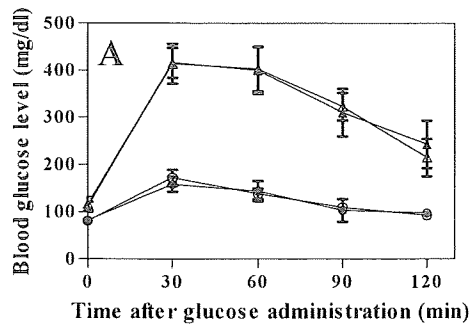


図3. ビタミン量が経口ブドウ糖付加試験 (OGTT) におよぼす影響

A : 4 週齢での OGTT, B : 9 週齢での OGTT, C : 4 週齢での血糖下面積 (AUC), D : 9 週齢での血糖下面積 (AUC). OGTT は空腹時 (0 分), 30, 60, 90, 120 分に行った.

図3-A・B ○ : Ctrl-1.0% VX 群, ● : Ctrl-0.3% VX 群, △ : GK-0.3% VX 群, ▲ : GK-1.0% VX 群. 値は平均値 ± 標準誤差として示した. 異なる添え字は有意差を示す.

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業）

日本人の食事摂取基準を改定するためのエビデンスの構築に関する研究

－微量栄養素と多量栄養素摂取量のバランスの解明－

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

主任研究者の報告書

10. チロキシン摂取がビタミン B₁ の必要量におよぼす影響

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

ビタミン B₁ はエネルギー代謝に関与することから、エネルギー消費量の増加に伴ってビタミン B₁ の必要量も増加すると考えられている。そのため、「日本人の食事摂取基準(2010 年版)」において、ビタミン B₁ の推定平均必要量および推奨量はエネルギーあたりの値として策定されている。しかし、エネルギー消費量が増加すると実際にビタミン B₁ の必要量も増加するという報告は見当たらない。平成 19 年度本研究補助金報告書において、我々は、運動によってビタミン B₁ 必要量が増加することを報告した。本研究では、さらに、エネルギー代謝の亢進がビタミン B₁ の必要量におよぼす影響を明らかにすることを目的として、チロキシンを摂取したラットにおけるビタミン B₁ の生体指標の変動について調べた。必要量のビタミン B₁ を含む 0.5 mg/kg diet チロキシン食あるいは対照食を 3 週齢 Wistar ラットに与え、29 日間飼育した。チロキシンの摂取により肝チアミン含量の減少が認められた。以上の結果より、チロキシン摂取によるエネルギー代謝の亢進がビタミン B₁ の必要量を増加させることが示唆された。

A. 目的

ビタミン B₁ (VB₁) はエネルギー代謝に関与するビタミンであるため、日本人の食事摂取基準 (2010 年版) において、VB₁ の推定平均必要量および推奨量は 1000 kcal あたりの値として示されている¹⁾。これは生化学的背景を根拠とし、エネルギー摂取量あたりの VB₁ 摂取量を用いたメタ・アナリシスに基づいたものである。しかし、ヒトあるいは実験動物において、エネルギー消費量の増大が実際に VB₁ 必要量を増加させたという報告は見当たらない。我々は、平成 19 年度本研究補助金報告書において、運動によるエネルギー消費量の増加がビタミン B₁ 必要量を増加させることを報告した²⁾。運動の他にエネルギー消費量を増加させる方法の一つにチロキシンの摂取がある。甲状腺ホルモンであるチロキシンはエネルギー代謝を亢進することによってエネルギー効率を低下させることがよく知られている。本研究では、エネルギー消費量の増大が VB₁ 必要量におよぼす影響を明らかにすることを目的として、チロキシン食を与えたラットにおける VB₁ に関する生体指標の変動について調べた。

B. 実験方法

1. 動物飼育

本研究は滋賀県立大学動物実験委員会の承認を受けた。飼育室の温度は 22°C 前後、湿度は 50% 前後、午前 6 時から午後 6 時までを明、午後 6 時から午前 6 時までを暗とした。3 週齢の Wistar 系雄ラットを日本クレア (株) より購入し、ラット用代謝ケー

ジに入れた。対照食群には 20% カゼイン食を与え、チロキシン投与群には 0.5 mg/kg diet となるようにチロキシンを添加した 20% カゼイン食を与えた。対照群に与える 20% カゼイン食に含まれる VB₁ 量は、チアミン塩酸塩として 1 mg/kg diet あるいは 6 mg/kg diet とした。チロキシン投与群に与えるチロキシン食に含まれる VB₁ 量は、対照群と摂取量が等しくなるように調節した。飼料と水は自由摂取とし、1 日ないし 2 日おきの午前 9 時から午前 10 時の間に新しいものと交換した。また、その際に体重と飼料摂取量を測定した。29 日間飼育し、飼育最終日の 1 日尿を集めた。飼育終了後に、ラットを断頭屠殺し、血液を採取し、肝臓を摘出した。尿、血液、肝臓は VB₁ 量の測定に供した。

2. 分析

血中総チアミン濃度は、チアミン、TMP、TDP、TTP の合計とした。全血にトリクロロ酢酸を加えて除タンパクし、HPLC による分析に供した³⁾。肝総チアミン量も同様にチアミン誘導体の合計とした。肝臓をトリクロロ酢酸中でホモジナイズし、HPLC による分析に供した。尿中チアミン量を測定するために、尿 9 mL に 1 mol/L HCl を 1 mL 加えて安定化した。この尿を HPLC による分析に供した。

3. 統計処理

データは平均値 ± 標準誤差で表した。2 群間の有意差検定は unpaired Student *t*-test によって行い、*p* 値が 0.05 以下のとき、統計的有意差があるものとした。計算には GraphPad Software 社 (San Diego, CA, USA)

の GraphPad Prism 4 を使用した。

C. 結果

チロキシンの投与量が多いと、体重増加量が著しく減少し、肝機能障害の指標である血漿 ALT, AST 値が上昇した。また、著しく体重の異なる群間では、VB₁ に関する生体指標の比較が難しい。そこで、本研究では、体重増加量に差が生じない程度にエネルギー代謝を亢進させる量のチロキシンをラットに与えた。0.5 mg/kg diet チロキシンの摂取では、体重増加量には影響が認められなかったが、飼料摂取量は対照群の 1.1 倍となった (図 1)。また、0.5 mg/kg diet チロキシンの摂取は血漿 ALT, AST 濃度に影響をおよぼさず、チロキシン投与による肝機能障害は認められなかった。

VB₁ の栄養状態を判定するために、生体指標として尿中チアミン排泄量、血中総チアミン濃度、肝総チアミン量を測定した (図 3)。1 mg/kg diet チアミン塩酸塩の摂取により、尿中チアミン排泄量は検出限界に近い低値を示し、チロキシン摂取による影響は認められなかった。血中チアミン濃度についてもチロキシン摂取による影響は認められなかった。肝総チアミン濃度については、6 mg/kg diet チアミン塩酸塩を摂取したラットにおいてはチロキシン摂取による影響は認められなかったが、1 mg/kg diet チアミン塩酸塩を摂取したラットにおいてはチロキシン摂取によって減少した。

D. 考察

本研究では、エネルギー消費量の増加が

VB₁ 必要量におよぼす影響を明らかにすることを目的として、幼若ラットにチロキシン食を摂取させ、VB₁ に関する生体指標を測定した。0.5 mg/kg diet チロキシンの摂取は体重増加量に影響をおよぼさなかったが、飼料摂取量が 1.1 倍に増加したことから、チロキシン摂取によるエネルギー効率の低下、すなわちエネルギー消費量の増加が示唆された。必要量の VB₁ を与えたラットにおいて、チロキシン摂取による肝総チアミン量の減少が認められた。肝臓は VB₁ の貯蔵臓器であり、血流を介して各臓器へ VB₁ が供給される。チロキシン摂取による肝総チアミン量の減少は各臓器への VB₁ 供給が増大したことを示唆しており、したがってチロキシン摂取による VB₁ 必要量の増加が示唆された。

1 mg/kg diet チアミン塩酸塩を摂取したラットにおいては、チロキシン摂取による尿中チアミン排泄量および血中総チアミン濃度への影響は認められなかった。VB₁ 摂取量が必要量程度であると、尿中チアミン排泄量は著しく少なくなり、VB₁ の栄養状態を反映しない。本研究では体重に影響をおよぼさない量のチロキシンをラットに摂取させたため、チロキシンによるエネルギー消費量の増加は大きくないことが推察される。したがって、エネルギー消費量の増加に伴う VB₁ 必要量の増加も大きくはなく、肝総チアミン量の減少は血中総チアミン濃度を維持できる程度であった可能性が考えられる。

6 mg/kg diet チアミン塩酸塩を摂取したラットにおいては、チロキシン摂取は尿中チ

アミン排泄量，血中総チアミン濃度，肝総チアミン量に影響をおよぼさなかった。これは，必要量の6倍のチアミン塩酸塩を摂取したため，肝臓にVB₁が十二分に貯蔵され，多少のVB₁必要量の増加による影響を受けなかった可能性が考えられる。

以上の結果より，必要量のVB₁を摂取させたラットにチロキシンを与えることにより，エネルギー消費量が増加するとVB₁の必要量も増加するということを明らかにした。食事摂取基準でVB₁の推定平均必要量および推奨量がエネルギーあたりの値として策定されたことは妥当であると示された。

E. 健康危機情報

特記する情報なし

F. 研究発表

1. 発表論文

なし

2. 学会発表

・坂崎愛，福渡努，柴田克己．エネルギー代謝の亢進がビタミンの必要量におよぼす影響（第48回日本栄養・食糧学会近畿支部大会，平成21年11月，京都市）

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許予定

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 引用文献

1. 厚生労働省．日本人の食事摂取基準（2010年版），厚生労働省「日本人の食事摂取基準」策定検討会報告書．東京，2009.
2. 柴田克己，平成19年度厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業），日本人の食事摂取基準を改定するためのエビデンスの構築に関する研究－微量栄養素と多量栄養素摂取量のバランスの解明－，平成19年度総括・分担研究報告書，2008.
3. 福渡努，鈴浦千絵，佐々木隆造，柴田克己．代謝攪乱物質ビスフェノールAのトリプトファン→ニコチンアミド転換経路の攪乱作用部位．*食品衛生学雑誌* (2004) 45, 231-8.
2. Toda S, Shibata K. Effects of Thyroxine on the conversion ratio of tryptophan to nicotinamide in rats. *Biosci Biotech Biochem* (1994) 58, 1757-62

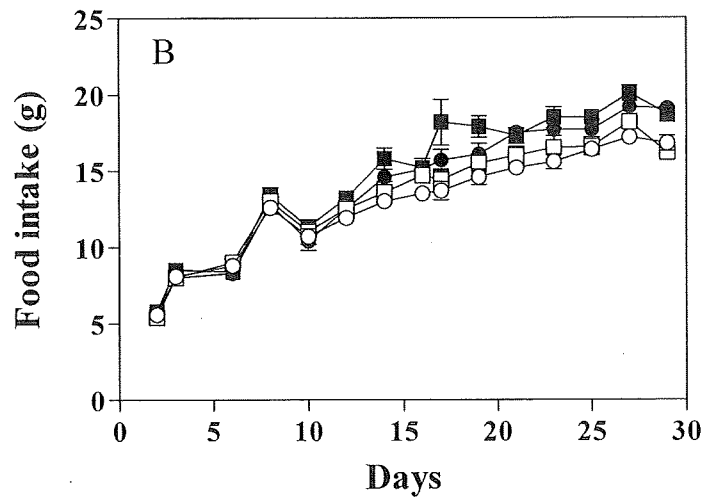
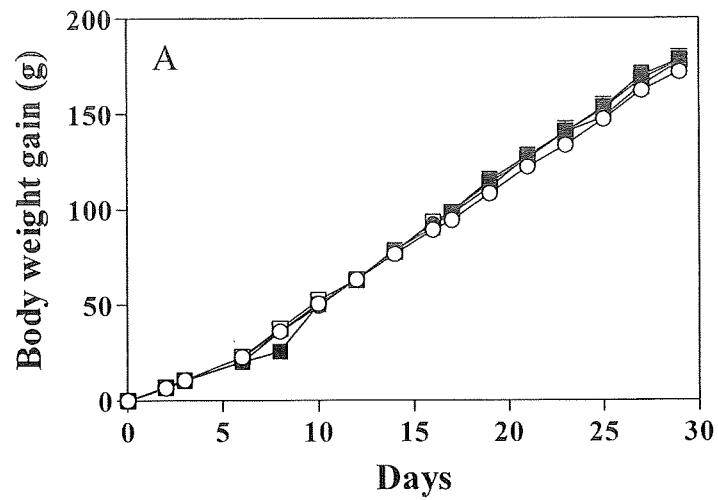


図1. チロキシシン投与が体重増加量 (A) および飼料摂取量 (B) におよぼす影響
 6 mg/kg diet VB₁・対照群 (○), 1 mg/kg diet VB₁・対照群 (□), 6 mg/kg diet VB₁・チロキシシン
 投与群 (●), 1 mg/kg diet VB₁・チロキシシン投与群 (■) の値は平均値 ± 標準誤差として示し
 た.

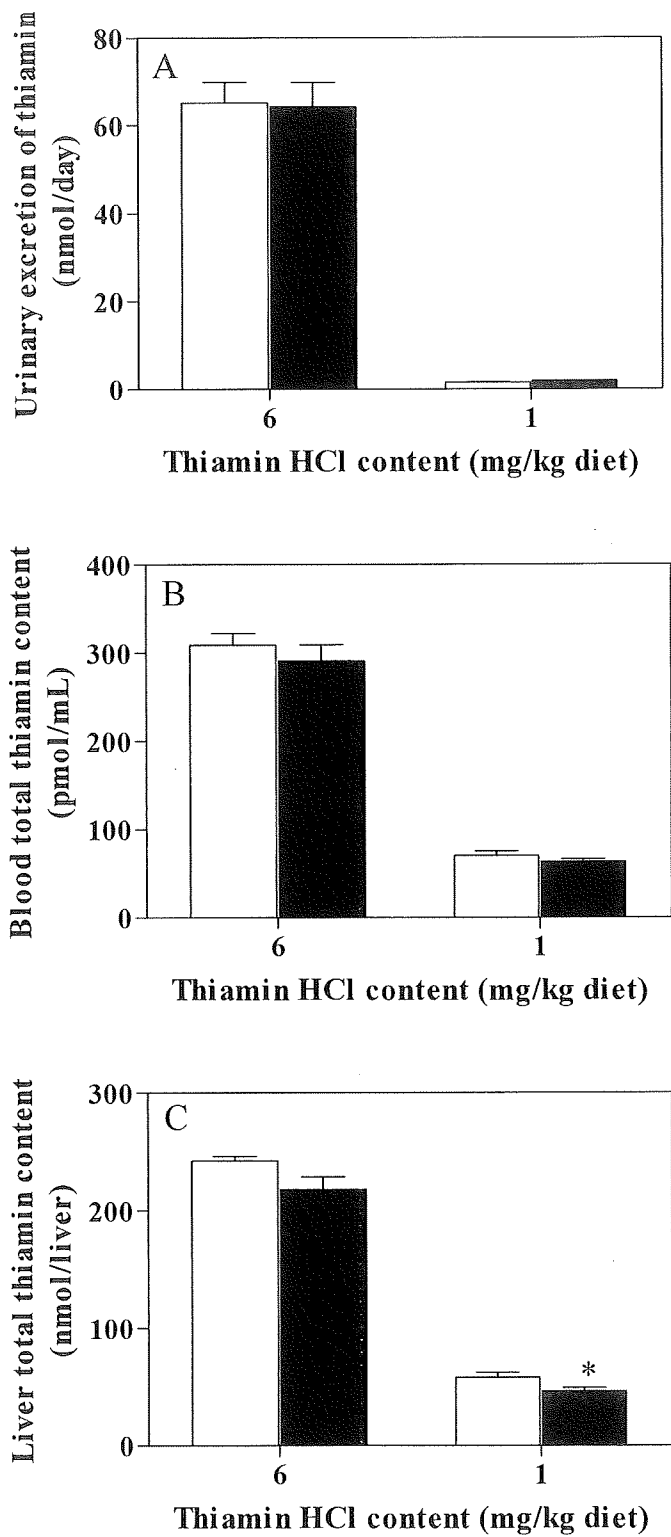


図2. チロキシンの投与が尿中チアミン排泄量 (A), 血中総チアミン濃度 (B), 肝総チアミン量 (C) におよぼす影響
 対照群 (□), チロキシンの投与群 (■) の値は平均値±標準誤差として示した.

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金（循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業）

日本人の食事摂取基準を改定するためのエビデンスの構築に関する研究

—微量栄養素と多量栄養素摂取量のバランスの解明—

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

主任研究者の報告書

11. ラットを用いたグルコース必要量の検討

主任研究者 柴田 克己 滋賀県立大学 教授

研究要旨

一部の臓器において、グルコースは唯一の栄養源となることから、グルコースは他の栄養素に比べ重要度が高く、摂取不足によって何らかの悪影響が現れることが想定される。一方で、食事摂取基準における目標量設定のエビデンスは不十分なものといえる。本研究では、グルコース必要量策定におけるエビデンスの構築を目的に、グルコースを段階的に制限したときの生体の変化を調べ、グルコース不足の指標、その指標を用いたときの必要量について検討した。3 週齢のラットにタンパク食（20%カゼイン食）、グルコースの代替栄養素をフルクトースとして、グルコースのエネルギー比を 60～0%まで段階的に制限し、21 日間飼育した。体重、臓器重量、血液指標等を測定したところ、グルコース制限群で脂質代謝が亢進していた。Ctrl 群と比べて、グルコース 23%以下の群において脂肪重量が、グルコース 0%群において腎臓重量、精巣重量、トリグリセリド、ケトン体、遊離脂肪酸、筋グリコーゲン低値を示した。これらのことから、本研究のラットを用いたグルコース必要量の検討において、グルコース必要量は、脂肪重量を指標として 30%エネルギー比と設定できた。

A. 目的

生体のエネルギー源として、糖質、タンパク質、脂質が挙げられる。この中で、脳や神経組織、赤血球、腎尿細管、精巣、酸素不足の骨格筋などにおいては、通常、グルコースしかエネルギー源として利用できない。そのため、グルコースは他の栄養素に比べ重要度が高く、摂取不足によって何らかの悪影響が表れることが想定される。

日本人の食事摂取基準 [2010年版] においては、炭水化物について、目標量のみがエネルギー%で定められている。この目標量は、グルコースをエネルギー源として利用する体内組織のグルコース要求量の推定値と、タンパク質と脂質の目標量とを合わせて出されたものであり、直接的に糖質摂取量が生体に与える影響を調べたものではない。そのため、この目標量設定のエビデンスは不十分なものといえる。

これまで、炭水化物、グルコース制限について様々な報告があるが、方法、結果とも一様ではない。Renner らは、雛鳥において、適量のタンパク質下では糖質の代わりに脂肪（グリセロールあり）を与えても体重に影響が見られず、脂肪酸（グリセロールなし）の使用では体重減少が見られた、と報告している¹⁾。また、Niewoehner らによると、ラットにグルコース制限食（高タンパク質、高脂質食）を与えると、体重に影響はなかったものの、飼料摂取量が低下、心臓グリコーゲンが低下、インスリン抵抗性が増加したと報告されており²⁾、Gordon らによると、ヒトにおける炭水化物制限によって、体重減少、尿中、血中ケトン体上昇、血中遊離脂肪酸、総コレステロール値の上昇、疲労感が起こったと報告した³⁾。

これらの報告はグルコース制限食を用いているものの、炭水化物以外の主要栄養素（タンパク質、脂質）の比率は様々であり、グルコース制限の影響を調べる指標、その結果とも一様ではない。

本研究では、グルコース必要量策定におけるエビデンスの構築を目的に、まず、グルコースを制限した時のグルコース以外の栄養素の比率、種類について検討し（実験1）、さらに、一定の栄養条件化で、グルコースを段階的に制限したときの生体の変化を調べ、グルコース不足の指標、その指標を用いたときの必要量について検討した（実験2）。

B. 実験方法

1. 動物飼育

本実験は滋賀県立大学動物実験委員会の承認を受けた。飼育室の温度は22℃前後、湿度は50%前後、午前6時～午後6時を明、午後6時～午前6時を暗とした。3週齢のWistar系雄ラットを日本クレア（株）より購入し、各群、平均体重がほぼ等しくなるように下記のように分け、ラット用の代謝ケージに入れ、飼育した。飼料と水は自由摂取とし、1～2日ごとに午前9時～10時に新しいものと交換した。また、その際に体重と飼料摂取量を測定した。

< 実験1 > グルコース制限時の栄養条件

グルコース制限時の栄養条件として、グルコースと重量あたりのエネルギー量がほぼ同等であるタンパク質に注目した。これまでの研究⁴⁾において、高タンパク質食下ではグルコース制限の影響はなかったことから、今回は通常タンパク質食（20%カゼイン食）、低タンパク質食（10%カゼイン食）条件下におけるグルコース制限について検討した。

また、これらの条件下で、グルコース制限の代替栄養素として、それぞれフルクトース、ガラクトースを用いた。フルクトース、ガラクトースはどちらも、糖新生の経路を経てグルコースになる。

通常タンパク食群（タンパク質 20%、糖質 70.3%）で、糖質内容がそれぞれ全てグルコースまたはフルクトースまたはガラクトースの 3 群と、低タンパク食群（タンパク質 10%、糖質 80.3%）で、糖質内容がそれぞれ全てグルコースまたはフルクトース、ガラクトースの 3 群の計 6 群に分け、22 日間飼育し、体重を測定した。飼料組成は表 1 に示した。

< 実験 2 > グルコースの必要量、指標の検討

グルコース以外の栄養素の条件として、以前の研究⁴⁾と本研究の実験 1 の結果より、適度にグルコース制限の影響が出た、20% カゼイン、フルクトース食を用いた。

コントロール群（糖質源がコーンスターチとスクロースで、この中のグルコースのエネルギー%は 60%）、テスト群（糖質源をグルコースもしくはフルクトースとし、グルコースのエネルギー%が高いものから、35%、30%、23%、14%、0%）の 6 群それぞれ、表 2 に示した組成の飼料で 21 日間飼育した。

飼育最終日の採尿後にラットを断頭屠殺し、採血、及び脳、肝臓、腎臓、精巣、筋肉（ヒラメ筋、腓腹筋）、脂肪組織（白色脂肪組織、褐色脂肪組織）を摘出し、各臓器重量を測定し、肝臓、腓腹筋についてはグリコーゲン、ピルビン酸も測定した。また、血清中グルコース、総タンパク、アルブミン、クレアチニン、尿素窒素、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、トリグリセリド、総コレステロール、遊離脂肪酸、ケトン体、

ピルビン酸を測定した。

2. 統計学的解析

数値はすべて平均値±標準誤差 (SEM) で表した。GraphPad Prism (Graph Pad Software, inc., San Diego, California, USA) の One-way ANOVA (Dunnett posttest) を用いた。

C. 結果

< 実験 1 > グルコース制限時の栄養条件

グルコース群、フルクトース群は試料摂取量、体重増加量ともに、20%カゼイン群よりも10%カゼイン群が低い値となり、それぞれのタンパク食群で比較すると、グルコース群よりもフルクトース群が低くなった。体重増加量において、グルコース群に対するフルクトース群の割合は通常タンパク食群で約75%、低タンパク食群で約35%となり、低タンパク食群の方がグルコース制限の影響は大きくなった。ガラクトース群については、低タンパク食群で9日目に死亡する個体があり、通常タンパク食群では試料摂取量がどの群よりも多いが体重増加量は最も低く、白内障、多尿といったガラクトース血症の症状が見られ、グルコース制限よりもガラクトース投与の影響が出る結果となった。

これらの結果より、タンパク栄養状態が悪いことで、グルコース摂取不足の影響が大きく現れること、ガラクトースはそれ自体の毒性が出てしまい、グルコースの代替栄養素としては不適であることが示された。

< 実験 2 > グルコース必要量、指標の検討

実験 1 の結果、以前の研究⁴⁾で高タンパク（60%カゼイン食）条件下においてはグルコース制限の影響はなかったことから、タンパク量は、グルコース制限の影響があり通常食と同量の20%カゼイン食、グルコースの代替

栄養素を、際立った毒性がなかったフルクトースとした条件下で、段階的にグルコース制限を行った。

1. グルコース制限が体重，体組成におよぼす影響

図2に最終日の体重，飼料効率，脂肪重量，筋重量を示した。体重は各群，コントロール群よりも低い値となったが，飼料の体重増加量への寄与度を示す飼料効率には各群差がなかった。

体重あたりの筋重量については，各群差はなく，脂肪重量については，グルコース23%以下の群で低値を示した。

2. グルコース制限が臓器重量，肝機能指標におよぼす影響

脳，精巣，腎臓尿細管は通常，エネルギー源がグルコースに限られており，肝臓は主な糖新生の場であることから，グルコースと関係のある臓器として，脳，肝臓，腎臓，精巣の重量を測定した（図3）。コントロール群と比べて，脳，肝臓に各群差は無かったが，腎臓重量は0%群で低値を示し，精巣については23%と0%群で低値を示した。

3. グルコース制限がタンパク質代謝，肝機能指標におよぼす影響

タンパク代謝の指標として，血清中の総タンパク質，アルブミン，尿素窒素，クレアチンを測定した。また，肝機能の指標として血清中ALT，ASTを測定した（図4）。それぞれ，各群に明らかな違いはなかった。

4. グルコース制限が脂質代謝におよぼす影響

脂質代謝への影響を調べるために，血清中の総コレステロール，トリグリセリド，遊離脂肪酸，ケトン体を測定した（図5）。総コレステロールでは，各群間で有意な差は認めら

れなかったが，トリグリセリド，遊離脂肪酸，ケトン体においてはコントロール群に比べて0%群がそれぞれ高値を示し，脂肪代謝が亢進していることが示唆された。

5. グルコース制限が糖質代謝におよぼす影響

糖質代謝への影響を調べるために，血糖値，肝臓中，筋肉中（腓腹筋）グリコーゲンを測定した。血糖値は，コントロール群と比較すると，すべての群で低値を示したが，一番低かった0%群においても 78 ± 6.3 (mg/dl)であり，生命維持に危険をきたすほどの低さではなかった。

グリコーゲンについては，肝臓において各群差はなかったが，筋肉においては0%群がコントロール群よりも低値を示した。

D. 考察

実験1において，タンパク質状態によってグルコース制限の影響が異なり，低タンパク質状態において，グルコース制限の影響がより大きく表れることが確認された。これは，低タンパク質状態では糖原生アミノ酸量が少なく，糖新生によりグルコース不足を補うことができなくなるためと考えられる。また，糖質におけるグルコースの代替栄養素について，ガラクトースではこれ自身の毒性が現れ，グルコースの代わりに用いることができなかった。フルクトースにおいては，これ自身による顕著な毒性は確認されず，グルコース群と比べて，飼料摂取量，体重増加量ともに低値を示し，グルコース制限の影響が確認された。

実験2において，実験1の結果より，通常タンパク食（20%カゼイン食），グルコースの代替栄養素をフルクトースとする条件

下で段階的なグルコース制限を行った。

このとき、グルコース制限群において、タンパク質代謝への影響はなかったが、遊離脂肪酸、トリグリセリド、ケトン体が高値、脂肪重量が低値となり、脂質代謝の亢進が示された。これは、グルコース供給量の不足を補うために脂質代謝が亢進したためと考えられる。体重について、コントロール群と比べて全ての群で低い値となったが、飼料効率を見ると差がない。これは、体重の違いが飼料摂取量に影響されていることを示す。このことから、体重への影響は、各群の飼料に対する嗜好性などグルコース栄養以外の影響も考えられ、今回の必要量の検討は体重以外の生体指標によって検討することとした。脂肪重量については、グルコース 23%以下の群で、コントロール群よりも低値になった。また、腎臓重量、精巣重量、トリグリセリド、ケトン体、遊離脂肪酸、筋グリコーゲンについては、0%群でコントロール群と差がみられた。これらのことより、指標に影響が現れる（コントロールと差が出る）のは、グルコース濃度 23%~30%間、0%~14%間の大きく 2 箇所に分かれるようである。グルコースの必要量を生体指標へグルコース制限の影響が現われない最低量であると考え、ここでは 23%エネルギー濃度と設定できる。

以上より、本研究のラットを用いたグルコース必要量の検討において、グルコース必要量は脂肪重量を指標として 30%エネルギー比と設定できる。

今後、さらなるヒトへの応用を考慮することで、炭水化物必要量策定のエビデンス構築に寄与することが期待される。

E. 健康危機情報

特記する情報なし

F. 研究発表

1. 発表論文

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許予定

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 引用文献

1. Renner R, Elecombe AM. Factor affecting the utilization of carbohydrate-free diets by the chick. *J Nutr* (1964) 84 327-330.

2. Gannon MC, Niewoehner CB, Nuttall FQ. Effect of Insulin Administration on glycogen synthase synthetase and Activity in rats fed diets high in protein, fat or carbohydrate. *J Nutr* (1985) 115, 243-251.

3. Walter L, Bloom MD, Gordon J. Similarities of carbohydrate deficiency and fasting. *Arch Intern Med.* (1963) 333-343

4. 柴田克己. 平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金、循環器疾患等生活習慣病対策総合研究事業. 日本人の食事摂取基準を改定するためのエビデンスの構築に関する研究—微量栄養素と多量栄養素のバランスの解明—, 平成 19 年度総括・分担研究報告書. 2008.

表 1. <実験 1> 飼料組成 (重量%)

| | 通常タンパク質群 | | | 低タンパク質群 | | |
|--------------------------|----------|----------|-----------|---------|----------|-----------|
| | Glucose | Fructose | Galactose | Glucose | Fructose | Galactose |
| Vitamin-free milk casein | 20 | 20 | 20 | 10 | 10 | 10 |
| L-Methionine | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| Sugar | | | | | | |
| Glucose | 70.3 | 0 | 0 | 80.4 | 0 | 0 |
| Fructose | 0 | 70.3 | 0 | 0 | 80.4 | 0 |
| Galactose | 0 | 0 | 70.3 | 0 | 0 | 80.4 |
| Corn oil | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Mineral mixture | 3.5 | 3.5 | 3.5 | 3.5 | 3.5 | 3.5 |
| Vitamin mixture | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

表 2 <実験 2> 飼料組成 (重量%)

| グルコース エネルギー比 (%) | 60 | 35 | 30 | 23 | 14 | 0 |
|--------------------------|------|------|------|------|------|------|
| Vitamin-free milk casein | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| L-methionine | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Gelatinized cornstarch | 46.9 | | | | | |
| Sugar | | | | | | |
| Sucrose | 23.4 | | | | | |
| Glucose | | 35.2 | 30.1 | 23.4 | 14.1 | 0.0 |
| Fructose | | 35.2 | 40.2 | 46.9 | 56.2 | 70.3 |
| Corn oil | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Mineral mixture | 3.5 | 3.5 | 3.5 | 3.5 | 3.5 | 3.5 |
| Vitamin mixture | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

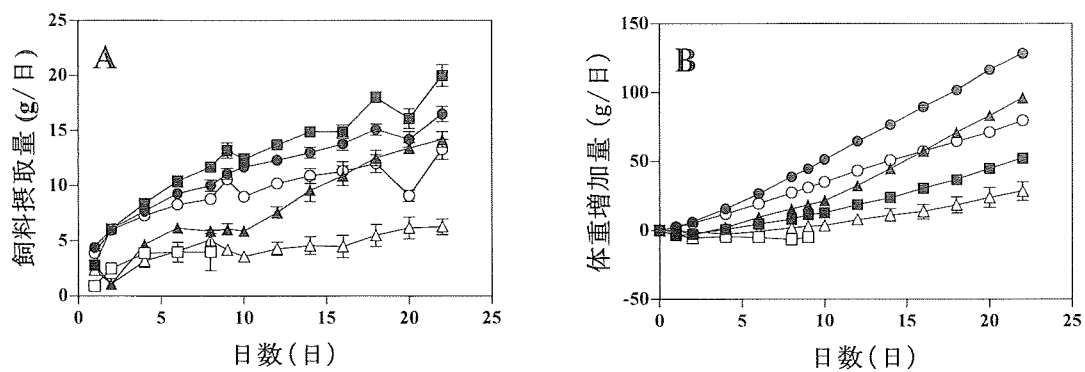


図1. <実験1>グルコース制限が飼料摂取量 (A), および体重増加量 (B) におよぼす影響値は平均値 ± 標準誤差として示した.

- : 通常タンパク質グルコース食群, ○ : 低タンパク質グルコース食群
- ▲ : 通常タンパク質フルクトース食群, △ : 低タンパク質フルクトース食群
- : 20P-Gal : 通常タンパク質ガラクトース食群, □ : 低タンパク質ガラクトース食群

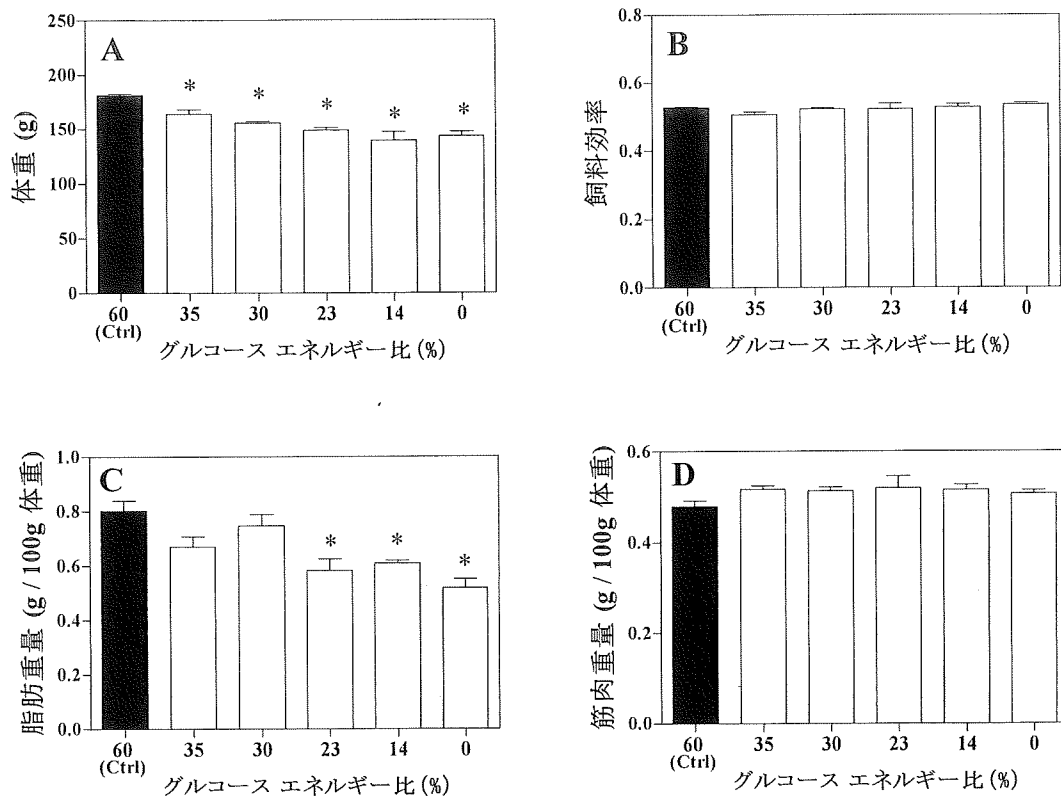


図2. <実験2> グルコース制限が体重 (A), 飼料効率 (B), 脂肪重量 (C), 筋重量 (D) におよぼす影響

値は平均値 ± 標準誤差として示した. *はコントロール (Ctrl) との有意差を示す ($p < 0.05$).

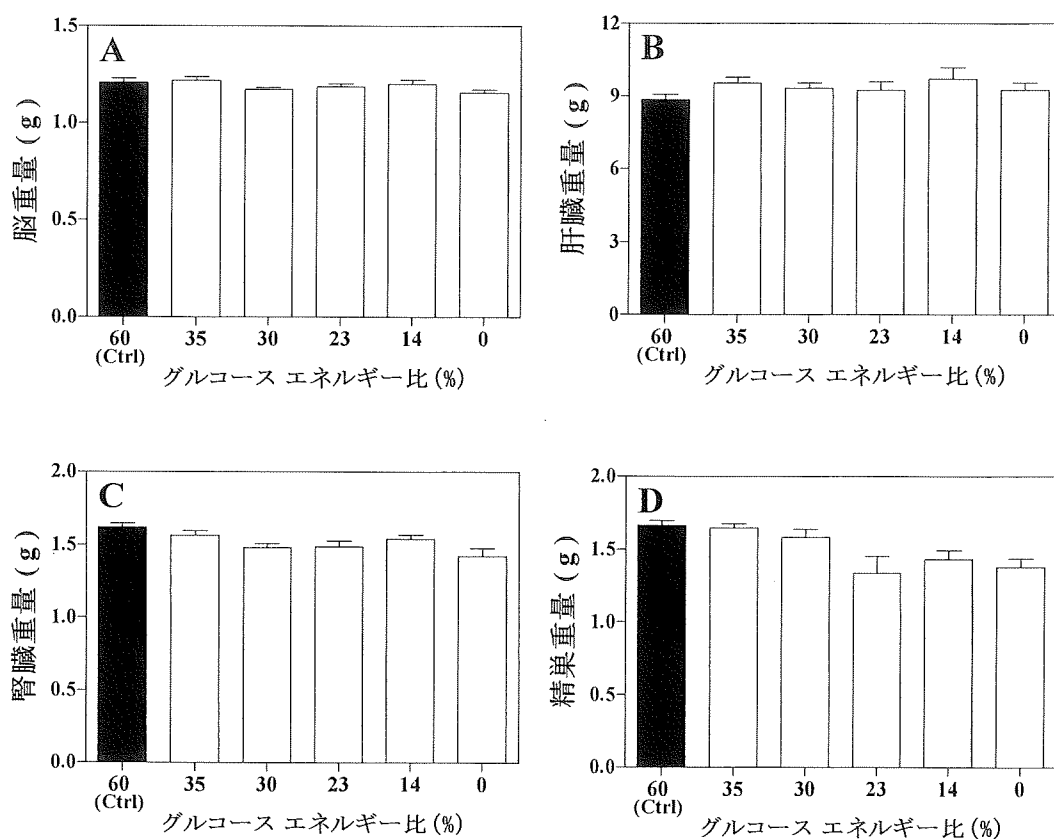


図3. <実験2> グルコース制限が脳重量 (A), 肝重量 (B), 腎重量 (C), 精巣重量 (D) におよぼす影響

値は平均値 ± 標準誤差として示した. *はコントロール (Ctrl) との有意差を示す ($p < 0.05$).