

エネルギー代謝における「脂肪酸レスポonder・ノンレスポonder」の存在明確化と特徴解明

矢 島 克 彦*

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF FATTY ACID RESPONDER AND NON-RESPONDER IN ENERGY METABOLISM

Katsuhiko Yajima

Key words: energy metabolism, respiration quotient, fatty acid, fat oxidation.

緒 言

近年、これまで「量」としてとらえられることが多かった脂肪の「質」の違いについての重要性が強調されており、日常的に摂取する脂肪の質が生活習慣病の発症率に影響すると報告されている⁴⁾。脂肪の主成分である脂肪酸は、化学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。我々は、飽和脂肪酸をリッチに含む食事と比較し、一価不飽和脂肪酸をリッチに含む食事をすることで、24時間の呼吸商 (respiratory quotient; RQ) が低下し、脂肪燃焼量が増加することを実証した¹⁰⁾。一方、個々の対象者データを精査したところ、RQの経時変化 (食事や睡眠時のRQ) に個人差が大きく生じていた。一般的に、中鎖脂肪酸、一価不飽和脂肪酸、多価不飽和脂肪酸は飽和脂肪酸よりもRQを低下させ、肥満防止に効果的であると考えられている³⁾。しかしながら、脂肪の質が食後RQの完全な決定要因となるわけではないことが示された。

肥満や糖尿病発症の一次予防の観点からも、特

定の脂肪酸を摂取した場合にRQが低下するヒトと低下しにくいヒト (エネルギー代謝における脂肪酸レスポonder・ノンレスポonderと称する) の存在、およびその代謝的な特徴についての知見は興味深い。これらの背景から、脂肪酸組成の異なる4種類の油脂をリッチに含む食事を摂取した条件での、RQの経時変化の特徴を分類することで、個人差の要因について検討した。

方 法

A. 研究デザインと倫理的配慮

本研究は、城西大学人を対象とする医学系研究倫理審査委員会の承認を得て実験を開始した (承認番号: 人医倫-2020-21)。インフォームドコンセントを取得した若年健康男性を対象に、1人4試行のブラインド・ランダム・クロスオーバーデザインで実施した。対象者は食物摂取頻度調査 (Food Frequency Questionnaire based on food groups; FFQg, 建白社)、体組成測定を行ったのち試験日の17:00に代謝測定室 (ヒューマンカロリメーター, FHC-15S, 富士医科産業) に入室した。

表 1. 被験者の特徴
Table 1. Characteristics of the study population.

	Mean (n = 8)	SE	S1-7 mean	SE	S8
Age, years	22.9	0.8	23.4	0.7	20.0
Height, cm	170.5	2.8	169.4	3.0	178.0
Body weight, kg	61.9	2.5	60.7	2.5	70.7
Body fat, %	16.1	2.8	14.7	2.8	25.7
BMI, kg/m ²	21.3	0.9	21.2	1.0	22.3

SE; standard error, BMI; body mass index, S1-7 mean; mean value of subject 1-7.

表 2. 試験食の栄養素組成
Table 2. Composition of experimental meals.

	MC diet	PA diet	OA diet	A lino diet
Energy, kcal/day	2160 ± 89	2160 ± 89	2160 ± 89	2160 ± 89
Protein, %/total energy	7	7	7	7
Fat, %/total energy	45	45	45	45
Carbohydrate, %/total energy	48	48	48	48
Fatty acid profile (g/100g)				
Caprylic acid (C8:0)	55.8	0.0	0.0	0.0
Capric acid (C10:0)	17.2	0.0	0.0	0.0
Lauric acid (C12:0)	0.0	0.3	0.0	0.0
Myristic acid (C14:0)	0.1	1.0	0.0	0.0
Palmitic acid (C16:0)	4.2	44.6	5.4	7.8
Stearic acid (C18:0)	5.3	5.4	3.5	7.3
Oleic acid (C18:1)	10.7	38.3	80.8	19.4
Linoleic acid (C18:2)	4.5	9.4	8.5	15.3
A-linolenic acid (C18:3)	1.1	0.2	0.2	48.6
Arachidonic acid (C20:4)	0.2	0.0	0.0	0.2
EPA (C20:5)	0.0	0.0	0.0	0.0
DHA (C22:6)	0.1	0.0	0.0	0.2
Other fatty acids	0.7	0.8	1.6	1.3

Values are means ± standard error. MC diet; middle chain fatty acid diet trial, PA diet; palmitic acid diet trial, OA diet; oleic acid diet trial, A lino diet; a-linolenic acid diet trial.

18:00にエネルギー代謝測定を開始し、19:00に高脂肪試験食（脂質エネルギー比率40%）を摂取、23:00～翌朝 7:00までを睡眠期間とした。7:00に起床時尿の採取を行い、1 試行を完了とした。1 週間程度のウォッシュアウト期間をはさみ、同様の試験を 4 試行実施した。結果として、18:00～7:00までの13時間のエネルギー代謝結果を採用した。睡眠期間は脳波測定を行い、代謝測定期間のすべての尿を採取した。

B. 対象者

若年健康男性10名を対象に実験を行った（途中リタイアした2名を除外し、8例でデータ解析を行った）。対象者はBMI (body mass index) 18.5

以上～25.0未満の通常体型の健常者とした。対象者の身体的特徴を表1に示した。

C. 食事介入（規定食および試験食）

対象者は、試験前日に体格に合わせたエネルギー量の規定食（タンパク質：脂質：炭水化物% = 15：25：60）を朝・昼・晩に摂取した。試験当日は4種類の高脂肪試験食（①中鎖脂肪酸食 (middle chain fatty acid; MC diet), ②飽和脂肪酸パルミチン酸食 (palmitic acid; PA diet), ③一価不飽和脂肪酸オレイン酸食 (oleic acid; OA diet), ④多価不飽和脂肪酸 a-リノレン酸食 (a-linolenic acid; A lino diet)) のなかから1つを朝・昼・晩に摂取した。試験食の栄養素組成を表2に示した。

D. エネルギー代謝測定

ヒューマンカロリーメーターを用いて酸素濃度および二酸化炭素濃度の変化を記録し、エネルギー代謝（エネルギー消費量、糖質燃焼量、脂肪燃焼量、呼吸商）を1分ごとに算出した。

E. 尿中メタボローム解析

尿サンプルを除タンパク処理し、内部標準物質 (^{13}C acetyl-carnitine) を添加したのち液体クロマトグラフ質量分析計 (LCMS-8050, SHIMADU) を用いてメタボローム解析を行った。メタボロームは、エネルギー代謝関連物質（アシルカルニチン、クエン酸回路中間体など合計27種類）を定量とした。

F. 睡眠時脳波測定

脳波計 (Insomnogram, S'UIMIN) を用いて、睡眠脳波を記録した。臨床検査技師に脳波解析を依頼し、睡眠ステージ（覚醒、睡眠ステージ1～3、レム睡眠）を判定、睡眠構築を評価した。

G. 統計解析

30分ごとに算出した RQ 平均値を変数として主成分分析 (SIMCA 13, Sartorius Stedim Biotech) を

行った。同一対象者における4試行のプロットの位置関係が類似していた Subject 1-7 の平均値と、特徴的な位置関係を示した Subject 8 とを比較した。尿中の C8、C10アシルカルニチンにおける4試行間の有意差の有無は、一要因分散分析を行い検討した (SPSS, version 23.0)。

結 果

A. 主成分分析による RQ 経時変化の特徴

RQ (/30 min) を変数として主成分分析を行ったところ、図1のようにプロットされた。Subject 1-7 において MC diet 試行が4試行のうち最も上部にプロットされ、その他3つの試行は中央部～下部にプロットされた。一方、Subject 8 においては A lino diet 試行が最も上部にプロットされ、PA diet 試行はグラフの外にプロットされた。この結果から、対象者8は脂肪酸の種類による RQ 変化の特徴が、他の対象者7名と異なる特徴を示すことが示唆された。

B. 被験者特性の比較

体組成について、Subject 1-7 の平均値および

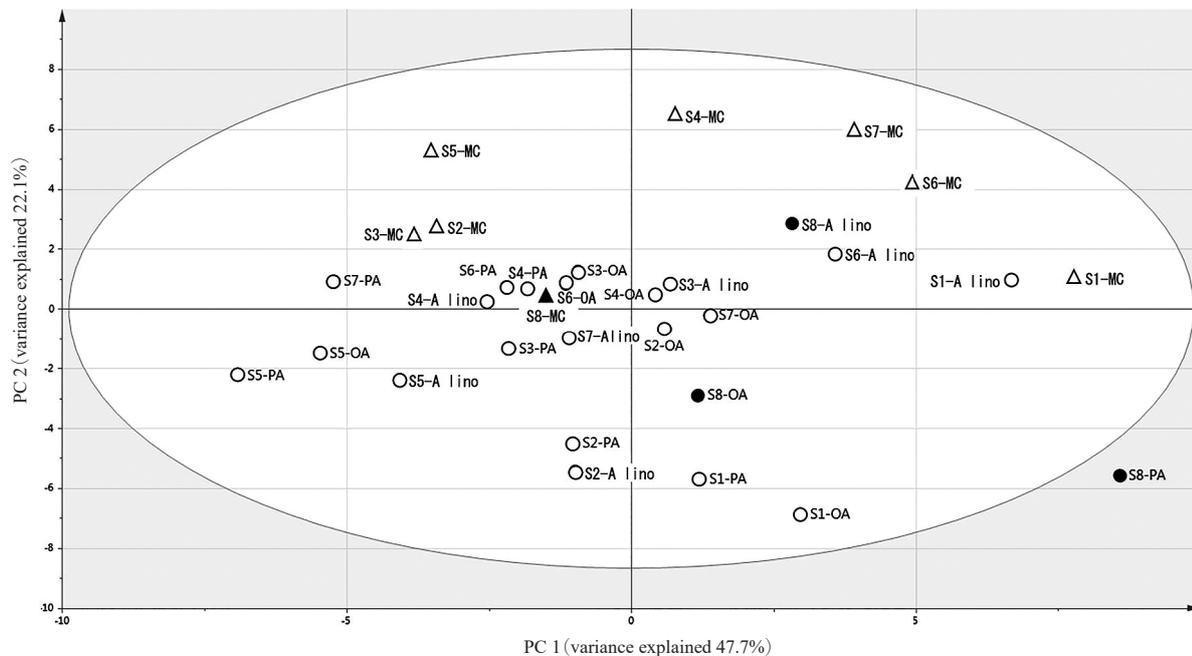


図1. 主成分分析による RQ 経時変化の特徴

Fig.1. Characteristics of time courses of change in RQ during measuring time by principal component analysis (PCA). The RQ was calculated at 30 minutes intervals for each subject and a total of 26 variables were subjected to PCA. PCA score plot of PC1-PC2, in which 26 variables were equally accounted for in the data sets. S indicated subject ID. Subjects 1-7 were plotted in white. Subject 8 was plotted in black. MC diet trial was indicated by triangles. RQ; respiratory quotient, MC; middle chain fatty acid diet trial, PA; palmitic acid diet trial, OA; oleic acid diet trial, A lino; a-linolenic acid diet trial.

表 3. FFQg による栄養素摂取評価
Table 3. The nutritional intake estimated from FFQg.

	S1-7 mean	SE	S8
Energy, kcal/day	1763	84	1997
Protein, %/total energy	13.6	0.7	15.7
Fat, %/total energy	30.1	1.9	34.4
Carbohydrate, %/total energy	56.3	2.1	49.9
Saturated fatty acids, g/day	9.9	0.8	10.5
Monounsaturated fatty acids, g/day	21.9	2.2	25.3
Polyunsaturated fatty acids, g/day	11.4	1.2	15.3
Cholesterol, mg/day	304.6	39.0	347.0
n3 fatty acids, g/day	1.6	0.2	2.4
n6 fatty acids, g/day	9.7	1.0	12.9
Dietary n6/n3 ratio	6.0	0.3	5.3

SE; standard error, S1-7 mean; mean value of subject 1-7. FFQg; Food Frequency Questionnaire based on food groups.

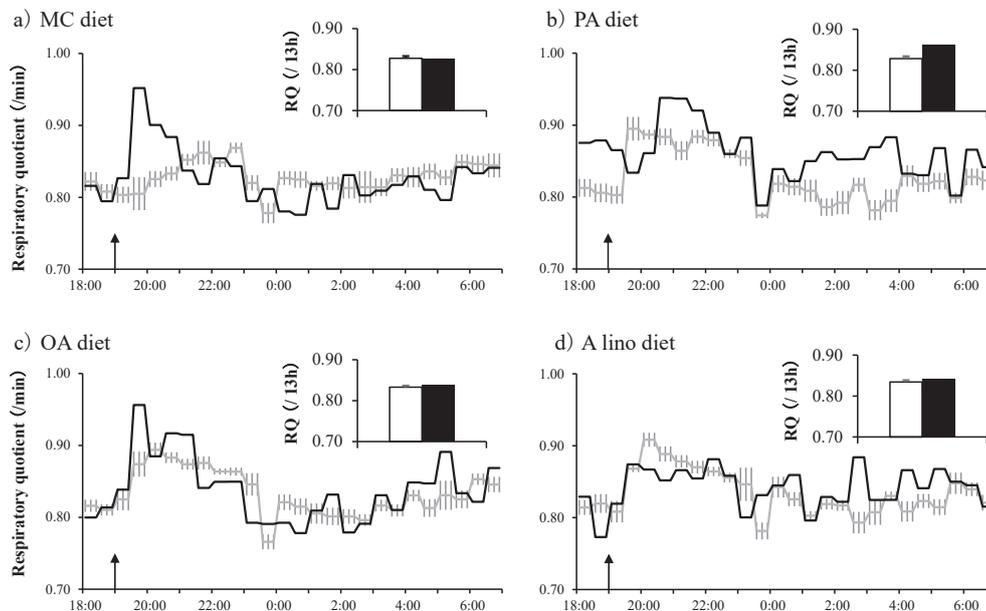


図 2. エネルギー代謝(RQ)の比較

Fig.2. Comparison of energy metabolism(RQ).

Time courses of changes in the RQ over 13-h were shown as the mean \pm SE (n = 7) for the subjects 1-7 (white), and subject 8(black). (a) MC, (b) PA, (c) OA, and (d) A lino diet trial were indicated. A prescribed meal was provided as breakfast (8:00), lunch (12:30), and dinner (19:00), the times of which are indicated as arrows.

RQ; respiratory quotient, MC diet; middle chain fatty acid diet trial, PA diet; palmitic acid diet trial, OA diet; oleic acid diet trial, A lino diet; a-linolenic acid diet trial.

Subject 8 の数値を表 1 に示した。Subject 1-7 と比較して Subject 8 では体脂肪率が高値であったが、BMI に大きな差異は観察されなかった。FFQg の結果から、主要項目を抜粋し表 3 に示した。Subject 1-7 の平均値と比較して Subject 8 では脂質摂取比率が高く、糖質摂取比率が低かった。

C. エネルギー代謝 (RQ) の比較

ヒューマンカロリーメーター測定より得られたエネルギー代謝データから、測定期間全体 (13 時間) の RQ 平均値および 18:00 から翌朝 7:00 までの経時変化を図 2 に示した。測定期間全体の平均値においては、すべての試行で Subject 1-7 の平均値と Subject 8 との間に大きな差異は観察され

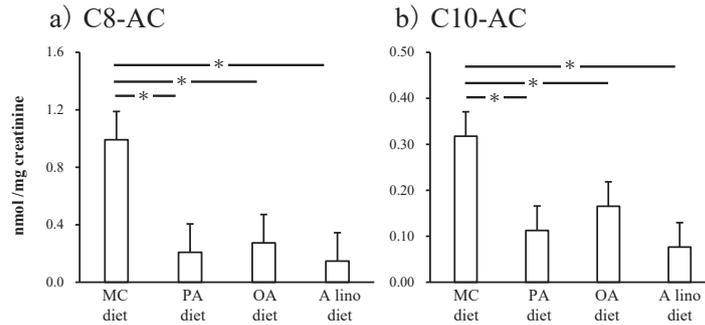


図3. 尿中メタボローム定量値の比較
Fig.3. Comparison of urinary metabolites.

The mean urinary excretion of (a) C8 and (b) C10 - acylcarnitines over 13-h were shown as the mean ± SE (n = 8).

MC diet; middle chain fatty acid diet trial, PA diet; palmitic acid diet trial, OA diet; oleic acid diet trial, A lino diet; a- linolenic acid diet trial.

Statistical analyses were performed using repeated-measures one-way analysis of variance, followed by Bonferroni post hoc tests. *: P < 0.05 vs MC diet.

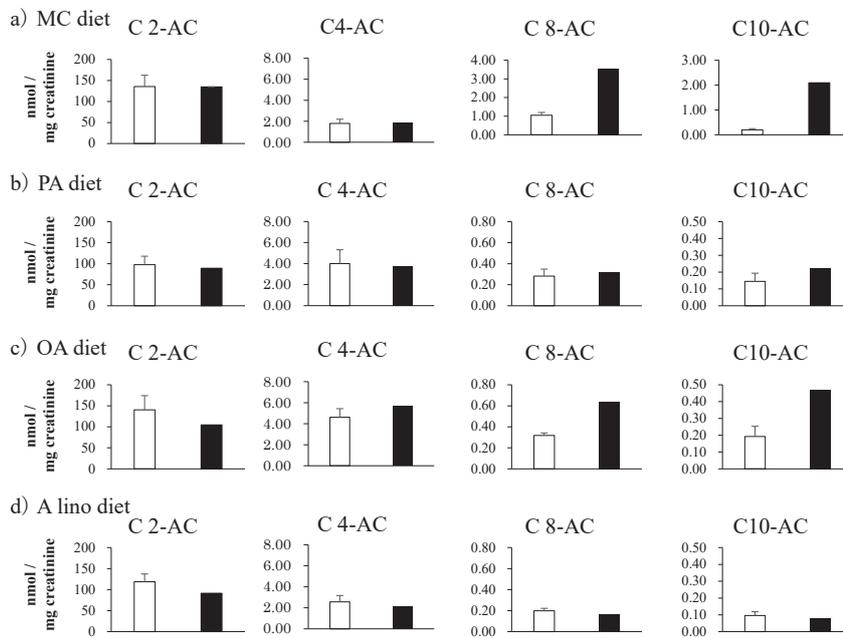


図4. Subject 1-7と Subject 8における尿中メタボローム定量値の比較
Fig.4. Comparison of urinary metabolites in subjects 1-7 and subject 8.

The mean urinary excretion of acylcarnitines over 13-h were shown as the mean ± SE (n = 7) for the subjects 1-7 (white), and the value of subject 8 (black). (a) MC, (b) PA, (c) OA, and (d) A lino diet trial were indicated.

MC diet; middle chain fatty acid diet trial, PA diet; palmitic acid diet trial, OA diet; oleic acid diet trial, A lino diet; a-linolenic acid diet trial.

なかった。経時変化の比較においては、MC diet 試行や PA diet 試行にて Subject 8 では特徴的な変化を示した。

D. 尿メタボローム解析の比較

測定期間全体 (13時間) の蓄尿したサンプル分析から得られた27種類のメタボローム定量値から、アシルカルニチン (C2, C4, C8, C10) を抜粋し図3、4に示した。MC diet 試行においては、

他の3試行と比較してC8、C10アシルカルニチンの有意な増加を観察した (図3)。また、C8、C10アシルカルニチンにおいて、Subject 1-7の平均値と比較してSubject 8で高値を観察した。特に、MC diet 試行におけるSubject 8では顕著な高値を観察した。

考 察

従来のマスク型の呼気分析装置では、睡眠を妨げずに睡眠時エネルギー代謝を測定することは困難であった。しかしながら、筆者らは部屋型の呼気分析装置であるヒューマンカロリメーターを使用することで測定手法上のリミテーションを突破し、食事や睡眠期間を含む長時間のエネルギー代謝測定を可能とした。本研究では、脂肪酸組成の異なる4種類の油脂をリッチに含む食事を摂取した条件での、RQの経時変化の特徴を分類することで、個人差の要因について検討した。

RQ 平均値 (/30min) を変数とした主成分分析の結果、各被験者の MC diet 試行のプロットが上部に集中しており、その他3つの脂肪酸試行のプロットは中央部から下部に集中していた。しかしながら、Subject 8 については A lino diet 試行が MC diet 試行よりも上部に位置し、PA 試行が大きく右側のグラフ外にプロットされた。この結果から、Subject 8 は他の被験者と比較して、脂肪酸組成の異なる4種類の油脂をリッチに含む食事による代謝反応が大きく異なること示された。そこで、Subject 1-7 の平均値と比較を行い、Subject 8 における身体的・代謝的な特徴を検討した。

FFQg の結果より、Subject 8 は厚生労働省が示す脂質エネルギー比率の目安量⁶⁾ を大きく上回っていた。また、Subject 1-7 の平均値と比較して Subject 8 では日常的な脂質摂取量が多い。しかしながら、その他の栄養素や脂肪酸に特徴的な摂取状況は観察されなかった。食事性 n6/n3 比率は生体膜リン脂質の n6/n3 比率に反映され、脂質代謝能に影響を与えることが報告されている⁷⁾ が、本研究では差異は観察されなかった。食品や栄養素の摂取状況は関連性が低いと考えられる。

4 試行間における RQ の比較より、測定期間全体 (13時間) の平均値に差異は観察されなかった (図 2)。しかしながら、経時変化を比較すると特徴的な差異が観察された。MC diet 試行において、Subject 8 は食後の RQ が大きく上昇した (図 2 a)。PA diet 試行において、食後の RQ が大きく上昇し、睡眠期間も高い状態が継続した (図 2 b)。食後、および睡眠中の脂質代謝反応の差異が、主成分分

析のプロット位置の特徴に繋がったと考えられる。

尿メタボローム解析の比較より、C2、C4 アシルカルニチン排泄量に差異は観察されなかった。しかし、C8、C10アシルカルニチン排泄量については、MC diet 試行においてその他の3試行と比較して有意な増加を観察した (図 3)。MC diet 試行はカプリル酸 (C8) およびカプリン酸 (C10) が試験食に含まれる総脂肪酸の70%以上を占めている。細胞内に流入した C8、C10のアシル化合物の増加が、MC diet 試行の全 Subjects で観察された C8、C10アシルカルニチン排泄量の高値を引き起こしたと考えられる。更に Subject 8 に着目すると、Subject 1-7 の平均値と比較し Subject 8 にて MC diet 試行での C8、C10アシルカルニチン排泄量は顕著な高値を示した (図 4)。中鎖脂肪酸は、油脂中の長鎖脂肪酸と消化吸収性が大きく異なり、肝臓に直接運ばれ素早く酸化されてエネルギー源となる¹⁾。その特性により、食後の熱産生が高く、食後の血中トリグリセリド濃度が上昇しない。結果的に、MC diet 試行において Subject 1-7 の平均値では食後の RQ が低い特徴を示した (図 2 a)。Subjects 8 は MC diet 摂取後の RQ が上昇しており、中鎖脂肪酸のエネルギー消費が抑制されていることがわかった。この RQ の反応が、C8、C10アシルカルニチン排泄量の顕著な高値を引き起こした要因であると考えられる。

アシルカルニチンは、細胞内の脂肪酸代謝産物であるアシル化合物を体外に排泄する働きを担っている²⁾。尿中排泄量の増加は体重増加の初期応答となり⁸⁾、特に中鎖アシルカルニチン (C8、C10) の増加は脂質代謝能の低下を示唆しているとされる⁹⁾。Subject 1-7 の平均値と比較し、Subjects 8 における MC diet 試行、OA diet 試行の C8、C10アシルカルニチン排泄量の高値は、高脂肪試験食によって体内に流入した大量の脂肪酸代謝に適応できていない結果である可能性が示唆された。また、MC diet 試行にて観察された Subject 8 の顕著な中鎖アシルカルニチン (C8、C10) の高値は、MC diet 試行における食後 RQ の上昇と関連していると考えられる。Subject 1-7 の平均値と比較し、Subject 8 は MCT 試行

での脂肪燃焼量が少ないため、尿中に排泄される中鎖アシルカルニチン (C8, C10) が高値を示した可能性が示唆された。

本研究は、1人につき4試行を行う大掛かりな代謝測定試験であったため、サンプルサイズが小さい点が課題である。今後の展望として、対象者数を増やすことでエネルギー代謝における脂肪酸レスポンス、ノンレスポンスの存在が明確化できると考える。また、筆者らは睡眠構築 (ノンレム睡眠, レム睡眠の出現比率や睡眠効率など) が呼吸商の値と関連があることを明らかにしている⁵⁾。本研究でも睡眠時脳波を取得しているため、解析とエネルギー代謝との詳細な関連を今後検討していく。

総 括

本研究によって、若年健康な男性対象者であっても、高脂肪食でのRQ経時変化には個人差が生じ、特定の脂肪酸を摂取した場合にその個人差が顕在化する可能性が示唆された。この現象は、高脂肪食条件における脂質代謝能力の差異が関与すると考えられる。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、助成を賜りました公益財団法人明治安田厚生事業団に感謝申し上げます。また、ヒューマンカロリーメーターの稼働、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皆さま、および本実験に協力いただきましたすべての方々に感謝申し上げます。

参 考 文 献

- 1) Crozier G, et al. (1987): Metabolic effects induced by long-term feeding of medium-chain triglycerides in the rat. *Metabolism*, **36**, 807-814.
- 2) Dambrova M, et al. (2022): Acylcarnitines: nomenclature, biomarkers, therapeutic potential, drug targets, and clinical trials. *Pharmacol Rev*, **74**, 506-551.
- 3) DeLany JP, et al. (2000): Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr*, **72**, 905-911.
- 4) Gillingham LG, et al. (2011): Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. *Lipids*, **46**, 209-228.
- 5) Kayaba M, et al. (2017): Energy metabolism differs between sleep stages and begins to increase prior to awakening. *Metabolism*, **69**, 14-23.
- 6) 厚生労働省(2019): 日本人の食事摂取基準(2020年度版).
- 7) Mejia-Zepeda R, et al. (2020): Effect of alpha linolenic acid on membrane fluidity and respiration of liver mitochondria in normoglycemic and diabetic Wistar rats. *J Bioenerg Biomembr*, **52**, 421-430.
- 8) Morio B, et al. (2015): Metabolomics reveals differential metabolic adjustments of normal and overweight subjects during overfeeding. *Metabolomics*, **11**, 920-938.
- 9) Patterson AD, et al. (2009): Human urinary metabolomic profile of PPAR α induced fatty acid β -oxidation. *J Proteome Res*, **8**, 4293-4300.
- 10) Yajima K, et al. (2018): Meal rich in rapeseed oil increases 24-h fat oxidation more than meal rich in palm oil. *PLoS One*, **13**, e0198858.