栄養と運動が白ネズミの尿中17-ケトステロイド 排泄量におよぼす影響 (第 1 報)

Effect of Nutrition and Exercise on 17-Ketosteroid Excretion of Rat (Part 1)

国立栄養研究所 (National Institute of Nutrition)

辻 悦 子 (Etsuko Tsuji)

辻 啓 介 (Keisuke Tsuji)

大 島 寿 美 子 (Sumiko Oshima)

鈴 木 慎 次 郎 (Shinjiro Suzuki)

Young male rats of Wistar strain were divided into 4 groups; high carbohydrate diet being loaded exercise or not and high protein-high fat diet being loaded exercise or not. They were kept on their respective status for 7 weeks, the body weight, urinary 17-ketosteroid (17-KS) and creatinine excretion were measured once a week.

The results obtained were as follows: 17-KS excretion was affected by the diets, its levels in the high protein-high fat dietary groups were higher than those in the high carbohydrate dietary groups. And its excretion per body weight decreased according to the growth of rats in all groups.

Physical exercise seemed to promote the excretion of 17-KS.

The effect of diets on urinary creatinine/day/rat was observed, but the effect was hardly recognized when expressed per body weight unit. It is considered from these results that the urinary creatinine excretion may be influenced rather by the body weight of the rats than diets.

は し が き

副腎皮質ホルモンの生理作用に関しては多数の報告があり, Selye の汎適応症候群学説などからも, 生体が各種変化に適応し生体への障害を防禦しようとする反応が明らかにされてきた。副腎皮質より分泌されるケトステロイド系のホルモンは蛋白合成を促進し, いわゆる N-ホルモンとよばれている。また Roch¹⁾ は悪い栄養状態の下では性ホルモン分泌が低下すると報告したが, これら性ホルモンの一部は副腎皮質より 17-Ketosteroid (以下 17-KS と略す) として分泌され, 蛋白代謝に関係する。したがって 17-KS は副腎皮質機能と性機能の指標として, また栄養学的な判定の目安として利用され得る。一方, 17-KS の加齢に伴う低下も多く²⁾³⁾ の研究者によって報告されている。しかしながら小動物におけるこの種の研究は数が少ない。

我々は栄養と運動の効果に関して白ネズミによる実験をくり返し行ない報告⁴⁾⁵⁾ してきたが, 今回その一環として食餌と運動が白ネズミの尿中 17-KS 排泄量に与える効果を調べ, 運動という一種の生体へのストレスに対する防禦機構の上から副腎皮質機能の一指標, また成熟度の上から寿命実験の一尺度となり得るかどうかを知るための実験を行なった。

また, クレアチニンの排泄量が原形質の蛋白代謝の尺度となる⁶⁾ こと, 運動後には尿中クレアチニン排泄が増加する⁷⁾ ことから, 白ネズミにおける運動量の度合を調べるため, 尿中クレアチニン排泄量の検討も試みた。

実 験 方 法

生後 5 週間のウィスター系雄白ネズミ 100 匹を日本人の食事組成に近い高糖質食と, 欧米風の食事組成の高

蛋白高脂肪食の二種類の食餌群に分けた。更に各群を運動負荷の目的で、飼育籠の中に円周 1m の回転式輪を付設し自由に走行できる運動群と 6 連式飼育籠中の非運動群に分け、合計 4 群とした。

飼料組成は第 1 表の如くである。

Table 1. Composition of diets

Diets Components	High Carbohydrate Diet		High Protein-High Fat Diet	
	Weight %	Cal. %	Weight %	Cal. %
Dextrin	73.0	72.5	48.0	41.5
Casein	12.0	11.9	25.0	21.6
Soy bean oil	3.0	} 15.6	4.0	} 36.9
Lard	3.0		14.0	
Vitamin E oil	1.0		1.0	
Cod liver oil	0.3		0.3	
Vitamin mixture*	0.85		0.85	
Choline chloride	0.15		0.15	
Salt mixture*	4.0		4.0	
Fiber	2.7		2.7	
Cal./100 g	403		463	

Vitamin E oil=E acetate 1 g in 100 g Soy bean oil.

* Tanabe Amino Acid Res. Foundation.

飼料および水は自由摂取とした。1 日の運動量は回転ゲージに示されるのでそれを記録した。

各群より 5 匹を選び、毎週 1 回体重・飼料摂取量の測定を行ない、飼料投与 10 日後より週 1 回 24 時間尿を採集しクレアチニン・17-KS の分析に供した。即ち採尿時には 1 匹ずつメタボリックケージに移し、飼料および水は自由摂取として 24 時間尿を採集、その間運動群は運動を中止した。籠に付着した尿は熱湯にて洗い流し、採集尿と合わせろ過を行なった後全量 100 ml とし、分析時まで冷凍保存した。

約 7 週間後心臓穿刺により採血し、直ちに解剖して各臓器重量測定を行なった。

尿中 17-KS の分析方法は Drecker 法⁸⁾の変法によった。即ち 17-KS を遊離型とした後、エチルエーテルにより抽出し、発色は Zimmermann 反応⁹⁾を利用した。なお、比色の際尿中の比色干渉物質をできるだけ少なくするため、Zimmermann 反応後の Zimmermann chromogen のみをエチルエーテルで再抽出し比色する方法をとり、ブランクの値を無視出来得るようにした。

尿中クレアチニンの定量は Folin-Wu の方法¹⁰⁾によった。

実 験 結 果

成長：体重の変化は第 1 図に示すとおりである。食餌の影響は極めて顕著で、高蛋白高脂肪食群は高糖質食群より著しく優れ、生後 80 日では約 45%、100 g も大きく、その差は有意であった。この食餌による差は、実験開始後 10 日で生じ、以後持続された。しかし運動による成長の差異は少なく、高糖質食群で非運動群の方が体重大である傾向が僅かに見られた。

飼料摂取量：初期には高糖質食、高蛋白高脂肪食群共に、運動の有無による飼料摂取量の有意差は無かつ

Fig. 1. Growth curves

た。生後約80日で高蛋白高脂肪食を与えた群のうち運動群が非運動群より約2割摂取量が多く、有意であった。

運動量：1匹1日当たり平均回転数で比較すると、実験全期間を通じて高糖質食群の方が高蛋白高脂肪食群よりもやや多かった。

解剖所見：解剖時の各臓器重量を第2表に掲げた。心臓・肝臓・腎臓・副腎・腹部脂肪・筋肉は、高蛋白高脂肪食を与えた方が有意に大きく、食餌による差は顕著であった。運動の有無による差は、心臓・肝臓・脾臓では非運動群においてやや肥大の傾向があり、腹部脂肪の沈着が有意に多かった。副腎は運動群の方が若干大きい傾向はあるが有意差はなく、個体差もあり判然としなかった。

尿中 17-ケステロイド排泄量：1匹1日当たり排泄量を第2図に示した。

実験後半で食餌の影響が現われ、高蛋白高脂肪食を与えた群の排泄量は有意に多かった。

運動の有無によっては、高糖質食を与えると第3、6週に運動群で排泄の増加がみられ、高蛋白高脂肪食を与えると第1週に有意差がみられた程度で、その後の有意差は認められなかった。しかしながら図に明らかごとく平均値では両飼料共に運動群の方が高レベルを示す傾向にあった。

更にこの結果を体重 100 g 当り排泄量にして表わしたのが第3図である。高糖質食群の方が高蛋白高脂肪食群より総じて上まわっており、この差は特に実験前半では明らかであった。運動負荷による差については1匹

Table 2. Weight of organs at sacrifice (mean $\pm$ standard error)

Groups		A	B	C	D
Organs					
Heart	g	0.81 $\pm$ 0.01	0.80 $\pm$ 0.05	1.01 $\pm$ 0.07 ^{oo}	0.97 $\pm$ 0.05 ¹
Liver	g	7.2 $\pm$ 0.3	6.2 $\pm$ 0.4	10.1 $\pm$ 0.4 ^{oo}	9.0 $\pm$ 0.4 ^{oo}
Kidney	g	1.6 $\pm$ 0.1	1.5 $\pm$ 0.1	2.4 $\pm$ 0.1 ^{oo}	2.4 $\pm$ 0.1 ^{oo}
Spleen	g	0.53 $\pm$ 0.05	0.43 $\pm$ 0.05	0.63 $\pm$ 0.02	0.57 $\pm$ 0.03 ¹
Adrenal	mg	29.7 $\pm$ 0.7	30.1 $\pm$ 2.7	45.7 $\pm$ 1.4 ^{oo}	44.7 $\pm$ 3.3 ^o
Abdominal Fat	g	4.9 $\pm$ 0.6*	2.6 $\pm$ 0.6	9.3 $\pm$ 0.8**	5.4 $\pm$ 0.4 ^o
Muscle	g	1.2 $\pm$ 0.1	1.3 $\pm$ 0.1	1.8 $\pm$ 0.1 ^{oo}	2.0 $\pm$ 0.1 ^{oo}

A: High Carbohydrate Diet, Non-Exercise Group

B: High Carbohydrate Diet, Exercise Group

C: High Protein-High Fat Diet, Non-Exercise Group

D: High Protein-High Fat Diet, Exercise Group

Muscle is gastrocnemius and soleus of left leg.

^{oo} P<0.01; ^o 0.01<P<0.05; ¹ 0.05<P<0.10 Between Both Diets

** P<0.01; * 0.01<P<0.05; Between Non-Exercise and Exercise

Fig. 2. Urinary 17-KS excretion
(γ /day)

Fig. 3. Urinary 17-KS excretion
(γ /100g B.W./day)

Fig. 4. Urinary creatinine excretion
(mg/day)

当り排泄量と同様であり、平均的には両飼料とも運動群の方が高レベルにある傾向を示した。

尿中クレアチニン排泄量：第4図に示すとおり、1匹1日当り排泄量において食餌の影響が明らかで、運動の有無にかかわらず高蛋白高脂肪食群の排泄量は高糖質食群のそれをはるかに上まわり、その差は有意であった。一方、運動負荷による影響は見られなかった。

クレアチニン排泄量を体重 100g 当りで表わすと、全期間を通じて、食餌・運動による影響は殆んど認められず、2.1~2.8 mg/100g 体重/日の範囲内にあった。

考 察

17-KS は女子ではその殆んどが、男子では約 2/3 が副腎皮質に由来する故に、副腎皮質機能・性機能の指標として利用され得るといわれている。

17-KS 排泄量の摂取食種別による相違¹¹⁾¹²⁾¹³⁾、低蛋白食の実験的投与による 17-KS 排泄量の低下¹⁴⁾、摂取脂質と尿中 17-KS の相関¹⁵⁾等、栄養学的に研究された報告がある。

一方、運動により 17-KS 排泄量が増加する¹⁶⁾という報告もみられるが、これは Selye の General Adaptation Syndrome (汎適応症候群) に対するものといわれている。即ち、長期間にわたり Selye のいわゆる Stress に曝露されると、その Stress の種類に関係なく非特異的かつ系統的な反応を示す。はじめの危険反応時には皮質は増大する一方、Ketosteroid は一時消失するが、抵抗期に到り皮質細胞の腫大した時に過剰の Ketosteroid が顕われてくるとしている。副腎皮質が生体の防衛機転に対して大きな役割を演じていることに今日では疑義はないし、生体が Stress を負荷された場合には皮質の機能は亢進して、皮質ホルモンの産生が平時よりも大となることに異論もないであろう。

この報告は我々が多年行なっている実験の一環として、食餌の差・運動負荷の条件が白ネズミの尿中 17-KS 排泄などにどのように反映してくるかを実験したものである。結果から明らかな様に、白ネズミの尿中 17-KS 量は高蛋白高脂肪食を与えた群の方が有意に多かった。一方、この群の体重は高糖質食群より約 4 割大きいので、17-KS を体重当り排泄量でみると高糖質食群の方が若干高レベルになった。

運動負荷による 17-KS 排泄量は、総じて平均的に増加の傾向を示した。これは前述の Selye の適応現象に相対して、副腎皮質機能が亢進しストレスに対抗して生体の抵抗力を高めたものと推察できる。しかし、成長・飼料摂取量・運動量および副腎の大きさに余り差が無かったことなどの点で我々の既報⁴⁾⁵⁾と異なるが、それは幼弱のため運動量が未だ少ないか、ネズミ個体のばらつきによるのでであろう。我々は、ネズミの運動量は約 100~150 日で最高レベルに達すると報告¹⁷⁾した。しかし本実験では生後 80 日迄の時期であり、運動方法もネズミが自発的に輪を回転する自由運動であったことから、それほど強いストレス状態に置かれておらず 17-KS 値の著しい増加を示さなかったのではないかと推察される。加えて、採尿時には運動を 1 日中止させねばならなかったことも考慮すべきであろう。更に進んで運動負荷方法を変えるか、長期の実験を試みればより明らかになるものと思われる。

体重増加と 17-KS 値についてみると、人間の副腎皮質ホルモンと体重との間にいくらかの相関関係が認められている¹⁸⁾が、白ネズミについての報告は見られない。本実験では体重が増加するにしたがい、体重当りの 17-KS 値は図の様に減少する傾向を示した。即ち、体重との間に何らかの関係が存在すると思われ、成長速度との関係を更に研究するのは興味深いことである。

いずれにせよ、17-KS 値は食餌組成あるいはこれに運動を加えた場合の成熟度または早熟度を知る標尺として、一方寿命と関係深い老化を知る標尺として利用し得る可能性を含んでいるものと考察される。

成長や解剖所見に与える食餌の影響はいずれも高蛋白高脂肪食群に著明で、過去の我々の報告⁴⁾⁵⁾に一致していた。運動による効果は腹部脂肪に顕著に現われ、肥満に陥るのを防いだが、筋肉および他の臓器では判然と認められなかった。この点についても運動量の少ないことが原因と思われ、今後より長期間の実験をすることが望まれる。

尿中クレアチニン量については、1 匹当り 1 日排泄量において食餌の影響が明らかに現われ、高蛋白高脂肪

食群が高レベルを示した。しかし、これを体重当り排泄量で比較すると食餌の影響による差は殆んど見られなくなった。即ち、この差は食餌による直接的な影響のためではなく、むしろ体重による間接的影響ではないだろうか。また運動による排泄量の増加は認められなかったのも、このことから本実験における運動量がかなり少なかったことがうかがわれる。

白ネズミの 17-KS 値についての研究が文献上に余り見られない理由は、白ネズミの尿中 17-KS 量が僅少であることおよび比色の際の干渉物質が存在するためかと思われる。そこで我々は方法で述べた様な注意を払ったが、ばらつきがなお見られた。17-KS 自身多くの因子により左右される¹⁹⁾ものであり、尿採取方法などの検討も必要であり引き続き詳細な実験を計画中である。

要 約

白ネズミに高蛋白高脂肪食および高糖質食を与え、これを更に運動負荷の有無の2群に分けて合計4群として7週間飼育した。毎週1回体重測定および採尿を行ない、尿中 17-KS 排泄量および尿中クレアチニン排泄量を測定した。

1. 17-KS の排泄は食餌により影響を受け、高蛋白高脂肪食群に排泄の増加が認められた。体重当り排泄量についてみると、各群とも日数の経過と共に減少し、また高糖質食群が総じて 17-KS 高レベルを示した。
2. 17-KS に与える運動の影響は、運動量が未だ少ない時期であったため判然とはしないが、平均的には排泄を増加させる傾向にあった。
3. 尿中クレアチニン排泄量におよぼす食餌の影響は1日当り排泄量においては見られたが、体重当り排泄量では差は認められなかった。このことは食餌による直接的影響ではなく、むしろ体重によるものと思われる。

文 献

- 1) Roch, M.: *Ann. Nutr. At Alim.*, **11**, No. 3—4.
- 2) Schraor, H.: *J. Geront.*, **12**, 391 (1957).
- 3) McGavack, T. H. and Hoch, H.: *J. Geront.*, **20**, 383 (1965).
- 4) Suzuki, S. et al.: The Annual Report of the National Institute of Nutrition (1967).
- 5) Suzuki, S. et al.: The Annual Report of the National Institute of Nutrition (1969).
- 6) 井上五郎: 日本生理学雑誌, **16**, 326 (1954).
- 7) 杉本精二他: 医学と生物学, **18**, 53 (1951).
- 8) Drekter, J. J. et al.: *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, **12**, 55 (1952).
- 9) Zimmermann, W.: *Hoppe-Seyler's Ztschr. Physiol. Chem.*, **233**, 257 (1935).
- 10) Bonsnes, R. W. and Taussky, H. H.: *J. Biol. Chem.*, **158**, 581 (1945).
- 11) 早川徳子他: 栄養学雑誌, **18**, 61 (1960).
- 12) 里和スミエ他: 栄養学雑誌, **23**, 68 (1965).
- 13) Glatzel, H. and Hackenberg, K.: *Nutr. Dieta.*, **9**, 222 (1967).
- 14) 藤本省一: 栄養と食糧, **14**, 349 (1961).
- 15) 里和スミエ他: 栄養学雑誌, **26**, 63 (1968).
- 16) 宇佐美駿一: 日本生理学雑誌, **19**, 468 (1957).
- 17) 鈴木慎次郎他: 第22回日本体力医学会総会講演発表 (1968).
- 18) Tanner, J. M. et al.: *J. Endocrinol.*, **19**, 87 (1959).
- 19) 渡辺巖一: 日新医学, **42**, 495 (1955).

(受付: 昭和44年9月19日)