

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：32689

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19740

研究課題名(和文)夜型人間は朝型になれるのかーエピゲノムからの挑戦ー

研究課題名(英文)epigenomic approach to understand of morningness and eveningness

研究代表者

柴田 重信 (SHIBATA, SHIGENOBU)

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：10162629

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：行動リズムの昼行性や夜行性を人為的に作成できる可能性、そのことがエピジェネティクに起こるか可能性についてマウスの実験を行った。カフェインの大量の一過性投与が活動リズムの夜型化を引き起こし、人工甘味料を加えて飲みやすくしたカフェインの慢性投与がマウスの行動のフリーランニングを引き起こした。

次にヒトを対象調査研究から夜型化と夜食の関係を、発達期の3-8歳を対象に調べることにより、ヒトの夜行性の可能性について考察した。まず、幼児や低学年の小学生でも30%程度が夜食摂取で夜型化していた。また、夜型の子供ほど液晶画面を夜間に観ていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から、カフェイン飲料の摂取条件を誤ると、体内時計に異常をもたらし、夜型化を助長させる可能性に注意すべきであることが分かった。このことをヒトの社会生活で考えると、カフェイン飲料の大量摂取や長期間摂取は体内時計に悪影響を及ぼす可能性が示唆された。また幼児期からの夜食習慣は、エピジェネティックな影響を通して、夜型化の固定の危険性を指摘できた。保育形態では、幼稚園に比較して保育園群は液晶画面を夜遅く使用することで夜型化が進み、夜食を摂るチャンスも増える可能性が示唆され、保育園では夜食摂取をより注意する必要がある。

研究成果の概要(英文)： Human can be categorized as morning preferred, intermediate preferred and evening preferred person by chronotype. Chronotype is determined by genetic and environmental factors. (1) We found that caffeine is known to lengthen the circadian activity rhythm in mice. This lengthen effect was maintained under lesion of the suprachiasmatic (SCN) main clock, suggesting caffeine-induced SCN-independent oscillation. Thus, this newly established center may play an important role in diurnal behavior. (2) Approximately 30-40 % of 3-8 years old children takes night snacks (sweetened soft drink and ice cream). Evening preferred children frequently take night snack compared with morning preferred children. Frequency of night snack was positively related with that of smart phone use at night. These results strongly suggest that light exposure at nighttime causes night prefer children, and resulted in night snacking habits. This unhealthy snacking habit may epigenetically affect throughout life stage.

研究分野：時間栄養学

キーワード：体内時計 夜型 カフェイン飲料 夜食

## 1. 研究開始当初の背景

生活習慣変化による時計変化と DNA メチル化の関係を見出すことで、生活習慣 x エピジェネテックス x クロノタイプという新たな学術テーマの芽生え研究結果を得られると考えた。これまでエピジェネティックな変化は簡単には起こらないと考えられていたが、マウスの研究で乳児期の光条件の変更により、エピジェネティックな変化が起こり、光の履歴現象が起こることが知られている。ところで、マウスで、制限給餌を昼間の非活動期に設定すると、活動リズムや体温リズムの位相、末梢時計に発現する時計遺伝子リズムの位相は夜間から昼間に移る。すなわち、制限食事により、夜行性のマウスが昼行性のマウスのようにふるまう。また、ヒトの場合、食事時間が遅くなることや夜食の摂取がマウスの非活動期給餌と似ていると思われる。重要なことは、夜遅い食事や夜食習慣がエピジェネティックな変化を起し、この状態が夜型化を固定させることが考えられる。

## 2. 研究の目的

健康科学として、生活習慣をエピジェネティック修飾という考えで説明する研究は未開拓であり、今後の展開が大いに期待できる。覚せい剤のメタンフェタミン投与で、夜行性のマウスが昼行性のような変化を示すことが知られている。一方、メタンフェタミンと同様に覚醒作用を有し、日常的摂取機会が多いカフェイン投与の影響については知られていない。そこで、本研究課題では、(1) マウスを用いた研究で、カフェイン飲水が、体温リズムや活動リズムを乱し、昼行性マウスのふるまいを見せるか否かを調べる。(2) 3-8歳の乳幼児を対象に夜食摂取の詳しい調査研究を行う機会が得られたので、夜食摂取と朝型・夜型など、また幼稚園や保育園といった保育環境の違いや、夜間の光暴露との関係について調べた。

## 3. 研究の方法

(1) 初年度は主にマウス行動リズムを計測しながら、これまでの知見の再現確認、新規現象の探索を行った。まず、マウスの活動リズムを赤外線センサーで測定し、明暗時間の長さを変えることにより、その後恒暗条件に置くことで出現するフリーランリズムの周期が、明暗時間に依存するか否かを調べた。また、または光条件による位相シフト刺激による履歴効果も調べた。さらに、リズム周期調整作用を持つ可能性がある、カフェイン、DHEA(デヒドロエピアンドロステロン)による周期変化、履歴効果について検討した。統計のパラメトリック検定はANOVA、Tukey-test、students t-testなどを使用し、ノンパラメトリック検定では、Dun検定、マンホイットニーのU検定を用いた。

(2) ヒトを対象とした研究。

ヒトの調査研究。学童期の調査研究では、全国の3歳から8歳、3才児(年少)から小学校3年生からまでの男女半々を含む約6000名(それぞれの年齢ごと男子500名、女子500名)を対象とし、調査会社に依頼し種々の調査研究を行った。回答者は対象幼児や小学生の母親とした。査内容には朝食の摂り方、睡眠関連指標、精神衛生、生活習慣、食品摂取、夜食の摂取状況や種類、スマートフォンなど液晶画面の使用状況などに関する項目が含まれていた。

本ヒト研究のデータ解析は、統計処理ソフトSPSS23.0(SPSS Japan Inc, Tokyo, Japan)を用いて行った。種々の目的変数に対する説明変数を強制投入法による重回帰分析を行った。この時、年齢、性別、運動量、BMIなどは調整因子として投入する場合があった。

## 4. 研究成果

(1) マウスを対象にした研究。

DHEAは高濃度では忌避反応を示し、マウスの体重減少が著しく、行動リズムへの効果や履歴効果は確認できなかった。一方で、カフェインはスクロースを添加することで忌避反応を回避でき、周期変化や、行動リズムの変化が顕著に起こることを確認した。カフェインの体内時計に対する一過性の作用は既に我々が報告していたが、今回、カフェインの投与量を増やすことにより、明らかな昼行性マウスを始めて作成することに成功した(図1)。また、甘味料の種類を変えることにより、また、甘味料の量を変えることにより恒常的にフリーランするマウスを作成することも可能とな

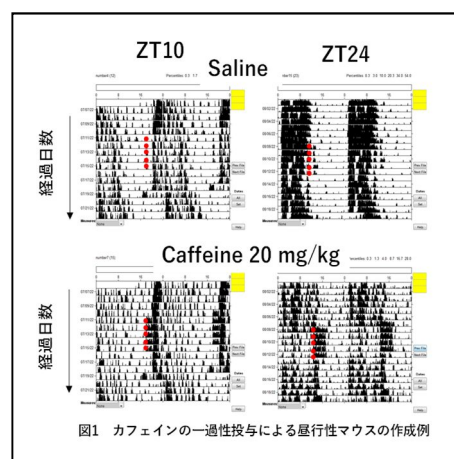


図1 カフェインの一過性投与による昼行性マウスの作成例

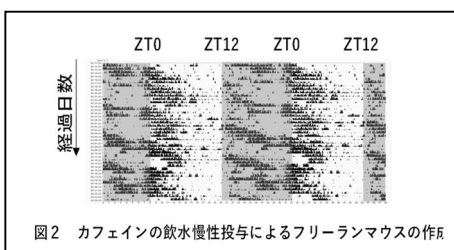


図2 カフェインの飲水慢性投与によるフリーランマウスの作成

った(図2)。一方で、培養細胞にカフェインを投与し、その後ウォッシュアウトし、数日経過後にカフェインを再び投与するという研究で、カフェイン履歴効果を調べたが、2回目、3回目もカフェインの効果が同じようにみられることから、履歴効果としては見られなかった。

今回、甘味料を加え、カフェインの摂取を増大させる工夫により、明らかな昼行性マウスを始めて作成することに成功したので、明暗リズムをコントロールしているであろう、視交叉上核を破壊したマウスで、同様の実験を行ったところ、この場合の行動リズムはフリーランして長周期のリズムが形成された。すなわち、明暗周期下では、明暗リズムとの相互作用の関係で昼行性のマウスを作成できるが、明暗リズムが入らない条件では、カフェインの作用のみが強調されることが分かった。人の社会を考えると、明暗周期下で生活しているので、遅い時間帯に大量のカフェイン飲料を摂取する習慣がある人は、見かけ上は夜行性のような生活リズムが出現する可能性が示唆された。食事時間がばらつくことと先のカフェイン摂取のような状態になるか可能性があるため、食事時刻のばらつきと、朝型-夜型などの関係性を調べた。その結果、朝食ではなく夕食の摂取時刻のばらつきが、夜型に関連していることが分かった。食事パターンや食事内容と朝型・夜型を調べることで、カフェインをはじめとする食と体内時計(朝型・夜型)の関係が明らかになるであろう。

## (2) ヒトを対象とした研究

まず、それぞれの年齢でどの程度の子供が夜食を摂っている割合を調べた。その結果、どの年齢でも30-35%が夜食を摂っており、年齢による違いは観察されなかった(図3)。次に男女差異について調べると、男児より女児で有意に夜食の摂取割合が高かった。また、夜食の内容を細かく調べると、「アイスクリーム」の摂取割合が17%程度と、圧倒的に高く、続いて「ジュース」「果物」「せんべいなど」「スナック菓子」「プリン・ゼリー」などであった。逆に摂取割合が低いのは「野菜」「和菓子」「菓子パン」「おにぎり」などであった。

次に夜食を摂る習慣は保護者の家庭環境にあるかと思い、世帯年収と母親の最終学的と夜食の関係について調べた。その結果、夜食を摂る子供の年収は有意差をもって低く、母親の学歴は低めであり、夜食の習慣は家庭環境にも一因がある。

夜型は入眠が遅くなるため、夜食を摂るチャンスが多いことから、夜食の摂取と朝型-夜型の関係について調べた。3-8歳では年齢が上がるにつれて夜型傾向になり、夜食習慣がある子供はより顕著に夜型傾向になった(図3)。また、夜食の種類別と朝型-夜型の関係について調べると、いずれの夜食も摂る子供たちは夜型傾向にあり、ジュースを摂る子供達の方がより夜型傾向を示した。

つぎに夜食の種類と睡眠指標との関係を性別や年齢を補正して重回帰解析で比較したところ、ジュースを摂ることは、平日のみならず休日の起床・就寝が遅いことに強く関連し、一方で、睡眠の長さには関連しなかった。アイスクリームの摂取もジュースと似た傾向が見られたが、他の種類の夜食では、一定した傾向は観察されなかった。

今回調べた3-5歳の子供たちは、幼稚園(1342、幼稚)、認定こども園(666、認定)、保育園(997、保育)に分類することができた(図4)。そこで、幼稚、認定、保育という形態別の特徴について調べた。夜食摂取率は幼稚群に比較し、認定や保育群で有意に高値を示した(図4)。夜食種類ごとに調べても、認定や保育群では、ほとんどすべてで明らかに夜食の摂取率が高かった。次に家庭環境との関連を調べたが、世帯総収入も、母親の最終学歴のいずれも、幼稚群と保育群の間に差はなかったため、認定や保育群で夜食摂取率が高いことの説明はできなかった。保育群は幼稚群に比較して、平日も休日でも遅寝遅起きで夜型傾向が見られ(図4)また睡眠時間は平日・休日ともに短めであった。夜食の有無と保育形態別の朝型・夜型傾向について調べた。夜食ありの保育群が一番夜型傾向で、夜食なしの幼稚群が一番朝型傾向であった。

子供たちの食習慣を調べる質問を用意した。7日間で何日夜食を摂る機会があるかについて、1点(0日)から、8点(7日)で表した。夜食なし群は夜食あり群に比較して、朝食欠食が少なく、主食、野菜、果物、乳製品の摂取回数が多く、一方で、揚げ物や糖類含有飲料の摂取回数が少なく、非常に健康的な食生活を営んでいた。次に、人数比でほぼ2等分し、朝型傾向と夜型傾向の両者間で比較検討した。朝型傾向群は夜型傾向群に比較して、朝食欠食が少なく、主食、卵、

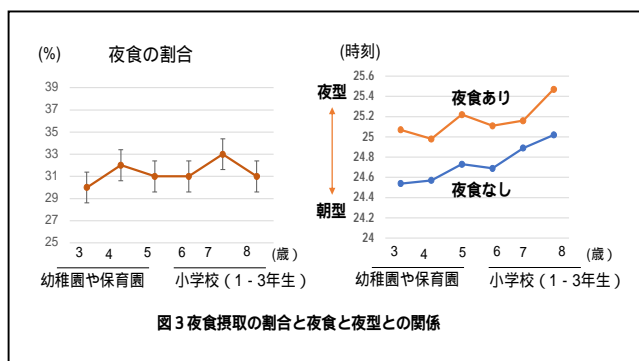


図3 夜食摂取の割合と夜食と夜型との関係

大豆製品、野菜、果物、乳製品の摂取回数が多く、一方で、菓子類や糖類含有飲料の摂取回数が少なく、非常に健康的な食生活を営んでいた。次に、幼稚群、認定群、保育群の3者間で比較した。その結果、先の比較と異なり、幼稚群は朝食欠食が少なく、主食、乳製品、菓子類の摂取回数も多く、一方で、魚類の摂取回数が少ない傾向が見られた。

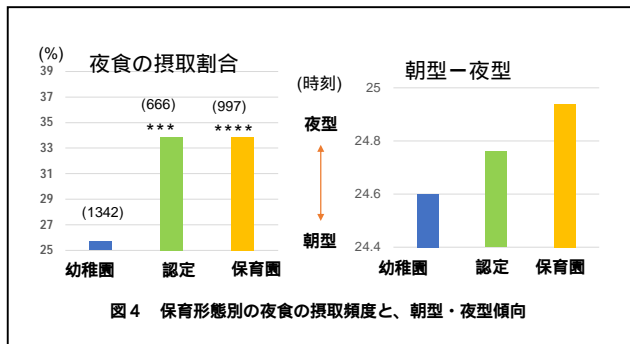


図4 保育形態別の夜食の摂取頻度と、朝型・夜型傾向

スマートフォンなど液晶画面の

使用時間が長いことや、寝る直前まで使用することが夜型化の助長と関連が深いことを報告してきた。そこで、夜食の有無や保育形態の違いと液晶画面の使用との関係について調べた。夜食を摂る子供は、寝る1時間前の液晶画面の使用が長かった。夜食の有無にかかわらず、休日は平日より液晶画面の使用時間が長かった。また、夜食群は、平日の使用時間が有意に長かった。夜食の有無に類似して、夜型は朝型より寝る前1時間の液晶の使用頻度が高く、平日も休日も液晶の使用時間が長かった。幼稚群に比較して保育群は寝る前1時間の液晶画面の使用頻度が高いが、また、平日の使用時間は有意に短く、休日の使用時間は逆に長い傾向が見られた。このように、保育群は液晶画面を夜遅く使用することで夜型化が進み、夜食を摂るチャンスも増える可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Mineshita Y, Kim HK, Shinto T, Kuwahara M, Shibata S.	4. 巻 18
2. 論文標題 Attending a Sports Club Can Help Prevent Visual Impairment Caused by Cram School in Elementary School Children in Japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Environ Res Public Health	6. 最初と最後の頁 12440
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijerph182312440.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tahara Y, Shinto T, Inoue K, Roshanmehr F, Ito A, Michie M, Shibata S	4. 巻 45
2. 論文標題 Changes in sleep phase and body weight of mobile health App users during COVID-19 mild lockdown in Japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Obes (Lond)	6. 最初と最後の頁 2277-2280
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41366-021-00890-7.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伊藤章人
2. 発表標題 不規則な生活がマウスの概日時計と免疫機能に及ぼす影響
3. 学会等名 第28回時間生物学会学術大会 南視点の時間生物学
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 尾根田諭
2. 発表標題 社会的時差ボケによる概日時計後退に対する輪回し運動の回復効果
3. 学会等名 第28回時間生物学会学術大会 南視点の時間生物学
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 田原優
2. 発表標題 緊急事態宣言下の生活リズム変化と体重変化の相関
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	田原 優  (Tahara Yu)  (80707399)	広島大学・大学院 医系科学研究科・准教授（任期付）    (15401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------