

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390047

研究課題名(和文) ヒトにおける食事時刻依存性概日リズム

研究課題名(英文) Food entrainable circadian rhythm in humans

研究代表者

本間 研一 (Honma, Ken-ichi)

北海道大学・名誉教授

研究者番号：40113625

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,200,000円、(間接経費) 4,560,000円

研究成果の概要(和文)：健康被験者を対象とし、時刻の手掛かりの無い条件下で、1日1回の食事を10日間一定時刻に固定し、1)食事時刻を予知する食事前ホルモンピークが出現するか否か、2)固定した食事が生体リズムを同調するか否か、を調べた。その結果、血中メラトニン、コルチゾール、インスリン、グレリン、レプチンには食事前ピークは認められなかった。一方食事時間の固定により、睡眠覚醒リズムは24時間に同調したが、メラトニンリズムは同調せず、位相後退を示した。以上より、ヒトでは、本実験条件では食事時刻依存性概日リズムは発現しないこと、食事時刻の固定は睡眠覚醒リズムの同調因子となるが、メラトニンリズムには影響しないことが示された。

研究成果の概要(英文)：Appearance of premeal anticipatory hormone peak and entrainability of restricted meal schedule were examined in humans who stayed in a temporal isolation facility without knowing the time of day. Meal was supplied once a day for 10 days. As a result, the premeal peak was not detected in plasma melatonin, cortisol, insulin, ghrelin, and leptin. On the other hand, the sleep-wake cycle was entrained by the meal schedule, whereas the circadian melatonin rhythm was not entrained showing phase-delay shifts. These findings indicated that the so-called food entrainable circadian rhythm failed to appear in humans under the present conditions, and that the meal schedule was the time cue for the sleep-wake cycle but not for the circadian pacemaker.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境医学(含体力医学、栄養生理学)

キーワード：生物時計 食事 生体リズム コルチゾール 睡眠

1. 研究開始当初の背景

生物時計は生体機能の時間的恒常性を維持する体内機構であり、周期的に変化する環境下で生命活動の最適化を図っている。ほ乳類の生物時計は視床下部視交叉上核に存在し、概日リズムを発振するとともに、明暗サイクルに同調して昼夜変化に対応した生体リズムの調節に関与している。近年、視交叉上核以外の組織にも内因性振動機構（末梢時計）の存在が明らかとなり、申請者らはこれらの末梢時計が組織特異的な性質を示すことを明らかにしている（Nishide, et al., *Genes to Cells*, 2006）。すなわち、哺乳類の生物時計は視交叉上核に存在する中枢時計と各組織に存在する末梢時計の階層的多振動体システムからなり、その内的調和が安定した生体リズムの表出と柔軟な環境周期への同調を保證していると考えられる。

一方、ラットやマウスなどでは、明暗サイクルの他に周期的な給餌や運動負荷に同調する概日リズムが認められ、給餌性概日リズム、あるいは非光同調性概日リズムと呼ばれている。動物の給餌を一日の一定時刻に制限すると（制限給餌）1週間から10日ほどで、あたかも給餌時刻を予知するような給餌前の活動亢進が輪回し行動、体温、副腎皮質ホルモン分泌などに出現するとともに、従来の暗期の行動やホルモン分泌が抑制される。これらの給餌前の活動亢進は、制限給餌を中止して自由摂食に切り替えても、24時間絶食などの特定の条件下で再現し、給餌前活動亢進の背後に振動機構が存在することが示されている。この振動機構は視交叉上核には存在せず、末梢時計の1つヒトの生物時計は高照度光による明暗サイクルに同調し、光により調節されている（Honma, et al., *Experientia*, 1987）。しかし、光以外の環境因子がヒト生物時計に作用するか否かについてはこれまで結論は

出ていなかった。

これまで申請者は、昼夜変化などの周期的な環境変化の影響を除いた住居型隔離実験室を用いて、ヒトにも光同調性概日リズムとは異なる振動機構をもつ非光同調リズムが存在することを示唆してきた（Hashimoto et al, *Sleep Biol Rhythm*, 2004；Yamanaka, et al., *Am J Physiol*, 2010）。さらに、申請者は通常の生活下における予備的実験で、食事時刻を朝か夜のどちらかに制限する食事スケジュールを2週おこない、食事時刻により体重変化に有意な差を認めた。また、夜の食事を取った被験者の約30%に食事前血中コルチゾール濃度の上昇を認めた。これらの結果は、ヒトにも食事時刻依存性概日リズムが存在することを示唆している。

2. 研究の目的

食事のパターンはエネルギー代謝に影響することが知られている。ラットやマウスでは、明暗サイクルに同調する生物時計の他に、給餌のタイミングに同調する特異的な概日振動機構が存在し、摂食行動やホルモン分泌に給餌時刻依存性概日リズムを発現させ、エネルギー代謝を調節している。一方、ヒトの生物時計は高照度光で調節されるが、光以外の因子が時計機構に作用しているか否かは結論が出ておらず、食事時刻に同調する振動機構の存在も証明されていない。本研究の目的は、ヒトにおいて習慣となった食事のタイミングが概日振動機構を介して睡眠覚醒リズムやホルモン分泌リズムを変化させ、血糖値維持や耐糖能などエネルギー代謝調節に影響を与えるか否かを、光環境や気温湿度を統制した住居型隔離実験室において明らかにすることにある。

3. 研究の方法

健康成人男子6名を照明や室温を統制した住居型隔離実験室で12日間生活させ、体重

変化、深部体温リズム、睡眠覚醒リズム、血中ホルモンリズム（メラトニン、コルチゾール、インスリン）、血糖値、耐糖能などを測定し、食事のタイミング（食事習慣）が概日リズムやエネルギー代謝に与える影響をみた。また、食事特異的な概日リズムの有無を食事前ホルモンピークや食事習慣を中止した後の自発的な摂食行動などの解析から明らかにした。実験は、被験者の概日リズムを高照度光による人工的な明暗サイクルに同調させた状態で行った。睡眠覚醒リズムは、携帯型行動計やポリグラフ脳波により計測した。血中ホルモンリズムは、前腕に留置したカテーテルから1時間ごと採血し、ホルモンレベルをRIAで測定した。深部体温測定には直腸温プローベを用いた。耐糖能はGlucose tolerance test (GTT)で測定した。

4. 研究成果

隔離実験室におけるヒトフリーランリズムに対する食事回数制限の効果

(1) 食事回数を1回とし、食事時間を1日の一定時刻に固定した実験

(実験プロトコール)

隔離実験室において、通常の1日3回の食事を取る条件で、睡眠脳波、血中メラトニン、コルチゾール、インスリン、グレリン、グルコース濃度の24時間リズム、および深部体温リズムの生体リズムを測定した。体温リズムは実験期間中連続して測定した。その後、覚醒期間中2時間ごとに400Kcalのビスケット型軽食を8回摂取させて、前記血中ホルモンやグルコース濃度の概日リズムを測定した。引き続き、睡眠覚醒のタイミングは被験者の自由とさせたフリーラン条件下で、約1,800Kcalの食事を一日の一定時刻に与える制限給餌を10日間行い、10日目に睡眠脳波、血中メラトニン、コルチゾール、インスリン、グレリン、レプチン、グルコース濃度の概日リズムを測定した。その後、覚醒期間中2

時間ごとに400Kcalのビスケット型軽食を8回摂取させて、前記血中ホルモンやグルコース濃度の概日リズムを測定した。

(実験結果)フリーラン条件下にも関わらず睡眠覚醒は24時間リズムを示し、1日1回の食事は覚醒期のほぼ中点に位置した。一方、血中メラトニンとコルチゾールの概日リズムはフリーランし、睡眠覚醒リズムとの位相角差が変化した。また、グレリンおよびレプチンの24時間リズムは1日3食の場合には睡眠時にピークをもつ概日リズムを示したが、一日一食ではリズムは平坦化の傾向を見せた。なおこれらのホルモンの血中レベルには食事前ピークは認められなかった。

(2) 食事回数を1回とし、食事時間を自由とした実験

(実験プロトコール)フリーラン条件下での食事時間を自由とした以外は、前述の実験プロトコール、測定した概日リズムは同じである。

(実験結果)フリーラン条件下で、睡眠覚醒リズムは位相後退し、食事は覚醒直後になるようになった。また、メラトニンリズムやコルチゾールリズムも位相後退を示した。食後の血中コルチゾール、インスリン濃度は有意に上昇した。これらのホルモンの血中レベルには食事前ピークは認められなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計22件)
(英文)

1. Natsubori A, Honma K and Honma S. Dual regulation of clock gene *Per2* expression in discrete brain areas by the circadian pacemaker and methamphetamine-induced oscillator in rats. *Eur J Neurosci.* 39(2):229-240 (2014) (査読あり)

2. Honma, K., Hashimoto, S., Natsubori A., Masubuchi, S. and Honma S. Sleep-wake cycles in humans. *India J Sleep Med* 8(2):51-57 (2013) (査読あり)
3. Yamanaka Y., Honma S and Honma K. Daily exposure to a running wheel entrains circadian rhythms in mice in parallel with development of an increase in spontaneous movement prior to running-wheel access. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 305(11):R1367-R1375 (2013) (査読あり)
4. Nishide SY., Hashimoto K., Nishio T, Honma K and Honma S. Organ specific development characterizes circadian clock gene *Per2* expression in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 306(1):R67-R74 (2013) (査読あり)
5. Ono D, Honma S and Honma K. Postnatal Constant Light Compensates Cryptochrome1 and 2 Double Deficiency for Disruption of Circadian Behavioral Rhythms in Mice under Constant Dark. *PLoS One.* 20;8(11):e80615. doi: 10.1371/ journal.pone. 0080615 (2013) (査読あり)
6. Natsubori A , Honma K and Honma S. Differential responses of circadian *Per2* rhythms in cultured slices of discrete brain areas from rats showing internal desynchronisation by methamphetamine. *Eur J Neurosci.* 38(4):2566-2571 (2013) (査読あり)
7. Yamada Y, Nishide S., Nakajima Y, Watanabe T, Ohmiya Y, Honma K and Honma S. Monitoring circadian time in rat plasma using a secreted *Cypridina* luciferase reporter. *Anal Biochem.* 439(2):80-87 (2013) (査読あり)
8. Ono D, Honma S and Honma K. Cryptochromes are critical for the development of coherent circadian rhythms in the mouse suprachiasmatic nucleus. *Nat Commun.* 4:1666 (2013) (査読あり)
9. Yoshikawa T, Matsuno A, Yamanaka Y., Nishide S., Honma S and Honma K. Daily exposure to cold phase-shifts circadian clock of neonatal rat in vivo. *Eur J Neurosci.* 37(3):491-497 (2013) (査読あり)
10. Natsubori A, Honma K and Honma S. Differential responses of circadian *Per2* expression rhythms in discrete brain areas to daily injection of methamphetamine and restricted feeding in rats. *Eur J Neurosci.* 37(2):251-258 (2013). (査読あり)
11. Enoki R, Ono D, Hasan MT, Honma S, Honma K. Single-cell resolution fluorescence imaging of circadian rhythms detected with a Nipkow spinning disk confocal system. *J Neurosci Methods,* 207(1):72-79 (2012).(査読あり)
12. Nishide, S., D. Ono, Y. Yamada, S. Honma and K. Honma. De novo synthesis of PERIOD initiates circadian oscillation in cultured mouse suprachiasmatic nucleus after prolonged inhibition of protein synthesis by cycloheximide. *Eur J Neurosci,* 35(2): 291-299 (2012). (査読あり)
13. Enoki R, Kuroda S, Ono D, Hasan MT, Ueda T, Honma S and Honma K. Topological specificity and hierarchical network of the circadian calcium rhythm in the suprachiasmatic nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA,* 2012 Dec 4 (2012) (査読あり)

14. Hamada T, Honma S and Honma K. Light responsiveness of clock genes, *Per1* and *Per2*, in the olfactory bulb of mice. *Biochem Biophys Res Commun* 409:727-731 (2011) (査読あり)

(和文)

15. 本間研一、体温と睡眠の概日リズム。特集：概日リズムと疾患、日本臨床、71(12):2076-2081 (2013)(査読なし)
16. 本間研一、サマータイムと睡眠。最新臨床睡眠学 - 睡眠障害の基礎と臨床 -、日本臨床、71(5):736-741 (2013) (査読なし)
17. 本間研一、生体リズムの基礎。最新臨床睡眠学 - 睡眠障害の基礎と臨床 -、日本臨床、71(5):40-45 (2013) (査読なし)
18. 本間研一、橋本聡子、夏堀晃世。睡眠リズムの分子生物学。Clinical Neuroscience 31(2):152-156 (2013) (査読なし)
19. 本間研一。現代型不眠～日本人の体内時計の乱れを考える～。実験治療、707:113 (2012) (査読なし)
20. 本間研一、橋本聡子。体温・睡眠リズム。医学のあゆみ、242(11):845-850 (2012) (査読なし)
21. 本間研一。図説：生体リズムと睡眠。日本臨床、70(7):1090-1093 (2012) (査読なし)
22. 本間研一。体内時計と睡眠。BRAIN and NERVE, 64(6):639-646 (2012)(査読なし)

[学会発表](計8件)

A 国際学会

1. Honma, K. Interaction of Methamphetamine-induced Oscillation and the SCN Circadian Clock. 25th Annual Meeting of

Society for Light Treatment and Biological Rhythms, Geneva (Switzerland), June 22 (2013)

2. Honma, K. Non-photic entrainment of human circadian rhythms: a possible mechanism. XIII Congress of European Biological Rhythm Society, Munich (Germany), August 20 (2013)
3. Honma, K. Sleep in the Seasons. 13th Congress of Turkish Sleep Medicine, Antalya (Turkey), December 13 (2012)
4. Honma, K. How to realize a causality of sequential events of bodily functions with sleep. Symposium : Active Brain in Sleep – New Approaches to the Brain Functions –, The 7th ASRS Congress, Taipei (Taiwan), December 2 (2012)
5. Honma K. Sleep-Wake Cycle in Humans: a classic but new approach. International Symposium on Frontiers in Sleep and Biological Rhythms' Research. Izmir (Turkey), April 31 (2012)

B 国内学会

6. 本間研一。衣食住の時間生物学 - ある研究者の挑戦。第20回日本時間生物学会・特別講演、大坂、11月10日(2013)
7. 本間研一。睡眠・覚醒リズムの進化。日本睡眠学会第38回定期学術集会・教育講演、秋田、6月27日(2013)
8. 本間研一。Functional Structure of Circadian Clock in the Suprachiasmatic Nucleus – a hierarchical multi-oscillator system。第89回日本生理学会・萩原生長記念講演、松本、3月30日(2012)

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本間 研一 (Ken-ichi Honma)
北海道大学・ - ・ 名誉教授
研究者番号：40113625

(2) 連携研究者

西出 真也 (Shin-ya Nishide)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：40451398

山仲 勇二郎 (Yujiro Yamanaka)
北海道大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：20528343

橋本 聡子 (Satoko Hashimoto)
北海道大学・大学院医学研究科・学術研究
員
研究者番号：80374247