

令和元年6月14日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04922

研究課題名(和文) 生物時計の臓器間ネットワークの摂食タイミングによる同調を介する生活習慣病の予防

研究課題名(英文) Prevention of life-related diseases through synchronization of tissue clocks by eating timing

研究代表者

小田 裕昭(Oda, Hiroaki)

名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：20204208

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：栄養・運動・睡眠は健康の要である。この3つの要素は生物時計という観点で見ると、統合的に制御できると考え、臓器間時計ネットワークの同調を介して代謝を正常化させて健康に結びつけるための分子的基盤を明らかにすることを目指した。本研究では、特にヒトでも起きうる不規則な摂食タイミングとして朝食欠食を取り上げた。朝食欠食は、休息期から最初の食事が数時間だけ遅れるだけであるが、代謝異常が起きることが多くの観察研究で明らかになっている。高脂肪食を与えた朝食欠食モデルでは、肝臓時計と肝脂質代謝のリズムが数時間遅れ、体重増加をもたらすことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

不規則な食生活をするなど、体調が崩れるなど、私たちは摂食タイミングの栄養学的重要性を認識しつつも、その影響を過小評価していた。生物時計を考えることで見える臓器間ネットワークは、健康を考える新しい視点として、健康はまずリズムからという考えを提案できる。本研究により、摂食タイミングの生物学的意義が明らかにされ、「何」を食べるかの研究に加え、「いつ」食べるかが、健康のための代謝のキー制御因子として働き、その作用機序の分子的基盤を確立することで、メタボリック・シンドロームや生活習慣病、筋萎縮・サルコペニアを予防するために食事指導の介入も可能になる。今回の研究では、その一端を明らかにすることができた。

研究成果の概要(英文)：Nutrition, exercise and sleep are the key to good health. From the perspective of the biological clock, these three elements are considered to be integrably controlled, revealing the molecular basis for normalizing metabolism and linking it to health through synchronization of the inter-organ clock network. In this study, I investigated breakfast skipping as an irregular feeding timing that can occur especially in humans. Breakfast skipping just delay the first meal for a few hours after rest, but metabolic abnormalities have been shown to occur in many human studies. In a breakfast skipping animal model fed a high-fat diet, it was revealed that the rhythm of the liver clock and liver lipid metabolism was delayed for several hours, leading to weight gain.

研究分野：時間栄養学

キーワード：時間栄養学 摂食タイミング 肝臓時計 筋肉時計 脳時計 臓器間ネットワーク

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

規則正しい食生活は、健康によいとされている。何をどれだけ食べるかは、いまでも重要な課題であるが、どのようなタイミングで「いつ」食べるかなどについて、分子生物学的研究は十分にされていない。一方、時間生物学の進歩により時計遺伝子が発見されて、生物時計の分子生物学は進み、生物時計の持つ生理的重要性が明らかになってきた。さらに、すべての細胞が概日リズムを持つことが明らかとなり、脳視交叉上核のマスター時計意外の末梢組織の時計も重要であることが明らかとなった。

時計遺伝子の改変動物が作成され、行動異常だけでなく代謝異常が示されるようになってきた。申請者は不規則な摂食タイミングだけで代謝異常が起きることを世界で初めて示した (Circulation Res. 105, 545 (2009))。つまり、正常動物において、同じ食事を同じ量食べていても摂食タイミングの異常がコレステロール代謝を異常にさせることを分子レベルで明らかにした。申請者は不規則な食生活が不健康になることを明らかにしたが、2012年米国のグループが、「超」規則正しい食生活が高脂肪食による肥満を完全に抑えることを示した。つまり、何をどのくらい食べるかより「いつ」食べるかの方が、代謝制御因子として重要であることを示している。そして、私たちはこの同調メカニズムの一つとして、インスリンが重要であることを突き止めた (Scientific Rep. 2, DOI10.1039/srep00439 (2012))。

国民健康・栄養調査から、エネルギー摂取が減っているにもかかわらず、肥満やメタボリックシンドロームが増加していることが示され、その原因は食事因子 (脂質や糖など) ではないこと推定され、申請者は朝食の欠食など食事のタイミングに注目した。その健康への影響は、十分に理解されておらず、限定的だと考えられてきた。しかし、申請者の研究や米国の研究は、摂食タイミングは、代謝のキー制御因子であることを示し、生活習慣病を予防できる可能性を現実的なものとした。

これまでメタボリックシンドロームの原因は、エネルギー摂取の過剰であると考えられてきた。それ自身が間違いではないが、実生活においてスクロースの過剰摂取が重要な因子になっていることが指摘されるようになった。WHO は摂取カロリーの 5% 以下にするように提言するようになった。しかし、甘味は制限することが難しい上、スクロースがどのようにして脂質代謝異常を引き起こすかは明らかにされていない。

2. 研究の目的

栄養・運動・睡眠は健康の要である。この3つの要素は生物時計という観点で見ると、統合的に制御できると考え、臓器間時計ネットワークの同調を介して代謝を正常化させて健康に結びつけるための分子的基盤を明らかにすることを旨とする。現代社会では、肝臓時計の乱れによる代謝異常だけでなく、24時間社会による脳時計異常による睡眠障害、運動不足による筋肉時計異常による筋萎縮など各臓器の異常が指摘されている。シフトワーカーに限らず仕事柄不規則な生活をせざるを得ない人 (社会的時差ぼけ) では、3つの要素が乱れ (脱同調)、生活習慣病の罹患率が多い。そのため特に、摂食タイミングを生物時計のキー同調因子として、脳時計と肝臓時計、筋肉時計のネットワークの同調 (脱同調) 機構を明らかにする。さらに、メタボリックシンドローム主要原因と考えられるようになったスクロースの脂質代謝に与える影響を時間栄養学的観点から検討する。

3. 研究の方法

朝食欠食モデル動物

不規則な食生活としてヒトでよく見られる朝食欠食を取り上げた。朝食を食べたほうが良いのか、食べないほうが良いのか議論があるため、実験動物で明らかにすることを目的とした。ラットは暗期に食餌を食べるが、4時間食餌のタイミングを遅らせる給餌プロトコルを考えた。摂食期間も重要な因子であることが知られているので、12時間とした。実験期間は2週間とし、食餌は高脂肪食とした。実験最終日に4時間おきに7点で解剖を行った。血清脂質を測定し肝臓 RNA を抽出してリアルタイム PCR 法により、mRNA を定量した。

高脂肪食以外に高スクロース食を与える実験も行った。

高スクロース食による脂質代謝異常に与える摂食タイミングの影響

高スクロース食は、脂肪肝や高中性脂肪血症を誘導することが知られている。私たちは、高スクロース食によって、肝臓の代謝のリズムが変動するという結果を得たので、時間制限摂食を行った。自由摂食させる群と活動期のみ摂食させる時間制限摂食群を設けた。時間制限摂食群では、暗期の12時間のみ摂食させた。食餌は、炭水化物をすべてスターチとする群とスクロースにする群を設けた。4週間摂食させ、実験最終日に4時間おきに7点で解剖を行った。血清脂質を測定し肝臓 RNA を抽出してリアルタイム PCR 法により、mRNA を定量した。

高スクロースによる脂質代謝異常の消化管の関与

これまでスクロースの構成糖であるフルクトースの代謝物が、肝臓で素早く脂質合成に利用されることが脂肪肝の原因と考えられてきた。しかし、小腸がフルクトースの主要な代謝臓器であることが、2018年にはじめて明らかになった。私たちは、スクロース過剰摂取は小腸粘膜の概日時計に変化を与え、消化吸收機能に影響を及ぼすことを検討した。ラットを用いて、

食餌中の炭水化物源をすべてスターチまたはスクロースとして、28日間飼育後、ラットを屠殺し血清、肝臓、小腸粘膜、盲腸粘膜、盲腸内容物を得た。血清脂質と肝臓脂質を分析し、小腸粘膜と盲腸粘膜の時計遺伝子を検討した。さらに、盲腸内容物の腸内細菌叢を検討した。

4. 研究成果

朝食欠食モデル 高脂肪食

体重は、朝食欠食群で有意に増加していた。これは、腎周囲脂肪などの脂肪重量増加によるものであった。体温は、対照群では活動期に上昇し、休息期に低下するが、朝食欠食群では体温の上昇は活動期から4時間も遅れ、低下は休息期から1時間のみ遅れていた。血清コルチコステロン濃度は変化が見られなかったが、インスリン濃度は朝食欠食群でピークの後退が見られた。一部の脂質代謝関連遺伝子では、高脂肪食によって位相が前進していた。朝食欠食では、時計遺伝子、脂質代謝関連遺伝子共に朝食欠食群で位相の後退が見られた。以上の結果から、高脂肪食を用いた朝食欠食は脳の体温中枢や肝臓の時計遺伝子、脂質代謝関連遺伝子のリズムを後退させることが明らかとなり、これが代謝リズムの異常を誘導し、体重増加さらにはメタボリックシンドロームにつながることを示唆された。対照群と朝食欠食群、両群とも摂食量に変化がないにもかかわらず体重が増加した。このとき

朝食欠食モデル 高スクロール食

朝食欠食群でわずかではあるが、有意な体重増加が観察された。朝食欠食群では暗期になっても体温の上昇が4時間遅れたが、明期になるとすぐに低下した。朝食欠食によって肝臓の時計遺伝子にはほとんど変化が見られなかった。一方、CYP7A1などリズムを示す代謝酵素の位相は朝食欠食によって4時間以上後退した。小腸粘膜の時計遺伝子の発現リズムも大きな変動は見られなかった。スクラーゼ mRNA の位相が4時間後退した。これらの結果から、朝食欠食は、肝臓・小腸の時計遺伝子には大きく影響しないものの、代謝酵素のリズムには大きな影響を与え、それが脂質代謝異常につながる可能性があることが分かった。摂食タイミングは、肝臓・小腸の時計遺伝子を介さず代謝リズムを制御する機能があることが明らかとなった。

高スクロース食の時間制限摂食

スクロース食群では、血中中性脂肪がスターチ食群に比べ上昇したが、活動期のみ時間制限摂食により血中中性脂肪とコレステロールが自由摂食群と比較して有意に低下した。肝臓総脂質はスクロース食により増加し、スクロース摂食時間の制限によりこの増加は抑えられた。肝臓時計遺伝子と脂質代謝関連転写因子の発現を調べたが、両群で差が見られなかった。以上の結果から、高スクロース食による血中脂質と肝臓脂質の増加は、時間を制限して活動期のみ摂取することにより改善されることが示された。

高スクロース食による消化管のリズム

スクロース食群では、血中中性脂肪がスターチ食群に比べ上昇し、肝臓総脂質も増加した。スクロース過剰摂取により小腸粘膜の Per, Cry 遺伝子などの時計遺伝子に変動が見られた。また、GLUT5 などの遺伝子発現も増加した。一方、盲腸粘膜の概日時計には影響を及ぼさなかった。盲腸内容物の細菌叢は、スクロース食群で多様性が減少し、ファーミキューテス門/バクテロイデス門比はスクロース食群で低下していた。抗生物質の飲水への添加は、脂肪肝と高脂血症を抑えた。これらの結果から、スクロース過剰摂取は消化管に作用して、小腸概日時計に影響を与え、腸内細菌叢に変化を与えることで、脂肪肝と高脂血症を引き起こすことがわかった。したがって、スクロース過剰毒性が肝臓をターゲットとしているのではなく、主要な臓器が消化管であることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計6件)

1. 小田裕昭, 孫淑敏, 金多恩 (2019) 時間栄養学からみた糖尿病・メタボリックシンドローム。プラクティス 36, 1-8. 査読無
2. Sun, S., Hanzawa, F., Umeki, M., Matsuyama, Y., Nishimura, N., Ikeda, S., Mochizuki, S. and Oda, H. (2019) Impacts of high-sucrose diet on circadian rhythms in the small intestine of rats. *Chronobiol. Int.* 36, 826-837. doi: 10.1080/07420528.2019.1592185 査読有
3. Shimizu, H., Hanzawa, F., Kim, D., Sun, S., Laurent, T., Umeki, M., Ikeda, S., Mochizuki, S. and Oda, H. (2018) Delayed first active-phase meal, a breakfast-skipping model, led to the increased body weight and shifted the circadian oscillation of the hepatic clock and lipid metabolism-related genes in rats fed a high-fat diet. *PLOS ONE* 13, e0206669 doi: 10.1371/journal.pone.0206669 査読有

4. Sun, S., Hanzawa, F., Umeki, M., Ikeda, S., Mochizuki, S. and Oda, H. (2018) Time-restricted feeding suppresses excess sucrose-induced plasma and liver lipid accumulation in rats. PLOS ONE 13, e0201261 doi: 10.1371/journal.pone.0201261 査読有

5. 小田裕昭 (2018) 時間栄養学 - 時計遺伝子とメタボリック・シンドローム予防 - .ひと・健康・未来 19, 30-35. 査読無

6. 小田裕昭 (2017) 時間栄養学 - 食事のタイミングと健康 - .食品の包装 48, 57-61. 査読無

〔学会発表〕(計4件)

1. 小田裕昭、孫淑敏、梅木美樹、西村直道、望月聡 (2019) “スクロース過剰毒性”は消化管を介して脂肪肝と高中性脂質血症を誘導する。2019年度日本農芸化学会

2. 小田裕昭、清水初実、金多恩、孫淑敏、梅木美樹、望月聡 (2018) 高スクロース食を摂取させた朝食欠食モデル動物における肝臓脂質代謝遺伝子発現の異常。日本動脈硬化学会

3. 小田裕昭 (2018) 栄養素の起源 - 栄養素はいつ生まれ、どう進化したか - シンポジウム「食の代謝・進化から迫る生命の戦略」2018年度日本農芸化学会

4. 渡辺彩子、武田美優、梅木美樹、山田耕史、望月聡、小田裕昭 (2018) マナマコ由来セレブロシドの血清コレステロール代謝改善作用のメカニズム。第72回日本栄養・食糧学会

〔図書〕(計3件)

1. 小田裕昭 (2017) 「生化学・基礎栄養学」池田彩子、石原健吾、小田裕昭 編著 朝倉書店(東京)(共著)

2. 小田裕昭 (2017) がん細胞におけるアミノ酸代謝リプログラミング！次世代がん治療 発症・転移メカニズムからがん免疫療法・ウイルス療法、診断法まで」エヌ・ティー・エス(東京)(共著)

3. 小田裕昭 (2018) 時間栄養学。「代謝センシング-健康, 食, 美容, 薬そして脳の代謝を知る-」三林浩二 監修 シーエムシー出版(東京) (共著)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://nutrition2.agr.nagoya-u.ac.jp/>

6. 研究組織

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。