

平成30年6月18日現在

機関番号：82111

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K12746

研究課題名(和文) 食事摂取リズム依存的な肥満誘発とそのメカニズムの解明

研究課題名(英文) Obesity induced by collapsed feeding rhythm

研究代表者

大池 秀明(OIKE, Hideaki)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・主任研究員

研究者番号：30455307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、マウスを利用して、光環境や給餌パターンを変化させ、体重やエネルギー代謝、末梢組織の体内時計がどのように変化するのかを解析した。その結果、明暗サイクルを定期的に前進させる光条件において体重の増加が大きくなり、その条件では、呼吸商の概日変動振幅が小さい個体ほど体重が増加し、また、糖代謝への依存度も高くなる傾向が見出された。このことから、不規則な生活により摂食リズムの概日性が崩れると、脂質の燃焼が減少し、肥満が誘発されやすくなるものと推測された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we analyzed effects of light/dark- or feeding/fasting-pattern on body weight, energy metabolism, and circadian clocks of peripheral tissues in mice. As a result, periodic advance of light/dark cycle efficiently increased body weight gain. Under this light/dark condition, the body weight gain was correlated with decrease of circadian amplitude of respiratory quotient fluctuation and also correlated with glucose usage. It was suggested that collapse of circadian feeding rhythm due to irregular activity pattern caused suppression of lipid usage, leading to obesity.

研究分野：時間栄養学

キーワード：概日リズム 時間栄養学 体内時計 シフトワーク マウス 肥満 時差ボケ

1. 研究開始当初の背景

看護師や工場勤務者などで多用されるシフトワークは、最近の複数の疫学調査から、体重や代謝異常、肥満等との相関性が示されてきている。また、ここ数年で、食事時刻に依存して体重や代謝量が変化する「時間栄養学」という研究分野も台頭し、栄養学において、時間因子の重要性が再認識されている。われわれはこれまでに、シフトワークにより肥満が誘発される現象を、動物実験モデルで構築することに成功している。具体的には、マウス飼育の明暗環境(12:12時間)を、6時間ずつ週2回前進させることで、週当たりの総摂取量、総運動量は変化することなく、体重の増加、耐糖能異常、肝臓におけるエネルギー代謝関連遺伝子の発現変化などを誘発する。そして、興味深いことに、明暗環境を同様に時差ボケ条件に変化させても、食餌時刻を固定しておくことで、肥満が抑制できることを明らかにした。このことから、肥満の原因は、明暗リズムではなく、摂食リズムであることが示唆された。末梢組織の体内時計は食事時刻に同調することや、臓器によって同調の感受性が異なることから、摂食時刻を断続的に変化させることにより、末梢体内時計が臓器間でずれ、ホルモンの分泌リズムや臓器間クロストークに不調和が発生しているものと予想される。

2. 研究の目的

ここでは、光リズムおよび食餌リズムを様々に変化させ、どのような(食)生活パターンで肥満が誘発されやすいのかを明らかにする。続いて、そのパターンを利用して、エネルギー代謝量、臓器の遺伝子発現(概日リズムを含む)等を測定し、体内時計ネットワークの不調和によるエネルギー代謝の低下および肥満の誘発が起きるのかについて仮説を検証する。このことから、シフトワークや不規則な食生活によって肥満が誘発されるメカニズムの解明を目指し、健康な食生活とは何かを理解することを将来的な目標とする。

3. 研究の方法

(1) 明暗および食餌パターンによる肥満誘発作用の比較検討

下記に示す6種類の明暗パターンおよび6種類の食餌パターンにおいて、オスの若齢C57BL/6Jマウスを、2ヶ月間、通常飼料で飼育し、摂食量、飲水量、体重について1週間ごとに計測した。また、行動量について、赤外線センサーにより試験期間全体を通して継続的にモニタリングを行った。食餌は、制限給餌装置を利用して与え、昇降式の餌箱により特定の時刻のみにアクセス可能とした(量は制限しない)。

明暗パターン： 12:12時間の固定(コントロール) 週2回6時間ずつ前進(シフトワークモデル1) 週2回6時間ずつ後退(シ

フトワークモデル2) 週2回6時間の前進と後退を交互(シフトワークモデル3) 1:1時間で固定(概日リズムの手がかりを与えない) 1日22.3時間周期(1週間あたりの時刻前進総量はの条件と同一だが、1日単位で徐々に前進させた)

食餌パターン： 24時間自由(コントロール) 12:12時間の食餌時刻固定、週2回6時間ずつ前進(シフトワークモデル1) 週2回6時間ずつ後退(シフトワークモデル2) 週2回6時間の前進と後退(シフトワークモデル3) 1日22.3時間周期の中の12時間固定

(2) 上記で最も体重増加が大きかった光環境条件(週2回6時間前進)を利用し、マウスをメタボリックチャンバー内で4週間飼育し、その間の呼吸商等を測定することで、エネルギー代謝がどのような影響を受けているのかを解析した。

(3) 通常の12時間明暗サイクルで飼育したPER2::LUCマウス(時計遺伝子Per2にルシフェラーゼを融合させた遺伝子をノックインしたマウス)を恒明条件(光による体内時計の攪乱を目的)に移行し、半数の個体は自由摂食とし、残りの半数は元の暗期にあたる12時間の時間制限給餌とした。4週間の飼育後、末梢組織を摘出して培養し、肝臓、肺、白色脂肪、筋肉、精巣等の概日リズムを発光により計測した。

4. 研究成果

(1) 明暗および食餌パターンによる肥満誘発作用の比較検討

明暗環境を変化させた条件においては、のコントロール群と比較して、のいずれの群においても体重の増加傾向が認められ、体重の増加度が多い順に、 、 、 、 、 となった。このことから、標準的な12時間の明暗周期からずれた生活リズムは、これまでの知見と同様、肥満を誘発しやすいことが確認された。また、1週間あたりの時刻前進量は と 同じであるが、 のように週2回まとめて6時間ずつ前進させた方が、毎日少しずつ前進させた よりも肥満度が高かったことから、時差が肥満誘発の原因となっているものと考えられる。

一方、食餌タイミングを変動させたグループにおいては、当初の予想とは異なり、いずれの群においても、のコントロール群と比較して、平均体重が軽い結果となった。詳細な解析の結果、これは、明期の光による行動マスキングが強くかかりすぎてしまい、期待していた摂食時刻に十分な食餌行動が起きていなかったことに起因するものと考えられた。今後、光の明るさや明暗条件を工夫する等して、マスキングの影響を抑えて実験する必要があることが課題として残った。

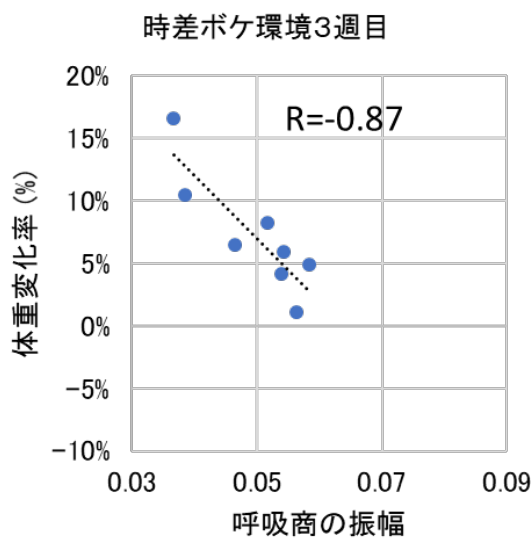
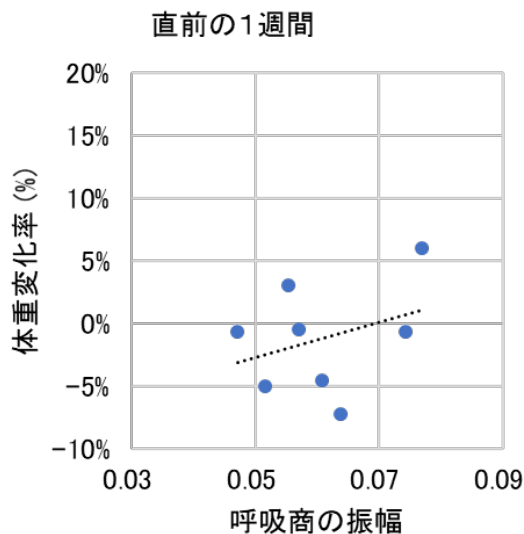


図1 光条件変更前後の体重増加と呼吸商の概日リズム振幅との相関

(2) 通常の明暗サイクルでは、暗期に呼吸商が高く（炭水化物中心の代謝）、明期に低い値（脂質中心の代謝）を示す。今回の時差ボケ光環境による飼育では、昼夜の呼吸商の概日変動の周期性（振幅）が小さくなった個体ほど体重が増加する傾向にあることが明らかとなった（図1）。また、明暗サイクルの6時間前進を行った直後の1~2日程度に呼吸商が上昇する傾向が認められ、脂質の燃焼が減少し、炭水化物の利用割合が増加することが明らかとなった。さらに、飼育期間を通して呼吸商の平均値が高い個体ほど体重増加が大きい傾向にあることも明らかとなった（図2）。以上の結果から、明暗周期を変動させることで、体内時計に駆動される活動期と休息期の摂食行動のメリハリが失われ、ダラダラ食いになる個体ほど、脂質の燃焼が減少し（反対に脂質合成が優位になっている）体重増加が引き起こされるものと考えられた。

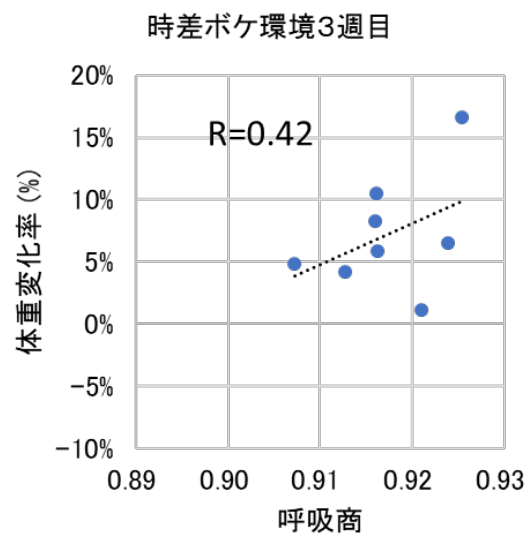
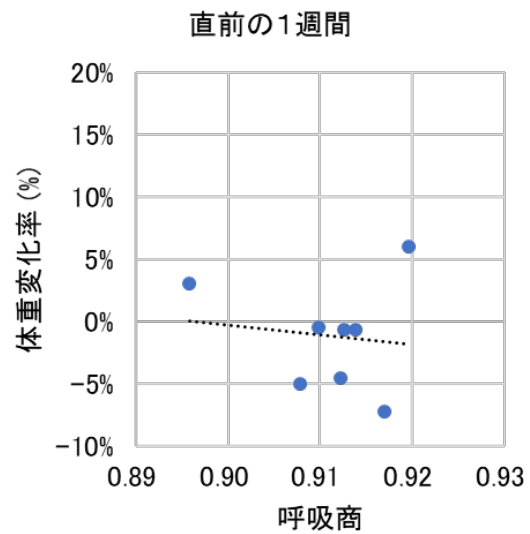


図2 光条件変更前後の体重増加と呼吸商平均値との相関

(3) 恒明条件に移行したことで、自由摂食群は体重の増加が認められ、時間制限給餌群はその体重増加が抑制される傾向が認められた。肝臓の概日リズムの時刻位相は、自由摂食群で変化している個体が多く、体重増加が大きい個体ほどその傾向が顕著であった。一方で、肺、筋肉、白色脂肪の概日リズム位相については両群で似通っており、食餌時刻の影響をそれほど受けていない可能性が示された。また、これまで精巢は概日リズムがないと考えられてきたが、組織培養の条件下では明らかな概日リズムが認められたことから、詳細を解析したところ、培養開始時刻を起点としたリズム位相を示すことを見出した。さらに、時計遺伝子 Per2 および Bmal1 のプロモーター活性は培養精巢において概日変動を示さなかったことから、PER2 タンパク質自体が概日変動している可能性が考えられ、精巢においては、これまで考えられてきた概日時計のメカニズムとは異なる制御が行われている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1件)

Hideaki Oike, Modulation of circadian clocks by nutrients and food factors, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 81(5)、2017, pp.863-870
doi: 10.1080/09168451.2017.1281722.

〔学会発表〕(計 6件)

Hideaki Oike, Nanako Ito, Koyomi Miyazaki, Circadian oscillation of PER2::LUC in cultured mouse testis, *European Biological Rhythms Society XV Congress (国際学会)*, 2017

大池 秀明, 概日リズムの制御と食品機能、第22回日本フードファクター学会学術集会、2017

大池 秀明, 時間栄養学研究から考える肥満とその予防、第90回日本内分泌学会学術総会、2017

大池 秀明, 伊藤 奈々子、中尾 玲子、大石 勝隆、宮崎 歴、マウス精巣における概日時計、第24回日本時間生物学会学術大会、2017

大池 秀明, 小堀 真珠子、マウスに肥満を誘導する時間栄養学的飼育法、第3回時間栄養科学研究会、2016

大池 秀明, 食品の栄養素と体内時計、食品品質保持技術研究会(招待講演)、2016

〔図書〕(計 1件)

大池 秀明, 鈴木 千尋, おいしさの科学的評価・測定法と応用展開(第10章 食品と時間栄養学), シーエムシー出版、2016、pp. 97-109

〔産業財産権〕
該当なし

〔その他〕
ホームページ等
http://www.naro.affrc.go.jp/nfri-neo/introduction/chart/0203/hideaki_oike.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大池 秀明 (OIKE, Hideaki)
国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・主任研究員
研究者番号: 30455307

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

石丸 喜朗 (ISHIMARU, Yoshiro)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・特任准教授
研究者番号: 10451840

(4) 研究協力者

大石 勝隆 (OISHI, Katsutaka)
国立研究開発法人産業技術総合研究所・バイオメディカル研究部門・グループ長