

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成30年6月7日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21225

研究課題名(和文)L-セリン摂取が概日リズムの光同調に及ぼす影響

研究課題名(英文)Effects of L-serine intake on circadian photoentrainment

研究代表者

李 相逸 (LEE, SANGIL)

北海道大学・工学研究院・助教

研究者番号：70738880

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では実生活におけるL-セリンの複数回摂取が概日リズム、睡眠習慣に与える影響について明らかにすることを目的とした。健康な男女大学生35名(男:18人女:17人)を対象に4週間のフィールド実験を行った。実験は、L-セリン摂取群とプラセボ摂取群に分けて、二重盲検で実施した。実験1週目(摂取前)から3週目(摂取2週目)のメラトニン分泌開始時刻(概日リズムの位相を示す指標)の差を両群比較したところ有意な違いはなかったが、L-セリン群においてのみ睡眠習慣に対する相対的な前進が確認された。興味深いことに、冬のデータではプラセボ群に比べてL-セリン群のリズムが前進していた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to determine whether L-serine intake can promote circadian photoentrainment in real life. Thirty-five healthy university students (18 males and 17 females, 21.5 ± 2.2 yrs) participated in a four-week field study. During the experiment, we did not control participants' sleep habits and social schedules. The participants were randomly divided into two groups (L-serine and placebo groups, double-blinded). In the L-serine group, a trend of phase advance was found after intake for 10 days, but it was not significantly greater than that of the placebo group. However, the L-serine group showed a relative circadian advance to sleep phase, whereas the placebo groups did not. In the data obtained from winter experiment, we found a greater circadian advance in the L-serine group compared with that in the placebo group.

研究分野：生理人類学、時間生物学、環境人間工学

キーワード：概日リズム ヒト 社会的時差ボケ 栄養 メラトニン フィールド

1. 研究開始当初の背景

ヒトの脳内には体の生理的・行動的リズムを調整する体内時計が存在し、視交叉上核 (Suprachiasmatic nucleus: SCN) がその役割を果たしている。ヒトの体内時計はぴったり 24 時間周期ではなく少し長いことが知られているが、地球の自転に伴う一日の明暗周期に同調して約 24 時間の概日リズムを示す。一方、現代社会は照明の使用で夜も明るい。また、我々は寝る直前まで光を浴びることが多い。夜に浴びる光は体内時計を攪乱し、概日リズムの後退 (生活の夜型化) を引き起こし、早朝から始まる社会的時計とずれてしまう。この現象はいわゆる海外旅行での時差ボケと同様で、日中の眠気の増加やパフォーマンスの低下などをもたらす [1]。そのため、夜型化している概日リズムをいかに戻し、社会の時計に近づけるかに関する研究が必要とされている。

2. 研究の目的

夜の光とは逆に、朝に浴びる光は概日リズムの位相を前進 (朝型化) させることが知られている。しかし、朝の光暴露 (光同調) だけでは限界があり、概日リズムの前進にかなりの時間が必要とされる。近年、動物実験により、非必須アミノ酸の一種である L-セリンの摂取が概日リズムの光同調を促進することが明らかになった [2]。つまり、ヒトでも L-セリンの摂取が概日リズムの位相前進に必要な時間を短縮する可能性が考えられた。そこで我々は過去にヒトを対象とした実験室実験を行った結果、就寝前に L-セリンを摂取し、翌朝光を浴びると概日リズムの位相がさらに前進することを確認した [2]。しかし、この成果はあくまでも条件を揃えた実験室実験で得られた結果である。体内時計のリズムは睡眠習慣、食習慣、社会的時計など、様々な因子にも同調するため、実生活においても同様な L-セリンの効果を得られるかについては明確ではなかった。従って、本研究では生活習慣を統制しない日常生活における L-セリンの複数回摂取が概日リズム、睡眠習慣に与える影響について明らかにすることを目的としたフィールド実験を行った。

3. 研究の方法

(1) 実験期間及び実験参加者

実験期間は 2016 年 10 月から 11 月と 2017 年 6 月から 7 月の 2 回に分けて、各 4 週間のフィールド実験を行った。実験参加者は、朝型夜型質問紙 (MEQ: Morningness-Eveningness Questionnaire、日本語版) に回答し、極端な朝型と夜型がないように選別した。また、本研究において最も重要な生理指標である唾液中のメラトニンの分泌濃度についても確認した。最終的に健康な男女大学生 35 名 (男:18 人女:17 人 21.5±2.2 歳) が本実験に参加した。なお、実験参加者の中で睡眠薬

や神経安定剤などを服用する者はいなかった。

(2) 実験条件及び手順

実験期間中に摂取する食品として、L-セリンとトレハロース (糖質、プラセボ条件) の 2 種類を用意した。そのため、L-セリン摂取群 17 名 (男 8 人、女 9 人) とプラセボ摂取群 18 名 (男 10 人、女 8 人) の 2 グループに分けて実施した。各グループの MEQ スコアの平均値 ± 標準偏差は、L-セリン摂取群が 49.3±7.1 で、プラセボ摂取群が 49.2±7.0 で、両群に統計的に有意な差がないことを確認した。試験食品は二重盲検法を用いて手渡ししたため、実験終了後にデータ分析が終わるまで被験者も実験者もわからないようにした。

本研究はフィールド実験であるため、実験期間中の日常生活には一切介入しなかった。ただし、過度な夜更かしや徹夜だけは禁止するように教示した。実験開始 1 週目は試験食品の摂取前期間 (pre) とし、2 週目 (2W) から 3 週目 (3W) にかけて摂取期間にした。また、4 週目は摂取中断期間 (post) にした。摂取期間中は、毎日就寝する 30 分前に 3g の試験食品を 100ml の水に溶かして飲んでもらった。摂取後に実験参加者は必ず実験者に報告し、摂取有無を確認した。

(3) 測定項目

実験期間中の活動量と光曝露履歴を測定するために、実験参加者は光の照度センサー付きの活動量計 (Motion Watch8) を常に着用した。また、毎朝起床後 30 分以内に質問紙 (OSA 睡眠調査票 MA 版) に回答し、就寝時刻、起床時刻、気分などについて記録してもらった。唾液中メラトニン濃度を調べるために実験参加者は、毎週木曜日の 19 時から自宅の部屋を薄暗くした状態 (50 lx 以下) で、20 時 ~ 就寝時刻まで 1 時間おきに、専用のチューブ (サリベット、Sarstedt 株式会社) を用いて唾液採取を行った。その際の指示や報告などについてはスマートフォンの専用アプリの LINE を用いた。

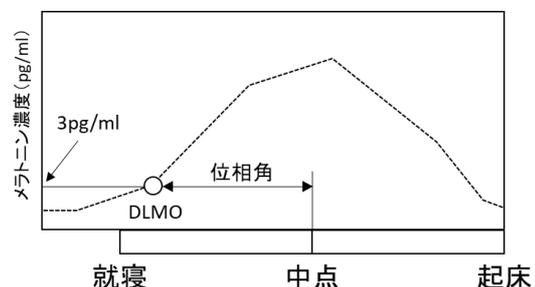


図 1 . DLMO と位相角 (DLMO - 睡眠中点)

(4) データ分析

概日リズムの指標として、唾液中メラトニン分泌濃度が 3pg/ml を初めて超える時刻

DLMO(Dim Light Melatonin Onset)を利用した。睡眠習慣の指標は、就寝時刻と起床時刻の真ん中の時刻(睡眠中点)を用いた。なお、DLMO と睡眠中点の時間差を位相角と定義した(図1)。位相角は、朝型と夜型に関連しており、夜型であるほど小さくなることが知られている。

統計分析では、IBM 社の統計ソフト SPSS(ver. 23) を用いた。有意水準は 5%未満 ($p<0.05$) とした。

4. 研究成果

(1) 研究の主な成果

本研究の主な成果として、実生活における L-セリンの摂取が概日リズムの位相や睡眠習慣に及ぼした影響を中心に報告する。

概日リズムの位相 (DLMO)

毎週木曜日に各実験参加者が薄暗い部屋で 1 時間ごとに採取した唾液中のメラトニン濃度 (3pg/ml) を基準に DLMO を判定した。しかし残念ながら、2 週目 (2W) の DLMO が判定できなかったケースが多くあった。そのため本報告書では、試験食品の摂取前 (1 週目: Pre) を基準に 3 週目 (3W) の DLMO 変化についてのみ報告する。L-セリン摂取群 (n=13) では平均して 9 分の DLMO の前進が見られた半面、プラセボ摂取群 (n=15) では平均 14 分の DLMO の後退が見られた。しかし、両群の DLMO 変化量を比較したところ、統計的に有意な差は認められなかった ($p=0.15$) (図 2)。

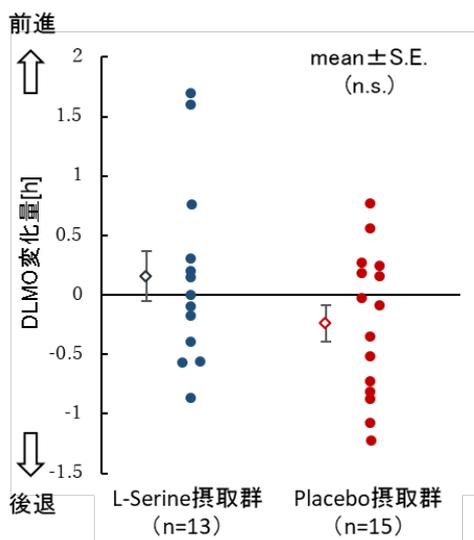


図 2 . 両群の DLMO 変化量 (Pre-3W)

睡眠中点および位相角(DLMO - 睡眠中点) 睡眠中点は概日リズムと相関関係を示す指標である。睡眠中点は概日リズムの前進または後退に付き合って移動しやすい。仮説では、L-セリンの摂取が概日リズムの位相前進に効果があれば、睡眠中点も前進する可能性が考えられた。図 3 に睡眠中点の変化量を示す

(mean ± sd)。プラセボ摂取群では 1 週目と 3 週目の睡眠中点の間にほとんど変化がなかったのに対し、L-セリン摂取群では有意な睡眠中点の後退が認められた ($p<0.05$)。これは、当初の仮説とは逆の結果である。しかし、睡眠習慣は社会的活動に影響を受けやすく、今回は一切統制していなかったため、L-セリンによる結果とは限らない。そのため今度は観点を变えて、睡眠中点を基準とした位相角の変化量について検討を行った(図 3)。その結果、L-セリン摂取群において現れていた睡眠中点の後退に対し、DLMO の位相はほとんど後退していなかったことが確認された。この結果に対する解釈の一つとして、L-セリンの摂取が DLMO の後退を抑えていた可能性が考えられる。

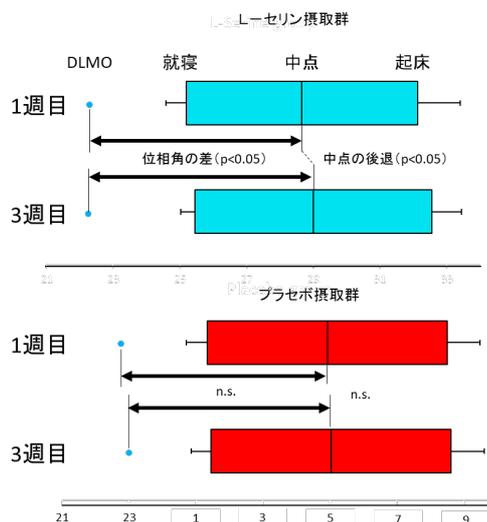


図 3 . 睡眠中点および位相角

概日リズムの位相について再検討 (1 週目の位相角を共変量とした共分散分析)

DLMO の変化量に影響を及ぼした可能性のある要因を調べたところ、冬に実験を行った被験者 13 名 (L-セリン群 6 名、プラセボ群 7 名) において、1 週目の位相角が小さい被験者ほど 3 週目の DLMO が前進するという相関関係 ($p<0.05$) が見られた(図 4)。そのため、朝の光同調タイミングに最も関連している位相角 (DLMO 起床時刻) を共変量とし、各群の DLMO 変化量について共分散分析を行った。その結果、プラセボ摂取群に比べ、L-セリン摂取群の DLMO のほうが有意に前進していることが認められた ($p<0.05$)。夏の被験者においては、1 週目の位相角と 3 週目の DLMO の変化量の間には有意な相関は認められず、両群の DLMO 変化量の間にも有意な差は見られなかった。

冬の日の出は夏に比べて遅いため、起床時刻による朝の光同調タイミングの違いがリズムの位相に与える影響は比較的に抑えられた上で得られた結果でもある [3]。実験サンプルは決して多くないが、以上の結果は実

生活においても L-セリンの摂取が朝の光同調を促進する可能性が推察される。しかし、夏の実験では同様な結果が得られず、日照時間や日照量などにおける季節差と本研究の結果との関連性について今後詳しい検討が必要である。

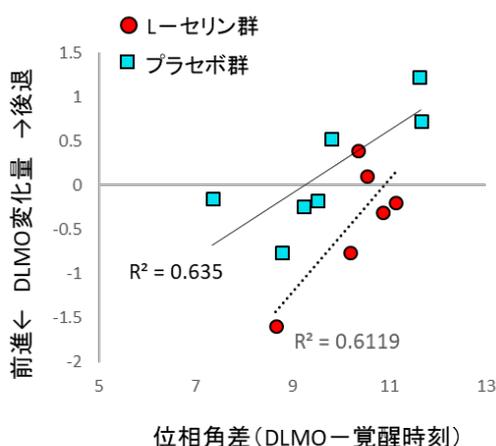


図 4.1 週目の位相角と DLMO 変化量の相関

(2) 得られた成果の国内外における位置づけ、今後の展望

生活の夜型化による概日リズムの乱れとそれに伴う睡眠問題や社会的時差ボケは日本国内だけでなく、海外においても指摘されており、その対策が必要である。概日リズムは一日の夜更かしでも簡単に後退してしまう。その反面、朝の光暴露によってリズムが前進するが、元に戻すには数日以上時間が必要とされる。一方で、海外における有効な方法としてメラトニンの服用が進められるが、日本国内では処方箋が必要であり、個人が簡単に手にすることは許可されていない。本研究は概日リズムの前進を促進する新たな対策として、特に実生活において L-セリンの摂取が概日リズムの光同調を促進できるか否かについて検討を行ったことにその意義がある。

本研究では先行研究（実験室実験）より得られたような L-セリンの顕著な効果は認められなかった。しかし、体内時計に影響するファクター（睡眠習慣、食事習慣、活動量など）を全く統制していなかったにも関わらず、L-セリンが概日リズムの光同調に影響していた可能性が確認されたと言える。日常において生活習慣を変えずに L-セリンを摂取するだけではその効果が期待し難いとも言える。

先行研究では朝決まった時間に光暴露を実施したが、今回は朝の光暴露については教示しなかった。また、実験参加者に睡眠習慣や夜型生活を改善するような目的意識を与えてもいなかった。今後は、夜型を朝型に変えるための努力、例えば、起床時刻を早め、朝

しっかり光を浴びるなどの意思を持ちながら L-セリンを摂取することについて検討する必要がある。

<引用文献>

M Wittmann, J Dinich, M Merrow, and T Roenneberg, Social Jetlag: Misalignment of Biological and Social Time, *Chronobiology International*, 23(1&2), 2006, 497-509

S Yasuo, A Iwamoto, SI Lee, S Ochiai, R Hitachi, S Shibata, N Uotsu, C Tarumizu, S Matsuoka, M Furuse, and S Higuchi, L-Serine Enhances Light-Induced Circadian Phase Resetting in Mice and Humans. *The Journal of Nutrition*, 147(12), 2017, 2347-2355

M Hilaire, J Gooley, S Khalsa, R Kronauer, C Czeisler, and S Lockley, Human Phase Response Curve to a 1h Pulse of Bright White Light, *The journal of physiology*, 590(13), 2012, 3035-3045

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)

[学会発表](計 2 件)

Sang-il Lee, Kota Takeoka, Chie Tarumizu, Sayuri Matsuoka, Shinobu Yasuo, Shigekazu Higuchi, Promoting effect of L-Serine intake on circadian photoentrainment in humans, *The Society for the Study of Human Biology (2017 SSHB - IAPA Joint Symposium)*, September 2017, Loughborough (UK)

大橋路弘, 李相逸, 松岡小百合, 垂水千恵, 安尾しのぶ, 樋口重和, 実生活における L-Serine 摂取が概日リズムの光同調に及ぼす影響、*日本生理人類学会第 77 回大会*、2018 年 6 月、九州大学(福岡)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

李相逸 (LEE, Sang-il)
北海道大学・大学院工学研究院・助教
研究者番号：70738880

(2) 研究協力者

樋口重和 (HIGUCHI, Shigekazu)
大橋路弘 (OHASHI, Michihiro)