

令和元年6月20日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19914

研究課題名(和文)異なるライフステージに及ぶ影響を視野に入れた食事リズムと脳機能との関連解析

研究課題名(英文) Relationship between dietary rhythms and brain functions with consideration of multiple life stages

研究代表者

安尾 しのぶ (Yasuo, Shinobu)

九州大学・農学研究院・准教授

研究者番号：30574719

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：不規則な明暗周期による概日時計の乱れは気分障害や記憶障害と関与する。本研究では時間制限給餌が情動行動や記憶・学習能力に及ぼす影響について、マウスを用いた解析を行った。朝型の給餌時刻リズムでは夜型の給餌時刻リズムに比べて、うつ様行動や空間記憶行動に好ましい影響がみられた。これらの影響には海馬の時計遺伝子や神経調節因子が関与する可能性が示唆された。また、幼少期の給餌リズムは成熟後の行動に影響しないことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに時間制限給餌が糖代謝や脂質代謝に影響することが解明されている。本研究では初めて、時間制限給餌が脳に関連する機能(情動や記憶・学習能力、海馬の遺伝子発現など)にも強く影響を及ぼすことを明らかにした。これらの結果は、食事時刻の統制によって情動や記憶・認知機能を良好に維持できる可能性を示唆しており、睡眠不足や概日時計の乱れによるうつ病や交通事故・産業事故の防止に貢献できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Disruption of the circadian clock by irregular illumination is associated with affective disorders and memory disorders. In this study, effect of time-restricted feeding on affective behaviors and memory/learning behaviors was analyzed in mice. Morningness-like dietary rhythms resulted in preferred effects on depression-like behaviors and spatial memory and learning, compared to eveningness-like dietary rhythms. Hippocampal clock genes and neuromodulatory factors may be involved in the mechanism. This study further clarified that dietary rhythms during infant/adolescent stages had little impact on behaviors in later life.

研究分野：時間生物学・動物生理学

キーワード：概日時計 食事リズム 情動 記憶・学習 海馬 マウス

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

近年、24時間営業店や交替制勤務、夜間におけるパソコンやスマートフォン等の長時間使用による生活リズムの乱れが子ども・大人を問わず問題となっている。不規則な生活による概日時計（体内時計）の乱れは気分障害・記憶障害などの脳機能障害と深く関与しており、現代社会におけるうつ病や交通事故・産業事故の一因にあると指摘されている。

最近、食事を正しい時間帯に摂取することで概日時計の機能を強化し、肥満や糖尿病を予防する「時間制限摂食療法」の有効性が動物実験や臨床実験により証明されてきた。しかし、その効果は主に代謝関連機能について調査されており、脳関連の機能に対する効果は不明であった。

### 2. 研究の目的

- (1) 時間制限給餌がマウスにおける情動行動や記憶・学習行動に及ぼす影響を解明する。
- (2) 時間制限給餌が脳における関連遺伝子の発現や神経新生に及ぼす影響を解明する。
- (3) 幼少期の時間制限給餌が成熟後の情動行動や記憶・学習行動に及ぼす影響を解明する。

### 3. 研究の方法

(1) C57BL/6J マウス（オス、7週齢）の活動期にあたる暗期にのみ給餌する群（暗期摂食群）と、休息期にあたる明期にのみ給餌する群（明期摂食群）を設定し、時間制限給餌を3週間行った。各群について、明期と暗期にオープンフィールド試験と強制水泳試験をそれぞれ行った。

(2) 行動試験時における満腹/空腹状態を統一させるため、1日2時間 x 2回の時間制限給餌を朝型・夜型の給餌時刻パターンで行った。朝型群は暗期開始時と暗期中央に、夜型群は暗期中央と明期に給餌時間を設定した。行動試験を食間（最後の給餌から4時間以上）に設定し、明期と暗期にオープンフィールド試験と強制水泳試験をそれぞれ行った。また明期にバーンズ迷路試験を行った。

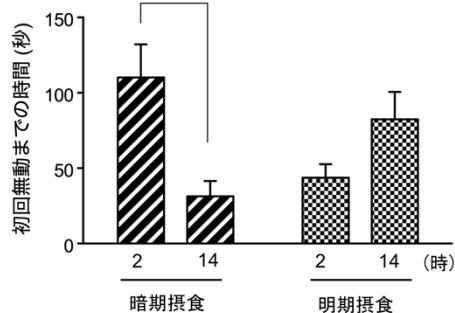
(3) 1日2時間 x 2回の時間制限給餌（朝型・夜型）を行ったマウスの海馬を用いて、時計遺伝子および神経可塑性調節遺伝子の発現パターンや神経新生・神経調節因子の解析を行った。

(4) 離乳直後の3週齢から4週間にわたり1日2時間 x 2回の時間制限給餌（朝型・夜型）を行い、オープンフィールド試験や強制水泳試験により情動行動を解析した（T1）。同様に飼育した別個体を自由給餌条件に移してさらに4週間飼育した後、同様の情動行動を解析した（T2）。

### 4. 研究成果

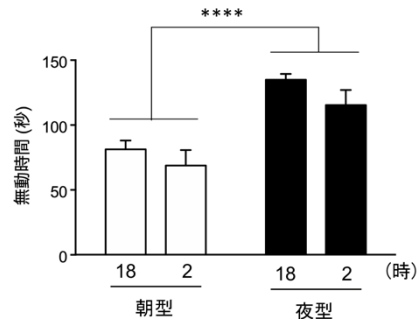
(1) オープンフィールド試験では移動距離や中央滞在時間に暗期摂食群と明期摂食群の差は見られず、給餌時刻は自発運動量や不安様行動に影響しないことが示唆された。一方で、強制水泳試験では、初期無動までの時間（うつ様行動）が日内変動を示しており、暗期摂食群と明期摂食群とで日内変動パターンが逆転していた（図1）。すなわち、暗期摂食群では暗期にうつ様行動が高く、明期摂食群では明期にうつ様行動が高かった。この結果は、行動試験時の摂食状態（満腹/空腹状態）によってうつ様行動が短期的な影響を受けたことを示唆しており、時間制限給餌の長期的な影響を正確に検出できなかった可能性がある。

図1. 暗期および明期の時間制限給餌が強制水泳試験におけるうつ様行動に及ぼす影響。初回無動までの時間が短いほどうつ様行動が高いと評価される。\* $p < 0.05$ , Bonferroni test

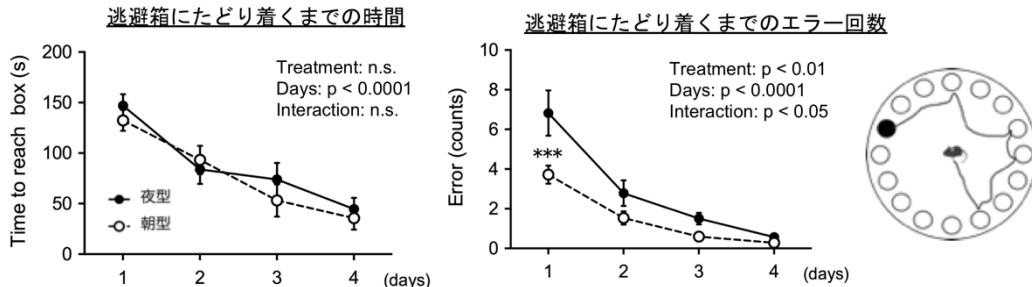


(2) そこで次に、1日2時間 x 2回の時間制限給餌プロトコル（朝型・夜型）を設定し、行動試験時の摂食状況（満腹/空腹状態）を統一した実験を行った。強制水泳試験において、朝型群では夜型群よりも無動時間が一日を通して有意に短かった（図2）。空間記憶・学習試験であるバーンズ迷路試験を行った結果、朝型群では夜型群よりも逃避箱にたどり着くまでのエラー回数が有意に少なかった（図3）。短期記憶を評価するプローブ試験において、朝型群では夜型群よりも逃避箱のあった穴に早く到達し、そのエリアを探索する割合も有意に多かった（図3）。以上の結果から、朝型の給餌パターンは夜型の給餌パターンに比べて、うつ様行動や記憶力に望ましい影響をもたらすことが示唆された。これらの結果は、時間制限給餌が脳機能に影響することを初めて明らかにしたものである。

図 2. 時間制限給餌（朝型・夜型）が強制水泳試験におけるうつ様行動に及ぼす影響。無動時間が長いほどうつ様行動が高いと評価される。\*\*\*\* $p < 0.0001$ , two-way ANOVA



<本試行>



<プローブ試行>

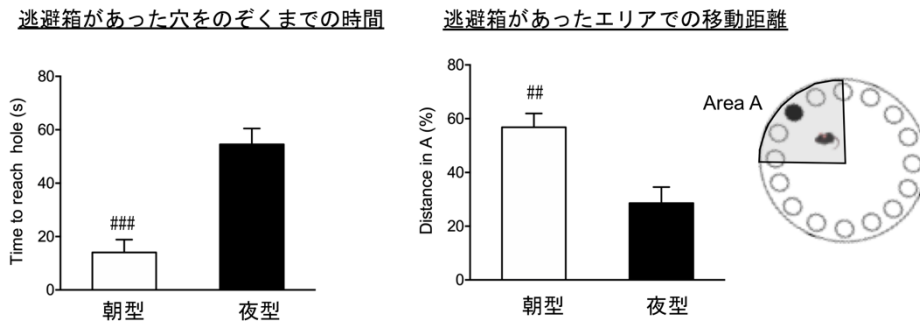


図 3. バーンズ迷路試験における朝型・夜型給餌の影響  
複数の穴が空いた板上でマウスに強い光をあて、逃避箱の位置をどれだけ早く正確に学習するかを評価する試験である。プローブ試行は本試行の翌日に逃避箱をはずして行う試験であり、記憶保持・想起能力を評価する。\*\*\* $p < 0.001$ , Bonferroni test; ## $p < 0.01$ , ### $p < 0.001$ ,  $t$ -test

(3) (2) のプロトコルで飼育したマウスの海馬において、時計遺伝子や神経可塑性調節遺伝子の発現を解析した。解析した時計遺伝子のうち、*Bmal1* や *Rev-erba* の暗期における発現が夜型群で朝型群よりも高かった (図 4)。*Rev-erba* の制御下にある *Fabp7* (脂肪酸結合タンパク質) の発現も同様の発現変化を示していた (図 4)。*Fabp7* は情動や記憶・学習に関わる神経新生を調節する機能があるため、細胞増殖マーカーである BrdU を用いて海馬における神経新生レベルを解析したが、給餌時刻による違いは見られなかった。また神経分化マーカーや神経栄養因子の発現、アストロサイトマーカーレベルにも給餌時刻による違いはなかった。

そこで次に、給餌時刻は神経新生ではなく神経機能の調節に影響すると考え、海馬のシナプス可塑性を調節するホルモンのシグナル伝達因子を解析した。その結果、シグナル伝達阻害タンパク質の量が夜型群で朝型群よりも多かった。このシグナル伝達系の関与について、今後引き続き解析していく必要がある。

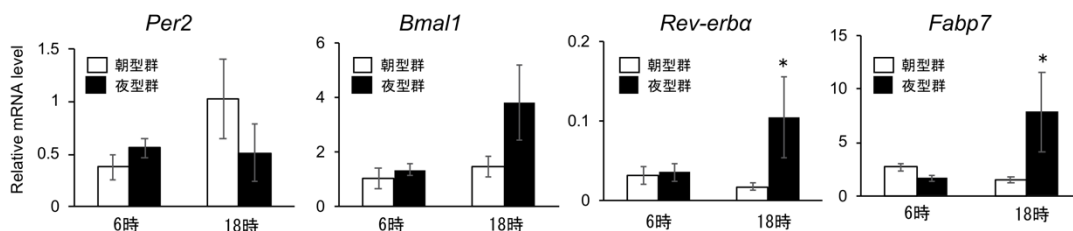


図 4. 海馬における時計遺伝子 (*Per2*, *Bmal1*, *Rev-erba*) および脂肪酸結合タンパク質 (*Fabp7*) の発現に及ぼす朝型・夜型給餌の影響  
各遺伝子の発現量は、*HPRT* の値を用いて補正した。\* $p < 0.05$ , Bonferroni test

(4)幼少期における時間制限給餌が成熟後に及ぼす影響について解析した。離乳から時間制限給餌（朝型・夜型）を4週間行った直後のT1（思春期）において、オープンフィールド試験における総移動距離は夜型群で朝型群よりも多かったが、この違いは自由給餌下でさらに4週間経過した後のT2（成熟期）では見られなかった。強制水泳試験ではT1とT2ともに夜型・朝型群間の差は見られず、幼少期の給餌時刻が成長後のうつ様行動に及ぼす影響は少ないことが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計3件）

- ① Morisaki N, Nagata C, Yasuo S, Morokuma S, Kato K, Sanefuji M, Shibata E, Tsuji M, Senju A, Kawamoto T, Ohga S, Kusuvara K, Japan Environment and Children's Study Group. Optimal protein intake during pregnancy for reducing the risk of fetal growth restriction: the Japan Environment and Children's Study. *British Journal of Nutrition*, 120:1432-1440, 2018, 査読有  
10.1017/S000711451800291X
- ② Takai Y, Kawai M, Ogo T, Ichinose T, Furuya S, Takaki N, Tone Y, Udo H, Furuse M, Yasuo S. Early-life photoperiod influences depression-like behavior, prepulse inhibition of the acoustic startle response, and hippocampal astrogenesis in mice. *Neuroscience*, 15:133-143, 2018, 査読有  
10.1016/j.neuroscience.2018.01.038.
- ③ Yasuo S, Iwamoto A, Lee SI, Ochiai S, Hitachi R, Shibata S, Uotsu N, Tarumizu C, Matsuoka S, Furuse M, Higuchi S. l-Serine enhances light-induced circadian phase resetting in mice and humans. *Journal of Nutrition*, 147:2347-2355, 2017, 査読有  
10.3945/jn.117.255380.

〔学会発表〕（計12件）

- ① 安尾しのぶ. 生体の季節リズムを利用した代謝プログラミングの畜産応用. 日本農芸化学会2019年度大会（招待講演）、2019年
- ② 安尾しのぶ. アミノ酸による体内時計の調整：マウスからヒトへの応用展開. 第60回歯科基礎医学会学術大会（招待講演）、2018年
- ③ 安尾しのぶ、菊竹鴻太、大坪駿. 食事リズムが情動行動や記憶・学習行動に及ぼす影響. 第5回時間栄養科学研究会、2018年
- ④ Yasuo S, Tone Y, Takai Y, Kawai M, Takaki M, Furuse M. Effect of early-life photoperiod on affective behaviors, memory and learning, neurogenesis, and neuronal development. 第41回日本神経科学大会、2018年
- ⑤ Yasuo S, Tone Y, Takai Y, Kawai M, Takaki M. Early-life photoperiod alters affective behaviors, memory and learning, and hippocampal morphology. *Asian Forum of Chronobiology*、2018年

〔図書〕（計2件）

- ① 古瀬充宏、安尾しのぶ. シーエムシー出版「食品機能性成分の吸収・代謝・作用機序」第1章 アミノ酸「ストレス・睡眠関連アミノ酸」、2018年、pp.57-63
- ② Yasuo S. Elsevier, Chrononutritional modulation of sleep and the circadian clock by amino acids. In: *Neurological Modulation of Sleep: Mechanisms and Functions in Sleep Health, Second Edition*, in press

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/lrmb>

## 6. 研究組織

(1) 研究分担者

(2) 研究協力者

※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。