

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：34312

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H01617

研究課題名(和文) 摂食リズムの非同期による時計遺伝子の記憶が誘発する女性生殖機能異常の総合的解析

研究課題名(英文) Comprehensive analysis of female reproductive dysfunction induced by clock gene memory due to asynchronous feeding rhythm

研究代表者

藤原 智子 (FUJIWARA, Tomoko)

京都ノートルダム女子大学・現代人間学部・教授

研究者番号：60310744

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究代表者によるこれまでの検討で朝食欠食に月経痛が伴う可能性が示されてきた。そこで本研究では食生活調査やラット実験による検証、および時計遺伝子改変マウスを用いた検討を行い、摂食リズムの異常が誘発する若年女性の生殖機能障害を解析した。その結果大規模な学生の健康調査で朝食欠食に月経痛が伴うことが確認された。またラットを用いた検討で食餌時間のタイミングが生殖機能、および食餌摂取量と体重増加に大きく関与することが示された。一方で子宮特異的時計遺伝子欠損マウスを用いた検討では妊娠は成立するものの出産に至らないことが観察され、子宮機能に時計遺伝子が深く関与していることが新たに示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在日本の若い女性の間には欠食や美容目的のダイエット等が広がっているが、これと並行して月経困難症の原因となる子宮内膜症などの婦人科疾患の増加が大きな問題となっている。これまで月経痛と食習慣の関係は十分に検討されてこなかったが、月経痛は器質的婦人科疾患の兆候でもあり、女子学生の月経痛は医学的に極めて重要な情報である。本研究の解析から得られた成果は新しい学問分野を開拓するのみならず、ダイエット指向の若年女性に対して「食事による概日リズムの性機能調節機構に立脚したダイエット弊害を抑える食育プログラム」を提案するうえで理論的な基盤を提供する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We previously showed that breakfast skipping is associated with dysmenorrhea. In this study, we analyzed reproductive dysfunction in young women induced by abnormal eating rhythms through dietary surveys, rat experiments, and studies using clock gene-modified mice. As a result, a large scale student health survey confirmed that breakfast skipping is associated with dysmenorrhea. In addition, rat experiments showed that the timing of mealtime is significantly related to reproductive function, food intake, and body weight gain. On the other hand, mice lacking the uterus-specific clock gene could achieve pregnancy, but could not lead to delivery, indicating that the clock gene is deeply involved in uterine function.

研究分野：食生活学

キーワード：概日時計 生殖機能 食育 月経痛 摂食リズム

1. 研究開始当初の背景

現在日本の若い女性の間には欠食や美容目的のダイエット等が広がっているが、これと並行して月経困難症の原因となる子宮内膜症などの婦人科疾患の増加が大きな問題となっている。これまで月経痛と食習慣の関係は十分に検討されてこなかったが、月経痛は器質的婦人科疾患の兆候でもあり、女子学生の月経痛は医学的に極めて重要な情報である。一方で思春期以後さらに生殖機能が完成しつつある時期の女性（18-22歳）には適切な医学的な分類用語が存在せず、食生活の自立を始める時期にもかかわらず彼女達を対象とした予防的な食生活指導や指標は十分ではなかった。そこで本研究代表者らはこの時期を「生殖機能成熟期」と位置づけ、食生活習慣と生殖機能障害間の関係を明らかにする目的で女子学生を対象に約20年にわたって実態調査を実施してきた(藤原(智)、家政学会誌、2018)。

その結果、過去にダイエット経験がある学生では現在月経痛が強いことを見だし、「ダイエットを終了後に器質的婦人科疾患が発症する」危険性を警鐘することとなった(Fujiwara T: *Int J Food Sci Nutr*, 2007)。一方で一日のトータル食事摂取量は減少していないにもかかわらず、女子学生の朝食欠食に月経痛が伴うことが明らかにされた(Fujiwara T: *Int J Food Sci Nutr*, 2003)。最近では朝食欠食が月経痛と因果関係を示すことがパレスチナの大規模調査により確認されている(Abu Helwa et al., *BMC Womens Health*, 2018)。そこで朝食が日内リズムのスタート時に相当することに着目し、「朝食欠食は概日リズムに干渉し、生殖機能に悪影響を及ぼす」という仮説を提唱するに至り(Fujiwara T and Nakata R: *Appetite*, 2010; Fujiwara T: *Obstet Gynecol Int J*, 2018)、ラット実験でこの仮説を支持する結果を得た(Fujiwara T, Nakata R, Ono M, Mieda M, Ando H, Daikoku T, Fujiwara H: *Curr Dev Nutr*, 2018)。

2. 研究の目的

概日リズムは視床下部の中核概日時計と臓器細胞内の末梢概日時計によって制御されている。食事と光の刺激でリセットされる中核概日時計のリズムが崩れると睡眠、食欲、情動などに異常をきたす(Mieda et al., *Curr Biol*, 2016)。また肝臓や消化器などで末梢概日時計のリズムが崩れると異常な細胞代謝、ホルモン分泌、ぜん動運動が誘発され、成人病や癌が発症する可能性が警鐘されている(Ando et al., *Endocrinology*, 2016)。雌の生殖機能では中核概日時計がLHサージに関与すること(Miller et al., *Curr Biol*, 2004)、また末梢時計遺伝子 *Bmal1* の全身欠損マウスでは黄体ホルモンが低下して不妊となる(Ratajczak et al., *Endocrinology*, 2009)と報告されているが、その詳細な機序は不明のままである。そこで本研究では「成長期の食事と光リズムの競合による中核概日時計の乱れ」が「末梢時計遺伝子に記憶される」可能性を着想し、先行する2つの仮説から演繹的に「思春期からの生殖機能成長期における概日リズムの乱れが誘発する生殖機能障害は時計遺伝子に記憶され将来にも悪影響を及ぼす」と発想を展開した。一方で先行仮説を「食事による概日リズムの乱れはダイエットによる生殖機能への弊害を増悪させる」と発展的に融合して、新たに二つの作業仮説を掲げることにした。これらの仮説を検証する目的で食生活調査やラット実験による検証、および遺伝子改変マウスを用いたメカニズムの解析を行い、食事と光リズムの非同期が誘発する若年女性の生殖機能障害機構を総合的に解明することとした。

3. 研究の方法

金沢大学と滋賀大学の女子学生を対象に健康調査を用いた大規模アンケートを施行して食生活習慣と月経トラブルとの関連を検討した。また正常雌ラットを用いた実験で食餌時間のタイミングおよび食餌量の制限が生殖機能に与える影響を検討した。一方で正常雌マウスを用いた実験で食餌のタイミングが子宮における時計遺伝子機能に与える影響を検討し、さらに progesterone receptor (PR)-cre を用いて *Bmal1* cKO を作製して子宮特異的 *Bmal1* 遺伝子欠損マウスを作成して子宮の妊孕能に対する時計遺伝子の作用について解析した。

4. 研究成果

金沢大学と滋賀大学の女子学生を対象に健康調査を用いた大規模アンケートによる検討で、朝食欠食に月経痛が伴うこと、およびダイエット経験者に何らかの月経トラブルを有する頻度が高いことが示され(Fujiwara T, 他: *Diagnostics*, 2020, ref 1)、「食事の概日リズムへの干渉は生殖機能に悪影響を及ぼす」という仮説、および「思春期のダイエットは生殖機能回復後に婦人科疾患の発症に関与する」可能性が確認された(図1)。また8週齢の正常雌ラットを用いた検討で中期(ラット非活動期)のみに食餌給与を制限した場合に排卵数の抑制と性周期の障害が観察され、食餌時間のタイミングが生殖機能に影響することが明らかにされた。

さらに食餌量の制限（20-50%カット）を2-4週間施行した条件下で明期と暗期に食餌給与時間を制限した負荷試験を行ったところ、食餌時間のタイミングにより食餌摂取量と体重増加が大きく変化することも示された。一方で正常雌マウスを用いた朝食欠食モデルで検討したところ、子宮の時計遺伝子 *Bmal1* が臓器内での同期性を示しながら24時間の発現リズムを有することを確認した。また、子宮の部位間で子宮上部、子宮下部が同期して体内時計は発振しており、子宮全体として時計遺伝子 *Bmal1*, *Per1*, *Per2*, *Cry1* が位相差を維持して発振していた。以上のように子宮の時計遺伝子が臓器内での同期性を示しながら24時間の発現リズムを有することが示された（図2）。さらにこれらの子宮時計遺伝子リズムが摂食刺激でリセットされることを新たに報告した（Hosono T, 他: *Curr Dev Nutr*, 2021, ref 2）。

一方で *Bmal1* cKO マウスを解析した結果、*Bmal1* cKO の妊娠子宮では、着床数の減少、着床部位の吸収や胚の成長遅延などの病的な状態を呈し、全例が流産に至ることを見出した。さらに、着床部および胎盤を組織学的に解析すると、血管新生の阻害、特に母体血管領域の縮小が観察され、妊娠高血圧症候群と同様の母体血管の構築不全を伴う胎盤形成異常が生じていることが明らかとなった。以上の結果から、子宮の末梢時計の機能異常が胎盤形成の障害を引き起こし、流産を誘導することが示唆された。この動物モデルは不妊・不育・妊娠高血圧症候群・子宮内胎児発育遅延のモデルとなるシステムとして応用できる。そこでこの動物モデルについて特許を申請した（特願 2020-136995）。

以上の知見からこの摂食リズム異常に付随する月経痛を産婦人科疾患のリスクと捉え、若年期の食習慣異常が産婦人科疾患を誘発する概念を Adolescent Dietary Habit-induced Obstetric and Gynecologic Disease (ADHOGD) として提言した（Fujiwara T 他 *Nutrients*, 2020, ref 3、図3）。本研究の解析から得られた成果は新しい学問分野を開拓するのみならず、ダイエット志向の若年女性に対して「食事による概日リズムの性機能調節機構に立脚したダイエット弊害を抑える食育プログラム」を提案するうえで理論的な基盤を提供する可能性がある。

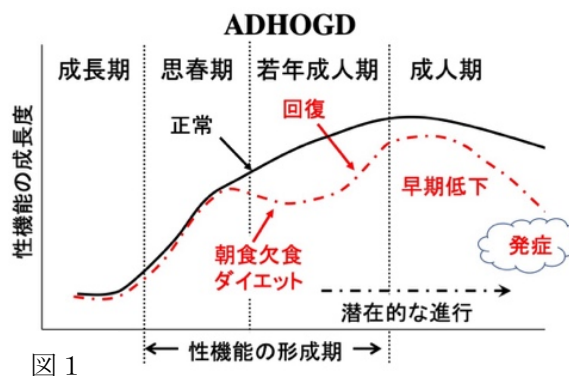


図1

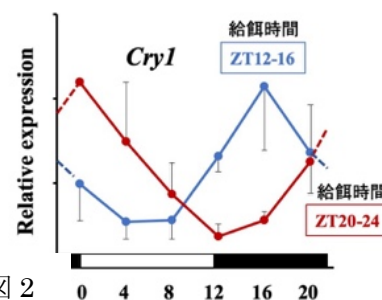


図2

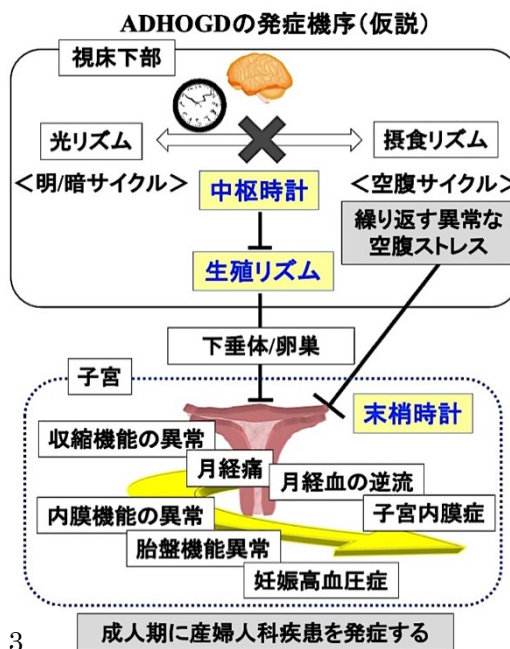


図3

<主要な発表論文>

1: Fujiwara T, Ono M, Iizuka T, Sekizuka-Kagami N, Maida Y, Adachi Y, Fujiwara H, Yoshikawa H. Breakfast Skipping in Female College Students Is a Potential and Preventable Predictor of Gynecologic Disorders at Health Service Centers. *Diagnostics (Basel)*. 2020 Jul 13;10(7):476. doi:10.3390/diagnostics10070476. PMID:32668795; PMCID: PMC7400274.

2: Hosono T, Ono M, Daikoku T, Mieda M, Nomura S, Kagami K, Iizuka T, Nakata R, Fujiwara T, Fujiwara H, Ando H. Time-Restricted Feeding Regulates Circadian Rhythm of Murine Uterine Clock. *Curr Dev Nutr*. 2021 Apr 9;5(5):nzab064. doi:10.1093/cdn/nzab064. PMID:33981944; PMCID: PMC8099714.

3: Fujiwara T, Ono M, Mieda M, Yoshikawa H, Nakata R, Daikoku T, Sekizuka-Kagami N, Maida Y, Ando H, Fujiwara H. Adolescent Dietary Habit-induced Obstetric and Gynecologic Disease (ADHOGD) as a New Hypothesis-Possible Involvement of Clock System. *Nutrients*. 2020 May 2;12(5):1294. doi:10.3390/nu12051294. PMID:32370105; PMCID: PMC7282263.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Hasan Nazmul, Nagata Naoto, Morishige Jun-ichi, Islam Md Tarikul, Jing Zheng, Harada Ken-ichi, Mieda Michihiro, Ono Masanori, Fujiwara Hiroshi, Daikoku Takiko, Fujiwara Tomoko, Maida Yoshiko, Ota Tsuguhito, Shimba Shigeki, Kaneko Shuichi, Fujimura Akio, Ando Hitoshi	4. 巻 49
2. 論文標題 Brown adipocyte-specific knockout of Bmal1 causes mild but significant thermogenesis impairment in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Metabolism	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.molmet.2021.101202	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakayama Midori, Ono Masanori, Iizuka Takashi, Kagami Kyosuke, Fujiwara Tomoko, Sekizuka Kagami Naomi, Maida Yoshiko, Obata Takeshi, Yamazaki Rena, Daikoku Takiko, Fujiwara Hiroshi	4. 巻 46
2. 論文標題 Hypertensive disorders of pregnancy are associated with dysmenorrhea in early adulthood: A cohort study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	6. 最初と最後の頁 2292-2297
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jog.14431	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujiwara Tomoko, Ono Masanori, Iizuka Takashi, Sekizuka-Kagami Naomi, Maida Yoshiko, Adachi Yumi, Fujiwara Hiroshi, Yoshikawa Hiroaki	4. 巻 10
2. 論文標題 Breakfast Skipping in Female College Students Is a Potential and Preventable Predictor of Gynecologic Disorders at Health Service Centers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diagnostics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/diagnostics10070476	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujiwara Tomoko, Ono Masanori, Mieda Michihiro, Yoshikawa Hiroaki, Nakata Rieko, Daikoku Takiko, Sekizuka-Kagami Naomi, Maida Yoshiko, Ando Hitoshi, Fujiwara Hiroshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Adolescent Dietary Habit-induced Obstetric and Gynecologic Disease (ADHOGD) as a New Hypothesis?Possible Involvement of Clock System	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu12051294	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujiwara H, Ono M, Sato Y, Imakawa K, Iizuka T, Kagami K, Fujiwara T, Horie A, Tani H, Hattori A, Daikoku T, Araki Y.	4. 巻 21
2. 論文標題 Promoting Roles of Embryonic Signals in Embryo Implantation and Placentation in Cooperation with Endocrine and Immune Systems	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21051885	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hosono Takashi, Ono Masanori, Daikoku Takiko, Mieda Michihiro, Nomura Satoshi, Kagami Kyosuke, Iizuka Takashi, Nakata Rieko, Fujiwara Tomoko, Fujiwara Hiroshi, Ando Hitoshi	4. 巻 5
2. 論文標題 Time-Restricted Feeding Regulates Circadian Rhythm of Murine Uterine Clock	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Developments in Nutrition	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/cdn/nzab064	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 子宮特異的Bmal1欠損モデル動物	発明者 藤原浩, 安藤仁, 小野政徳, 大黒多希子, 藤原智子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-137005	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	吉川 弘明 (YOSHIKAWA Hiroaki) (10272981)	金沢大学・保健管理センター・教授 (13301)	
研究分担者	三枝 理博 (MIEDA Michihiro) (20296552)	金沢大学・医学系・教授 (13301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藤原 浩 (FUJIWARA Hiroshi) (30252456)	金沢大学・医学系・教授 (13301)	
研究分担者	大黒 多希子 (DAIKOKU Takiko) (30767249)	金沢大学・疾患モデル総合研究センター・教授 (13301)	
研究分担者	安藤 仁 (ANDO Hitoshi) (50382875)	金沢大学・医学系・教授 (13301)	
研究分担者	小野 政徳 (ONO Masanori) (70348712)	金沢大学・附属病院・講師 (13301)	
研究分担者	山本 祐二 (YAMAMOTO Yuji) (80534338)	滋賀大学・保健管理センター・教授 (14201)	
研究分担者	中田 理恵子 (NAKATA Rieko) (90198119)	奈良女子大学・生活環境科学系・准教授 (14602)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------