

令和 6 年 5 月 28 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19H03993

研究課題名（和文）運動による生物時計システムの調節メカニズム

研究課題名（英文）Mechanism of exercise effect on the central circadian pacemaker

研究代表者

山仲 勇二郎 (Yujiro, Yamanaka)

北海道大学・教育学研究院・准教授

研究者番号：20528343

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 15,620,000円

研究成果の概要（和文）：哺乳類の生物時計システムは、明暗サイクルを主要な同調因子とするが、恒常暗下での習慣的な運動スケジュールに行動リズムが同調する非光同調を示す。本研究では、明暗サイクルおよび恒常暗下での運動スケジュールに同調した際のマウスの行動リズム、視交叉上核(SCN)、SCN外脳部位、末梢組織内の時計遺伝子発現リズムの位相関係を比較した。実験には、Per1-lucマウス(雄、成獣)を使用した。マウスの行動リズムが恒常暗下での運動スケジュールに同調した際のSCN、弓状核、骨格筋、肝臓の時計遺伝子発現リズムと行動リズムの位相関係は、弓状核以外の部位では明暗サイクルと同様の位相関係を維持されていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究成果は、昼夜変化の存在しない環境下においても規則正しく運動を行うことで生物時計を調節することが可能であることを遺伝子レベルで初めて明らかにしました。本研究の成果は、全盲患者や光によるリズム同調が困難な環境（パンデミック下での外出自粛、地下室、宇宙ステーションのような閉鎖環境）における生物時計の調節、生物時計の乱れが原因とされる様々な疾患の予防に有効な運動スケジュールを提言する際の科学的根拠となることが期待されます。

研究成果の概要（英文）：Although an light-dark cycle (LD) is a primary zeitgeber for the circadian system, timed exercise could entrain circadian behavior rhythms under constant darkness (DD). In the present study, we investigate whether entrainment by scheduled exercise alters the internal temporal order of the behavioral circadian rhythms or clock gene expression in the central circadian pacemaker in the SCN, extra-SCN brains, and peripheral organs when mice are entrained to the scheduled exercise under DD as same as the mice under entrained to an LD. We used adult male Per1-luc mice. The temporal order of behavioral circadian rhythms and the rhythms in the SCN and peripheral tissues but not in the arcuate nucleus were maintained in the mice entrained to the scheduled exercise and LD. The present findings reveal that the SCN entrains to daily exercise, and daily exercise reorganizes the internal temporal order of behavioral circadian rhythms and clock gene expression in the SCN and peripheral tissues.

研究分野：時間生物学

キーワード：生物時計 時計遺伝子 マウス 中枢時計 末梢時計 サーカディアンリズム 運動

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

行動(睡眠覚醒)と多くの生体の機能には、約24時間を1周期とする概日リズム(サーカディアンリズム)が存在し、概日リズムは生物時計機構によって発振、制御されている。ヒトを含め哺乳類の生物時計機構は、間脳視床下部視交叉上核(suprachiasmatic nucleus: SCN)に存在する中枢時計と、視交叉上核外の脳部位および肝臓、骨格筋などの末梢臓器に存在する末梢時計からなる、階層性多振動体構造である。中枢時計であるSCNの役割は、網膜から受容する外界の昼夜変化を時刻の手がかりとして固有のリズム周期を環境周期に同調させると同時に、神経性あるいは液性の概日リズム信号を全身の末梢時計に伝達し、行動と生理機能を時間的に統合し、活動と休息に最適な体内環境を維持することである。生物時計が発振するサーカディアンリズムを調節可能な環境因子は同調因子と呼ばれており、哺乳類の生物時計の主要な同調因子は、外界の昼夜変化(自然光、高照度光)である。習慣的な運動は昼夜変化の存在しない恒常暗環境でも中枢時計が発振する行動リズムの周期を変化させることや運動スケジュールに同調(非光同調)させることが報告されており、中枢時計の非光同調因子として作用することが示唆されていた。しかし、恒常暗環境下で行動リズムが運動スケジュールに非光同調した際の、行動リズム、中枢時計、末梢組織における時計遺伝子発現リズムの位相関係が明暗サイクルへの光同調時と同じ位相関係を示すのか、習慣的な運動が中枢時計であるSCN内に局在する領域振動体(Evening振動体、Morning振動体)のカップリングに影響するか否かは不明であった。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、恒常暗環境下での習慣的な運動スケジュールにマウスの行動リズムが同調した際の行動リズム、中枢時計および末梢時計の時計遺伝子発現リズムの位相関係を明らかにする、習慣的な運動スケジュールがSCNの領域振動体間のカップリングに与える影響を明らかにすることであった。

### 3. 研究の方法

本研究では、哺乳類の主要な時計遺伝子であるPeriod1のプロモーターの下流にホタルの生物発光酵素であるルシフェラーゼを導入したトランスジェニックマウス(Per1-lucマウス)を使用した。マウスは、回転輪のない飼育ケージで個別に飼育し、焦電型赤外線センサーを用いてケージ内の自発活動量を測定した。マウスは、通常の飼育環境下である12時間明期12時間暗期の24時間明暗サイクルで2週間飼育後、明暗サイクルの存在しない恒常暗環境で4週間以上フリーランさせた。その後、マウスを回転輪が設置された新しいケージに移動させることで自発的な輪回し運動をさせ、3時間後に元の回転輪の設置されていないケージに戻す操作を行動リズムが運動スケジュールに同調するまで続けた。時計遺伝子発現リズムを測定するため、明暗サイクル同調下、恒常暗でのフリーラン環境下、恒常暗下での運動スケジュールに同調した状態でPer1-lucマウスから組織採取を行い、吻側視交叉上核、尾側視交叉上核(150 $\mu$ m、2枚)、弓状核(300 $\mu$ m)、肝臓(300 $\mu$ m)、骨格筋(腹直筋)の培養組織切片を作成した。生物発光リズムの測定は、ディッシュタイプルミノメーター(Lumicycle、Actimetrics社製)を用いて、発光量を10分間隔で5日間測定した。生物発光リズムの解析は、培養翌日に観察された生物発光リズムのピーク位相を基準位相とした。行動リズムの解析は、サンプリング直前の活動開始位相を基準位相とした。

### 4. 研究成果

#### 行動リズム

行動リズムを解析した結果、恒常暗下での運動スケジュールに同調した際の行動開始位相と運動スケジュールの開始時刻の位相角差は、運動スケジュール開始前のフリーラン周期と有意な負の相関が認められた。また、運動スケジュール同調時の活動時間(活動開始位相から活動終了位相までの時間)の長さは、明暗サイクル条件下に比べ恒常暗条件下で延長し、運動スケジュールに同調した際には再び短縮していた。さらに、運動スケジュールに同調時の活動時間は運動スケジュール同調時の位相角差との間に有意な負の相関が認められた。行動リズムが運動スケジュールへの同調に要する日数を活動開始と終了位相に分けて解析した結果、活動の開始位相が終了位相に比べ運動スケジュールへの同調に要する期間が長いことを明らかにした。

#### 時計遺伝子発現リズム

明暗サイクル同調時の視交叉上核の時計遺伝子(Per1-luc)発現リズムのピーク位相は、吻側視交叉上核、尾側視交叉上核ともに明期に、弓状核、肝臓、骨格筋のピーク位相は暗期にみられた。恒常暗下では、明暗サイクル下に比べて尾側視交叉上核と肝臓のピーク位相が有意に後退したが、その他の部位では明暗サイクル下と同じ位相であった。恒常暗下で運動スケジュールに同調した際のPer1-lucリズムは、弓状核以外の部位では明暗サイクルと同様の位相を維持していた。弓状核では明暗サイクル下では暗期にピーク位相がみられたが、運動スケジュール同調時には位相前進し、主観的明期にピーク位相がみられた。

本研究の結果は、習慣的な運動は恒常暗下で変化した行動リズム、中枢時計、末梢時計の時計遺伝子発現リズム間の時間関係を再統合し、昼夜変化による光同調と同様に行動リズムと中枢・末梢時計間の時間関係を維持することが可能であることを遺伝子レベルで初めて明らかにした。さらに、運動を行うタイミングに応じてマウスの活動時間が変化したことから、運動時刻に応じて行動リズムにおける活動開始を制御する Evening 振動体と活動終了を制御する Morning 振動体、2 振動体間の相互協調を変化させる可能性を新たに提示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yamanaka Yujiro, Yokota Isao, Yasumoto Atsushi, Morishita Eriko, Horiuchi Hisanori	4. 巻 37
2. 論文標題 Time of Day of Vaccination Does Not Associate With SARS-CoV-2 Antibody Titer Following First Dose of mRNA COVID-19 Vaccine	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biological Rhythms	6. 最初と最後の頁 700 ~ 706
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/07487304221124661	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 Sato Ren Y., Yamanaka Yujiro	4. 巻 324
2. 論文標題 Nonphotic entrainment of central and peripheral circadian clocks in mice by scheduled voluntary exercise under constant darkness	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology	6. 最初と最後の頁 R526 ~ R535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpregu.00320.2022	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 Yamanaka Yujiro, Hashimoto Satoko, Honma Aya, Honma Sato, Honma Ken-ichi	4. 巻 323
2. 論文標題 A fixed single meal in the subjective day prevents free-running of the human sleep-wake cycle but not of the circadian pacemaker under temporal isolation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology	6. 最初と最後の頁 R16 ~ R27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpregu.00262.2021	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 Matsuura Noriko, Motoshima Hidemasa, Uchida Kenji, Yamanaka Yujiro	4. 巻 76
2. 論文標題 Effects of Lactococcus lactis subsp. cremoris YRC3780 daily intake on the HPA axis response to acute psychological stress in healthy Japanese men	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Clinical Nutrition	6. 最初と最後の頁 574 ~ 580
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41430-021-00978-3	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 TAMURA Hijiri、MATSUURA Noriko、KITAMURA Kohki、YAMANAKA Yujiro	4. 巻 39
2. 論文標題 Two-oscillator Model for Generating a Diurnal Change of Sleepiness: Ultradian Oscillator and the Circadian Oscillator	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Physiological Psychology and Psychophysiology	6. 最初と最後の頁 79 ~ 93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5674/jjppp.2110si	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 Kubota Naoko、Tamori Yusuke、Baba Kenkichi、Yamanaka Yujiro	4. 巻 20
2. 論文標題 Effects of different light incident angles via a head-mounted device on the magnitude of nocturnal melatonin suppression in healthy young subjects	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sleep and Biological Rhythms	6. 最初と最後の頁 247 ~ 254
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s41105-021-00360-7	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 Yamanaka Yujiro	4. 巻 78
2. 論文標題 Basic concepts and unique features of human circadian rhythms: implications for human health	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrition Reviews	6. 最初と最後の頁 91 ~ 96
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nutrit/nuaa072	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 Sato Arisa、Ohtsuka Yoshinori、Yamanaka Yujiro	4. 巻 249
2. 論文標題 Morning Mastication Enhances Postprandial Glucose Metabolism in Healthy Young Subjects	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Tohoku Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 193 ~ 201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1620/tjem.249.193	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 山仲勇二郎	4. 巻 69(11)
2. 論文標題 ヒト生物時計と生体リズムの調節メカニズム	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 体育の科学	6. 最初と最後の頁 780 ~ 787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 山仲勇二郎	4. 巻 17(1)
2. 論文標題 子どもにおける生物時計と生活リズム	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 子どもと発育発達	6. 最初と最後の頁 36 ~ 41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計16件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Yujiro Yamanaka, Satoko Hashimoto, Sato Honma, Ken-ichi Honma
2. 発表標題 Differential Effects of Non-photoc Time Cues on Human Sleep-wake Cycle and Circadian Rhythms
3. 学会等名 Asian Sleep Research Society 2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yujiro Yamanaka, Ren Y Sato
2. 発表標題 Daily voluntary exercise reorganizes temporal order of circadian rhythms in behavior and clock gene expression in the central and peripheral clocks in mice under constant darkness.
3. 学会等名 Asian Sleep Research Society 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yujiro Yamanaka, Sato Honma, Ken-ichi Honma.
2. 発表標題 Phase adjustment mechanism of the human sleep-wake cycle and circadian rhythms: Results of experiment from temporal isolation facility
3. 学会等名 日本生理学会第100回記念大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yujiro Yamanaka, Isao Yokota, Atsushi Yasumoto, Eriko Morishita, Hisanori Horinouchi
2. 発表標題 Time of day of vaccination not associated with SARS-CoV2 antibody titer following first dose of mRNA COVID19 vaccine in general Japanese adults
3. 学会等名 日本時間生物学会第29回学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Naoko Kubota, Yujiro Yamanaka
2. 発表標題 Validity of circadian phase of core body temperature by using a patch-type wearable temperature sensor
3. 学会等名 日本時間生物学会第29回学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yamanaka Y, Hashimoto S, Honma A, Honma S, Honma K
2. 発表標題 Restricted meal schedule prevents free-running of sleep-wake cycle but not circadian pacemaker in humans
3. 学会等名 Sapporo Symposium of Biological Rhythms 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kubota N, Tamori Y, Baba K, Yamanaka Y.
2. 発表標題 Impact of light incident angle of wearable light therapy device on melatonin suppression and pupillary light reflex mediated by the ipRGCs activity
3. 学会等名 Sapporo Symposium of Biological Rhythms 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kubota N, Matsuura N, Yamanaka Y.
2. 発表標題 Impact of school closure due to COVID-19 on self-rated health status and its relationship between exercise and sleep in college students
3. 学会等名 第47回日本睡眠学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山仲勇二郎, 本間さと, 本間研一
2. 発表標題 時間隔離実験室を用いたヒト生物時計の構造と機能解析
3. 学会等名 第47回日本睡眠学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山仲勇二郎, 久保田直子, 馬場謙吉, 田森雄介
2. 発表標題 ウェアラブル型光照射装置の開発と研究動向
3. 学会等名 第47回日本睡眠学会定期学術集会
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 佐藤蓮, 山仲勇二郎
2. 発表標題 恒常暗下での周期的な新奇環境暴露がマウス行動リズムと中枢時計と末梢時計の時計遺伝子Period1発現リズムに与える影響
3. 学会等名 第101回北海道医学大会・日本生理学会北海道地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤蓮, 山仲勇二郎
2. 発表標題 恒常暗下での習慣的な新奇環境暴露によるマウス視交叉上核における時計遺伝子Period1リズムの同調
3. 学会等名 第16回環境生理学プレングレス
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山仲勇二郎, 佐藤蓮
2. 発表標題 Non-photoc entrainment of the circadian clock in mice by scheduled exposures to a novel environment with a running-wheel
3. 学会等名 第99回日本生理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山仲勇二郎, 佐藤有沙, 大塚吉則
2. 発表標題 Effect of mastication on glucose metabolism after high carbohydrate food consumption depends on the number of chew and time of day in healthy subjects
3. 学会等名 第26回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山仲勇二郎
2. 発表標題 Chronobiology: Circadian clock and circadian rhythms in humans
3. 学会等名 ILSI Japan第8回「栄養とエイジング」国際会議（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山仲勇二郎, Jim Waterhouse
2. 発表標題 ヒト生物時計の特性を考慮した生体リズム調整法と実践例
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 駒田 陽子、井上 雄一（山仲勇二郎・第2.3章）	4. 発行年 2019年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 184
3. 書名 子どもの睡眠ガイドブック	

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 光照射装置	発明者 田森雄介、山口悦 範、山仲勇二郎	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特許第7198460号	取得年 2022年	国内・外国の別 国内

〔その他〕

運動が生物時計の階層構造に与える影響を解明  
<https://www.hokudai.ac.jp/news/2023/02/post-1189.html>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------