

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：13901
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2020～2022
課題番号：20H02930
研究課題名（和文）生物時計の臓器間クロストークの時間栄養学による協調的同調を介した健康体質の確立

研究課題名（英文）Coordinated synchronization of inter-organ crosstalk of biological clock for health constitution

研究代表者
小田 裕昭（Oda, Hiroaki）
名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：20204208
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では肝臓時計や他の臓器の時計がどのように、同調、制御されるかについて検討し、その臓器間のクロストークについて検討してきた。これまで、インスリンが肝臓時計を同調する強い因子であることを明らかにしてきた。インスリンと同様にリズムの位相に違いが見られた遊離脂肪酸や胆汁酸が同調因子候補となることがわかった。筋肉の時計も摂食タイミングにより、筋肉量が制御されることが明らかとなった。インスリンの同調作用のズレが、肝臓や筋肉の恒常性に異常をきたし、摂食タイミングが臓器間の生物時計のクロストークを介して、メタボリックシンドロームやロコモティブシンドロームに影響を与えることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

国民健康・栄養調査から、エネルギー摂取が減っているにもかかわらず、肥満やメタボリックシンドロームが増加している。また健康寿命の延伸ができない状況において、ロコモティブシンドロームも大きな問題である。その原因は食事因子だけではなく、食スタイルの変化も原因と推定されてきた。本研究で、主にインスリンを介して、摂食タイミングが正常な体内時計のクロストークを可能にすることを示した。本研究は、摂食タイミングが、肝臓時計をはじめとする臓器時計のクロストークを通して、メタボリックシンドロームやロコモティブシンドロームを予防することが可能であることを示した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we have examined how the liver clock and the clocks of other organs are synchronized and regulated, and have examined the crosstalk between these organs. We have shown that insulin is a strong factor in synchronizing the liver clock. Free fatty acids and bile acids were found to be candidates for entrainment factors, as were insulin, for which differences in the phase of the rhythm were observed. The muscle clock was also found to be regulated by the timing of food intake and muscle mass. Misalignment of insulin entrainment caused abnormalities in liver and muscle homeostasis, and feeding timing was found to influence metabolic syndrome and locomotive syndrome via biological clock crosstalk between organs.

研究分野：時間栄養学

キーワード：時間栄養学 生物時計 健康体質 肝臓時計 筋肉時計 皮膚時計

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

規則正しい食生活は、健康によいとされている。「何を」どれだけ食べるかは、重要な課題であるが、「いつ」食べるかなどについて、分子生物学的研究は十分にされていない。一方、時間生物学により時計遺伝子が発見されて、すべての細胞が概日リズムを持つことがわかり、時計遺伝子の改変動物で代謝異常が見いだされた。私達は不規則な摂食タイミングだけで肝臓時計が乱れ代謝異常が起きることを世界で初めて示した(Circ. Res. 2009)。また、朝食欠食モデルでは、脳時計も食事に同調することを明らかにした(PLOS ONE 2018)。さらに、生活不活動モデルにおいて筋肉時計が乱れ、これが肝臓脂性代謝を変動させることを見出し、各臓器が生物時計のクロストークを介して、協調的に同調していることを明らかにした。さらに、私達は、「いつ」食べるかが、代謝制御因子として重要であることを示し、この同調メカニズムの一つがインスリンであることを突き止めた(Sci.Rep. 2012)。一方、高スクロース食による脂肪肝が、教科書の説明とは全く異なり、小腸時計を変化させ、肝臓の代謝のリズム変化によることを明らかにした(J.Biol. Chem. 2019, Chronobiol. Int. 2019)。このことは、各臓器時計のクロストークが重要であることを示している。

2. 研究の目的

国民健康・栄養調査から、エネルギー摂取が減っているにもかかわらず、肥満やメタボリックシンドロームが増加している。また健康寿命の延伸ができない状況において、ロコモティブシンドロームが大きな問題としてクローズアップされてきた。その原因は食事因子ではなく、食スタイルの変化と推定されてきた。私達は朝食欠食など不規則な食事のタイミングに生物時計は臓器間クロストークの健康に与える重要性に注目した。その影響は限定的だと考えられてきたが、私達の研究や米国の研究は、摂食タイミングは、肝臓時計と代謝のキー制御因子であることを示し、生活習慣病を予防できる可能性を現実的なものとした。しかし、まだ分子メカニズムが十分に証明されておらず、本研究で明らかにする。シフトワーカーや社会で活躍している人は仕事柄不規則な生活をせざるを得なく、生活が乱れ、睡眠障害や代謝異常を持っている。仮設住宅に住む人など不活動症候群では、筋肉の萎縮だけでなく代謝異常・睡眠障害が起きる。これは脳-肝臓-筋肉の臓器間時計クロストークの破たんが様々な不健康の源であることを示している。申請者は複数の新規動物モデル（夜食症候群、不活動症候群、寝たきり、朝食欠食）を考案してきたので、このモデルを使いどのようにして臓器間の時計がクロストークをして、協調的に同調するのかを明らかにする。

各臓器の時計が協調的に同調することが全身の健康を意味するが、個体の時計を押し量ることが難しい。本研究では、皮膚が体外に露出する最大の臓器であり、ビタミン欠乏などは先ず皮膚に表れるように、「体調・体質の窓」であることを利用する。皮膚時計と他の臓器時計とのク

ロストークを明らかにして、体内時計の「見える」化を試みる。

3. 研究の方法

朝食欠食モデル動物

不規則な食生活としてヒトでよく見られる朝食欠食を取り上げた。朝食を食べたほうが良いのか、食べない方が良いのか議論があるため、実験動物で明らかにすることを目的とした。ラットは暗期に食餌を食べるが、4時間食餌のタイミングを遅らせる給餌プロトコルを考えた。摂食期間も重要な因子であることが知られているので、12時間とした。実験期間は2週間とし、実験最終日に4時間おきに7点で解剖を行った。血中脂質を測定し肝臓RNAを抽出してリアルタイムPCR法によりmRNAを測定した。

これまで高脂肪食で実験を行ってきたが、今回は高コレステロール食、高スクロース食を摂取したラットで検討した。

さらに、マウスでも同様な実験を行った。マウスでは、普通食を与えた。4時間食餌のタイミングを遅らせるが、給餌を終わる時間は同じとした。

皮膚時計の変化に関する研究

皮膚は体を覆う臓器として、内部環境の恒常性の維持や外部環境の情報を内部に伝える役割をしている。私達は、皮膚は体の中を見ることができる窓と考えて、皮膚を調べることによって体の中を推測できるのではと考えた。また、皮膚はヒトにとって「生活の質」を感じる重要な臓器でもある。今回は、入浴が皮膚時計を同調させるか検討した。マイルドな高脂肪食を与え、10日間、毎日10分間40度もしくは42度の恒温槽に実験者が軽く支えて温水刺激を行った。時間はZT10とした。実験終了後、肝臓、皮膚、脂肪組織を採取し、RNAを抽出してリアルタイムPCR法によりmRNA量を測定した。

4. 研究成果

朝食欠食モデル動物

①高コレステロール食を摂取させた場合

朝食欠食群でラットの体重は変化しなかったが、肝臓に脂肪が溜まっていた。体温は、対照群では活動期に上昇し、休息期に低下するが、朝食欠食群では体温の上昇は活動期から4時間も遅れ、低下は休息期から1時間のみ遅れていた。血中コルチコステロン濃度は変化が見られなかったが、インスリン濃度は朝食欠食群でピークの後退が見られた。血中胆汁酸濃度のリズムにも変化は見られなかった。朝食欠食では、脂質代謝関連遺伝子が朝食欠食群で位相の後退が見られたが、時計遺伝子の後退は僅かであった。したがって、脂質代謝関連遺伝子の朝食欠食による後退は、時計遺伝子の後退を介するものではなかった。以上の結果から、朝食欠食は、代謝リズム

ムの異常を誘導し、脂肪肝を形成させてメタボリックシンドロームにつながることを示唆された。

②高スクロース食を摂取させた場合

朝食欠食群でラットの体重増加量が大きくなった。体温は、対照群では活動期に上昇し、休息期に低下するが、朝食欠食群では体温の上昇は活動期から4時間も遅れ、低下は休息期から1時間のみ遅れていた。血中コルチコステロン濃度は変化が見られなかったが、インスリン濃度は朝食欠食群でピークの後退が見られた。血中胆汁酸濃度のリズムにも変化は見られなかった。朝食欠食では、脂質代謝関連遺伝子が朝食欠食群で位相の後退が見られたが、時計遺伝子の後退は僅かであった。胆汁酸濃度のピークがずれなかった今回の実験においても脂質代謝関連遺伝子の朝食欠食による後退は、時計遺伝子の後退を介するものではなかった。以上の結果から、朝食欠食は、代謝リズムの異常を誘導し、体重増加さらにはメタボリックシンドロームにつながることを示唆された。

③普通食を摂取したマウスの場合

朝食欠食群でマウスの体重増加量が大きくなった。さらに後肢の筋肉が低下していた。体温は、対照群では活動期に上昇し、休息期に低下するが、朝食欠食群では体温の上昇は活動期から4時間遅れていた。血中コルチコステロン濃度は変化が見られなかったが、インスリン濃度は朝食欠食群でピークの後退が見られた。肝臓の時計遺伝子、脂質代謝関連遺伝子が朝食欠食群で位相の後退が見られた。これが体重増加の原因であろうと推測した。筋肉では、時計遺伝子の位相が後退していた。筋肉タンパク質の分解系が促進していたが分化系も亢進していた。この変化が筋肉重量の低下を導いたと考えた。以上の結果から、朝食欠食は、代謝リズムの異常を誘導し、体重増加をもたらすだけでなく筋肉量を低下させることが明らかとなった。したがって、朝食欠食はメタボリックシンドロームだけでなくロコモティブシンドロームにつながることを示唆された。

皮膚時計の変化に関する研究

マイルドな高脂肪食をラット与え、10日間、毎日10分間40度もしくは42度の恒温槽に実験者が軽く支えて温水刺激を行った。このとき、血中コルチコステロンの上昇は見られず、ラットにとってストレスにはなっていないことが推測された。温水刺激により体重増加が抑制される傾向が見られた。脂肪組織重量の低下が見られ、特に皮下脂肪で顕著であった。皮膚の時計は前進していた。また、皮膚の保水成分に関する遺伝子群や、皮膚のしなやかさに関連する遺伝子群のリズムの同調並びに亢進が見られた。肝臓の時計遺伝子に変化は見られなかった。温水刺激という入浴に近い実験を行い、入浴という文化的な習慣が皮膚時計を同調させて、皮下脂肪を低下させる作用があることがわかった。さらに、皮膚の状態を良好に保つ遺伝子群にも変化が見られ、皮膚時計の同調が良い効果を持つことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kim, D., Hanzawa, F., Sun, S., Laurent, T., Ikeda, S., Umeki, M., Mochizuki, S. and Oda, H.	4. 巻 8
2. 論文標題 Delayed meal timing, a breakfast skipping model, increased hepatic lipid accumulation and adipose tissue weight by disintegrating circadian oscillation in rats fed a high-cholesterol diet.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Nutrition	6. 最初と最後の頁 681436
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnut.2021.681436	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 該当する
1. 著者名 Shumin Sun, Yuki Araki, Fumiaki Hanzawa, Miki Umeki, Takaaki Kojima, Naomichi Nishimura, Saiko Ikeda, Satoshi Mochizuki, Hiroaki Oda	4. 巻 93
2. 論文標題 High sucrose diet-induced dysbiosis of gut microbiota promotes fatty liver and hyperlipidemia in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Biochemistry	6. 最初と最後の頁 108621
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jnutbio.2021.108621	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 該当する
1. 著者名 Kiryama, K., Yamamoto, M., Kim, D., Sun, S., Yamamoto, H. and Oda, H.	4. 巻 128
2. 論文標題 Skipping breakfast regimen induces an increase in body weight and a decrease in muscle weight with a shifted circadian rhythm in peripheral tissues of mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 British Journal of Nutrition	6. 最初と最後の頁 2308-2319
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1017/S0007114522000356	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 該当する
1. 著者名 Kim, D., Hanzawa, F., Shimizu, H., Sun, S., Umeki, M., Ikeda, S., Mochizuki, S. and Oda, H.	4. 巻 111
2. 論文標題 Delayed feeding of a high-sucrose diet led to increased body weight by affecting the circadian rhythm of body temperature and hepatic lipid-metabolism genes in rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Biochemistry	6. 最初と最後の頁 109185
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jnutbio.2022.109185	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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