

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K02627

研究課題名（和文）夜型生活リズムを有する幼児の時計遺伝子タイプ特性と、身体活動によるリズム是正

研究課題名（英文）Clock genotype characteristics of preschool children and regulation of circadian rhythm by physical activity

研究代表者

小泉 佳右 (KOIZUMI, Keisuke)

千葉大学・大学院国際学術研究院・准教授

研究者番号：20425359

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：生活リズム形成の背景には、行動および環境要因に加えて、遺伝的な要因も含まれており、多面的に検証することが求められる。本研究では、生活リズムの評価指標として、睡眠特性や、体温や唾液マーカーなどの指標を位置付け、幼児における生活リズムの評価指標が、身体活動特性や遺伝的要因とどのように関係するか調査した。

その結果、夕方幼稚園降園後の歩数が少ないと起床時の体温が低いことや、身体活動量の確保には標準的な就寝および起床時刻と関連性があり、遅寝遅起き型などは身体活動量の高値とは結び付かないことが考えられた。また、睡眠習慣形成には、両親の睡眠習慣が関与するとともに遺伝的な要因も影響する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

適切な身体活動量を確保することにより、生体の概日リズムに好意的な影響をもたらすことが示唆された。特に、夕方の身体活動実践は生理的な概日リズム調整に有効である可能性が考えられ、保育や教育現場における夕方の運動の重要性について提案する根拠となりうる。一方で、標準とは異なる生活リズムは、身体活動量が高値を示さなかった。また、両親の睡眠習慣も幼児の生活リズム形成に影響を与えていることが示唆され、家庭全体での健康的な生活習慣づくりへの取り組みが有用であるといえる。遺伝的要因に関してはさらなる大規模な研究が必要ではあるものの、個々の遺伝的特性に沿った支援が今後求められる可能性があるといえる。

研究成果の概要（英文）： Understanding life rhythm formation requires examining a multifaceted background that includes genetic, behavioral, and environmental factors. In this study, we positioned sleep characteristics and physiological indices such as body temperature and saliva markers as indices for evaluating life rhythm. How these indices relate to physical activity characteristics and genetic factors in preschool children was investigated.

The results suggest that a low number of steps taken after kindergarten drop-off in the evening is associated with lower body temperature upon awakening and that standard bedtime and waking time are related to the amount of physical activity, while late sleeping and late waking are not associated with high levels of physical activity. In addition, the parents' sleep habits may be involved in the formation of sleep habits, and genetic factors may also be influential.

研究分野：運動生理学、スポーツ科学、ライフサイエンス

キーワード：クロノタイプ メラトニン コルチゾール 歩数 代謝当量

## 1. 研究開始当初の背景

幼児期は、生涯にわたる生活習慣を確立する時期であり、規則正しい生活リズムを形成することはとても重要であるといえる。しかしながら、生活リズムが夜型で、体温などの日内変動指標の位相に「ずれ」がある子供の存在が問題となっている。

近年、遺伝子解析が進み、日内変動に関与する遺伝子、いわゆる「時計遺伝子」の影響がわかってきた。OPN4 は光の感受性 (Roeklein et al., 2009) に、PER3 は概日リズム形成 (Hida et al., 2014) に関与することが知られている。これらの時計遺伝子発現の個体差は、個人の日周志向性 (クロノタイプ) に大きな影響を与えており、クロノタイプは双生児研究の結果から約 50% は遺伝子の要因により決定されていると考えられている (Barclay et al., 2013)。一方で、米国の高校生を対象とした研究では、始業時刻を遅らせることで睡眠時刻の延長や眠気および意欲の改善につながったと報告されている (Boergers et al., 2014)。このように、遺伝子レベルでのクロノタイプは個人の生活リズムに大きな影響を与えており、生涯にわたる生活リズム形成の基礎を培う時期である幼児期においては、遺伝子クロノタイプを把握したうえで対策を施すことが重要であると考えられる。

また一方で、身体活動などの行動要因も、生活リズム形成に影響をもたらすことが知られている。これまでに本申請者は、概日リズム変動を示す生理指標であるコルチゾールやメラトニンの唾液中 1 時間分泌量が、歩数やエネルギー消費量との間に有意な相関関係を認めたと (小泉, 2018)。中島ら (2011) は、小学校 3~5 年生を対象とした調査で、男子の起床時体温が低い群において、座位行動時間に含まれるインターネットおよび携帯電話使用時間が長いうえで、就床時刻が遅く睡眠時間が短いことを示した。これらのことから、身体活動などの行動特性が生理的な概日リズム形成に影響を及ぼすことも考えられる。

## 2. 研究の目的

上述したように生活リズム形成の背景の理解には、行動および環境要因に加えて、遺伝的な要因を含んだ、多面的な背景を検証することが求められる。また、身体活動が生活リズム形成にどのように影響をもたらすのかを知ることは、身体活動による生活リズム是正の効果の輪郭を明らかにするために有益であるといえる。

本研究では、生活リズムの評価指標として、睡眠特性や、体温や唾液マーカーなどの生理的指標を位置付けて、調査を進めることとした。まず、時間帯別の身体活動特性が、体温変動に及ぼす影響について調査することを目的とした。次に、身体活動量と睡眠特性との関係性について調査することを目的とした。このような調査から、夜型の生活リズムを有する幼児の生活特性を、特に身体活動の面から検証した。そのうえで、本人が有する遺伝的因子の分析も調査内容に含めた実験を実施し、遺伝的要因による生活リズムの影響および行動および環境要因が生活リズムに与えている効果について検証することを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究は、5 つの研究により構成された。まず、研究 1 では、幼稚園年長児 (幼児) を対象として、時間帯別の身体活動に着目し、起床時の体温の高低との関係性について調査した。研究 2 では、幼児の生活リズムを、身体活動量、睡眠、遊びの時間および食事時刻から包括的に調査した。研究 3 では、幼児の遺伝子分析用の唾液の検体採取法について、スワブによる口腔細胞の採取および流涎による唾液採取の双方の方法から検討し、より良い分析方法を調査した。研究 4 では、研究 3 で調査した手法を用いて、幼児の概日リズム形成や光の感受性に関わる遺伝子の一塩基多型の違いが、睡眠特性、時間ごとの身体活動量および概日リズムを示す唾液マーカーに与える影響について調査することを目的とした。研究 5 では、幼児とその保護者を対象にしたデータを使用して、幼児の睡眠、身体活動、遺伝子タイプおよび両親の生活特性が、幼児の生活リズム形成に与える因子について分析した。

## 4. 研究成果

### 研究 1 幼児の時間帯別身体活動特性と起床時体温および体温変動特性との関係

本研究は、起床時体温低値児における日内体温変動、身体活動および心臓自律神経機能の特性を調査することを目的とした。77 名の幼稚園年長児の起床直後の体温を集計して平均および標準偏差を算出し、平均から 1 標準偏差減じた値よりも低い対象者を起床時体温低値群とした。体温は起床直後、登園直後、昼食直前、夕食直前および就寝直前の 5 回計測した。

1 日の体温変動を調査したところ、起床時体温低値群は、比較対照群よりも、起床直後、夕食直前および就寝直前で体温が有意に低かった。また、各群 8 名ずつを抽出して追跡調査を実施したところ、起床時体温低値群は降園後の歩数が有意に少なく、掌握運動中の心臓副交感神経機能が有意に低値であった。幼稚園年長児の降園後の過ごし方は体温変動に影響を与える可能性が示唆された。

なおこの研究は、千葉体育学研究第 42 号に掲載された。

## 研究2 幼児の身体活動量と就寝起床時刻との関係性

本研究は、幼児の生活リズムを、睡眠、身体活動量、遊びの時間および食事時刻から包括的に調査することを目的とした。対象者は幼稚園の年長児 73 名であった。睡眠は起床時刻、就寝時刻および睡眠時間を、身体活動量は歩数および中高強度活動時間を、小型活動量計を用いて測定した。外遊びおよび室内遊び時間と朝食および夕食開始時刻は質問紙調査とし、保護者が記録した。登園日と休日の睡眠関連指標、身体活動関連指標および各食事開始時刻を変数に投入し、階層クラスター分析によって 4 群に分類した。4 群間の比較は Kruskal-Wallis 検定を用い、多重比較検定は Dann-Bonferroni 法を用いた。

その結果、幼児の睡眠は「遅寝遅起き型」、「短時間睡眠型」、「早寝早起き型」および「標準型」に分類された。「遅寝遅起き型」は、就寝時刻は 22 時以降、起床時刻は 7 時半以降であり、登園日では就寝時刻、起床時刻ともに他の 3 群と比較して有意に遅かった。「短時間睡眠型」は睡眠時間が 8 時間台であり、他の群が 9 時間台であるのと比較して有意に短く、休日では「早寝早起き型」との間に有意差が確認された。「早寝早起き型」は登園日、休日ともに朝食および夕食開始時刻が早かった。しかし、休日の歩数および中高強度活動時間は「標準型」より有意に低かった。「標準型」は、就寝時刻は 21 時台、起床時刻は 7 時台であった。また登園日、休日ともに歩数も中高強度活動時間も最も高い数値を示し、特に休日では他の 3 群と比較して有意に高かった。登園日、休日ともに歩数も中高強度活動時間も最も高い数値を示したのは「標準型」であった。

なおこの研究は、日本体育・スポーツ・健康学会第 71 回大会にて学会発表された。

## 研究3 幼児を対象とした遺伝子一塩基多型分析の検体採取方法論の検討

幼児を対象とした遺伝子分析をする際には、生体に負担のかからない手法でサンプルを採取することが求められる。本研究では、遺伝子一塩基多型分析に使用する検体採取について、唾液サンプルを採取する方法について、スワブによる口腔細胞の採取法と、流涎による唾液採取法の双方を実施して分析し、分析に適しているかどうか調査した。スワブによる採取法は、8 名の幼稚園年長児を対象として実施した。DNA 抽出用のスワブを、頬の内側に押し当てて 1 分程度こすって採取した。採取したサンプルは、PCR 法によるジェノタイピングを実施した。

その結果、PER3 の多型 rs228697 の分析は 8 名中 2 名、OPN4 の多型 rs1079610 の分析は 8 名中 3 名の一塩基多型分析が可能であり、残りの対象者の分析は不可であった。また、口腔内をスワブでこする際に、嫌悪感を感じる対象者もいた。一方で、流涎による唾液採取法では 18 名の幼稚園年長児を対象として実施した。唾液採取には、Oragene・DISCOVER (Genotek Inc, Ottawa, カナダ) を用いた。その結果、rs228697 と rs1079610 の双方ともに、18 名全員の分析が可能であった。本研究の結果から、幼児を対象とした遺伝子一塩基多型分析の検体採取方法として、専用採取キットを用いた流涎法が適切であることが示された。

## 研究4 幼児の概日リズムに關与する遺伝子タイプ特性が、睡眠、身体活動量および唾液マーカーに与える影響

本研究では、幼稚園年長児を対象にして、概日リズム形成や光の感受性に關わる遺伝子の一塩基多型の違いが、睡眠特性、時間ごとの身体活動量および概日リズムを示す唾液マーカーに与える影響について調査することを目的とした。幼稚園年長児 33 名を対象とした。研究 3 にて検証された手法を用いて採取された唾液サンプルを用いて、PCR 法によるジェノタイピングを実施した。また、起床直後および就寝直前の唾液中コルチゾール濃度測定を、ELISA 法により実施した。さらに、活動量計 (KSN-200 および MTN-221、アコース、飯田) を 1 週間腰に装着し、身体活動量および睡眠に關して定量的に測定した。測定結果は、専用のソフトウェア (Position Tool および SleepSign Act 2、いずれもキッセイコムテック、松本) を用いて分析した。

その結果、時計遺伝子である PER3 の多型 rs228697 においては、メジャー型 C/C は 30 名、マイナー型 C/G は 3 名であった。サンプル数が少ないものの、C/G 型においては C/C 型よりも、休日の活動エネルギー消費量が少なく、睡眠時間が長かった。また C/G 型は C/C 型よりも、休日における夕方 16 時台の歩数やエネルギー消費量が多かった。メラノプシン形成に關与する一塩基多型である rs1079610 においては、C アリルを含む C+型 (C/T 型および C/C 型の合計) は 12 名、T/T 型は 21 名であった。起床直後の唾液中コルチゾール濃度は、有意な差ではないもののいずれも T/T 型のほうが低い平均であった。幼児においても一塩基多型の違いが概日リズムや身体活動特性に変化を与える可能性があるため、生活リズム形成や身体活動量増加をねらいとした取り組みには、個体の特性を考慮した指導や支援をしていくことが望ましいと考えられた。

なおこの研究は、日本体育・スポーツ・健康学会第 74 回大会にて学会発表する予定である。

## 研究5 幼児の睡眠、身体活動、遺伝子タイプ、両親の生活特性が、生活リズム形成に与える影響

幼児とその保護者を対象にしたデータを使用して、幼児の睡眠、身体活動、遺伝子タイプ、両親の生活特性が、生活リズム形成に与える因子について分析した。幼稚園年長児 30 名とその両親

親のデータを使用した。データ収集の方法は研究4と同様であり、両親にも活動量計を装着することを依頼し、身体活動特性および睡眠を定量的に計測した。「本人の1日の歩数」、「本人の平日降園後の歩数」、「本人の平休日間の歩数の差」、「本人の就寝時刻」、「本人の起床時刻」、「本人の平休日間の就寝時刻の差」、「本人の平休日間の起床時刻の差」、「rs1079610」、「rs228697」、「父親の1日の歩数」、「父親の就寝時刻」、「父親の起床時刻」、「母親の1日の歩数」、「母親の就寝時刻」、「母親の起床時刻」を投入変数として、最尤法およびプロマックス回帰による因子分析を実施した。

その結果、5つの因子に分類された。第1因子は「本人の起床時刻」、「本人の就寝時刻」、「母親の就寝時刻」、「父親の起床時刻」、「父親の就寝時刻」および「rs1079610」で構成され、「家庭における睡眠習慣およびOPN4特性」と名付けた。第2因子は「本人の平休日間の起床時刻の差」および「本人の平休日間の就寝時刻の差」で構成され、「睡眠特性の平休日間の差」と名付けた。第3因子は「母親の1日の歩数」および「本人の1日の歩数」で構成され、「母子の身体活動特性」と名付けた。第4因子は「父親の歩数」、「本人の平休日間の歩数の差」および「rs228697」で構成され、「父親の身体活動への関わりとPER3特性」と名付けた。第5因子は「母親の起床時刻」および「本人の平日降園後の歩数」で構成され、「降園後の過程での過ごし方」と名付けた。以上のことから、家庭での睡眠習慣は生活リズムを検討するうえで1つの因子としてまとめて捉えることができること、また生活リズム形成にOPN4が関与する可能性があること、母子間の身体活動量には関係性があること、父親の活動は平休日間の幼児の活動量の増減に影響を与える可能性があること、などが考えられた。

## まとめ

研究1では、平日16時台の歩数が少ないことと起床時の体温が低いことに関連が考えられた。このことから、夕方に身体活動を実施することは、生理的な概日リズムを整えるうえで有益であることが示唆された。研究2では、登園日および休日ともに、歩数も中高強度活動時間も、「標準型」が「遅寝遅起き型」、「短時間睡眠型」および「早寝早起き型」よりも高い数値を示した。このことから、身体活動量の確保と標準的な時刻での就寝および起床との間に関連性があること、遅寝遅起き型を含む標準とは異なる生活リズムは身体活動量の高値とは結び付かないことが考えられた。

そのうえで、遺伝的な要因との関係性を調査した。検体数が少ないため、統計学的な妥当性が不十分な点があるものの、研究4において、時計遺伝子であるPER3の多型rs228697においては、C/G型においてはC/C型よりも、休日の活動エネルギー消費量が少なく、睡眠時間が長かった。またC/G型はC/C型よりも、休日における夕方16時台の歩数やエネルギー消費量が多かった。OPN4の多型であるrs1079610においては、T/T型のほうがC+型よりも、起床直後の唾液中コルチゾール濃度が、有意な差ではないもののいずれも低い平均であった。また、研究5において、幼児の睡眠習慣形成には、両親の睡眠習慣が関与するとともに遺伝的な要因も影響する可能性が考えられた。

これらの調査結果をまとめて検討すると、幼児の生活リズム形成においては、夕方の身体活動の実施および家庭全体での睡眠習慣が大きな影響を与えているものと考えられる。一方で、本研究の課題実施期間中にCOVID-19感染拡大による活動制限が求められたため、実験実施には制限が生じた。遺伝子タイプ特性については、一定の傾向は求められたものの、サンプルサイズの問題が残り、有意な成果は認められなかった。今後はより大きなサンプルサイズで実施をすることによって、遺伝的な影響に関するより明白な知見が導き出されるものと考えられる。

## <引用文献>

- Barclay NL, et al. (2013) Monozygotic twin differences in nonshared environmental factors associated with chronotype. *J Biol Rhythms*, 28: 51-61.
- Boergers J, et al. (2014) Later school start time is associated with improved sleep and daytime functioning in adolescents. *J Dev Behav Pediatr*, 35: 11-17.
- Hida A, et al. (2014) Screening of clock gene polymorphisms demonstrates association of a PER3 polymorphism with morningness-eveningness preference and circadian rhythm sleep disorder. *Sci Rep*, 4: 6309.
- 小泉佳右 (2018) 幼児の身体活動量、唾液中コルチゾールおよび心臓自律神経機能との関係. *J Phys Fitness Sports Med*, 7: 396.
- 中島綾子ら (2011) 小学生における体温の実態と生活の関連. *発育発達研究*, 51: 81-91.
- Roeklein KA, et al. (2009) A missense variant (P10L) of the melanopsin (Opn4) gene is associated with seasonal affective disorder. *J Affect Disord*, 114: 279-285

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 小泉 佳右、真鍋 求、安藤 啓	4. 巻 42
2. 論文標題 起床時体温が低い幼稚園児の体温変動特性と降園後身体活動量	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 千葉体育学研究 = Chiba Journal of Physical Education	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.20776/S09138137-42-P1	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 窪谷 珠江、小泉 佳右
2. 発表標題 幼稚園年長児の就寝起床時刻と身体活動量との関係性
3. 学会等名 日本体育・スポーツ健康学会第71回大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 小泉 佳右	4. 発行年 2022年
2. 出版社 三恵社	5. 総ページ数 65
3. 書名 改訂子どもと健康 - 発育と生理機能 -	

1. 著者名 小泉 佳右	4. 発行年 2023年
2. 出版社 三恵社	5. 総ページ数 83
3. 書名 三訂スポーツ・健康科学ノート	

〔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
研究 分担者	安藤 啓  (ANDO Aki ra)  (30867916)	独立行政法人日本スポーツ振興センター国立スポーツ科学センター・スポーツ科学部・契約職員   (82632)	
研究 分担者	窪谷 珠江  (KUBONOYA Tamae)  (90611658)	植草学園大学・保健医療学部・助手   (32527)	2020年4月～2022年3月

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