

機関番号：82111

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21700778

研究課題名（和文）

食品による体内時計制御とそのメカニズムの解明

研究課題名（英文）

Effects of food components on circadian rhythms

研究代表者

大池 秀明（OIKE HIDEAKI）

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所食品機能研究領域・研究員

研究者番号：30455307

研究成果の概要（和文）：本研究は、食品による体内時計の制御とそのメカニズムの解明を目的とした。まず、カフェイン溶液の飲用により、マウスの中枢体内時計が伸長し、肝臓の末梢体内時計が後退することを明らかにした。続いて、栄養素による肝臓体内時計のリセットには、グルコースとアミノ酸の両者が必要であることを示し、その応答に *Per2*, *Dec1* といった時計遺伝子が関与することを明らかにした。最後に、高食塩食による末梢体内時計の前進には、小腸に発現する食塩依存性グルコーストランスポーターである *Sglt1* が関与することを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：I examined effects of food components on circadian rhythms in mice. First, I revealed that caffeine intake lengthens circadian locomotor activities in mice, and also that caffeine intake delays circadian clock in the liver. Second, I clarified that the liver clock requires both glucose and amino acids to be entrained by food in mice, and *Per2* and *Dec1* clock genes play an important role in the food entrainment. Finally, I found that a sodium dependent glucose transporter *Sglt1* is indispensable in advance of peripheral clocks by consuming high-salt diet in mice.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：体内時計、時間栄養学、食品、サーカディアンリズム、時計遺伝子、カフェイン

1. 研究開始当初の背景

地球上の多くの生物は、約 24 時間周期からなる体内時計“サーカディアンリズム”を有している。ヒトにおいてこのリズムの乱れは、睡眠障害に始まり、肥満、がん、心筋梗塞などのリスクを高める。

この 10 年あまりで、哺乳類の時計遺伝子が

次々と同定され、分子メカニズムの解明が飛躍的に進展した。それと同時に、サーカディアンリズムは、肝臓や心臓、皮膚などのほとんどの末梢組織にも存在することが明らかになった。これらのリズムは光や食事によって毎日補正されているが、末梢の体内時計は食事によって強く補正されることが明らかになってきた。

しかしながら、これまでに具体的な食品や食事成分とサーカディアンリズムの関係について検討した報告はほとんど存在しない。

2. 研究の目的

本研究は、食事や食品成分の摂取が体内時計に与える影響およびそのメカニズムを解明することを目的とした。将来的には、この成果が生活習慣病を予防するための食事や食品開発、並びに規則正しい食生活の見直しにつながることを目指している。

3. 研究の方法

(1) カフェインがマウスの行動リズムに与える影響

12時間明暗条件下および恒暗条件下で飼育しているマウスに、水、コーヒー、カフェインレスコーヒー、0.04%、0.08%カフェイン溶液を1週間飲用させ、活動リズムを赤外線センサーにより計測し、解析した。

(2) カフェインがマウスの末梢体内時計に与える影響

時計遺伝子の1つであるPer2にホタルの発光酵素であるルシフェラーゼを融合させた遺伝子を有するマウス (Per2-luc マウス) を利用し、12時間の明暗条件下で、水あるいは0.04%カフェイン溶液を1週間飲用させた後、肝臓の体内時計の位相を解析した。

(3) 食品摂取と体内時計を結ぶ分子経路の解明

18時計遺伝子を含む206遺伝子を搭載したカスタムマイクロアレイを使用し、24時間の絶食後に8時間の給餌を行い、給餌シグナルによって変動する肝臓の遺伝子発現を解析した。

また、絶食後に、糖液、アミノ酸液、あるいはその組み合わせ溶液を腹腔投与し、1時間後の時計遺伝子の発現をリアルタイムPCRにより定量し、マイクロアレイの結果と比較検討した。

(4) 高食塩食による末梢体内時計の前進機構

小腸に発現する3種類のグルコーストランスポーター (Glt2, Glt5, Sglt1) について、4%高食塩食の摂取によりその発現量が変化するかどうかをリアルタイムPCRにより定量解析した。また、SGLT1の阻害剤であるフロリジンにより、高食塩食による末梢時計の前進が阻害されるかを検討した。

4. 研究成果

(1) カフェインがマウスの行動リズムに与える影響

体内時計によって制御される最も顕著なリズムが睡眠覚醒リズムである。12時間の明暗

条件下では、カフェイン飲用による活動リズムへの影響は観察されなかったが、恒暗条件に移行すると、カフェイン飲用群の行動周期長が有意に伸長した (図1)。この結果から、カフェインは視交叉上核に存在する中枢時計に作用し、その周期長を伸長させたと考えられる。

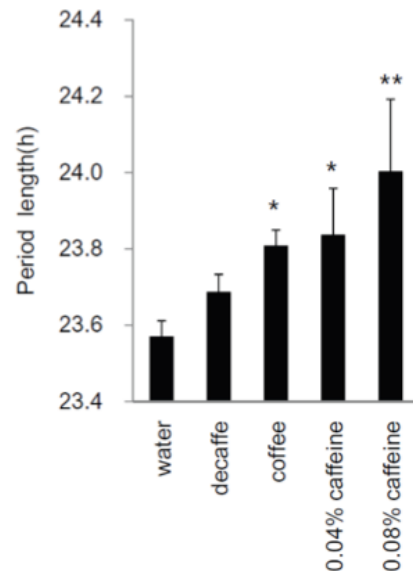


図1 カフェインによるマウス行動周期の伸長

(2) カフェインがマウスの末梢体内時計に与える影響

体内時計は中枢のみならず、各末梢臓器にも存在している。水を摂取させたコントロール群と比較して、カフェイン溶液摂取群では、1時間程度のリズム位相の後退が確認された (図2)。明暗条件下において、カフェインは活動リズムに影響を与えないという結果と合わせると、カフェインは、肝臓の体内時計に直接働きかけ、そのリズム位相を後退させたと考えられる。

(3) 食品摂取と体内時計を結ぶ分子経路の解明

マイクロアレイの結果から、再給餌直後に時計遺伝子のうちPer2、Dec1の発現が一過的に上昇することを見いだした。さらに、食餌の代わりに栄養液を投与しても、同様の遺伝子発現応答が起こることを確認し、さらに、Per1、Dec2、Rev-erbaといった他の時計遺伝子も応答することを明らかにした。最後に、糖とアミノ酸の混合溶液が、再給餌あるいは栄養液投与と同様の遺伝子発現応答を示すことを示した (図3)。以上の結果から、再給餌による肝臓末梢時計の変化には、糖とアミノ酸の

組み合わせがシグナルとなり、Per2 や Dec1 といった時計遺伝子の一過的発現上昇が関わることを明らかにした。

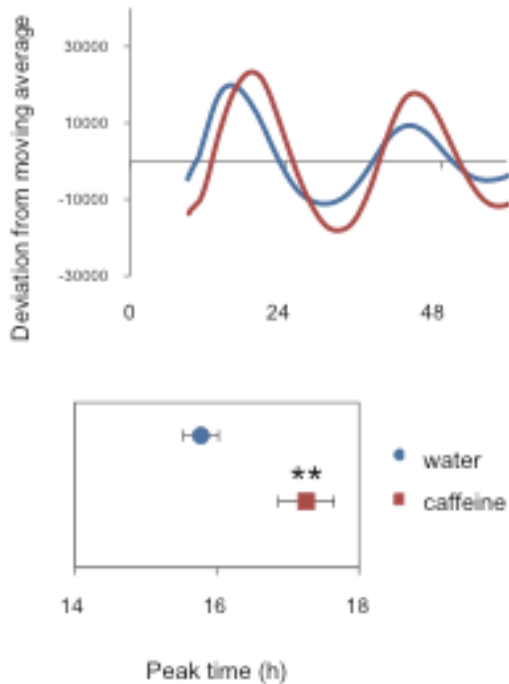


図2 カフェインによる肝臓時計位相の後退

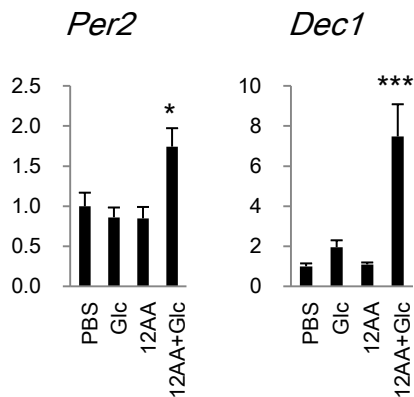


図3 アミノ酸+グルコース液の腹腔投与による時計遺伝子 Per2, Dec1 の発現応答

(4)高食塩食による末梢体内時計の前進機構
われわれの以前の研究により、高食塩食が末梢体内時計を前進させることが明らかになっている。

高食塩食の摂取により肝臓の体内時計が前進するのに先立ち、小腸のグルコーストランスポーター (Glt2, Sglt1) の発現が有意に上昇することを突き止めた。この高食塩食による発現上昇は、SGLT1 の阻害剤であるフロリ

ジンによって抑制され、さらに高食塩食による肝臓の体内時計前進作用も抑制された。以上の結果から、高食塩食の摂取による末梢体内時計の前進には、SGLT1 による糖吸収が関与することが明らかになった。

これまで特定の食品成分が体内時計に影響を与えるという報告例はほとんどなく、摂取する食品によって体内時計が変化するという新しい概念を証明することに成功した。特にカフェインや食塩のように恒常的に摂取する食品成分が体内時計に影響を与えているという結果から、われわれの体内時計は想像以上に食品の影響を受けている可能性が示唆された。また、末梢体内時計のリセットに関わる栄養因子や関連遺伝子を明らかにし報告した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Oike H, Nagai K, Fukushima T, Ishida N, Kobori M. High-salt diet advances molecular circadian rhythms in mouse peripheral tissues. *Biochem Biophys Res Commun.* 402, 7-13 (2010) 査読有

② Oike H, Kobori M, Suzuki T, Ishida N. Caffeine lengthens circadian rhythms in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* *in press* (2011) 査読有

[学会発表] (計 4 件)

① Hideaki Oike, Norio Ishida, Masuko Kobori. High-salt diet advances the peripheral clock in mouse kidney. *International Symposium on Biological Rhythm*, Sapporo, Aug, 2009

② Hideaki Oike, Masuko Kobori. High-salt diet advances the peripheral clocks in mice. *UJNR Food and Agricultural Panel 38th Annual Meeting*, Tsukuba, Oct, 2009

③ 大池秀明, 小堀真珠子. 高食塩食によるマウスの末梢体内時計の前進. *ASRS, JSSR, JSC Joint Congress 2009*, Osaka, Oct, 2009

④ 大池秀明, 小堀真珠子. 食品成分がマウスの体内時計に与える影響の解析. *日本農芸化学会 2010 年度大会*, 東京,

2010年3月

〔図書〕(計2件)

① 大池秀明. 食品による体内時計の調節、ソフト・ドリンク技術資料(全国清涼飲料工業会)、158(2):49-61(2009)

② 大池秀明. 体内時計と食べ物との関係、農業技術(農業技術協会)、65(7):41-45(2010)

〔その他〕

① 大池秀明. 体内時計ダイエット、栄養科学トピックス(ネスレ栄養科学会議HP)(2010)

ホームページ:

<http://www.nfri.affrc.go.jp/guidance/soshiki/kenkyusya/hooike.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大池 秀明 (OIKE HIDEAKI)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品総合研究所食品機能研究領域・研究員

研究者番号: 30455307