

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K11606

研究課題名(和文) 不規則な生活の科学的理解と実践的な時間健康科学の確立

研究課題名(英文) Establishment of the chrono-health science by understanding irregular life style

研究代表者

田原 優 (Tahara, Yu)

広島大学・医系科学研究科(医)・准教授

研究者番号：80707399

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：不規則な生活モデルマウスの作成を、明暗を毎日少しずつ変えることで作成し、その周期性も3日、7日、14日と分けることで、不規則さをシステムティックに解析する系を整えた。行動リズムでは、3日周期の不規則な変化には追いつくことが難しく、一方で14日周期には追いつくことができることを確認した。様々な光条件で飼育したマウスの体温を解析し、明暗の変化と、中枢時計(行動リズム)、末梢時計(深部体温リズム)のそれぞれの間で起こる時差ボケ状態の数値化に成功した。その結果、3日おきに明暗を変化させることで、最も生体内における時差ボケが大きくなることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

概日時計を健康に保つことは、予防医学として重要であり、また健康寿命延伸にも繋がる。概日時計は24時間ピッタリではなく、環境因子(光、食事、運動)により時刻調節を日々行う。しかし、普段の生活では朝昼夕と食事を摂り、通勤・通学を運動と捉えれば朝、夕2回の活動ピークが来るゆらぎを持った入力となる。これら実生活における環境入力は複雑であり、いかに相互作用し、概日時計の時刻を調節し、時に時差ボケを引き起こすのかは、まだよく分かっていない。本研究結果は、普段起こり得る不規則さに焦点をあてた新規課題であり、時差ボケを数値化できる可能性を示したことは社会的にみても有用である。

研究成果の概要(英文)：We created the irregular lifestyle model mice by slightly changing the light-dark cycle daily, and by dividing the periodicity into 3, 7, and 14 days, we established a system to systematically analyze irregularity. Regarding behavioral rhythms, it was confirmed that it is difficult for the mice to keep up with the irregular changes of the 3-day cycle, while they can keep up with the 14-day cycle. We analyzed the body temperature of mice kept under various light conditions and successfully quantified the state of jet lag between the central clock (behavioral rhythm) and the peripheral clock (deep body temperature rhythm) due to changes in the light-dark cycle. As a result, it was found that changing the light-dark cycle every three days causes the greatest jet lag within the body.

研究分野：時間生物学

キーワード：概日時計

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

時計遺伝子により駆動される概日時計は、様々な生理機能の制御に関わり、概日時計の乱れが生活習慣病などの疾患の発症・悪化をもたらす。概日時計を健康に保つことは、予防医学として重要であり、また健康寿命延伸にも繋がる。概日時計は24時間ピッタリではなく、環境因子(光、食事、運動)により時刻調節を日々行う。環境因子はタイミングにより時刻調節能が異なり、例えば朝の光や朝ご飯、朝の運動は概日時計の時刻を早め、夜遅い時刻の光や食事、運動は反対に遅らせる効果をもたらす。しかし、普段の生活では朝昼夕と食事を摂り、通勤・通学を運動と捉えれば朝、夕2回の活動ピークが来るゆらぎを持った入力となる。これら実生活における環境入力は複雑であり、いかに相互作用し、概日時計の時刻を調節し、時に時差ボケを引き起こすのかは、まだよく分かっていない。便利で忙しい24時間社会に生きる我々は、完璧に規則正しい生活ができない。このような生活リズムの「揺らぎ」の許容範囲を答える基礎研究は皆無に等しい。シフトワークを模した動物実験はあるが、「不規則な生活」を模したモデル動物は未開拓である。

2. 研究の目的

本研究では、ウェットとドライ研究を融合したシステムバイオロジーにより、実生活における環境因子入力とそれに対する概日時計応答のさらなる理解を目指すことを目的とした。新規に哺乳類の概日時計を模した数理モデルを構築し、環境因子に対する応答をシステムティックに評価した。さらに、ウェアラブルデバイス、アプリの普及により蓄積されたヒト大規模データから、リバーストランスレショナリ研究を推進し、新規に作成した不規則な生活モデルマウスを用いて、上述の「不規則な生活」の科学的な理解を目指した。これまで言われてきた、「規則正しい生活をしましょう」を越える、「体内時計管理のもっと実践的な提案」ができるような仕組み作りを目指した。

3. 研究の方法

本研究では10週齢のICR系雄性マウス(東京実験動物株式会社,日本)を用い、室温 22 ± 2 、湿度 $60\pm 5\%$ 、明暗サイクル12h:12hの条件で飼育した。なお、明期開始時刻を8:00としZeitgeber time 0(ZT0)とした。また、暗期開始時刻を20:00としZT12とした。すべての実験において食餌と水の両方は自由摂取とした。不規則な明暗シフトは2週間で1セットとなるように作成し、マウスの活動期である暗期の長さは12時間で一定とし、マウスの休眠期である明期の開始時刻における標準偏差が約2時間に設定した。不規則な明暗シフトは3日(T3)、7日(T7)、14日(T14)おきに明暗パターンが変化するものをそれぞれ用意した。また、これまでに汎用されてきた時差ボケモデルマウスとして、6時間の明暗前進を1週間おきに行うグループも用意した。

計測は、赤外線センサーによる活動リズムの計測、温度データロガー『サーモクロン SL タイプ』(KN Laboratories,日本)を用いた深部体温計測をメインに使用した。

それぞれの明暗環境で飼育した後に、リポ多糖(LPS)(Wako,日本)20mg/kgを腹腔内投与することによる敗血症モデルにて、明暗環境変化の影響を評価した。また、6時間おきに臓器を採取し、リアルタイムRT-PCRにより、時計遺伝子発現リズムの変化を調べた。

4. 研究成果

実験結果 1

4週間の不規則な生活の影響について調べるために体温変化に注目した。行動リズムは、Normal LD群と比較してIrregular shift群では明期開始時の体温ピークが小さくなり、タイミングにもばらつきが生じていることが分かった。一方、暗期開始時では体温ピークに差は見られなかった。このことから、不規則な生活を模倣した明暗環境には同調できていない可能性が示唆された。次に、不規則な生活4週間後にLPS(20mg/kg)を投与し、その後7日間の体温変化を計測した。LPS投与後3日間においてNormal LD群とIrregular shift群の両方で体温低下が見られ、その後回復していった。この際に、Irregular shift群において体温低下が強まっている様子が確認できた。また、Normal LD群と比較してIrregular shift群の体温においてバラツキが大きいのことが分かった。また、生存曲線において有意な差は見られなかった。肝臓では炎症マーカー、抗炎症マーカー、時計遺伝子の発現量において有意な差は見られなかった。このことから、不規則な生活では末梢時計の発現量を変化させるほどの影響はない可能性が示唆された。脾臓においても炎症マーカー、抗炎症マーカーの発現量で有意な差は見られなかった。

実験結果 2

不規則な生活の影響がどのようにして生じているのか調べるために、異なる周期のシフトを用いて実験を行った。アクトグラムより、周期が長いT14群では明暗条件と非常に類似したリズムが生み出されている中、周期の短いT3群では明暗条件とは類似しておらず、ピーク等も小さくなっていた。T7群ではある程度同調は見られるものの、明暗条件が前進している部分には

同調しにくいということが分かった。このことから周期の長いT14、T7、T3という順で明暗環境に同調できている可能性が示唆された。

次に各シフト開始から4週間後にLPS投与し、その後の体温変化を調べた。T3群において少し体温低下が強まっており、T7群とT14群とも異なる体温変動がみられた。生存曲線においては、T14群の生存率が一番高くなっており、T3群の生存率が最も低かった。

さらに体温と明暗条件のミスマッチ度を計算した。体温データよりボトム位相の検出を行い、光応答によるラグの算出をすることで各シフトのミスマッチ度を求めた。T3、T7、T14群のミスマッチ度はNormal LD群と比較して有意に異なっていた。また、ミスマッチ度には $T3 > T7 > T14$ という関係性があり、周期の短いシフトほど体温リズムとのズレが大きくなっていった。

中枢時計、末梢時計を模した数理モデルを作成し、光入力の変化に、それぞれの時計がどう応答するのかをシミュレーションできるようになった。また、末梢時計には細胞(振動体)を沢山設定することで、細胞間のバラツキ(同調具合)も評価の対象に入れられる系を確立できた。本研究で行った明暗環境について、シミュレーションを行った結果、同じミスマッチ度を計算すると、T3のグループで大きくなることが分かった。つまり、緩やかに明暗がシフトする場合に比べ、毎日大きく明暗が変化する方が、概日時計の同調が追いつかず、外部環境との時差ボケ、さらには中枢時計 末梢時計間の時差ボケが起こりやすいことが示された。動物実験からもT3でLPS応答の影響が大きかったことから、このミスマッチ度を計算することが、時差ボケの指標となる可能性を示すことができた。

実験結果3

古典的な時差ボケモデルマウスを用いて、腸内細菌叢の影響を調べた。また、輪回しの有無による違いについても調べた。4週間飼育後のLPS投与では、6hradv群において最も強い反応が見られ、6hradv+wheel群ではNormal LD群と比較して差が見られなかった。よって、輪回しは時差ボケの影響を緩和する可能性を示すことができた。

次に、6hradv群から糞便を採取し、移植液を作成し、通常飼育したマウスへ腸内細菌叢を移植(FMT)した。FMT Normal LD群ではあまり体温低下が見られなかった一方で、FMT Normal LD+wheel群とFMT 6hradv群では体温低下する傾向が見られた。この結果は上述の実験結果と類似しており、LPS投与の影響に腸内細菌叢が関わっている可能性が示唆された。さらに、移植前の腸内細菌叢についても調べた結果、多様性で群間に差が見られ、かつBacteroidetesとTenericutesは6時間前進シフトによって相対存在量が有意に増加していた。Edaphobacter、Sediminibacterium、Lactococcus、Desulfovibrioでは6時間前進シフトによって相対存在量が有意に減少していた。一方、Odoribacter、Alistipes、Butyrivimonas、Streptococcus、Coprococcus、Oscillospira、Ruminococcusでは6時間前進シフトによって相対存在量が有意に増加していた。

まとめ

本研究から、新規に不規則な明暗環境で飼育する条件を確立した。さらに、明暗と深部体温データの比較、数理モデルとの比較から、明暗環境と概日時計のミスマッチ度をシミュレーションすることで、時差ボケを数値化して予想できるようになった。特に14日おきに明暗がバラつくよりも、3日おきに大きく明暗がバラつく場合に、より時差ボケが大きく、免疫応答への影響も大きくなることが分かった。さらに、輪回し運動が時差ボケの影響を抑えること、時差ボケによる腸内細菌叢の変化が免疫応答変化に関与している可能性を示すことができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 SHIGA Kazuto, HARAGUCHI Atsushi, SASAKI Hiroyuki, TAHARA Yu, ORIHARA Kanami, SHIBATA Shigenobu	4. 巻 42
2. 論文標題 Effect of circadian clock and claudin regulations on inulin-induced calcium absorption in the mouse intestinal tract	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Bioscience of Microbiota, Food and Health	6. 最初と最後の頁 114 ~ 123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12938/bmfh.2022-029	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 Haraguchi Atsushi, Saito Keisuke, Tahara Yu, Shibata Shigenobu	4. 巻 60
2. 論文標題 Polygalae Radix shortens the circadian period through activation of the CaMKII pathway	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharmaceutical Biology	6. 最初と最後の頁 690 ~ 699
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13880209.2022.2048863	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 Tahara Yu, Qian Jingyi, Oike Hideaki, Escobar Carolina	4. 巻 10
2. 論文標題 Editorial: The present and future of chrono-nutrition studies	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Nutrition	6. 最初と最後の頁 2165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnut.2023.1183320	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 Tahara Yu, Makino Saneyuki, Suiko Takahiko, Nagamori Yuki, Iwai Takao, Aono Megumi, Shibata Shigenobu	4. 巻 13
2. 論文標題 Association between Irregular Meal Timing and the Mental Health of Japanese Workers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2775 ~ 2775
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu13082775	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 Tahara Yu, Shinto Takae, Inoue Kosuke, Roshanmehr Farnaz, Ito Akito, Michie Mikiko, Shibata Shigenobu	4. 巻 45
2. 論文標題 Changes in sleep phase and body weight of mobile health App users during COVID-19 mild lockdown in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Obesity	6. 最初と最後の頁 2277 ~ 2280
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41366-021-00890-7	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 Aoyama Shinya, Kim Hyeon-Ki, Hirooka Rina, Tanaka Mizuho, Shimoda Takeru, Chijiki Hanako, Kojima Shuichi, Sasaki Keisuke, Takahashi Kengo, Makino Saneyuki, Takizawa Miku, Takahashi Masaki, Tahara Yu, Shimba Shigeki, Shinohara Kazuyuki, Shibata Shigenobu	4. 巻 36
2. 論文標題 Distribution of dietary protein intake in daily meals influences skeletal muscle hypertrophy via the muscle clock	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 109336 ~ 109336
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.109336	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 Fujita Hajime, Yamagishi Kento, Zhou Wenshen, Tahara Yu, Huang Shao Ying, Hashimoto Michinao, Fujie Toshinori	4. 巻 9
2. 論文標題 Design and fabrication of a flexible glucose sensing platform toward rapid battery-free detection of hyperglycaemia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Materials Chemistry C	6. 最初と最後の頁 7336 ~ 7344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1TC00667C	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 Imamura Momoko, Sasaki Hiroyuki, Shinto Takae, Tahara Yu, Makino Saneyuki, Kuwahara Mai, Tada Ayako, Abe Nanako, Michie Mikiko, Shibata Shigenobu	4. 巻 9
2. 論文標題 Association Between Na, K, and Lipid Intake in Each Meal and Blood Pressure	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Nutrition	6. 最初と最後の頁 853118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnut.2022.853118	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 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 田原優
2. 発表標題 食事管理アプリを用いた時間栄養学研究
3. 学会等名 第76回日本栄養・食糧学会大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田原優
2. 発表標題 Food-log app-based chrono-nutritional survey and intervention reveal effective information on weight loss and sleep
3. 学会等名 ICN国際栄養学会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田原優
2. 発表標題 緊急事態宣言下の生活リズム変化と体重変化の相関
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田原優
2. 発表標題 体内金属と時間栄養
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2021（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹松遼人、田原優、伊藤章人、柴田重信
2. 発表標題 不規則な生活下におけるマウスの睡眠脳波解析
3. 学会等名 第28回日本時間生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 ライアン弧音、田原優、原口敦嗣、上原佑樹、對馬千沙都、二階堂隆人、柴田重信
2. 発表標題 ノビレチンの概日時計に及ぼす影響の摂取時刻依存性
3. 学会等名 第28回日本時間生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤章人、田原優、竹松遼人、高口信二、柴田重信
2. 発表標題 不規則な生活がマウスの概日時計と免疫機能に及ぼす影響
3. 学会等名 第28回日本時間生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田原優
2. 発表標題 時間栄養学
3. 学会等名 第42回日本肥満学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 神藤貴江、田原優、牧野真之、桑原麻衣、新田理恵、道江美貴子、柴田重信
2. 発表標題 朝昼夕のタンパク質摂取量及び摂取バランスと、身体活動量との関連
3. 学会等名 第8回日本時間栄養学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 新田理恵、田原優、神藤貴江、牧野真之、桑原麻衣、柴田重信、道江美貴子
2. 発表標題 成人女性のクロノタイプ別栄養摂取の傾向
3. 学会等名 第8回日本時間栄養学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 牧野真之、田原優
2. 発表標題 就労者における歯磨きの頻度と健康関連因子の相関
3. 学会等名 第28回日本時間生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柴田重信、田原優
2. 発表標題 個別化栄養学による体内時計と健康を考える
3. 学会等名 第28回日本時間生物学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 田原 優 (編著), 柴田 重信 (監修), 大池 秀明 (著), 楠瀬 直喜 (著), 駒田 陽子 (著), 中村 孝博 (著)	4. 発行年 2022年
2. 出版社 杏林書院	5. 総ページ数 180
3. 書名 Q&Aですらすらわかる体内時計応用法 リズム研究をどう社会に応用するか	

〔産業財産権〕

〔その他〕

Yu Tahara HP https://www.yutahara.com/ Yu Tahara HP https://www.yutahara.com/
--

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	高松 敦子 (Takamatsu Atsuko) (20322670)	早稲田大学・理工学術院・教授 (32689)	

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