

北海道大学医学部  
助教  
博士（医学）  
山仲 勇二郎  
共同研究者  
本間 研一  
橋本 聡子

2002年 国士舘大学体育学部卒業  
2004年 山梨大学大学院教育学研究科修士課程修了  
2008年 北海道大学大学院医学研究科博士課程修了  
2008年 北海道大学大学院医学研究科博士研究員  
2009年 北海道大学大学院医学研究科特任助教  
2010年 北海道大学医学部 助教（至現在）

---

## 食事制限がヒトの生体リズムおよびエネルギー代謝調節 に与える影響

---

### 1. 本研究の学術的背景および研究目的

ヒトの生理機能を長期間にわたり計測すると 24 時間を 1 周期とする概日リズムが観察される。概日リズムは生体内に備わった生物時計により駆動される。生物時計の中核は網膜から伸びた視神経が交叉する視床下部の直上に位置する視交叉上核と呼ばれる神経核に局在することが明らかにされているが、近年の生物発光技術を応用した分子生物学的研究により視交叉上核以外の肝臓や筋など全身の末梢組織にも時計遺伝子が発現し、自律振動する生物時計（末梢時計）が存在することが明らかになった。中枢時計である視交叉上核の役割は、外界の環境周期に同調し、外界の時刻情報を末梢時計に伝達し生理機能の時間的秩序を維持することにある。現在では、中枢時計である視交叉上核が昼夜変化という光情報を同調因子とするのに対し、末梢時計は食事や身体運動といった光以外の環境因子に同調することが報告されている。特に食事に対する末梢時計の同調機構についてはよく研究されている。マウスやラットなどの夜行性げっ歯類では、24 時間いつでも餌を摂取できる条件下では活動期である暗期に摂食行動がみられるが、摂食可能な時刻を昼間に限定する周期的制限給餌を行うと、制限された時間帯で摂食行動をとるようになるだけでなく、給餌時刻の数時間前から活動量や血中コルチコステロン濃度の上昇がみられる。そして、制限給餌から元の自由に摂取できる条件に移行しても摂食行動はただちに元に戻ることはなく制限給餌の影響が持続する。また、制限給餌に対する反応は、視交叉上核の支配から乖離して制限給餌に同調するだけでなく、視交叉上核を破壊した動物でも消失しないことから食事を同調因子とする生物時計（食事性概日振動体）の存在が想定されている。ヒトの睡眠覚醒、摂食行動も中枢時計である視交叉上核に支配されていると想定されるが、食事性概日振動体の存在についての実験的証拠は未だに得られていない。本研究の目的は、他の哺乳類で認められている食事時刻の制限による生理応答とその背後にある食事性概日振動体の存在をヒトにおいて証明することである。

生活習慣が多様化した現代では、生物時計の支配に逆らい昼夜を問わず活動する生活を強いられる者も多い。そして、活動にともなう食事のタイミングも多様化しつつあり、肥満や糖尿病に代表されるメタボリック症候群の原因のひとつとして睡眠障害や食習慣の乱れがあげられている。食事性概日振動体の同定

は、メタボリック症候群が単に生活リズムの乱れによるものではなく、中枢時計と末梢時計間の同調障害や末梢時計に関連した内分泌リズムの変化が原因となっている可能性がある。本研究は、メタボリック症候群の病態生理を理解するための学術的意義を持つだけでなく、最終的には研究成果に基づいた健康の維持増進のための食習慣を提言する社会的意義をもつ。

## 2. 研究方法

### (1) 実験プロトコル [ 図 1 ]

本研究は、成人男性被験者を対象に 28 泊 29 日の隔離実験を行った。実験開始 2 週間前より被験者の食事時刻、食事内容、就寝・起床時刻を記録した。実験期間中、被験者は外界の時刻情報から隔離された住居型実験施設で実験スケジュールに従って生活した。実験は、3 回の食事を決まった時刻(11 時、15 時、21 時)に提供する Baseline 期間(実験 1~3 日目)、1 日 1 回の食事を決まった時刻(11 時)に提供する食事制限期間(実験 4~17 日目)、食事時刻・回数を制限しないフリーラン期間(実験 18~24 日目)、Baseline 期間と同様に 1 日 3 回の食事を提供する Recovery 期間(実験 25~29 日目)の 4 つに区分される。実験期間中の睡眠時間は被験者自身が自由に決めることができる。Baseline および食事制限期間中、食事提供時刻の 1 時間前(10 時)に被験者が起床しない場合は、実験者がインターホンにより被験者を強制的に起床させた。

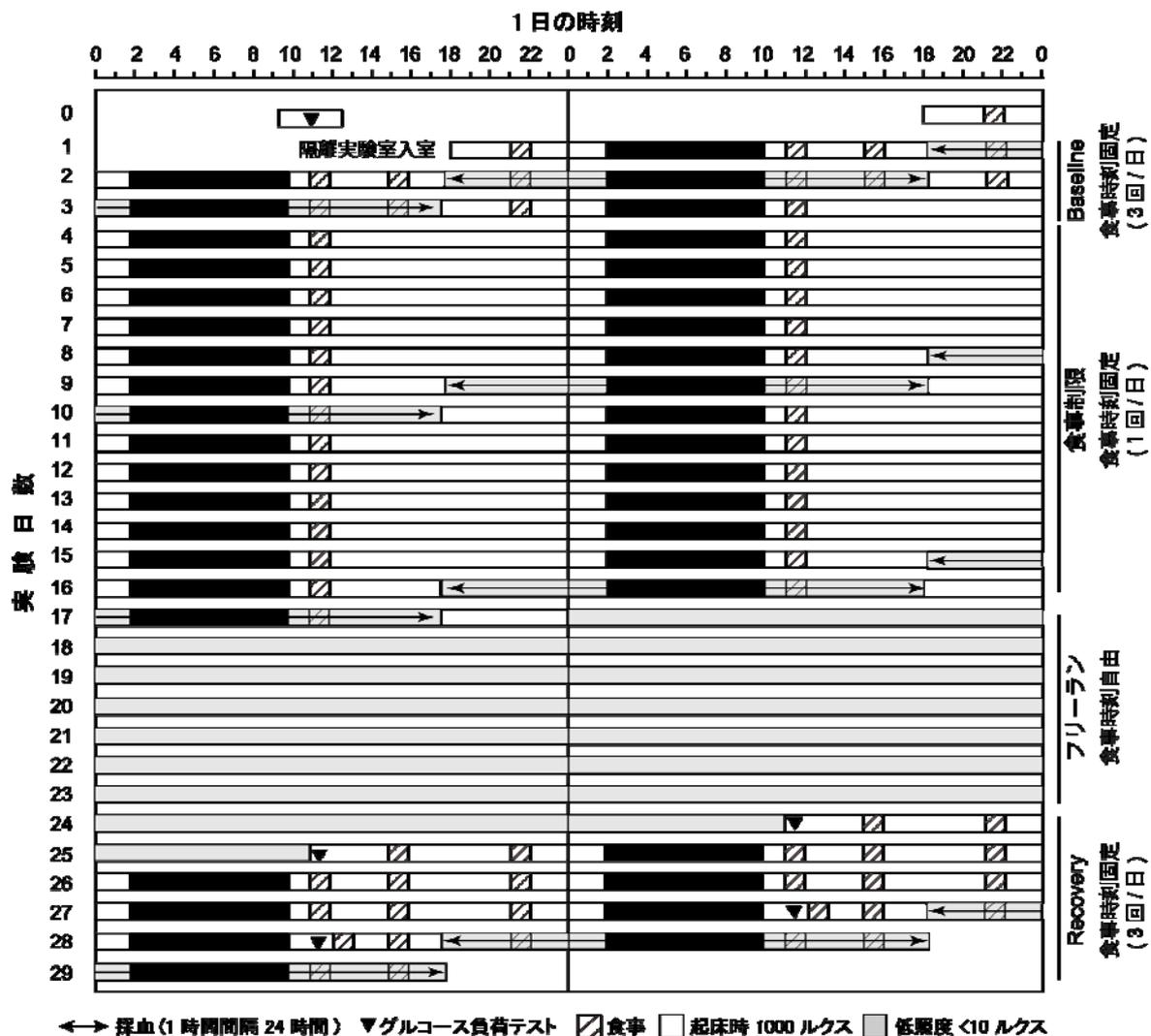


図 1 隔離実験室内での実験スケジュール

## (2) 実験方法

### ① 時間隔離実験室

昼夜変化や時刻情報から隔離された個室（約 24 m<sup>2</sup>/室） 4 部屋を使用する。室内の温度は 24±2°C、室内照明は天井に設置された白色蛍光灯より供給し、被験者の覚醒時の光照度は、**Baseline** 期間、食事制限期間、**Recovery** 期間は 1000 ルクス、フリーラン期間はヒト生物時計の光同調が困難な 10 ルクス未満とし、睡眠時は約 0 ルクスに設定した。

### ② 血中ホルモンリズム

前腕皮静脈にテフロン製の採血用留置カテーテルを挿入し、固定する。1 回の採血量は約 5ml である。採血は、実験 2~3 日目(**Baseline** 最終日)、実験 9~10 日目(食事制限 7 日目)、実験 16~17 日目(食事制限 14 日目)、実験 28~29 日目(**Recovery** 最終日) に、1 時間間隔で 24 時間にわたり行った。光によるメラトニン分泌抑制効果を取り除くため、採血中の光照度は 10 ルクス未満の低照度に設定した。採血後、直ちに冷却遠心機で血漿を分離し、-30°Cで冷凍保存した。分離した血漿中に含まれるメラトニン、コルチゾール濃度はラジオイムノアッセイ法、インスリン濃度は **ELISA** 法により定量し解析した。

### ③ グルコース負荷試験

食事制限がエネルギー代謝機能に与える影響を検討するため、本実験開始する前日、フリーラン最終日、**Recovery** 4 日目にグルコース負荷試験を行った。被験者は、グルコース負荷試験の 10 時間前より絶食とし、グルコース負荷は 50g グルコース溶液を摂取することにより行った。50g グルコース溶液を摂取する直前、摂取 30 分後、60 分後、120 分後に採血し、血糖値および血中インスリン濃度を測定した。

### ④ 睡眠覚醒リズム

実験開始 2 週間前から実験終了までの間、被験者の睡眠覚醒リズムを測定するため、腕時計型行動測定装置（アクチウォッチ）を被験者の非利き手に装着し、活動量を記録した。

### ③ データ解析

食事時刻の制限により、食事前に血中コルチゾールの上昇が出現にどうかにより食事性概日振動体が存在することを明らかにする。中枢時計の位相変化は、深部体温リズムの低温相、血中メラトニンリズムの位相を解析することで明らかにする。睡眠覚醒リズムの解析は、就寝位相を基準位相として解析に使用した。また、アクチウォッチを使用して測定した活動量をカイ自乗ペリオドグラム解析によりリズム周期を算出した。

## 3. 結果

### ① 血中コルチゾールリズム [ 図 2A ]

の血中コルチゾール濃度は、早朝起床時刻付近に最高値を示し、就寝時付近に最低値を示す明瞭な概日リズムがみられた。しかし、本実験では食事制限期間中の食事時刻前のコルチゾール濃度の上昇は認められなかった。

### ② 血中メラトニンリズム [ 図 2B ]

血中メラトニン濃度は、睡眠中に最高値を示し、覚醒時に最低値を示す明瞭な概日リズムがみられた。食事制限期間の最終日では、**Baseline** 期間に比べ血中メラトニンリズムの上昇位相は 2 時間位相後退した。

### ③ 睡眠覚醒リズム

**Baseline** 期間の被験者の就寝時刻は 0 時付近にあったが、食事制限期間へ移行したのち徐々に後退し食事制限 8 日目では 3 時間の後退が認められた。食事制限期間中の睡眠覚醒リズム周期は 24.2 時間、食事制限後のフリーラン期間の周期は 25.8 時間であった。

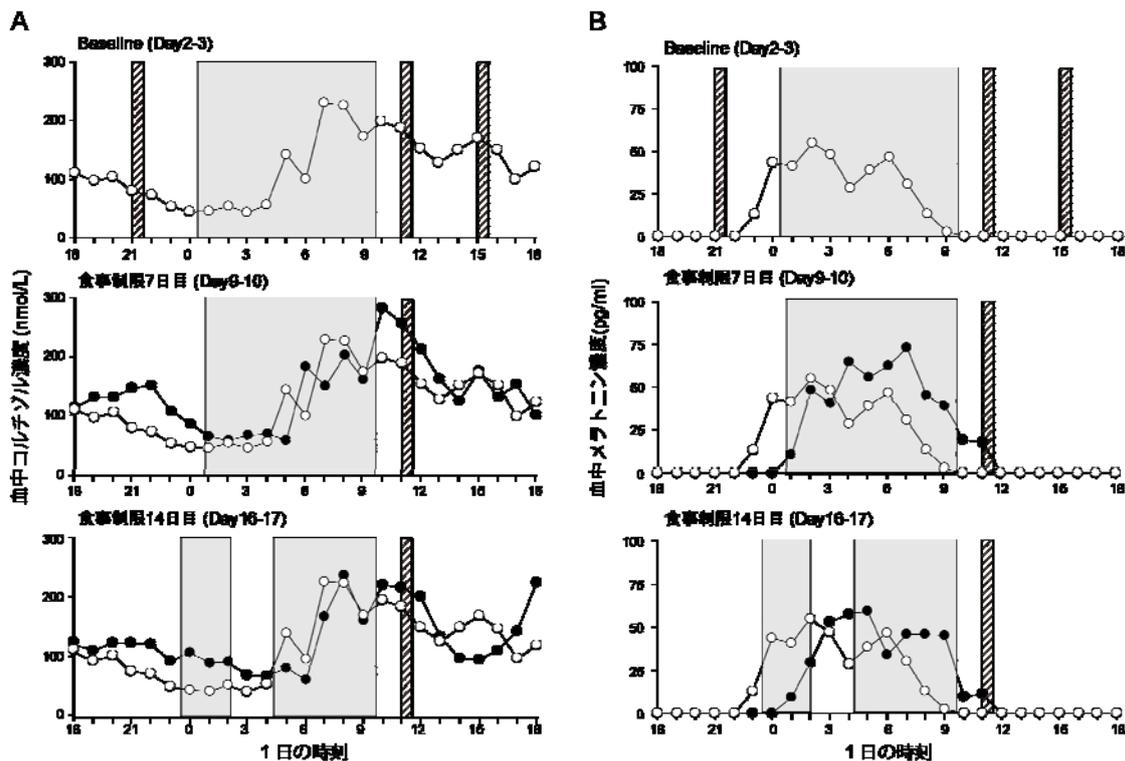


図2 血中コルチゾルリズム(A)、血中メラトニンリズム(B)の変化  
 図中の ▨ は食事の時刻、▭ は睡眠時間帯を示している

④ 50g グルコース負荷試験 [ 図 3 ]

実験開始前日に行ったグルコース負荷試験では、50g グルコース溶液摂取 30 分後に血糖値および血中インスリン濃度は最高値に達し、60 分後では 30 分後に比べ低下、120 分後には 60 分後からさらに低下し、前値に戻った。しかし、食事制限期間終了後のフリーラン期間最終日および Recovery 期間 4 日目では、50g グルコース溶液摂取 60 分後に血糖値および血中インスリン濃度が最高値に達し、120 分後には 60 分後に比べ低下した。

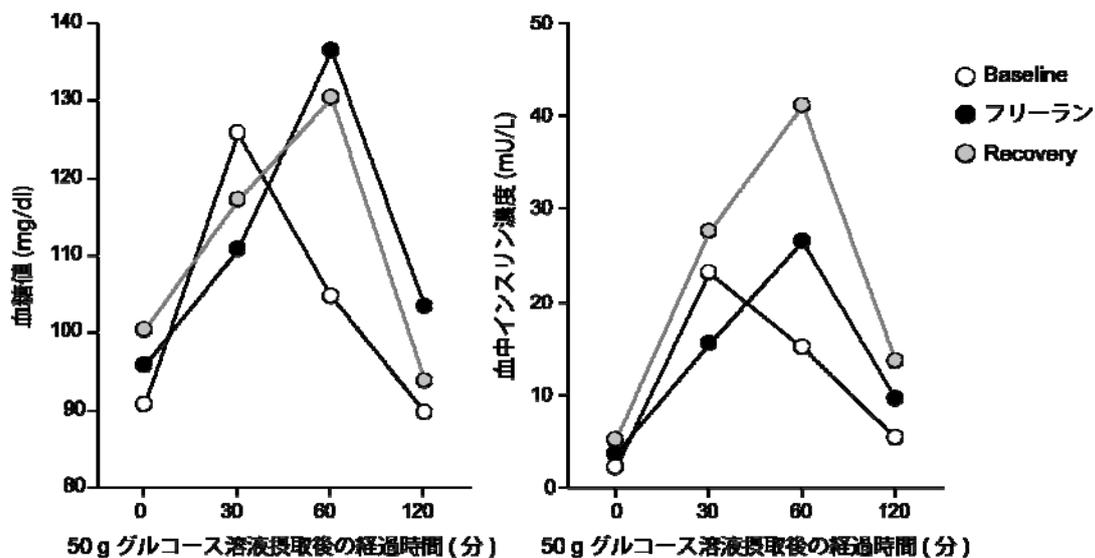


図3. 50g グルコース溶液摂取後の血糖値、血中インスリン濃度の変化

#### 4. 考察

本実験では、1名の被験者を対象に28泊29日の隔離実験を行い、ヒトの生体リズムにおいても夜行性げっ歯類で報告されている食事性概日振動体が存在するのかを検証した。

食事制限7日目および14日目のメラトニンおよびコルチゾールリズムはBaseline時に比較し、約2時間の位相後退が観察された。メラトニンおよびコルチゾールの概日リズムは、生物時計の中核である視交叉上核(中枢時計)の制御を受けており、両ホルモンリズムの位相後退は中枢時計が位相後退した結果であると推測される。

夜行性げっ歯類を対象とした先行研究では、動物の給餌を自由摂食から1日の一定時刻に制限する周期的制限給餌に変えると、給餌前にコルチコステロン、行動量などの増加(給餌前ピーク)が認められ、給餌前ピークが形成された際には、コルチコステロンの給餌前の上昇と中枢時計に制御される概日リズムピークの抑制がみられることが報告されている。また、給餌前ピークは視交叉上核を破壊した動物でも観察されることから給餌前ピークの形成には食事性概日振動体の存在が示唆されている。本研究では、食事前のコルチゾール濃度上昇の有無からヒトにおいても食事性概日振動体が存在する可能性を検証した。しかし、本実験の食事制限7日目および14日目の血中コルチゾールリズムの結果は、食事前の血中コルチゾールの上昇は認められなかった。あるいは、中枢時計に制御される概日リズムピークが位相後退したために食事前ピークと概日リズムピークが重複し、食事前ピークを判別することが困難となった可能性も考えられる。

本実験では、食事制限がエネルギー代謝機能に与える影響を検討するためグルコース負荷試験を行った。その結果、食事制限期間終了後では50gグルコース溶液摂取後の血糖値およびインスリン濃度の増加および最高値がみられるまでの時間が遅延した。この結果は、インスリンによる細胞内へグルコースを取り込みが低下したことが推測され、食事制限はインスリン抵抗性の増大(インスリン感受性の低下)を促進させることを推測させる結果であった。

#### 5. 結語

ヒトの概日リズムは、1日1食の厳密な食事スケジュール下であっても血中メラトニンリズム、睡眠覚醒リズムの同調を維持することができず、フリーランした。本実験では、ヒトにおいても食事性概日振動体が存在することを示唆する結果は得られなかった。今後の研究では、食事制限時の食事提供時刻をコルチゾールが低い昼間～夜間に設定し、概日リズムピークと食事前ピークを判別可能な実験条件下で食事性概日振動体の存在を追究していきたい。

#### 6. 謝辞

本実験は、平成24年度サッポロ生物科学振興財団研究助成および文部科学省科学研究費(No. 23390047)により実施された。