



東京医科大学
准教授
博士(人間科学)
駒田陽子
共同研究者
柴田重信, 原口敦嗣,
井上雄一, 碓氷章

1994年 早稲田大学第一文学部心理学専修卒業
1999年 早稲田大学大学院人間科学研究科生命
科学専攻前期博士課程 修了
2001年 日本学術振興会特別研究員
2002年 早稲田大学大学院人間科学研究科生命
科学専攻博士後期課程 修了
2008年 東京医科大学睡眠学講座講師
2010年 東京医科大学睡眠学講座准教授

ヒトの夜型摂食パターンが時計遺伝子発現に及ぼす影響

1. 本研究の学術的背景および研究目的

通常、健康的な生活では、私たちは朝食、昼食、夕食の3回の食事をおおよそ決まった時間にとり、夜の時間帯に眠る。しかし、生活習慣が多様化した現代社会では、不規則な活動にともなって睡眠や食事のタイミングが多様化し、このことが睡眠障害、肥満・糖尿病などのメタボリック症候群の一因となっている。ヒトを含む生物には、生体の時間秩序を司る体内時計の仕組みが備わっており、この時計の周期は24時間より長いいため、朝の光刺激が重要であるとされている。最近の研究では、食・栄養も体内時計の位相を変える作用を持ち、また一方で、体内時計が食・栄養の吸収や代謝に影響を及ぼすことがわかってきた。本研究の目的は、食・栄養の働きを体内時計遺伝子の働きと関連づけて調べる時間栄養学の立場から、夜型の生活パターンが生体リズムに及ぼす影響を、ヒトを対象として検討することである。

夜型の生活パターンのうち、眠る時間帯が慢性的に遅れ、睡眠時間帯を前進させることが困難な状態として、睡眠相後退障害 (delayed sleep-wake phase disorder, delayed sleep phase syndrome: DSPS) がある (The International Classification of Sleep Disorders 3rd: ICSD-3)。DSPS は、一般に思春期から青年期に発症することが多く、我が国で中高大学生約5千人を対象として行われた調査によると、その有病率は0.48%と推定されている (Hazama et al., 2008)。患者は早く眠ろうとして就床しても何時間も眠りにつくことができず、ある一定の時刻にならないと入眠できない。いったん入眠すると比較的安定した睡眠が得られ、遅い時刻まで起床できない。努力して無理に起床しても、生体リズムと睡眠覚醒スケジュールが脱同調しているた

め、日中の眠気や頭痛、倦怠感、抑うつ、集中力や作業能率の低下が生じる。また、睡眠時間帯の遅れのために定刻に登校・出勤できず、学業や社会生活に支障をきたすことが問題になる。

また夜型の生活パターンのうち、摂食の時間帯が遅れた病態として、夜間摂食症候群 (nocturnal eating syndrome: NES) がある (International Classification of Sleep Disorders 1st: ICSD-1)。NES は、1日の大半のエネルギーを夕食後に摂取するもので、夜いったん就床するものの1~3時間後に覚醒し、何か摂食しないと再入眠できないという特徴をもつ。NES は日中の摂食障害の一部として解釈されることが多く、病態の解釈や定義は未だ一定していない。

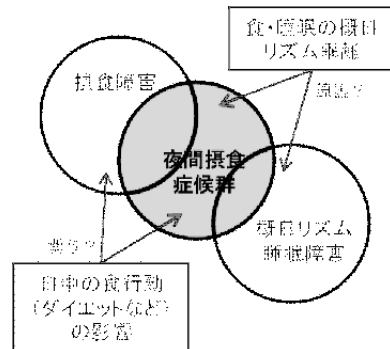


図1 疾患の連続性に関する概念図

NES に対する治療法として、DSPS 治療に広く用いられている高照度光療法 (早朝 30 分間 10,000lux 照射を 2 週間実施) によって NES 症状が改善した症例 (Friedman et al., 2002) やメラトニン MT1,2 アゴニストである agomelatine 投与が抑うつを伴う NES の改善に有効であった症例 (Milano et al., 2013) が報告されている。このことから、NES と DSPS の病態が連続性をもつ可能性も示唆される (図1)。

本研究では、睡眠専門外来を受診した NES 患者・DSPS 患者を対象として、概日リズムの特性、睡眠・食事の夜型パターンが時計遺伝子発現に及ぼす影響を検討することを目的とした。具体的には、体内時計の指向性を把握するために広く用いられている自記式調査票、朝型・夜型質問紙 (Morningness-Eveningness Questionnaire: MEQ, Horne et al., 1976; 石原他, 1986) を用いて、両疾患の夜型指向の程度を明らかにする。さらに髭の毛根にある毛包細胞から RNA を調製する方法を用いて *Nr1d1*, *Nr1d2*, *Per3* の 3 つの時計遺伝子の発現量推移を測定する。これにより、両疾患における体内時計の日内変動パターンを評価する。

2. 研究方法

(1) 被験者

睡眠総合ケアクリニック代々木を受診し確定診断を受けた、夜間摂食症候群 (NES) 5 名 (40.8 ± 8.3 歳)、睡眠相後退障害 (DSPS) 10 名を (33.8 ± 7.0 歳) 対象とした。また年齢性別をマッチさせた健康被験者 10 名 (38.3 ± 8.5 歳) を対照群とした。

(2) 方法

被験者には検体採取一週間前より最終検体採取後まで、食事時刻と睡眠に関する生活日誌を記入させた。検査一週間前に、自記式調査票への回答を求めた。用いた調査票は、朝型・夜型質問紙 (Morningness-Eveningness Questionnaire: MEQ)、睡眠の質を全般的に評価するピッツバーグ睡眠質問票 (Pittsburgh sleep quality index: PSQI)、Quality of Life を評価する SF8

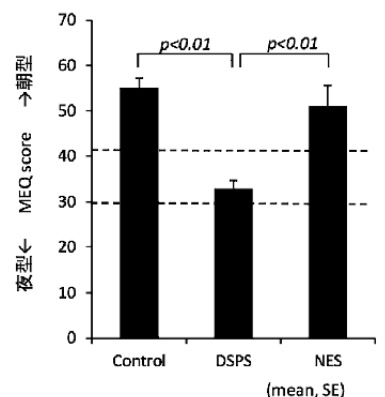
(Medial Outcome Study Short-Form 8-Item Health Survey) 抑うつ尺度である SDS(Self Depression Scale) 各食事の時間帯や食欲の程度、夕食後のカロリー摂取量など 14 項目で構成される NES 調査票 (Allison et al., 2008) であった。群間の比較は、分散分析と Bonferroni-Dunn の検定を用いた。

検体採取日は、6 時、10 時、14 時、18 時、22 時、翌 2 時の連続した 6 ポイントで、毛抜きを用いて毛根からあごひげを数本採取させた。採取した検体は、予め用意した 1.5mL チューブ中で RLT 溶液に溶解し、-20 度以下の冷凍庫で保存した。サンプルから RNA を抽出し TaqMan プローブ法を用いたリアルタイム PCR により時計遺伝子 (*Nr1d1*, *Nr1d2*, *Per3* の 3 種類) の mRNA 発現量を測定した。得られたデータから 3 つの時計遺伝子の日内変動のピーク時刻 (以降「位相」と表記する) と振幅幅を、コサイナーフィッティング法で算出した。

3. 結果

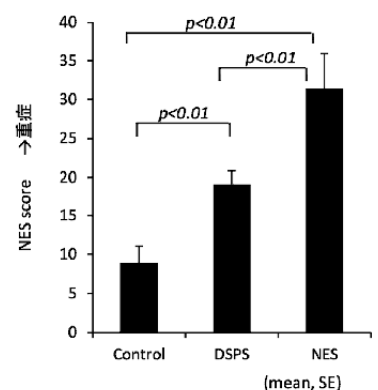
(1) 主観的朝型・夜型指向

MEQ 得点はコントロール群が 55.0 ± 6.9 点 (mean \pm SD)、DSPS 群が 33.0 ± 5.6 点、NES 群が 51.0 ± 10.1 点であった (図 2)。分散分析の結果、群間で有意差が認められ ($F(2,22) = 25.7$, $p < 0.0001$)、DSPS 群はコントロール群ならびに NES 群と比較して、有意に得点が低かった。コントロール群と NES 群の間に有意差は認められなかった。



(2) 夜間摂食

NES 得点は、コントロール群が 8.9 ± 4.4 点、DSPS 群が 19.1 ± 4.3 点、NES 群が 31.4 ± 8.3 点であった (図 3)。分散分析の結果、群間で有意差が認められ ($F(2,22) = 30.8$, $p < 0.0001$)、NES 群はコントロール群、DSPS 群に比べて、また DSPS 群はコントロール群に比べて、有意に NES 得点が高かった。



(3) 睡眠、日中機能、BMI

自記式調査票の各得点を表 1 に示す。

PSQI 総得点は、コントロール群に比べて DSPS 群、NES 群で有意に高値であった ($F(2,22) = 15.6$, $p < 0.0001$)。日中機能については、コントロール群に比べて DSPS 群、NES 群で SDS 得点が有意に高く ($F(2,22) = 11.7$, $p = 0.0003$)、MCS 得点が有意に低値であった ($F(2,22) = 6.6$, $p = 0.006$)。BMI は、NES 群がコントロール群・DSPS 群に比べて、有意に高かった ($F(2,22) = 9.3$, $p = 0.001$)。

図 3 夜間摂食得点の比較

表 1 各指標の得点と 3 群間の比較

	Control (C)		DSPS(D)		NES (N)		P value	Post hoc
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD		
Age	38.30	8.47	33.80	7.01	40.80	8.29	ns	
BMI	21.60	2.27	22.70	3.78	30.10	6.66	0.001	C,D<N
Sleep duration(week day)	6.42	0.88	8.55	1.80	7.15	3.04	0.049	C<D
Mid sleep time(week day)	3.41	1.02	5.98	1.03	4.41	2.44	0.002	C<D
Sleep duration(weekend)	7.30	0.92	10.35	2.25	9.10	2.30	0.005	C<D
Mid sleep time(weekend)	4.20	1.08	7.08	1.66	5.25	2.21	0.002	C,N<D
Social jetlag	0.79	0.63	1.10	1.11	0.84	1.07	ns	
MEQ score	55.00	6.88	33.00	5.60	51.00	10.15	<0.001	C,N>D
NES score	8.90	4.41	19.10	4.31	31.40	8.33	<0.001	C<D<N
PSQI total score	2.50	1.27	9.90	3.90	11.00	5.15	<0.001	C<D,N
C1 (sleep quality)	0.80	0.42	1.70	0.68	2.20	0.84	0.001	C<D,N
C2 (sleep onset latency)	0.00	0.00	2.50	1.08	1.40	1.52	<0.001	C<N<D
C3 (sleep duration)	1.20	0.63	0.70	0.82	1.60	1.14	ns	
C4 (sleep efficiency)	0.00	0.00	0.60	1.08	1.00	1.00	0.078	C<N
C5 (sleep disturbance)	0.30	0.48	0.70	0.48	1.20	0.45	0.008	C<N
C6 (use of sleep medications)	0.00	0.00	2.10	1.29	1.80	1.64	0.001	C<D,N
C7 (daytime dysfunction)	0.20	0.42	1.60	0.84	1.80	1.30	0.001	C<D,N
SDS score	30.80	5.49	45.00	7.70	42.60	7.44	0.001	C<D,N
PCS	54.32	2.56	50.05	4.54	47.90	8.44	0.051	C>N
MCS	51.31	2.78	38.91	9.70	42.11	10.30	0.006	C>D,N

BMI: Body Mass Index; MEQ: Morningness-Eveningness Questionnaire; NES: Night Eating Questionnaire; PSQI: Pittsburg Sleep Quality Index; SDS: Self Depression Scale; PCS: Physical Component Summary, MCS: Mental Component Summary

(4) 時計遺伝子

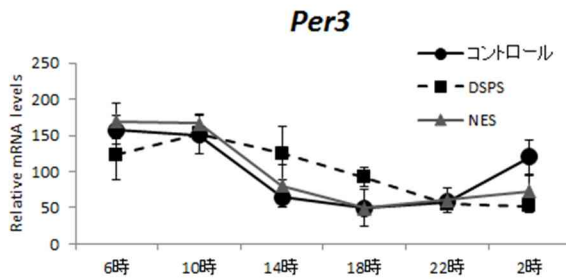


図 4 *Per3* の発現量推移

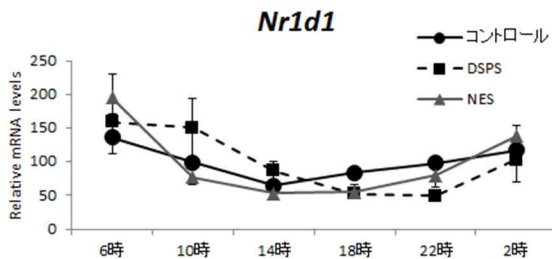


図 5 *Nr1d1* の発現量推移

図 4 は、*Per3* の発現量の推移を群別に示したものである。DSPS 群とコントロール群を 2 群比較すると、18 時と 2 時の発現量に有意差が認められた。

Nr1d1、*Nr1d2* 発現量推移を図 5、図 6 に示した。*Nr1d1* に関しては 3 群間に有意な差は認められなかった。*Nr1d2* 発現量は、コントロール群と DSPS 群で比較した場合、14 時の発現量に有意差が認められた。

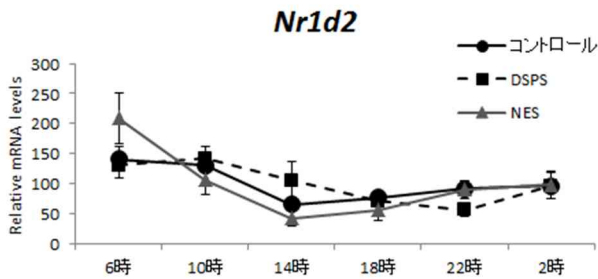


図 6 *Nr1d2* の発現量推移

3つの時計遺伝子の日内変動のピーク時刻(位相)を検討した(図7, 図8, 図9)。DSPS群はコントロール群に比して、*Per3*, *Nr1d1*の位相が有意に遅延していた。

3つの時計遺伝子の位相と、自記式調査票から得られたMEQ得点、NES得点、休日の睡眠中央値との相関を算出した。その結果、*Per3*の位相と休日の睡眠中央値との間に中程度の正の相関($r=0.46$, $p=0.07$)、*Per3*とMEQ得点との間に中程度の負の相関($r=-0.45$, $p=0.08$)がみられた。*Per3*とNES得点との間には有意な相関はなかった。

*Nr1d1*の位相と、休日の睡眠中央値、MEQ得点、NES得点との間に有意な相関は認められなかった。

*Nr1d2*の位相と、休日の睡眠中央値との間には中程度の正の相関を認めた($r=0.50$, $p=0.07$)。

4. 考察

本研究では、睡眠専門外来を受診したNES患者・DSPS患者を対象として、概日リズムの特性、睡眠・食事の夜型パターンが時計遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。

DSPS患者は、コントロール群およびNES患者に比べて、朝型夜型得点が有意に低く、夜型指向を示した。平日と休日の睡眠時間の中央値に関しても、DSPS群は、コントロール群およびNES患者に比較して有意に遅く、睡眠の時間帯が後退していることが確認された。

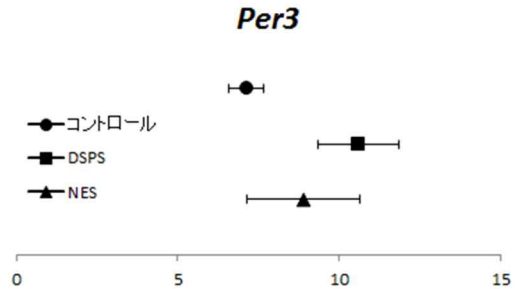


図 7 *Per3* の位相

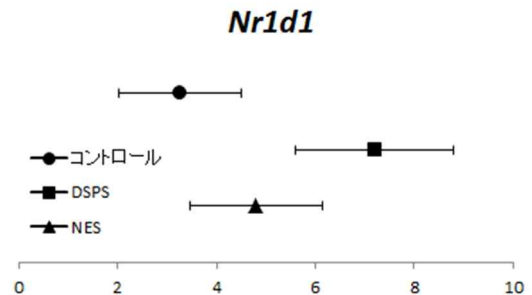


図 8 *Nr1d1* の位相

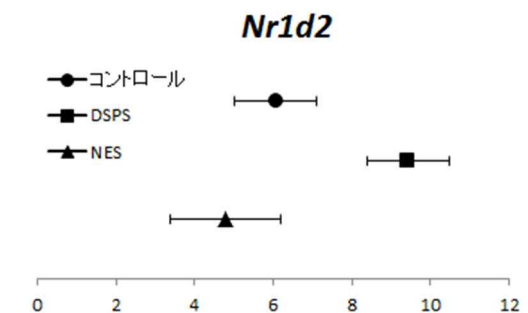


図 9 *Nr1d2* の位相

NES 群は、朝型夜型得点、睡眠時間の中央値ともにコントロール群と有意な差は認められなかった。主観的な睡眠の質（ピッツバーグ睡眠調査票得点）は、DSPS 群、NES 群ともに、コントロール群に比して悪化しており、両患者群ともに、睡眠の質の悪化、寝つきの悪さ、日中眠気の下位項目得点が高かった。また NES 群では、コントロール群に比べて夜間途中で起きてしまうなどの睡眠困難を訴えていた。

DSPS 群、NES 群は、日中の状態も悪化しており、コントロール群に比して抑うつ得点が有意に高く、精神的健康度（QoL）が有意に低かった。身体的健康度は NES 群で悪化していた。これらの結果は、NES 群では食事の時間帯のみが後退しており、睡眠覚醒リズムにまでは影響していないこと、しかしながら睡眠の自覚症状は DSPS 群、NES 群ともに悪化しており、日中機能にまで影響していることを示唆するものである。

夜間摂食症状は、NES 群で最も得点が高く、摂食症状が重症であったが、DSPS 群に関してもコントロール群に比べて有意に悪かった。DSPS 群は、睡眠だけでなく食のパターンも後退し、夜間の摂取カロリーが高いことが示唆された。

個人のクロノタイプ（朝型夜型指向）を示すとされる休日の睡眠中央値と時計遺伝子の位相に有意な相関が認められ、夜型指向の者では時計遺伝子発現のピーク時刻が遅れていることが示唆された。また、DSPS 群ではコントロール群に比して、*Per3*、*Nr1d1* の位相が有意に後退していた。NES 群に関しては n 数が少なく、統計的検討が困難であった。本研究では、一年間にわたり対象患者を募集したが、夜間摂食を主訴として受診した男性被験者を 5 名しか集められなかった。研究成果を一般化するには、さらにデータ数を増やして検討する必要があると考えている。

5. 結語

睡眠相後退障害（DSPS）患者では時計遺伝子の位相が後退していること、睡眠だけでなく、摂食のリズムも後退していることが示唆された。夜間摂食症候群（NES）は今後さらに被験者数を増やして検討する必要があるが、現時点では主観的評価での朝型夜型指向、時計遺伝子発現ともに、コントロール群との間に有意な差を認めなかった。

6. 引用

- Allison KC, Lundgren JD, O'Reardon JP, Martino NS, Sarwer DB, Wadden TA, Crosby RD, Engel SG, Stunkard AJ. The Night Eating Questionnaire (NEQ): psychometric properties of a measure of severity of the Night Eating Syndrome. *Eat Behav.* 2008;9(1):62-72.
- Friedman S, Even C, Dardennes R, Guelfi JD. Light therapy, obesity, and night-eating syndrome. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 875-6.
- Hazama GI, Inoue Y, Kojima K, Ueta T, Nakagome K. The prevalence of probable delayed-sleep-phase syndrome in students from junior high school to university in Tottori, Japan.

Tohoku J Exp Med 2008; 216: 95-8

Horne JA, Ostberg O. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol* 4(2): 97-110, 1976.

石原金由, 宮下彰夫, 犬上牧. 日本語版朝型-夜型 (morningness-eveningness) 質問紙による調査結果. *心理学研究* 57: 87-91, 1986.

Milano W, De Rosa M, Milano L, Capasso A. Agomelatine efficacy in the night eating syndrome. *Case Rep Med* 2013; 2013: 867650.

7.謝辞

本研究は、平成 27 年度サッポロ生物化学振興財団研究助成、文部科学省プログラム「リーディング理工学博士プログラム」、MSD 株式会社研究助成・奨学寄付により実施された。ここに記して、深く感謝申し上げます。