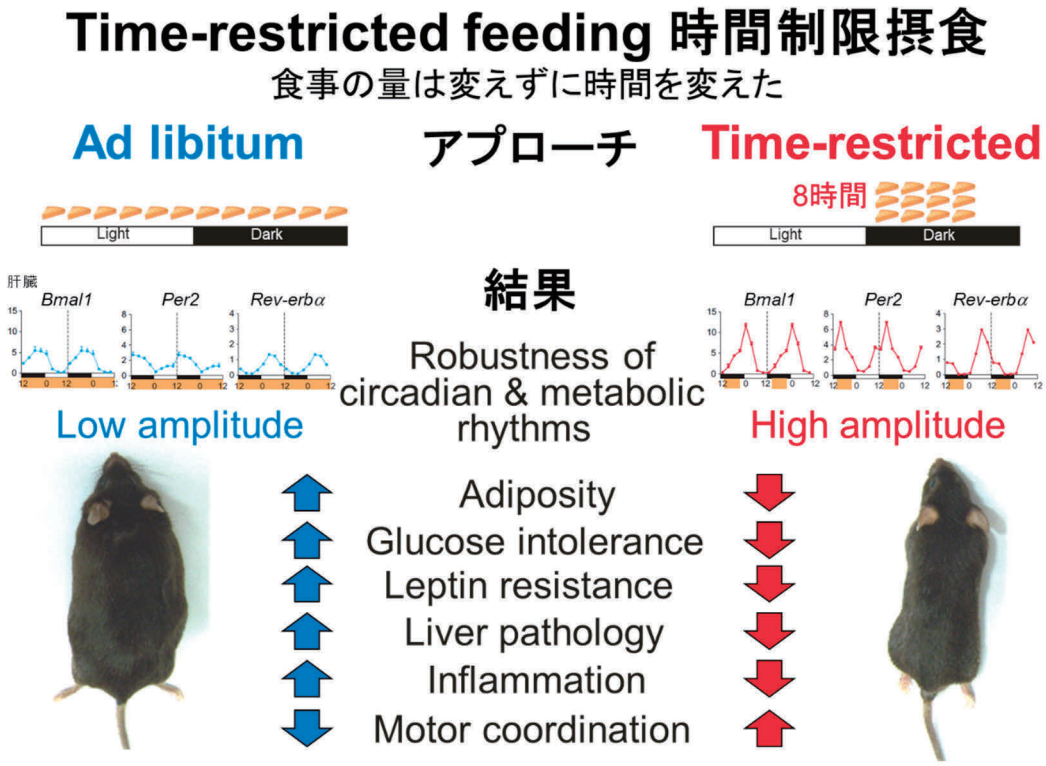
201　肥満と概日時計を相補的に制御する機構の解明	羽鳥　恵

【目的】メタボリックシンドロームは、新型コロナウィルス感染症でも実感されたように感染症罹患時の脆弱性、心血管疾患、脳卒中、失明や糖尿病性腎不全といった重篤疾患を招き、結果として死につながる可能性を秘めている。日本の中高年男性の 2 人に 1 人がメタボリックシンドロームまたは予備軍とされている。体力や時間、天候の問題、面倒くささから運動不足となる人が相当数存在し、簡便な肥満解消手法の開発が望まれている。食事の内容や量に肥満改善効果があることは古くから研究されている。ところが、摂食量を減らすカロリー制限の実施は困難を伴いコンプライアンスに差が出る。そうした中で私は、量ではなく時間の調整が代謝能改善に極めて有効であろうと仮説を立てた。明期 12 時間／暗期 12 時間の明暗周期下でマウスを飼育し、活動時間帯である暗期の開始直後から 8 時間だけ餌を食べられるようにしたところ、肥満が防止された（時間制限摂食）。そこで、様々な条件の時間制限摂食を、マウスを用いて実施し、概日時計の概念との関わりを明らかにする。また、ヒトの健康への研究成果の将来的な応用を見据えて、霊長類を用いても実施する。

【方法】時間制限摂食に伴って変化する因子群を絞り込むことを目的とし、マウスを用いて様々な時間制限摂食を実施した。自由摂食群も同時に併行して実施した。長期間に渡り定期的に摂食量を計量し、体重測定やグルコース負荷試験などを実施した。さらに採血を行い、肥満や加齢に関する血中マーカーやサイトカイン等の変動を解析した。最終的には全身の臓器を採取し包括的な遺伝子発現パターンを解析した。霊長類に関しては、肥満研究に用いるためのモデル生物としての立ち上げに着手し、時間制限摂食を実施し、生体を殺めることなくサンプルを採取した。

【結果】時間制限摂食という概念は同じであっても一日の中での食事を摂る時間帯の違いに依存して全身の恒常性に与える影響が全く異なることを見出した。

摂食のタイミングの重要性



201. 肥満と概日時計を相補的に制御する機構の解明

羽鳥　恵

名古屋大学　トランスフォーマティブ生命分子研究所

Key words：概日時計，肥満，食事，時間制限摂食

緒　言

概日時計は約一日周期で自律的に発振する体内時計である。加齢に伴い概日時計の振幅の幅が小さくなることから、概日時計の振幅を大きくすることが老化の改善と理解につながる可能性を秘めている。概日時計はその名が示す通り正確に 24 時間なのではなく 24 時間前後を周期としており、恒常条件下では日々のずれが生じる。概日時計は外界からの刺激、特に光と食事という 2 大因子を巧みに利用して時刻合わせを行う。外界からの刺激が体内で統合されることにより生体として概日時計の機能調節を行っている。光入力に関しては、哺乳類の目に発現して青色光を感じる G タンパク質共役型受容体メラノプシンが、概日時計の時刻調節に必須の分子である。老化に伴い概日時計の光同調感度が低下することも報告されている。つまり、概日時計の発振に必須である概日時計分子群のみならずメラノプシンの機能調節を可能にすること［1］は、概日時計の観点からの老化の理解の一助にもなると考えられる。一方、食事入力に関しては、マウスの食事の時間帯を活動時間である夜間の 8 時間に制限することで概日時計の振幅が改善され、食事量を減らすことなく高脂肪食による肥満化が防止される（時間制限摂食：Time-Restricted Feeding）（図 1）［2］。

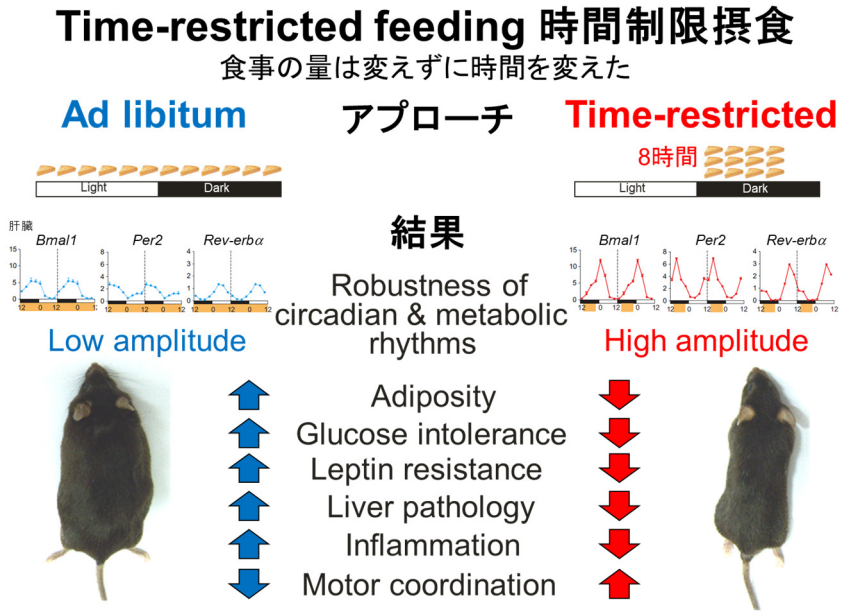


図 1.　時間制限摂食 Time-Restricted Feeding（TRF）
明期 12 時間／暗期 12 時間の明暗周期下でマウスを飼育し、活動時間帯である暗期の開始直後から 8 時間だけ餌を食べられるようにした。

概日時計や肥満エネルギー代謝の研究分野においては主にマウスが実験に用いられているが、光と食事の両者に関して昼行性動物と夜行性動物では時間帯と応答が逆である上、マウスに高脂肪食を与えると一日を通じて摂食行動を行うなどの理由から、研究結果をヒトの健康維持に直接応用することは容易ではない。霊長類であるコモンマーモセットは脳神経ネットワークの理解や遺伝子改変動物の作製に研究の主眼が置かれており、肥満研究での使用報告が殆どない。コモンマーモセットが肥満・エネルギー代謝研究分野でモデル生物として使用できるかの検証から開始して実験系を確立し、時間制限摂食の実施を試みた。ヒトでは夜間遅くもしくは入眠直前の食事が悪影響を及ぼすことを感覚的に経験できる。そこでヒトでの朝型もしくは夜型生活を類似した生活パターン、つまり活動時間帯の前半または後半にのみ摂食させる時間制限摂食をコモンマーモセットにて実施したところ、これまでにマウスで報告されているような時間制限摂食の“良い”効果以外の悪影響を見出した。

方法および結果

健康寿命延長の本質は、健康な状態の長期的な維持である。食べる・動く・寝るタイミングは体内に備わっている一日周期の時計である概日時計に基づいている。概日時計の不調は肥満を導き、肥満は様々な疾患や体調不良の原因となるため、体内時計の改善と肥満・過体重の改善が老化の理解に必須である。食事の時間を一日の中で制限する「時間制限摂食」の実施によって体内時計機能が改善し肥満が防止されることを、夜行性齧歯類であるマウスを用いて見出した。

これまでの研究ではマウスが主に用いられてきたが、結果をヒトの健康維持に直接応用することは容易ではない。概日時計は約一日周期で自律的に発振するだけではなく、外界からの刺激、特に光や食事という 2 大因子を巧みに利用して時刻合わせを行っている。光と食事の両者に関し、昼行性動物と夜行性動物では応答と時間帯が逆である。マウスはヒトと比較すると断片的な睡眠をとる。ヒトと齧歯類では消化管構造などの生体機能のギャップも無視できない。マウスでは食糞を介する菌叢の伝播と再構築が行われ、ヒトとは大きく異なる。実験マウスは夜行性であるため、通常食を与えられると主に夜間に摂食する。ところが、餌の種類を変え、好きなだけ高脂肪食を食べることが出来る環境にマウスをおくと昼夜の差なく一日中食べ続ける（図 2）。この結果は、食事の質・量および時間の重要性と摂食行動との密接な相互作用を示唆している。実際に、摂食の量を減らす「カロリー制限」が肥満や肥満症の解消に効果的であることはよく知られているが、マウスで一日あたりの総接食量を約 30～40%減少させるカロリー制限を実施すると、マウスは数時間の間に全ての食事を摂取し終わり、残りの約 20 時間を餌無しの状態で過ごす［3］。よって、マウスを用いたカロリー制限実験においては、摂食の量だけではなく、摂食タイミングの変化もダイエット効果の一端を担っている可能性を否定できない。

昼行性霊長類であるコモンマーモセットが肥満・エネルギー代謝研究のモデル生物として使用できるかの検証から開始した。実験モデル生物は同一個体での経時的な PET スキャンや組織バイオプシーを繰り返し行える。生涯にわたり同一個体を用い、研究目的以外の要因を排除して経時的に純粋に対象課題だけを評価できる。これはヒトを対象とするコホート研究では n 数を拡大しても達成し難い側面である。活動量や摂取カロリーを正確にコントロールできるため、ヒトでの肥満研究に問題となる偶発的な誤差の積み重ねを除外できる。体重 400 g 程度と小型であり、化合物等を少量で試験することが可能である。分子的な理解の後には将来、ゲノム編集技術を用いて疾患モデル非ヒト霊長類を作製できるであろう。その第一段階として、コモンマーモセットを代謝研究のモデル生物として確立し、次に時間制限摂食を実施した。

コモンマーモセットは食の選り好みが激しいため食事による体重増加が困難であるとされている。様々な種類のヒト用の食品を試したところ、コモンマーモセットの食嗜好に非常によく合致するものを見出した。これを用いて餌誘導性の肥満を引き起こすことに成功した。マウスではヒトの寿命に換算すると 6～10 年程度を要して肥満化するが、コモンマーモセットではヒト相当であった。グルコースやインスリンなどをはじめとする様々な血中因子も測定し、体重変化だけではなく実際に体内でも肥満という状態が引き起こされていることを見出した。

実験マウスは夜行性であるため、通常食を与えられると主に夜間に摂食する。餌の種類を変え好きなだけ高脂

肪食を食べることが出来る環境にマウスをおくと、昼夜の差なく一日中食べ続ける（図 2)。この結果は、食事の質・量および時間の重要性と摂食行動との密接な相互作用を示唆している。前述したが実際に、摂食の量を減らす「カロリー制限」が肥満や肥満症の解消に効果的であることはよく知られているが、マウスで一日あたりの総摂食量を約 30～40%減少させるカロリー制限を実施すると、数時間の間に全ての食事を摂取し終わって残りの約 20 時間を餌無しの状態で過ごし、さらには本来寝ている時刻に早く起きて輪回し運動をする。よって、マウスを用いたカロリー制限実験においては摂食の量だけではなく、摂食タイミングの変化もダイエット効果の一端を担っている可能性を否定できない。このような現象がコモンマーモセットでも見られるかの検証のため、活動量と摂食量を自動計測するシステムを作った。その結果、高カロリー食を与えられても明期（昼）にしか食べず（図 2)、カロリー制限をしても食事時間帯の変化も過剰な運動量上昇も観察されなかった。

朝食でカロリーを減らすよりも夕飯で同カロリーを減らす方が体重が減少するという報告［4］や、起床直後から 6 時間程度の間に全ての食事を終わらせ、夕食も午後 3 時より前に終わらせるという生活を 5 週間続けたところ､体重に変化は見られないがインスリン感受性が高まり血圧が下がったという randomized crossover trial［5］を始め、摂食の時間帯と肥満との相関が見出だされている。「何を食べるか」 「どの程度の量を食べるか」だけではなく「いつ食べるか」も重要であることが明らかとなり、近年、これらの仕事以外にもヒトでの調査が実施されている［6, 7］。今後、統計的な解釈が可能になるほどの、より大規模な研究が行わることを期待している。これらを支持する霊長類モデル生物を立ち上げた本研究の意義は極めて大きい。実際、ある特定の条件での時間制限摂食において、これまでにマウスで報告されているような時間制限摂食の“良い”効果以外の影響を見出した。これらの研究は、夜間勤務等を代表例とする社会的なジェットラグが肥満や睡眠などに与える影響の理解に役立つであろう。さらに、ある特定の摂食条件下である難病に罹患しやすいことを見出し、マウスでも再現することができた。そして時間制限摂食と疾患の分子機構解明に取り組んだ。

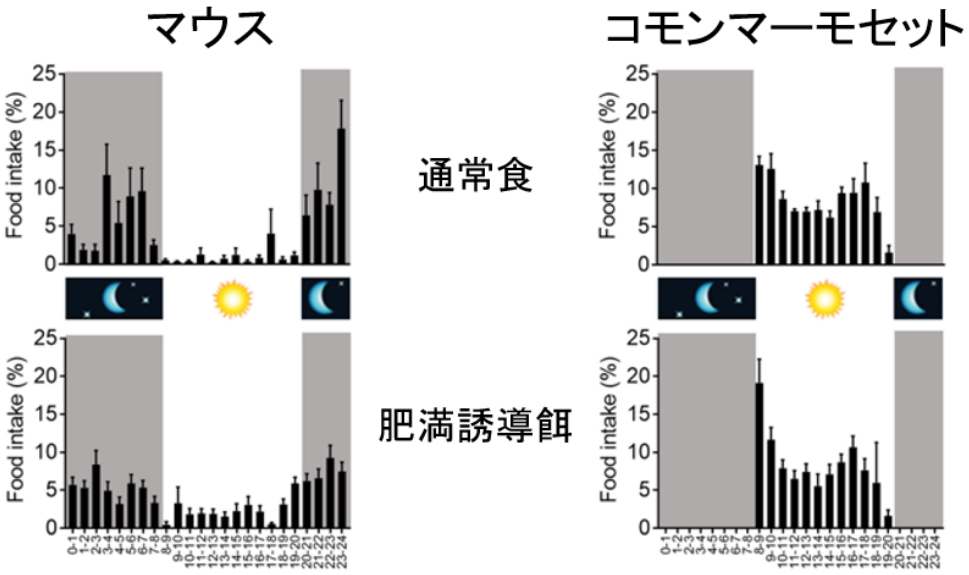


図 2. 摂食行動リズム

マウスおよびコモンマーモセットの両生物に関して、摂食の量とタイミングの自動計測系を作った。その結果、コモンマーモセットはマウスとは異なり、肥満誘導食を与えられても夜はきっちり寝ており夜中に活発な運動をすることもなかった。

考　察

ヒトの健康維持への外挿を目指して概日時計システムの環境応答を研究するにあたり、光に対する応答が真逆である夜行性動物だけを用いていてはいけないであろう。霊長類と齧歯類では免疫応答、睡眠や代謝などの生体機能の違いも無視できない。マウスは食糞をし、与える餌の量を 70%に減らす「カロリー制限」では一日分の餌を 2 時間以内で食べ終わり早く起きて輪回し行動を実施するなど、ヒトとは異なる点が多い。コモンマーモセットの活動や摂食を制御し、かつ肥満や概日時計に関するパラメータを網羅的に取得してモデル生物としての十分な情報を確立して新規分子機構解明にまで到達しつつあることは、今後の肥満や概日リズムの研究に大きな影響を与えるであろう。

概日時計は睡眠・覚醒などのさまざまな生理現象に見られる1日周期のリズムを支配しており、その機能が乱れると睡眠障害やメタボリックシンドロームなどにも影響を及ぼすことが指摘されている。そのため、概日時計の機能を調節する化合物は概日時計システムの理解だけでなく、関連する疾患の治療に向けた起点にもなる。肥満やエネルギー代謝に関与する概日時計タンパク質に作用する薬剤の開発［8］から*in vivo*での機能解析まで、つまり化合物から動物個体での検証まで、と併行して実施することにより、肥満防止効果を持つ医薬品開発への大きな手掛かりを得ることが出来る。

共同研究者・謝辞

本研究に関わってくださった数多くの共同研究者の先生方および研究室メンバー達に心より御礼申し上げます。そして研究の実施をサポートして下さった上原記念生命科学財団に深く感謝いたしております。貴財団の益々のご発展を祈念いたしております。

文　献

1） Jones KA, Hatori M, Mure LS, Bramley JR, Artymyshyn R, Hong SP, Marzabadi M, Zhong H, Sprouse J, Zhu Q, Hartwick AT, Sollars PJ, Pickard GE, Panda S. Small-molecule antagonists of melanopsin-mediated phototransduction. Nat Chem Biol. 2013 Oct;9(10):630-5. Epub 2013 Aug 25. PMID: 2397411 DOI: 10.1038/nchembio.1333.

2） Hatori M, Vollmers C, Zarrinpar A, DiTacchio L, Bushong EA, Gill S, Leblanc M, Chaix A, Joens M, Fitzpatrick JA, Ellisman MH, Panda S. Time-restricted feeding without reducing caloric intake prevents metabolic diseases in mice fed a high-fat diet. Cell Metab. 2012 Jun 6;15(6):848-60. Epub 2012 May 17. PMID: 22608008 DOI: 10.1016/j.cmet.2012.04.019

3） Acosta-Rodríguez VA, de Groot MHM, Rijo-Ferreira F, Green CB, Takahashi JS. Mice under Caloric Restriction Self-Impose a Temporal Restriction of Food Intake as Revealed by an Automated Feeder System. Cell Metab. 2017 Jul 5;26(1):267-277.e2. PMID: 28683292 DOI: 10.1016/j.cmet.2017.06.007

4） Jakubowicz D, Barnea M, Wainstein J, Froy O. High caloric intake at breakfast vs. dinner differentially influences weight loss of overweight and obese women. Obesity (Silver Spring). 2013 Dec;21(12):2504-12. Epub 2013 Jul 2. PMID: 23512957 DOI: 10.1002/oby.20460.

5） Sutton EF, Beyl R, Early KS, Cefalu WT, Ravussin E, Peterson CM. Early Time-Restricted Feeding Improves Insulin Sensitivity, Blood Pressure, and Oxidative Stress Even without Weight Loss in Men with Prediabetes. Cell Metab. 2018 Jun 5;27(6):1212-1221.e3. Epub 2018 May 10. PMID: 29754952 DOI: 10.1016/j.cmet.2018.04.010

6) Patterson RE, Sears DD. Metabolic Effects of Intermittent Fasting. Annu Rev Nutr. 2017 Aug 21;37:371-393. Epub 2017 Jul 17. PMID: 28715993 DOI: 10.1146/annurev-nutr-071816-064634
7) Regmi P, Heilbronn LK. Time-Restricted Eating: Benefits, Mechanisms, and Challenges in Translation. iScience. 2020 Jun 26;23(6):101161. Epub 2020 May 15. PMID: 32480126 DOI: 10.1016/j.isci.2020.101161
8) Miller S, Son YL, Aikawa Y, Makino E, Nagai Y, Srivastava A, Oshima T, Sugiyama A, Hara A, Abe K, Hirata K, Oishi S, Hagihara S, Sato A, Tama F, Itami K, Kay SA, Hatori M, Hirota T. Isoform-selective regulation of mammalian cryptochromes. Nat Chem Biol. 2020 Jun;16(6):676-685. Epub 2020 Mar 30. PMID: 32231341 DOI: 10.1038/s41589-020-0505-1