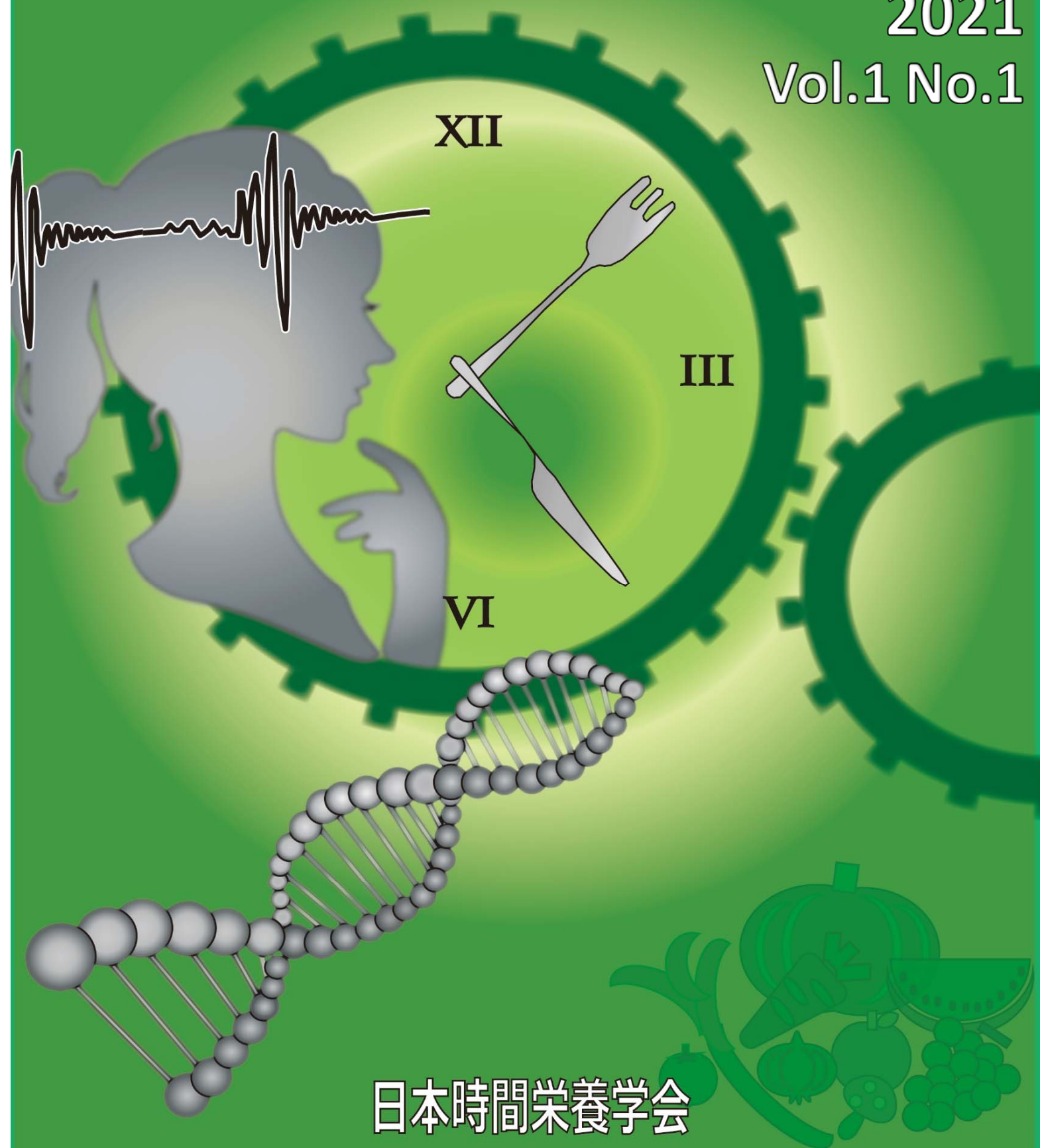


時間栄養学研究の最前線

~ Progress in Chrono-Nutrition ~

2021

Vol.1 No.1



日本時間栄養学会

腸内細菌叢の時間栄養学的研究

文責 早稲田大学先進理工学部 助教 佐々木裕之

■要旨

我々の腸内に約 40 兆個も生息している“腸内細菌”。この集団を腸内細菌叢と呼ぶが、近年、腸内細菌叢が我々の生理機能や疾患に関わっていることが報告されている。腸内細菌が腸内で生存・増殖していくためには、我々が食べて、消化・吸収しきれなかった、水溶性食物繊維などを栄養として利用する必要がある。つまり、我々の食べる食事内容によって腸内細菌叢の構成が変化する。一方で、腸内細菌叢の構成は日内変動を示し、この変動は摂食リズムによって制御されている。以上を踏まえると、水溶性食物繊維の摂食タイミングによって腸内細菌叢に与える影響が異なることが考えられる。本項では腸内細菌と栄養素の関係性や日内変動・体内時計との関係性を概説し、さらに、“いつ”食べるべきかについて調べた研究について解説したい。また、本項を通じて「時間栄養学×腸内細菌叢」という学問分野が発展することを期待する。

■腸内細菌叢とは

哺乳類の腸内には約 40 兆個、100 種以上の腸内細菌が生息しており、その集団を腸内細菌叢と呼ぶ。この細菌のうち偏性嫌気性菌という大気レベルの濃度の酸素に暴露されると死滅してしまう菌が存在するため、腸内細菌の培養・同定は難しいものであった。しかし、近年、培養技術や遺伝子配列解析技術の発達、次世代シーケンサーの発展により、腸内細菌叢の全貌が明らかになってきた¹⁾。そして、この腸内細菌が宿主の腸内で生きていく際に産生された短鎖脂肪酸 (SCFA : Short-chain fatty acid) をはじめとする様々な代謝産物が、宿主の各臓器に働きかけることで、免疫系や代謝系などの様々な機能を調節している²⁻⁵⁾。

SCFA には酢酸・酪酸・プロピオン酸が挙げられるが、例えば、酪酸は大腸において制御性 T 細胞の誘導を促して、免疫の過剰反応を抑制したり、酢酸は肝臓においてエネルギー基質と使用され代謝機能を調節したりする^{2,5)}。さらに、SCFA 自身が弱酸性であり、腸管の pH を低下させて弱酸性に保つことによって、有害な菌の増殖を抑え、腸管機能を制御することが知られている⁴⁾ (図 1)。

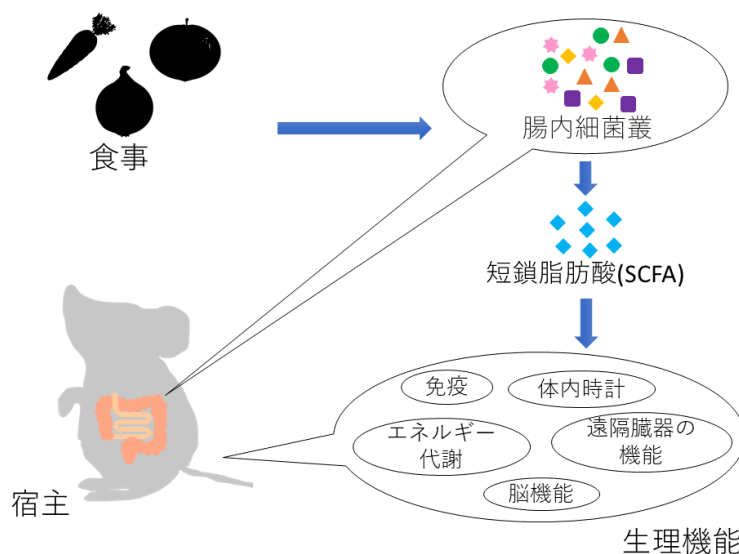


図1 腸内細菌叢と宿主の関係性

以上を踏まえると、腸内細菌叢の構成によって様々な疾患が誘発されることが考えられる。事実、大腸がん患者は健常者と比較して、*Fusobacterium nucleatum* と呼ばれる菌が増加することが報告されており⁶⁾、高脂肪食摂食による肥満マウスでは通常マウスと比べて、*Firmicutes*が増加し、*Bacteroidetes*が減少することが報告されている⁷⁾。さらに、この肥満マウスの実験では、それぞれの腸内細菌叢を無菌マウスに移植したところ、同様の餌を摂食しているにもかかわらず、肥満マウスの腸内細菌叢を移植されたマウスで体脂肪の増加率が高いことを示した。つまり、腸内細菌叢が原因となり肥満が引き起こされたことを示している⁸⁾。

■腸内細菌叢を整える食事

腸内細菌はグルコースやアミノ酸を異化し、ATP を産生することで生きているが、グルコースやアミノ酸の多くは宿主により吸収されるため、腸内細菌が主に生息している大腸にまで到達することは少ない。そのため、宿主の消化・吸収を免れた、食物繊維や難消化性タンパク質を利用することで生息している。このことを踏まえると、宿主が摂取する食事内容は腸内細菌叢の構成に大きく影響を与える要因の1つであると考えられる。食事を大腸まで届かせて、腸内細菌叢に積極的に働きかけようとする考えに「プレバイオティクス」が挙げられる。プレバイオティクスは1995年にGibsonらによって「消化管上部で分解・吸収されず、腸内細菌の選択的な栄養素となり、それらの助長や活動を刺激することで腸内細菌叢を健康的に改善・維持し、宿主の健康を増進する食品成分」と定義されている⁹⁾。プレバイオティクスの具体的な例は、炭水化物としては水溶性食物繊維やオリゴ糖が挙げられる。なお、不溶性食物繊維は腸内細菌の栄養素になりづらいという点から、プレバイオティクスの定義からは外れるが、吸水性やそれに伴う膨張性による便通促進といった整腸作用は期待できる¹⁰⁾。さらに、水溶性食物繊維だけでなく不溶性食物繊維も同時に摂食することで、水溶性食物繊維を単独で摂食するよりも大きく腸内細菌叢に影響することも知られている^{11,12)}。また、タンパク質であれば大豆タンパク質¹³⁾、そばタンパク質¹⁴⁾、酒粕タンパク質¹⁵⁾、絹タンパク質¹⁶⁾などのレジスタントプロテインが挙げられ、脂質であれば ω -3脂肪酸であるエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) が挙げられる¹⁷⁾。プレバイオティクスを摂取し、腸内細菌叢にまで届き、発酵・分解を受けてSCFAなどの代謝物が産生された結果、整腸作用、ミネラル吸収促進作用、腸管免疫刺激作用などの効果が得られる¹⁸⁾。

■腸内細菌叢の日内変動

近年、腸内細菌叢の構成に日内変動が存在することが報告されている。2日間6時間おきに腸内細菌叢を調べると、*Clostridiales*、*Lactobacillales*、*Bacteroidales*、*Parabacteroides*、*Bulleida*、*Lachnospira* といった菌が日内変動を示した。さらに、この腸内細菌叢の日内変

動にともない、腸内細菌叢の持つ代謝機能にも日内変動があることがわかっている¹⁹⁾。それでは、この腸内細菌叢の日内変動は、宿主の持つ時計遺伝子が支配しているのだろうか。それとも他の要因によって支配されているのだろうか。*Per1/Per2*欠損マウス、*Bmal1*欠損マウスを用いて腸内細菌叢を調べると、細菌叢の日内変動は見られず、通常マウスと比べて異なる細菌叢の分布を示していた。しかし、*Per1/Per2*欠損マウスに活動期のみの制限給餌または非活動期のみの制限給餌を行わせると、腸内細菌叢の日内変動が現れ、その動態は活動期制限給餌と非活動期制限給餌で逆のリズムを示した。つまり、腸内細菌叢の日内変動には摂食リズムが重要であると考えられる¹⁹⁾ (図2)。

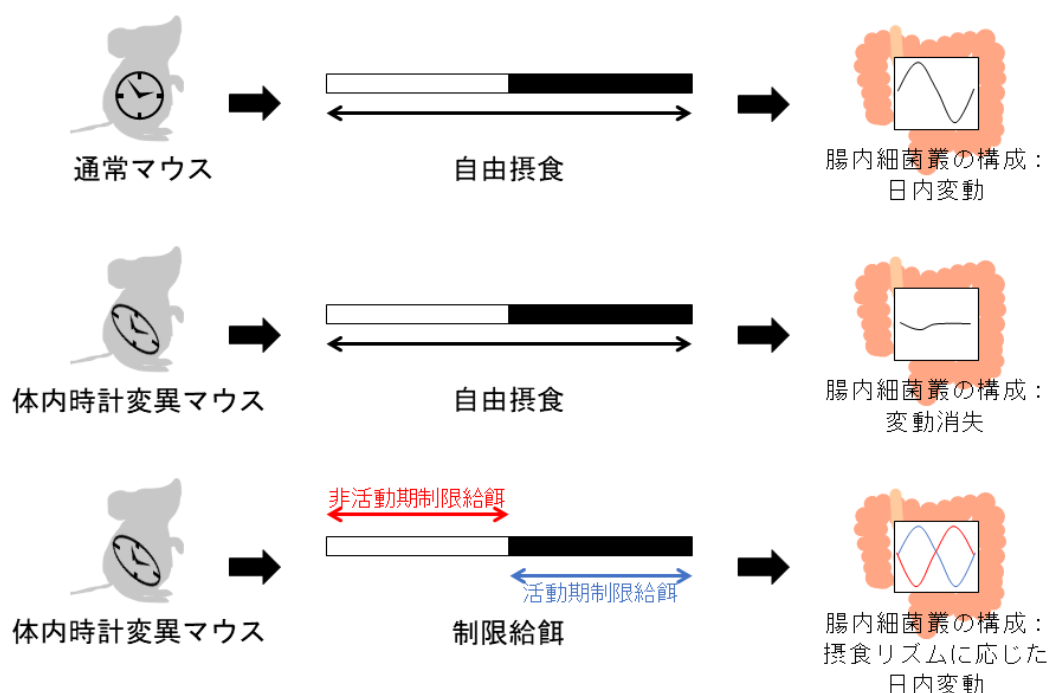


図2 腸内細菌叢の日内変動と摂食リズムの重要性

それでは、腸内細菌叢の日内変動が乱れると、身体にどのような影響が生じるのか。マウスにおいて、明暗環境を変化させた時差ボケマウスを作成し、腸内細菌叢と身体への影響を検証した報告がある。明期開始：暗期開始＝6時：18時の明暗環境と、明期開始：暗期開始＝22時：10時の明暗環境を3日おきのサイクルで切り替え続けた時差ボケモデルでは、摂食リズムが消失し、腸内細菌叢の日内変動も消失した。この時、時差ボケマウスに高脂肪食を与えると、通常マウスと比べて体重が増加しやすくなり、血糖値の増加も見られた。つまり、日内変動が乱れた腸内細菌叢はメタボリックシンドロームを引き起こす原因となる可能性が示唆された¹⁹⁾ (図3)。さらに、時差ボケに関する検証はヒトでも行われている。8～10時間の時差がある国間をフライトした2人から、フライト1日前、フライト1日後、フライト2週間後の3回にわたって糞便を採取し、腸内細菌叢を調べた。すると、2人ともフライト1日前よりもフライト1日後で、肥満者において増加すると言われている

Firmicutes という菌が増加していた。しかし、フライト 2 週間後には元のレベルにまで減少していた。また、それぞれのヒト糞便を無菌マウスに移植すると、フライト 1 日前、フライト 2 週間後の糞便を移植されたマウスと比べて、フライト 1 日後の糞便を移植されたマウスで体重が増加することがわかった。以上のことから、日内変動の乱れた腸内細菌叢が肥満を引き起こすことが示唆されている¹⁹⁾。

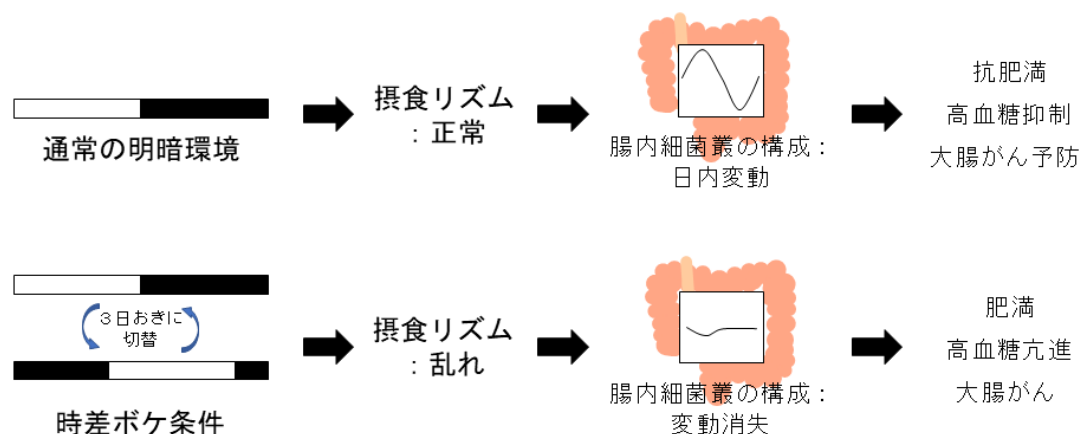


図3 時差ボケモデルの例と身体への影響

さらに、腸内細菌叢自体が宿主の概日リズムに影響を与えることが報告されている。通常マウスで認められる、各臓器の時計遺伝子の概日リズムが、無菌マウスでは減弱していることがわかっている²⁰⁾。さらに、腸内細菌叢が肝臓などの各臓器の概日リズムに影響を与える機序として SCFA が重要である可能性が報告された。抗生物質水の飲水による擬似無菌マウスに SCFA を経口投与させると、肝臓・腎臓・顎下腺の PER2 の位相が経口投与時刻に同調した。これは、マウスに食物繊維を給餌させた場合も同様の結果だった²¹⁾。この詳細な作用機序はまだ完全には明らかになっていない。in vitro で SCFA を投与しても PER2 の位相変化が見られなかったことから、SCFA が直接時計遺伝子変化に寄与するのではなく、何らかの二次的なメッセンジャーによって位相変化を引き起こしたと考えられる。具体的な経路としてインスリンや交感神経の活性が考えられている。つまり、SCFA が大腸 L 細胞中の GPR41 に結合することで、GLP-1 の血中分泌を促進する²²⁾。GLP-1 は膵臓の β 細胞に存在する GLP-1 受容体に結合し、インスリン分泌を促進し、時計遺伝子を同調させる可能性が考えられている²³⁾。一方、GPR41 を介して交感神経系が活性化し、アドレナリン・ノルアドレナリンが分泌され²⁴⁾、*Per* 遺伝子のプロモーターの CRE サイトの転写活性を介して時計遺伝子を同調させる経路も考えられている²⁵⁾。

■腸内細菌叢の時間栄養学

腸内細菌叢が摂食リズムにより日内変動をしていることを考えると、「何を“いつ”食べるか」という摂取時刻も重要な要因になると考えられる。つまり、先述したプレバイオティク

スに関しても摂取時刻によって腸内細菌叢への影響が異なることが考えられる。筆者らはマウスを用いて1日2食モデルを作成し検証を行った。検証ではプレバイオティクスとして水溶性食物繊維の一種であるイヌリンを使用した。マウスの活動期はじめを「朝」、おわりを「夕」と定義し、各時間帯に高脂肪食を与えた。朝夕ともにイヌリンを含まない高脂肪食を与えた群を対照群とし、朝のみにイヌリンを混餌した餌を与えた朝イヌリン群、夕のみにイヌリンを混餌した餌を与えた夕イヌリン群を用意した。それぞれの食事条件で2週間飼育した後、朝食後および夕食後のSCFA量と腸内細菌叢を調べた。その結果、イヌリンの摂食により朝・夕ともにSCFA量の増加が確認されたが、その増加量の大きさは夕よりも朝の方が大きかった。さらに腸内細菌叢の構成を調べると、朝・夕ともにイヌリン摂食による構成変化が見られたが、その変動の大きさは朝の方が大きかった。また特に、朝のイヌリン摂食によってのみ、*Proteobacteria*、*Staphylococcus*、*Lactococcus*、*Bilophila*、*Desulfovibrio*といった菌の減少が有意に確認された。以上より、イヌリンは夕食よりも朝食に摂取することで腸内細菌叢に大きく影響する可能性が示唆された²⁶⁾ (図4)。このような検証はヒトでも、イヌリンを多く含んだキクイモを用いて行われている。高齢者を対象に1週間、朝食または夕食の前にキクイモを1日5g摂取したところ、夕食よりも朝食に摂取することで便秘の改善が見られた。さらに、朝食摂取・夕食摂取ともに、食後の血糖値上昇が抑えられるが、朝食摂食においてのみ、その後の昼食後・夕食後の血糖値上昇を抑えた。そして、介入前後の血糖値の変化量と *Bacteroidetes* の間に負の相関が、*Firmicutes* の間に正の相関が見られた。以上のことより、夕食よりも朝食にキクイモを摂取することで腸内環境の改善とともに血糖値上昇の抑制に効果的であることがわかった²⁷⁾。

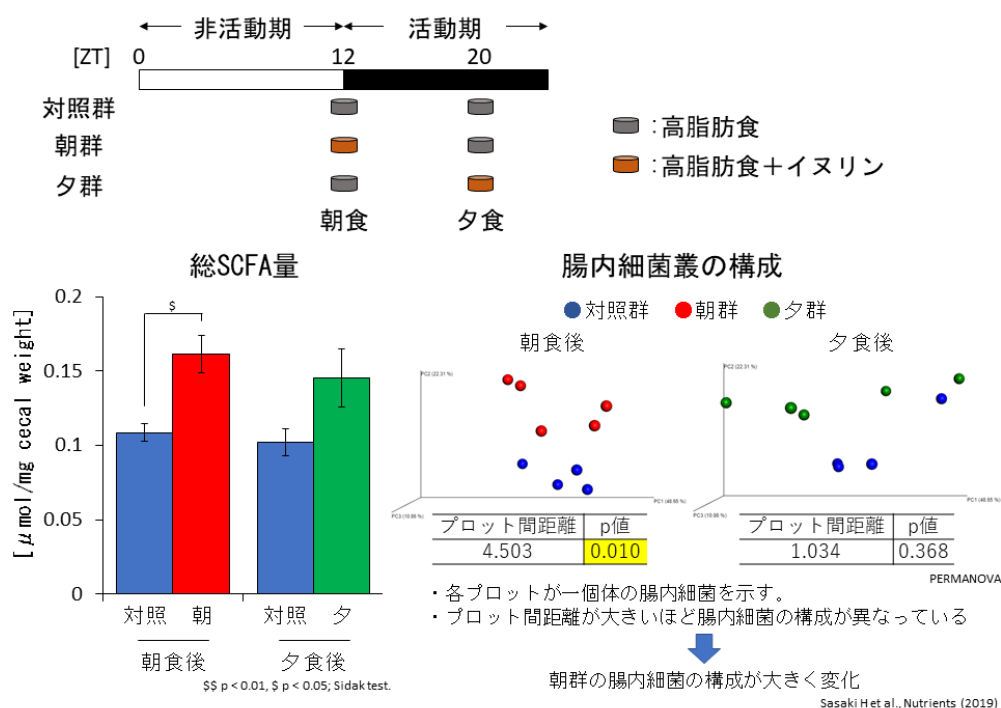


図4 プレバイオティクス摂取の時間栄養学的研究の一例

それでは、なぜイヌリン・キクイモを朝食に摂取することで腸内細菌叢の構成が大きく変化したのだろうか。これには、やはり摂食リズムとの関係性が重要であると考えられている。マウスの1日2食モデルにおいても、多くのヒトの摂食リズムにおいても、夕食摂食から次の日の朝食摂食までの絶食時間が最も長い。長い絶食時間後の食事によって蠕動運動が促進され、乳酸産生菌が増加し、腸内環境を良くする^{5,28)}という先行研究を踏まえると、長い絶食時間後の朝食摂食により蠕動運動が促進されたことが腸内細菌叢に良い影響を与え、さらにこの時にイヌリン・キクイモといった水溶性食物繊維を摂食したことで、より腸内環境が改善したと考えられる。

水溶性食物繊維の他にもレジスタントプロテインが含まれている大豆タンパク質でも同様の検証が行われており、こちらも朝食摂食の方が腸内環境を良好にすることを示している²⁹⁾。しかし、他にも腸内細菌叢に影響を与える食品成分は知られているにも関わらず、このような摂食タイミングについて議論した報告はまだ少ないのが現状である。さらに、朝食前の絶食時間が長くなるという一般的な摂食リズムにおいては、朝食の水溶性食物繊維・レジスタントプロテインの摂食が腸内環境改善に効果的であることがわかったが、現代では、その一般的な摂食リズムから乱れることも多いだろう。そのような乱れた摂食リズムにおいて、“いつ”水溶性食物繊維を摂食すれば、腸内環境の乱れを最小限に抑えられるのかという検証も必要になってくるだろう。

■最後に

どの食事内容・栄養素成分を摂食すると腸内細菌叢が変化するのか、また食事のみならず、運動・ストレス・喫煙・加齢・薬剤投与など様々な要因によって腸内細菌叢が変化することがわかってきた。特に、薬剤投与といった要因は腸内細菌叢の構成をダイナミックに変化させ、その変化した構成は投与後もずっと維持される。それに対して、食事・運動・喫煙による腸内細菌叢の変化は一時的なもので、日々の生活によってコロコロと変わってしまう。しかしこれは、日々の生活を意識すれば、常に良好な腸内環境を作り出せるとも言えるだろう。そこで、“時間”の概念を加えて、「朝にはゴボウを食べて、その後有酸素運動をする」といった、腸内環境を良好にするための理想的なスケジュールを作ることができると考えている。そのためにも、「時間栄養学×腸内細菌叢」という学問分野がより発展することを期待する。

■参考文献

- 1) Marchesi, J. R., Adams, D. H., Fava, F., Hermes, G. D., Hirschfield, G. M., Hold, G., Quraishi, M. N., Kinross, J., Smidt, H., Tuohy, K. M. et al. (2016) The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut* **65**, 330-339.
- 2) Cummings, J. H., Pomare, E. W., Branch, W. J., Naylor, C. P. & Macfarlane, G. T. (1987) Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* **28**, 1221-1227.
- 3) Donohoe, D. R., Garge, N., Zhang, X., Sun, W., O'Connell, T. M., Bunger, M. K. & Bultman, S. J. (2011) The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon. *Cell Metab* **13**, 517-526.
- 4) den Besten, G., van Eunen, K., Groen, A. K., Venema, K., Reijngoud, D. J. & Bakker, B. M. (2013) The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res* **54**, 2325-2340.
- 5) Okada, T., Fukuda, S., Hase, K., Nishiumi, S., Izumi, Y., Yoshida, M., Hagiwara, T., Kawashima, R., Yamazaki, M., Oshio, T. et al. (2013) Microbiota-derived lactate accelerates colon epithelial cell turnover in starvation-refed mice. *Nat Commun* **4**, 1654.
- 6) Mai, V. & Morris, J. G., Jr. (2013) Need for prospective cohort studies to establish human gut microbiome contributions to disease risk. *J Natl Cancer Inst* **105**, 1850-1851.
- 7) Hildebrandt, M. A., Hoffmann, C., Sherrill-Mix, S. A., Keilbaugh, S. A., Hamady, M., Chen, Y. Y., Knight, R., Ahima, R. S., Bushman, F. & Wu, G. D. (2009) High-fat diet determines the composition of the murine gut microbiome independently of obesity. *Gastroenterology* **137**, 1716-1724.e1711-1712.
- 8) Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R. & Gordon, J. I. (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* **444**, 1027-1031.
- 9) Gibson, G. R. & Roberfroid, M. B. (1995) Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* **125**, 1401-1412.
- 10) Soliman, G. A. (2019) Dietary Fiber, Atherosclerosis, and Cardiovascular Disease. *Nutrients* **11**.
- 11) Cheng, W., Lu, J., Li, B., Lin, W., Zhang, Z., Wei, X., Sun, C., Chi, M., Bi, W., Yang, B. et al. (2017) Effect of Functional Oligosaccharides and Ordinary Dietary Fiber on Intestinal Microbiota Diversity. *Front Microbiol* **8**, 1750.
- 12) Sasaki, H., Lyu, Y., Nakayama, Y., Nakamura, F., Watanabe, A., Miyakawa, H., Nakao, Y. & Shibata, S. (2020) Combinatorial Effects of Soluble, Insoluble, and Organic Extracts from Jerusalem Artichokes on Gut Microbiota in Mice. *Microorganisms* **8**.

- 13) Aoyama, T., Fukui, K., Takamatsu, K., Hashimoto, Y. & Yamamoto, T. (2000) Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary obese rats and genetically obese mice (yellow KK). *Nutrition* **16**, 349-354.
- 14) Kayashita, J. (1995) Hypocholesterolemic effect of buckwheat protein extract in rats fed cholesterol-enriched diets. *Nutr Res* **15**, 691-698.
- 15) 渡辺 敏, 峰時 俊 & 友竹 浩. (2007) 二段発酵法で生まれたメタボリックシンドローム対応の新素材「酒粕難消化成分」 (メタボリックシンドロームと特定健診). *Food style* **21**, 51-54.
- 16) Kato, N., Sato, S., Yamanaka, A., Yamada, H., Fuwa, N. & Nomura, M. (1998) Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity. *Biosci Biotechnol Biochem* **62**, 145-147.
- 17) Caesar, R., Nygren, H., Orešič, M. & Bäckhed, F. (2016) Interaction between dietary lipids and gut microbiota regulates hepatic cholesterol metabolism. *J Lipid Res* **57**, 474-481.
- 18) Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D. et al. (2017) Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **14**, 491-502.
- 19) Thaiss, C. A., Zeevi, D., Levy, M., Zilberman-Schapira, G., Suez, J., Tengeler, A. C., Abramson, L., Katz, M. N., Korem, T., Zmora, N. et al. (2014) Transkingdom control of microbiota diurnal oscillations promotes metabolic homeostasis. *Cell* **159**, 514-529.
- 20) Leone, V., Gibbons, S. M., Martinez, K., Hutchison, A. L., Huang, E. Y., Cham, C. M., Pierre, J. F., Heneghan, A. F., Nadimpalli, A., Hubert, N. et al. (2015) Effects of diurnal variation of gut microbes and high-fat feeding on host circadian clock function and metabolism. *Cell Host Microbe* **17**, 681-689.
- 21) Tahara, Y., Yamazaki, M., Sukigara, H., Motohashi, H., Sasaki, H., Miyakawa, H., Haraguchi, A., Ikeda, Y., Fukuda, S. & Shibata, S. (2018) Gut Microbiota-Derived Short Chain Fatty Acids Induce Circadian Clock Entrainment in Mouse Peripheral Tissue. *Sci Rep* **8**, 1395.
- 22) Rasoamanana, R., Darcel, N., Fromentin, G. & Tomé, D. (2012) Nutrient sensing and signalling by the gut. *Proc Nutr Soc* **71**, 446-455.
- 23) Holst, J. J. (2007) The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev* **87**, 1409-1439.
- 24) Kimura, I., Inoue, D., Maeda, T., Hara, T., Ichimura, A., Miyauchi, S., Kobayashi, M., Hirasawa, A. & Tsujimoto, G. (2011) Short-chain fatty acids and ketones directly regulate

- sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**, 8030-8035.
- 25) Terazono, H., Mutoh, T., Yamaguchi, S., Kobayashi, M., Akiyama, M., Udo, R., Ohdo, S., Okamura, H. & Shibata, S. (2003) Adrenergic regulation of clock gene expression in mouse liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 6795-6800.
 - 26) Sasaki, H., Miyakawa, H., Watanabe, A., Nakayama, Y., Lyu, Y., Hama, K. & Shibata, S. (2019) Mice Microbiota Composition Changes by Inulin Feeding with a Long Fasting Period under a Two-Meals-Per-Day Schedule. *Nutrients* **11**.
 - 27) Kim, H. K., Chijiki, H., Nanba, T., Ozaki, M., Sasaki, H., Takahashi, M. & Shibata, S. (2020) Ingestion of *Helianthus tuberosus* at Breakfast Rather Than at Dinner Is More Effective for Suppressing Glucose Levels and Improving the Intestinal Microbiota in Older Adults. *Nutrients* **12**.
 - 28) Hosoda, S. (2004) Life style and discomfort on defecation. *Juntendo Medical Journal* **50**, 330-337.
 - 29) Tamura, K., Sasaki, H., Shiga, K., Miyakawa, H. & Shibata, S. (2019) The Timing Effects of Soy Protein Intake on Mice Gut Microbiota. *Nutrients* **12**.

食事のタイミングと骨格筋の代謝制御

文責 国立研究開発法人産業技術総合研究所
細胞分子工学研究部門 食健康機能研究グループ
安倍 知紀

■ 要旨

世界で最も高齢化の進む我が国において、健康寿命の延伸が急務となっている。運動器の1つである骨格筋は、運動のみならず糖や脂質の燃焼や生理機能の調節など生体の恒常性維持に重要な臓器である。加齢や肥満、寝たきりなどさまざまな要因により骨格筋の質や量は低下するが、有効な予防・改善法は運動療法以外にはほとんど確立されていない。運動だけでなく、栄養状態に応じて骨格筋は代謝機能や筋肉量を変化させることで環境変化への適応を促す。近年、機能性食品やタンパク質、ビタミン D を豊富に含む食品などを活用した食事療法が注目されている。何を食べるか、だけでなく食事のタイミングも骨格筋の代謝機能に大きく影響を与えることが分かってきた。げっ歯類やヒトを対象とした研究により、時間制限給餌はカロリー制限とは独立して骨格筋の質や量の改善することが明らかになりつつある。以上の知見より、食事のタイミングは骨格筋の代謝機能の調節において重要であると考えられる。

■ はじめに

超高齢社会を迎えた我が国では、2018年における高齢化率が世界で最も高くなり、今後とも増加し続けることが想定されている。高齢化に伴って健康寿命を延伸することの重要性が増している。骨格筋や骨といった運動器の質や量の改善は、健康寿命の延伸を目指すうえで重要な標的臓器である。とくに骨格筋は、ヒトにおいて体重の約4割を占める最大の臓器であり、姿勢の保持と運動のみならずエネルギー代謝やアミノ酸プールとしての役割も担っており、身体の活動において必要不可欠である。さまざまな環境に適応するために、ダイナミックに質や量をリモデリングする可塑性を有することからも、骨格筋は生体の恒常性維持に大きく寄与していると考えられる。加齢やさまざまな疾病により骨格筋の質や量が低下することは、生活の質の低下や術後の予後不良を招くことが知られている。しかしながら、骨格筋の質や量の低下を予防または治療する有効な方法は運動療法以外にほとんど確立されていない。これまでの多くの研究により、食事内容を工夫することで骨格筋の質と量の改善や低下予防効果が発揮されることが分かってきた。一方で、他の末梢臓器と同様に骨格筋における時計遺伝子の生理的な意義も明らかにされつつある。本稿では、食事のタイミングが骨格筋の代謝機能に与える影響について最近の知見を紹介する。

■ 骨格筋におけるエネルギー代謝

骨格筋は運動や熱産生のためのエネルギー消費に加えて、アミノ酸の貯蔵やマイオカイ

ンの分泌など全身の代謝において重要な役割を担っている。骨格筋は多くの筋繊維が束になって構成される。筋繊維は代謝や収縮の特性の違いにより、遅筋（赤筋）と速筋（白筋）の2つに大きく分類することができる。遅筋は速筋よりもミトコンドリアを多く含み、クエン酸回路やβ酸化に関わる酵素活性が高いことから、酸素が豊富に存在する条件下における代謝機能が高い。速筋は、解糖系に関わる酵素活性が高く酸素が少ない条件下でもエネルギー代謝を行うことができる。

骨格筋は主なエネルギー代謝の基質として、グルコースや脂肪酸を消費する。食事をとると、インスリンの働きにより筋細胞はグルコースを細胞内に取り込み、クエン酸回路や解糖系で消費するかグリコーゲンとして貯蔵する。運動や絶食時には、脂肪組織より放出された脂肪酸を筋細胞内に取り込み、β酸化により消費しエネルギーを産生する。しかし、慢性的に過栄養の状態が続くと、酸化しきれず余剰となった脂肪酸は中性脂肪として筋細胞内において異所性に蓄積される。異所性脂肪は、インスリン抵抗性やミトコンドリアや小胞体の機能障害などを介して骨格筋における代謝機能を低下させる。

骨格筋には、筋収縮や筋弛緩を担うアクチンやミオシンといったタンパク質が豊富に存在する。骨格筋におけるタンパク質量は、タンパク質の合成と分解のバランスをとることにより制御されている。骨格筋に負荷がかからない状態（寝たきりや宇宙フライト）や加齢やさまざまな疾患においては、筋タンパク質の分解が合成を上回ることで骨格筋は萎縮する。筋細胞内では、ユビキチン-プロテアソーム系とオートファジー-リソソーム系、カルパイン系の3つが主なタンパク質分解系として知られている。筋萎縮に関わる E3 ユビキチンリガーゼとして、MAFbx/Atrogin-1 と Muscle RING-finger protein 1 (MuRF1) が知られており¹⁾²⁾、これらの遺伝子発現量は筋萎縮のマーカー遺伝子として広く活用されている³⁾。筋萎縮の治療法として、他のユビキチンリガーゼに比べて MuRF1, 2 に対する阻害剤の開発が進んでいる。

■ インスリン/インスリン様成長因子-1 と骨格筋におけるタンパク質代謝

インスリンとインスリン様成長因子-1 (Insulin-like growth factor-1; IGF-1) は、骨格筋のタンパク質代謝において中心的な役割を担う。インスリンは食後に血糖値の上昇により血中への分泌が促進され、絶食時には血糖値の低下に伴って血中への分泌が抑制される。IGF-1 は、成長ホルモンの刺激により肝臓や骨格筋で合成された後に血中に分泌される。血中の IGF-1 濃度の調節には、骨格筋よりも肝臓における IGF-1 の合成が重要であると考えられている。最近、骨格筋と肝臓における IGF-1 の合成には Cryptochromes (Crys) が関わることが報告された⁴⁾。Cry1, 2 のダブルノックアウトマウスでは、骨格筋と肝臓における IGF-1 合成の日内リズムが消失することに加えて野生型マウスよりも日内の合成量も低下し、血中 IGF-1 濃度の低下に伴って体重が約 30%低下していた⁴⁾。Chaudhari らは Cry1, 2 のダブルノックアウトにより *Igf-1* mRNA 転写を促進する JAK2-STAT5B シグナルの減弱が肝臓や骨格筋でおこることまで明らかにした。インスリンと IGF-1 は、筋細胞内のリ

ン酸化を介したシグナル伝達を介して筋タンパク質の合成促進と分解抑制を引き起こす。低栄養や絶食またはインスリン/IGF-1 シグナル伝達に異常が生じると、筋タンパク質の分解が合成を上回り、筋萎縮がおこる。最近、インスリン抵抗性が惹起され高血糖となる糖尿病による筋萎縮においては、転写因子 Krüppel-like factor 15 (KLF15) のタンパク質量が骨格筋において増大することにより、筋タンパク質分解が促進されることが明らかにされた⁵⁾。

■ 筋タンパク質の合成と分解の調節と概日リズム

近年、骨格筋のタンパク質量の調節における概日リズムの意義と時計遺伝子の役割が明らかになってきた。Dyar らは、時計遺伝子により骨格筋におけるタンパク質の合成や分解における概日リズムが調節されることを報告した⁶⁾。タンパク質合成速度を測定するために surface sensing of translation (SUnSET) 法を行い、マウスの骨格筋におけるタンパク質合成速度は休息期よりも活動期の方が活発であることが明らかにされた。一方、タンパク質分解に関わる Atrogin-1 と MuRF1 の遺伝子発現量は、タンパク質の合成速度とは逆に休息期において増大する傾向がある⁷⁾。一方で、尾部懸垂により骨格筋に負荷がかからない筋萎縮モデルマウスにおいて、Atrogin-1 の遺伝子発現量のピークは活動期に認められる⁷⁾。以上の知見より、タンパク質の合成速度と筋タンパク質分解には概日リズムが存在し、その制御には神経系を介した刺激や運動によるメカニカルストレスなどが関わって調節されると考えられる。

■ 食事のタイミングと骨格筋の代謝制御

時間制限給餌は、食事のタイミングを限定することで全身の代謝に大きな影響を与える。とくに活動期のみ 6~12 時間の時間制限給餌は、過栄養による体重増加やインスリン抵抗性の発症を抑制することが数多く報告されている。最近では、閉経モデルマウスにおける時間制限給餌は、高インスリン血症を是正することで乳がんの発症をも抑制しうることが報告された⁸⁾。時間制限給餌による代謝改善効果には、休息期における長時間連続した絶食が一部関わると考えられる。一方で、長時間にわたる絶食は骨格筋における筋タンパク質の分解を促進し、筋萎縮を引き起こす可能性が考えられた。そこで、我々はマウスに対して、活動期または休息期において 1 日 8 時間のみの時間制限給餌を 1 週間行った。時間制限給餌前と比べて、活動期のみ 8 時間の時間制限給餌は骨格筋量を変化させなかったが、休息期のみ 8 時間の時間制限給餌は血中 IGF-1 濃度の低下を伴って約 10% の骨格筋量の減少を引き起こした⁹⁾。休息期のみ 8 時間の時間制限給餌は、マウスの夜行性の活動リズムには影響を与えなかったことから、運動と絶食とが組み合わさることで筋萎縮を引き起こされる可能性も現時点では否定できない。活動期のみ 8 時間の時間制限給餌は、過栄養による骨格筋の代謝障害を改善することが報告された¹⁰⁾。脂肪やショ糖を多く含む食餌の摂取は、ショウジョウバエの骨格筋における異所性脂肪の蓄積やインスリン抵抗性、ミトコンドリア障害を引き起こすが、時間制限

給餌により食餌による骨格筋の代謝異常が改善されることを明らかにした。肥満したヒト (Body mass index = 27–35 kg m⁻²) に対する試験においても、1日8時間のみの時間制限給餌は、骨格筋における主要な時計遺伝子の発現を障害することなく、血中や骨格筋における代謝産物の概日リズムを変化させることが報告されている¹¹⁾。時間制限給餌は食事量の制限とは独立して、肥満者における骨格筋機能の改善において有効な食事療法となるかもしれない。

日勤と夜勤を繰り返すシフトワークは、肥満や糖尿病などさまざまな疾患のリスクファクターとなる。それは、シフトワークにより夜間における照明の暴露や就寝時間の変化、食事のタイミングのずれなどが関わると考えられている¹²⁾。マウスを24時間照明がついたままの環境で飼育すると、2週間後から握力の低下が認められ、24週間後には骨密度まで有意に低下させることが報告された¹³⁾。韓国の研究グループにより、夜勤を含むシフトワークに従事した経験があるヒトは、経験がないヒトに比べて有意にサルコペニアの発症リスクが高まることが示された¹⁴⁾。照明環境や勤務時間の変化は食事をとるタイミングにも少なからず影響を与えると考えられ、シフトワークによるサルコペニアが時間制限給餌により発症リスクが改善されるかどうか今後明らかにされることを期待している。

■ おわりに

健康寿命の延伸において骨格筋の質や量の改善は重要であると考えられる。栄養状態は骨格筋の代謝機能に大きく影響を与えることが明らかになった。従来はカロリー制限を中心とした食事療法が主であったが、摂取カロリーを変化させることなく時間制限給餌を行うことで骨格筋の代謝機能は改善されることが報告されつつある。今後、食事のタイミングによる骨格筋の代謝機能改善における分子メカニズムが解明され、骨格筋の質と量を標的とした食事療法として時間制限給餌が考慮される日が来るのではないかと筆者は考えている。

■ 参考文献

- 1) Gomes MD, Lecker SH, Jagoe RT, et al. Atrogin-1, a muscle-specific F-box protein highly expressed during muscle atrophy, Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 ; **98** : 14440-5.
- 2) Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy, Science. 2001 ; **294** : 1704-8.
- 3) Taillandier D, Polge C. Skeletal muscle atrogenes: From rodent models to human pathologies. Biochimie. 2019 ; **166** : 251-69.
- 4) Chaudhari A, Gupta R, Patel S, et al. Cryptochromes regulate IGF-1 production and signaling through control of JAK2-dependent STAT5B phosphorylation. Mol Biol Cell. 2017 ; **28** : 834-42.

- 5) Hirata Y, Nomura K, Senga Y, et al. Hyperglycemia induces skeletal muscle atrophy via a WWP1/KLF15 axis. *JCI Insight*. 2019 ; **4** : e124952.
- 6) Dyar KA, Hubert MJ, Mir AA, et al. Transcriptional programming of lipid and amino acid metabolism by the skeletal muscle circadian clock. *PLoS Biol*. 2018 ; **16** : e2005886.
- 7) Aoyama S, Kojima S, Sasaki K, et al. Day-Night Oscillation of Atrogin1 and Timing-Dependent Preventive Effect of Weight-Bearing on Muscle Atrophy. *EBioMedicine*. 2018 ; **37** : 499-508.
- 8) Das M, Ellies LG, Kumar D, et al. Time-restricted feeding normalizes hyperinsulinemia to inhibit breast cancer in obese postmenopausal mouse models. *Nat Commun*. 2021 ; **12** : 565.
- 9) Abe T, Kazama R, Okauchi H, et al. Food deprivation during active phase induces skeletal muscle atrophy via IGF-1 reduction in mice. *Arch Biochem Biophys*. 2019 ; **677** : 108160.
- 10) Villanueva JE, Livelio C, Trujillo AS, et al. Time-restricted feeding restores muscle function in *Drosophila* models of obesity and circadian-rhythm disruption. *Nat Commun*. 2019 ; **10** : 2700.
- 11) Lundell LS, Parr EB, Devlin BL, et al. Time-restricted feeding alters lipid and amino acid metabolite rhythmicity without perturbing clock gene expression. *Nat Commun*. 2020 ; **11** : 4643.
- 12) Aisbett B, Condo D, Zacharewicz E, et al. The Impact of Shiftwork on Skeletal Muscle Health. *Nutrients*. 2017 ; **9** : 248.
- 13) Lucassen EA, Coomans CP, van Putten M, et al. Environmental 24-hr Cycles Are Essential for Health. *Curr Biol*. 2016 ; **26** : 1843-53.
- 14) Choi YI, Park DK, Chung JW, et al. Circadian rhythm disruption is associated with an increased risk of sarcopenia: a nationwide population-based study in Korea. *Sci Rep*. 2019 ; **9** : 12015.

時間栄養学研究の最前線 ～Progress in Chrono-Nutrition～ Vol. 1 No. 1

発行 2021年1月31日

日本時間栄養学会事務局

大石 勝隆