時間栄養学による生活習慣病の予防

香川 靖雄

Prevention of lifestyle-related diseases by chronological nutrition

Yasuo Kagawa

女子栄養大学医化学研究室, 〒350-0288 埼玉県坂戸市千代田3-9-21 (Department of Medical Chemistry, Kagawa Nutrition University, 3-9-21 Chiyoda, Sakado, Saitama 350-0288, Japan)

Received / Accepted: April 16, 2014

Abstract Chronological nutrition is based on biological clocks that include clock genes and telomeres. Clock genes predict the day/night cycle to regulate both physical and mental activity in best condition, and prevent lifestyle-related diseases. Telomeres, the repeated series of DNA sequences that cap the ends of chromosomes, become shorter during cell division, thus determine lifespan of the individuals and organs. Even when dietary intake and exercise are adequate, disturbance of diurnal rhythm results in hypertension and hyperglycemia. Human activity is driven by NADH and ATP produced from nutrients, and the resulting NAD and AMP prevent telomere shortening by activating enzymes called SIRT1 and AMPK, respectively. Both enzymes collaborate in activating the master regulator PGC-1 α that prevents oxidative stress and obesity. Physical activity increases PGC-1 α and releases a hormone irisin from muscle that also prevents obesity. The dietary habit conforming good chronological nutrition are as follows: take nutritionally balanced breakfast every morning, distribute energy intake in the ratio breakfast: lunch: dinner = 3:3:4, and avoid dinner later than 21 o'clock or take earlier light dinner. Slow feeding and the intake of vegetables before carbohydrate are recommended to prevent rapid blood sugar increase. Regular 7 hour sleep is essential for the removal of metabolic wastes by "brain glymph system" to prevent dementia. The homeostatic and hedonic feeding and daily activity are controlled by human brain. Thus, lifestyle-related diseases will be prevented by moderation following the principles of chronological nutrition, irrespective of risk gene polymorphism.

Jpn J Phys Fitness Sports Med, 63(3): 293-304 (2014)

Keywords : clock gene, telomere, circadian rhythm, diabetes

緒言

体力や学力を増進し、生活習慣病を予防するとして期待されているのが時間栄養学である。生活習慣病は時間経過に伴う生命現象であることは自明であるが、それを支配している時計遺伝子とテロメアの関連から生活習慣病を解析した論文^{1,2)}は少ない。その理由は人体の時計遺伝子の分子機構が知られたのは今世紀に入ってからで、テロメア研究にノーベル医学生理学賞が授与されたのも2009年のことだからである。あらゆる生物は微生物から植物、動物まで、昼夜を予測して、事前に体制を準備する時計遺伝子を持っている^{1,2)}。例えば朝顔は暗所でも朝に咲くのは時計遺伝子が開花を決めているからである。人体では午前4時には活動を高める副腎皮質ホルモンの分泌が始まり、同時に睡眠ホルモンのメラトニンは減る。このように時計遺伝子には未来予測能と機能分業能があり、早朝には活動条件を整えるのと同時に休息の代謝は

抑制する。

ヒトでは主時計遺伝子は脳の視交叉上核にあり、朝日を網膜で感受して、時計遺伝子の位相を朝に合わせる(Fig. 1)。末梢時計遺伝子は消化器を始め全身の細胞にあり、朝食摂取によって位相を整える。両時計遺伝子が同調して、神経、内分泌の各系の円滑な活動で、心身を活性化し、ストレスにも耐える^{1,2)}。交代勤務や時計遺伝子の変異によって日周リズム変調が起こると高血圧、高血糖を誘発して、循環器疾患、糖尿病のリスクが高まる(Fig. 1中下)。時間栄養学の長期の指標はテロメア長である^{1,2)}。テロメア長は細胞分裂毎に短縮するため、ヒト体細胞には50回の分裂寿命しかない。出生時に1万塩基あったテロメア長が年間平均50塩基ずつ短縮して行き、約5千塩基以下では生存できない。寿命と関係が深い内皮細胞はFig. 1中央に示す高血圧、高血糖、高脂血、活性酸素によって死滅し、それを代償的に修復するため細胞分裂が促進されて、やがて多くの内皮細胞のテロメア

長が分裂寿命に達して動脈硬化が進み、脳卒中、心筋梗塞が発症する。中高年期に開始した生活習慣病の薬物治療でたとえ血圧、血糖等の諸指標を正常化しても、テロメア長は短縮しており、若年期から節制を行った場合の脳卒中、心筋梗塞のリスクの低さを達成することはできない（レガシー効果）。これに対して飽食や運動不足は肥満を招き、糖尿病や循環器疾患を経て、最終的にはテロメア長の短縮によって健康寿命を短縮させる（Fig. 1 右下）¹⁾。

生活習慣病と生物時計

生活習慣病予防のために最適の栄養摂取量と運動を揃えても、日周リズムを乱すだけで、高血圧、肥満、高血糖等を起こすことが人体試験で確認されている^{1,3)}。寿命と睡眠時間の関係を百十万人で調査すると、睡眠時間が平均7時間の人は最も死亡率が低く、8.5時間以上または4.5時間未満の睡眠時間では死亡のリスクが15%高まる（Fig. 2）⁴⁾。この睡眠時間と寿命の関係⁴⁾をテロメア長で実測すると、睡眠の質が悪いほどテロメア長が短縮するのである⁵⁾。テロメアが短縮する理由は生活習慣病による細胞死の代償的細胞分裂と、活性酸素によるテロメアの破壊である。睡眠時間が7時間よりも長くても短くてもBMIが増加し、生活習慣病の発生頻度が増し、死亡率が高まるのである⁴⁾。遺伝要因による日周リズムの乱れによって、高血圧と2型糖尿病が発症することは確認されており、例えばBmal1変異の龐大なHapMap Projectのデータから結論された⁶⁾。とくに睡眠時間の糖尿病、高血圧、肥満（BMI）などの生活習慣病の発症頻度は睡眠時間7時間を最小として、Fig. 3のように、睡眠不足でも、睡眠過多でも増加するのである⁷⁾。これに対して、食欲と大きな関連のあるレプチンとグレリンの分泌量は反対の方向に増減する（Fig. 3）。レプチンは脂肪組織から分泌されて、視床下部に作用して食欲抑制をするので睡眠不足で食欲を亢進させ肥満となるが、睡眠過多では活動のエネルギー自体が少ないのでやはり肥満、糖尿病のリスクが増す。グレリンは胃から分泌され、視床下部に作用して食欲亢進作用を持つため、睡眠不足は肥満の一因となる。睡眠過多が活動減少で肥満となるのは理解できるが、睡眠不足による肥満、糖尿病の発生機構はFig. 4に要約されるように複雑である⁸⁾。代謝の中心である視床下部の変調、脳糖代謝減少、下垂体からの成長ホルモン増加、副腎からのコルチゾール分泌増加が伴う。一方、交感神経の緊張は代謝を促進はするが、血圧が上昇し、循環器疾患の誘因となる。環境要因による日周リズムの乱れの例としてシフトワーカーの高血圧、2型糖尿病、癌の多発、生活習慣病の進行も良く知られている¹⁾。生活習慣病予防に適した栄養、運動をしても、1日4時間の日周リズム延長を4週間続けただけで、コ

ルチゾール周期の乱れ等を伴って肥満、高血圧、高血糖のいずれもが有意（ $p < 0.001$ ）に発症し、前糖尿病状態が起こることが厳密な人体試験で確立された³⁾。Fig. 2, 3のように、睡眠覚醒、それに伴う栄養という毎日の時計遺伝子の働きが80年近い生活習慣病の過程にFig. 4の機構⁸⁾を通して影響していることは時間栄養学が生活習慣病予防の重要な要因であることを示している。

時計遺伝子の機能と分子機構（略号はFig.の説明参照）

Fig. 1に示すように、脳の視交叉上核に主時計遺伝子があって約25時間の概日リズムを自律的に作る^{1,2)}。朝日は網膜の神経節細胞のメラノプシンに感受されて網膜視床下部路から視交叉上核の主時計遺伝子に伝えられて、時計の自律的な25時間周期の概日リズムを24時間の日周リズムにリセットして心身活動を始動する。このリセットは季節による日の出時刻の変動に体調を合わせるためである。時計遺伝子は夕刻を予測して松果体のメラトニンを分泌させ睡眠を促す。Fig. 1下に示すように、体内の各臓器には末梢時計遺伝子があり、栄養バランスのとれた朝食でリセットされる。末梢時計遺伝子は臓器を取り出しても数日間には独自のリズムを持つが、長期には主時計遺伝子の影響下にある^{1,2)}。

概日リズムは時計遺伝子の転写と翻訳の負のフィードバックループで自動的に作られる。明確に説明するために、本総説では中核となるフィードバックループだけを簡潔に述べる（Fig. 5）^{1,2)}。転写制御因子のCLOCKとBMAL1は結合して1個の異型2量体（CLOCK/BMAL1）を形成する。この2量体が遺伝子のEボックスという塩基配列に結合して、PerとCryという遺伝子の転写を活性化する。こうして合成されたPERとCRYという蛋白質がPER/CRY複合体（抑制因子）となって、自身の遺伝子の転写を促進するCLOCK/BMAL1の活性を抑制する（Fig. 5上右）。この結果PER/CRY複合体が減少し、PerとCry遺伝子の転写が再開される。この転写活性化因子と転写抑制因子の交互の活動に時間差があるために、振動がおこるのである（Fig. 5上左）。ヒトのPER1～PER3（マウスのPer1～Per3）などの種特異的な亜種がある。その上に、蛋白質リン酸化酵素ははじめ数十の関連蛋白質の候補遺伝子が概日リズム遺伝子のネットワークに関与する¹⁾。重要な点は数百の遺伝子にもE-ボックスがあって周期的に代謝を変動させるので、その全てを時計制御遺伝子（CCGs）と呼び、全転写産物の約10%を産生して心身活動のリズムを作る（Fig. 5右）。この日周リズムが乱れた場合の時計遺伝子の変調を筆者等の食事時刻を移動させるマウスの実験でFig. 6に示す。8週間昼の給餌を続けてから、臓器の末梢時計遺伝子の発現で合成されたPerやBmal1のRNAを逆転写酵素でDNAに変換して定量する。マウスは夜行性である

Fig. 1 Central roles played by the brain in controlling clock genes and telomere.

Environmental signals (yellow arrows), including stress, light, and breakfast, are received and processed by the cortex, SCN, and liver, respectively. Disturbed rhythm, such as shift work, causes hypertension and hyperglycemia. Based on the circadian rhythm of the master and peripheral clocks, voluntary will triggers a hedonic or moderate lifestyle. Regular life and exercise prevent obesity-related cardiovascular diseases and type 2 diabetes. The telomere length is shortened by ROS and cell proliferation to compensate cells lost to these diseases.

Abbreviations: ROS, reactive oxygen species; SCN, supra-chiasmatic nucleus.

Fig. 2 Mortality hazard ratios for various reported sleep durations for men and women.

Data collected from 636,095 men and 480,841 women in the Cancer Prevention Study II (1982-1988). Both men and women with a usual sleep duration of 7 h had the best survival. Participants reporting sleep durations ≤ 6 h and ≥ 8 h had significantly increased mortality hazard. The daily activity of clock gene is finally accumulated in telomere and healthspan. Adapted from Ref. 4.

Fig. 3 Relationship between sleep duration and prevalence of hypertension, type 2 diabetes and obesity (BMI).

Data for hypertension are from the Sleep Heart Health Study. Usual sleep times ≤ 6 h or ≥ 9 h/night were associated with an increased prevalence of type 2 diabetes and impaired glucose tolerance. After adjustment for age and sex, those sleeping more and less than 7.7 h/night had an increased BMI with curvilinear relationship. Serum leptin and ghrelin concentrations increase and decrease, respectively depending on the sleep duration. Increased BMI and reactive oxygen species produced by obesity and diabetes shorten both telomere length and healthspan. Data are adapted from Ref. 7.

が、夜間の給餌を止めて、昼に給餌するだけで、末梢時計遺伝子の *Per*, *Bmal1* の発現のピークが大きくずれて、昼夜の光による中枢時計遺伝子の活動との同調が失われることが判る (Fig. 7).

日本人の40代の曜日の睡眠時間は男性6時間43分、女性6時間28分と国際的にも短い (NHK国民生活調査2010年)、それと同様に睡眠を毎晩5.7時間に1週間制限するだけでCCGのmRNAの発現パターン (トランスクリプトーム) が8.5時間睡眠に較べ大幅に変動す

るのである (Fig. 8)⁹⁾. Fig. 8に示す遺伝子の中で影響を受けた時計遺伝子群は *PER1*, *PER2*, *PER3*, *CRY*, *CLOCK* 等であった⁹⁾. また、睡眠不足時にのみ増加したリズムで発現する遺伝子群は主に蛋白質合成に関与する遺伝子であった. このように環境の影響でリズムが変調する場合の他に *CLOCK* (Fig. 6) や *BMAL1* 等の変異によるリズムの変調もある⁶⁾. *BMAL1* が欠損すると寿命が短縮し、様々な疾患が発生するのである¹⁰⁾. これらの時計遺伝子の変異によって、CCGsの発現も変動を受け、

Fig. 4 Partial sleep deprivation and disturbance of energy balance causes lifestyle related diseases including obesity, type 2 diabetes and cardiovascular diseases. Adapted from Ref. 8.

Fig. 5 A simplified negative feedback loop of the mechanism responsible for human circadian rhythm generation.

The process begins when Clock/Bmal1 heterodimers drive the transcription of Per and Cry genes and translate the mRNA into Per and Cry proteins, respectively. When levels of Per and Cry proteins reach a threshold, they form heterodimers and inhibit Clock/Bmal1-mediated transcription of their own genes. The resulting decrease in Per/Cry resumes their own transcription. This feedback loop takes about 25 h, thereby resulting in a free-run circadian rhythm, which is converted into a 24-h diurnal rhythm by resetting the clock genes with morning light and breakfast. Abbreviations: Bmal1, brain and muscle ARNT-like protein 1; Clock, circadian locomotor output cycles kaput; CR, caloric restriction; Cry/Crys, cryptochrome; E-box, nucleotide sequence CACGTG in the regulatory region of a gene; PGC-1 α , peroxisome proliferator-activated receptor coactivator α ; Per/Pers, period. (Ref. 1)

Fig. 6 Change in meal timing of mice affects the clock gene activity. (Hiraishi, M., Kagawa, Y. and Horie S. 132th Congress of The pharmaceutical Society of Japan 2012)

すでにFig. 4, 5で示した諸反応を通して生活習慣病を招くのである^{1,4-10}。筆者の千人を超える日本人の時計遺伝子多型の頻度調査では、CLOCK多型(rs1801260のCC型4.2%, rs4864548のGG型16%), PER多型(rs2304672のGG型1.0%)であり、睡眠時間や生活習慣病との関連を検討している。

高齢者に見られる睡眠時間の乱れなど、日周リズムの乱れが生活習慣病の原因となるか、結果に過ぎないかは安易に判定できない。そこで、厳密な分子生物学の対象であるショウジョウバエを用いて、リズム乱調が原因であると決定した¹¹。すなわち、*Per*の変異と生活習慣病を促進する酸化ストレス関連遺伝子を同時に検討したところ、各々単独でも、組合せでも寿命を短縮したのである¹¹。

テロメアと生活習慣病

テロメアは哺乳類細胞の寿命を制御する中心的な役割を果たしており、肥満、糖尿病、動脈硬化などの老化に伴う諸疾患の発症に関与している¹。ヒトの体細胞は分裂毎に短縮し、5 kbの限界に達するからである。たとえば、高脂肪食による肥満でインスリン抵抗性が増すので、インスリン分泌を増加するために膵臓の β 細胞が増殖し、細胞分裂マーカー Ki-67は高脂肪食群で多くなる(前糖尿病状態の高インスリン血)。しかし、マウス体細胞の分裂寿命は約10回であるから、やがてテロメア長が限界に達して老化細胞になる¹。この老化細胞では形態が変わり、Ki-67が減少し、老化関連 β ガラクトシダーゼの活性が増加する¹²。膵臓のランゲルハンス島はFig. 9Aに示すように対照食ではテロメアの尽きた老化細胞がないがFig. 9Bには、高脂肪食を11ヵ月摂取してテロメアの尽きた老化細胞が発現する β ガラクトシダーゼで青色に染まった細胞が大部分を占めるようになり、インスリン分泌は低下して、高血糖で糖尿病となっている¹²。そのテロメア長を実測するとFig. 9C, 9Dのように4ヵ月時点(青)ではテロメア長は十分に長いが、11ヵ月目には対照食群(緑)に比べ、高脂肪食群(赤)では、対照食に比べてテロメア長が速く短縮している¹。この β 細胞老化が糖尿病の原因と考えられるようになった¹。同様な組織特異的テロメア短縮の例は高血圧患者の内皮細胞¹³、非アルコール性脂肪肝の肝細胞¹⁴などがその例である。肝細胞がウイルス性肝炎や非アルコール性脂肪肝(NASH)で死滅すると、直ちに代償性に肝細胞が分裂して行き、最後に肝細胞の分裂寿命が尽きた状態が肝硬変である¹⁴。

時計遺伝子の乱れはテロメア長の短縮として記憶されてゆくが、多数の生体物質も加齢で老化する。テロメアのDNAは染色体の末端にあって、遺伝情報をコードしない二本鎖DNAのG(グアノシン)に富んだ塩基配列(TTAGGG)が縦列に反復した構造を持っている。リズ

ム乱調による肥満では脂肪細胞や非アルコール性脂肪肝炎には単球走化性蛋白質(MCP)が発生してマクロファージが集まり、無菌的慢性炎症反応を起こして活性酸素(ROS)を発生させる¹⁵。活性酸素は特にDNAのデオキシグアノシン(G)を8ヒドロキシデオキシグアノシンに酸化する。テロメアのGGG三連塩基は活性酸素に侵され易い構造であり、細胞分裂の促進なしにテロメアDNA中のGGG配列を酸化してテロメア短縮させ、細胞寿命を短縮する¹。活性酸素はミトコンドリアDNA変異を促し、酸化LDLで動脈硬化を誘発し、蛋白質の酸化修飾で生活習慣病を早める。

高齢者の大きな特徴であるエネルギー代謝の低下は心身の活力を下げ、生活習慣病の一因となる。ヒトの線維芽細胞を0歳から97歳までの様々な年齢の供与者から得て調べると年齢と共にエネルギー代謝量の基本である呼吸能(チトクローム酸化酵素活性)の低下と加齢が良く平行している¹⁶。例えば97歳の供与者から得た線維芽細胞の呼吸量と蛋白質合成能は、胎児から得たものの僅か15%しかなかった¹⁶。このような年齢に依存したミトコンドリアの機能はテロメア長で制御されている¹⁶。

実際に、高齢者から得たサイトプラスト(核を除去した細胞質)中の低下したミトコンドリアの活性とミトコンドリア合成能は、HeLa細胞(子宮がん細胞)から作った ρ^0 細胞(ミトコンドリアを除去した細胞)はテロメア長がテロメラーゼで十分に保たれているために、この ρ^0 細胞と老化サイトプラストを融合させると、これら活性が完全に回復されたのである¹⁶。

生活習慣病を決める要因はテロメア長を基本として、これとは独立のミトコンドリアの遺伝子変異蓄積、細胞成分の糖化や架橋など多くの指標の老化である。リズム乱調による高血糖が体蛋白質を糖化し、AGEs(糖化最終生成物)蓄積と蛋白質架橋が促進される。アルツハイマー型認知症のようにテロメア短縮とは無関係なアミロイド β 蛋白質蓄積による細胞死もあるが、アミロイド β 蛋白質の脳からの排出は睡眠時間に脳のグリンパ系を介して行われるので¹⁷、時計遺伝子の関与は明白である。テロメア長の他に、ミトコンドリア呼吸能、組織蛋白質の架橋を始め、多くの指標が平均約百歳で寿命が尽きるの、長い進化の結果と推定されている。

時計遺伝子からテロメアへの情報伝達機構 (略号はFig.の説明を参照)

運動等の人体活動を駆動しているATPは、栄養素から作られるNADHをミトコンドリアで酸化して得られるエネルギーでATP合成酵素を分子内回転させて合成される(Fig. 10)¹⁸。1日に合成、分解されるATPの総量は体重にはほぼ等しい上に、脳の自由意志によって骨格筋や神経の活動が瞬時に数十倍も変動するため、そ

の代謝は時計遺伝子を含む高度の制御系で調節されている¹⁸⁾。そのエネルギー代謝を制御する主要な因子はNADHの酸化によって生じるNADと、ATPの消費で生じるADPとAMPである^{1,18)}。摂取エネルギーを制限するとNADとAMPの量が増加し、動物の健康寿命（健康な生存期間）を延長することが知られている。適度なエネルギー制限は全ての生物に応用できる確実な生活習慣病予防法であるが、これは生物が飢餓に耐えて種の保存を計るために進化した機構と考えられている。その機構は減食や運動によってNAD/NADH比を高め、長寿因子SIRT1（NAD依存性脱アセチラーゼ）が老化機構の諸蛋白質を脱アセチル化し細胞死を防ぎ、テロメア長と健康寿命を維持すると推定されている（Fig. 10右下）¹⁾。NADが節食（CR）や運動で増加すると長寿因子SIRT1は直接テロメアに結合して短縮を防ぐことが免疫沈降測定法で立証されている（Fig. 10左下）。SIRT1はNADを

Fig. 7 Effects of meal timing on the circadian rhythm of clock gene expression of *Per2* and *Bmal1*. The amount of mRNA expression *Per 2* and *Bmal1* was measured on the lung tissue of mice treated in Fig. 6. (Hiraishi, M., Kagawa, Y. and Horie S. 132th Congress of The pharmaceutical Society of Japan 2012)

アセチル基の受容体として、遺伝子発現のマスター制御因子（共活性化因子）であるPGC-1 α の不活性アセチル化型のアセチル基（Ac）をのぞき、その活性を上げる（Fig. 11中央）。

一方、ATPの分解で生じるADPの一部は2 ADP=ATP+AMPのアデニル酸キナーゼ反応でATPを再生するので、AMPの濃度はADPよりも鋭敏なエネルギー不足の指標である（Fig. 10右上）。そのためにAMPで活性

Fig. 8 Intersection of genes identified as circadian and time-awake-dependent in control and sleep-restriction (SR) conditions revealed by transcriptome.

(A) Venn diagram of prevalent circadian genes. (B) Venn diagram of genes identified as having a prevalent time-awake upward trend. (C) Venn diagram of genes identified as having a prevalent time-awake downward trend. Transcriptome analysis revealed that 711 genes were up- or down-regulated by insufficient sleep. Insufficient sleep also reduced the number of genes with a circadian expression profile from 1,855 to 1,481, reduced the circadian amplitude of these genes, and led to an increase in the number of genes that responded to subsequent total sleep deprivation from 122 to 856. Genes affected by insufficient sleep were associated with circadian rhythms (*PER1*, *PER2*, *PER3*, *CRY2*, *CLOCK*, *NR1D1*, *NR1D2*, *RORA*, *DEC1*, *CSNK1E*). Cited from Ref. 9.

Fig. 9 Detection of β -cell senescence by β -galactosidase (panels A and B) and telomere shortening (panels C and D) induced by high-fat diet.

Pancreatic islet of a mouse fed a control diet (A) or a high-fat diet (B) for 11 months. Blue color indicates β -galactosidase activity. Panel C: quantitative polymerase chain reaction (PCR) of telomere. Arrows indicate the points at which the threshold line was crossed (blue: 4-month control, green: 11-month control of the mouse in panel A, and red: 11-month high-fat diet of the mouse in panel B). Telomere length was determined by real-time kinetic quantitative PCR, as reported by Cawthon. Abbreviations: Cycle, cycle number of PCR; DRn, signal intensity under the specified PCR condition; Ct, threshold cycle value, or the fractional cycle number at which the well's accumulating fluorescence crossed a set threshold that was several standard deviations above baseline fluorescence; T/S ratio, the relative ratio of telomere to single-copy gene, approximated by $[2^{Ct(\text{telomeres})}/2^{Ct(36B4)}]^{-1} = 2^{-\Delta Ct}$, which is a specific standard primer. (Ref. 1 and 12)

化されるAMP依存キナーゼは細胞の燃料計と呼ばれる。AMPキナーゼは生体のエネルギー不足を解消するために、脂肪酸の β 酸化、糖質の解糖を促進し、脂肪合成を停止させる¹⁹⁾。そのため、いかに良い食事、運動のタイミングでAMP依存キナーゼの活性を上昇させるかが、メタボリックシンドロームの治療の指標とされる¹⁹⁾。

節食と運動で増加したAMPはAMP依存キナーゼを活性化して、脱アセチル化したPGC-1 α をリン酸化して活性化する (Fig. 11 中央)。リン酸基 (P) で活性化されたPGC-1 α はマスターキーが多くの扉を開くことができるように、このマスター制御因子は多くの機能を活性化する^{1,20)}。PGC-1 α はテロメア短縮の大きな原因である肥満とROSを抑制するがそれはFig. 11下にあるように、肥満を防ぐミトコンドリアの増殖を促進し、ROS発生の諸酵素を阻害するからである¹⁾。筋肉運動は後述のようにPGC-1 α を増加させ、筋肉からイリシンというホルモンを分泌させて肥満を防ぐ。PGC-1 α の健康寿命延伸作用は、直接的なPGC-1 α 遺伝子除去マウスを用いて結論された²⁰⁾。さらに、SIRT1がテロメアを保護し、中枢時計の老化を防ぎ、日周リズムを健全に維持する²¹⁾。また、視交叉上核内だけでSIRT1を過剰発現させると日周リズムは短縮する²¹⁾。時計遺伝子の乱調で肥満が起こるが、先述のように肥満は無菌的慢性炎症を誘発し¹⁵⁾、発生する活性酸素でテロメア短縮を促進し、脂質を酸化して老化を促進する^{15,22)}。結論として、PGC-1 α のAMPKとSIRT1による転写後修飾 (Fig. 11 中央) とPGC-1 α の転写調節によって、PGC-1 α は時計遺伝子とエネルギー代謝を総合して²⁰⁾、活性酸素と肥満を防ぎテロメア短縮を防止する¹⁾。

体力向上と時間栄養学

体力の向上は生活習慣病の予防の重要な手段であるとともに、高齢期のサルコペニア、ロコモティブシンドロームの予防にも重要である。生活習慣病の平均発症率が50%を越える年齢は肥満非運動者65歳、非運動者72歳、普通80歳、持久運動者は90歳と大きな差が認められる²²⁾。従来、持久運動の効果は有酸素運動によるミトコンドリアでの脂肪酸消費で肥満が予防されるためと考えられてきた。しかし、最近になって、骨格筋が運動に伴って、健康ホルモンであるイリシン (irisin) を分泌し、脂肪組織に作用して、脂肪酸酸化を促進し肥満、糖尿病を予防することが解明された (Fig. 12)^{22,23)}。骨格筋の持久運動はPGC-1 α の発現を増加させる²³⁾。PGC-1 α は骨格筋形質膜中のFNDC5という骨格筋の発生分化因子を増加させるが、FNDC5のカルボキシ末端側が切断されてイリシンという骨格筋ホルモンとなる。イリシンは肥満の核心である白色脂肪組織に作用して、褐色細胞に似たベージュ脂肪細胞に変えてATPのエネルギーを熱に

変換する脱共役因子1 (UCP1) を発現させて、減量と血糖動態を改善する (Fig. 12 右下)²³⁾。

競技者のための時間栄養学はカーボローディングや競技前、競技中の栄養補給のタイミングなどが詳しく研究されているが、一般人の健康のための体力向上にも時間栄養学が必要である。筋力トレーニングの後には、その強度が大きいときには、筋肉の回復のための休息のタイミングが重視される。それに伴って、筋肉増強のための分枝鎖アミノ酸あるいはそれらに富む乳漿蛋白質の投与には、日内の内分泌系自律神経系の活動に合わせる²⁾。成長ホルモンは、就寝後90分間に放出されるので、夕食時の蛋白質と糖質やカルシウム増加が回復を早め、筋肉と骨格の維持、増強に有効である²⁾。成長ホルモンは就眠直後以外にも、無酸素運動後に大量に分泌されるので、ウォーキング等の有酸素運動の前に筋力トレーニングなどの無酸素運動を併せて行うのが脂肪酸酸化に有効である。蛋白質の損失の激しい患者の回復期に使用されるアナボリックステロイドは健常な競技者に用いればドーピングで問題となる。蛋白質同化作用のある生理的なテストステロンの運動による分泌増加は少ない。蛋白質の推奨量はほぼ1 g/体重1 kgであるが、筋肉増強のために必要な蛋白質摂取量は1日に体重1 kg $\times$ 2 gとされる。分枝鎖アミノ酸と糖質は運動前に摂取するというタイミングが有効である²⁴⁾。蛋白質は消化吸収に時間がかかるので、トレーニング中では急速に吸収される遊離のアミノ酸混合物を摂取するのがよい。不可欠アミノ酸と糖質の摂取タイミングは重水素標識フェニルアラニンを用いた研究では、トレーニング前30分以内の摂取はトレーニング後摂取より有意に優れていた²⁴⁾。

食後高血糖の抑制と過激な減量の回避

摂取速度の速さやグリセミックインデックス (GI) の高さが血糖値の急激な上昇を招き、それに対応するインスリン分泌増加で糖が脂質に変えられ肥満を経て糖尿病となる。同じ食事でも、ゆっくり食べることと、繊維に富んだ野菜を先に食べることで、急激な血糖値上昇を防ぐ (Fig. 13)²⁵⁾。懷石料理の様に、時間をかけ、米飯を最後に摂取すると良い。同じ糖尿病食でも野菜を先に食べる教育をした群は、2年半後に対照群に較べて、とくにHbA1cの低下が著しく、BMI、LDLなどの改善も有意に優れていた (Fig. 14)²⁵⁾。

最近の日本人の摂取量は米飯よりもパン、それに伴って魚類よりも肉類が多くなっている²⁶⁾。とくにTPP (環太平洋戦略的経済連携協定) が妥結すれば小麦、肉類の価格が急落して、この傾向に拍車がかかり、日本人の栄養に重大な影響を及ぼすと憂慮されている。なぜなら、すでに欧米化した食事を摂るハワイの日本人では、白人の3倍も糖尿病の発症率が高いからで、日本人は白人に

Fig. 10 Central role of clock genes in the regulation of energy metabolism and telomere shortening. Nutrients reduce NAD, while the electron transport system in the mitochondria drives protons to form electrochemical energy, which rotates the central axis of ATP synthase. Clock genes in the suprachiasmatic nucleus (SCN) in the hypothalamus and PGC-1 α in the cells regulate activities driven by ATP. The resulting AMP activates AMPK. The circadian rhythm of metabolism eventually accumulates NAD, a substrate for SIRT1, which maintains telomere length. On the other hand, ROS from mitochondria reduce telomere length. Abbreviations: AMPK, adenosine monophosphate-activated protein kinase; CCG, clock-controlled genes; ROS, reactive oxygen species; SIRT1 (or NAD-dependent deacetylase sirtuin-1), silent mating type information regulation 2 homolog 1.

Fig. 11 Relationship between clock gene, telomere, and PGC-1 α .

Both caloric restriction (CR) and exercise increase AMP and NAD. PGC-1 α is phosphorylated by AMPK and deacetylated by SIRT1, and it activates the mitochondria. Mitochondrial activation increases NAD and protects telomere length by NAD-dependent deacetylation of SIRT1.

Abbreviations: Ac, acetyl group; AMPK, adenosine monophosphate dependent kinase; ATP, adenosine tri-phosphate; Bmal1, Brain and muscle ARNT-like protein 1; CCG, clock-controlled genes; CR, caloric restriction; NAD, nicotinamide adenine dinucleotide; NADH, reduced NAD; P, phosphate group; p53, a tumor inhibitory protein; PGC-1 α , peroxisome proliferator-activated receptor coactivator a; ROS, reactive oxygen species; SIRT1, silent information regulation 2 homolog 1.

Fig. 12 Exercise-induced adipose tissue browning through PGC-1 α and irisin.

Exercise increases the expression levels of PGC-1 α in the muscle. This, in turn, upregulates the expression of FND5, a type I membrane protein, which is C-terminally cleaved and secreted as irisin into the circulation. Binding of irisin to an unknown receptor on the surface of adipocytes in white adipose tissue changes their genetic profile. In particular, irisin induces the expression of PPAR- α , which is thought to be an intermediate downstream effector that increases the expression of UCP1 (highly expressed in brown adipose tissue and a marker of browning). The browning of white adipose tissue is associated with augmented mitochondrial density and oxygen consumption. Browning is accompanied by an increase in the energy expenditure profile, leading to favorable effects on metabolism such as weight reduction. FND5: Fibronectin type III domain containing 5. UCP1: Uncoupling factor 1. Modified from Ref. 23.

比してインスリンの分泌量、分泌速度が約半分と低く (Fig. 15), エネルギー代謝の遺伝子多型頻度も大きく異なるからである。GIは白米で82と高いが、パンはさらに高い92である。なぜなら粒食は消化速度が遅いが、パンのような多孔質の構造を持った粉食は消化液が即時に澱粉を分解して急激な血糖上昇を招くからである。

エネルギー摂取量を夕食で減らし、朝食で増すと糖尿病指標は改善する。摂食速度は1口25回程度咀嚼して急激な血糖上昇を抑える。咀嚼回数を自然に増やすには未精白の穀類など食物繊維を増加する。食物繊維の摂取量は食事摂取基準では1000 kcalあたり10 gと策定されているが²⁷⁾、現状の14.2 g²⁶⁾は推奨量の約半分だからである。

現在報道されている減量法は月に10 kg痩せられる等と減量の速度を競っている。しかし、脳は血糖だけがエネルギー源なので、血糖の急激な低下によって筋肉や骨の蛋白質を血糖に変える糖新生反応が起り、筋萎縮や骨粗鬆症が起こる。1日の消費エネルギーは日本人平均で1840 kcal、仮に十分な運動を加えても2000 kcalであるが、脂肪組織1 kgは7200 kcalなので、10 kg痩せるには1月以上かかるが、急激な減量に伴う糖新生によって筋肉は1 kgが僅か800 kcalであって、筋肉が極度に減少する。その筋肉減少のために、エネルギー消費が減り、同じエネルギーを摂取しても肥満が再発する (リバウンド)。女子栄養大学では、1月に1 kg、すなわち腹囲にして1 cm程度の減量速度として、食事の時間栄養学で肥満を防ぎ、筋肉や骨が減少しないように運動を伴った四群点数法で栄養バランスを十分にとる。

食事の適正時刻

日本人の食事摂取基準²⁷⁾には、推奨量や目標量の記載のみで、健康に重要な摂取時刻、食事量の朝昼夕食での配分、摂取速度と摂取順序など時間栄養の基準はない。栄養学的効果は同一献立、同一量の食事では等しいという食事摂取基準の前提は誤りで、同一食事を朝食で摂れば夜食の4倍の食事誘導性エネルギー発生を心身の起動に消費し、夜食で摂れば主に脂肪として貯える (Fig. 16)。これは、バランスのとれた朝食は時計遺伝子の位相を合わせて、心身の活動を高め、昼までに体温を約1.5℃体温を上昇させるからである。これに対して、朝食欠食では、時計遺伝子がエネルギー不足を予測して、心身の活動を下げるので体温上昇は僅かにとどまる²⁾。朝食は中枢時計遺伝子の位相が朝日でセットされて2時間以内に摂取すると末梢時計遺伝子の位相との同調が良く、健康に良い。夜食では夜間に脂肪酸合成酵素とマロニルCoA合成酵素の転写を促進するBmal1が増加するので、食事のエネルギーの75%は脂肪に変えられ肥満するからである²⁾。夜食が避けられない場合には、18時頃に分食を摂り、9時以降は極力摂取量を減らす。

不規則な生活は喫煙による発癌と同様、苦痛のない数十年を経て、糖尿病、脳卒中や認知症を起こすので直ぐには効果が判定できない。しかし、不規則に食事制限を行うと生検で得たヒト脂肪組織の時計遺伝子 (*BMAL1*, *PER1-3*, *CRY1-2*) とCCGsの発現は大きく影響されることが、マイクロアレイ実験で解明され、規則正しい食事時間が血清脂質、体温曲線、インスリン抵抗性はじめ客観的な健康指標を高めることが分子レベルでも確認された²⁸⁾。このとき、時計遺伝子の振動する遺伝子とCCGsの発現の位相のずれが肥満を生じる²⁸⁾。規則的生活に必要な就眠を助けるには就眠前には橙色で暗い照明にしてメラノプシンを介する青色光のメラトニン分泌抑制を避け、必要があれば就眠3時間前にメラトニン5 mgを内服する。深夜勤が続くときには、昼間8時間は暗くして完全に睡眠し、外出が避けられない時は黒眼鏡をかけ、夜間勤務時に明るくして3食を摂れば、米国で米国人が日勤するのと同様、健康を害することはない²⁾。

無理のない時間栄養法による心身の活性化

生活習慣病を予防し健康寿命 (healthspan) を実現するには、数十年間の持続した適切な栄養・運動・休養によって、時計遺伝子を整え、テロメアの短縮を防げばよい^{1,2)}。様々な健康法の中で、先述の急激な減量避けるのは当然であるが、心理的負担の多い減食法もテロメアを短縮させるので逆効果である²⁹⁾。つまり、体重を心配している状態 (preoccupation with weight) では、白血球のテロメア長が短縮するのである²⁹⁾。とくに誤った減量の際の不規則な食習慣は、代謝産物の大きな変動をしばしば起こし、テロメアを短縮させる³⁰⁾。そのため、無理のない食習慣、美味しく栄養を摂取できる食事が重要であり、ヒト白血球テロメアの短縮を遅延させるにはGIを下げる食物繊維や抗酸化ビタミンが有効であり³¹⁾、逆にテロメアの短縮を促進するリノール酸の過剰や肥満を促進する多くの条件が解明されている³¹⁾。栄養素や生理活性物質には有効な摂取時刻があるので、少量の菓子なら肥満促進性のBMAL1量の少ない昼間に摂取してよく、厳しい減塩もアルドステロンの少ない夕食で緩和できる場合がある。成長ホルモンは就寝直後に分泌されるので、骨粗鬆症予防のカルシウムや筋萎縮予防の高蛋白質食は夕食に摂ると効果的である。降圧トリペプチドは血圧のモーニングサージ時に内服し、抗コレステロール食品は夕食に摂る。以上のように時間栄養学を応用して、無理なく患者が永続できる生活習慣が必要である。

健康寿命の目標はそれによって各人の生涯の目的を達成するところにある。そのためには単なる寿命延長ではなく精神労働に不可欠な知的能力と活力ある体力の増進が時間栄養学の応用で可能となった。全国学力テストは毎年行われ³²⁾、全国体力テストも握力、50 m走など8項

Fig. 13 Time course of plasma glucose at 0, 30, 60, 90 and 120 min after eating rice before salad (green open circle) or the reverse regimen (red closed circle). Data are expressed as mean $\pm$ SD. Rice first vs salad first. ** $p < 0.01$. Wilcoxon signed rank test for paired data. Cited and modified from Kanemoto I, Inoue H, Moriuchi H, Yamada Y, Imura H, Sato S. *Tounyoubyou* 53: 96-101, 2010.

Fig. 14 The effect of eating vegetables before carbohydrates on long term glycemic control. Clinical parameters of patients in the two study groups: vegetables before carbohydrates (green) vs carbohydrates before vegetables (pink). Educational group taught to eat vegetables first ($n = 196$) and control group ($n = 137$) were compared. Data are expressed as mean. Cited and redrawn from Ref. 25.

Fig. 15 Ethnic difference of time course of serum insulin after glucose loading between American Caucasians and Japanese. Cited from Seino Y. *Saisin Igaku* 50: 639-645, 1995.

Fig. 16 The influence of eating rhythm on diet-induced thermogenesis in young women. Subjects (33 females, average age 20.5 ± 1.2 yr, BMI=20.5 $\pm$ 2.1) took 500 kcal of the same meal in two patterns: morning type (blue bars) at 7:00, 13:00 and 19:00, and night type (pink bars) at 13:00, 19:00 and 1:00, and then 3hr diet induced thermogenesis were measured. Adapted from Sekino Y, Kashiwa E, Nakamura T. *J Jpn Soc Nutr Sci* 63: 101-106, 2010.

目の体力合計点が全国の男女小中学生約150万人で調査されている³³⁾。朝食摂取が学力 (Fig. 17)³²⁾、体力 (Fig. 18)³³⁾を高める事は毎年確認されている。その他にも生活のリズムが学力、体力を向上させる重要な要素であることが報告されている。地域別に見ると学力・体力とも、朝食摂取頻度の高い秋田、福井等で高く、それが低い大阪、沖縄、北海道等で低い。学力も体力もこのように平行する理由は脳科学の発達で、時計遺伝子の統合作用等で脳機能全体を活性化する機構が推定されるようになった³⁴⁾。持久運動は前頭前野の読解力や頭頂葉間溝の数学

の能力を高めるだけでなく、認知症を予防すると報告されている³⁴⁾。とくに、朝食の末梢時計遺伝子への効果は各栄養素個々の効果ではなく、そのバランスが良いことが必要であることが、人工的な栄養素配合食AIN93Mとその各成分の朝食で確認された³⁵⁾。事実、栄養バランスの充実した朝食を摂取すると、欠食者に較べて学力が約20%高く、持久力、瞬発力ともに全年齢で優れていることが報告されている (熊本県学力調査報告2005年他)。

Fig. 17 Average percentages of achievement tests by breakfast skippers and breakfast eaters. Cited from National Academic Research 2012. Ministry of Education, Culture, Sports and Technology, 2012.

Fig. 18 Average percentages of physical strength tests by breakfast skippers and breakfast eaters. Cited from National Physical Strength Research 2010. Ministry of Education, Culture, Sports and Technology.

おわりに：遺伝要因の生活習慣による克服

ヒトの時間栄養学では動物実験とは大きく異なり脳の支配が圧倒的である。そのために健康増進の行動変容を促す。もしも健康寿命が生活習慣病の終点である心疾患、癌、糖尿病などのリスク遺伝子で主に決定されているのならば、節制の効果は乏しい。しかし、全ゲノム関連研究の結果では、リスク遺伝子数は85歳以上の長寿者で 26.8 ± 0.11 個、対照者でもほぼ同数の 26.8 ± 0.10 個であった³⁶⁾。この結果から、リスク遺伝子の発現を遅延させる節制が重視されるのである。厚生労働省の「健康づくりのための身体活動指針」³⁷⁾では今より10分多く身体活動を奨励するが、非運動の人では僅か10分間の運動でも生活習慣病予防の鍵であるPGC-1 α が増加するのである³⁸⁾。動物

でもヒトでも時計遺伝子の多型が生活習慣病のリスクとなる^{6,10,39)}。しかし、*CLOCK*や*PER*多型があっても、学生や市民で規則正しい生活を守りBMIを22に合わせるならば、血糖、血清脂質は野生型と有意な差は無かった(香川2014)。このように、ヒトの脳は自らの意志で快楽を求め、また節制をして、日周リズム、栄養、運動を変化させ、時計遺伝子を介してテロメアを維持し健康寿命を左右できるのである (Fig. 1)¹⁾。

文 献

- 1) Kagawa Y. From clock genes to telomeres in the regulation of the healthspan. *Nutr Rev* 70: 459-471, 2012.
- 2) 香川靖雄編, 時間栄養学, 女子栄養大学出版部, 東京, pp.1-158, 2009.
- 3) Scheer FA, Hilton MF, Mantzoros CS, Shea SA. Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 4453-4458, 2009.
- 4) Kripke DF, Garfinkel L, Wingard DL, Klauber MR, Marler MR. Mortality associated with sleep duration and insomnia. *Arch Gen Psychiatry* 59: 131-136, 2002.
- 5) Prather AA, Puterman E, Lin J, O'Donovan A, Krauss J, Tomiyama AJ, Epel ES, Blackburn EH. Shorter leukocyte telomere length in midlife women with poor sleep quality. *J. Aging Res* 2011: 721390, 2011.
- 6) Woon PY, Kaisaki PJ, Bragança J, Bihoreau MT, Levy JC, Farrall M, Gauguier D. Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like (BMAL1) is associated with susceptibility to hypertension and type 2 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 14412-14417, 2007.
- 7) Luyster FS, Strollo PJ Jr, Zee PC, Walsh JK; Boards of Directors of the American Academy of Sleep Medicine and the Sleep Research Society. Sleep: a health imperative. *Sleep* 35: 727-734, 2012.
- 8) Shilsky JD, Hartman TJ, Kris-Etherton PM, Rogers CJ, Sharkey NA, Nickols-Richardson SM. Partial sleep deprivation and energy balance in adults: an emerging issue for consideration by dietetics practitioners. *J Acad Nutr Diet* 112: 1785-1797, 2012.
- 9) Möller-Levetl CS, Archerl SN, Bucca G, Laing EE, Slak A, Kabiljo R, Lo JC, Santhi N, von Schantz M, Smith CP, Dijk DJ. Effects of insufficient sleep on circadian rhythmicity and expression amplitude of the human blood transcriptome. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: E1132-E1141, 2013.
- 10) Kondratov RV, Kondratova AA, Gorbacheva VY, Vykhovanets OV, Antoch MP. Early aging and age-related pathologies in mice deficient in BMAL1, the core component of the circadian clock. *Genes Dev* 20: 1868-1873, 2006.
- 11) Krishnan N, Rakshit K, Chow ES, Wentzell JS, Kretschmar D, Giebultowicz JM. Loss of circadian clock accelerates aging in neurodegeneration-prone mutants. *Neurobiol Dis* 45: 1129-1135, 2012.
- 12) Sone H and Kagawa Y. Pancreatic beta-cell senescence

- contributes to the pathogenesis of Type 2 diabetes in high-fat diet-induced diabetic mice. *Diabetologia* 48: 58–67, 2005.
- 13) Fitzpatrick AL, Kronmal RA, Gardner JP, Psaty BM, Jenny NS, Tracy RP, Walston J, Kimura M, Aviv A. Leukocyte telomere length and cardiovascular disease in the cardiovascular health study. *Am J Epidemiol* 165: 14–21, 2007.
 - 14) Nakajima T, Moriguchi M, Katagishi T, Sekoguchi S, Nishikawa T, Takashima H, Kimura H, Minami M, Itoh Y, Kagawa K, Tani Y, Okanoue T. Premature telomere shortening and impaired regenerative response in hepatocytes of individuals with NAFLD. *Liver Int* 26: 23–31, 2006.
 - 15) Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest* 112: 1785–1788, 2003.
 - 16) Hayashi J-I, Ohta S, Kagawa Y, Kondo H, Kaneda H, Yonekawa H, Takai D, Miyabayashi S. Nuclear but not mitochondrial genome involvement in human age-related mitochondrial dysfunction. Functional integrity of mitochondrial DNA from aged subjects. *J Biol Chem* 269: 6878–6883, 1994.
 - 17) Iliff JJ, Wang M, Liao Y, Plogg BA, Peng W, Gundersen GA, Benveniste H, Vates GE, Deane R, Goldman SA, Nagelhus EA, Nedergaard M. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci Transl Med* 4: 147ra111, 2012.
 - 18) Kagawa Y. ATP synthase: from single molecule to human bioenergetics. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 86: 667–693, 2010.
 - 19) Violetta B, Mouniera R, Leclerc J, Yazigi A, Foretz M, Andreelli F. Targeting AMP-activated protein kinase as a novel therapeutic approach for the treatment of metabolic disorders. *Diabetes and Metabolism* 33: 395–402, 2007.
 - 20) Liu C, Li S, Liu T, Borjigin J, Lin JD. Transcriptional coactivator PGC-1 α integrates the mammalian clock and energy metabolism. *Nature* 447: 477–481, 2007.
 - 21) Belden WJ, Dunlap JC. Aging well with a little wine and a good clock. *Cell* 153: 1421–1422, 2013.
 - 22) Handschin CI, Spiegelman BM. The role of exercise and PGC1 α in inflammation and chronic disease. *Nature* 454: 463–469, 2008.
 - 23) Castillo-Quan, JI. From white to brown fat through the PGC-1 α -dependent myokine irisin: implications for diabetes and obesity. *Dis Model Mech* 5: 293–295, 2012.
 - 24) Tipton KD1, Rasmussen BB, Miller SL, Wolf SE, Owens-Stovall SK, Petrini BE, Wolfe RR. Timing of amino acid-carbohydrate ingestion alters anabolic response of muscle to resistance exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281: E197–E206, 2001.
 - 25) Imai S, Fukui M, Kajiyama S. Effect of eating vegetables before carbohydrates on glucose excursions in patients with type 2 diabetes. *J Clin Biochem Nutr* 54: 7–11, 2014.
 - 26) 厚生労働省. 平成24年国民健康・栄養調査速報値 (インターネット), 2014.
 - 27) 厚生労働省. 日本人の食事摂取基準2015年版速報値 (インターネット), 2014.
 - 28) Farshchi HR, Taylor MA, Macdonald IA. Beneficial metabolic effects of regular meal frequency on dietary thermogenesis, insulin sensitivity, and fasting lipid profiles in healthy obese women. *Am J Clin Nutr* 81: 16–24, 2005.
 - 29) Kiefer A, Lin J, Blackburn E, Epel E. Dietary restraint and telomere length in pre- and postmenopausal women. *Psychosom Med* 70: 845–849, 2008.
 - 30) Epel E. Psychological and metabolic Stress: a recipe for accelerated cellular aging? *Hormone* 8: 7–22, 2009.
 - 31) Cassidy A, De Vivo I, Liu Y, Han J, Prescott J, Hunter DJ, Rimm EB. Associations between diet, lifestyle factors, and telomere length in women. *Am J Clin Nutr* 91: 1273–1280, 2010.
 - 32) 文部科学省. 「全国学力・学習状況調査 平成24年度」, 2012.
 - 33) 文部科学省. 「全国体力・運動能力, 運動習慣等調査 平成22年度」, 2010.
 - 34) Hillman CH1, Erickson KI, Kramer AF. Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nat Rev Neurosci* 9: 58–65, 2008.
 - 35) Hirao A, Tahara Y, Kimura I, Shibata S. A balanced diet is necessary for proper entrainment signals of the mouse liver clock. *PLoS One* 4: e6909, 2009.
 - 36) Beekman M, Nederstigt C, Suchiman HE, Kremer D, van der Breggen R, Lakenberg N, Alemayehu WG, de Craen AJ, Westendorp RG, Boomsma DI, de Geus EJ, Houwing-Duistermaat JJ, Heijmans BT, Slagboom PE. Genome-wide association study (GWAS) -identified disease risk alleles do not compromise human longevity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 18046–18049, 2010.
 - 37) 厚生労働省. 健康づくりのための身体活動指針 (アクティブガイド), 2013.
 - 38) Stepto NK, Benziane B, Wadley GD, Chibalin AV, Canny BJ, Eynon N, McConell GK. Short-term intensified cycle training alters acute and chronic responses of PGC1 α and Cytochrome C oxidase IV to exercise in human skeletal muscle. *PLoS One* 7: e53080, 2012.
 - 39) Sookoian S, Gemma C, Gianotti F, Burgueño A, Castaño G, Pirola CJ. Genetic variants of Clock transcription factor are associated with individual susceptibility to obesity. *Am J Clin Nutr* 87: 1606–1615, 2008.