

東京農業大学博士論文

ヒトにおける心臓自律神経活動の  
日周リズムに対する食事の影響

2014年3月20日

食品栄養学専攻

吉崎 貴大

## Abstract

The number of individuals who either skip breakfast or have late dinners is gradually increasing in Japan. Recent animal studies suggest that change in feeding schedule is associated with abnormal phase angle in the circadian clock as photic signals, which can lead to certain diseases often reported among rotating shift workers (e.g., metabolic disorder, cardiovascular disease). While this is certainly possible, very few studies of human subjects have addressed how dietary behavior (e.g., skipping breakfast, late meal times) affects phase angle of the circadian rhythm. As such, the present study aimed to reveal the role of human eating behavior with regard to circadian rhythm. To this end, we assessed circadian rhythm among rotating shift workers with irregular lifestyles by performing a day-night reversal, focusing specifically on diet and sleep habits, both of which are considered zeitgebers for the circadian clock among observational studies. In addition, we elucidated the effects of feeding schedule changes on phase angle of the circadian rhythm as well as its effects on serum lipid levels in humans. We found that phase angle of the circadian rhythm during the day shift was significantly delayed among rotating shift workers relative to that in day workers in free living conditions, even though physical activity and sleep/wake cycles did not differ significantly between groups. We also noted that shift workers live irregular lifestyles that often involve components such as skipping breakfast between shifts. In the human trials, we found that changes in feeding schedule were significantly associated with delays or advances in phase angle of the circadian rhythm, as well as with regulation of serum lipid levels. This suggests that dietary behavior plays an important role in the regulation of the circadian clock and lipid metabolism. While future studies are required to clarify mechanisms underlying dietary behavior and circadian rhythm, our findings may shed some light on prevention of health problems related to the diverse lifestyles emerging in the recently developed 24-hour society.

# 目次

序論	-----	1
<b>1. 交代制勤務者における心臓自律神経活動の日周リズム</b>		
1) はじめに	-----	3
2) 方法	-----	4
3) 結果	-----	6
4) 考察	-----	7
<b>2. 交代制勤務に従事する女性看護師および介護士における 食習慣および生活習慣と BMI との関連</b>		
1) はじめに	-----	10
2) 方法	-----	10
3) 結果	-----	12
4) 考察	-----	13
<b>3. 食事時刻の後退が心臓自律神経活動の日周リズムに及ぼす影響</b>		
1) はじめに	-----	16
2) 方法	-----	16
3) 結果	-----	18
4) 考察	-----	19
<b>4. 朝食欠食者の食事時刻前進が心臓自律神経活動の 日周リズムおよび脂質代謝に及ぼす影響</b>		
1) はじめに	-----	21

2) 方法	-----	22
3) 結果	-----	25
4) 考察	-----	26
結論	-----	30
参考文献	-----	31
謝辞	-----	41
図表	-----	42

# 序論

近年、肥満によるメタボリックシンドロームや心血管系疾患に罹る人々が増加しており社会問題となっている<sup>1)</sup>。これらの疾患発症には昼夜逆転などの不規則な生活による概日リズムの乱れが密接に関わる可能性がある<sup>2,3)</sup>。

生体の概日リズム（出力系）は、同調因子（入力系）からの影響を受ける概日時計（振動体）を起源とし、これら三つ因子が生体の時計機構を構成している<sup>4,5)</sup>。この時計機構では、主に光刺激が同調因子となって視床下部視交叉上核の主時計に作用し、メラトニンや深部体温などの概日リズムが生じている<sup>6,7)</sup>。一方、近年では食事や身体活動などによる非光刺激も生体の時計機構の乱れ<sup>8-11)</sup>、さらには代謝異常や疾病発症に関わる可能性も報告されているが、実際にヒトを対象として食事の要因と概日リズムとの関連を検討した報告はない。我が国では、近年、朝食欠食者や夕食時刻が遅い者が漸増している<sup>12)</sup>。それゆえ、このような食生活上の問題が概日リズムの乱れを生じ、長期的には生活習慣病等の発症に関わる可能性が十分に考えられる。

ところで、ヒトの概日リズムの評価には、外界からの隔離、断眠およびベッドレストといった厳しい実験条件や、侵襲度が高い指標を用いる必要がある<sup>13,14)</sup>。しかし、これらの実験条件や手法はヒトの日常生活と乖離しており、フィールド調査や新たな研究への発展・応用、そして外部妥当性の評価が難しい。それゆえ、非侵襲的かつ生理学的な指標を用いて概日リズムを評価する必要がある。一方、主時計のある視交叉上核と心臓とは、視床下部室傍核を介した自律神経系によって接続されており、主時計の時刻情報が心臓の拍動へと伝わっている<sup>9)</sup>。そのため、近年の実験的あるいは自由生活下におけるヒトを対象とした研究では、心拍変動の解析によって得られる心臓自律神経活動の日周リズムを用いて、非侵襲的に概日リズムを評価している<sup>15-18)</sup>。そして、この方法は小型のホルター心電図計を装着することで、長時間にわたる連続的な心電図を無拘束で記

録でき、被験者への身体的および精神的な負担が少ないため、世界的にも様々な分野で広く活用されている<sup>19)</sup>。

一般的に、自律神経活動は昼夜で変化する概日リズムを示すが、日常生活下で捉えることのできる24時間の変動は日周リズムのことである。この日周リズムは、内因性の概日リズムに加えて測定当日の睡眠や身体活動といった外部刺激の影響（マスキング）を受けている<sup>6,13)</sup>。そのため、日常生活下における日周リズムの測定は概日リズムの絶対評価とはならないが、主要な外部刺激を対照集団と揃えることで概日リズムの相対的な群間差を推測することができる。

そこで本研究は、1) 生活リズムが乱れがちな交代制勤務者を対象に、心臓自律神経活動の日周リズムを非侵襲的に測定し、同調因子となり得る睡眠や食生活の実態を把握すること、また、2) 成人男性を対象に食事時刻の違いが心臓自律神経活動の日周リズムと血中脂質に及ぼす影響について検討し、ヒトにおける心臓自律神経活動の日周リズムに対する食事の影響を明らかにすることを目的とした。

# 1.交代制勤務者における心臓自律神経活動の日周リズム

## 1) はじめに

交代制勤務者は心血管系疾患、代謝異常および肥満などの疾患リスクが、日勤者に比べて高いことが明らかにされている<sup>20-25)</sup>。これらの健康上の問題の原因の一つとして、概日時計と睡眠との時間関係の乱れが関わっている<sup>3,26,27)</sup>。この時間関係の乱れは、模擬的な実験で確認されており、睡眠時刻のずれによって概日時計を反映する血中メラトニン濃度の位相にずれが生じる<sup>28)</sup>。また、睡眠時刻を8時間ずらした2日後においても、概日リズムの位相が数時間遅れていることが報告されている<sup>29)</sup>。

実際の交代制勤務者の勤務シフト別の比較では、心拍変動で評価した心臓自律神経活動の日周リズムは、夜勤日と日勤日で異なることが明らかにされている<sup>30,31)</sup>。つまり、交代制勤務者における夜勤日の夜間の交感神経活動は、昼間に比べて高値を示し、日勤日の夜間の交感神経活動と比較しても高値を示すことが明らかにされている<sup>30-32)</sup>。しかしながら、夜勤日の24時間の心臓自律神経活動の変動には、夜勤による生活行動の違いが概日リズムに対して外部刺激（マスキング）として影響するため<sup>30-32)</sup>、交代制勤務者の概日時計に時間関係のずれが生じているか否かは明らかでない。一方、月あたりの日勤勤務の頻度も比較的が多い交代制勤務者にとって、日勤日における概日時計の時間関係のずれは、健康上の問題を生じる原因となる可能性がある。そのため、生活行動が同じで外部刺激の影響が少ないと考えられる日勤日で<sup>33)</sup>心臓自律神経活動の日周リズムを日勤者と交代制勤務者で比較し、交代制勤務者の概日リズムの時間関係を推測する必要がある。

それゆえ、本研究は日勤日における心拍変動の日周リズムを交代制勤務者と日勤者で比較することを目的とした。

## 2) 方法

### 2-1) 参加者

千葉県銚子市の介護老人保健施設に勤務する女性看護師・介護士で、調査日の1か月以上前から投薬治療を受けておらず、健常な成人27名（日勤群14名，交代群13名）を本研究の対象とした。また、参加者の条件として、現在の勤務シフトで少なくとも5か月以上にわたって週40-46時間の勤務をしていること、心疾患による既往が無いこと、さらに25-55歳であることとした。また、参加者のうち現在の勤務時間帯が日勤勤務(9:00-18:00)のみの者を日勤群、日勤勤務と夜勤勤務(18:00-9:00)の両方に従事している者を交代群とした。測定は夜勤勤務日から $3.1 \pm 1.6$ 日後の日勤日に行った。

それぞれの参加者には、調査開始前に本研究の目的、プロトコル、健康への影響を十分に説明した後に、書面によるインフォームドコンセントを得た。なお、調査遂行にあたって、事前に倫理面や個人情報保護への配慮を盛り込んだ調査計画書を作成し、労働安全衛生総合研究所倫理委員会の承認を得た。

### 2-2) プロトコル

ホルター心電図計(RAC3103, NIHON KOHDEN Corp, Tokyo, Japan)を用いて、日勤勤務開始の9時から双極第II誘導による24時間心電図を記録した。ECG信号を増幅し、250Hzのサンプリング周波数によってA/D変換した。同時に、活動量計(Lifecorder EX4, SUZUKEN Corp, Tokyo, Japan)を用いて24時間の歩数を記録した。なお、活動量計は腰のベルトに装着するよう指示した。さらに、参加者には起床・就寝時刻、勤務開始・終了時刻および食事時刻を、配布した日記に記録するよう依頼した。得られた就寝時刻と起床時刻から睡眠時間の合計値を算出した。

測定日に摂取した飲食物の量の把握には食事記録法を用いた。参加者には飲食した物の内容の詳細（材料、量および調理法）、および栄養補助食品を記録するように依頼した。24時間心電図の記録後、トレーニングを受けた管理栄養士が食事記録の記載内容を

もとに誤記入や未記入項目を確認した。そして、得られた記録から食品標準成分表をもとにエネルギー摂取量を算出した<sup>34)</sup>。食事区分は、05:00–10:00 の間に摂取された食事を朝食、11:00–15:00 を昼食、17:00–22:00 を夕食とし、それ以外の時間帯に摂取されたものは間食として定義した<sup>33)</sup>。さらに、1日のエネルギー摂取量に占める朝食、昼食および夕食時のエネルギー摂取量の割合を算出した。

測定日の前日は日勤勤務あるいは休日であり、測定当日の日勤日の日常業務の内容は日勤者と交代制勤務者で同様である。また、測定前日および当日は飲酒、喫煙、カフェインの摂取、中等度以上の運動をできるだけ控え、普段と同じように生活するように指示をした。さらに、参加者の自己申告によって月経周期を把握し、測定日が卵胞期（月経から 5–12 日間）になるよう日程を調整した。

### 2-3) 心拍変動の時間領域および周波数領域の解析

心電図 R-R 間隔（以下, RRI）は、1 次導関数に基づく心電図 QRS 群の検出法を用いて算出した<sup>35)</sup>。得られた RRI は時間および周波数領域解析に影響する期外収縮や拍動欠損による異常な拍を特定して補正した。記録された 24 時間心電図のうち、補正された拍動の割合は総拍動回数（約 100,000 拍）の 0.5% 未満であった。

時間および周波数領域の指標は約 10 分ごとの区間の心拍変動(600 拍)から算出した。それぞれの区間の心拍変動は連続的に整列させ、平均 RRI をもとに等間隔に再配列した<sup>36)</sup>。直線回帰によって再配列させたデータの線形傾向を除去した後、粗視化スペクトル法による周波数解析を行った<sup>37,38)</sup>。そして、総スペクトル密度(TOT: >0.04 Hz)、低周波数成分(LF power: 0.04–0.15 Hz)、高周波数成分(HF power: >0.15 Hz)を求め、TOT にしめる HF power の割合（以下, HF nu）と、HF power に対する LF power の割合（以下, LF/HF）を算出した<sup>19)</sup>。HF power と HF nu は迷走神経活動を反映し<sup>16-18)</sup>、LF/HF は交感神経活動を反映するとされている<sup>15,37,38)</sup>。

### 2-4) ダブルコサインナー法

心拍変動指標(RRI, SD of RRI, LF power, HF power, HF nu, and LF/HF)と歩数における時

系列変化の振幅と位相を評価するために、余弦曲線による最適化を行った<sup>39,40)</sup>。また、日中の活動的な時間は夜間の非活動的な時間よりも長い。それゆえ、典型的なコサイン一法は概日時計由来の内因性の変動だけでなく、外部刺激の影響（マスキング）を受け心拍変動と歩数の時系列変化の解析に適していない<sup>6,13)</sup>。そこで、本研究では24時間周期と12時間周期の余弦曲線の最適化によるダブルコサイン一法を用いることとし<sup>14,41)</sup>、本研究で用いた余弦曲線は以下の式で表される；

$$y = M + A_1 \cos(\omega_1 t - \varphi_1) + A_2 \cos(\omega_2 t - \varphi_2)$$

ここで、 $M$  は余弦曲線の中心線の値、 $A_1$  は24時間周期のリズムの振幅、 $A_2$  は12時間周期のリズムの振幅、 $\omega_1 = 2\pi/24$ 、 $\omega_2 = 2\pi/12$ 、 $t$  は時刻、 $\varphi_1$  は24時間周期のリズムの頂点位相、そして $\varphi_2$  は12時間周期のリズムの頂点位相を示す。このダブルコサイン一法によって、心拍変動指標と歩数の24時間周期と12時間周期のリズムの振幅と頂点位相をそれぞれ示すことができる。また、得られた2つの余弦曲線による日周リズムの有意性は zero-amplitude test によって検討した<sup>13,42)</sup>。

## 2-5) 統計解析

各変数の正規性を確認した後に、Non-paired t test あるいは Mann-Whitney U test を用いて日勤群と交代群を比較した。全ての検定には SPSS(IBM SPSS 20.0 for Windows, SPSS Japan, Tokyo, Japan)を用い、統計的有意水準は両側検定にて5%とした。

## 3) 結果

参加者の現在の勤務形態の継続年数は  $5.4 \pm 5.1$  年であった。また、交代制勤務者の1週間当たりの平均日勤回数（最少-最大）は3日(1-5日)であり、夜勤回数は1日(0-2日)であった。それゆえ、交代制勤務者の1ヶ月当たりの夜勤回数は4-5日であった。測定当日の就寝時刻、起床時刻および睡眠時間は2群間に有意な差がみられなかった (Table.1-1)。また、1日のエネルギー摂取量、朝食時、昼食時および夕食時のエネルギ

一摂取割合、それぞれの食事時刻は2群間に有意な差がみられなかった。測定当日の日の出(05:11-06:00)および日の入り時刻(17:18-18:08)も2群間に有意な差がみられなかった。

心拍変動指標と歩数の時系列変化のダブルプロットを Figure.1-1 に示した。なお、同時にダブルコサイナー法によって近似した余弦曲線も示した。日勤群と交代群の歩数について、平均した余弦曲線のピークは両群ともに 12:40 であり、最低値は 01:30 であった。一方、心拍変動指標のピークあるいは最低値の時刻は交代群が日勤群に比べて後退していた。また、日勤群と交代群の心拍変動指標の 24 時間平均値、歩数の 24 時間合計値には有意な差がみられなかった (Table.1-1)。

心拍変動指標と歩数の時系列変化に対する 24 時間と 12 時間周期のリズムの頂点位相を、それぞれ Figure.1-2 に示した。歩数の頂点位相は 24 時間と 12 時間周期のいずれのリズムにおいても、日勤者と交代制勤務者との間に有意な差がみられなかった。しかし、心拍変動指標の 24 時間周期のリズムの頂点位相は、交代制勤務者が日勤者に比べて後退しており、HF power (2.5 時間)、HF nu (1.3 時間)および LF/HF (2.2 時間)では 2 群間に有意な差が見られた。一方、12 時間周期の RRI と HF power の振幅で 2 群間に有意な差がみられた他に、心拍変動指標と歩数の 24 時間周期のリズムの振幅と、12 時間周期のいずれの指標にも 2 群間に有意な差はみられなかった (Table.1-2)。

#### 4) 考察

本研究では、日勤日における心臓自律神経活動の日周リズムを交代制勤務者と日勤者と比較した。その結果、交代制勤務者の心臓自律神経活動(HF power, HF nu および LF/HF)の日周リズムの頂点位相は日勤者に比べて有意に後退していた。一方、測定当日の睡眠・食事時刻、朝食、昼食および夕食時のエネルギー摂取割合といった生活行動、歩数の 24 時間と 12 時間周期のリズムの頂点位相のいずれも 2 群間に有意な差がみられなか

った。このことから、概日リズムに対する測定当日の外部刺激の影響は少なかったと考えられる。そして、交代制勤務者の概日リズムは夜勤後の日勤日においても後退しており、概日時計と睡眠との時間関係にずれが生じている可能性が明らかになった<sup>43)</sup>。

通常のラットの心拍は概日リズムを示すが、視交叉上核を破壊したラットではそのリズムが消失することや、逆行性の狂犬病ウイルスを用いた解剖学的な手法によって視交叉上核と心臓との間には視床下部室傍核を介した自律神経系の経路が存在することが明らかにされている<sup>6)</sup>。心拍変動から心臓自律神経活動の日周リズムを評価した先行研究では、交感神経活動を示す LF/HF は日中に高値を示し、夜間に低値を示すと報告されている<sup>13,44)</sup>。本研究において、日勤者の LF/HF が最大値を示した時刻は  $10.8 \pm 0.8$  時、交代制勤務者は  $14.3 \pm 0.8$  時であり、いずれも先行研究と一致して日中に高値を示した。それゆえ、概日時計由来の時刻情報が自律神経系を介して、今回得られた日周リズムに影響している可能性が十分に考えられる。

交代制勤務者の概日リズムに関する先行研究の多くは、昼夜が逆転する夜勤日に焦点を当てたものであり、夜勤勤務への生理学的な不適合を明らかにすることを目的としている<sup>45)</sup>。そのため、日勤日と夜勤日の比較では測定当日の生活行動が異なるため、日周リズムの測定から概日リズムを推測することが難しい。そこで、本研究では測定当日の概日リズムに対する外部刺激の影響（食事、睡眠および身体活動など）を除くため、業務内容や生活行動が同様である日勤日に 24 時間の心拍変動を測定した。そのため、睡眠・食事時刻といった生活行動は交代制勤務者と日勤者との間に有意な差がみられなかった。また、1 日の歩数の合計値や 24 時間および 12 時間周期のリズムの頂点位相も、交代制勤務者と日勤者との間に有意な差はみられなかった。しかしながら、交代制勤務者の心臓自律神経活動の日周リズムの頂点位相は日勤者に比べて有意に後退していた。このことは、交代制勤務者のように習慣的に生活行動が不規則な者は概日リズムの位相が日勤者に比べて相対的に後退している可能性を示唆している。交代制勤務を実験的に検証した先行研究では、睡眠と概日リズムとの時間関係を乱すことは、代謝異常を生じ

る可能性が明らかにされている<sup>28,46,47)</sup>。そのため、日々の生活行動の乱れによって概日時計の位相がずれることに対して、何らかの予防策を検討する必要がある。近年では、概日時計に影響を及ぼす同調因子として、非光刺激としての食事（主に朝食欠食や遅い夕食などの食事タイミング）に焦点が当てられている<sup>48-52)</sup>。今後、食事タイミングと概日時計との生理学的な関連について実験的検証を進めていく必要がある。

本研究の限界として、1) 測定日の生活行動が交代制勤務者と日勤者で有意な差はみられなかったが、勤務中の自由生活条件下での測定であったため、概日リズムに対する外部刺激の影響を完全に除外できないこと、2) 2交代制の交代制勤務者のみを対象としたため、他の勤務システム（3交代や夜勤専従など）がどのように影響するかは明らかでないこと、3) 睡眠や食事に関する情報は自己申告であったことが挙げられる。しかしながら、本研究では生活行動が同じ日勤日であるにもかかわらず、交代制勤務者の心臓自律神経活動の日周リズムの位相が日勤者に比べて有意に後退していることが明らかになった。このことは、今回の交代制勤務者に留まらず、生活習慣が不規則な人々の概日リズムは乱れやすいことを示すものであり、今後の健康教育を計画・実施する上で意義ある成果と考えている。

## 2.交代制勤務に従事する女性看護師および介護士における 食習慣および生活習慣と BMI との関連

### 1) はじめに

近年、産業構造や社会経済の 24 時間化に伴い、深夜勤務を伴う交代制勤務に従事する労働者が増加している<sup>53)</sup>。平成 20 年に 65 歳以上人口が全人口の 20%以上<sup>54)</sup>を占める超高齢社会を迎えた我が国では、介護施設入居者数が年々増加しており<sup>55)</sup>、医療・介護分野においても交代制勤務は重要な役割を担っている。その一方で、夜勤を伴う交代制勤務者は、日勤勤務者に比べてメタボリックシンドローム<sup>56-58)</sup>、2 型糖尿病<sup>59-61)</sup>、消化器疾患<sup>2)</sup>、心血管系疾患<sup>23,62)</sup>およびがん<sup>63,64)</sup>などの発症リスクが高いことが報告されている。さらに、交代制勤務に従事していることと体重および BMI の増加との関連性も報告されている<sup>65,66)</sup>。これらの背景要因として、各勤務シフトによって昼夜逆転の生活を強いられ、日常生活が不規則であることが考えられる。しかし、医療・介護施設における交代制勤務者の食生活を始めとした生活行動の実態は十分に明らかにされていない。

そこで、本研究は医療施設に勤務する交代制勤務を対象に、食生活を始めとした生活行動の実態を調査するとともに、交代制勤務経験年数と BMI との関連性を検討することを目的とした。

### 2) 方法

#### 2-1) 参加者

茨城県神栖市および神奈川県横浜市にある介護老人保健施設(3 施設)および病院(1 施設)に勤務する女性職員 169 名のうち、看護師あるいは介護士で調査への同意が得られた

132名(看護師49名、介護士83名;20-63歳)を本研究の対象とした。参加者のうち、現在の勤務時間帯が日勤勤務(9:00-18:00)のみの者を日勤群、日勤勤務と夜勤勤務(18:00-9:00)の両方に従事している者を交代群とした。なお、交代群の夜勤回数は各施設の規定により月5回未満とされている。

調査遂行にあたっては、事前に倫理面や個人情報保護への配慮を盛り込んだ調査計画書を作成し、労働安全衛生総合研究所倫理委員会および東京農業大学倫理審査委員会の承認を得た。

## 2-2) 調査方法

調査は2008年6月30日-8月8日に行った。調査票の配布から回収までの期間は1施設につきそれぞれ2週間程度であった。食習慣と生活習慣に関する自記式アンケート調査票(食物摂取頻度調査票および生活時間調査票)を参加者に配布し、回収時に記入漏れを確認した。食物摂取頻度調査には、過去1ヶ月間の個人の食生活が反映され、エネルギーおよび栄養素摂取状況が評価できるエクセル栄養君食物摂取頻度調査 FFQg ver.2.5(建帛社)を用いた<sup>67)</sup>。また、国民健康・栄養調査における調査票<sup>68)</sup>を基本形とし、参加者の特性(年齢、身長、体重、勤務年数、婚姻状況および世帯状況、看護師と介護士の割合、喫煙習慣)を調べた。Body Mass Index(BMI)は「体重(kg)/身長(m)<sup>2</sup>」より算出した。生活時間調査票では、日勤群は日勤日1日、交代群は各勤務形態(日勤日、夜勤入り日、夜勤明け日)ごとに1日ずつの生活行動(00:00-23:59)を記録した。参加者に、記録日は特別な日を除き、できるだけ日常的な勤務日を選んで記録するように依頼すると共に、交代群のみ日常的な夜勤入り日と夜勤明け日(連続した2日間)についても記録を依頼した。得られたデータは、NHK放送文化研究所が行った「2005年国民生活時間調査」を参考にして5分単位で集計した<sup>69)</sup>。また、睡眠と食事については該当の行動を1分でも行った者の人数が参加者全体に占める割合(それぞれ睡眠行為者率、食事行為者率)を30分ごとに求めた。日勤日の朝、昼、夜の食事行為者率ピークから、4:00-11:00、11:00-17:00および17:00-24:00をそれぞれ朝食、昼食および夕食の時間帯と定め、

その時間帯に食事をしていない者を該当食事欠食者とした。

### 2-3) 解析

食物摂取頻度調査によって算出されたエネルギー摂取量が各参加者の年代の基礎代謝量<sup>70)</sup>に達していない者 26 名、生活時間調査票が未記入であった者 3 名は解析から除外し、調査票全てに記入していた 105 名（日勤群 36 名；交代群 69 名）を解析対象とした。結果は平均値±標準偏差で表記した。解析には Windows 版 SPSS(ver.20.0)を用い、検定は全て両側検定とし、統計的有意水準は 5%とした。なお、統計手法は各変数の正規性を Shapiro-Wilk 検定を用いて評価した上で決定した。

交代群と日勤群の参加者の特性（年齢、身長、体重、BMI、現在の職種の経験年数、夜勤を含む交代制勤務の経験年数）、栄養素等および食品群別摂取量の連続変数の比較には対応のない t 検定あるいは Mann-Whitney の U 検定を用いた。また、婚姻状況、世帯状況、職種、喫煙習慣および食事欠食状況（朝食、昼食および夕食）のカテゴリー変数には  $\chi^2$  検定（期待度数が 5 未満の場合は Fisher の直接法）を用いて勤務形態との関連を検討した。

交代群の交代制勤務経験年数と BMI、日勤群の日勤制勤務経験年数と BMI との関連性は年齢を調整変数とした偏相関係数を算出して評価した。また、関連が有意である場合には最小二乗法により回帰直線を求めた。

## 3) 結果

日勤群および交代群における参加者特性を Table.2-1 に示した。日勤群および交代群の年齢はそれぞれ  $41.3 \pm 11.2$  歳、 $37.2 \pm 10.0$  歳、現在の職種の勤務経験年数は  $8.9 \pm 8.1$  年、 $7.7 \pm 6.7$  年であり、いずれも 2 群間に有意な差はみられなかった。また、BMI も 2 群間に有意な差はみられなかった。職種は交代群で介護士の割合が有意に高値を示し ( $p = 0.022$ )、喫煙習慣を持つ者の割合は交代群が有意に高値を示した ( $p = 0.004$ )。婚姻状況や

世帯状況と勤務形態との間に有意な関連はみられなかった。

日勤群および交代群における食事摂取状況を Table.2-2 に示した。栄養素等摂取量はいずれの項目も 2 群間に有意な差はみられなかった。食品群別摂取量は交代群の菓子類および嗜好飲料(アルコール除く)の摂取量が日勤群に比べて有意に高値を示した( $p < 0.05$ )。

日勤群および交代群(勤務シフト別)の睡眠・食事行為者率を Figure.2-1 に示した。日勤群と交代群の日勤日を比較すると、睡眠時刻および食事時刻ともにほぼ同じ時間帯に一致した。一方、交代群では勤務シフトによって睡眠時刻と食事時刻に明らかな違いがみられた。交代群内で朝食、昼食および夕食時間帯の該当食事欠食状況を勤務シフト別(日勤日、夜勤入り日、夜勤明け日)にみると、朝食はそれぞれ 11.6%、31.9%、34.8% ( $p = 0.003$ )、昼食は 1.4%、18.8%、36.2% ( $p < 0.001$ )、夕食は 1.4%、8.7%、5.8% ( $p = 0.161$ )であり、朝食と昼食の欠食率は夜勤入り日と夜勤明け日が有意に高値を示した。一方、日勤日の欠食率は交代群と日勤群(朝食(2.8%)、昼食(0.0%)、夕食(0.0%))で有意な差がみられなかった。

交代群では交代制勤務経験年数と BMI との間に有意な正の相関がみられた( $r = 0.302$ ,  $p = 0.014$ ,  $n = 67$ )。一方、日勤群では日勤勤務経験年数と BMI との間に有意な関連はみられなかった( $r = 0.152$ ,  $p = 0.399$ ,  $n = 34$ )(Figure.2-2)。

#### 4) 考察

本研究の交代群は日勤群に比べて菓子類および嗜好飲料の摂取量が多いこと、各勤務シフトによって睡眠や食事といった生活行動が異なることが明らかになった。さらに、交代群では交代制勤務経験年数と BMI との間に有意な正の相関が認められた。このことから、交代制勤務によって食習慣・生活行動の乱れ、長期的には BMI 増加と関連する可能性が示唆された。

本研究では、交代制勤務者の菓子・嗜好飲料の摂取量が日勤者に比べて有意に高値を

示した。先行研究においても、砂糖入り飲料の摂取量は体重と関連することが報告されている。Schulze ら<sup>71)</sup>はアメリカ人看護師 51,603 人を対象に前向きコホート研究を実施し、4 年間で砂糖入り飲料の摂取量が増加した者は体重増加量が高値を示し、減少した者は体重増加量が低値を示すことを明らかにした。また、Raben ら<sup>72)</sup>は砂糖入り飲料と体重に関する 10 週間の介入試験を実施し、砂糖入り飲料からの過剰なエネルギー摂取が体重増加につながることを明らかにした。それゆえ、交代制勤務者の体重増加には嗜好飲料の摂取量が関連する可能性が考えられる。一方、職務ストレスの負担がかかる交代制勤務者は 1 日の食事摂取頻度が減る代わりに、菓子類の摂取量が増加すると報告されている<sup>73)</sup>。実際、Oliver と Wardle<sup>74)</sup>は食生活状況に関する自記式質問票を用い、ストレスを感じた場合には菓子類の摂取頻度が増え、果物・野菜類の摂取頻度は減少すると回答する者が多いことを明らかにした。本研究結果も先行研究と一致しており<sup>73,74)</sup>、交代制勤務者は日勤者に比べて菓子類摂取量が有意に高値を示した。今後、交代制勤務者の食生活状況と体重増加との関連について追跡的な研究デザインによって検討する必要がある。

また、本研究の交代制勤務者では交代制勤務経験年数と BMI との間に有意な正の相関がみられた。この有意な関連は統計的に年齢を調整しても変わることはなかった。このことは、大規模な集団を対象としたコホート研究においても検討されており、様々な交絡因子を調整した多変量解析においても交代制勤務が体重や BMI 増加に対して独立した関連を持つことが明らかにされている<sup>65)</sup>。本調査対象となった交代制勤務者は生活行動が不規則な集団の顕著な例であり、長期にわたる交代制勤務は BMI を増加させる可能性が考えられる。

さらに、24 時間生活時間調査によって交代制勤務者の生活行動は勤務シフトによって異なることが明らかになった。特に、食事行為者率が勤務シフトによって変わることや、朝食と昼食の欠食率は夜勤入り日と夜勤明け日に高いことが明らかとなった。Smith ら<sup>75)</sup>は前向きコホート研究を実施し、朝食摂取状況と血液生化学指標との関連を検討した。

その結果、追跡前と追跡後において朝食を欠食している者は、いずれも摂取している者に比べて、インスリン濃度と LDL コレステロール濃度が有意に高値を示すことを明らかにした。また、Farshchi ら<sup>76)</sup>は 2 週間にわたる朝食欠食の介入実験を行い、欠食群は摂取群に比べて LDL コレステロールが介入によって有意に増加することを示した。さらに、交絡因子を調整した多変量解析においても、朝食欠食は肥満と関わるということが明らかにされている<sup>77)</sup>。動物実験では、食事タイミングを強制的に変化させる制限給餌は脂肪合成を高めることも明らかにされている<sup>78)</sup>。しかしながら、これら朝食欠食を始めとした食事タイミングの乱れが生体へ及ぼす生理学的な背景について、人を対象とした研究では未だ十分に検討されていない。それゆえ、今後は朝食欠食を始めとした食行動の乱れが生体に及ぼす生理学的な影響を実験的に検証する必要がある。

本研究の限界として、1) 断面研究であること、2) 身体特性は自己申告値であること、3) 生活時間調査は記録日が各勤務シフト（日勤日、夜勤入り日、夜勤明け日）で 1 日のみであったため、個人の習慣的な生活行動を把握する上で妥当性が必ずしも十分でない可能性があること、4) 食物摂取状況は参加者の主観や記憶に依存し、記入に際し不備がみられた者が全体の 19.4%であったこと、5) 参加者を抽出した地域では近隣に飲食店が少なく、食物選択の幅が狭かった可能性があることが考えられる。しかしながら、交代制勤務を伴う看護師・介護士の勤務シフト別の生活行動の違いが具体的に明らかにされたことは、交代制勤務者の健康の保持・増進を目的とした栄養教育プログラムを作成・実施する上で大きな意義がある。今後は、身長・体重の実測値および血液生化学指標を用いて栄養状態を客観的に評価し、複数地域にまたがった追跡研究や具体的な栄養教育のアプローチ法による介入研究が必要である。

### 3.食事時刻の後退が心臓自律神経活動の日周リズムに及ぼす影響

#### 1) はじめに

我が国では朝食欠食者の割合が2000年(10.7%)から2010年(14.1%)に向かって漸増しており<sup>79)</sup>、21時以降に食事をする者の割合も、1997年(17.0%)から2006年(19.1%)に向けて漸増している<sup>68)</sup>。それゆえ、このような食生活を始めた日々の生活習慣の変化が、概日時計の乱れに関わる可能性が考えられる<sup>9,10,80)</sup>。実際、動物実験では給餌を一定の時刻に制限することが概日時計の調節に関わることを示唆されている<sup>51,81-83)</sup>。

ところで、視床下部に存在する概日時計は生体の末梢組織における従時計に作用し、生体の数多くの代謝系の調節に関わるということが明らかにされている<sup>84)</sup>。概日時計の乱れは健康に対して悪影響を及ぼし、肥満、代謝異常、耐糖能異常および心血管系疾患につながることも報告されている<sup>3,22,28)</sup>。そして、これまでの先行研究の多くは、睡眠覚醒リズム<sup>29,31,85)</sup>や身体活動<sup>11)</sup>のタイミングの違いが概日リズムに及ぼす影響について検討してきた。しかしながら、ヒトを対象に朝食欠食や遅い夕食といった食生活と概日リズムとの関連を検討した報告は十分でない。

そこで本研究は、睡眠時刻を固定して身体活動を制限した条件で、1日3食の時刻を遅らせることが心臓自律神経活動の日周リズムに及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

#### 2) 方法

##### 2-1) 参加者

1日の最初の食事を8時頃に摂取し、毎日3食を規則的に摂る健常な男性7名(22.4 ± 0.4歳)を対象とした。実験の参加者は東京農業大学の掲示板にポスターを掲示して募集した。実験への参加条件として、喫煙習慣および心疾患が無く、医師による投薬治療を受けて

いないこととした。実験の参加者には、研究の目的、プロトコル、健康への影響を説明した後に書面によるインフォームドコンセントを得た。なお、本研究は東京農業大学倫理審査委員会による承認を受けた上で実施した。

## 2-2) プロトコル

研究デザインは1日3食の時刻を5時間ずつ遅らせる前後比較試験とした(Figure.3-1)。参加者の概日リズムの位相を安定させるために、介入前の少なくとも1ヶ月間は規則正しい生活を心がけるよう依頼し、介入の1週間前には8:00、13:00 および 18:00 に食事を摂るよう指示した。その後、2週間にわたって介入を行い、食事時刻を13:00、18:00 および 23:00 へと5時間ずつ遅らせ、1日3食全てを提供した。なお、1日のエネルギー摂取量はハリスベネディクトの式をもとに推定し、活動係数1.5を乗じて算出した(10.7 ± 0.4 MJ; 15% protein, 25% fat and 60% carbohydrates)。介入中の献立は管理栄養士が作成し、7日間のサイクルメニューとした。また、提供した食事以外の飲食を禁止し、摂取可能な飲み物はカフェインやエネルギーを含まないものとした。さらに、介入に対するコンプライアンスを確認するため、参加者には行動記録の管理票を配布し、起床・就寝時刻、食事時刻を記入するよう依頼した。さらに、身体活動量を把握するため、期間中は加速度体動計(Active Style Pro HJA-350IT, OMRON Corp., Tokyo, Japan)を腰のベルトに装着するよう参加者に指示した。なお、指定の食事時刻、睡眠時刻が守れるように、参加者へは予め決められた時刻に個別メールや電話で依頼・確認した。

介入前後の測定日では、測定前日の16:00から翌日の08:00まで40時間にわたって参加者を指定の宿泊施設(室温23-25°C)に滞在させた。測定当日の起床後(06:30)、空腹状態で身体計測を行った。体脂肪率の評価にはインピーダンス法を用いた(InBody430, Biospace Japan Inc., Tokyo, Japan)。その後、ホルター心電図計(RAC3103, NIHON KOHDEN Corp., Tokyo, Japan)を用いて、08:00から24時間にわたって心電図を連続的に記録した。記録中は身体活動を制限するために、睡眠時を除いて座位安静を保つよう指示した。

## 2-3) 心拍変動の周波数解析

交代制勤務者の研究と同様に行った<sup>43)</sup>。

#### 2-4) ダブルコサイナー法

交代制勤務者の研究と同様に行った<sup>43)</sup>。

#### 2-5) 統計解析

全てのデータは平均値±標準誤差で示した。データの正規分布を確認した後に、Paired t-test あるいは Wilcoxon signed-rank sum test を用いて介入前後の心拍変動指標を比較した。全ての解析には SPSS statistical software (IBM SPSS 20.0 for Windows, SPSS Japan, Tokyo, Japan)を用い、統計的有意水準は両側検定にて 5%とした。

### 3) 結果

参加者の特性を Table.3-1 に示した。体重、BMI、体脂肪率、エネルギー消費量は、介入前後で有意な差がみられなかった。心拍変動指標の 24 時間平均値も介入前後で有意な差がみられなかった。また、全参加者は指定された食事時刻、睡眠時刻を守り、介入に対するコンプライアンスは高かった。

Figure.3-2 に、ベースラインと介入後の心拍変動指標(HR, SD of RRI, LF/HF and %HF)の時系列変化のダブルプロットを示した。介入後の 8 時と 9 時の HR はベースラインに比べて有意に低値を示した( $56.3 \pm 2.2$  bpm;  $55.3 \pm 1.5$  bpm, respectively, vs.  $63.5 \pm 1.4$  bpm;  $60.6 \pm 1.3$  bpm, respectively)。介入後の 24 時の SD of RRI はベースラインに比べて有意に低値を示し( $84.0 \pm 7.6$  ms vs.  $119.0 \pm 16.5$  ms)、介入後の 8 時と 9 時の SD of RRI は有意に高値を示した( $101.3 \pm 5.2$  ms;  $103.5 \pm 5.8$  ms, respectively, vs.  $74.0 \pm 6.5$  ms;  $80.4 \pm 6.8$  ms, respectively)。また、介入後の 8 時の LF/HF はベースラインに比べて有意に低値を示した( $1.9 \pm 0.6$  vs.  $5.1 \pm 0.7$ )。さらに、介入後の 8 時の %HF はベースラインに比べて有意に高値を示した( $9.7 \pm 1.5\%$  vs.  $3.4 \pm 0.4\%$ )。

心拍変動指標の日周リズムの頂点位相と振幅を介入前後で比較した (Table.3-2,

Figure.3-3)。介入後の HR の振幅はベースラインに比べて有意に高値を示した。また、介入後の HR、SD of RRI および LF/HF の頂点位相はベースラインに比べて有意に後退した (1.7–3.5 h)。LF power、HF power および%HF の頂点位相と振幅には介入前後で有意な差がみられなかった。

#### 4) 考察

本研究は睡眠時刻を固定 (00:00–06:00) し、身体活動を制限した条件で 2 週間の前後比較試験を実施し、食事時刻の後退が心臓自律神経活動の日周リズムの位相に及ぼす影響を検討した。その結果、HR、SD of RRI および LF/HF の 24 時間周期のリズムの頂点位相が、ベースラインに比べて介入後で有意に後退し、食事の摂取タイミングが概日時計に影響する可能性が示唆された。

本研究においても心拍変動は日周リズムを刻むことが確認され、時間領域および周波数領域のいずれの指標の日周リズムも先行研究の結果と一致した<sup>13,86)</sup>。つまり、迷走神経活動を示す%HF は、08:00–20:00 の昼間に低値を示し、交感神経活動はその逆の変動パターンを示した。Hilton ら<sup>44)</sup>は 5 名の健常者を対象に 24 時間の RRI を測定し、夜間 (02:40 頃) に RRI が最も高値を示し、09:00–17:00 の昼間に低値を示すことを報告している。Malpas と Purdie ら<sup>87)</sup>も同様の結果を示しており、RRI や SD of RRI は夜間の 04:00 頃に最も高値を示すことを報告している。さらに、Emdin ら<sup>88)</sup>は心拍変動の周波数解析を行い、%HF は夜間、LF/HF は昼間にそれぞれ高値を示すことを明らかにしている。これらの結果は、外部刺激の影響を除外するコンスタントルーティンによる実験手法においても確認されており、心拍変動の日周リズムには概日リズムが含まれていることが明らかにされている<sup>13)</sup>。動物実験では視交叉上核から視床下部室傍核を介した自律神経系によって、心臓の拍動が調節されていることが明らかにされている<sup>6)</sup>。それゆえ、本研究においても、24 時間の心拍変動に内因性の概日リズムが含まれていた可能性が十分に

考えられる。

本研究で1日3食の時刻を2週間にわたって5時間ずつ遅らせたところ、心拍変動指標の日周リズムの頂点位相がベースラインに比べて介入後で1.7-3.5時間ほど後退した。Scheerら<sup>28)</sup>は10名の健常者を対象に通常の食事・睡眠時刻といった生活行動を12時間ずらし、概日リズムの位相のずれによる健康影響を検討したところ、高血糖や高インスリン血漿につながる可能性を明らかにした。しかしながら、この研究では睡眠時刻と食事時刻を同時にずらしており、食事時刻の違いのみが概日リズムの位相に及ぼす影響を検討したものではない。一方で、本研究は睡眠時刻を固定(00:00-06:00)し、身体活動を制限して2週間の介入を実施した。それゆえ、本研究で明らかになった心拍変動の日周リズムの位相後退には、食事時刻の変化のみが関わっていた可能性が考えられる。動物実験では本研究と同様の結果が明らかにされており、食事タイミングが概日時計の同調因子である可能性が示唆されている<sup>51,81-83)</sup>。実際、ヒトを対象とした断面研究では、朝食欠食や夜遅い夕食といった食行動の特徴を持つ夜食症候群患者は、食事タイミングだけでなくメラトニン、レプチンおよびインスリンといった内分泌系の指標の位相も後退していることが明らかにされている<sup>89)</sup>。それゆえ、これらの報告と本研究結果は一致しており、食事が概日時計の位相調節に対して重要な役割を担っていることを示唆するものであると考えている<sup>51,81)</sup>。

本研究の限界として、1) 外部刺激によるマスキングの影響は数学的な方法で完全に除去できないこと、2) 研究デザインが前後比較試験であるため、食事時刻以外の交絡因子を必ずしも十分に調整できていないこと、3) サンプルサイズが少なく、介入前後に有意な差が無いことを保証するものではないことが挙げられる。しかしながら、本研究は食事と概日リズムとの関連について、ヒトを対象に検討した初めての研究である。今後、食生活改善による健康教育の基礎資料の一つとなることが期待される。

## 4.朝食欠食者の食事時刻前進が心臓自律神経活動の

### 日周リズムおよび脂質代謝に及ぼす影響

#### 1) はじめに

これまでに、昼夜逆転の生活により普段の生活行動が乱れやすい交代制勤務者では、心臓自律神経活動の日周リズムの位相が日勤者に比べて後退していることや、朝食欠食といった食生活の問題、さらには交代制勤務経験年数とBMIとの間に正の相関があることを明らかにしてきた<sup>33,43)</sup>。交代制勤務によってBMI増加のリスクが高くなることは、長期的な前向きコホート研究においても明らかにされている<sup>65,90)</sup>。これらのことから、肥満には単にエネルギー出納だけが関わるだけでなく、朝食欠食といった食生活上の問題が関わる概日リズムの乱れが影響している可能性が考えられる。特に、朝食欠食に関する先行研究では、朝食欠食が血中脂質の増加、糖代謝異常や肥満発症のリスクとなることが示唆されている<sup>75,77,91)</sup>

ところで、ヒトの時計機構では視床下部視交叉上核の主時計が液性あるいは神経性因子を介して末梢組織の従時計に作用し、両者が一定の同調関係を保ちながら機能している<sup>4,5)</sup>。しかしながら、近年の24時間型社会では日常生活の夜型化に伴って概日時計の時間関係に乱れが生じ、肥満、糖尿病、脂質異常症および高血圧といった代謝異常をもたらす可能性が報告されている<sup>28,92,93)</sup>。

一方、時計遺伝子欠損マウスでは食事リズムが変化しており、時計遺伝子のネットワークが生体のエネルギーバランスに関わる可能性が示唆されている<sup>94)</sup>。また、給餌タイミングは時計遺伝子の位相を変化させるだけでなく、脂質代謝の調節にも関わるということが報告されている<sup>49,78)</sup>。しかしながら、ヒトを対象に食事と概日リズムとの関連を検討した報告はない。それゆえ、前章ではヒトを対象として食事時刻を遅くすることが心臓自律神経活動の日周リズムの位相に及ぼす影響を検討し、ヒトにおいても食事タイミング

が概日時計の同調因子となる可能性を明らかにした<sup>95)</sup>。しかしながら、食事時刻を早めることが心臓自律神経活動の日周リズムの位相や、脂質代謝に及ぼす影響については検討することができなかった。それゆえ、本研究では習慣的な朝食欠食者を対象として、1日3食の時刻を2週間にわたって早めることが心臓自律神経活動の日周リズムの位相および脂質代謝に及ぼす影響を検討することを目的とした。

## 2) 方法

### 2-1) 参加者

健康な成人男性 (21.4 ± 0.5 歳) で朝食欠食習慣を持ち、普段から 13:00、18:00 および 23:00 頃に食事を摂っている者を対象とした(n = 14)。なお、参加者は学内の掲示板の張り紙で募集した。参加条件として、喫煙習慣と心疾患が無く、医師による投薬治療を受けていないこととした。また、参加者の概日リズムの位相を安定させるために、介入前の少なくとも1ヶ月間は規則正しい生活を心がけるよう依頼し、介入の1週間前には13:00、18:00 および 23:00 に食事を摂るよう指示した。

必要サンプル数の設定には、心臓自律神経活動の日周リズムの頂点位相に有意な差が見られた我々の前後比較試験を参考とし<sup>95)</sup>、統計的有意水準 5% および検出力 80% でパワーアナリシスを行った。実験の参加者には、研究の目的、プロトコル、健康への影響を説明した後に書面によるインフォームドコンセントを得た。本研究は東京農業大学倫理審査委員会による承認を受けた上で実施した。

### 2-2) 研究デザイン

本研究は並行比較試験によって実施し、2週間の介入前後で測定を計2回行った。介入時には二つのグループに分け、13:00、18:00 および 23:00 の食事時刻を維持する対照群と、08:00、13:00 および 18:00 へと食事時刻を5時間ずつ早める前進群とした。食事時刻を早める介入に対し、介入前の概日リズムの位相によるバイアスを避けるために、

心拍変動指標の日周リズムの位相で層化し、参加者を前進群あるいは対照群のいずれかにランダムで割り付けた。つまり、参加者を介入前の心拍変動指標の頂点位相の中央値で二つの集団に分け、その後、それぞれの集団からランダムに前進群と対照群に振り分けた。本研究の参加者のうち、1名が大学の授業のために研究から脱落した。それゆえ、本研究では前進群が8名、対照群が6名となった。

### 2-3) プロトコル

2週間の介入中は1日3食の全てを提供した。エネルギー摂取量は群間で等価とした。1日の1食目、2食目、3食目のエネルギー量の割合は1:1:1とした(Figure.4-1)。2週間の介入中、提供された食事以外の飲食を禁止し、飲料はカフェインや熱量を含まないものを選ぶよう指示した。介入中の2週間の献立は管理栄養士が計画した。1日のエネルギー摂取量の推定には、ハリスベネディクトの式をもとに算出した基礎代謝量に活動係数1.5を乗じた( $10.7 \pm 0.4$  MJ; 15% protein, 25% fat, 60% carbohydrate)。期間中は00:00に就寝し、06:00に起床するよう参加者に指示し、飲酒、昼寝、中強度以上の身体活動を禁止した。その他の生活行動は普段通りにするよう依頼した。さらに、介入に対するコンプライアンスを確認するために、参加者に行動記録の管理票を配布し、起床・就寝時刻、食事時刻を記入するよう依頼した。さらに、身体活動量を把握するために期間中は加速度体動計(Active Style Pro HJA-350IT, OMRON Corp., Tokyo, Japan)を腰のベルトに装着するよう参加者に指示した。なお、指定の食事時刻、睡眠時刻が守れるように、参加者へは予め決められた時刻に個別メールや電話で依頼・確認した。

介入前後の測定日では、測定前日の16:00から翌日の08:00まで40時間にわたって参加者を指定の宿泊施設(室温23-25°C)に滞在させた。なお、測定当日の外部刺激による影響を除くために、介入前後の食事・睡眠時刻などの生活行動は全て同様にし(就寝00:00、起床06:00、1食目13:00、2食目18:00、3食目23:00)、静かに読書するなど、睡眠時を除いて可能な限り座位安静を保つよう指示した。測定当日の起床後(06:30)、空腹状態で身体計測を行った。体脂肪率の評価にはインピーダンス法を用いた(InBody430,

Biospace Japan Inc., Tokyo, Japan)。採血は 07:00 に行い、ホルター心電図計 (RAC3103, NIHON KOHDEN Corp., Tokyo, Japan) を用いて 08:00 から 24 時間にわたって心電図を連続的に記録した。

#### 2-4) 血液生化学指標

空腹時血糖値、血清インスリン濃度、中性脂肪、総コレステロール、LDL コレステロール、HDL コレステロール濃度を評価するために、前腕肘正中皮静脈から採血した。得られた試料はすぐに遠心分離し、分析まで-80 で保管した。血液生化学分析は株式会社メディカルラボに依頼した。

インスリン抵抗性(HOMA-IR)と膵臓ランゲルハンス島 β 細胞機能(HOMA-β)を評価するためにホメオスタシスモデルアセスメントを用い<sup>96)</sup>、それぞれの値は以下の式より算出した:

$$\bullet \text{ HOMA-IR} = \text{空腹時血清インスリン } (\mu\text{U/mL}) \times \text{空腹時血糖値 } (\text{mg/dL}) / 405.$$

$$\bullet \text{ HOMA-}\beta = \text{空腹時血清インスリン } (\mu\text{U/mL}) \times 360 / \text{空腹時血糖値 } (\text{mg/dL}) - 63.$$

#### 2-5) 心拍変動指標

交代制勤務者の研究と同様に行った<sup>43)</sup>。

#### 2-6) ダブルコサインナー法

交代制勤務者の研究と同様に行った<sup>43)</sup>。

#### 2-7) 統計解析

値は平均値±標準誤差で示した。Shapiro-Wilk test にてデータの正規分布を確認した後、Non-paired t test あるいは Mann-Whitney U test を用い、血液生化学指標および心拍変動指標の頂点位相の介入前後の変化量を比較した。解析には SPSS statistical software (IBM SPSS 20.0 for Windows, SPSS Japan, Tokyo, Japan)を用い、統計的有意水準は両側検定にて 5%とした。

### 3) 結果

介入前の参加者特性を Table.4-1 に示した。介入前では、年齢、BMI および体脂肪率は 2 群間に有意な差がみられなかった。さらに、血糖値、遊離脂肪酸、中性脂肪、血清インスリン、総コレステロール、LDL コレステロール、HDL コレステロール濃度、HOMA-IR および HOMA- $\beta$  のいずれも 2 群間に有意な差がみられなかった。

血液生化学指標の 2 週間の介入前後の変化量を算出し、2 群間で比較した (Figure.4-2)。その結果、前進群の中性脂肪濃度 ( $-9.4 \pm 2.2$  mg/dL) は対照群 ( $-0.3 \pm 3.2$  mg/dL) に比べて有意に減少した ( $p = 0.035$ )。総コレステロール濃度は前進群 ( $-23.6 \pm 4.2$  mg/dL) が対照群 ( $-3.3 \pm 4.9$  mg/dL) に比べて有意に減少した ( $p = 0.008$ )。LDL コレステロール濃度は前進群 ( $-22.4 \pm 4.0$  mg/dL) が対照群 ( $-0.8 \pm 4.3$  mg/dL) に比べて有意に減少した ( $p = 0.004$ )。一方、HDL コレステロール濃度は 2 群間に有意な差がみられなかった ( $p = 0.205$ )。また、血糖値、遊離脂肪酸、血清インスリン濃度、HOMA-IR および HOMA- $\beta$  のいずれの変化量にも 2 群間に有意な差はみられなかった。

対照群(左図, a)と前進群(右図, b)における心拍変動指標(HR, SD of RRI, LF/HF, and %HF)の時系列変化と近似した余弦曲線を Figure.4-3 に示した。全ての心拍変動指標は日周リズムを示した。交感神経活動を示す LF/HF は両群ともに昼間に高値を示して夜間に低値を示した。一方、迷走神経活動を示す %HF は夜間に高値を示し、昼間に低値を示した。また、介入前の心拍変動指標の日周リズムの頂点位相を比較したところ、2 群間に有意な差がみられなかった (Table.4-2)。そこで、心拍変動指標の日周リズムの頂点位相の介入前後の変化量を算出し、2 群間で比較した (Figure.4-4)。HR、SD of RRI、HF power および LF/HF では、介入前後の位相変化量は 2 群間に有意な差がみられなかった。しかし、前進群の LF power の位相変化量 ( $-3.2 \pm 1.2$  h) は、対照群に比べて有意に低値を示し ( $1.9 \pm 2.0$  h) ( $p = 0.038$ )、前進群の %HF の位相変化量 ( $-1.2 \pm 0.5$  h) は、対照群に比べて有意に低値を示しており ( $0.5 \pm 0.6$  h) ( $p = 0.039$ )、前進群の心臓自律神経活動の日周リ

ズムの位相が2週間の介入によって早い時間帯に分布した。

#### 4) 考察

食事時刻と心臓自律神経活動の日周リズムの位相および血中脂質との関連を実験的に検討した。その結果、睡眠時刻を固定（00:00-06:00）して身体活動を制限した並行比較試験においても、朝食欠食者の1日3食の時刻を2週間にわたって5時間ずつ早めると、心臓自律神経活動の日周リズムの頂点位相が有意に前進し、さらには中性脂肪およびLDL コレステロール濃度が有意に減少した。このことから、食事タイミングは概日時計の位相を同調させるために重要な役割を担っており、さらには脂質代謝に影響を及ぼす可能性が明らかになった。

心臓自律神経活動は心拍変動の解析によって非侵襲的かつ生理学的に評価できる<sup>16,17)</sup>。本研究では外部刺激による概日リズムへの影響を取り除くために介入前後で身体活動や睡眠時刻をコントロールした条件で心拍変動を24時間記録した。その結果、交感神経活動を示すLF/HFは昼間に高値を示し、夜間に低値を示した。また、迷走神経活動を示す%HFは夜間に高値を示し、昼間に低値を示した。この結果は、コンスタントルーテインによって外部刺激の影響を除外して概日リズムを評価した実験結果<sup>13,44)</sup>と一致していた。それゆえ、本研究における心拍変動の日周リズムにも、概日時計由来の内因性の概日リズムが含まれている可能性が十分に考えられる。

本研究によって1日3食の時刻を5時間ずつ早めたところ、前進群において心臓自律神経活動の日周リズムの頂点位相が有意に前進した。動物実験では、4日間にわたって給餌時刻を6時間遅らせたところ、自発運動や*Bmal-1*といった時計遺伝子の発現リズムの位相が後退し、概日時計の位相調節に食事が重要な役割を担っていることが示されている<sup>78)</sup>。Hiraoら<sup>50)</sup>やFuseら<sup>97)</sup>も制限給餌によるタイミングの変化と時計遺伝子の発現リズムの位相との関連を検討し、食事が概日時計の位相調節に関わる可能性を明らかに

している。また、Salgado-Delgado ら<sup>8)</sup>は明期に強制的な身体活動（8時間）を行わせる模擬的な交代制勤務の実験を実施した。その結果、自由摂取や明期のみの給餌条件では時計遺伝子の発現リズムの乱れが生じたものの、給餌を通常の暗期に固定すると時計遺伝子の発現リズムが乱れないことを明らかにした。これらの生理学的な背景として、食事に合わせて末梢組織から分泌されるグレリンやインスリンが液性因子として概日時計の位相を調節している可能性も示唆されている<sup>10,80)</sup>。一方、Fuller ら<sup>81)</sup>は14日間にわたる制限給餌は視交叉上核の時計遺伝子に影響を及ぼさないものの、視床下部背内側核の時計遺伝子の発現リズムに作用することを明らかにしている。それゆえ、現段階では食事が概日時計の同調因子として働くその詳細な経路については一貫した結論が得られていない。つまり、食事が直接的に主時計に、あるいは間接的に末梢組織を介して主時計に作用するののかについては不明である。しかしながら、今回、ヒトを対象に実施した介入研究の結果は、動物実験で明らかにされた結果とよく一致した。特に介入期間中は睡眠時刻（00:00–06:00）を固定して身体活動を制限したことからも、食事が概日時計の位相調節に関わる可能性が十分に考えられる。

さらに、本研究では2週間にわたる食事時刻の前進は中性脂肪、総コレステロールおよびLDLコレステロール濃度を有意に減少させた。Smith ら<sup>75)</sup>は2184名を対象とした縦断研究で、朝食欠食と空腹時インスリンやLDLコレステロール濃度との関連を検討した。その結果、追跡前後ともに朝食を欠食している者のインスリンやLDLコレステロール濃度は摂取者に比べて有意に高値を示した。Farshchi ら<sup>76)</sup>は朝食欠食による2週間の介入実験により、朝食欠食群の総コレステロールやLDLコレステロール濃度が摂取群に比べて有意に高値を示すことを明らかにした。これらの結果は本研究結果と一致しており、起床後最初の食事を8時に摂取した前進群は13時に摂取した対照群に比べて血中脂質が有意に減少した。それゆえ、食事摂取タイミングは血中脂質濃度に影響を及ぼし、さらには代謝疾患や心血管系疾患のリスクに関わる可能性がある。動物実験では、暗期の給餌開始時刻を6時間後退させることで時計遺伝子の一つである *Bmal-1* の発現パター

ンが後退するだけでなく、同時に *Fas* や *Srebp-1c* の遺伝子発現や脂肪合成が高まることが報告されている<sup>78)</sup>。BMAL1 は概日時計の調節だけでなく、脂肪合成の調節にも重要な役割を担っている<sup>98)</sup>。Shimba ら<sup>99)</sup>によると、*Bmal-1* 遺伝子欠損ラットの呼吸商が高値を示し、エネルギー源としての脂肪利用率に BMAL1 が関わることを示した。さらに、*Bmal-1* 遺伝子欠損は脂肪組織における脂肪貯蔵を減少させて血中脂質を増加させることも明らかにした。実際にヒトを対象とした報告においても、時計遺伝子の乱れはメタボリックシンドローム指標と関わることが示唆されており、Gomez-Abellan ら<sup>100)</sup>は時計遺伝子(*Bmal1*, *Per2* and *Cry1*)の発現が、腹囲周囲計、総コレステロールおよび LDL コレステロール濃度と有意な関連を持つことを報告した。それゆえ、本研究によって、食事時刻が概日時計の位相調節に関わるだけでなく、それを介して脂質代謝の調節にも重要な役割を担っている可能性が示唆された。

本研究の限界として、1) 体動、呼吸などの測定当日の外部刺激によるマスキングの影響を完全に除去できていないこと、2) 食事内容、量および回数については検討できていないこと、3) 並行比較試験ではあるが、睡眠時刻を固定して身体活動を制限した実験的な検証であるため、介入期間中の生活行動が必ずしも参加者の普段の生活と同じでないこと、4) サンプルサイズが少ないため、統計的に有意な差が無かったことを保証するものではないことが挙げられる。それゆえ、コンスタントルーティンによる実験デザインを用いる、あるいは概日リズムの頂点位相を感度よく捉えられるメラトニンを測定するなどの検討も必要である。今後はこれらの限界を考慮した上で大規模な集団での検討を進めていく必要がある。

しかしながら、本研究はヒトを対象として食事時刻が心臓自律神経活動の日周リズムの位相調節に関わること、さらには脂質代謝にも影響する可能性を示した初めての介入研究である。我が国では、近年、朝食欠食や遅い夕食といった食生活上の問題をかかえる人々が増加しており、このことが生活習慣病と関わる可能性も示唆されている。本研究によって得られた我々の知見は、食事を始めとした生活行動の変化がヒトの概日リズム

ムの乱れを生じる可能性を示唆しており、これに関わる一連の疾患に対して具体的な改善策を提案するための資料として有意義な成果と考えている。

## 結論

本研究では昼夜逆転の生活が繰り返される交代制勤務者の食事時刻や睡眠時刻、さらには心臓自律神経活動の日周リズムを生理学的に評価するとともに、食事時刻の違いが心臓自律神経活動の日周リズムの位相および血中脂質に及ぼす影響について検討した。その結果、1) 交代制勤務者に代表される不規則な生活リズムを持つ者は食事時刻や心臓自律神経活動の日周リズムが乱れること、2) 食事時刻は心臓自律神経活動の日周リズムの位相や血中脂質濃度に影響を及ぼすことが明らかとなった。これらの知見は、食事時刻がヒトの概日時計の同調因子として重要な役割を担うだけでなく、脂質代謝にも影響を及ぼす可能性を示唆している。

今後は、朝食欠食や遅い夕食習慣を持つ人々や、看護師・介護士のみならず様々な職種の交代制勤務に従事する人々を対象に、食事が日周リズムに及ぼす影響を詳細に検討するとともに、食事がヒトの健康の維持・増進に果たす役割を長期的に検討していく必要がある。

## 参考文献

1. WHO Global Health Observatory Data Repository.  
<http://apps.who.int/gho/data/node.main.A903?lang=en> (Accessed in 10 Oct, 2014).
2. Knutsson A (2003) Health disorders of shift workers. *Occup Med (Lond)* 53: 103-108.
3. Arendt J (2010) Shift work: coping with the biological clock. *Occup Med (Lond)* 60: 10-20.
4. Czeisler CA, Duffy JF, Shanahan TL, Brown EN, Mitchell JF, et al. (1999) Stability, precision, and near-24-hour period of the human circadian pacemaker. *Science* 284: 2177-2181.
5. Hastings MH, Reddy AB, Maywood ES (2003) A clockwork web: circadian timing in brain and periphery, in health and disease. *Nat Rev Neurosci* 4: 649-661.
6. Scheer FA, Ter Horst GJ, van Der Vliet J, Buijs RM (2001) Physiological and anatomic evidence for regulation of the heart by suprachiasmatic nucleus in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H1391-H1399.
7. Scheer FA, van Doornen LJ, Buijs RM (1999) Light and diurnal cycle affect human heart rate: possible role for the circadian pacemaker. *J Biol Rhythms* 14: 202-212.
8. Salgado-Delgado RC, Saderi N, Basualdo Mdel C, Guerrero-Vargas NN, Escobar C, et al. (2013) Shift work or food intake during the rest phase promotes metabolic disruption and desynchrony of liver genes in male rats. *PLoS One* 8: e60052.
9. Salgado-Delgado R, Angeles-Castellanos M, Saderi N, Buijs RM, Escobar C (2010) Food intake during the normal activity phase prevents obesity and circadian desynchrony in a rat model of night work. *Endocrinology* 151: 1019-1029.
10. Challet E, Mendoza J (2010) Metabolic and reward feeding synchronises the rhythmic brain. *Cell and Tissue Research* 341: 1-11.
11. Van Reeth O, Sturis J, Byrne MM, Blackman JD, L'Hermite-Baleriaux M, et al. (1994)

- Nocturnal exercise phase delays circadian rhythms of melatonin and thyrotropin secretion in normal men. *Am J Physiol* 266: E964-E974.
12. 厚生労働省 平成 23 年国民健康・栄養調査報告  
<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyou/h23-houkoku.html>. (Accessed in 18 Oct, 2013).
  13. Vandewalle G, Middleton B, Rajaratnam SM, Stone BM, Thorleifsdottir B, et al. (2007) Robust circadian rhythm in heart rate and its variability: influence of exogenous melatonin and photoperiod. *J Sleep Res* 16: 148-155.
  14. Krauchi K, Wirz-Justice A (1994) Circadian rhythm of heat production, heart rate, and skin and core temperature under unmasking conditions in men. *Am J Physiol* 267: R819-R829.
  15. Togo F, Takahashi M (2009) Heart rate variability in occupational health --a systematic review. *Ind Health* 47: 589-602.
  16. Akselrod S, Gordon D, Ubel FA, Shannon DC, Berger AC, et al. (1981) Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science* 213: 220-222.
  17. Malliani A, Pagani M, Lombardi F, Cerutti S (1991) Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 84: 482-492.
  18. Saul J (1990) Beat-To-Beat Variations of Heart Rate Reflect Modulation of Cardiac Autonomic Outflow. *News Physiol Sci* 5: 32-37.
  19. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. (1996) Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation* 93: 1043-1065.
  20. Akerstedt T, Knutsson A, Alfredsson L, Theorell T (1984) Shift work and cardiovascular disease. *Scand J Work Environ Health* 10: 409-414.
  21. Costa G (2003) Shift work and occupational medicine: an overview. *Occup Med (Lond)* 53: 83-88.

22. Prasai MJ, George JT, Scott EM (2008) Molecular clocks, type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Diab Vasc Dis Res* 5: 89-95.
23. Boggild H, Knutsson A (1999) Shift work, risk factors and cardiovascular disease. *Scand J Work Environ Health* 25: 85-99.
24. Fujino Y, Iso H, Tamakoshi A, Inaba Y, Koizumi A, et al. (2006) A prospective cohort study of shift work and risk of ischemic heart disease in Japanese male workers. *Am J Epidemiol* 164: 128-135.
25. Sookoian S, Gemma C, Fernandez Gianotti T, Burgueno A, Alvarez A, et al. (2007) Effects of rotating shift work on biomarkers of metabolic syndrome and inflammation. *J Intern Med* 261: 285-292.
26. Salgado-Delgado R, Nadia S, Angeles-Castellanos M, Buijs RM, Escobar C (2010) In a rat model of night work, activity during the normal resting phase produces desynchrony in the hypothalamus. *J Biol Rhythms* 25: 421-431.
27. Walters J, Skene D, Hampton SM, Ferns GA (2003) Biological rhythms, endothelial health and cardiovascular disease. *Med Sci Monit* 9: RA1-8.
28. Scheer FA, Hilton MF, Mantzoros CS, Shea SA (2009) Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 4453-4458.
29. Goichot B, Weibel L, Chapotot F, Gronfier C, Piquard F, et al. (1998) Effect of the shift of the sleep-wake cycle on three robust endocrine markers of the circadian clock. *Am J Physiol* 275: E243-E248.
30. Freitas J, Lago P, Puig J, Carvalho MJ, Costa O, et al. (1997) Circadian heart rate variability rhythm in shift workers. *J Electrocardiol* 30: 39-44.
31. Furlan R, Barbic F, Piazza S, Tinelli M, Seghizzi P, et al. (2000) Modifications of cardiac autonomic profile associated with a shift schedule of work. *Circulation* 102: 1912-1916.
32. Mitani S, Fujita M, Shirakawa T (2006) Circadian variation of cardiac autonomic nervous

- profile is affected in Japanese ambulance men with a working system of 24-h shifts. *Int Arch Occup Environ Health* 79: 27-32.
33. 吉崎貴大, 多田由紀, 児玉俊明, 森佳子, 小久保友貴, et al. (2010) 交代制勤務に従事する女性看護師および介護士における食習慣および生活時間と BMI の関連. *日本栄養・食糧学会誌* 63: 161-167.
  34. Science and Technology Agency (2005) Standard Tables of Food Composition in Japan. 5th revised and enlarged ed (in Japanese). Tokyo, Printing Bureau of the Ministry of Finance.
  35. Hamilton PS, Tompkins WJ (1986) Quantitative investigation of QRS detection rules using the MIT/BIH arrhythmia database. *IEEE Trans Biomed Eng* 33: 1157-1165.
  36. DeBoer RW, Karemaker JM, Strackee J (1984) Comparing spectra of a series of point events particularly for heart rate variability data. *IEEE Trans Biomed Eng* 31: 384-387.
  37. Yamamoto Y, Hughson RL (1991) Coarse-graining spectral analysis: new method for studying heart rate variability. *J Appl Physiol* 71: 1143-1150.
  38. Yamamoto Y, Hughson RL (1994) On the fractal nature of heart rate variability in humans: effects of data length and beta-adrenergic blockade. *Am J Physiol* 266: R40-R49.
  39. Tabata M, Takeshima T, Burioka N, Nomura T, Ishizaki K, et al. (2000) Cosinor analysis of heart rate variability in ambulatory migraineurs. *Headache* 40: 457-463.
  40. Teicher MH, Barber NI (1990) COSIFIT: an interactive program for simultaneous multioscillator cosinor analysis of time-series data. *Comput Biomed Res* 23: 283-295.
  41. Sakamoto N, Yoshiuchi K, Kikuchi H, Takimoto Y, Kaiya H, et al. (2008) Panic disorder and locomotor activity. *Biopsychosoc Med* 2: 23.
  42. Nelson W, Tong YL, Lee JK, Halberg F (1979) Methods for cosinor-rhythmometry. *Chronobiologia* 6: 305-323.
  43. Yoshizaki T, Kawano Y, Tada Y, Hida A, Midorikawa T, et al. (2013) Diurnal 24-hour rhythm

- in ambulatory heart rate variability during the day shift in rotating shift workers. *J Biol Rhythms* 28: 227-236.
44. Hilton MF, Umali MU, Czeisler CA, Wyatt JK, Shea SA (2000) Endogenous circadian control of the human autonomic nervous system. *Comput Cardiol* 27: 197-200.
45. Kantermann T, Juda M, Vetter C, Roenneberg T (2010) Shift-work research: Where do we stand, where should we go? *Sleep Biol Rhythms* 8: 95–105.
46. Nguyen J, Wright KP, Jr. (2009) Influence of weeks of circadian misalignment on leptin levels. *Nat Sci Sleep* 2010: 9-18.
47. Ribeiro DC, Hampton SM, Morgan L, Deacon S, Arendt J (1998) Altered postprandial hormone and metabolic responses in a simulated shift work environment. *J Endocrinol* 158: 305-310.
48. Gooley JJ, Schomer A, Saper CB (2006) The dorsomedial hypothalamic nucleus is critical for the expression of food-entrainable circadian rhythms. *Nat Neurosci* 9: 398-407.
49. Hara R, Wan K, Wakamatsu H, Aida R, Moriya T, et al. (2001) Restricted feeding entrains liver clock without participation of the suprachiasmatic nucleus. *Genes Cells* 6: 269-278.
50. Hirao A, Nagahama H, Tsuboi T, Hirao M, Tahara Y, et al. (2010) Combination of starvation interval and food volume determines the phase of liver circadian rhythm in *Per2::Luc* knock-in mice under two meals per day feeding. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 299: G1045-1053.
51. Mieda M, Williams SC, Richardson JA, Tanaka K, Yanagisawa M (2006) The dorsomedial hypothalamic nucleus as a putative food-entrainable circadian pacemaker. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 12150-12155.
52. Mendoza J (2007) Circadian clocks: setting time by food. *J Neuroendocrinol* 19: 127-137.
53. 厚生労働省 労働安全衛生に関する調査.

<http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/list46-50.html>. (Accessed in 10 Oct, 2013).

54. 総務省 統計局の統計. <http://www.stat.go.jp/>. (Accessed in 18 Oct, 2013).
55. 厚生労働省 平成 19 年介護サービス施設・事業所調査結果の概況.  
<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/kaigo/service07/index.html>. (Accessed in 18 Oct, 2013).
56. Lin YC, Hsiao TJ, Chen PC (2009) Persistent rotating shift-work exposure accelerates development of metabolic syndrome among middle-aged female employees: a five-year follow-up. *Chronobiol Int* 26: 740-755.
57. De Bacquer D, Van Risseghem M, Clays E, Kittel F, De Backer G, et al. (2009) Rotating shift work and the metabolic syndrome: a prospective study. *Int J Epidemiol* 38: 848-854.
58. Kawada T, Otsuka T (2014) Effect of shift work on the development of metabolic syndrome after 3 years in Japanese male workers. *Arch Environ Occup Health* 69: 55-61.
59. Kroenke CH, Spiegelman D, Manson J, Schernhammer ES, Colditz GA, et al. (2007) Work characteristics and incidence of type 2 diabetes in women. *Am J Epidemiol* 165: 175-183.
60. Morikawa Y, Nakagawa H, Miura K, Soyama Y, Ishizaki M, et al. (2005) Shift work and the risk of diabetes mellitus among Japanese male factory workers. *Scand J Work Environ Health* 31: 179-183.
61. Oyama I, Kubo T, Fujino Y, Kadowaki K, Kunimoto M, et al. (2012) Retrospective cohort study of the risk of impaired glucose tolerance among shift workers. *Scandinavian Journal of Work Environment & Health* 38: 337-342.
62. Kawachi I, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Manson JE, et al. (1995) Prospective study of shift work and risk of coronary heart disease in women. *Circulation* 92: 3178-3182.
63. Kubo T, Ozasa K, Mikami K, Wakai K, Fujino Y, et al. (2006) Prospective cohort study of the risk of prostate cancer among rotating-shift workers: findings from the Japan collaborative cohort study. *Am J Epidemiol* 164: 549-555.
64. Stevens RG, Hansen J, Costa G, Haus E, Kauppinen T, et al. (2011) Considerations of

- circadian impact for defining 'shift work' in cancer studies: IARC Working Group Report. *Occup Environ Med* 68: 154-162.
65. Suwazono Y, Dochi M, Sakata K, Okubo Y, Oishi M, et al. (2008) A longitudinal study on the effect of shift work on weight gain in male Japanese workers. *Obesity (Silver Spring)* 16: 1887-1893.
66. van Amelsvoort LG, Schouten EG, Kok FJ (1999) Duration of shiftwork related to body mass index and waist to hip ratio. *Int J Obes Relat Metab Disord* 23: 973-978.
67. 高橋啓子, 吉村幸雄, 開元多恵, 國井大輔, 小松龍史, et al. (2001) 栄養素及び食品群別摂取量推定のための食品群をベースとした食物摂取頻度調査票の作成および妥当性. *栄養学雑誌* 59: 221-232.
68. 厚生労働省 平成 18 年度国民健康・栄養調査結果の概要.  
<http://www.mhlw.jp/houdou/2008/04/h0430-2a.html>. (Accessed in 18 Oct, 2013).
69. NHK 放送文化研究所 2005 年国民生活時間調査報告書.  
<http://www.nhk.or.jp/bunken/index.html>. (Accessed in 18 Oct, 2013).
70. 厚生労働省 (2010) 日本人の食事摂取基準 (2010 年版) . 第一出版.
71. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, Colditz GA, Stampfer MJ, et al. (2004) Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA* 292: 927-934.
72. Raben A, Vasilaras TH, Moller AC, Astrup A (2002) Sucrose compared with artificial sweeteners: different effects on ad libitum food intake and body weight after 10 wk of supplementation in overweight subjects. *Am J Clin Nutr* 76: 721-729.
73. Atkinson G, Fullick S, Grindley C, Maclaren D (2008) Exercise, energy balance and the shift worker. *Sports Med* 38: 671-685.
74. Oliver G, Wardle J (1999) Perceived effects of stress on food choice. *Physiol Behav* 66: 511-515.

75. Smith KJ, Gall SL, McNaughton SA, Blizzard L, Dwyer T, et al. (2010) Skipping breakfast: longitudinal associations with cardiometabolic risk factors in the Childhood Determinants of Adult Health Study. *Am J Clin Nutr* 92: 1316-1325.
76. Farshchi HR, Taylor MA, Macdonald IA (2005) Deleterious effects of omitting breakfast on insulin sensitivity and fasting lipid profiles in healthy lean women. *Am J Clin Nutr* 81: 388-396.
77. Ma Y, Bertone ER, Stanek EJ, 3rd, Reed GW, Hebert JR, et al. (2003) Association between eating patterns and obesity in a free-living US adult population. *Am J Epidemiol* 158: 85-92.
78. Yoshida C, Shikata N, Seki S, Koyama N, Noguchi Y (2012) Early nocturnal meal skipping alters the peripheral clock and increases lipogenesis in mice. *Nutr Metab (Lond)* 9: 78.
79. 厚生労働省 平成 22 年国民健康・栄養調査報告. 第一出版.
80. Patton DF, Mistlberger RE (2013) Circadian adaptations to meal timing: neuroendocrine mechanisms. *Front Neurosci* 7: 185.
81. Fuller PM, Lu J, Saper CB (2008) Differential rescue of light- and food-entrainable circadian rhythms. *Science* 320: 1074-1077.
82. Mistlberger RE (2011) Neurobiology of food anticipatory circadian rhythms. *Physiol Behav* 104: 535-545.
83. Stephan FK (1997) Calories affect zeitgeber properties of the feeding entrained circadian oscillator. *Physiol Behav* 62: 995-1002.
84. Charoensuksai P, Xu W (2010) PPARs in Rhythmic Metabolic Regulation and Implications in Health and Disease. *Ppar Research*.
85. James FO, Cermakian N, Boivin DB (2007) Circadian rhythms of melatonin, cortisol, and clock gene expression during simulated night shift work. *Sleep* 30: 1427-1436.
86. Boudreau P, Dumont G, Kin NM, Walker CD, Boivin DB (2011) Correlation of heart rate variability and circadian markers in humans. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*: 681-682.

87. Malpas SC, Purdie GL (1990) Circadian variation of heart rate variability. *Cardiovasc Res* 24: 210-213.
88. Emdin M, Gastaldelli A, Muscelli E, Macerata A, Natali A, et al. (2001) Hyperinsulinemia and autonomic nervous system dysfunction in obesity: effects of weight loss. *Circulation* 103: 513-519.
89. Goel N, Stunkard AJ, Rogers NL, Van Dongen HP, Allison KC, et al. (2009) Circadian rhythm profiles in women with night eating syndrome. *J Biol Rhythms* 24: 85-94.
90. Niedhammer I, Lert F, Marne MJ (1996) Prevalence of overweight and weight gain in relation to night work in a nurses' cohort. *Int J Obes Relat Metab Disord* 20: 625-633.
91. Reutrakul S, Hood MM, Crowley SJ, Morgan MK, Teodori M, et al. (2013) The Relationship Between Breakfast Skipping, Chronotype, and Glycemic Control in Type 2 Diabetes. *Chronobiol Int*.
92. Salgado-Delgado R, Angeles-Castellanos M, Buijs MR, Escobar C (2008) Internal desynchronization in a model of night-work by forced activity in rats. *Neuroscience* 154: 922-931.
93. Fonken LK, Workman JL, Walton JC, Weil ZM, Morris JS, et al. (2010) Light at night increases body mass by shifting the time of food intake. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 18664-18669.
94. Turek FW, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, et al. (2005) Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science* 308: 1043-1045.
95. Yoshizaki T, Tada Y, Hida A, Sunami A, Yokoyama Y, et al. (2013) Influence of dietary behavior on the circadian rhythm of the autonomic nervous system as assessed by heart rate variability. *Physiol Behav* 118: 122-128.
96. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, et al. (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and

insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28: 412-419.

97. Fuse Y, Hirao A, Kuroda H, Otsuka M, Tahara Y, et al. (2012) Differential roles of breakfast only (one meal per day) and a bigger breakfast with a small dinner (two meals per day) in mice fed a high-fat diet with regard to induced obesity and lipid metabolism. *J Circadian Rhythms* 10: 4.
98. Shimba S, Ishii N, Ohta Y, Ohno T, Watabe Y, et al. (2005) Brain and muscle Arnt-like protein-1 (BMAL1), a component of the molecular clock, regulates adipogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 12071-12076.
99. Shimba S, Ogawa T, Hitosugi S, Ichihashi Y, Nakadaira Y, et al. (2011) Deficient of a clock gene, brain and muscle Arnt-like protein-1 (BMAL1), induces dyslipidemia and ectopic fat formation. *PLoS One* 6: e25231.
100. Gomez-Abellan P, Hernandez-Morante JJ, Lujan JA, Madrid JA, Garaulet M (2008) Clock genes are implicated in the human metabolic syndrome. *Int J Obes (Lond)* 32: 121-128.

## 謝辞

本研究を通じて、研究計画から論文執筆に至るまで、終始懇切丁寧なご指導、ご助言、ご検閲を賜りました東京農業大学大学院農学研究科 川野因教授に深く感謝申し上げます。また、本研究を進めるにあたり、ご指導、ご助言を賜りました東京農業大学大学院農学研究科 鈴木和春教授、上岡洋晴教授、東京大学大学院身体教育学研究科 東郷史治准教授、東京工科大学医療保健学部理学療法学科 小松泰喜教授、医療法人士合会介護老人保健施設とよさと理学療法士 三谷健様、緑川亨様、長谷川宏平様、東京農業大学応用生物科学部栄養科学科 日田安寿美准教授、多田由紀助教に心より感謝申し上げます。

そして、本研究の調査・実験の遂行にご協力を賜りました東京農業大学応用生物科学部栄養科学科保健栄養学研究室の卒業生の皆様、本研究へ御協力頂いた参加者の皆様、これまでの研究生活を支えてくれた関係者の皆様に心より御礼申し上げます。

## 图表

Table.1-1 General characteristics

		Day n = 14	Rotating shift n = 13	P values
Age*	(yr)	38.0 ± 8.9	41.2 ± 11.9	0.431
Working experience <sup>†</sup>	(yr)	4.8 ± 5.3	6.1 ± 5.0	0.234
Height*	(cm)	159.0 ± 5.8	158.5 ± 4.3	0.813
Weight*	(kg)	57.2 ± 9.3	56.7 ± 8.4	0.868
Body mass index*	(kg/m <sup>2</sup> )	22.6 ± 3.4	22.5 ± 2.6	0.908
Step counts <sup>†</sup>	(steps/day)	12595 ± 2447	12655 ± 2310	0.948
<b>24-h average</b>				
RRI*	(ms)	774 ± 73	752 ± 68	0.416
SD of RRI*	(ms)	58.4 ± 11.0	53.7 ± 8.9	0.235
LF power	(ms <sup>2</sup> )	145.8 ± 178.2	105.3 ± 59.2	0.923
HF power	(ms <sup>2</sup> )	70.2 ± 42.2	62.7 ± 39.9	0.640
LF/HF		4.4 ± 3.3	3.7 ± 2.0	0.489
HF nu	(n.u.)	0.45 ± 0.11	0.41 ± 0.07	0.315
Total sleeping time*	(h)	401 ± 65	406 ± 120	0.903
<b>Energy intake</b>				
Total energy intake*	(kcal)	1942 ± 283	1871 ± 421	0.610
Breakfast E%*	(%)	18.2 ± 9.6	17.0 ± 9.1	0.981
Lunch E% <sup>†</sup>	(%)	36.7 ± 6.0	34.9 ± 15.5	0.683
Dinner E%*	(%)	41.4 ± 10.7	42.4 ± 17.2	0.860
Snacking E%*	(%)	3.7 ± 6.3	5.7 ± 6.7	0.072
<b>Time of day</b>				
Retiring <sup>†</sup>	(h:min)	23:29 ± 0:51	23:57 ± 1:49	0.782
Waking up*	(h:min)	6:10 ± 0:45	6:42 ± 1:18	0.239
Breakfast time <sup>†</sup>	(h:min)	6:51 ± 0:48	7:11 ± 0:35	0.133
Lunch time*	(h:min)	12:48 ± 0:25	12:36 ± 0:34	0.307
Dinner time*	(h:min)	19:56 ± 0:44	19:41 ± 0:55	0.440

All values are expressed as means±SD. There are missing values in breakfast time, retiring, waking up, and total sleep time for 3 day workers and 1 shift worker.

\*Non-paired t test; <sup>†</sup>Mann-Whitney-U test; <sup>‡</sup>The ratio of energy intake at each meal to total energy intake.

RRI, RR interval; SD of RRI, standard deviation of R-R intervals; LF power, low frequency power (0.04-0.15Hz); HF power, high frequency power (>0.15Hz); LF/HF, the ratio of LF power to HF power; %HF, the ratio of high power to total power; nu, normalized unit

Table.1-2 Amplitude of 24-h and 12-h period rhythms

		Day shift n = 13	Rotating shift n = 14	P values
<b><i>24-h period rhythm</i></b>				
Step counts*	(steps/10min)	100 ± 19	115 ± 25	0.085
RRI*	(ms)	101 ± 32	93 ± 36	0.506
SD of RRI*	(ms)	11 ± 7	11 ± 5	0.942
LF power†	(ms <sup>2</sup> )	44 ± 27	39 ± 35	0.332
HF power†	(ms <sup>2</sup> )	164 ± 149	110 ± 93	0.174
LF/HF†		3.0 ± 2.6	3.1 ± 2.9	0.846
HF nu*	(n.u.)	0.24 ± 0.07	0.20 ± 0.05	0.709
<b><i>12-h period rhythm</i></b>				
Step counts*	(steps/10min)	26 ± 15	32 ± 11	0.234
RRI*	(ms)	95 ± 25	62 ± 41	0.016
SD of RRI†	(ms)	8 ± 5	7 ± 4	0.716
LF power†	(ms <sup>2</sup> )	31 ± 23	39 ± 34	0.645
HF power†	(ms <sup>2</sup> )	100 ± 105	46 ± 40	0.037
LF/HF†		0.9 ± 0.7	1.7 ± 3.2	0.592
HF nu*	(n.u.)	0.13 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.299

All values are expressed as means±SD.

\*Non-paired t test; †Mann-Whitney-U test.

Table.2-1 Characteristics of study participants

		Day shift (n = 36)	Rotaiting shift (n = 69)	P values
Age <sup>‡</sup>	(year)	41.3 ± 11.2	37.2 ± 10.0	0.063
Height <sup>†</sup>	(cm)	156.5 ± 6.1	157.9 ± 5.3	0.248
Weight <sup>‡</sup>	(kg)	53.0 ± 6.8	55.6 ± 10.0	0.421
BMI <sup>†</sup>	(kg/m <sup>2</sup> )	21.6 ± 2.3	22.3 ± 4.0	0.978
Experience of work				
Current job <sup>‡</sup>	(year)	8.9 ± 8.1	7.7 ± 6.7	0.497
Rotating shift <sup>‡</sup>	(year)	5.9 ± 5.8	7.1 ± 5.5	0.219
Marital status <sup>§</sup>	(yes)	24 ( 67 )	34 ( 57 )	0.140
	(others)	12 ( 33 )	32 ( 43 )	
Single life <sup>¶</sup>	(yes)	3 ( 9 )	6 ( 9 )	0.646
	(no)	31 ( 91 )	61 ( 91 )	
Job category <sup>§</sup>	Nurse	18 ( 50 )	19 ( 38 )	<b>0.022</b>
	Care giver	18 ( 50 )	31 ( 62 )	
Smoking <sup>§</sup>	(yes)	7 ( 19 )	33 ( 48 )	<b>0.004</b>
	(no)	29 ( 81 )	36 ( 52 )	
Current medical history	(yes)	9 ( 25 )	17 ( 25 )	1.000
	(no)	27 ( 75 )	52 ( 75 )	
Previous medical history	(yes)	12 ( 33 )	25 ( 36 )	0.832
	(no)	24 ( 67 )	44 ( 64 )	

All values are expressed as mean±SD or number of participants (%) .

<sup>†</sup>Non paired t test; <sup>‡</sup>Mann-Whitney-U test; <sup>§</sup>Chi-squared test; <sup>¶</sup>Fisher's exact test

BMI, Body mass index

Table.2-2 Energy, nutrients and food groups intake between the groups

		Day shift (n = 36)		Rotating shift (n = 69)		P values
Energy and nutrient intake						
Energy intake <sup>‡</sup>	(kcal)	1983	± 426	2128	± 600	0.430
Protein E% <sup>†</sup>	(%)	13.9	± 1.7	13.5	± 2.6	0.358
Fat E% <sup>†</sup>	(%)	31.7	± 3.9	32.4	± 4.5	0.442
Carbohydrate E% <sup>†</sup>	(%)	54.3	± 4.5	54.1	± 5.8	0.824
Fiber <sup>‡</sup>	(g)	11.9	± 3.7	12.4	± 3.9	0.726
Salt <sup>‡</sup>	(g)	10.3	± 4.5	11.0	± 4.3	0.274
Food group intake						
Grain <sup>‡</sup>	(g)	360.2	± 75.7	348.2	± 98.3	0.251
Potato <sup>‡</sup>	(g)	31.2	± 27.2	25.7	± 25.9	0.147
Sugar <sup>‡</sup>	(g)	7.0	± 4.4	8.2	± 7.5	0.917
Legume <sup>‡</sup>	(g)	58.5	± 36.5	52.5	± 40.6	0.327
Seed <sup>‡</sup>	(g)	1.1	± 1.3	1.5	± 2.5	0.566
Green and yellow vegetables <sup>‡</sup>	(g)	68.0	± 34.0	62.5	± 40.6	0.204
Other vegetables <sup>‡</sup>	(g)	118.2	± 54.4	105.4	± 70.6	0.094
Fruits <sup>‡</sup>	(g)	59.2	± 50.6	50.4	± 51.0	0.228
Seaweed <sup>‡</sup>	(g)	3.9	± 3.4	3.8	± 3.3	0.959
Fish and seafoods <sup>‡</sup>	(g)	70.1	± 42.4	74.4	± 53.6	0.893
Meats <sup>‡</sup>	(g)	90.6	± 38.4	84.8	± 52.6	0.281
Eggs <sup>‡</sup>	(g)	24.8	± 14.7	27.9	± 17.3	0.419
Milk <sup>‡</sup>	(g)	150.9	± 132.8	140.5	± 119.9	0.620
Oil <sup>‡</sup>	(g)	13.7	± 6.8	15.5	± 9.2	0.268
Confectionery <sup>‡</sup>	(g)	92.2	± 56.5	135.5	± 76.7	0.002
Favorite beverage products <sup>‡§</sup>	(g)	101.1	± 90.1	175.5	± 181.2	0.008
Alcohols <sup>‡</sup>	(g)	63.4	± 119.0	50.6	± 95.5	0.380
Seasoner and spice <sup>‡</sup>	(g)	35.4	± 24.3	37.5	± 20.9	0.458

All values are expressed as mean±SD.

<sup>†</sup>Non paired t test; <sup>‡</sup>Mann-Whitney U test; <sup>§</sup>except alcohols

E%, The ratio of energy intake at macronutrient to total energy intake

Table. 3-1 General characteristic in before-after trial

		Baseline (n = 7)	Late time (n = 7)	P values
Age	(year)	22.4 ± 0.4		-
Height	(cm)	172.7 ± 2.0		-
Weight <sup>†</sup>	(kg)	65.2 ± 4.9	64.8 ± 4.7	0.131
BMI <sup>‡</sup>	(kg/m <sup>2</sup> )	21.8 ± 1.4	21.7 ± 1.4	0.398
Body fat % <sup>†</sup>	(%)	16.2 ± 2.6	15.7 ± 2.6	0.241
<b>24 hour average</b>				
Energy expenditure <sup>†</sup>	(kcal)	2193 ± 90	2234 ± 111	0.153
HR <sup>†</sup>	(bpm)	62.1 ± 1.6	61.6 ± 1.8	0.814
SD of RRI <sup>†</sup>	(ms)	106.3 ± 10.3	105.2 ± 7.3	0.863
LF/HF <sup>‡</sup>		1.86 ± 0.21	2.07 ± 0.38	0.495
%HF <sup>†</sup>	(%)	11.81 ± 0.46	12.51 ± 0.93	0.479

All values were expressed as mean±SE.

<sup>†</sup>Paired t test; <sup>‡</sup>Wilcoxon signed-rank sum test.

BMI, Body mass index; HR, heart rate; SD of RRI, standard deviation of rr intervals; LF power, low frequency power (0.04-0.15Hz); HF power, high frequency power (>0.15Hz); LF/HF, the ratio of LF power to HF power; %HF, the ratio of high power to total power

Table. 3-2 Acrophases and amplitudes of heart rate variability variables

			Baseline (n = 7)		Late time (n = 7)		P values
<b>24-h period rhythm</b>							
HR	Acrophase <sup>†§</sup>	(h:min)	15:18	± 0:48	17:42	± 0:30	0.021
	Amplitude <sup>†</sup>	(bpm)	2.5	± 0.3	4.8	± 0.5	0.022
SD of RRI	Acrophase <sup>†§</sup>	(h:min)	2:36	± 0:30	6:06	± 0:30	0.003
	Amplitude <sup>†</sup>	(ms)	13.6	± 2.3	17.6	± 2.5	0.149
LF power	Acrophase <sup>†§</sup>	(h:min)	5:54	± 2:30	10:36	± 2:00	0.081
	Amplitude <sup>†</sup>	(ms <sup>2</sup> )	88	± 25	147	± 21	0.061
HF power	Acrophase <sup>†§</sup>	(h:min)	3:12	± 0:48	3:36	± 0:18	0.654
	Amplitude <sup>†</sup>	(ms <sup>2</sup> )	460	± 110	508	± 148	0.735
LF/HF	Acrophase <sup>†§</sup>	(h:min)	12:18	± 0:12	14:00	± 0:30	0.010
	Amplitude <sup>†</sup>		1.16	± 0.19	1.41	± 0.35	0.735
%HF	Acrophase <sup>†§</sup>	(h:min)	1:36	± 0:24	1:48	± 0:18	0.237
	Amplitude <sup>†</sup>	(%)	6.46	± 1.25	8.04	± 0.49	0.185

All values were expressed as mean±SE.

<sup>†</sup>Paired t test; <sup>‡</sup>Wilcoxon signed-rank sum test.

<sup>§</sup>Acrophase (rad) was converted to the phase (h:min) from midnight.

HR, heart rate; SD of RRI, standard deviation of rr intervals; LF power, low frequency(0.04-0.15Hz); HF power, high frequency( >0.15Hz); LF/HF, the ratio of LF power to HF power; %HF, the ratio of high frequency to total power

Table. 4-1 General characteristic before intervention in parallel trial

		Control		Early mealtime		P values
		(n = 6)		(n = 8)		
Age <sup>†</sup>	(year)	21.8	± 0.6	20.9	± 0.4	0.212
Height <sup>†</sup>	(cm)	169.0	± 2.1	172.6	± 2.2	0.123
Weight <sup>†</sup>	(kg)	64.8	± 3.9	65.3	± 3.4	0.922
BMI <sup>†</sup>	(kg/m <sup>2</sup> )	23.1	± 1.4	21.9	± 1.2	0.533
Body fat % <sup>†</sup>	(%)	15.2	± 2.3	16.1	± 2.0	0.763
<b>Blood biochemistry</b>						
Blood glucose <sup>†</sup>	(mg/dL)	87	± 3	88	± 1	0.862
NEFA <sup>‡</sup>	(mEq/L)	0.39	± 0.07	0.46	± 0.03	0.411
TG <sup>†</sup>	(mg/dL)	65	± 7	78	± 7	0.250
Total-Cho <sup>†</sup>	(mg/dL)	168	± 14	185	± 3	0.273
LDL-Cho <sup>†</sup>	(mg/dL)	101	± 12	119	± 7	0.219
HDL-Cho <sup>†</sup>	(mg/dL)	62	± 5	61	± 6	0.942
Serum insulin <sup>‡</sup>	(μU/mL)	3.7	± 0.3	4.8	± 0.7	0.342
HOMA-IR <sup>†</sup>		0.79	± 0.09	1.05	± 0.16	0.148
HOMA-β <sup>‡</sup>	(%)	56.6	± 6.7	71.5	± 10.5	0.245

All values were expressed as mean±SE.

<sup>†</sup>Non-paired t test; <sup>‡</sup>Mann-Whitney U test

BMI, Body mass index; Body fat %, percentage of body fat; NEFA, non-esterified fatty acid; TG, triglyceride; Total-Cho, total cholesterol; LDL-Cho, low-density lipoprotein cholesterol; HDL-Cho, high-density lipoprotein cholesterol; HOMA-IR, Homeostasis model assessment-Insulin Resistance; HOMA-β, Homeostasis model assessment-beta cell

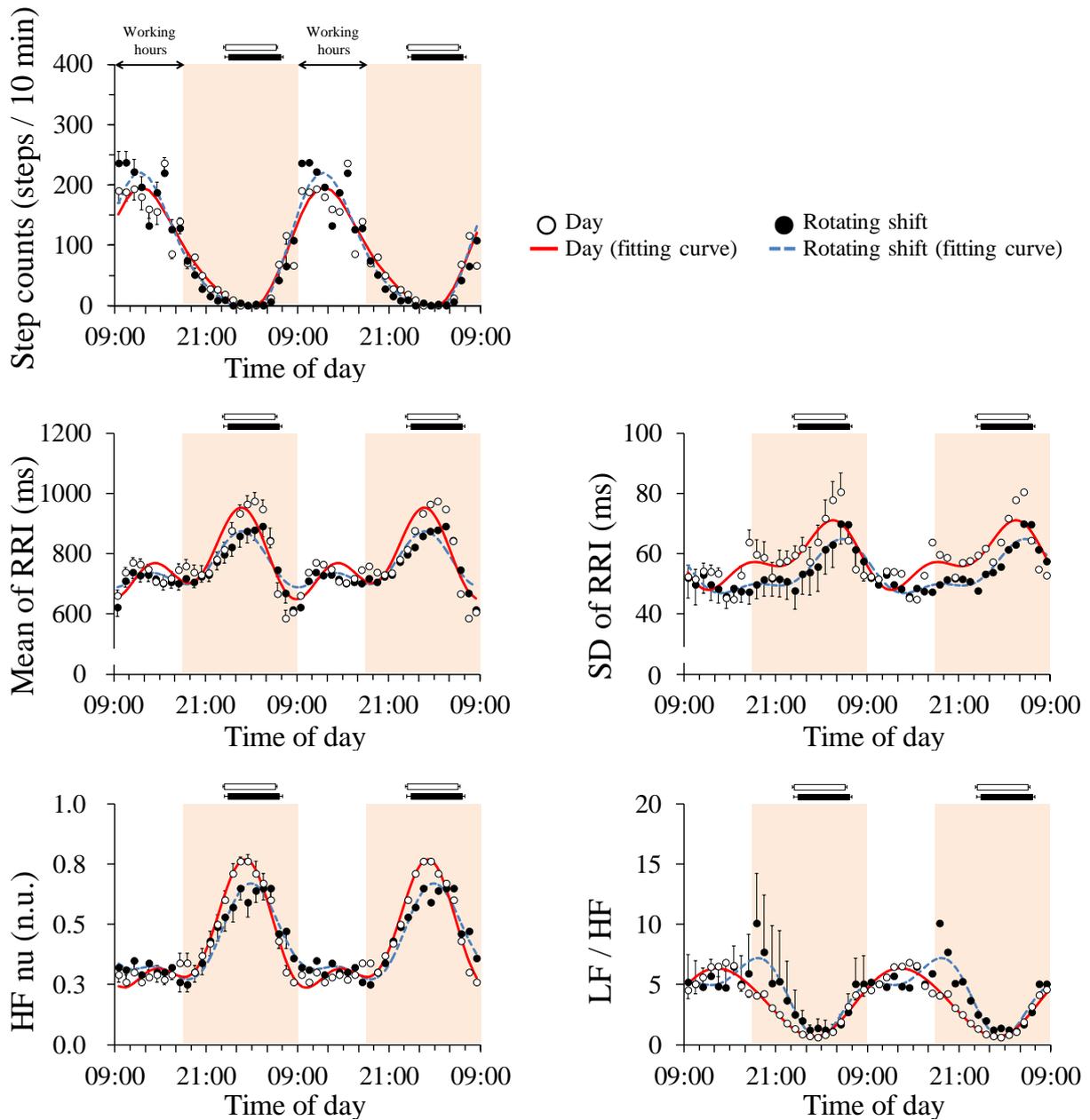
Table. 4-2 The acrophases before intervention

		Control (n = 6)	Early mealtime (n = 8)	P values
<b><i>Time domain analysis</i></b>				
HR <sup>‡</sup>	(h)	17.7 ± 0.3	17.8 ± 0.6	0.366
SD of RRI <sup>†</sup>	(h)	7.1 ± 0.9	8.5 ± 0.8	0.272
<b><i>Frequency domain analysis</i></b>				
LF/HF <sup>†</sup>	(h)	15.1 ± 0.3	16.2 ± 0.7	0.201
%HF <sup>†</sup>	(h)	1.8 ± 0.3	2.7 ± 0.5	0.187

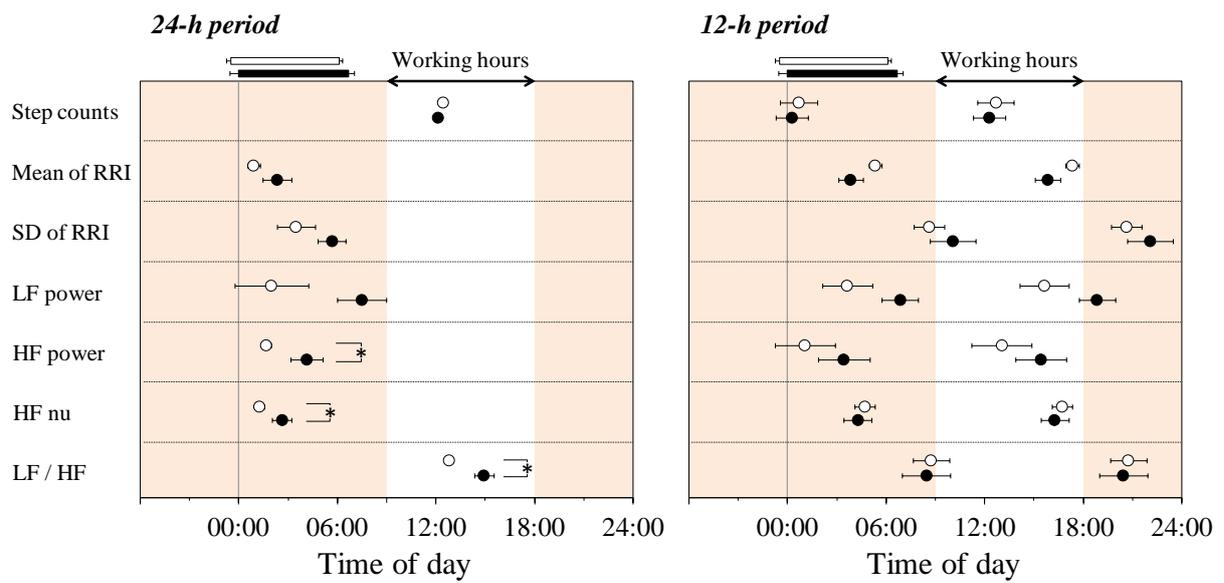
All values were expressed as mean±SE.

<sup>†</sup>Non-paired t test; <sup>‡</sup>Mann-Whitney U test

HR, heart rate; SD of RRI, standard deviation of R-R intervals; LF power, low frequency power (0.04-0.15 Hz); HF power, high frequency power (>0.15 Hz); LF/HF, the ratio of LF power to HF power; %HF, the ratio of high power to total power



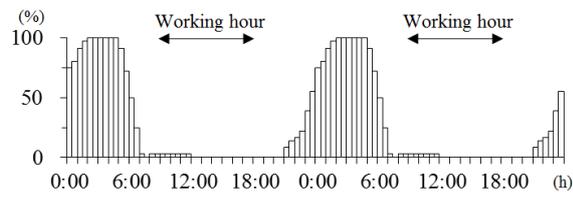
**Figure.1-1** Ensemble-averaged 10-min step counts and heart rate variability variables during the day shift over 24 h for day workers (open circle,  $n = 14$ ) and rotating shift workers (filled circle,  $n = 13$ ). Values are means $\pm$ SE. Ensemble-averaged fitted curves by using double cosinor analysis for day workers (solid red line) and shift workers (dashed blue line) are also depicted. Working hours (09:00–18:00) are indicated by the white zone. Horizontal white and black bars indicate sleeping hours in day workers and shift workers, respectively. Data are double-plotted to better visualize rhythmicity. LF, low frequency (0.04–0.15 Hz); HF, high frequency ( $>0.15$  Hz); HF nu, the ratio of HF power to total power ( $>0.04$  Hz); LF/HF, the ratio of LF power to HF power.



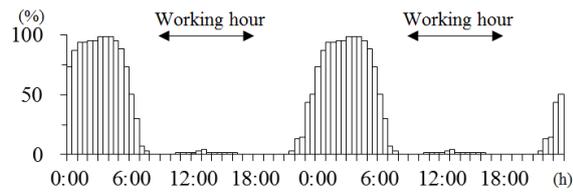
**Figure.1-2** Acrophases of 24-h and 12-h period cosine waves for step counts and heart rate variability for day workers (open circle,  $n = 14$ ) and rotating shift workers (filled circle,  $n = 13$ ). Values are means $\pm$ SE. Acrophase (rad) is converted to phase (h:min) from midnight. Working hours (09:00–18:00) are indicated by the white zone. Horizontal white and black bars indicate sleeping hours in day workers and shift workers, respectively. \* Significant difference between the groups ( $p < 0.05$ ).

a) Sleeping<sup>†</sup>

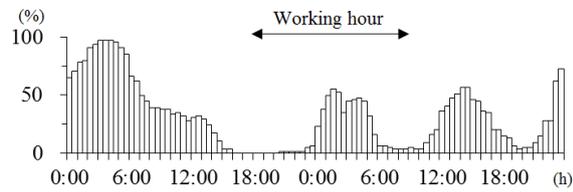
Day workers (day shift)



Rotating shift workers (day shift)

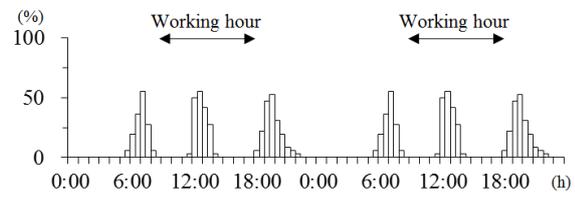


Rotating shift workers (night shift)

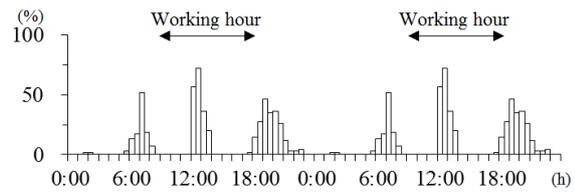


b) Eating<sup>†</sup>

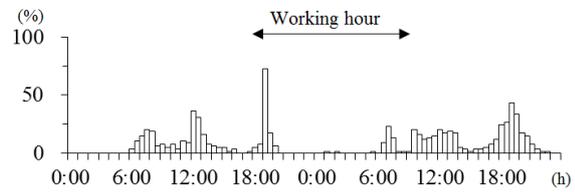
Day workers (day shift)



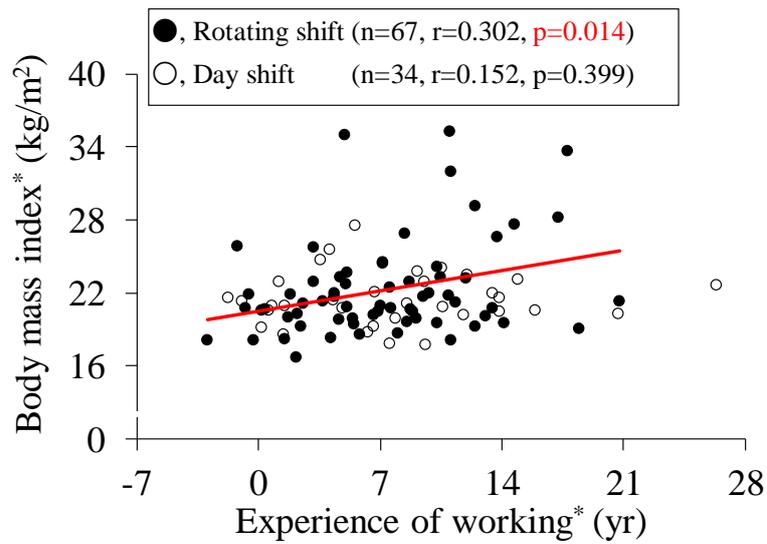
Rotating shift workers (day shift)



Rotating shift workers (night shift)

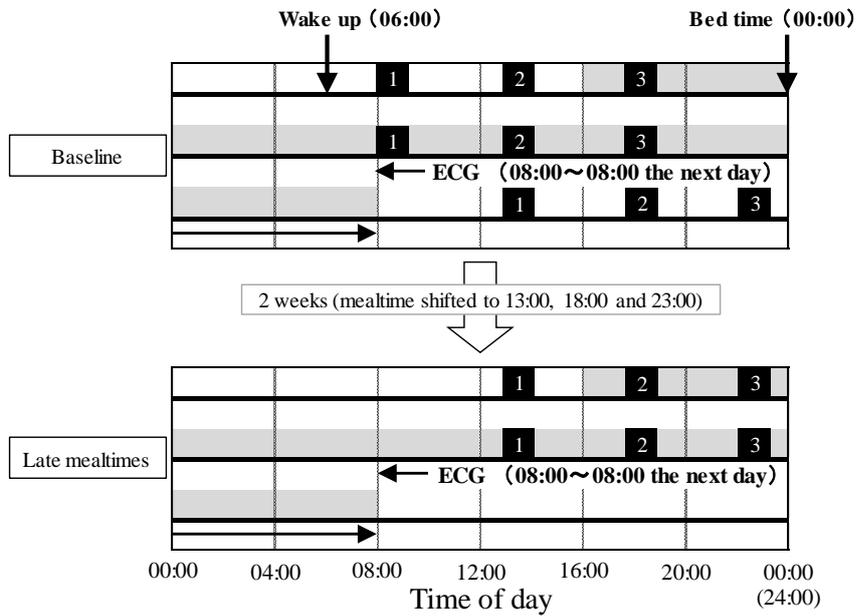


**Figure.2-1 Time series variations of the ratio of sleeping (a) or eating (b) to total number of participants were depicted in 30 min bin.**



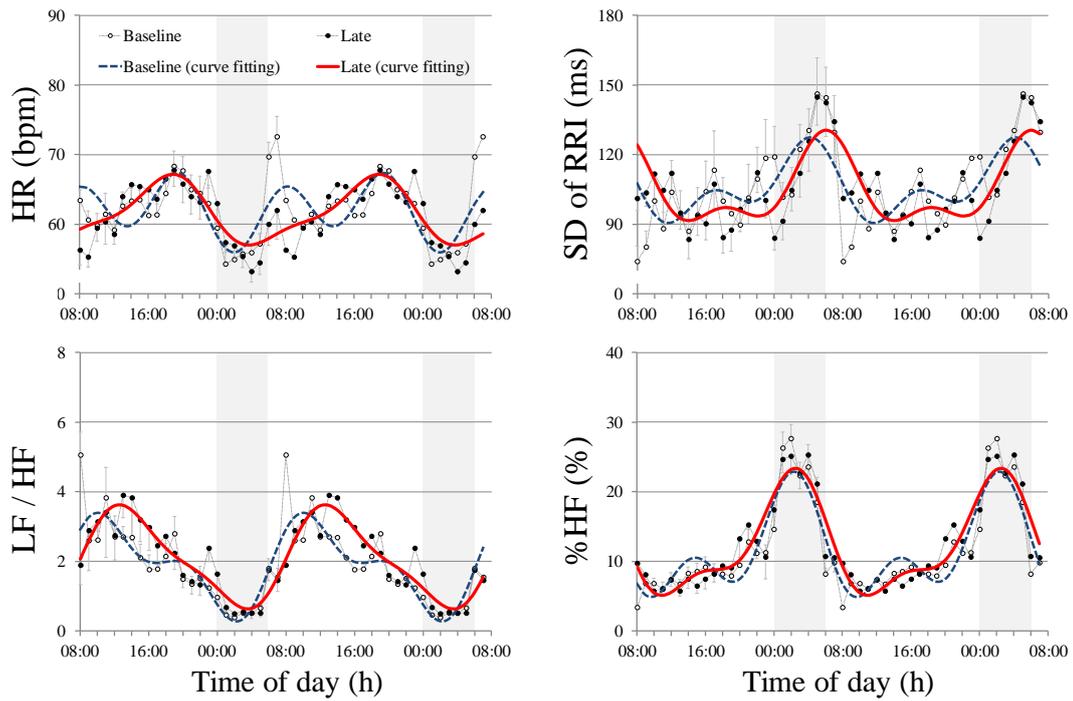
**Figure.2-2** Scatter plots between the experience of working and body mass index. The correlation was considered for day workers (open circle) and rotating shift workers (filled circle), separately. Spearman's rank-correlation coefficients were calculated.

\*Age-adjusted values by residual method.

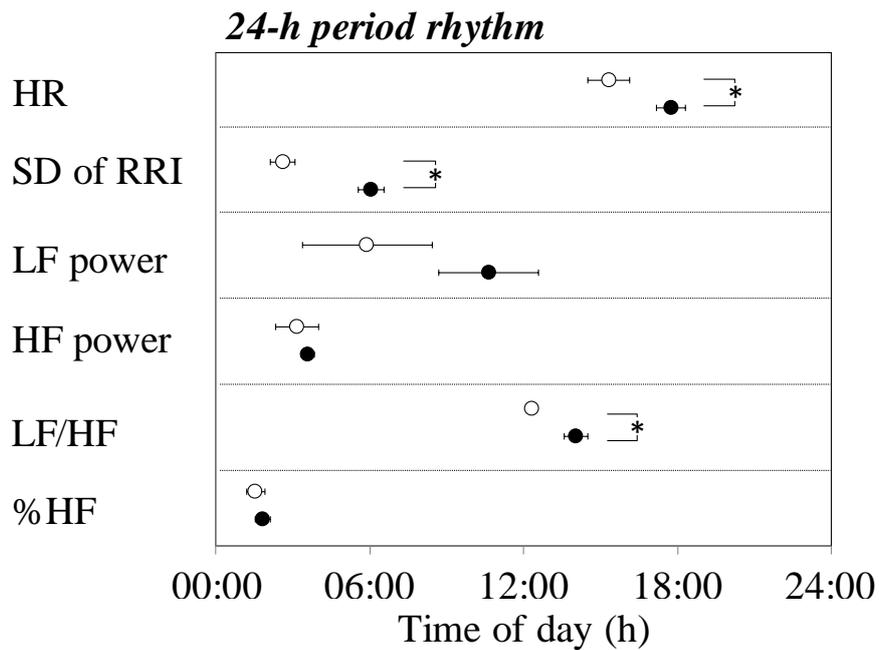


**Figure.3-1 Study flow. Mealtimes are expressed in black numbered squares as follows: 1 (08:00 or 13:00), 2 (13:00 or 18:00) and 3 (18:00 or 23:00). Gray shaded areas represent a restraint period in a designated room for 40 hours.**

**ECG, electrocardiograph**

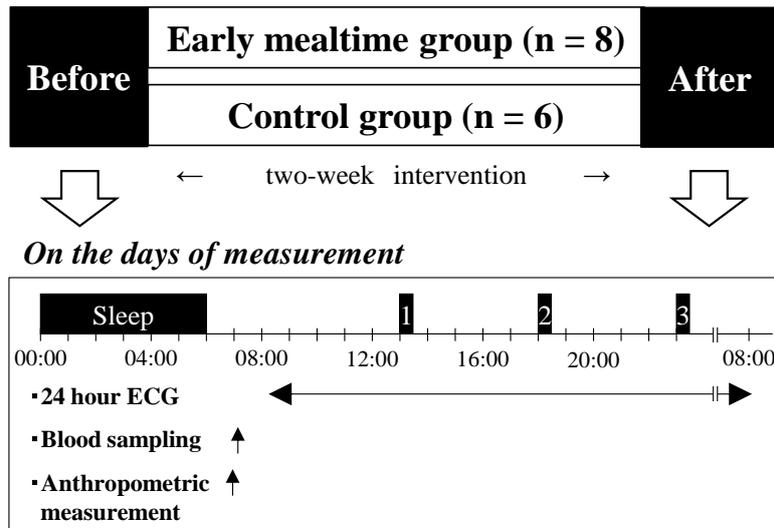


**Figure.3-2 Heart rate variability variables in baseline (open circle, n = 7) and late mealtimes (filled circle, n = 7). Values are shown as mean $\pm$ SE. Averaged fitted curves by double cosinor analysis in baseline (dashed blue line) and late mealtimes (solid red line) are also depicted. Sleep hours (00:00–06:00) are indicated in the gray zone. Data are double-plotted to better visualize rhythmicity. HR, heart rate; SD of RRI, standard deviation of R-R intervals; LF, low frequency (0.04–0.15 Hz); HF, high frequency (>0.15 Hz); %HF, ratio of HF power to total power; LF/HF, ratio of LF power to HF power**

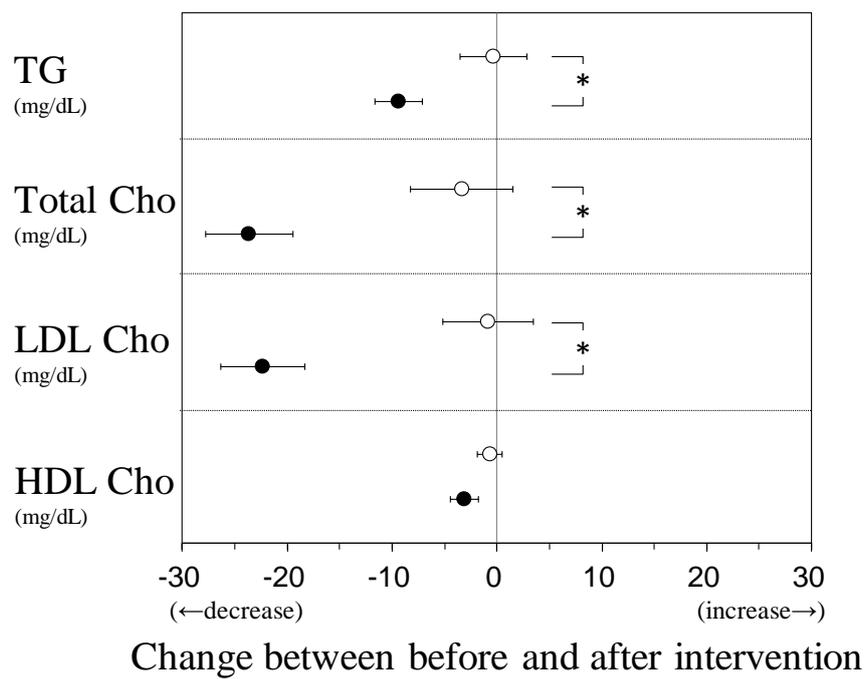


**Figure.3-3** Changes in the acrophase of the 24-h period rhythm for the fitted cosine curve of heart rate variability in baseline (open circle, n = 7) and late mealtimes (filled circle, n = 7). Values are shown as mean±SE. Acrophase (rad) is converted to phase (h:min) from midnight.

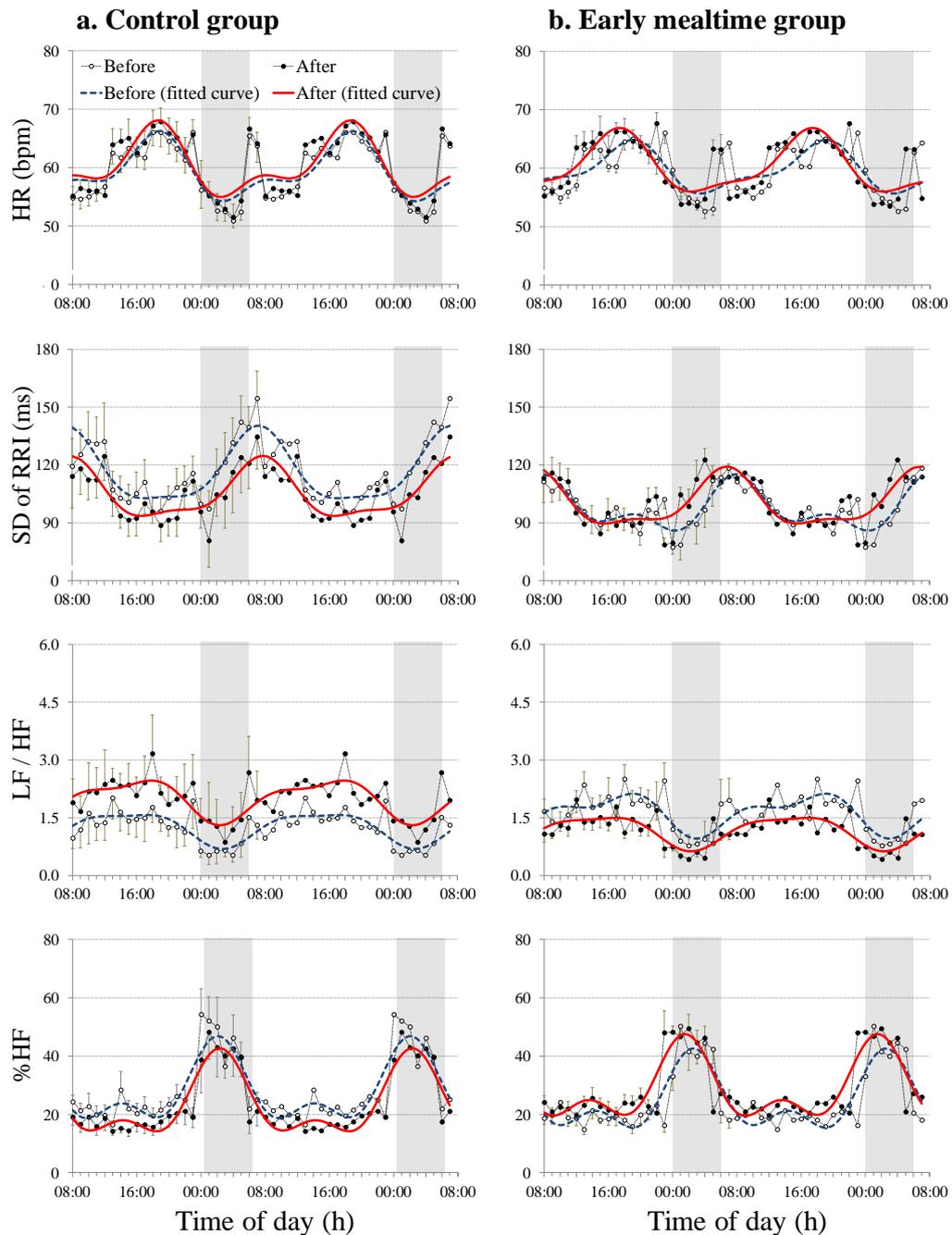
\*Significant difference between baseline and late mealtimes (p < 0.05). HR, heart rate; SD of RRI, standard deviation of R-R intervals; LF power, low frequency power (0.04–0.15 Hz); HF power, high frequency power (>0.15 Hz); %HF, ratio of HF power to total power; LF/HF, ratio of LF power to HF power



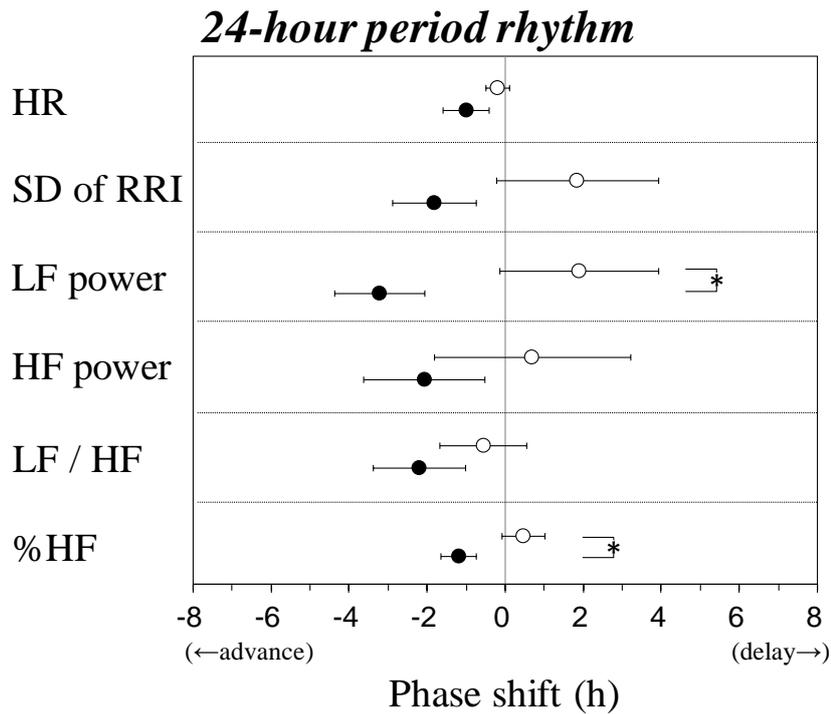
**Figure.4-1** Study design of a parallel trial involving altered timing of feeding schedule with isocaloric. Participants were randomly assigned to the early mealtime (n = 8) or control (n = 6) group. Feeding schedules are expressed in black numbered squares as follows: 1 (13:00), 2 (18:00), and 3 (23:00). Sleep/wake cycle was fixed at 00:00-0600 during the study period. On measurement days before and after the intervention, participants were instructed to remain in a designated room at a resting state. ECG, electrocardiogram



**Figure.4-2** Changes in serum lipid levels before and after intervention in the control group (open circle, n = 6) and early mealtime group (filled circle, n = 8). Values are shown as mean  $\pm$  SE.  
 \*Significant difference between groups ( $p < 0.05$ )



**Figure.4-3** Heart rate variability variables in the control (left panel (a),  $n = 6$ ) and early mealtime (right panel (b),  $n = 8$ ) groups. Data before and after the intervention are plotted as open and filled circles, respectively. Values are shown as  $\text{mean} \pm \text{SE}$ . Averaged fitted curves by double cosinor analysis before (dashed blue line) and after the intervention (solid red line) are also depicted. Sleep hours (00:00–06:00) are indicated in the gray zone. Data are double-plotted to better visualize rhythmicity. HR, heart rate; SD of RRI, standard deviation of R-R intervals; LF, low frequency (0.04–0.15 Hz); HF, high frequency ( $>0.15$  Hz); %HF, ratio of HF power to total power; LF/HF, ratio of LF power to HF power



**Figure.4-4** Changes in the acrophase of the 24-h period rhythm for the fitted cosine curve of heart rate variability in control (open circle, n = 6) and early mealtime (filled circle, n = 8) groups.

Values are shown as mean $\pm$ SE. Acrophase (rad) is converted to phase (h:min) from midnight and changes between before and after the intervention were calculated. Phase shift as negative values indicates phase advance and phase shift as positive values indicates phase delay.

\*Significant difference between groups (p < 0.05). HR, heart rate; SD of RRI, standard deviation of R-R intervals; LF power, low frequency power (0.04–0.15 Hz); HF power, high frequency power (>0.15 Hz); %HF, ratio of HF power to total power; LF/HF, ratio of LF power to HF power