

ミニシンポジウム「概日リズムを司る時計遺伝子の普遍性と多様性 - 2017 年ノーベル賞を記念して」(生物学コース理学談話会)のお知らせ

今年度の生物学コース理学談話会では、富山大学大学院理工学研究部の池田真行先生、本学医薬保健研究域の三枝理博先生、同じく本学医薬保健研究域の安藤仁先生をお招きし、併せて生物学コース程肇先生を加えた 4 人の講演者による、概日リズムに関するミニシンポジウムを開催します。

本シンポジウムでは概日時計分野の 2017 年ノーベル賞受賞を記念しまして、時間生物学のこれまでの発展を概観し、時計遺伝子の普遍性と多様性、基礎と応用といった様々な観点からその未来について議論することを目指します。

皆様のご参加をお待ちしております。

日時: 2018 年 1 月 26 日 (金) 15:30 - 17:30

場所: 金沢大学角間キャンパス自然研本館大講義棟 レクチャーホール

15:30 - 15:35 「開会の辞」

瓜生 耕一郎 (金沢大学 理工研究域 自然システム学系)

15:35 - 16:00 「概日リズムを司る Genetic Oscillator の過去・現在・未来」

程 肇 (金沢大学 理工研究域 自然システム学系)

16:00 - 16:30 「時計遺伝子転写リズムは、どのように生理活動リズムを形成するのだろうか？」

池田 真行 (富山大学 大学院 理工学研究部)

16:30 - 17:00 「中枢概日時計の神経メカニズム」

三枝 理博 (金沢大学 医薬保健研究域 医学系)

17:00 - 17:30 「概日リズムの障害と生活習慣病

~末梢体内時計の生理学的役割とは?~」

安藤 仁 (金沢大学 医薬保健研究域 医学系)

世話人: 瓜生耕一郎 (uriu@staff.kanazawa-u.ac.jp; 076-264-6246)

概日リズムを司る Genetic Oscillator の過去・現在・未来

程 肇（金沢大学・理工研究域・自然システム学系）

1971年のR. J. Konopka及びS. Benzer両博士によるショウジョウバエ*period*変異体の発見以来、細菌から哺乳類までモデル生物を用いた概日リズムの遺伝学的・分子生物学的研究は爆発的に発展した。およそ50年にわたる研究の結果、現在では一群の時計遺伝子（Clock Gene）の発現が、転写・翻訳フィードバックループ（TTFL）により相互に制御されるGenetic Oscillatorこそが、概日時計発振のための共通の分子基盤であるという、時間生物学のセントラルドグマが確立している。この概念の確立のために、先端を切り開いたショウジョウバエの概日リズム研究に対して、本年ようやくノーベル医学生理学賞が授与されたことは、重要なマイルストーンとして記憶されるであろう。一方、これまでの研究で、Genetic Oscillatorの制御機構は完全に解明されたと考えてよいのだろうか。

Genetic Oscillatorによる振動形成の本質は、時間遅れを伴った負のフィードバック制御機構にある。例えば、哺乳類の概日リズム形成には、中枢振動体である脳視床下部にある視交叉上核において、複数の時計遺伝子が示す位相の異なった発現日周リズムが機能することが知られている。この中で、明期に転写量極大を有する明期性の遺伝子転写リズム形成には、そのプロモーターにある転写因子結合配列であるE-box配列が機能する。E-boxにCLOCK-BMAL1が転写因子として作用し、これにより誘導されたPER-CRYが転写抑制因子として働くという分子機構の中に、自律的な負のフィードバック転写制御と時間遅れが組み込まれている。一方、*Bmal1*などの暗期性の遺伝子転写リズム形成には、プロモーター上のRORE配列にRORが転写因子として、REV-ERBが転写抑制因子として作用する。しかし、*Ror*と*Rev-erb*プロモーターは共にE-boxを含み、CLOCK-BMAL1により誘導されるため、同位相の明期性転写リズムを示す。すなわち、RORを介した誘導、そしてREV-ERBを介した抑制という、正と負の相反したフィードバックループがRORE依存性転写を同時に制御することになるため、正と負の二つの制御系の中にGenetic Oscillatorに必要とされる時間遅れはみられない。さらに、このGenetic Oscillatorがどのように光刺激入力などの外部攪乱に対応して、その振動位相を変化させるかという、概日時計としての最も重要な性質の基盤となる分子機構についても現在全く明らかになっていない。

本講演では、我々が新たにみいだした *Bmal1* の転写誘導と抑制の時間遅れ形成の分子機構を基盤に、時間生物学のセントラルドグマを新たな観点から再考察してみたい。

時計遺伝子転写リズムは、どのように生理活動リズムを形成するのだろうか？

富山大学大学院理工学研究部（理学）

池田真行

現在、体内時計の基本的な振動機構は、細胞内における時計遺伝子の転写・翻訳リズムにより説明されている。動物の行動リズムも、その支配下にあると考えられ、時計遺伝子の欠損により恒常条件下の行動リズムが消失することは、よく知られるところである。一方で、哺乳動物においては、特に、脳内の一群の神経細胞（視床下部視交叉上核：SCN）が、体内時計システムの中核として機能していることが知られており、このことは、SCN を特異的に破壊された動物の行動リズムが、時計遺伝子を欠損した動物と同様に消失することからも伺える。SCN ニューロンが概日ペースメーカーニューロンとして機能することは、*in vitro*（脳スライスや単離培養条件）で約 24 時間の活動リズムを呈することからも示唆されている。こうした SCN を中心とする哺乳動物の体内時計システムは、(i)時刻調節のための情報入力経路（入力系）、(ii) 同調性をもつ自律振動体、および(iii)時刻情報の出力系の 3 要素から形成される。これらのうち(i)については、メラノプシン含有網膜神経節細胞からの SCN へのグルタミン酸作動性の投射が主要な役割を担うことが明らかになっている。また(ii)については、SCN ニューロン内の時計遺伝子の転写レベルの振動や、それに連動する細胞内イオン濃度リズム形成、あるいは SCN ニューロン間の特異的な細胞間コミュニケーションの問題として解析が進められている。SCN の集合電位は、動物の昼夜行性を問わず、昼に高く、夜に低い概日リズムを示すことが知られており、これは光情報を興奮性神経入力として受けとる神経核の活動としては、きわめて自然な振る舞いであろう。しかし、動物の行動は、昼行性と夜行性種の場合で位相は逆転しており、また種によってはさらに複雑な行動時間の選択をおこなっている。動物行動の時間は、(iii)SCN ニューロンの投射先におけるシグナル伝達の問題であると考えられるが、その実態については、ほとんど解析が進んでいない。こうした問題を考えるにあたり、昼行性と夜行性のげっし動物の比較は、有用な研究手段である。Nile rat (*Arvicanthis niloticus*)は、通常飼育において昼行性を示すげっし動物であり (Blanchong et al, *J Biol Rhythms* 1999)、こうした研究用途に用いられてきた。興味深いことに、Nile rat は、ランニングホイールを提示し、活動量を上げた場合、夜行性に変化する個体が現れるという (Castillo-Ruiz et al, *Neuroscience* 2010)。このことは、神経ネットワークの大きな構造的変化を伴わずとも、昼夜行性はスイッチし得ることを示唆している。さらに、Nile rat では、SCN と PVN の間に存在する境界領域下部 (vSPVZ) の cFos 発現において夜行性動物との差が確認されている (Schwartz et al, *Neuroscience* 2004)。SCN は、多くの GABA 含有ニューロンから構成されているので、vSPVZ の GABA 入力において昼夜行性の決定に関する何らかの情報転換が行われている可能性が高い。富山大学では、昨年より Nile rat の飼育繁殖をスタートさせたので、今後この仕組みについて明らかにしていく予定である。

中枢概日時計の神経メカニズム

金沢大学 医薬保健研究域医学系 統合神経生理学

三枝 理博

哺乳類では全身の細胞に、各細胞内で概日リズムを刻む、時計遺伝子を中心とした分子機構（細胞時計）が備わっている。概日リズム中枢・視床下部視交叉上核（SCN）は、体中の多数の細胞時計を統括して個体としてまとまりを持たせる、中枢概日時計として機能する。個々の SCN ニューロンが持つ細胞時計は他の細胞と大差ない。多種・多数の時計ニューロン間のコミュニケーションを介して強固で安定な概日振動を発振する機能的神経ネットワークの構築こそ、SCN のみに見られる特異な性質である。細胞時計のメカニズムがこれまでにほぼ明らかになったのに比べ、SCN 神経ネットワークの動作原理は未だ明らかになっていない。

我々は、SCN にニューロンタイプ特異的な遺伝子操作や神経活動操作を加え、中枢概日時計の神経メカニズムを理解することを目指している。SCN の主要なニューロンタイプの一つ、アルギニンバソプレシン（AVP）産生ニューロンのみで細胞時計を欠損したマウスは、概日行動リズムが不安定で振幅は減少し、周期は長くなった。また、AVP ニューロンのみで細胞時計の周期を人為的に変化させると、概日行動リズムの周期も変化した。AVP はリズム発振には重要でないと考えられていたが、我々の結果は、AVP ニューロンがペースメーカー細胞として機能し、概日リズムの発振、およびその周期の決定に重要であることを示している。このように、概日リズムの周期、振幅、位相、各々がネットワークレベルでどのように制御されるのか、SCN 中枢概日時計の神経メカニズムを明らかにしていきたいと考えている。

概日リズムの障害と生活習慣病

～末梢体内時計の生理学的役割とは？～

医薬保健研究域医学系 細胞分子機能学

安藤 仁

生体の様々な機能には 24 時間を 1 周期とする概日リズムがあり、それに伴い、疾患の発症や悪化にも日内リズムが認められる。また、慢性的に概日リズムが障害されるシフトワーカーでは、肥満や糖尿病などの生活習慣病を発症しやすいことが疫学的に知られている。マウスにおいても、照明条件を変更し慢性的に時差ぼけにしたモデルや時計遺伝子改変マウスでは同様の表現型が認められる。さらに、糖尿病患者や肥満糖尿病モデルマウスでは、実際に体内時計が障害されていることが判明した。したがって、体内時計の障害は生活習慣病の危険因子の一つであると考えられる。

糖尿病は、膵臓からのインスリン分泌の低下と、肝臓や筋肉におけるインスリン感受性の低下により、インスリン作用が不足して慢性的な高血糖状態をきたす疾患である。興味深いことに、これらの糖代謝関連臓器において臓器特異的に時計遺伝子を欠損させたマウスでは、それぞれ、インスリン分泌や糖新生・糖放出、糖取り込みに障害を認める。このことより、末梢臓器の生理機能の少なくとも一部は、末梢臓器の細胞内体内時計（末梢時計）によって直接的に制御されていることが示唆される。

現代は 24 時間社会であり、不規則な生活や深夜業務が避けられない人々が多い。視交叉上核の中核時計は、光刺激により時刻がリセットされ、睡眠・覚醒リズムの制御にもかかわるため、それらの人々では中核時計の時刻を一定に保つことは困難である。一方、末梢時計は、光刺激よりも食事刺激の影響を強く受けることが知られており、薬物でも制御が可能なことから、治療の標的となる可能性がある。しかしながら現時点では、末梢時計障害の病態生理学的意義とその治療効果は明らかではなく、今後の検討が必要である。