

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H04015

研究課題名(和文) SCNジーンプロジェクトによる霊長類生体リズム発振機構の分子基盤に関する研究

研究課題名(英文) Circadian clock oscillation in primate SCN

研究代表者

岡村 均 (Okamura, Hitoshi)

京都大学・医学研究科・研究員

研究者番号：60158813

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,600,000円

研究成果の概要(和文)：細胞には時を刻む機構が遺伝子レベルでコードされており、全身の細胞で時が刻まれる。この多様な時間を統合するのが、視交叉上核(SCN)である。SCNは睡眠覚醒・内分泌の概日リズムの中核である。マウスSCNに発現する遺伝子を網羅的にノックアウトし行動リズムを制御する遺伝子を見つけるといふSCN-Gene Projectを遂行したところ、多くのマウスが概日睡眠覚醒リズム障害を示した。今回、遺伝子転写制御、メチル化制御、光制御を行い、ステロイド代謝や免疫現象の概日リズムを解明し、リズム異常の分子基盤を確立するとともに、ヒトと同じ昼行性霊長類であるマーモセットで概日リズムの実験系を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回新たに解明したのは、以下の点である。生体において、蛋白質をコードしないDNA配列が、日々の活動のリズムのスイッチを入れ制御していること、メチル化と体内時計は、太古の地球から密接な関係を持って進化してきたこと、ステロイド代謝を介し、涙の脂溶性成分はリズムに制御されること、新しい光誘導物質が視交叉上核で発現し、リズム変位させること、高齢のマウスの慢性時差による死亡は、パソプレッシン阻害により阻止できること、体内時計はケモカインを介し夜間に自然免疫を発動すること。さらに、昼行性霊長類マーモセットにも概日リズムは存在し、様々なレベルでリズムを駆動することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Circadian time is coded at the genetic level as clock genes, which ticks time at cell level in the whole body. The suprachiasmatic nucleus (SCN) integrates these diverse times, and control daily sleep-wake rhythms. We carried out the SCN-Gene Project, in which we knocked out each gene highly expressed in the mouse SCN, and examined their circadian behaviors. In these mice, we found that many of them showed abnormal circadian sleep-wake rhythms. By examining these mice, we explored new regulatory mechanisms of circadian rhythms including steroid metabolism, innate immunity, non-coding region of DNA, and RNA methylation. Further, we established an experimental system of circadian rhythms in diurnal primate *Callithrix jacchus*.

研究分野：基盤・社会脳科学

キーワード：概日リズム 時計遺伝子 視交叉上核 時差 シグナル伝達 ケモカイン 自然免疫 霊長類

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自然界の環境サイクルに似た周期のリズムが生体にも存在するが、約一日周期のリズムが内因性のものであるという事を明瞭にしたのは、時計遺伝子の発見である。シーモア・ベンザ博士は、行動を規定する遺伝子があると考え、ショウジョウバエを研究対象に選び、フォーワード・ジェネティクスを創始し、1971年 *period* 遺伝子座を突き止めた。この研究は、ホール博士、ロスバッシュ博士、ヤング博士の1984年の時計遺伝子の同定に結実した。一方、哺乳類でも、ほぼ同時期(1972年) 実験生理学的研究により、体内時計の中核として、視床下部の視交叉上核(SCN)が発見され、加えてこの神経核への視神経の入力路が明らかとなった。

ヒトの生体リズムの観察、ハエでの分子生物学的研究、および哺乳類の実験生理学的研究は、1997年の哺乳類時計遺伝子 *period* の発見で劇的な会合を果たす。ヒトゲノム研究の途上で見だされた哺乳類の時計遺伝子 *period* はSCNの時計細胞で強い約24時間周期の強い転写リズムを示した。その後の研究によって、時計遺伝子による時間発振装置は、SCNを含む脳以外の末梢組織の細胞にも存在すること、すなわち、時を刻む時間装置が全身の細胞にあり、生体リズムは全身の細胞で出現することが明らかになった。

時計遺伝子発見から現在までの約20年間に成された膨大な実験により解明されたことは、生体リズムが生物にあまねく存在する時間システムであり、細胞の代謝、ひいては身体の生理を、広く深く支配していることである。時計は太陽の昼夜リズムを予知し、同期する時間代謝システムとして単細胞生物で成立した。これが多細胞生物での臓器の細胞時計の原型になったと考えられる。

多細胞生物では、全身の細胞時計を統括する中枢時計が現れ、哺乳類では夜でも時間を刻むことのできる強い自律性を有したSCNが完成した。進化の頂点を極める霊長類であるヒトも、この強く発振するリズム生成システムを持っている。

しかし、近代文明は、太陽に代わる人工照明(LED等)という明暗を自由に変える機器をもたらし、ジェット機と言う十数時間で地球を周回するような移送手段を実用化し、もはや人間は24時間と言う昼夜周期にとられない時間環境で生活するようになった。この生活形態がもたらす、生体と環境のリズムの不一致は、うつ病などの心身の異常や、がん、肥満、高血圧症などの生活習慣病の誘因になると言われ、その分子機構の解明は、重要な課題である。

2. 研究の目的

全身の体内時計の時刻を決めているのは、視床下部のSCNである。SCNは約1万個の神経細胞からなる局所神経回路を形成し、リズムを生成する。SCNの時計の自律性は非常に強く、体外に取り出しても生体内でのリズム位相を保ってリズムを打ち続け、全身組織に張り巡らされた自律神経系に時を出力し、全身のリズムを調律する。

このSCNをSCNたらしめている分子機構は何か?我々は、15年前に、SCNに特異的に大量に発現する遺伝子を組織化学で同定と、ノックアウトマウスを用いたリズムに及ぼす検証を組み合わせたプロジェクト(SCN-Gene Project)を開始した(Cold Spring Harb Symp Quant Biol 2007)。このSCN-Gene Projectでは、SCNに特異的に発現する遺伝子を網羅的に *in situ* hybridization で同定し、リズムに及ぼす影響をノックアウトマウスで検出するのである。驚くべきことに、現在まで、このプロジェクトで得られた遺伝子ノックアウトマウスは高率に睡眠異常を示した。例えば、Vasopressin V1aV1b ノックアウトマウス(Science 2013)では時差が消失する。また、GPCRの一つのGPR176をノックアウトすると、リズム周期が長くなった(Nature Com 2016)。すなわち、フリーラングリズムの異常、睡眠相後退症候群(DSPS)、時差症候群など、ヒトの概日リズム睡眠障害ときわめて良く似た症状を示すのである。非常に興味深いことに、このプロジェクトで検出された候補遺伝子の多くは、SCNに大量に発現し、細胞間のシグナル伝達(Ca²⁺、cAMP、Gタンパク質など)にかかわっているものであった。このProjectは、ヒトの概日リズム睡眠障害の病態の原因の分子機構そのものを突いている可能性がある。

そこで、今回の研究においては、SCN-Gene Projectで得られた遺伝子を中心に、生体リズムの分子機構の解明を目的とした。さらに、従来の生体リズムの研究は、昼行性で単相性睡眠を示すヒトとは全く異なる夜行性で多相性睡眠のげっ歯類で行なわれるのみであったが、よりヒトに近い実験動物での分子機構の解明が緊急の課題である。そこで、小型昼行性霊長類であるマーモセットの生体リズムの実験系を打ち立てる。

3. 研究の方法

用いた手法は、マーモセット、近交系マウス、遺伝子改変マウス、スライスカルチャー、細胞培養系、化学発光、神経生理、実験生理、薬物投与、神経内分泌、遺伝子導入、など多岐にわたる。具体的には、遺伝子の網羅的解析(SCN-Gene Project)、RNAトランスクリプト解析、免疫組織化学、*in situ* hybridization、ノックアウトマウス解析、行動リズム解析、脳波解析、ビデオ行動観察など、種々の手法を駆使して研究を遂行する。また、この研究のため、真猿類広鼻目小型霊長類マーモセットの行動観察ができる、恒常環境を整備した隔離室を実験動物施設内に設置し、実験に供した。

4. 研究成果

(1) バソプレッショソ受容体阻害は慢性時差環境下での老齡マウスの生存率を改善する

(iScience. 5:118-122, 2018. doi: 10.1016/j.isci.2018.06.008)

山口賀章博士との共同研究。我々は、すでに、バソプレッショソ V1a と V1b の両受容体を阻害すると、時差が消失することを報告している (Science 2013)。この時差の消失が生体にもどのような影響を及ぼすかを検討した。そこで注目したのは、老齡マウスを慢性時差環境下で飼育すると、著しく寿命が短縮するという報告である。そこで、今回の実験で注目したのは、我々はバソプレッショソ受容体の阻害下で寿命はどうなるかという問題である。時差状態を示さないバソプレッショソ受容体欠損マウスは、野生型マウスに比し、慢性的に時差のある環境下でも生存率が上昇することを見出した。さらに、老齡の野生型マウスにおいても、バソプレッショソ受容体の働きを抑制する薬劑を投与することで、慢性時差による死亡率を減少させることに成功した。シフトワーカーの病態への創薬が期待される。

(2) DNA のスイッチ：体内リズムを引き起こす DNA スイッチ配列を発見

(Nature Communications 10(1):2563, 2019. doi: 10.1038/s41467-019-10532-2.)

土居雅夫博士との共同研究。体内リズムの発現のスイッチとなる DNA 配列を発見した。生物の設計図であるゲノムには蛋白質をコードする領域とコードしない領域があり、後者をノンコーディング領域と呼ぶ。生体リズムに活躍するのは、蛋白質をコードしないノンコーディング領域の特定の DNA 配列であった。

ノンコーディング領域の DNA 配列は生物の発生や進化の過程で重要であることはすでに知られていた。しかしこれまで、発生の段階を過ぎた成体において、日常的な活動や生理機能の制御における役割は明らかにされていなかった。

ノンコーディング領域の DNA 配列に着目した本研究は、体内時計の形成原理の根幹にかかわる重要な知見を提供するとともに、蛋白質をコードしない DNA 配列の成体における役割を日々の活動制御のレベルで明らかにした初めての成果である。

(3) 体内リズムの 24 時間周期を決めるタンパク質を発見：CK1D の RNA メチル化によるスプリング制御と家族性睡眠相前進症候群 (FASPS) の分子機構の解明

(Proc Natl Acad Sci USA 115(23):5980-5985, 2018. doi: 10.1073/pnas.1721371115.)

(Proc Natl Acad Sci USA 115(23):5986-5991, 2018. doi: 10.1073/pnas.1721076115.)

Jean-Michel Fustin 博士との共同研究。PNAS 二部作である。

メチルサイクルは、メチオニンを使用して、細胞内の DNA、RNA、ヒストン、非ヒストンタンパク質、脂質など細胞内の種々の物質をメチル化するための、メチル基供与体である S-アデノシルメチオニン (SAM: S-adenosylmethionine) を合成する。SAM のメチル基の供与によって、SAM は SAH (SAH: S-Adenosylhomocysteine) に変換する。SAH は、メチル化の強力な阻害劑である。そのため、SAM/SAH 比率は、細胞中のメチル化ポテンシャルの指標として利用される。SAH は、さらに Adenosylhomocysteinase (AHCY) によってホモシステインとアデノシンに分解される。最終的にホモシステインは、メチオニンおよび SAM に再生される。3-Deazaadenosine (DAA) やより特異的な Deazaepianocine (DZnep) は AHCY を阻害し、SAM の生成を落とすことによるグローバルなメチル化阻害劑である。我々は、既に、DZnep のリズム周期延長作用を発見し、RNA メチル化の阻害 (m6A-阻害) が生体リズムの周期を延長させることを報告した (Cell 2013)。

この RNA メチル化による周期変位の原因をさぐるため、m6A 免疫沈降 RNA-Seq 解析全トランスクリプトーム解析 (MeRIP-seq) によるマウス肝臓の 24 時間プロファイリングにより、概日リズム示す遺伝子産物の m6A 化を検定することから開始した。MeRIP-seq により、CK1D の RNA メチル化が強いことが分かったので、これとリズム周期の関係があるかを検討した。先行研究により、CK1D が PER のリン酸化を制御し周期を調整する重要因子であることは既に知られていた。また、CK1D-KO は、リズム周期を延長させることが知られていた。そうであるなら、DZnep 投与でのリズム周期延長は、CK1D の発現減少によるのではないだろうか？

我々は、この遺伝子 Ckd1 が、ただ 1 つのキナーゼでなく、PER2 を不安定にする既知の CK1D1 と、PER2 を安定化させる Ckd2 という新旧 2 つのキナーゼを生み出すことを見出した。あたかもジキル氏とハイド氏のように、正反対の機能を持つ新旧 2 つのキナーゼが、RNA メチル化により、1 つの遺伝子の読み取り方の違いから生まれることを明らかにした。

この病態を考える時、我々は、家族性睡眠相前進症候群 (Familial Advanced Sleep Phase Syndrome: FASPS) の患者さんが、夜になると猛烈な睡魔のために間もなく (午後 7 時頃) 眠りにつき、朝早く (午前 3 時頃) 起きてしまい、睡眠覚醒リズムの周期が 24 時間より短いことに注目した。この病態は、ヒトの時計の中核で働く Period2 (PER2) の突然変異によって起こる。遺伝子変異により、PER2 タンパク質の安定性の鍵となるアミノ酸の 1 つであるセリンがグリシンに置換された結果、PER2 タンパク質が不安定となり、体内時計の周期が短縮してしまうのである。なぜセリンがグリシンに置換されると PER2 タンパク質が不安定になるのか？それは、PER2 タンパク質の機能と安定性にはセリンのリン酸化が必要だが、セリンがグリシンに変異するとリン酸化はなくなり、PER2 タンパク質は不安定化する。

我々は、CK1D1 または CK1D2 による概日リズム周期の調節機構を調べた。その結果、これまで

の報告のように、確かに CK1D1 は時計周期を加速するが、驚くべきことに、CK12 は逆に、時計周期を遅くすることを明らかにした。

さらに、これらの結果と一致して、CK1D1 や CK1D2 に依存した PER2 の FASPS 部位のリン酸化は、アイソフォームに強く依存していることが判明した。FASPS 部位は 4 つのリン酸化サイトを持ち、そのリン酸化により PER2 は安定化した。安定化をさせるには、CK1D1 と CK1D2 の両者の発現の場合が最も高く、CK12 単独では中程度、CK1D1 単独では最も低かった。これは、CK1D2 がプライミングキナーゼであることを強く示唆し、さらに、2 つのアイソフォームは協力して FASPS 部位全体のリン酸化を行う事を強く示唆している。

今回、我々は、概日時計の調節において、組織特異的に発現する、2 つの CK1D アイソフォームの拮抗的作用を明らかにした。CK1D のアイソフォーム特異的阻害剤は、全く新たな、概日リズム性睡眠障害の治療薬として、開発が期待される。また、CK1D は癌、線維症、依存症など多くの疾患との関連が知られているので、今回の知見は、概日リズム睡眠障害を超えて、他の疾患での役割の解明が期待される。

(4) メチル化と体内時計の密な関係：生命起源、時計中枢、メチル化とサプリメント

(Communication Biology 3(1):211, 2020. doi: 10.1038/s42003-020-0942-0.)

(Science Advances 6(51):eabc5629, 2020. doi: 10.1126/sciadv.abc5629.)

(Communication Biology 5(1):313, 2022. doi: 10.1038/s42003-022-03280-5.)

Jean-Michel Fustin 博士、Paolo Sassone-Corsi 博士とのメチル化研究の後期三部作。

まず、我々は、世界 10 施設の研究者とともに、メチル化反応と体内時計の生命誕生以来の密接な関係を探索した。メチル化と体内時計は、細菌からヒトまで、25 億年以上の進化を隔てても保存されていた。さらに、本研究成果をヒト疾病治療に応用したところ、細菌独自のメチル化関連酵素の導入にて、ヒト細胞の代謝異常を矯正することに成功した。我々の身体では、無数の生化学反応が起こっている。その複雑なシステムを調節するため、細胞はメチル化(標的分子へのメチル基の付加)という、重要な調節機構を進化させてきた。メチル化の欠乏は、食生活や先天異常だけでなく、癌、アテローム性動脈硬化症、先天異常、老化、糖尿病、肝疾患など多くの疾病で局所的に起こる可能性が示唆されている。今回、進化の初期からメチル化反応と生体リズムは密接な関係を保って進化することを利用し、ヒト細胞でのメチル化反応の低下を、細菌が独自に持つ酵素により再プログラミングすることで、メチル化の欠乏が防止できた。

体内時計では、時計遺伝子発現はクロマチンリモデリングと密接に関連している。我々は S-アデノシルホモシステイン (SAH) 加水分解酵素アデノシルホモシステイナーゼ (AHCY) がクロマチン部位で CLOCK-BMAL1 と周期的に会合し、概日転写活性を促進することを報告する。AHCY の阻害は、概日遺伝子発現の振幅を著しく減少させた。この結果は、細胞代謝、クロマチン動態、概日調節の間のこれまで認識されていなかった関連性を明らかにした。

健康に良いと様々な効能が謳われる各種サプリメントを、大量に摂取する人がいる。しかし、医薬品と異なり手軽に手に入るサプリメントの取り過ぎが、その効能とは逆の悪い作用を体に及ぼしうかどうかについては、未だ十分に検証されていない。我々は、肝臓や関節の働きを助け、気分を上げると言われるサプリメントである S-アデノシルメチオニン (SAME) が体内時計により駆動される生体リズムを障害することを見つけた。SAME は、体内でアデニンとメチルチオアデノシンに分解され、これらが有害物質としてリズム周期を異常にした。これまで、SAME の摂取はメチル化を促進し、健康に良いと思われてきたが、過剰量の摂取は、逆に危険を伴う可能性もあり、サプリメントに関しても、医薬品と同様、十分注意して服用することが重要であろう。過剰 SAME はメチル化を阻害し、生体リズムを障害する。

(5) ステロイド生合成系の制御から涙腺の脂質成分を分泌するマイボーム腺の機能低下

(Nature Aging 2(2):105-114, 2022. doi: 10.1038/s43587-021-00167-8.)

土居雅夫博士との共同研究。2010 年、我々は、遺伝子改変によって生体リズムを消失させたマウス (Cry-null マウス) に食塩を過剰摂取させると、高血圧になることを明らかにした。その分子レベルの探求すると、副腎球状層で産生されるアルドステロンの分泌が、Cry-null マウスでは過剰になっており、高血圧症に至ることを明らかにした (Nature Med, 2010)。アルドステロン分泌過剰は、時計遺伝子 Cry の欠損によってステロイド生合成系のプレグネノロンをプロゲステロンに変換する Hsd3b6 の過剰産生が起こることによっていた。

我々は、Hsd3b6 が副腎以外で無いのかと検索し、Hsd3b6 が皮膚の脂腺にも存在することを突き止めた。マウス皮膚の脂腺は毛に付属する、数は多いが、小さい腺である。そこで、扱うのが難しかったが、眼瞼のところには、マウスにも比較的大きな脂腺の一種であるマイボーム腺が存在することに気が付いた。ここには、やはり Hsd3b6 が存在していた。

マイボーム腺は涙腺からの分泌物である涙の脂質成分を提供し、その機能には顕著な日周リズムがある。土居博士は、NAD+ のリズムが Hsd3b6 を制御し、ステロイドが増大するとともに細胞の増生、油脂の分泌増加をもたらすことを明らかにした。老化とともに、ステロイドの減少が起こりドライアイを生じる機能の一機構を担うと想定される。

(6) 光誘導物質による新しい体内時計の同調制御機構の発見：低分子量 G タンパク質の新機能
Cell Reports 39(8):110844, 2022. doi: 10.1016/j.celrep.2022.110844.)

松尾雅弘博士、富永恵子博士との共同研究。光により誘導される神経細胞の活動抑制物質を、体内時計中枢の視交叉上核で発見した。体内時計には、約 24 時間周期のサーカディアンリズムを生み出す仕組みだけでなく、このリズムのタイミングを環境の明暗変動に一致させるシステム（同調機構）がある。これは、眼で受けた光の明暗情報が視神経から体内時計中枢である視交叉上核に伝達され、体内時計の時刻を動かすことで行われる。しかし哺乳類では、同調できる時刻には限界があり、一度に 3 時間以上動かすことはできないと言われている。今回、その制限が作られる仕組みについて検索した。

我々は、光が神経活動を抑制する低分子量 G タンパク質 Gem を誘導し、これが体内時計の細胞：の活動を抑制し、過剰に動くことを防いでいることを明らかにした。光刺激で時計細胞に発現した Gem は、細胞が興奮するときに関与する電位依存性カルシウムチャネル (VDCC) を抑制することで、細胞内へのカルシウムイオン流入量を減少させる。体内時計は、この仕組みをつかって、適切な時間の長さの時刻変動が起こるように調節していることが明らかになった。

今回の刺激誘導性低分子量 G タンパク質の脳内機構が解明されたのは初めてであり、今後の神経科学での制御機構の解明が期待される。

(7) 体内時計は夜間に自然免疫を発動する：皮膚におけるケモカインの新機能

(Proc Natl Acad Sci USA. 119(25):e2116027119, 2022. doi: 10.1073/pnas.2116027119.)

種子島幸祐博士、原孝彦博士との共同研究。皮膚ケモカインによる自然免疫機構を明らかにし、皮膚の生体リズムが抗菌免疫を制御する仕組みについて解明した。

睡眠障害は、精神的な問題のみならず身体機能へも影響する。睡眠には、眠らないと眠くなるという睡眠負債と、朝の覚醒と夜の睡眠を繰り返す体内時計によるリズム現象という 2 つの重要な法則がある。これらはともに、獲得免疫や自然免疫の両者と深く結びついている。膿瘍などの皮膚感染症やときに肺炎、心内膜炎、骨髄炎を引き起こす、強病原性グラム陽性球菌の黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) からの防御に、表皮にあるケラチノサイト(角化細胞)の生体リズムが関与していた。

皮膚の表面を覆うケラチノサイトは、自然免疫で働くケモカイン CXCL14 をリズム的に発現する。その発現は、夜行性マウスでは、昼に高く、夜に低いが、ヒトと同じ昼行性霊長類コモンマーモセットでは、昼に低く、夜に高い。CXCL14 は黄色ブドウ球菌の DNA に強く結合し、皮膚の樹状細胞で Toll-like receptor 9 (TLR9) と呼ばれる細菌 DNA のセンサー分子を活性化する。すなわち、睡眠中に発動する自然免疫が皮膚から侵入した病原性黄色ブドウ球菌から個体を保護していると考えられる。

夜行性マウスと昼行性霊長類マーモセットの活動量の日内変動は、逆位相である。マーモセットでの体温と行動量の定量的データは、体内機構の昼夜が夜行性と昼行性で逆転していることを明瞭に示している。ヒトの生理機能を理解するには、これまでの実験動物であるマウスやラットに加え、昼行性の実験動物からデータを得ることも重要であることを示している。

(8) 昼行性霊長類マーモセットは生体リズムを持つ：無拘束自由行動下での脳波概日リズム

ヒトに進化した昼行性の霊長類のなかで、霊長類で真っ先に全ゲノムが解析されたのはコモンマーモセット (*Callithrix jacchus*) である。マーモセットは体重 200 ~ 300 g の小型霊長類で、真猿類広鼻目 (新世界ザル) に属する。マーモセットは、霊長類では柔軟な性質を持ち、生態行動の実験動物としての資格を満たす。通常、1 回のお産で生まれる子は 2 匹で、ファミリーで暮らし、母親だけでなく父親や兄弟を含む家族全体で子どもを育てる。また、共感行動や音声コミュニケーションなどヒトとよく似た行動も観察され、社会行動研究におけるモデル動物としても期待されている。

今回、我々はマーモセットを用いて、生体リズム実験系を確立し、霊長類の睡眠覚醒機構を解析した。まず、最初に、明暗環境や、24 時間行動モニター装置を完備した、恒常環境を設定できるマーモセットの生体リズム研究専用の飼育室を作成した。さらに、個体行動を連続的に無侵襲で測定できる Activity ring を発案した。また、睡眠時の行動を詳細に観察できるビデオ測定システム、さらに、マーモセットの脳活動を自由活動下で測定できる脳波計を開発した。これまでに解明したのは、マーモセット固有の内因性の生体リズムであり、さらに、光照射による位相依存的リズム位相の変動、時差による脳活動の変動、共棲による体内リズムの同期現象、覚醒・睡眠時脳波の周期的な変動、およびその社会的相互作用による影響である。マーモセットの睡眠は、ヒトと同じ一日一回だけ数時間持続的に眠る単相性であり、入眠開始、REM 睡眠・NREM 睡眠、起床覚醒には明瞭な概日リズムが認められた。今後、これらの現象の分子レベルの検索を加速させ、霊長類初の生体リズム実験系を用いてヒトのリズム障害の分子機構の解明に迫りたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 17件 / うち国際共著 6件 / うちオープンアクセス 15件）

1. 著者名 Doi M, Shimatani H, Atobe Y, Murai I, Hayashi H, Takahashi Y, Fustin JM, Yamaguchi Y, Kiyonari H, Koike N, Yagita K, Lee C, Abe M, Sakimura K, Okamura H.	4. 巻 115
2. 論文標題 Non-coding cis-element of Period2 is essential for maintaining organismal circadian behaviour and body temperature rhythmicity.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5980-5985
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-10532-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Yoshitane H, Asano Y, Sagami A, Sakai S, Suzuki Y, Okamura H, Iwasaki W, Ozaki H, Fukada Y.	4. 巻 2
2. 論文標題 Functional D-box sequences reset the circadian clock and drive mRNA rhythms.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-019-0522-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Wang T, Nakagawa S, Takahito Miyake T, Setsu G, Kunisue S, Goto K, Hirasawa A, Okamura H, Yamaguchi Y, Doi M.	4. 巻 10
2. 論文標題 Identification and functional characterisation of N-linked glycosylation of the orphan G protein-coupled receptor Gpr176.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-61370-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fustin Jean-Michel, Kojima Rika, Itoh Kakeru, Chang Hsin-Yi, Ye Shiqi, Zhuang Bowen, Oji Asami, Gibo Shingo, Narasimamurthy Rajesh, Virshup David, Kurosawa Gen, Doi Masao, Manabe Ichiro, Ishihama Yasushi, Ikawa Masahito, Okamura Hitoshi	4. 巻 115
2. 論文標題 Two Ck1 transcripts regulated by m6A methylation code for two antagonistic kinases in the control of the circadian clock	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences USA	6. 最初と最後の頁 5980 ~ 5985
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1721371115	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Narasimamurthy R, Hunt SR, Lu Y, Fustin JM, Okamura H, Partch CL, Forger DB, Kim JK, Virshup DM	4. 巻 115
2. 論文標題 CK1 / protein kinase primes the PER2 circadian phosphoswitch	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences USA	6. 最初と最後の頁 5986-5991
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1721076115	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamaguchi Y, Okamura H	4. 巻 5
2. 論文標題 Vasopressin signal inhibition in aged mice decreases mortality under chronic jet lag	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 118-122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2018.06.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Chen Y, Yamaguchi Y, Suzuki T, Doi M, Okamura H	4. 巻 51
2. 論文標題 Effect of daily light on c-Fos expression in the suprachiasmatic nucleus under jet lag conditions	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Histochem Cytochem	6. 最初と最後の頁 73-80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1267/ahc.18001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 フスタ ジャンミッシェル, 岡村 均	4. 巻 69
2. 論文標題 RNAメチル化	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 2-3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fustin JM, Ye S, Rakers C, Kaneko K, Fukumoto K, Yamano M, Versteven M, Grunewald E, Cargill SJ, Tamai TK, Xu Y, Jabbur ML, Kojima R, Lamberti ML, Yoshioka-Kobayashi K, Whitmore D, Tamam S, Howell PL, Kageyama R, Matsuo T, Stanewsky R, Golombek DA, Johnson CH, Kakeya H, van Ooijen G, Okamura H	4. 巻 3
2. 論文標題 Methylation deficiency disrupts biological rhythms from bacteria to humans	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 . Commun Biol	6. 最初と最後の頁 211
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-0942-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Greco CM, Cervantes M, Fustin JM, Ito K, Ceglia N, Samad M, Shi J, Koronowski KB, Forne I, Ranjit S, Gaucher J, Kinouchi K, Kojima R, Gratton E, Li W, Baldi P, Imhof A, Okamura H, Sassone-Corsi P	4. 巻 6
2. 論文標題 S-adenosyl-l-homocysteine hydrolase links methionine metabolism to the circadian clock and chromatin remodeling	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabc5629
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abc5629	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Matsuo M, Seo K, Mizuguchi N, Yamazaki F, Urabe S, Yamada N, Doi M, Tominaga K, Okamura H	4. 巻 461
2. 論文標題 Role of 2 3 in cellular synchronization of the suprachiasmatic nucleus under constant light conditions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuroscience.2021.02.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Y, Murai I, Goto K, Doi S, Zhou H, Setsu G, Shimatani H, Okamura H, Miyake T, Doi M	4. 巻 11
2. 論文標題 Gpr19 is a circadian clock-controlled orphan GPCR with a role in modulating free-running period and light resetting capacity of the circadian clock	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 22406
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-01764-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sasaki L, Hamada Y, Yarimizu D, Suzuki T, Nakamura H, Shimada A, Pham KTN, Shao X, Yamamura K, Inatomi T, Morinaga H, Nishimura EK, Kudo F, Manabe I, Haraguchi S, Sugiura Y, Suematsu M, Kinoshita S, Machida M, Nakajima T, Kiyonari H, Okamura H*, Yamaguchi Y, Miyake T, Doi M	4. 巻 2
2. 論文標題 Intracrine activity involving NAD-dependent circadian steroidogenic activity governs age-associated meibomian gland dysfunction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nat Aging	6. 最初と最後の頁 105-114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s43587-021-00167-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mohamed HMA, Takahashi A, Nishijima S, Adachi S, Murai I, Okamura H, Yamamoto T	4. 巻 19
2. 論文標題 CNOT1 regulates circadian behaviour through Per2 mRNA decay in a deadenylation-dependent manner	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 RNA Biol	6. 最初と最後の頁 703-718
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15476286.2022.2071026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Y, Murai I, Takeda M, Doi S, Seta T, Hanada R, Kangawa K, Okamura H, Miyake T, Doi M	4. 巻 45
2. 論文標題 Nmu/Nms/Gpr176 triple-deficient mice show enhanced light-resetting of circadian locomotor activity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biol Pharm Bull	6. 最初と最後の頁 1172-1179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b22-00260	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukumoto K, Ito K, Saer B, Taylor G, Ye S, Yamano M, Toriba Y, Hayes A, Okamura H, Fustin JM	4. 巻 5
2. 論文標題 Excess S-adenosylmethionine inhibits methylation via catabolism to adenine	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Commun Biol	6. 最初と最後の頁 313
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-03280-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Matsuo M, Seo K, Taruno A, Mizoro Y, Yamaguchi Y, Doi M, Nakao R, Kori H, Abe T, Ohmori H, Tominaga K, Okamura H	4. 巻 39
2. 論文標題 A light-induced small G-protein gem limits the circadian clock phase-shift magnitude by inhibiting voltage-dependent calcium channels	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Rep	6. 最初と最後の頁 110844
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2022.110844	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsujihana K, Tanegashima K, Santo Y, Yamada H, Akazawa S, Nakao R, Tominaga K, Saito R, Nishito Y, Hata RI, Nakamura T, Murai I, Kono Y, Sugawa M, Tanioka M, Egawa G, Doi M, Isa T, Kabashima K, Hara T, Okamura H	4. 巻 119
2. 論文標題 Circadian protection against bacterial skin infection by epidermal CXCL14-mediated innate immunity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci USA	6. 最初と最後の頁 e2116027119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2116027119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岡村均	4. 巻 28
2. 論文標題 視交叉上核の謎	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 時間生物学	6. 最初と最後の頁 118-125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計34件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 岡村 均
2. 発表標題 哺乳類の睡眠覚醒リズムの分子機構 (特別講演)
3. 学会等名 日本睡眠学会第44回定期学術集会 (名古屋国際会議場) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡村 均、村井 伊織、藤永 輝明、富永 恵子
2. 発表標題 マーモセットの概日リズムと睡眠覚醒の研究(シンポジウム「生理指標、脳科学」、
3. 学会等名 第9回マーモセット研究会大会(シーサイドホテル舞子ピラ)(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河野優華、須川真帆、村井伊織、藤永 輝明、金子照生、山口亜寿紗、富永恵子、尾上浩隆、伊佐正、岡村均
2. 発表標題 マーモセットの概日リズムの非光同調系の解析
3. 学会等名 第9回マーモセット研究会大会(シーサイドホテル舞子ピラ)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 須川真帆、河野優華、村井伊織、藤永 輝明、金子照生、富永恵子、中村昌史、尾上浩隆、伊佐かおる、伊佐正、岡村均
2. 発表標題 マーモセットの概日リズム発振と光同調の解析
3. 学会等名 第9回マーモセット研究会大会(シーサイドホテル舞子ピラ)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金子照生、藤永 輝明、須川真帆、河野優華、村井伊織、富永恵子、尾上浩隆、伊佐正、岡村均
2. 発表標題 マーモセット脳波による生体リズム解析のためのソフトの作成
3. 学会等名 第9回マーモセット研究会大会(シーサイドホテル舞子ピラ)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡村 均
2. 発表標題 時計遺伝子によるステロイド制御
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hitoshi Okamura
2. 発表標題 Circadian rhythms in mammals from cells to systems
3. 学会等名 Sapporo Symposium on Biological Rhythm in 2018（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡村 均
2. 発表標題 時間分子生理学
3. 学会等名 第36回日内分泌代謝学サマーセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hitoshi Okamura
2. 発表標題 How clock ticks at the heart of the cell: Genes, signals and rhythms
3. 学会等名 15th Meeting of Bone Biology Forum（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡村 均
2. 発表標題 哺乳類分子時計と行動リズム
3. 学会等名 第25回日本時間生物学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口賀章、岡村均
2. 発表標題 パソプレッシンシグナルの抑制は、慢性時差環境下での老齡マウスの死亡率を減少させる
3. 学会等名 第45回 日本神経内分泌学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshiaki Yamaguchi, Hitoshi Okamura
2. 発表標題 Mortality rate of aged wild-type and V1a-/-V1b-/- mice under a chronic jet lag condition.
3. 学会等名 SRBR 2018 Society for Research on Biological Rhythms (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kumiko Dojo, Yoshiaki Yamaguchi, Jean-Michel Fustin, Masao Doi, Masaki Kobayashi, and Hitoshi Okamura
2. 発表標題 Carbachol-induced phase-dependent phase-shift of core clock transcription rhythms in slice cultured suprachiasmatic nucleus
3. 学会等名 The 9th Meeting of Asian Sleep Research Society (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口賀章、岡村均
2. 発表標題 慢性時差環境下における老齡マウスの生存率
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口賀章、岡村均
2. 発表標題 慢性時差環境下における老齡V1aV1bノックアウトマウスの生存率
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 富永健一郎、山口賀章、岡村 均
2. 発表標題 バソプレッシンシグナルの抑制による慢性時差環境下での老齡マウス死亡率の改善
3. 学会等名 第68回 日本薬学会近畿支部総会・大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshiaki Yamaguchi, Hitoshi Okamura
2. 発表標題 Inhibition of Vasopressin Signaling in the SCN of Aged Mice Increases Survival Rate under Chronic Jet Lag
3. 学会等名 International Symposium on Biological Rhythms “20 Years since Discovery of mammalian Clock Genes” (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yota Maekawa, Yoshiaki Yamaguchi, Iori Murai, Hiroyuki Shimatani, Hitoshi Okamura, Masao Doi
2. 発表標題 Calcitonin Receptor Modulates Body Temperature Rhythm in Mammals - Immunolocalization of the Calcitonin Receptor in Extra-SCN Regions -
3. 学会等名 International Symposium on Biological Rhythms “20 Years since Discovery of mammalian Clock Genes” (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Daichi Moriyasu, Yulin Chen, Yoshiaki Yamaguchi, Toru Suzuki, Masao Doi and Hitoshi Okamura
2. 発表標題 Light Responsiveness in the Neurons of the Suprachiasmatic Nucleus under Jet Lag Condition
3. 学会等名 International Symposium on Biological Rhythms “20 Years since Discovery of mammalian Clock Genes” (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口賀章、岡村均
2. 発表標題 バソプレッシンシグナルの抑制は、慢性時差環境下での老齡マウスの生存率を増加させる
3. 学会等名 第25回 日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yota Maekawa Yoshiaki Yamaguchi Iori Murai Hitoshi Okamura Masao Doi
2. 発表標題 Immunohistological distribution of Calcitonin receptor in the brain :Where is a mediator of body temperature rhythm?
3. 学会等名 第25回 日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森安大地 陳宇林 山口賀章 鈴木暢 土居雅夫 岡村均
2. 発表標題 Effect of Daily Light on c-Fos Expression in the Suprachiasmatic Nucleus under Jet Lag Conditions 時差環境下における日々の光刺激がSCNのc-Fos発現に及ぼす影響
3. 学会等名 第25回 日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村井伊織、土居雅夫、岡村均
2. 発表標題 Vipr2の視床における発現と網膜入力の影響 Vipr2 receptors in the thalamus and the effect of retinal innervation
3. 学会等名 第25回 日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森安大地、陳 宇林、山口賀章、鈴木暢、土居雅夫、岡村均
2. 発表標題 時差環境下における視交叉上核の光応答性
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Iori Murai, Masao Doi, Hitoshi Okamura
2. 発表標題 Vipr2 receptors in the thalamus and the effect of retinal innervation.
3. 学会等名 第25回日本時間生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuka Kono, Maho Sugawa, Teruo Kaneko, Teruaki Fujinaga, Nami Sato, Kaoru Isa, Hirotaka Onoe, Tadashi Isa, Hitoshi Okamura
2. 発表標題 Analysis of the synchronization of individual circadian rhythms in marmosets
3. 学会等名 第25回日本時間生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Maho Sugawa, Yuka Kono, Teruaki Fujinaga, Nami Sato, Teruo Kaneko, Aya Shimada, Keiko Tominaga, Jean-Michel Fustin, Hirotaka Onoe, Jiro Yamashita, Kaoru Isa, Tadashi Isa, Hitoshi Okamura
2. 発表標題 Circadian oscillation of diurnal primate common marmosets (<i>Callithrix jacchus</i>) I. Physiological parameters
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuka Kono, Maho Sugawa, Teruaki Fujinaga, Teruo Kaneko, Aya Shimada, Keiko Tominaga, Hirotaka Onoe, Kaoru Isa, Tadashi Isa, William J Schwartz, Hitoshi Okamura
2. 発表標題 Circadian oscillation of diurnal primate common marmosets (<i>Callithrix jacchus</i>). II. Cohabitation on rhythmicity
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤永輝明、須川真帆、河野優華、村井伊織、金子照生、富永恵子、尾上浩隆、伊佐 かおる、伊佐正、岡村均
2. 発表標題 マーモセット自由行動下の睡眠時脳波 E E G の検出
3. 学会等名 第8回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富永恵子、中村友紀、Jean-Michel Fustin、斎藤通紀、岡村均
2. 発表標題 母のリズム異常は仔のリズムに影響するか？
3. 学会等名 第7回生命動態領域会議
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口賀章、岡村均、土居雅夫
2. 発表標題 体内時計の時差への適応：光同調を担う視交叉上核Gタンパク質共役受容体
3. 学会等名 第27回日本時間生物学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡村均
2. 発表標題 哺乳類の睡眠覚醒リズムの分子機構
3. 学会等名 第52回藤田学園医学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤永輝明、富永恵子、尾上浩隆、伊佐 かおる、伊佐 正、岡村 均
2. 発表標題 自由行動下のマーマセットの長期間にわたる脳波測定
3. 学会等名 第10回日本マーマセット研究会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡村 均、藤永輝明、尾上浩隆、伊佐 かおる、伊佐正、富永恵子
2. 発表標題 マーモセットの自由行動下の日周睡眠覚醒脳波解析
3. 学会等名 第11回日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	富永 恵子 (吉野恵子) (Tominaga Keiko) (60256196)	大阪大学・生命機能研究科・准教授 (14401)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	山口 賀章 (Yamaguchi Yoshiaki) (30467427)	京都大学・薬学研究科・講師 (14301)	
連携研究者	フスタ ジャン・ミッシェル (Fusta Jean-Michel) (50711818)	京都大学・薬学研究科・准教授 (14301)	
連携研究者	伊佐 正 (Isa Tadashi) (20212805)	京都大学・医学研究科・教授 (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
英国	The University of Manchester			
米国	University of California, Irvine			
シンガポール	Duke-NUS Medical School			