

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K10336

研究課題名（和文）周術期の摂食条件が体内時計に与える影響；遺伝子改変マウスを用いた時間生物学的解析

研究課題名（英文）Effects of perioperative feeding conditions on the biological clock; a temporal biological analysis using genetically modified mice.

研究代表者

大野 幸 (Ohno, Sachi)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：00535693

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：近年、生活習慣病をはじめとする多くの疾病は、「体内時計」の不調に一因があるという知見が次々と報告され、中でも食事が「体内時計」に与える影響は大きいことが明らかにされつつある。本研究では、経口摂取において多くの感覚入力を受ける三叉神経系が末梢時計の機能を担い、中枢時計である視交叉上核のリズムと脱同調することが様々な不調を招くのではないかと仮説を立てた。そこで、まずは三叉神経節における時計遺伝子の発現について検証を行ったところ、三叉神経節には視交叉上核とは独立した明瞭な概日リズムが観察された。この自律的な概日振動を通して感覚入力の中継だけでなく、時間ゲーティングも担っていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食事や経口摂取の重要性を指摘する文献は多く見られるが、その作用機序は不明であり、三叉神経系の生体リズムに着目した今回の研究で得られた結果は、これらの根拠の1つになることが考えられる。さらに、時間生物学を研究する基礎分野に留まらず、歯科領域から医科領域へ、さらには健康産業や社会全体へ広く波及して、食事を介した健康の増進、疾病の予防や治療に生かされる可能性がある。シフトワークや海外出張など、不規則な生活を強いられる現代社会において、「体内時計」や時計遺伝子の働きを害する生活や食事をエビデンスに基づいて警鐘を鳴らすことで、最終的には医療費の削減にも寄与すると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In recent years, a number of findings have been reported that many diseases, including lifestyle-related diseases, are partly caused by disorders of the "biological clock," and it is becoming clear that eating, in particular, has a significant impact on the "biological clock". In this study, we hypothesized that the trigeminal nervous system, which receives a large amount of sensory input during feeding may perform the function of a peripheral clock, and that desynchronization with the rhythm of the suprachiasmatic nucleus (SCN), the central clock, may lead to various disorders. Therefore, we first examined the expression of clock genes in the trigeminal ganglion and observed a distinct circadian rhythm in the trigeminal ganglion, separate from the SCN. This suggests that the trigeminal ganglion is responsible for the relay of sensory inputs and temporal gating through autonomous circadian oscillations.

研究分野：歯科麻酔学

キーワード：体内時計 三叉神経節 摂食 Per2::LUC マウス Cry1 ノックアウトマウス Cry2 ノックアウトマウス

### 1. 研究開始当初の背景

近年、生活習慣病をはじめとする多くの疾病は、「体内時計」の不調に一因があるという知見が次々と報告され、この分野の研究が急速に進んでいる。中でも食事が「体内時計」に与える影響は大きく、その仕組みを知りうまく活用することで、人々の健康や疾病対策に大きく寄与するのではないかと期待されている。

図1aに示すように、体内時計の中核(親時計)は脳の視交叉上核にあり、ここから身体中の臓器や組織に存在する子時計に、時計遺伝子の律動的な変化によって生じる時間情報が伝わり、その結果、消化・吸収や代謝・排泄など調和のとれた生理機能が生み出されている。また、「腹時計」も抽象的な概念ではなく、食事刺激によって親時計を介さず子時計を調節することが、げっ歯類を使った多くの基礎研究で明らかにされている(Krieger et al.,1977,Pendergast et al.,2014)。さらに、歯科口腔外科手術後に経腸栄養や中心静脈栄養で管理された患者の生体ホルモリズムが減弱あるいは消失したことから、「経口」摂取による食事刺激が「腹時計」を介した生体リズムの維持において重要であることも古くから指摘されている(加藤ら、1984)。このように、「腹時計」に関する研究結果は数多くあるが、大変興味深いことにその解剖学的な場所は未だに特定されておらず、多くの研究者によって探索が続けられている。

我々は、食事刺激を受け取る「腹時計」の鍵は「口」にあるのではないかと考え、周術期の口腔内への侵襲や不規則な食事が「腹時計」機構に不調和を招き、その結果が術後合併症に関係するのではないか?という問いに至った(図1b)。

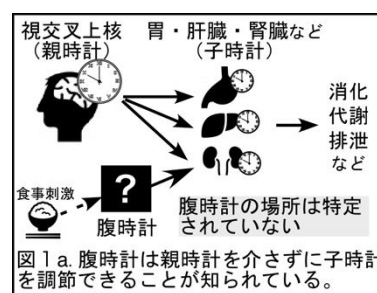


図1a. 腹時計は親時計を介さずに子時計を調節できることが知られている。

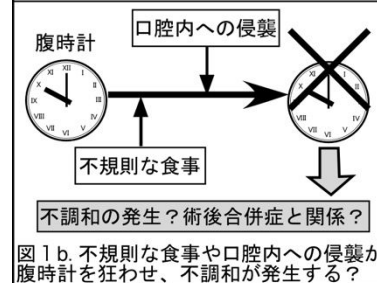


図1b. 不規則な食事や口腔内への侵襲が腹時計を狂わせ、不調和が発生する?

### 2. 研究の目的

本研究ではまず、経口摂取において多くの感覚入力を受ける三叉神経系が「腹時計」の機能を担うという仮説を立てて検証し、次に「腹時計」に影響を及ぼす因子として不規則な食事と口腔内への侵襲を挙げ、口腔外科手術後に発症する合併症との関係を、時間医学に基づいて検討し、より良い周術期管理につながる基礎的な知見を提供することを目的とする。

### 3. 研究の方法

本研究では、時計遺伝子の1つ *Period2* にホタルの発光酵素をつけ、時計遺伝子の発現に応じて細胞が光るよう遺伝子改変されたマウス(*PER2::LUC* ノックインマウス, 図2a)を用い、三叉神経節におけるリズムを次の方法で計測した。

片側三叉神経節と視交叉上核(SCN)を含む脳切片を生体外で培養し、生物発光レベルについて高感度光検出器を用いて測定した。

同様の実験を *Cry1* 遺伝子欠損マウス(*Cry1<sup>-/-</sup>*)または *Cry2* 遺伝子欠損マウス(*Cry2<sup>-/-</sup>*)を用いて行った。さらに、免疫組織化学的に野生型マウスのSCNと三叉神経節における *PER2* タンパク質の発現を調べた。

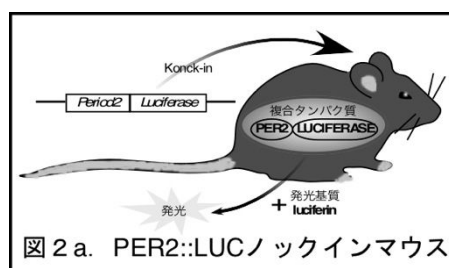
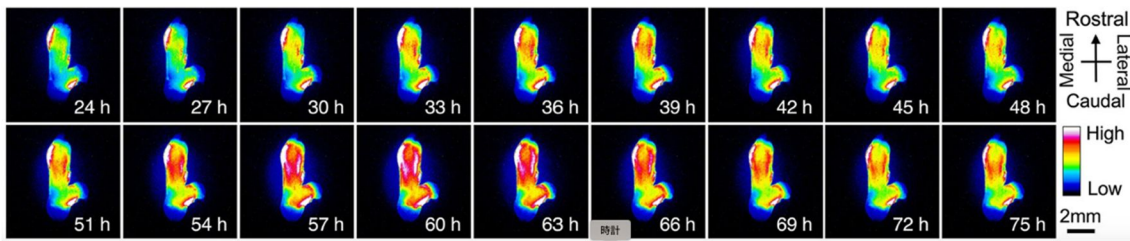


図2a. *PER2::LUC*ノックインマウス

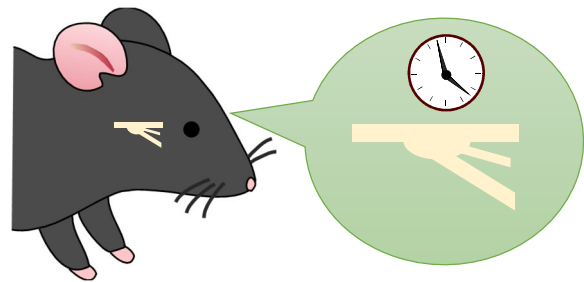
#### 4. 研究成果

マウス三叉神経節の生体外組織では、すべての遺伝子型において PER2::LUC レベルに明瞭な概日振動が認められた。



Shirakawa et al. 2023 *Front Neurosci*

その周期は SCN よりも三叉神経節で短く、野生型マウスよりも *Cry1*<sup>-/-</sup> マウスで短く、*Cry2*<sup>-/-</sup> マウスで長かった。三叉神経節では、免疫組織化学的に PER2 タンパク質の発現は神経細胞体内に局在していた。生体外培養における三叉神経節のニューロンにおける PER2 の発現と、明瞭な概日リズムの振動は、三叉神経節が自律的な概日振動を通して感覚入力の中継と時間ゲーティングを担っていることを示唆している。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 1.Yukie Shirakawa, Sachi N. Ohno, Kanae A. Yamagata, Kazuaki Yamagata, Eriko Kuramot, Yoshiaki Oda, Takahiro J. Nakamura, Wataru Nakamura and Mitsutaka Sugimura.	4. 巻 -
2. 論文標題 Circadian rhythm of PERIOD2::LUCIFERASE expression in the trigeminal ganglion of mice.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnins.2023.1142785. eCollection 2023.	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 Niuro A, Ohno SN, Yamagata KA, Yamagata K, Tomita K, Kuramoto E, Oda Y, Nakamura TJ, Nakamura W, Sugimura M.	4. 巻 15
2. 論文標題 Diurnal Variation in Trigeminal Pain Sensitivity in Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurosciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnins.2021.703440. eCollection 2021.	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 Oda Yoshiaki, Takasu Nana N., Ohno Sachi N., Shirakawa Yukie, Sugimura Mitsutaka, Nakamura Takahiro J., Nakamura Wataru	4. 巻 772
2. 論文標題 Role of heterozygous and homozygous alleles in cryptochrome-deficient mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 136415 ~ 136415
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2021.136415	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 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 白川 由紀恵, 大野 幸, 新納 彩子, 山形 歌奈絵, 杉村 光隆
2. 発表標題 マウスの三叉神経節における PERIOD2::LUCIFERASE 発現の概日リズム
3. 学会等名 第51回 日本歯科麻酔学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大野 幸, 杉村 光隆
2. 発表標題 三叉神経支配領域における概日リズムと三叉神経節における時計遺伝子の発現について
3. 学会等名 第101回日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 3. 白川 由紀恵, 大野 幸, 新納 彩子, 山形 歌奈絵, 杉村 光隆.
2. 発表標題 三叉神経節における PER2::LUC の発現リズム.
3. 学会等名 第50回日本歯科麻酔学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 新納 彩子, 大野幸, 富田和男, 倉本恵梨子, 中村 渉, 杉村 光隆
2. 発表標題 性持続性疼痛の動物モデルを用いた、三叉神経支配領域における痛みの日内変動の解析
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 白川由紀恵, 大野幸, 山形歌奈絵, 織田善晃, 中村孝博, 中村 渉, 杉村光隆
2. 発表標題 三叉神経節における時計遺伝子の発現リズム
3. 学会等名 第28回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 新納 彩子, 大野 幸, 青山 歌奈絵, 山形 和彰, 杉村 光隆.
2. 発表標題 急性持続性疼痛の動物モデルを用いた、三叉神経支配領域における痛みの日内変動の解析
3. 学会等名 第27回日本時間生物学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 新納 彩子, 大野 幸, 青山 歌奈絵, 山形 和彰, 杉村 光隆.
2. 発表標題 急性持続性疼痛の動物モデルを用いた、三叉神経支配領域における痛みの日内変動の解析
3. 学会等名 第48回日本歯科麻酔学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 新納 彩子, 大野 幸, 青山 歌奈絵, 山形 和彰, 杉村 光隆
2. 発表標題 急性持続性疼痛の動物モデルを用いた、三叉神経支配領域における痛みの日内変動の解析
3. 学会等名 第13回鹿児島大学大学院医歯学総合研究科口腔先端科学教育研究センター研究発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 新納 彩子, 大野 幸, 青山 歌奈絵, 山形 和彰, 杉村 光隆
2. 発表標題 急性持続性疼痛の動物モデルを用いた、三叉神経支配領域における痛みの日内変動の解析
3. 学会等名 第15回環境生理学プレコングレス
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 新納彩子, 大野 幸, 青山歌奈絵, 山形和彰, 杉村光隆
2. 発表標題 急性持続性疼痛の動物モデルを用いた、三叉神経支配領域における痛みの日内変動の解析
3. 学会等名 第47回日本歯科麻酔学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新納彩子, 大野 幸, 青山歌奈絵, 杉村光隆
2. 発表標題 急性持続性疼痛の動物モデルを用いた、三叉神経支配領域における痛みの日内変動の解析
3. 学会等名 第26回 学術大会 日本時間生物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新納彩子, 大野 幸, 青山歌奈絵, 山形和彰, 杉村光隆
2. 発表標題 急性持続性疼痛の動物モデルを用いた、三叉神経支配領域における痛みの日内変動の解析
3. 学会等名 第15回環境生理プレコングレス
4. 発表年 2020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	倉本 恵梨子  (Kuramoto Eriko)  (60467470)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教    (17701)	

6. 研究組織（つづき）

	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	杉村 光隆  (Sugimura Mitsutaka)  (90244954)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・教授     (17701)	

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