

令和 2 年 5 月 23 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06066・19K21190

研究課題名（和文）概日時計の周期補償を担う新規温度シグナリング

研究課題名（英文）Novel temperature signaling for temperature-compensated circadian clock

研究代表者

金 尚宏（Kon, Naohiro）

東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・特任助教

研究者番号：80822931

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000 円

研究成果の概要（和文）：概日時計は約一日周期の体内時計である。この時計の重要性質として、環境温度が変化しても周期は一定という温度補償性がある。本メカニズムの解明のため、細胞時計の温度補償性に影響する低分子化合物を探索した。その結果、TC-1、TC-2という化合物が温度補償性を大きく阻害することを見出した。これら化合物は同じシグナル伝達（TCシグナル）上で機能することを見出した。さらに、TCシグナルは温度補償だけでなく、自律振動にも重要であることが分かった。TCシグナルを媒介するタンパク質の欠損マウスを解析したところ、輪回し行動リズムに重篤な異常が観察され、TCシグナルがマウス個体においても重要であることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

概日時計は人々の日々の生活に大きく関与しており、その破綻は睡眠障害や精神疾患などに関与している。そのため、概日時計の分子メカニズムの理解は、基礎的な生命科学の推進とともに、医学的に重要である。本研究に見出した新規のTCシグナリングは、概日時計の重要な構成要素であることが分かった。そのため、本研究成果を応用して、人々の健康に資する技術開発にもつながると考えられる。また、TCシグナリングは新規の温度応答シグナリングであり、低温で活性化するという驚きの挙動を示すことが分かった。本発見は、生物の温度応答という極めて重要な事象に対して、分子レベルでの理解を促す知見になると考えている。

研究成果の概要（英文）：Temperature compensation is an important property of the circadian clock. In order to understand mechanism of the temperature compensation, we screened for small molecules affecting the compensation. We found that TC-1 and TC-2 largely inhibited temperature compensation of cellular rhythm. TC-1 and TC-2 function in the same signaling, and the signaling (TC signaling) is essential for not only the compensation but also autonomous oscillation of the molecular clock. In mice, mutation of the target showed abnormal behavioral rhythm. These results show that TC signaling is important for the circadian clock from cell level to behavioral level.

研究分野：細胞生物学

キーワード：概日時計 温度シグナル 温度補償性

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

概日時計の研究分野において最後に残された中心課題は、まぎれもなく温度補償性のメカニズムである。温度補償性とは、概日時計の周期が生理的な温度範囲においてほぼ一定である性質を指す。本性質は変温動物だけでなく恒温動物の時計にも保存されており、外気温に応じて大きく温度変化する末梢細胞の時計の安定周期に寄与していると考えられている。一般的な酵素反応は 10 °C の温度上昇に伴って反応速度は 2-3 倍 (温度係数 $Q_{10} = 2-3$ と示す) になるが、概日時計の Q_{10} は 0.8-1.2 である。これは、生物時計の構成要素がタンパク質であることを考慮すると非常に不思議な性質であり、古くから多くの研究者を魅了してきた。しかし、時計遺伝子 *Per* 変異体の報告から 40 年以上経った現在でさえ、依然としてメカニズムは不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、哺乳類の概日時計の温度補償性を担う中心的なメカニズムを同定することである。これまでに申請者は、細胞リズムのリアルタイムモニター系を用いて温度補償性に影響する要素を探索した。一次スクリーニングでは時計関連遺伝子の機能欠損細胞を 20 系統ほど評価したが、温度補償範囲を逸脱する変異細胞は見出されなかった。次に、低分子化合物の網羅的スクリーニングを実施したところ、Temperature Compound (TC)-1 あるいは TC-2 と命名した 2 つの化合物が、温度補償性を破綻させることを見出した。これらの化合物は細胞時計の周期に大きく影響を及ぼすが、その作用は温度によって正反対にスイッチするという驚きの結果を得た。すなわち、TC 化合物は 37°C ではリズムを短周期化するのに対し、32°C では長周期化する。本研究では、これらの化合物の標的となるシグナルを細胞および個体レベルで詳細に解析する。

3. 研究の方法

TC-1 と TC-2 の標的因子は、共通のシグナル伝達経路上で機能することが想定される。そこで、細胞レベルでそれら因子のシグナル伝達上の位置関係を確認する。また、当該シグナルの検出系はいくつかの方法が報告されているため、それら実験技法を習得・確立する。その後、TC 化合物の標的因子や当該シグナリングが、温度変化に対してどういう挙動をするかを把握し、いかにして分子時計の温度補償性を担うのかを解明する。

TC 化合物標的を制御する遺伝子は 7 つ存在し、そのノックアウトマウスは既に他分野の研究者により作出されている。当該マウスを用いて、明暗サイクルあるいは恒暗下での輪回し行動リズムや深部体温リズムを測定することにより、各遺伝子の個体レベルでの役割を解析する。

4. 研究成果

TC シグナルをイメージングによって定量解析する実験系を立ち上げた。その結果、TC-2 の標的タンパクは TC-1 標的タンパクの上流で機能することを見出した。さらに、TC シグナルの強度は概日リズムを示すことを見出した。この時、温度を低下させると TC シグナル強度は全体的に上昇することが分かった。そしてこの TC シグナルの活性化は、時計遺伝子による転写ループの振動周期を加速させることを見出した。すなわち、低温で活性化する化学反応が、温度補償性を担うと結論づけた。また、TC-1、TC-2 という化合物を高濃度で投与すると、概日リズムの振幅が大きく減衰することが分かった。すなわち、TC シグナルは温度補償だけでなく、時計の自律振動にも重要であることが分かった。

TC1/2 化合物の標的因子は 7 つの遺伝子によって制御されているが、これらのうち 5 系統の遺伝子改変マウスを入手し、繁殖を行なった。輪回し行動リズムを指標に個体レベルでの概日時計機能の解析を行なったところ、解析した全ての変異マウスにおいて行動リズムの周期変化あるいはリズムパターン変化など、異常が観察された。そして最もシビアな表現型としては、行動リズムの消失が観察された。本結果から、TC シグナルは細胞から個体レベルにおいて、哺乳類の概日時計の振動メカニズムに重要な役割を果たしていることが分かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0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 金 尚宏、深田 吉孝	4. 巻 24
2. 論文標題 生物時計と体のリズム	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 学術の動向	6. 最初と最後の頁 8-19
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 金 尚宏	4. 巻 26
2. 論文標題 創造性を探して 学術と創薬、ビジネスの交点	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 時間生物学	6. 最初と最後の頁 未定
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8件（うち招待講演 4件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 金 尚宏、王 幸慈、De Groot Marleen, Rusak Benjamin, Takahashi Joseph, 深田 吉孝
2. 発表標題 概日リズム性睡眠障害のメカニズム -California mouse Free runner変異体の解析から-
3. 学会等名 第25回日本時間生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naohiro Kon, Wang Hsin-tzu, Marleen de Groot, Benjamin Rusak, Joseph Takahashi, Yoshitaka Fukada
2. 発表標題 Mechanism of circadian rhythm sleep disorder -Insight from Free runner mutant in California mouse-
3. 学会等名 International Symposium on Biological Rhythms (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金 尚宏、王 幸慈、吉川 朋子、本間 さと、山肩 葉子、吉種 光、清水 貴美子、杉山 康憲、原 千尋、亀下 勇、本間 研一、深田 吉孝
2. 発表標題 概日時計の分子発振におけるCa ²⁺ -CaMKIIシグナリングの役割
3. 学会等名 第13回トランスポーター研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金 尚宏
2. 発表標題 生物時計のサイエンス：時計遺伝子の働きから睡眠障害の理解まで
3. 学会等名 第66回 脳・医工学研究センター セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金 尚宏
2. 発表標題 製薬会社の仕事紹介
3. 学会等名 電気通信大学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金 尚宏
2. 発表標題 哺乳類の分子時計の環境応答
3. 学会等名 第26回日本時間生物学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金 尚宏
2. 発表標題 概日分子ハンティングと振動原理の追求
3. 学会等名 第26回日本時間生物学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金 尚宏、王 幸慈、De Groot Marleen, Rusak Benjamin, Takahashi Joseph, 深田 吉孝
2. 発表標題 環境サイクルと内在リズム -California mouse Free runner変異体の解析-
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会
4. 発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----