

## 自己評価報告書

平成 23 年 4 月 1 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20310119

研究課題名（和文）メタボローム法を基盤とした概日計中枢由来細胞の位相シフトと細胞間同調機構の解析

研究課題名（英文）Metabolomic Analysis of Phase Shift and Intercellular Entrainment in Central Circadian Pacemaker cells.

研究代表者

程 肇（TEI HAJIME）

金沢大学・自然システム学系・教授

研究者番号：00242115

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム科学・ゲノム生物学

キーワード：概日リズム、視交叉上核、時計遺伝子、メタボローム、データベース、CE-MS

## 1. 研究計画の概要

哺乳類の概日リズムは、行動・睡眠等の脳神経システムの理解、体内時計の機能異常が原因となる種々の精神疾患の発症機構の解明やその診断・治療、さらには生命システムの巧妙な機能原理の工学的応用等様々な観点から見て、重要な研究課題である。哺乳類の時計遺伝子 *Period1 (Per1)* の転写翻訳産物量は、概日時計中枢である SCN、及び幾つかの末梢組織で日周変動を示す。そこで、*Per1* プロモータ領域と *luciferase (luc)* リポータの融合遺伝子を構築し *Per1::luc* 導入動物を作製し、その培養 SCN 細胞及び末梢組織由来細胞のルシフェラーゼ発現の概日リズムを観察した。さらに、この動物から極めて安定な *luc* 発現の日周リズムを維持し、試薬刺激により位相の前進や後退が可能な SCN 由来細胞株 を樹立した。本研究では、この細胞を用いて、解糖系、TCA 回路、ペントースリン酸回路、アミノ酸代謝経路などに 1600 種類以上存在する有機酸、リン酸化合物、アミノ酸のメタボローム網羅的分析を実施する。先行研究をふまえた上で、次の段階として 概日リズム位相シフト及び細胞間同調機構 に着目する。すなわち位相シフトに必要な分子、そして細胞間同調機構を司る分子を明らかにするために、メタボローム、プロテオーム、トランスクリプトーム解析を組み合わせた包括的データベースを構築する。得られた成果は、各種リズム障害疾患などの診断や対症薬の開発、そして、概日時計発振システムの分子的理解に大きく貢献すると考えられる。

## 2. 研究の進捗状況

概日リズムの形成には、多様な分子の複雑な相互作用によるネットワークが機能していると考えられる。このネットワークの基本構造を理解するには、概日時計細胞内や細胞外の各種代謝物質の濃度を経時的かつ網羅的に定量した統合データベースの構築と、さらには最先端の情報科学分野の解析技術に基づく モデル化 が必要である。このためには、中枢と末梢組織のリズム位相を 細胞レベル で特定する方法、及び代謝産物の効率的な網羅的解析法の開発が必要である。本研究では、*Peri::luc* 導入 SCN 由来細胞及び末梢性細胞について最新の方法によるメタボローム解析を行い、それぞれの細胞内で概日振動を示す低分子を探索しデータベース化する。さらに、SCN 由来細胞同士のリズム同調分子、並びに SCN 由来細胞が末梢性細胞の概日リズムの同調をおこなう際に作用する分子の検索を進める。すでに、約 800 種の代謝物質のメタボローム解析を実施し、位相同調時に細胞のエネルギー状態とアミノ酸生合成系ならびに脂質代謝系代謝物質がそれぞれ時刻特異的に大きな変化を示すことがわかった。さらに最近、概日リズム振動形成に薬物代謝系酵素群が重要な機能を果たしていることを明らかにした。そこで、現在はこの薬物代謝系酵素群の概日リズム形成機構における機能について分子・細胞・個体レベルで解析を展開して進めている。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

*Peri::luc* 導入 SCN 由来細胞を用いたメタボロームの基本的解析はすでに終了している。これらの結果についてのデータベース化を現在途上の段階である。また、この解析のモデルケースとして、得られた結果から薬物代謝酵素群を抽出した。この解析を進めるために、すでに個体及び細胞レベルでは遺伝子破壊体を用いて概日リズム周期決定に機能を有することを見出した。現在分子レベルでの機能の同定が進行中である。これらの結果を総合的に判定すると、現在までの達成度は75%と評価している。

### 4. 今後の研究の推進方策

すでに終了した網羅的なメタボローム解析についてまとめて論文化するとともにデータベースを公開を目指す。それと平行して、この解析により得られた結果に基づいて現在抽出している薬物代謝系酵素群が、概日リズム形成機構で果たす機能について、細胞・分子・個体レベルで統合的に解析を推進する。そして最終年度内での発表を目指す。

### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

①Ogawa Y, Koike N, Kurosawa G, Soga T, Tomita M, Tei H. Positive Autoregulation Delays the Expression Phase of Mammalian Clock Gene *Per2*. (2011) PLoS One. 6, e18663.

②Akiyama, S., Ohta, H., Watanabe, S., Moriya, T., Hariu, A., Nakahata, N., Chisaka, H., Matsuda, T., Kimura, Y., Tsuchiya, S., Tei, H., Okamura, K., Yaegashi, N. The uterus sustains stable biological clock during pregnancy. (2010) Tohoku J. Exp. Med. 221, 287-298.

③Morioka, R., Arita, M., Sakamoto, K., Kawaguchi, S., Tei, H., Horimoto, K. Period-phase map: two-dimensional selection of circadian rhythm-related genes.

(2009) IET Syst Biol. 3, 487-495.

④Watanabe, T., Suzuki, T., Ishikawa, A., Yokota, Y., Ueda, H.R., Yamada, R.G., Tei, H., Imai, S., Tomida, S., Kobayashi, J., Naito, E., Yasuo, S., Nakao, N., Namikawa, T., Yoshimura, T., Ebihara, S. Genetic and Molecular Analysis of Wild-Derived Arrhythmic Mice. (2009) PLoS ONE. 4, e4301.

⑤Yamazaki, S., Yoshikawa, T., Biscoe, E.W., Numano, R., Gallaspy, L.M., Soulsby, S., Papadimas, E., Pezuk, P., Doyle, S.E., Tei, H., Sakaki, Y., Block, G.D., Menaker, M. Ontogeny of circadian organization in the rat. (2009) J Biol Rhythms. 24, 55-63.

⑥Ohta, H., Xu, S., Moriya, T., Iigo, M., Watanabe, T., Nakahata, N., Chisaka, H., Hanita, T., Matsuda, T., Ohura, T., Kimura, Y., Yaegashi, N., Tsuchiya, S., Tei, H., Okamura, K. Maternal feeding controls fetal biological clock. (2008) PLoS ONE. 3, e2601.

⑦Hiler, DJ., Bhattacharjee, A., Yamazaki, S., Tei, H., Geusz, ME. Circadian mPerl gene expression in mesencephalic trigeminal nucleus cultures. (2008) Brain Res. 1214, 84-93.

⑧Naito, E., Watanabe, T., Tei, H., Yoshimura, T., Ebihara, S. Reorganization of the suprachiasmatic nucleus coding for day length. (2008) J. Biol. Rhythms. 23, 140-149.