

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 4月17日現在

機関番号：13501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659499

研究課題名（和文） 体内時計による神経—内分泌—免疫系の制御

研究課題名（英文） The circadian clocks condition neuronal/endocrine/immune axis

研究代表者

中尾 篤人 (NAKAO ATSUHITO)

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・教授

研究者番号：80317445

研究成果の概要（和文）：研究代表者らは、本研究で“中枢時計”である脳の視交叉上核を機械的操作によって破壊したマウス及びマスト細胞特異的に体内時計が障害されたマウスでは、皮膚ならびに全身性の IgE 依存性の脱顆粒反応の日内変動が消失することを見出した。これらの結果は、神経系（視交叉上核）、免疫系（マスト細胞）のそれぞれにおける「体内時計」機能が正常にはたらくことによってマスト細胞の脱顆粒反応の時間依存的な制御が適切に行われることを意味し、体内時計が神経／内分泌／免疫系の相互作用の基盤にあることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：This study showed that the time of day-dependent variation in the skin allergic reaction observed in the sham-operated mice was absent in the mice with the physical ablation of the SCN. In addition, the time of day-dependent variation in the skin allergic reaction was absent in the mice with specific deletion of the Clock gene in mast cells. These results suggest the circadian clocks drive the daily rhythms in the skin allergic reaction by mediating temporal regulation of the nervous/endocrine/immune systems.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー内科学

キーワード：体内時計、神経、内分泌、免疫

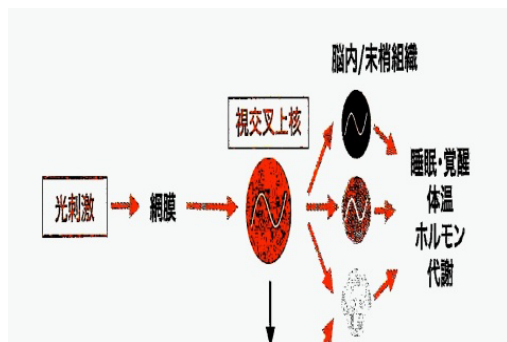
1. 研究開始当初の背景

地球に生まれた生物は、地球の自転による昼夜の規則正しい明暗変動の中で進化してきた。そのため、24時間の時間形成システム（体内時計）がほとんどの生物に基本的に組み込まれている。生物の細胞中では、“時計

遺伝子”と呼ばれる遺伝子群が転写・翻訳レベルでのフィードバックループを形成することで約24時間周期の自律的振動状態を形成し、この振動が数百の遺伝子発現へと伝達され、睡眠や体温、血圧などの生理現象の概日リズムを生み出している。

ヒトを含むほ乳類では、このような体内の細胞に存在する無数の時計（末梢時計）を、脳の中の視交叉上核(SCN)という神経細胞の集まりが統合している（主時計）。主時計は、朝の光で位相（時計の針の位置）を毎朝修正し、概日リズムを1日24時間の日周リズムに変えその時間情報を自律神経やホルモンを介して末梢細胞や組織に伝えている（図1参照）。つまりほ乳類では、体内時計は体全体の中で我々の社会における電波時計のようにシステムとして機能している(Annu Rev Physiol 72:517, 2010)。

図1 ほ乳類における体内時計システムについての概略



脳の視床下部に位置する視交叉上核(SCN)という神経細胞の集まり（主時計）は、網膜からの光情報を受容し、その情報から自身の時計の位相（時計の針の位置）を毎朝修正することができる。SCNは、その時間情報を自律神経やホルモンを介して末梢細胞や組織に伝えて、体内の時計システムを全体的に統合している。

例えば「時差ぼけ」は、SCNの時間と末梢細胞の時間が同調しないため体全体の機能が上手く統合されず起こる、と考えられている。

これまでの研究で研究代表者は、アレルギー反応の中心的な病態であるマスト細胞の脱顆粒反応の強さには日内変動があり、それは「体内時計」によって制御されていること、また副腎由来のホルモンがその日内変動の維持に重要であることを我々はこれまでの研究から見出した(JACI 2011)。それらの知見から、研究代表者は、「体内時計」が神経-内分泌-免疫系の相互作用を仲介する重要な因子であり、それによってマスト細胞の脱顆粒反応が時間依存的に適切に調節されているという仮説を立てた。

2. 研究の目的

「体内時計」が神経-内分泌-免疫系の相互作用を仲介する重要な因子であり、それによってマスト細胞の脱顆粒反応が時間依存的に適切に調節されているという仮説について検証する。

3. 研究の方法

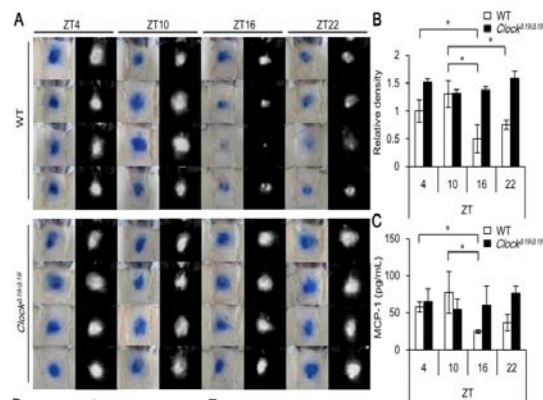
(1) 中枢時計である脳の視交叉上核を機械的操作によって破壊したマウス、

(2) マスト細胞特異的に体内時計が障害されたマウス（時計遺伝子 Clock 変異マウス骨髄細胞を IL-3/SCF の存在下で培養し骨髄由来培養マスト細胞を得たあと、マスト細胞欠損マウスに移入し Clock 欠損マスト細胞をもつマウス）において皮膚(PCA 反応) ならびに全身性の IgE 依存性のマスト細胞脱顆粒反応の日内変動の有無について検討した。またマスト細胞の脱顆粒反応が正しく行われていることの別の指標として血中の MCP-1(monocyte chemotactic protein-1)濃度についても測定した。

4. 研究成果

上記(1)(2)のマウスにおいて皮膚(PCA 反応、図2参照)ならびに全身性の IgE 依存性の脱顆粒反応の日内変動が消失することをそれぞれ見出した。さらに血中の MCP-1 濃度の日内変動もそれらのマウスにおいては消失していることを確認した。

図2 マスト細胞の時計が働かないマウスでは PCA 反応の日内変動が消失する。



A. コントロールマウス（上段）では夜 22 時に PCA を行うと日中に比べて反応が著明に低下している。マスト細胞選択的に Clock 遺伝子を変異させたマウス（下段）では夜 22 時でも PCA 反応が顕著に認められる。

（背景が黒色の写真は定量用に反応を強調したもの。B は定量解析、C は PCA 惹起時の血中 MCP-1 値の変動）（マウスはマスト細胞欠損 W/W^v マウスに野生型及び Clock 変異マウス骨髓由来の培養マスト細胞を移入して作成した。）

これらの結果から、皮膚ならびに全身性の IgE 依存性の脱顆粒反応の日内変動が正しく形成されるためには、神経系（視交叉上核）、免疫系（マスト細胞）のそれぞれにおける「体内時計」機能が正常にはたらくことが必要であることが明らかになった。

本結果は、これまでの成果と合わせて神経-内分泌-免疫系が相互作用し、時間依存的な出力を適切に出す（この場合は、アレルギー反応の日内変動）ためには、それぞれの系における体内時計が正しく同調していることが必要であることが示唆された（論文投稿中）。

本知見は、神経-内分泌-免疫系の相互作用における基盤として「体内時計」が重要であることを示した世界で最初のものである。

5. 主な発表論文等

（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）

1. Aoki R, Kawamura T, Goshima F, Ogawa Y, Nakaw S, Nakao A, Moriishi K, Nishiyama Y, Shimada S: Mast cells play a key role in host defense against herpes simplex virus infection through TNF- α and IL-6 production. *J Invest Dermatol* in press 2013
査読有 DOI: 10.1038/jid.2013.150
2. Cermakian N, Lange T, Golombek D, Sarkar D, Nakao A, Shibata S, Mazzocchi G: Cross-talk between the circadian clock circuitry and the immune system. [Review] *Chronobiol Int* in press 2013 査読有
3. Zhu Y, Ohba T, Ando T, Fujita K, Koyama K, Nakamura Y, Katoh R, Haro H, Nakao A: Endogenous TGF- β activity limits TSLP expression in the intervertebral disc tissue by suppressing NF- κ B activation. *J Orthop Res* in press 2013 査読有

DOI: 10.1002/jor.22337

4. Takita E, Yokota S, Tahara Y, Hirao A, Aoki N, Nakamura Y, Nakao A, Shibata S: Biological clock dysfunction exacerbates contact hypersensitivity in mice. *Brit J Dermatol* 168(1)39-46, 2013 査読有
DOI: 10.1111/j.1365-2133.2012.11176.x
 5. Sugiyama T, Kitamura M, Sugita K, Hisamoto M, Okuda T, Nakao A: Grape seed extract from "Koshu" cultivar antagonizes dioxin-induced aryl hydrocarbon receptor activation. *Am J Enol Viticult* in press 2012 査読有
DOI: 10.5344/ajev.2012.11131
 6. Okada Y, Oh-oka K, Nakamura Y, Ishimaru K, Matsuoka S, Okumura K, Ogawa H, Hisamoto M, Okuda T, Nakao A: Dietary resveratrol prevents the development of food allergy in mice. *PLoS One* 7(9)e44338, 2012 査読有
DOI: 10.1371/journal.pone.0044338
 7. Kawamura T, Ogawa Y, Nakamura Y, Nakamizo S, Ohta T, Nakano H, Kabashima K, Katayama I, Koizumi S, Kodama T, Nakao A, Shimada S: Severe dermatitis with loss of epidermal langerhans cells in human and mouse zinc deficiency. *J Clin Invest* 122(2)722-732, 2012 査読有
DOI: 10.1172/JCI58618
 8. Ouyang Y, Nakao A, Han D, Zhang L: Transforming growth factor- β (1) promotes nasal mucosal mast cell chemotaxis in murine experimental allergic rhinitis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 74(3)117-123, 2012 査読有
DOI: 10.1159/000328587
- [学会発表]（計 4 件）
1. 中尾篤人：[教育講演] TSLP とアレルギー。第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2012 年 11 月 30 日 大阪国際会議場(大阪市)
 2. 中村勇規, 中尾篤人, 柴田重信：マスト細胞の内在時計による即時型皮膚反応の日内変動の調節。第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2012 年 11 月 29 日 大阪国際会議場(大阪市)
 3. 中村勇規, 中尾篤人, 柴田重信：マスト細胞の

内在時計による即時型皮膚反応の日内変動の調節. 第14回応用薬理シンポジウム
2012年9月3日 ベルクラシック甲府(甲府市)

4. 中尾篤人 : [特別講演]アレルギーと体内時計. 第14回応用薬理シンポジウム
2012年9月3日 ベルクラシック甲府(甲府市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中尾 篤人 (NAKAO ATSUHITO)

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・教授

研究者番号 : 80317445

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし