

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：学術変革領域研究(B)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H05783

研究課題名（和文）翻訳速度制御を介した睡眠・代謝・体内時計のパラメトリック制御

研究課題名（英文）Parametric control of sleep, metabolism, and body clock via translation rate control

研究代表者

土居 雅夫 (Doi, Masao)

京都大学・薬学研究科・教授

研究者番号：20432578

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 30,600,000円

研究成果の概要（和文）：昼夜でおおきく変化する環境下において恒常的に健康を維持するためには全身の37兆個もの細胞がそれぞれバラバラではなくテンポを揃えてリズムを刻む必要がある。これまでに、体内でおこる数レベルの基礎体温の変化が全身のリズムの調和に寄与すると示されてきたが分子機構が不明であった。このような中、我々は、時計遺伝子Per2の5'UTRに最小単位uORFという新しいRNAエレメントを同定し、これが体温に応じた細胞のリズム位相合わせに必須であることを示した（Cell Rep 2023）。uORFを介したPer2の翻訳制御は効率的な傷の治癒に寄与するため医学的にも重要と考えられる（科学新聞2023/3/17）。

研究成果の学術的意義や社会的意義

全身の体内リズムの不調和は、多くの病気の原因になることが知られている。したがって、今回の生理的体温変動への体内時計の調和を仲介するRNAエレメントの発見は、全身の細胞リズムの調和に基づいた新しい治療薬の開発の土台につながる可能性がある。また今回の発見は、翻訳のスピード調節をつかさどるRNA配列uORFの生体における役割を動物個体レベルで明らかにした初めての例であり、その学術的および社会的重要性からJSTの海外向け科学ニュースサイト「Science Japan」においても本研究の成果が紹介された（<https://sj.jst.go.jp/news/202304/>）。

研究成果の概要（英文）：In order to maintain health in an environment that changes dramatically from day to night, the 37 trillion cells in the body need to synchronize their rhythmic tempo, rather than being separated from each other. It has been shown that changes in basal body temperature at the level of a few degrees Celsius contribute to the harmonization of rhythms throughout the body, but the molecular mechanism has not been clarified. In this context, we have identified a new RNA element called uORF in the 5'UTR of the clock gene Per2 and showed that it is essential for cellular clock temperature entrainment (Cell Rep 2023). The uORF-mediated translational control of Per2 was important for efficient skin wound healing and therefore can be considered to be medically important (The Science News 3/17/2023).

研究分野：時間生物学

キーワード：体内時計 翻訳 uORF 体温

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

我々ヒトを含め哺乳動物は恒温動物であるため、体温は一定であると考えられがちであるが、寸分違わず常に固定の値を示すわけではない。哺乳類の体温は 1-3°C という微小な幅で変動するサーカディアンリズムを示すと知られており、活動期に高く、休眠期に低くなることが知られている<sup>1</sup>。このサーカディアンリズムの形成は、脳視床下部にある視交叉上核 (SCN) が行っており、SCN はこの体温の概日リズムやホルモン・神経活動の概日リズムを利用して、全身 37 兆個の細胞ひとつひとつが有する細胞時計の時刻を調律すると考えられている<sup>2</sup>。これまで、概日体温変動レベルの微細な温度変化は、ヒートショックタンパク質<sup>3</sup>や低温誘導性 RNA 結合タンパク質<sup>4</sup>を介して生物時計の位相を調節するとされてきたが、これら因子の機能を薬理的・遺伝学的阻害しても温度による生物時計調律を阻害することができないため、未だ解明されていない謎の分子機序が存在するのではないかと考えられていた。

## 2. 研究の目的

本研究においては、哺乳類の体内時計遺伝子の中でも最も重要な振動子である *Per2* に着目し、*Per2* の発現が微細な温度変化にどのように応答するのか、その分子メカニズムの解析を通じて細胞時計の温度同調機構の謎に迫ることを目的とした。

## 3. 研究の方法

**動物**：*Per2* m-uORF 欠損変異マウス (C57BL/6J 系統) は CRISPR/Cas9 を用いた遺伝子編集により作出し、サンガー法による DNA シーケンス解析により変異導入を確認した。本研究におけるすべての動物使用に関しては、京都大学動物実験委員会の審査・承認を受け実施した。

**細胞**：*Per2::LucTS* knock-in 細胞は、CRISPR/Cas9 を用いた遺伝子編集により、*Per2* CDS の終止コドンの直前にルシフェラーゼ遺伝子 CDS を挿入することで作出し、サンガー法による DNA シーケンス解析により当該遺伝子の挿入を確認した。*Per2* 5' UTR-ルシフェラーゼ融合遺伝子を用いたルシフェラーゼレポーターアッセイにおいては、NIH3T3 Tet-ON 3G 細胞 (タカラバイオ) を用いた。

**In vitro 温度制御**：ウェスタンブロット・qRT-PCR においては、35°C および 38.5°C にあらかじめ設定した培養インキュベーターを用意し、定めた時刻に細胞培養皿を迅速に移動させることによって実施した。ルシフェラーゼレポーターアッセイにおいては、ペルチェ素子内蔵の改変発光測定装置 (最小温度変化幅：0.1°C) を用いて実施した。温度のルシフェラーゼに対する直接的な作用が測定結果に与える影響を排除するために、本研究においてはルシフェラーゼ温度耐性変異体 *LucTS*<sup>5</sup> を用いた。

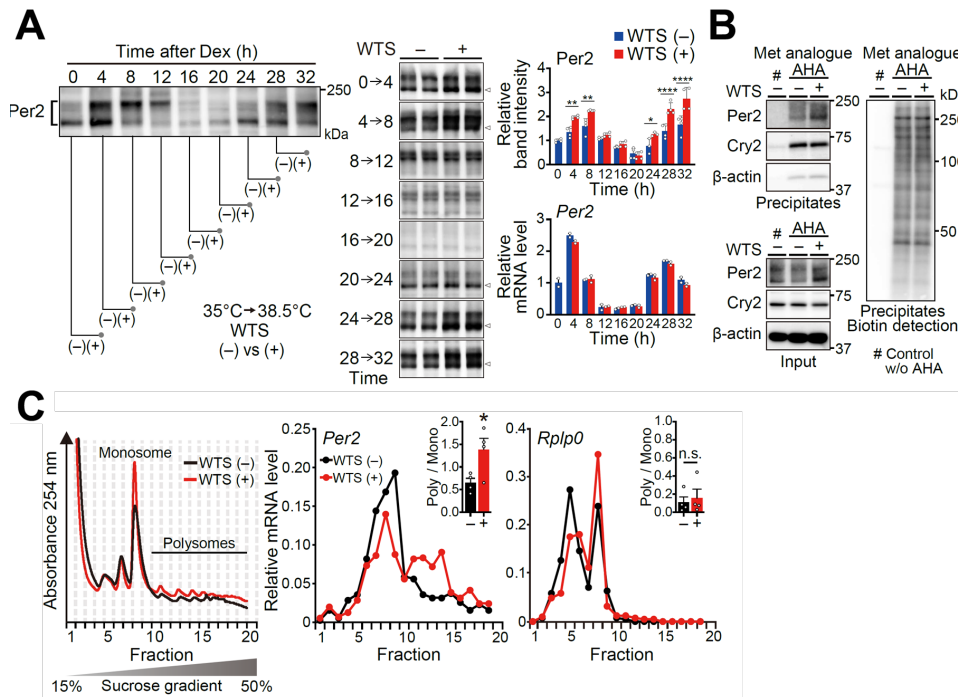
**ウェスタンブロットティング**：*Per2* タンパク質の検出には我々の研究室において以前に作製した抗 *Per2* 抗体<sup>6</sup>を用いた。抗 *Cry2* 抗体 (MBL, PM082)、抗  $\alpha$ -Tubulin 抗体 (Sigma, T6199)、抗  $\beta$ -actin 抗体 (Sigma, A5441) は市販の製品を用いた。アジドホモアラニン AHA を取り込んだ新規合成タンパク質へのビオチン標識は、biotin-PEG4-alkyne (Sigma) および Click-iT Protein Reaction Buffer Kit (Thermo Fisher) を用いて製品プロトコルに従って実施した。

**qRT-PCR**：qRT-PCR の定量においては、*Rplp0* の発現量を内在性コントロールとして用いた。Polysome profiling において用いた 15-50% の連続スクロース密度勾配は、BioComp Gradient Master (Biocomp Instruments) を用いて作製した。

**次世代シーケンサー解析**：次世代シーケンサー解析は HiSeq X・HiSeq 4000 を用いて実施し、各リードを STAR (v 2.7.0) によりマウスゲノム (GRCm38/mm10) にマッピングした後、samtools (v 1.10) でソーティング・インデックス作製を行った。

#### 4. 研究成果

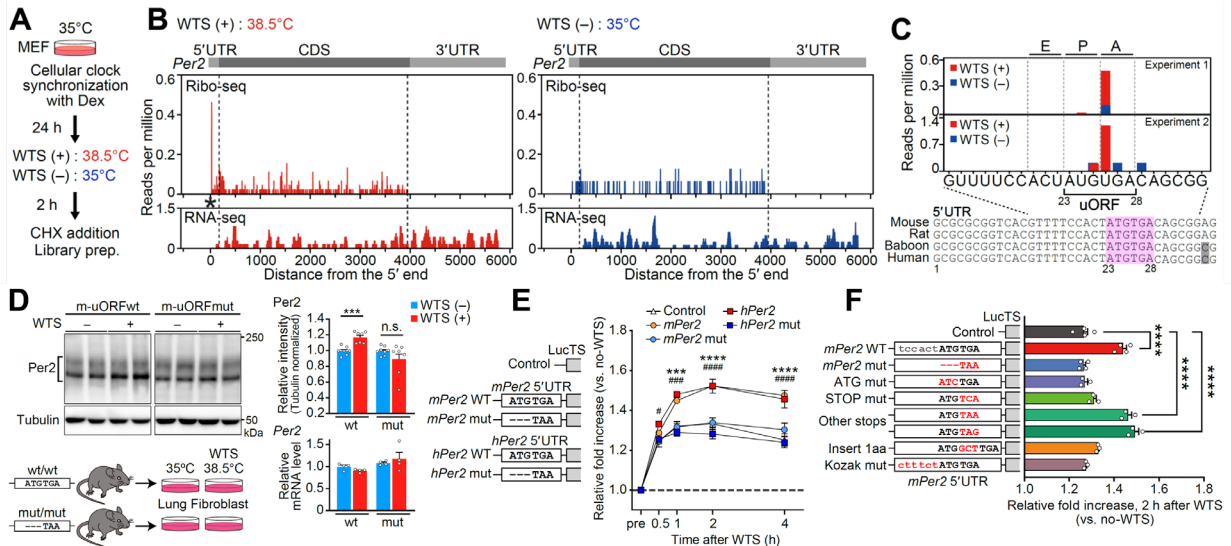
細胞時計の位相を同調させたマウス胚線維芽細胞を4時間毎にサンプリングし、ウェスタンブロット法を用いて *Per2* を可視化すると、*Per2* タンパク質のサーカディアン発現振動が観察された (図 1A)。この細胞に対して各時刻に生理的微小温度変化 (WTS, 35°C to 38.5°C) を与えると、*Per2* タンパク質が増加するタイミング (Time 0, 4, 20, 24, 28) に WTS を与えたサンプルでは、*Per2* タンパク質が有意に増大することがわかった (図 1A)。興味深いことに、同一条件下において *Per2* mRNA 発現量は変化しておらず、(図 1A)、アジドホモアラニン-Click chemistry を用いた新規合成タンパク質発現解析や polysome profiling 法では *Per2* 新規合成量の温度依存的な変化が見られたことから (図 1B,C)、生理的な微小温度変化は、*Per2* の転写ではなく翻訳量を調節することが明らかになった。



**図 1 体内時計振動コア遺伝子 *Per2* の新規タンパク質合成は微小温度変化に伴い増大する**  
 (A) デキサメタゾン処置により細胞時計を同期させたマウス胚線維芽細胞 (MEF) におけるサーカディアン *Per2* タンパク質発現プロファイル (左プロット) と各時刻に微小温度変化 (35°C→38.5°C, WTS) を与えた後の *Per2* タンパク質発現変化プロファイル (中央プロット)、および各時点における *Per2* タンパク質・*Per2* mRNA 発現量 (右棒グラフ)。中央プロットにおける白矢頭は WTS による下バンド (新規合成 *Per2* タンパク質) の増大を示す。(B) Click chemistry を用いた新規合成タンパク質発現プロファイル。細胞は Met/Cys 不含培地で維持したのち、WTS およびメチオニン類縁体であるアジドホモアラニン (AHA) を 2 時間処置した。AHA で標識されたタンパク質に対して click chemistry によりビオチンを付加し、アビジンビーズにより精製したのち、各抗原に対してイムノブロットを行った。(C) Polysome profiling による mRNA 結合リボソーム数の評価。左のトレースは各スクロースフラクションにおける吸光度、中央・右のトレースは各フラクションにおける *Per2*・*Rplp0* の mRNA 量を示し、インセットは単一のリボソームが結合した mRNA 量 (monosome) に対する複数のリボソームが結合した mRNA 量 (polysome) の比を示す。\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$ , n.s.;  $P \geq 0.05$ 。

*Per2* の翻訳制御機構を確かめるため、mRNA 上でのリボソームの位置を可視化するリボソームプロファイリングを行い、WTS によるリボソーム動態変化を調べたところ、*Per2* mRNA の 5' 非翻訳領域 (5' UTR) に WTS に伴うリボソーム集積を観察し (図 2A,B)、この集積は *Per2* 5' UTR の最小単位上流翻訳領域 (m-uORF) にあることがわ

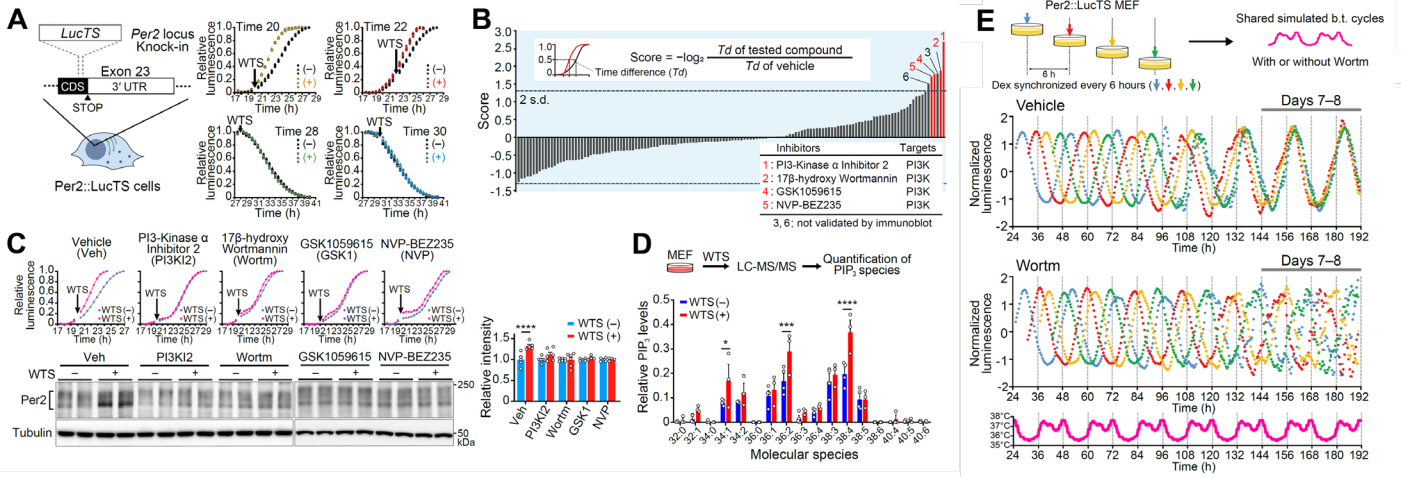
かった (図 2C)。最小単位 uORF とは図中に示すように、開始コドンと終止コドンから構成されるたった 6 塩基の配列である。この *Per2* m-uORF の機能を調べるため、遺伝学的に *Per2* m-uORF を欠損させたマウスを新規に作成し、そのマウスより線維芽細胞を作製して免疫プロットを行ったところ、欠損マウス由来の細胞では WTS に伴う *Per2* タンパク質増加が観察されなかった (図 2D)。ヒト・マウスの *Per2* 5' UTR を用いた翻訳レポーターアッセイにおいても、m-uORF 依存的なレポーター温度応答が観察され (図 2E)、m-uORF を非最小単位 uORF に変異するだけで この応答は消失したことから (図 2F)、*Per2* m-uORF は *Per2* 翻訳温度応答の制御エレメントであるとわかった。



**図 2 *Per2* mRNA 5' UTR における最小翻訳領域 (minimal upstream open reading frame, m-uORF) が微小温度変化に伴う *Per2* 新規タンパク質合成の制御エレメントとして機能する**

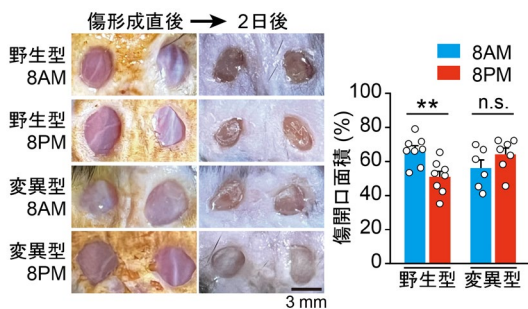
(A) リボソームプロファイリング実験模式図。デキサメタゾン処置により細胞時計を同期させた MEF に微小温度変化 (WTS、35°C→38.5°C) を 2 時間与えたのち、サンプルを回収した。(B) *Per2* mRNA 上におけるリボソームフットプリントの分布図。リボソームフットプリントの位置はリボソームの A-site の位置を基準とした。図中 \* は *Per2* 5' UTR における m-uORF の位置を示す。(C) *Per2* m-uORF 上のリボソーム集積数および *Per2* m-uORF 配列の種間保存性。図中の E・P・A はそれぞれ、uORF をリボソームが翻訳したと仮定した場合の E・P・A-site の位置を示し、図中の数字はマウス *Per2* mRNA における 5' 末端からの距離 (ヌクレオチド) を示す。(D) 野生型および *Per2*-m-uORF 欠損変異型マウスより単離培養した肺線維芽細胞における *Per2* 発現の WTS 応答性。右棒グラフはそれぞれ *Per2* タンパク質 (上段) および *Per2* mRNA (下段) の発現量を示す。\*\*\* $P < 0.001$ , n.s.;  $P \geq 0.05$ 。(E) ルシフェラーゼレポーターアッセイ系における WTS 付加後のレポーター発光強度時系列変化。マウスまたはヒトの *Per2* 5' UTR (およびその m-uORF 欠損体) を温度安定型ルシフェラーゼ (LucTS) 遺伝子の 5' 側に融合した遺伝子を TRE3G プロモーター下流にクローニングし、NIH3T3 Tet-ON 3G 細胞にトランスフェクションした。細胞にドキシサイクリンを処置し、その 3 時間後に WTS を付加した。\*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$  (control vs mPer2 WT)、# $P < 0.05$ , ### $P < 0.001$ , #### $P < 0.0001$  (control vs hPer2 WT)。(F) ルシフェラーゼレポーターアッセイ系における WTS 付加 2 時間後のレポーター発光強度変化。マウス *Per2* 5' UTR およびその m-uORF 変異体を作製し、E と同様に実験を行った。\*\*\*\* $P < 0.0001$ 。

*Per2* m-uORF を介した翻訳制御の上流制御因子を確かめるため、LucTS<sup>5</sup> を用いて *Per2* レポーター細胞を作製し、約 150 種類のキナーゼ阻害薬をスクリーニングしたところ、複数の PI3K 阻害薬が *Per2* 発現温度応答を抑制することがわかった (図 3A-C)。PI3K 由来のリン脂質が WTS に伴い増加したため、PI3K は WTS に応答して活性化したと考えられる (図 3D)。重要なことにこの考えに一致して、PI3K 阻害薬存在下では細胞時計は環境の微小温度サイクルに全く同調することができなかつた (図 3E)。つまり、PI3K-*Per2*m-uORF カスケードは生物時計温度応答に必須であることがわかった。



**図 3 PI3K が微小温度に応答して活性化し、Per2 翻訳温度応答・細胞時計温度エンタインメントを制御する**  
 (A) Per2::LucTS knock-in 細胞の時刻依存的 WTS レポーター応答。細胞をデキサメタゾン処置により同調させたのち、Per2 の増加期間 (Time 20, 22) または減少期間 (Time 28, 30) に WTS を与えた。各トレースは代表的 3 回の結果。(B) Per2::LucTS を指標としたキナーゼ阻害薬スクリーニング: 各化合物存在下におけるレポーター発光量の温度依存的変化を解析し、2 s.d. を閾値とし評価した。6 種の化合物が温度応答を抑制し、うち 4 種 (赤色) が PI3K 阻害薬だった。(C) B でヒットした 4 化合物に対する、Per2::LucTS レポーター温度応答 (上段) および Per2 タンパク質発現応答 (下段)。右棒グラフはイムノプロットの定量結果。\*\*\*\* $P < 0.0001$  (D) MS 解析による細胞内 PIP3 プロファイリング。各値は WTS(-) 群における細胞内 PIP3 全種の総計量によってノーマライズした。\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$  (E) Per2::LucTS 細胞を用いた体内時計の外部温度サイクルへの同調評価。細胞を 4 群に分け、デキサメタゾンを用いて 6 時間ごとにリセットしたのち、マウスの生理的概日体温変動を模倣した温度変化を与えた。17 $\beta$ -ヒドロキシワートマニン (Wortm) は測定直前に処置した。

では温度サイクルにうまく位相合わせができなくなると、どのようなことが生物の機能上、問題になるのだろうか。マウス体表面温度は規則正しい概日リズムを示すことから (Shimatani et al., PLoS One 16, e0252447, 2021) 皮膚機能の恒常性維持には体温リズムと体内時計が関与するではないかという発想のもと、我々は、マウスの活動期と休息期における皮膚の傷の治り具合を評価した。その結果、野生型マウスでは活動期 (8PM) に与えた傷の方が休息期 (8AM) に与えた傷よりも治りが早く、皮膚修復能に概日リズムがあることが示された一方、変異マウスではその皮膚の修復効率に概日リズムを認めることができないことがわかった (図 4)。つまり、今回見いだした Per2 m-uORF パスウェイは生体内でも組織の正常な恒常維持に重要であることが示唆された。



**図 4. 野生型マウスと Per2 m-uORF 変異マウスの背中中の傷の治り**  
 午前 8 時もしくは午後 8 時につけた傷の 48 時間後の修復率を測定した。

以上にまとめた今回の研究成果は、哺乳類において最小単位 uORF の生理的役割を具体的に示した最初の例となった (Miyake et al., Cell Rep 42, 112157, 2023)。創傷治癒を例に今回は解析したが、全身の体内リズムの不調和は多くの病気の原因になることが知られている。今回の生理的体温変動への体内時計の調和を司る RNA エLEMENT の発見は、全身の細胞リズムの調和に基づいた新しい治療薬の開発につながる可能性を秘めており、今後の研究の発展が期待される。

**【引用文献】**

- DOI: 10.1126/science.1195262, 2010
- DOI: 10.1101/sqb.2015.80.027490, 2015
- DOI: 10.1101/gad.453808, 2008
- DOI: 10.1126/science.1217726, 2012
- DOI: 10.1016/s0003-2670(01)01496-9, 2002
- DOI: 10.1080/07420528.2017.1316731, 2018

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計21件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Miyake T, Inoue Y, Shao X, Seta T, Aoki Y, Nguyen Pham KT, Shichino Y, Sasaki J, Sasaki T, Ikawa M, Yamaguchi Y, Okamura H, Iwasaki S, Doi M	4. 巻 42
2. 論文標題 Minimal upstream reading frame of Per2 mediates phase fitness of the circadian clock to day/night physiological body temperature rhythm	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Rep.	6. 最初と最後の頁 112157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2023.112157	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 Hamada Y, Sasaki L, Uehara H, Suzuki T, Kinoshita S, Otsuka K, Kihara A, Yamaguchi Y, Miyake T, Doi M	4. 巻 26
2. 論文標題 Optimising the method for visualising mouse meibomian gland using eyelid whole-mount lipid staining	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ocul. Surf.	6. 最初と最後の頁 268-270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtos.2022.10.002	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 Yamamoto A, Takahashi Y, Inuki S, Nakagawa S, Nakao K, Ohno H, Doi M, Takakura Y	4. 巻 1
2. 論文標題 The identification of novel small extracellular vesicle (sEV) production modulators using luciferase-based sEV quantification method	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Extracell. Biol.	6. 最初と最後の頁 e62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jex2.62	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 R, 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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

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 蕭穂文、土居雅夫	4. 巻 33
2. 論文標題 ニコチンアミドモノヌクレオチドを用いた加齢性ドライアイ治療へNicotinamide mononucleotide for the potential treatment of age-associated dry eye disease	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 MEDCHEM NEWS	6. 最初と最後の頁 16-20
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 上原日佳梨、土居雅夫	4. 巻 61
2. 論文標題 イントラクライン機構の再活性化による加齢性ドライアイ軽減 NAD+とサーカディアンリズムが鍵	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Geriatric Medicine (老年医学)	6. 最初と最後の頁 35-38
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 土居雅夫, 佐々木玲奈, 濱田悠貴, 鎌水大介	4. 巻 40
2. 論文標題 NAD+によるイントラクラインを介した加齢性ドライアイ軽減法	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 2168-2171
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 Sasaki L, Hamada Y, Daisuke Yarimizu D, Suzuki T, Nakamura H, Shimada A, Nguyen Pham KT, 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, Hiroshi 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 Nature 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 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 Shimatani H, Inoue Y, Maekawa Y, Miyake T, Yamaguchi Y, Doi M	4. 巻 16
2. 論文標題 Thermographic imaging of mouse across circadian time reveals body surface temperature elevation associated with non-locomotor body movements	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0252447
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0252447	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 三宅崇仁、土居雅夫	4. 巻 74
2. 論文標題 体温の日内リズム制御における概日時計機構の役割 Roles of the circadian clock mechanism in the regulation of daily rhythms of body temperature	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BRAIN and NERVE	6. 最初と最後の頁 159-166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1416202001	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 濱田悠貴、山口賀章、土居雅夫	4. 巻 59
2. 論文標題 老化と体内時計：加齢による脳内中枢時計の機能低下を中心に	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Geriatric Medicine (老年医学)	6. 最初と最後の頁 683-687
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 土居雅夫	4. 巻 47
2. 論文標題 時間生物学と医療の融合 - 現状と将来 -	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 6-8
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 Matsuo Masahiro, Seo Kazuyuki, Mizuguchi Naoki, Yamazaki Fumiyoshi, Urabe Shoichi, Yamada Naoto, Doi Masao, Tominaga Keiko, Okamura Hitoshi	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 Lin Heng, Huang Yen-Sung, Fustin Jean-Michel, Doi Masao, Chen Huatao, Lai Hui-Huang, Lin Shu-Hui, Lee Yen-Lurk, King Pei-Chih, Hou Hsien-San, Chen Hao-Wen, Young Pei-Yun, Chao Hsu-Wen	4. 巻 12
2. 論文標題 Hyperpolyploidization of hepatocyte initiates preneoplastic lesion formation in the liver	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 645
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-20572-8	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 該当する
1. 著者名 Nakagawa Shumpei, Nguyen Pham Khanh Tien, Shao Xinyan, Doi Masao	4. 巻 21
2. 論文標題 Time-Restricted G-Protein Signaling Pathways via GPR176, Gz, and RGS16 Set the Pace of the Master Circadian Clock in the Suprachiasmatic Nucleus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5055 ~ 5055
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21145055	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 Nguyen Pham Khanh Tien, 土居 雅夫	4. 巻 92
2. 論文標題 時計遺伝子の転写のシス制御エレメントに点変異を入れると体内時計はどうか	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 735 ~ 739
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2020.920735	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 三宅 崇仁, 土居 雅夫	4. 巻 -
2. 論文標題 変温動物の日内体温制御	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 新学術領域研究 温度生物学ハンドブック	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) 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 嶋谷 寛之、土居 雅夫	4. 巻 -
2. 論文標題 体内時計の中枢を調節するG蛋白質共役型受容体	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 膜タンパク質工学ハンドブック エヌ・ティー・エス出版	6. 最初と最後の頁 344 ~ 348
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36件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Masao Doi
2. 発表標題 Circadian steroidogenesis and ageing-associated disease
3. 学会等名 XVII EUROPEAN BIOLOGICAL RHYTHMS SOCIETY CONGRESS (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masao Doi
2. 発表標題 Circadian intracrine activity governs age-associated meibomian gland dysfunction and evaporative dry eye disease
3. 学会等名 Sapporo Symposium on BIOLOGICAL RHYTHM 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shotaro Doi, Yoshiaki Yamaguchi, Masao Doi
2. 発表標題 Nmu/Nms/Gpr176 triple-deficient mice show enhanced light-resetting of circadian locomotor activity
3. 学会等名 Sapporo Symposium on BIOLOGICAL RHYTHM 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Huihua Zhou, Yoshiaki Yamaguchi, Masao Doi
2. 発表標題 Gpr19 is a circadian clock-controlled orphan GPCR with a role in modulating free-running period and light resetting capacity of the circadian clock
3. 学会等名 Sapporo Symposium on BIOLOGICAL RHYTHM 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masao Doi
2. 発表標題 Reactivation of circadian clock-regulated intracrine activity ameliorates meibomian gland dysfunction and its associated dry eye disease
3. 学会等名 第100回日本生理学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 土居雅夫
2. 発表標題 体内時計のパラメトリック制御の理解に向けて
3. 学会等名 2022年度文部科学省学術変革領域研究 学術研究支援基盤形成 先端モデル動物支援プラットフォーム成果発表会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kaho Tanaka, Tianyu Wang and Masao Doi
2. 発表標題 Identification and functional characterization of N-linked glycosylation of the orphan G protein-coupled receptor Gpr176
3. 学会等名 第17回GPCR研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木智、佐々木玲奈、木下茂、土居雅夫
2. 発表標題 イントラクライン機構によるマイボーム腺局所ステロイド合成
3. 学会等名 角膜カンファ2023 (第47回日本角膜学会総会, 第39回日本角膜移植学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 土居雅夫
2. 発表標題 イントラクライン機構の再活化による加齢性ドライアイ軽減 NAD+とサーカディアンリズムが鍵
3. 学会等名 2022年度生理学研究会臓器連関による生体恒常性維持機構と生体活動の統合的理解
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三宅崇仁、井ノ上雄一、土居雅夫
2. 発表標題 微小な温度変化がもたらすmRNA翻訳速度調節と概日時計制御
3. 学会等名 温熱生理学研究会2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 土居雅夫
2. 発表標題 翻訳速度調節機構を基盤としたパラメトリック生物学の創成へ
3. 学会等名 第12回 都医学研シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 三宅崇仁、井ノ上雄一、土居雅夫
2. 発表標題 生理的な微小温度変化がもたらすmRNA翻訳速度調節を介した概日時計制御機構
3. 学会等名 第12回 都医学研シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Masao Doi
2. 発表標題 Circadian clock: disease etiology and drug target exploration
3. 学会等名 The 5th Asian Forum on Chronobiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Xinyan Shao, Takahito Miyake, and Masao Doi
2. 発表標題 Necessity of de novo protein translation for continuous PER2 oscillation
3. 学会等名 The 5th Asian Forum on Chronobiology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masao Doi
2. 発表標題 Time as medicine and disease etiology
3. 学会等名 The CFBT Summer Showcase, Manchester, UK (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 濱田悠貴、佐々木玲奈、鎌水大介、土居雅夫
2. 発表標題 組織局所ステロイド合成による加齢性マイボーム腺機能障害の時間薬物治療法的アプローチ
3. 学会等名 第142回日本薬学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 土居雅夫
2. 発表標題 新奇のイントラクライン機構を介した加齢性眼疾患・ドライアイ症治療法の開発 NAD+要求性ステロイド合成のサーカディアンリズムが鍵
3. 学会等名 第10回 AAA (Academy of Aging and Cardiovascular-Diabetes Research) (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 三宅崇仁、井ノ上雄一、土居雅夫
2. 発表標題 微小な温度変化がもたらすmRNA翻訳速度調節と概日時計制御
3. 学会等名 Biothermology Workshop - 2021's Annual Workshop (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山口賀章、土居雅夫
2. 発表標題 脳内中枢時計の時刻調節に關与する新規オーファン受容体Gpr19
3. 学会等名 生理学研究所研究会 運動器/代謝系連關による生体機能制御とその変容の仕組み
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 土居雅夫
2. 発表標題 生体リズムを基盤とした時間医薬科学の展開
3. 学会等名 日本薬学会東海支部主催特別講演会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三宅崇仁、井ノ上雄一、土居雅夫
2. 発表標題 翻訳速度制御を介した体内時計のパラメトリック制御
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三宅崇仁、井ノ上雄一、土居雅夫
2. 発表標題 生理的体温変化による体内時計のパラメトリック制御
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三宅崇仁、嶋谷寛之、土居雅夫
2. 発表標題 Thermographic imaging of mouse across circadian time reveals body surface temperature elevation associated with non-locomotor body movements
3. 学会等名 第28回日本時間生物学会年会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 グエン ファム カン ティエン、三宅崇仁、土居雅夫
2. 発表標題 A robust and sustained circadian rhythm of Per2::Luc expression in the mouse meibomian gland acinar cells
3. 学会等名 第28回日本時間生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 土居雅夫
2. 発表標題 高血圧症の病理・薬理における時間生物学視点
3. 学会等名 Premium Hypertension Conference (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masao Doi
2. 発表標題 The E'-box of Per2 is essential for daily maintenance of organismal behavior and physiology.
3. 学会等名 SRBR 2020, Society for research on biological rhythms (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masao Doi
2. 発表標題 Research for drug discovery aimed at circadian rhythm regulation by time-restricted gating of G-protein signaling
3. 学会等名 第85回日本循環器学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 土居雅夫
2. 発表標題 時計遺伝子のシス制御エレメントが個体の活動や生理リズムの維持に与える影響の範囲・限界
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Xinyan Shao, Takahito Miyake, and Masao Doi
2. 発表標題 Circadian PER2 protein oscillations do not persist when de novo translation is inhibited in cultured mouse embryonic fibroblasts
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井ノ上 雄一、三宅 崇仁、土居 雅夫
2. 発表標題 体内時計の温度同調機構：生理的な範囲の温度変化が培養マウス繊維芽細胞の分子時計に与える影響について
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土居雅夫
2. 発表標題 加齢性睡眠障害/早朝覚醒の鍵を握る生体リズム機構
3. 学会等名 AMED老化メカニズムの解明・制御プロジェクト「老化研究産学連携シンポジウム」
4. 発表年 2020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タンパク質共役型受容体
3. 学会等名 第27回日本時間生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中川峻平、土居雅夫
2. 発表標題 Role of N-glycosylation of GPR176: A potential link between N-glycosylation and human chronotype
3. 学会等名 第27回日本時間生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 王 甜宇、土居雅夫
2. 発表標題 体内時計の制御に関わるGz共役型オーファン受容体Gpr176のN型糖鎖修飾型糖鎖修飾の役割
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中川峻平、土居雅夫
2. 発表標題 Gz共役型オーファン受容体Gpr176のハイスループットリガンドスクリーニング法の確立
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土居雅夫
2. 発表標題 脳内サーカディアンリズム中枢を制御する時間選択的Gタンパク質シグナル伝達経路GPR176-Gz-RGS16の役割
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学専攻システムバイオロジー分野  <a href="https://systems-biology.pharm.kyoto-u.ac.jp/">https://systems-biology.pharm.kyoto-u.ac.jp/</a>          学術変革領域(B) パラメトリク翻訳  <a href="http://parametric-translation.pharm.kyoto-u.ac.jp/index.html">http://parametric-translation.pharm.kyoto-u.ac.jp/index.html</a>          京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学専攻システムバイオロジー分野  <a href="http://systems-biology.pharm.kyoto-u.ac.jp/">http://systems-biology.pharm.kyoto-u.ac.jp/</a>          文部科学省学術変革領域(B) パラメトリク翻訳  <a href="http://parametric-translation.pharm.kyoto-u.ac.jp/">http://parametric-translation.pharm.kyoto-u.ac.jp/</a></p>
--

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

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		
米国	The University of Texas at Austin		
英国	The University of Manchester		