

研究種目： 特別推進研究
研究期間： 平成 18 年 ～ 平成 22 年
課題番号： 18002016
研究課題名（和文） 分子時計による体内リズムの統合機構の解明
研究課題名（英文） Molecular Clocks to Biological Rhythms
研究代表者
岡村 均 (OKAMURA HITOSHI)
研究者番号： 60158813

研究分野： 総合領域
科研費の分科・細目： 神経科学・神経科学一般
キーワード： 生体リズム、時計遺伝子

1. 研究計画の概要

研究の概要：24 時間活動する人工的な社会になった現在、食事、睡眠などの生活リズムは崩壊の危機に瀕しており、これに起因するさまざまな社会問題や、生活習慣病等の健康問題が緊急の解決すべき課題になりつつある。今回我々は、ヒトや動物モデルを用いて、体内リズムを生み出す機構を分子レベルで解明し、リズム異常に起因する病態に迫る。

研究の目的：10 年前時計遺伝子が発見されて以来、生体時計の基本的仕組み（分子時計）は解明が進んだが、それが生理的な生体リズムにまで至る過程は未だ不明のままである。この分子レベルの解明なくしては、具体的な疾病に至る過程を説明できないと考え、今回我々は、分子時計のシグナルが、細胞内シグナル伝達から個体レベルまでどのように伝達・統合されていくのか、その全貌を解明する。特に注目するのは、体全体の時計を統括する視床下部視交叉上核（suprachiasmatic nucleus: SCN）とその時間情報をホルモンシグナルに変換する副腎である。究極的には、種々の生活習慣病と生体リズムの関係を分子レベルで解明することも視野に入れる。

研究の方法：以下が具体的な研究項目である。①哺乳類の分子時計の中心的な振動子 PER2 の作用機構の解明、②細胞外から細胞内の分子時計への細胞内シグナル伝達機構の解明、③リズム産生（時計）に特化した神経核である SCN の細胞時計、細胞間同調機構の分子レベルでの同定、④SCN からの時間シグナル出力、および時間シグナルをホルモンシグナルに変換する副腎での分子機構の解明、⑤末梢時計と生理機能・疾病との関連の追及。

2. 研究の進捗状況

（1）質量分析計による時計蛋白 PER2 結合蛋白の同定（PER2-MS/MS Project）

哺乳類の時計の中心的な振動子である Per2 を中心とした転写機構の解明するため線維芽細胞系を用いた *in vitro* システム、肝臓を用いた *in vivo* システムで、PER2 蛋白質に結合する蛋白質を同定した。これにより、時計遺伝子の新しい転写抑制遺伝子、転写修飾因子を数種同定した。

（2）細胞膜から細胞質へのシグナル伝達プロジェクト（Membrane-Signal Clock Project）

分子時計の転写は細胞内で自律的に行われるが、これは細胞外の情報を受けて調律される。SCN では、調律の違う細胞群の相互作用で強力な調律が行われている。我々は SCN に G タンパク質共役型受容体（GPCR）が非常に豊富に発現していることに注目して、GPCR を介する伝達反応に関与する遺伝子を取得し、そのシグナルがサイクリック AMP を介して時計遺伝子制御し、調律することを、当該遺伝子のノックアウトマウス解析から明らかとした。なおこの遺伝子は、SCN 背側細胞にしか発現していないので、この部位が SCN 内での調律の主要部位と考えられる。

（3）視交叉上核遺伝子発現の組織化学的手法による網羅的解析（SCN-Gene Project）

SCN は永久にリズムを打ち続ける能力を持った時計発振に特化した神経核である。今回、1mm にも満たない視交叉上核に特異的に発現する遺伝子を *in situ hybridization* で網羅的に検索した。実際行った方法は、①GeneChip による第一次スクリーニング（12349 個/45000）、②CT4 と CT16 で 12349 個の probe による *in situ hybridization* にての二

次スクリーニング、③シグナル強度が高く、SCNにあるが周辺脳部位に無い遺伝子を選び、ノックアウトマウスを作成、④ノックアウトマウスの行動リズムの検索。②の段階で、現在までで 53 の未知の該当遺伝子が検出され、次の段階に移行中である。現在最終段階でリズム異常が認められたものが 4 遺伝子あり、この分子機構を検索中である。

(4) 時間の出力と変換プロジェクト (Time-Output & Conversion Project)

SCN からのアウトプットとして、従来明らかにした交感神経—副腎系以外に、副交感神経である迷走神経を介する時計制御機構を始めて明らかにした。これは、消化管・呼吸器系に多数分布する腺構造（外分泌腺、内分泌腺）が時計で管理されていることを示し、喘息発作の夜間発現機構に分子時計機構が密接に関与していることを示唆する。

(5) 時計—疾患プロジェクト (Chronodisease Project の提唱)

分子時計と生体リズムの関係が分子レベルで解明が進む現在、分子時計と疾患との機構も徐々に解明が進んでいる。方法論として我々は、時計遺伝子ノックアウトマウスの病態生理学 Pathophysiology を解明することから疾病との関係に迫っている。まず時計遺伝子が副腎において従来知られていないステロイド合成酵素の発現を制御することを明らかにし、時計遺伝子ノックアウトマウスに食塩水付加をすると高血圧を呈し、この酵素の阻害剤投与で血圧が下がることを明らかにした。マウスに対応するヒト酵素も副腎で発見し、新しいタイプの高血圧症のスクリーニングや治療薬の開発が期待される。癌に関しては、高率で自然発がんを起こす時計遺伝子ノックアウトマウスの系統を発見した。SCN も病気に関係しており、ペプチド性神経細胞のノックアウトマウスが睡眠相後退症候群 (DSPS) のモデルになることを発見した。また、皮膚における時計遺伝子の強いリズムを明らかにして、新しいタイプの化粧品や薬のスクリーニング法を提唱した。

3. 現在までの達成度

おおむねの事項で順調に進展しており (2)、病気との関係では計画以上に進展している (1)。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 発がん、免疫異常、記憶障害における時計遺伝子との関係を分子レベルで解明する。また、レニン・アンジオテンシン・アルドステロン系と時計遺伝子との関係を検索し、高血圧症の生体リズムから見た新しいスクリーニング方や治療法を提案したい。

(2) 生体リズムを作り出す分子時計は、地球への太陽からの贈り物とも言え、快適な生活

のための生命装置と言える。今回の生体リズムの分子レベルでの研究により、生命のリズムに沿った 21 世紀の近未来の生活や新しい健康科学を日本より発信する事を目指す。

5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕 (計 31 件)

① Okamura H: Suprachiasmatic nucleus clock time in mammalian circadian system. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 72:551-556, 2007. ② Bando H et al.: Vagal regulation of airway clocks in mice. *J. Neurosci.*, 27, 4359-4365, 2007. ③ Maywood ES et al.: Synchronization and maintenance of timekeeping in suprachiasmatic circadian clock cells by neuropeptidergic signaling. *Current Biology* 16, 599-605, 2006. 他 28 件査読有

〔学会発表〕 (計 35 件)

Okamura H: Mammalian circadian time transmission, IBRO World Congress of Neuroscience, Melbourne (Australia), July 12-17, 2007 他国際シンポジウム招待講演 15 回、国内シンポジウム招待講演 20 回

〔図書〕 (計 6 件)

Methods in Molecular Biology, vol. 362: Circadian Rhythms: Methods and Protocols, Edited by E. Rosato, p667, Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2007. 他 5 件

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2 件)

名称: 化粧品素材のスクリーニング方法

発明者: 岡村均

番号: 特願 2008-271455

出願年月日: 平成 20 年 10 月 21 日

国内外の別: 国内

名称: 高血圧治療薬、高血圧治療方法、高血圧診断方法および高血圧治療薬のスクリーニング方法

発明者: 岡村均、土居雅夫

番号: 特願 2008-317333

出願年月日: 平成 20 年 12 月 12 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

学会開催

第 16 回日本時間生物学会学術大会会長

(会期: 2009 年 10 月 25-27 日: 大阪国際会議場・中之島公会堂) (合同国際学会:

"The Joint Congress of the 6th ASRS, the 34th JSSR

and the 16th JSC" [http://www.asrs2009.org/](http://www.asrs2009.org/modules/english/index.php?content_id=1)

[modules/english/index.php?content_id=1](http://www.asrs2009.org/modules/english/index.php?content_id=1))

受賞

2007 年 4 月 29 日 紫綬褒章 授与

ホームページ等

<http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/system-biology/index.html>