

令和 3 年 4 月 17 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03192

研究課題名(和文)体内時計を活性化するマイクロ電流刺激を用いた健康増進方法の開発

研究課題名(英文)Development of health promotion method using microcurrent stimulation to activate the body clock

研究代表者

松永 直哉(門田直哉)(Naoya, Matsunaga)

九州大学・薬学研究院・教授

研究者番号：10432915

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 11,100,000円

研究成果の概要(和文):多様化する現代社会、高齢化社会の福祉問題に対し、本研究の目的は「マイクロ電流を身体の一部に流し体内時計を操作、そして狂った時計およびそれに伴う病を治療する!!(特許出願)」。新たな概念の基礎研究とその分子機構に基づくマイクロ電流発生デバイス開発を目指し研究をした。その結果、マイクロ電流刺激により体内時計を活性化し、時計が狂った動物の行動リズムの改善に成功した。本研究成果は、特許出願(特願2019-028425)や論文(Matsunaga N et al., Biochem Biophys Res Commun 513,293-299, 2019.)として報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多様化する現代社会、高齢化社会の福祉問題に対し、本研究の目的は「マイクロ電流を身体の一部に流し体内時計を操作、そして狂った時計およびそれに伴う病を治療する」。新たな概念の基礎研究とその分子機構に基づくマイクロ電流発生デバイス開発を目指す。本研究では、マイクロ電流で体内時計の調整を介した様々な病の予防また治療を可能にして、高齢化社会の福祉の充実、多様化した現代社会の健康問題を改善させることを目的として研究した。その結果、マイクロ電流刺激は、体内時計を操作し、時計が狂った動物の行動リズムを改善させた。本研究成果は、高齢化社会の福祉問題に対する新たな改善方法に発展する技術につながることを期待できる。

研究成果の概要(英文): In response to the welfare problems of a diversifying modern society and an aging society, the purpose of this study was to "operate the body clock by pouring microcurrents into parts of the body, and to treat crazy clocks and associated diseases!! (patent application). We aim to develop microcurrent generation devices based on basic research on new concepts and their molecular mechanisms. The goal is to enhance the welfare of modern health problems and an aging society. In this study, we would like to enable the prevention and treatment of various diseases through the adjustment of the body clock with microcurrent, enhance the welfare of an aging society, and improve the health problems of a diversified modern society. Microcurrents stimulation have improved that the biological clock system in clock-broken mice. This research result includes patent applications (Patent Application 2019-028425) and papers (Matsunaga N et al., Biochem Biophys Res Commun 513,293-299, 2019.) Reported as.

研究分野：時間生物学、健康医学

キーワード：マイクロ電流 体内時計

1. 研究開始当初の背景

多様化する現代社会、高齢化社会の福祉問題に対し、本研究の目的は「マイクロ電流を身体の一部に流し体内時計を操作、そして狂った時計およびそれに伴う病を治療する！！(特許出願中)」。新たな概念の基礎研究とその分子機構に基づくマイクロ電流発生デバイス (*chronoelectorone*) 開発を目指す。そのゴールは、現代の健康問題と高齢化社会の福祉の充実である。私はこれまでに体内時計がイオン-分子-細胞-組織-個体に至るまで階層構造を形成し生体の恒常性を制御している重要な機能であることを証明してきた。また様々な病気の基盤となる炎症病態の程度は、体内時計の発現変化により変容し、また、その炎症は体内時計の階層構造を破綻し病態を悪化させることも明らかにした (Matsunaga et al., EBioMedicine 2016, Nature commun 2016, J Biol Chem 2016, Cancer Res 2017,2014,2013,2012,2010, Hepatology 2008, Gastroenterology 2008, 国内外特許出願、企業導出)。すなわち時計の乱れは、炎症を惹起し病を引き起こすことになり、「逆に」、時計を正せば病が予防、治療できる可能性がある。しかし、簡便で効果的な時計治療方法はない。本研究では、マイクロ電流で体内時計の調整を介した様々な病の予防また治療を可能にして、高齢化社会の福祉の充実、多様化した現代社会の健康問題 (フレイル) を改善させたい。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「体内時計機構の障害は様々な疾患を誘発!!」、しかし、体内時計機構の障害を積極的に防ぎまた治すような簡便かつ安全な画期的方法、そしてその基盤となる学術的成果は未だ「無い」状況にある。人間社会は多様化し、光にあふれた眠らない世界と変化し、また先進国では少子高齢化の波が押し寄せている。国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター 病院の三島らの研究成果では、社会の多様化が引き起こす体内時計障害が睡眠障害、精神疾患のリスク増大を報告し、また他の易学調査では三大死因疾患 (心・脳・癌) のリスクが増大するとされている (West et al., Nature commun 2017; Kojetin, Panda et al., Science 2016)。また加齢も体内時計のリズムを減衰させ様々な生体機能に障害 (フレイル: 虚弱) を引き起こす。以上の報告は裏を返すと、体内時計の障害を積極的に防ぎ、また治すことは病気の予防や治療に繋がり、高齢化社会の福祉の充実また多様化した現代社会の健康問題の改善に十分応用できると考えられる。申請者はこれまでに、体内の各臓器が円滑に活動するためには、体内時計機構を介したネットワークが重要であることを証明してきた。また、これらネットワークは炎症を伴う各種病態時に変化し、さらに炎症外臓器の機能不全を引き起こすことを発見している (Matsunaga et al., Nat chem biol (revise 中) 2017, EBioMedicine 2016, Nature commun 2016, J Biol Chem 2016, Cancer Res 多数)。つまり、イオン-分子-細胞-組織-個体といった一連の階層構造をつなぐ機構に体内時計が重要な役割を果たしていることは明らかである。よって本研究では、これら体内時計を介した臓器間ネットワークに何らかのデバイスでアクセスし、異常なリズム信号情報を修正できれば、炎症臓器の炎症の程度をコントロールできる可能性に見出せる。また、このデバイス開発の基礎研究は、新たな臓器間ネットワークの仕組み発見、学問領域の開拓につながる可能性を秘める。

本研究では、体内時計を介した臓器間ネットワークにアクセスする新たなデバイス「マイクロ電流発生デバイス (*chronoelectorone*)」の開発を目的とし、その開発の基礎研究を通じて、新たな生体機能の解明と学問領域の開拓、またその分子機構を応用した画期的な健康増進方法・炎症性疾患の治療法 (予防・治療機器) を世界に届け、多様化した現代社会の健康問題の改善や高齢化社会の福祉の充実をさせたい。

様々な生体機能に微弱な電流 (マイクロ電流) は欠かせない。細胞に流入出するナトリウムイオン、カリウムイオンの濃度勾配により生じる電位差などが主なところである。その一方で生体を考えた場合、イオン-分子-細胞-組織-個体に至るまで階層構造を

持つ。この階層構造を連動させる機能の一つに、体内時計機構が認められる。この体内時計機構は、細胞ひとつひとつに存在する時計遺伝子により転写-翻訳-翻訳後レベルで厳密な制御を受け、約 24 時間の自立したリズム発振する。哺乳動物では脳にある視交叉上核 (SCN) が中枢時計として機能しており、ホルモンや自律神経ネットワークを介し、末梢の分子時計を制御する階層構造を示す。これら機構は地球の自転に伴う環境変化に適応するための重要な生体の恒常性維持機構として幅広く認知されている (Ueda et al., *Nature* 2002; Doi et al., *Nat Med* 2010)。

これまでの研究により、中枢から末梢をつなぐ体内時計の連動機構として神経ネットワークの関与が認められている。この神経ネットワークの本質は、神経伝達物質を介した細胞内外のイオン勾配により生じるマイクロ電流であり、これらマイクロ電流を調節するイオンチャネルや G プロテインカップリングレセプター (GPCR) の発現は時計遺伝子により転写レベルで制御されている (Matsunaga et al., *J Biol Chem* 2016, 2005, *Mol Pharm* 2013)。まさに中枢から末梢にいたる様々な生体機能のリズムは、リズムカルなマイクロ電流の波により統合されているといっても過言でない。そこで申請者は、体内時計を介した臓器間ネットワークにアクセスする新たな手法としてマイクロ電流を用い、体内時計を操作する。本効果の分子機構解明は新たな生体機能の発見と学問領域を開拓し、画期的な健康増進方法・炎症病態の治療法の開発、そして多様化した現代社会の健康問題の改善や高齢化社会の福祉の充実に応用できると確信している。

3. 研究の方法

研究 1) 我々の身体に備わる体内時計とマイクロ電流との関連性について分子生物学的手法を用い解析する。マイクロ電流刺激が体内時計に及ぼす詳細な影響は、未だ不明である。そこで培養細胞を対象にマイクロ電流を流し時計遺伝子の発現が変容する機構を解析する。最適に体内時計を操作できる、各種電気化学的数値 (Hz 値、電流値、電圧値) を探索する方法として、時計遺伝子 PER2 タンパク質とルシフェラーゼが融合したタンパク質が発現する培養細胞を用い、リアルタイム bioluminescent 法 (ルミサイクル) と多電極 (マルチ電極アレイシステム) を組み合わせ測定する。また最適な電気刺激条件で刺激した細胞にどのような機能変化が生じるか否かをゲノミクス、プロテオミクス解析により同定する。電気刺激により強く変化するシグナル分子 (SignalX) を同定する。同定した SignalX は CRISPR-Cas9 のゲノム編集技術を用い機能解析を行う。

研究 2) マイクロ電流と体内時計機構を結ぶ分子機構に基づくマイクロ電気発生機器 *chronolectorone* を製作し動物で効果検証する。研究 1 より明らかにした培養細胞の体内時計機構におよぼすマイクロ電流の影響について動物へとスケールアップし、より詳細な機構の解明と使用タイミングを検討する。また得られた最適なマイクロ電流や電圧数値を基に、マイクロ電流発生機器 *chronolectorone* を作製する。作製した機器の効果を検証するために、健常マウス (野生型 PER2 タンパク質にルシフェラーゼが融合したタンパク質を発現するマウス (PER2KI::Luc マウス)) を対象に背部にマイクロ電流刺激後に経時的に各組織の時計遺伝子発現量変化を、ルシフェラーゼ活性を指標に *IN vivo* イメージング装置 (*IVIS Imaging System*) で測定する。さらに生体リズムが壊れたマウスクロック変異マウスを対象に、*chronolectorone* によるマイクロ電流刺激を施しリズムを回復させられるか否か検討し、電流刺激の有無による炎症の程度をリポポリサッカライド *LPS* 投薬により検証する。

4. 研究成果

本研究の成果により、特許出願や成果を論文として報告した。また、本研究成果を基に、ベンチャーキャピタルから支援を受けさらなる機器の開発に乗り出している。研究 1 の結果より、マイクロ電流刺激をすることで、*in vivo* および *vitro* において時計遺伝子の発現を活性化することが明らかとなった。またマイクロ電流の刺激は、CREB タンパク質のリン酸化を活性化し、時計遺伝子の発現を誘導することが、明らかになった。

さらにマイクロ電流刺激により、時計遺伝子が壊れた動物の行動リズムを整えることも、明らかにし論文や特出願に至る。現在も本研究は進行中であり、様々な病態の改善手法として応用可能か否か検証中である。

本研究成果は、多様化する現代社会、高齢化社会の福祉問題に対して、マイクロ電流刺激で体内時計を活性化し健康増進を図る新たな手法の一つとして応用できると考えている。本研究成果は、特許出願（特願 2019-028425）や論文（Matsunaga N et al., Biochem Biophys Res Commun 513,293-299, 2019.）として報告した。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Matsunaga N, Yoshida Y, Kitajou N, Shiraishi A, Kusunose N, Koyanagi S, Ohdo S.	4. 巻 513
2. 論文標題 Microcurrent stimulation activates the circadian machinery in mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 293-299
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pharmthera.2019.05.018.	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

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 体内時計活性化システム及びその制御方法	発明者 松永直哉	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-028425	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------