

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462809

研究課題名(和文) 発達期における社会的時差ボケが生体リズムの環境適応機構に及ぼす可塑性

研究課題名(英文) Plasticity of the environmental adaptation in mice exposed to a "Social Jet-lag" condition

研究代表者

中村 渉 (Nakamura, Wataru)

大阪大学・歯学研究科・准教授

研究者番号：60372257

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：近年、一般社会において生活を営む上で、社会的時刻と体内時計に依存した生物学的時刻との間に乖離が生じた、いわゆる「社会的時差ボケ」の健康リスクが提言されている。本研究では、「社会的時差ボケ」の成因機序として「週末の夜更し・朝寝坊」に着目し、平日と週末のスケジュール変移に伴って生じる光環境シフトをシミュレートしてマウス輪回し行動リズムを測定した。規則的な性周期をしめず中年期雌マウスを、1週間毎に環境明暗サイクルをシフトする「社会的時差ボケ」環境下におくことで、規則的だった性周期は消失した。「社会的時差ボケ」サイクルは、若年性成熟期雌マウスの性周期を乱すことはなかった。

研究成果の概要(英文)：Recently, the number of people showing social jet lag (the mismatch between our body's internal clock and our daily schedules) and the serious health consequences is increasing. In the present study, we investigated the impact of a light-dark cycle that simulated weekly social jet lag. When mice are maintained under 12-h light/ 12-h dark cycles (lights on at 08:00), they show the extremely precise circadian wheel-running behavior that began within a few minutes after light-off every day. These mice were then exposed to light from 8 A.M. to 8 P.M. for 5 days (weekdays), which was followed by a shift in the exposure to light from 11 A.M. to 11 P.M. for 2 days (the weekend). Desynchronization between the environment and the biological clock (i.e., 'circadian timing shift') has a major impact on female reproductive functions. Furthermore, normal reproductive functioning can be rescued by manipulation of environmental timing signals.

研究分野：環境生理学

キーワード：生体リズム 生物時計 視交叉上核 社会的時差ボケ

1. 研究開始当初の背景

近年、一般社会において生活を営む上で、社会的時刻と体内時計に依存した生物学的時刻との間に乖離が生じた、いわゆる「社会的時差ボケ」の健康リスクが提言されている。遺伝的要因が関連する体内時計機構の変調は、細胞レベルでサーカディアン周期の変化、光反応性の変化を引き起こし生体制御に影響する。その一方で、体内時計神経回路には生活環境が作用する神経可塑性が知られている。ヒトでは加齢に伴い睡眠の質と量の低下などの睡眠障害が出現し、年齢を重ねるごとに症状が顕著になっていく。加齢による行動リズムの断片化やリズム周期の短縮や延長、シフトワークや時差ボケに対する適応性の低下は、サーカディアンリズム障害の症状を呈し、体内時計の特性変化に起因するものと考えられてきた。我々は視交叉上核神経出力を直接測定する方法を開発し、加齢の影響は、視交叉上核神経核としての神経活動出力に顕著な影響を示すことを明らかにした。このような加齢に伴う神経機能の低下には環境因子が複雑に作用し主要因を特定することは難しい。そこで、生後発達期における光環境や育成環境の攪乱は体内時計機能の成熟に影響を及ぼす可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

生活習慣の基盤となる生理機能のサーカディアンリズムは視床下部・視交叉上核に局在する体内時計中枢によって制御され、「朝型」・「夜型」や「長時間睡眠型」・「短時間睡眠型」といった有意な個体差が認められる。サーカディアンリズムのいわゆる「個性」がゲノム上の遺伝的多形に起因するという研究が進められる一方、それと相補的に環境因子、特に生後発達における生活環境による神経可塑性要因を明らかにすることが重要である。本研究ではサーカディアンリズムを攪乱する「社会的時差ボケ」の成立機序を明らかにするとともに、発生発達期における育成環境の攪乱が体内時計神経ネットワークに則った環境適応機構を引き起こす神経可塑性を同定することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) マウス輪回し行動のサーカディアンリズム計測

C57BL/6J 系統マウスを 12 時間毎に点灯 (8:00) / 消灯 (20:00) する 24 時間周期の明暗環境条件下で飼育し輪回し行動を記録すると、毎日消灯時刻後数分以内に輪回しを開始する正確な日内行動リズムを示す。その後、5 日間 (平日) を 8 : 00/20 : 00 の明暗サイクルに設定し、2 日間 (週末) を 11:00/23:00 の明暗サイクルにシフトさせる「週間」サイクル条件に移行した。

(2) *In vivo* 視交叉上核リズム出力の解析

視交叉上核リズム出力動態を明らかにするため視交叉上核にワイヤー電極を挿入し、自

由行動下における神経活動記録を行った。

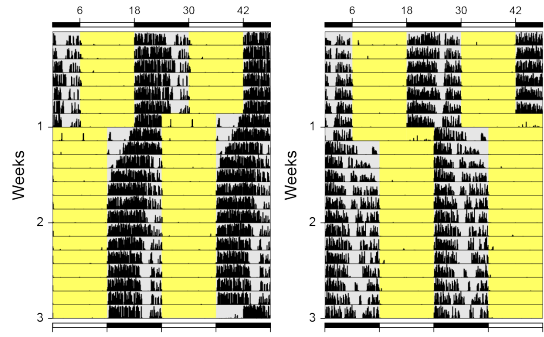
(3) 「社会的時差ボケ」による雌マウス性周期不整

メスマウスの性周期 (発情周期) について、通常の明暗環境サイクル、「社会的」時差ぼけサイクル、さらに若齢性成熟期、中年期について解析した。

4. 研究成果

(1) マウス輪回し行動のサーカディアンリズム計測

マウスを 12 時間毎に点灯 (8:00) / 消灯 (20:00) する 24 時間周期の明暗環境条件下で飼育し輪回し行動を記録すると、毎日消灯時刻後数分以内に輪回しを開始する正確な日内行動リズムを示した。環境明暗サイクルを 6 時間前進 (Fig.1 左) または後退 (Fig.1 右) させると、行動リズムは移行期間をもって環境サイクルに同調した。この時、行動開始移送は、前進シフト後 4~5 日の移行期間を示すのに対し、後退シフト後については、

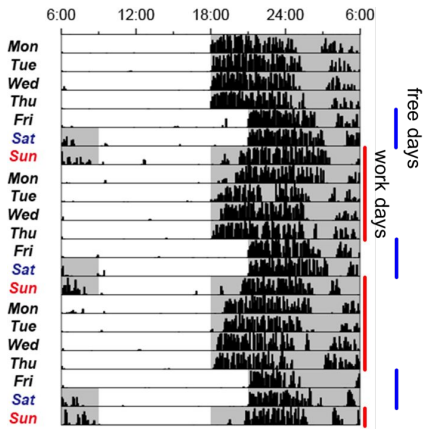


(Fig.1) 6時間時差ボケ環境シミュレーションによるマウス輪回し行動リズムの再同調移行期間

シフト翌日に消灯直後の行動開始が観察された。一方、5 日間 (平日) を 8 : 00/20 : 00 の明暗サイクルに設定し、2 日間 (週末) を 11:00/23:00 の明暗サイクルにシフトさせる「週間」サイクル条件に移行した (Fig.2)。明暗サイクル 3 時間シフトから通常明暗サイクルに復帰させた翌日、マウスは消灯 2.7 時間後に輪回しを開始した。消灯時間を社会的起床時刻、実際のマウス輪回し開始を生物学的起床時刻とすると、両起床時刻に乖離が生じたことになる。輪回し行動の開始は消灯時刻を 20 時に戻した 3~4 日後に再び消灯時刻と一致した。行動開始時刻の遅れは、7 日間に 1 サイクルの明暗環境 3 時間後退シフトによっても生じた。さらに消灯時刻の 3 時間後退で生じる一方、点灯時刻の遅れでは生じなかった。

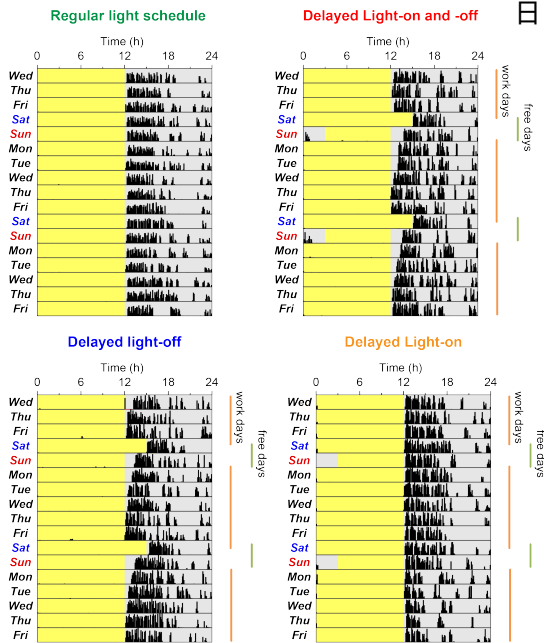
以上の結果により、本来消灯すべき時刻に光に曝露されたことにより、翌日の活動開始タイミングの後退を引き起こすことがわかった。週末の「夜更かし (夜間の光曝露)」によって、翌月曜日に生じる「起きたい時刻 (社会的起床時刻)」と「身体が起きる時刻

(生物学的起床時刻)」との乖離は容易に解消されず、その影響は週全日に及ぶことが明らかになった。



(Fig.2) 輪回し行動の社会的時差ボケ
3時間のシフトは週末の「夜更し」と「朝寝坊」をシミュレートしている。

(2) *In vivo* 視交叉上核リズム出力の解析
視交叉上核にワイヤー電極を挿入し、自由行動下における神経活動記録を行った。視交叉上核の神経活動は明期に高発火頻度/暗期に低発火頻度を示す明瞭な日内リズムを示した。定常の昼：高/夜：低の神経活動は、消灯時刻の3時間遅延時に高発火頻度を維持し、リズム位相の後退を示した。輪回し行動の開始は消灯時刻を20時に戻した3~4



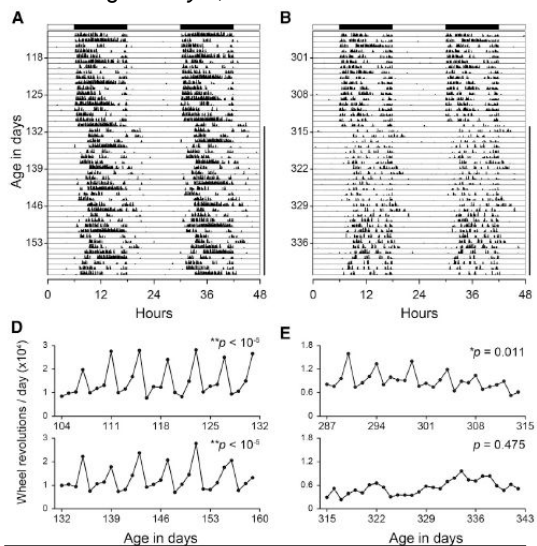
(Fig.3) 社会的時差ボケの作用要因。暗期前半の光照射(明期延長)はリズムの後退を引き起こし、明期前半の暗パルス(暗期延長)ではリズム位相は不変である。

後に再び消灯時刻と一致し、行動リズムの動態と視交叉上核リズムは一致していた。また、

明期の3時間延長と、暗期の延長とを比較すると、明期の延長は視交叉上核リズムの位相後退を引き起こすのに対して、暗期の延長は位相変位を示さなかった。以上より、本実験で環境条件をシミュレートした週間明暗環境シフトサイクルでは、暗期前半に光曝露されることにより容易に視交叉上核リズム位相の後退が生じ、光環境サイクルの前方シフトに再同調するまでには数サイクルの移行期間が必要となることから、慢性的に“社会的”時差ボケ状態が成立することが明らかになった。

(3) “社会的時差ボケ”による雌マウス性周期不整

時計遺伝子 *Cry* KO マウスは、自由継続周期に変調をきたし *Cry1* KO はサーカディアン周期の短縮を、*Cry2* KO はサーカディアン周期の延長を呈するが、24時間周期の明暗サイクルに同調し、野生型と同等の繁殖が可能である。我々は、*Cry* KO 雌マウスが、本来、妊娠・出産可能な8~12ヶ月齢期に早期性周期不整を伴う不妊を呈することをみいだした。また、同月齢期に規則的な性周期をしめす野生型雌マウスを、1週間毎に環境明暗サイクルをシフトする“社会的時差ボケ”環境下において、規則的だった性周期は消失した。“社会的時差ボケ”サイクルは、性成熟期野生型雌性マウスの性周期を乱すことはなかった。Middle-aged *Cry1, 2* KO マウスに生じる性



(Fig.4) 社会的時差ボケが性周期不整を引き起こす要因となる。メスマウスの4~5日の発情周期(輪回しの亢進)が消退する。

周期不整と早期不妊は、環境明暗サイクルをマウス遺伝型固有の周期に調整することで劇的に改善された。以上の結果は、サーカディアンペースメーカーの環境リズムと生理機能タイミングとの調和をはかることの重要性をしめしている。また、生殖機能の早期減退が概日リズム機能の加齢変調によって生じるリスクをしめすと共に、環境の最適化により早期不妊症を回避できる「サーカディアン戦略」を示唆している。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 8 件)

Uchida H, Nakamura TJ, Takasu NN, Obana-Koshino A, Ono H, Todo T, Sakai T, Nakamura W*. (2017) The central clock controls the daily rhythm of Aqp5 expression in salivary glands. *J Physiol Sci*
doi: 10.1007/s12576-017-0540-1.

Nakamura TJ, Takasu NN, Nakamura W*. The suprachiasmatic nucleus: age-related decline in biological rhythms. (2016) *J Physiol Sci*, 66:367-74
doi: 10.1007/s12576-016-0439-2.

Uchida H, Nakamura TJ, Takasu NN, Todo T, Sakai T, Nakamura W*. (2016) Cryptochrome-dependent circadian periods in the arcuate nucleus. *Neurosci Lett*, 610: 123-128.
doi: 10.1016/j.neulet.2015.10.071.

Nakamura TJ*, Nakamura W*, Tokuda IT, Ishikawa T, Kudo T, Colwell CS, Block GD. (2015) Age-related changes in the circadian system unmasked by constant conditions. *eNeuro*,
doi: 10.1523/ENEURO.0064-15.2015.

Takasu NN, Nakamura TJ, Tokuda IT, Todo T, Block GD*, Nakamura W*. (2015) Recovery from age-related infertility under environmental light-dark cycles adjusted to the intrinsic circadian period. *Cell Rep*, 12: 1407-1413.
doi: 10.1016/j.celrep.2015.07.049.

[学会発表](計 15 件)

Nakamura W: Effects of aging on circadian pacemakers for regulating reproductive functions. Wiring and Functional Principles of Neural Circuits (2016年11月17-18日, サンディエゴ(米国))

Nakamura W: Multiple circadian oscillators in the SCN. Aschoff and Honma Prize memorial Symposium (2016年11月9-10日, 北海道・札幌市)

Nakamura W: Recovery from age-related infertility under optimal circadian period. The 89th Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society (2016年9月27日, 宮城県・仙台市)

中村 渉: 生物時計と生体リズムの加齢変化, 日本睡眠学会第 41 回定期学術集会 (2016年7月7日, 東京都・新宿区)

Takasu NN, ... Nakamura W: Recovery from age-related infertility under Environmental Light-Dark Cycles Adjusted to the intrinsic Circadian Period. The 64th NIBB conference (2016年4月22-24日, 愛知県・岡崎市)

Nakamura W: Light responsiveness and phase adjustment of the Biological Clock. International Society of Internet Addiction (ISIA) 4th Annual conference (2015年10月23日, 大阪府・吹田市)

[図書](計 2 件)

中村 渉* (2016) 視交叉上核の光応答性と位相調節. ブルーライトテキストブック. (坪田一男編) 金原出版, 東京, 172-179.

中村 渉* (2016) 哺乳類の光環境応答-行動リズム. 光と生命の事典. (日本光生物学協会光と生命の事典編集委員会 編) 朝倉書店, 東京, 218-219.

[その他]

ホームページ

<http://web.dent.osaka-u.ac.jp/~chrono/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 渉 (NAKAMURA, Wataru)

大阪大学・大学院歯学研究科・特任准教授
研究者番号: 60372257

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

徳田 功 (TOKUDA, Isao)

立命館大学・理工学部・教授

研究者番号: 00261389

中村 孝博 (NAKAMURA, Takahiro)

明治大学・農学部・准教授

研究者番号: 00581985

高須 奈々 (TAKASU, Nana)

大阪大学・大学院歯学研究科・日本学術振

興会特別研究員 (RPD)

研究者番号: 30467394