

研究種目： 基盤研究 (S)  
研究期間： 2007~2011  
課題番号： 19107002  
研究課題名 (和文) 脳時計ニューロンにおける光シグナリングと概日リズム制御の分子解析  
研究課題名 (英文) Molecular Analysis of Light-signaling and Circadian Rhythm in the Brain

## 研究代表者

深田 吉孝 (FUKADA, YOSHITAKA)  
東京大学・大学院理学系研究科・教授  
研究者番号： 80165258

研究代表者の専門分野： 生物学  
科研費の分科・細目： 基礎生物学 ・ 動物生理・行動  
キーワード： 動物生理・化学

## 1. 研究計画の概要

光受容系の発達した多くの生物は約一日周期で振動する概日時計を持ち、リズムの位相が光の制御を受けるという共通の特性を示す。これは、地球上の周期的な光サイクルの中で、光受容と概日リズムという機能が相関的に生物に獲得されたことを如実に物語っている。したがって、時計機能と光受容能の分子的な仕組みを比較解析することは、両者がどのように相互作用しながら動物に定着して進化したか、その根底の分子シナリオを理解することにつながる。本研究では、非常に短い時間スケールで空間情報を処理する「視覚」と、長い時間スケールで時刻情報を処理する「概日時計システム」を対照的な情報変換系と捉え、その光シグナリングを支える分子ダイナミズムと個体レベルでの作動原理の理解を目指す。また、光以外の因子による、いわゆる「非光」位相制御との比較解析を通して、概日時計の位相制御機構をより深く理解することを目指す。具体的には、one hybrid スクリーニングおよび松果体と網膜の遺伝子発現プロファイリングにより、松果体光受容ニューロンの特異性を解明するとともに、グルコースなどの非光シグナルに応答する遺伝子の機能解析を通じて概日時計の位相同調メカニズムに迫る。

## 2. 研究の進捗状況

脊椎動物は網膜だけでなく、松果体などの脳組織においても光感受性を示す。我々は、松果体に発現するオプシン型光受容体ピノプシンを発見し、続いて脳深部や視細胞以外の網膜ニューロンに発現する種々のオプシン型分子を同定してきた。松果体の光受容ニューロンと網膜の視細胞は、形態学的・発生学的に多くの点において類似性を示す一方、両者の生理機能は大きく異なり、網膜視細胞が主として視覚を司り、松果体ニューロンは概日リズム形成と内分泌を担う。我々は、ゼブラフィッシュ松果体に特異的に発現する光受容分子 **Exorhodopsin** を同定し、*exorh* 遺伝子のプロモータ解析から、松果体特異的な遺伝子発現を担うシス配列 **PIPE** を初めて同定した。本研究では、この成果をさらに発展させるため、one hybrid スクリーニングを行ない、**PIPE** に結合する転写因子を同定した。これとは別のアプローチとして我々は、松果体細胞と視細胞にそれぞれ特異的に発現する遺伝子群のプロファイリングを行った。その結果、松果体特異的に発現する転写因子を同定し、この因子が松果体ニューロンの特異性の確立と維持に重要な役割を担っていることを証明した。

哺乳類の培養細胞は多様な刺激に応答し

て時計の位相がシフトする。本研究では、これまで謎に包まれていた「光以外の刺激」による位相シフトの分子基盤の解明を目指した。転写因子 **TIEG1** はグルコース刺激にตอบสนองして **mRNA** レベルおよびタンパク質レベルが上昇し、**Bmal1** 遺伝子の転写を負に制御することを示した。さらに **TIEG1** はグルコースによる同調機構だけでなく、自律的な時計発振機構においても重要な役割を担っていることを明らかにした [Hirota *et al.*, 2010]。この解析の過程で、培地の pH 変化が時計の位相をリセットすることを見出した。最終的に、pH のアルカリ化が **TGF- $\beta$ /ALK5/Smad** シグナリングを介して、時計遺伝子 **Dec1** 遺伝子の発現を誘導することを明らかにした。マウス腹腔内に **TGF- $\beta$**  を投与することにより観察された位相シフトは **Dec1** ノックアウトマウスにおいて完全に消失した。このように光以外の刺激による時計リセット機構の全貌解明は世界で初めての研究成果であり、生物時計の研究分野に大きなインパクトを与えた [Kon *et al.*, 2008]。

### 3. 現在までの達成度

区分：①当初の計画以上に進展している。

(理由) 本研究は、(1) 似て非なる松果体と網膜の光受容ニューロンの特異性、(2) 概日時計の光シグナリングと位相制御、(3) 網膜の光受容ニューロンの光応答特性、の3つの柱からなる。これら多くの研究成果は、すでに論文発表、もしくは投稿準備中の段階にあり、当初の目標通り、もしくはそれ以上に研究が進展している。当初は予想していなかった新発見による研究の展開も含まれることから、上記の自己評価を与えた。

### 4. 今後の研究の推進方策

- (1) 概日時計の光位相制御について、より上流の光受容体からのシグナリングを分子レベルで解明する。
- (2) 光以外の刺激に対する位相シフトの解析を通して生物時計の心臓部である振動体の分子メカニズムをさらに深く理解する。
- (3) 網膜での光シグナリングにおいては、視

興奮に必須な **G** タンパク質のファルネシル化が **G** タンパク質の細胞内移動を通して網膜の感度調節に寄与することを示してきた。本研究においては、受容体キナーゼと **G** タンパク質に焦点を絞り、これらの分子に変異を導入した個体の視機能を電気生理学的に解析し、網膜の光シグナリングの重要特性にこれらの分子がどのように寄与しているか、生理学と生化学の研究手法を織り交ぜて明らかにする。

### 5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 原著論文 19 件)

Kurabayashi, N., Hirota, T., Sakai, M.,

Sanada, K. & Fukada, Y. *Mol. Cell.*

*Biol.*, 30, 1757-1768 (2010)

Hirota, T., Kon, N., Itagaki, T., Hoshina, N.,

Okano, T. & Fukada, Y. *Genes Cells*, 15,

111-121 (2010)

Yoshitane, H., Takao, T., Satomi, Y., Du, N.

H., Okano, T. & Fukada, Y. *Mol. Cell.*

*Biol.*, 29, 3675-3686 (2009)

Kon, N., Hirota, T., Kawamoto, T., Kato, Y.,

Tsubota, T. & Fukada, Y. *Nature Cell*

*Biol.*, 10, 1463-1469 (2008)

Tamai, S., Sanada, K. & Fukada, Y. *PLoS*

*One*, 3, e3835 (2008)

以上の原著論文については、研究室 HP の「研究ハイライト」のページにて研究内容をわかりやすく解説している。

<http://www.biochem.s.u-tokyo.ac.jp/fukada-lab/research-highlights-j.html>

[学会発表] (計 83 件)

国際学会発表件数：計 12 件 (うち招待発表 3 件, 口頭発表 1 件, ポスター発表 8 件)

国内学会発表件数：計 71 件 (うち口頭発表 16 件, ポスター発表 55 件)

[図書] (計日本語総説 15 件)

[その他] 研究室ホームページ

<http://www.biochem.s.u-tokyo.ac.jp/fukada-lab/>