

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06774

研究課題名(和文) 視交叉上核の概日時計における日長認識のメカニズム解析

研究課題名(英文) Mechanism of how circadian clock in the suprachiasmatic nucleus recognizes day length

研究代表者

仲村 朋子(吉川朋子)(Yoshikawa, Tomoko)

富山大学・学術研究部教育研究推進系・准教授

研究者番号：30451397

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：概日時計は、生物が自然環境の変化を予測し、生体環境を整えるために非常に重要な生理機能である。夜行性の動物は、夕方から活動を開始し、朝には活動を終了する。この開始と終了は別の概日振動体が制御すると考えられているが、そのメカニズムには、未だ不明な点が多い。本研究では、朝と夕を認識する概日振動体が、どのような仕組みで昼の長さを認識し、活動期の長さを保つのか明らかにするために、時計遺伝子に変異を持つマウスを用い、活動リズムや時計遺伝子発現リズムなどを解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

概日リズムの乱れは、心身の健康に影響を及ぼすことから、大きな社会問題となっている。特に、本来暗いはずの夜間に光にさらされることで、睡眠の質の低下や就寝・起床時刻の後退が引き起こされ、社会生活に支障をきたすことも広く知られるところである。しかし、現代社会において、真っ暗な夜を過ごすように人々に求めることは難しい。すなわち、うまく光と付き合うことが必要である。本研究では、動物モデルを用い、光、概日時計、そして活動リズムの間の未解明部分に迫り、現在社会の問題解決に資する知見の獲得を目指した。

研究成果の概要(英文)：The circadian clock is an important physiological function that allows organisms to anticipate changes in their natural environment and regulate their physiology. Nocturnal animals start their activities in the evening and end in the morning. These timings are thought to be controlled by separate circadian oscillators, however, the mechanism is not fully understood. In this study, in order to understand how the circadian oscillators recognize morning and evening, and determine the length of the active period, we analyzed activity rhythms and clock gene expression rhythms in mice with a mutation in the clock gene.

研究分野：時間生物学

キーワード：概日時計 視交叉上核 振動体 位相 日長

1. 研究開始当初の背景

概日時計は、生物が昼夜や季節という自然環境の変化を予測し、生体環境を整えるために非常に重要な生理機能である。夜行性の動物(マウスなど)は、夕方から活動を開始し、朝には活動を終了する。このとき、活動開始はEvening (E)振動体、活動終了はMorning (M)振動体という別の概日振動体によって制御されると考えられているが、E振動体とM振動体の実体も、中枢概日時計である視交叉上核(SCN)内で日長が認識される仕組みも謎に包まれている。申請者は、発光レポーターによるSCNの概日時計遺伝子のイメージング解析を行い、E振動体とM振動体の局在を明らかにした。その研究の過程で、SCNがまとまったの発光リズムを示すためには、細胞間、領域間のネットワークが必須であることがわかってきた。

2. 研究の目的

日長を正しく認識することは、動物にとって活動期の長さを決めるだけでなく、光周性の生殖応答にも必要であり、重要な能力である。活動リズムから、E振動体とM振動体の間のカップリングに変調があると予測されるClock変異マウスおよびカルシウム・カルモジュリン依存性キナーゼ(CaMK)に点変異(K42R)を導入したノックインマウスを実験モデルとして用い、E振動体とM振動体の間のカップリングの仕組みを解明することを通して、日長認識の謎に迫る。

3. 研究の方法

上記2系統のマウスを用い、中枢概日時計であるSCNと概日時計の最終出力である活動リズムの解析を中心に行った。

4. 研究成果

短日条件下において、Clock変異マウスの活動期の終了位相は安定しているものの、開始位相は、日々変化し不安定だった。この特徴は、E振動体の位相が不安定であること、また、EとM振動体の間のカップリングが不完全であることを示唆している。そこで、SCNの発光イメージングにより、EおよびM振動体の存在する領域のリズムを解析した。するとM振動体領域の概日リズムは終始安定しているのに対し、E振動体領域のリズムは培養開始から最初の数日間は著しく減弱していることが分かった(図1B)。これは、細胞間の位相同調が崩れていることに起因していた。非常に興味深いことに、数日間の培養の後、細胞間の位相同調が起こり、高振幅のリズムが出現した。この位相同調をもたらす候補分子として、E振動体領域に発現する神経ペプチドであるアルギニンバソプレッシン(AVP)が考えられた。そこで、AVP受容体のプロック(アンタゴニスト)を含む培地にてSCNを採用したところ、リズムが出現しなかった(図1C)。一方、プロックを含まない培地に交換すると、リズムが出現したことから、E振動体におけるAVPを介した細胞間カップリングの重要性を示すことができた。

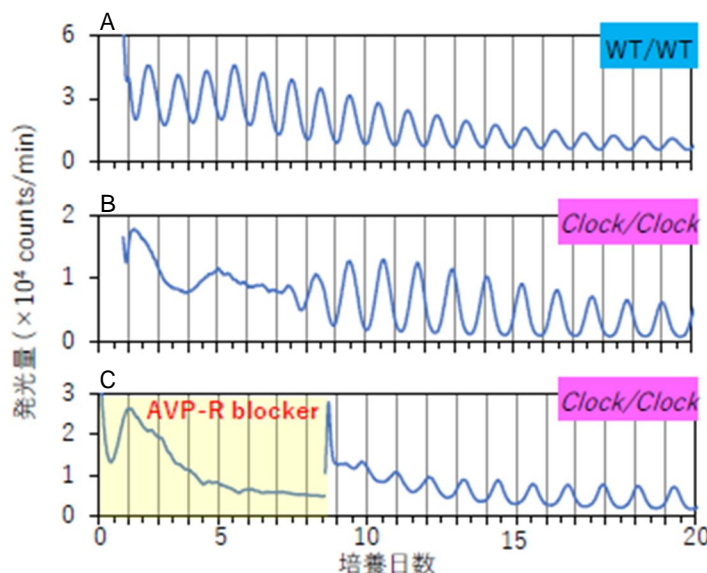


図 1. 培養 SCN スライスにおける PER2::LUC 発現リズム。

WT マウスのスライス(A)では、培養初期化から明確なリズムが観察されるが、Clock 変異マウスの SCN スライスでは培養開始から 5 日程度経過したところで概日リズムが出現する(B)。Clock 変異マウスの SCN スライスでも、AVP-R ブロッカー存在下ではリズムが出現しないが、ブロッカーを取り除くとリズムが出現する(C)。

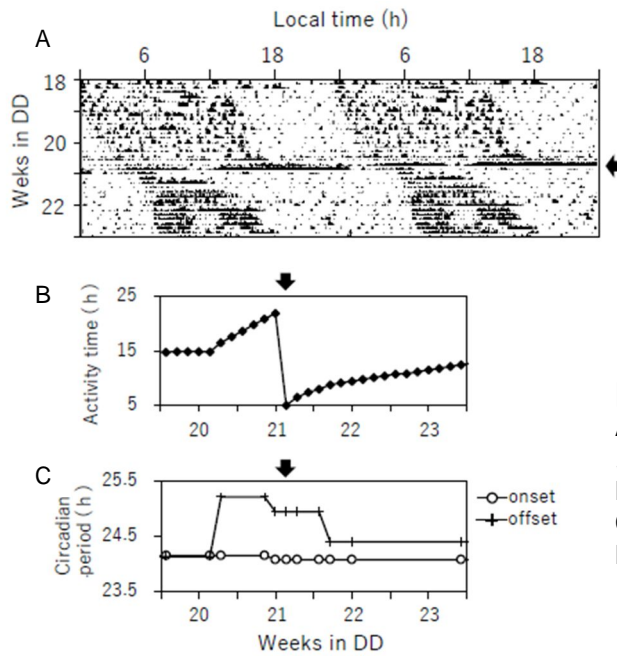


図 2. CaMK K42R マウスの活動リズム。
 A. エリアセンサーで測定した歩行活動リズム。矢印は活動期が短縮した日を示す。
 B. 活動期の長さの変化。
 C. 活動開始と終了の周期変化。
 B, C の矢印は、A と同じタイミングを示す。

CaMK K42R マウスの活動リズムを測定したところ、恒暗条件下において非常に特徴的な現象が観察された(図 2A)。すなわち、活動終了の周期が延長して活動期が長くなるが、突然活動期が短縮した(図 2B)。興味深いことに、活動開始の周期は大きく変化することはなく、活動終了の周期と位相が大きく変化していた(図 2C)。活動期の延長と短縮は、E/M 振動体のカップリングの減弱化と再カップリングの結果と考えることができる。再カップリングは外界からの刺激なしに起こっていることから、E/M 振動体の位相が離れすぎたときに E 振動体が M 振動体を引きつける何らかの機構が存在すると予想される。これまでの研究では、再カップリングのメカニズムについては、想像の域を出ず、今後の研究課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tomoko Yoshikawa, Scott Pauls, Nicholas Foley, Alana Taub, Joseph LeSauter, Duncan Foley, Ken-ichi Honma, Sato Honma, Rae Silver	4. 巻 8
2. 論文標題 Phase Gradients and anisotropy of the suprachiasmatic network: Discovery of phaseomes.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eNeuro	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0078-21.2021	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 Minami Yoichi, Yoshikawa Tomoko, Nagano Mamoru, Koinuma Satoshi, Morimoto Tadimitsu, Fujioka Atsuko, Furukawa Keiichi, Ikegami Keisuke, Tatemizo Atsuhiko, Egawa Kentaro, Tamaru Teruya, Taniguchi Taizo, Shigeyoshi Yasufumi	4. 巻 53
2. 論文標題 Transgenic rats expressing dominant negative BMAL1 showed circadian clock amplitude reduction and rapid recovery from jet lag	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1783 ~ 1793
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ejn.15085	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 Endo Takuyuki, Matsumura Ritsuko, Tokuda Isao T., Yoshikawa Tomoko, Shigeyoshi Yasufumi, Node Koichi, Sakoda Saburo, Akashi Makoto	4. 巻 10
2. 論文標題 Bright light improves sleep in patients with Parkinson's disease: possible role of circadian restoration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7982
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-64645-6	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 2件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Tomoko Yoshikawa, Ken-ichi Honma, Sato Honma
2. 発表標題 CaMKII is involved in the coupling of the evening and morning circadian oscillators in mice.
3. 学会等名 5th Asian Forum on Chronobiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomoko Yoshikawa, Ken-ichi Honma, Sato Honma
2. 発表標題 CaMKII is involved in the coupling of the evening and morning circadian oscillators in mice.
3. 学会等名 Symposium on Biological Rhythm 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉川朋子・本間研一・重吉康史・本間さと
2. 発表標題 CaMKII 機能的KOはマウスの輪回し活動と自発行動の概日リズムを乖離させる
3. 学会等名 第90回日本動物学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉川朋子・本間研一・重吉康史・本間さと
2. 発表標題 活動の概日リズムを駆動する複数の振動体：CaMKII 機能的KOマウスによる解析
3. 学会等名 第25回 日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 27.Tomoko Yoshikawa, Ken-ichi Honma, Yasufumi Shigeyoshi, Sato Honma
2. 発表標題 Functional knock-out of CaMKII disrupts circadian activity rhythm of mouse.
3. 学会等名 Summit on "Dynamic Brain" (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------