

令和 6 年 4 月 5 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究(開拓)

研究期間：2019～2023

課題番号：19H05546・20K20459

研究課題名(和文)1年の時を刻む概年時計の分子基盤の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the molecular basis of the circannual clock

研究代表者

吉村 崇 (YOSHIMURA, Takashi)

名古屋大学・生命農学研究科(WPI)・教授

研究者番号：40291413

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,000,000円

研究成果の概要(和文)：生物の身体には概ね1年の内因性のリズムを刻む「概年時計」が存在し、繁殖活動、冬眠、渡りのタイミングを決定している。約1日のリズムを刻む概日時計の分子機構については理解が進んだものの、概年リズムを刻む「概年時計」は研究に長期の時間を要するため、挑戦的な謎であり、未解明であった。本研究では、メダカに約1年の概年時計が存在することを明らかにするとともに、約1年のリズムを刻む転写プログラムを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

地球規模の温暖化や気候変動により、植物の開花や動物の冬眠、渡り、繁殖などの時期にズレが生じており、全球レベルで種間の様々な相互作用に影響が生じている。既に生態系、生物多様性、ならびに農業に様々な影響が生じていることから、生物の環境適応機構の解明は世界的に緊急に取り組むべき重要課題と位置付けられている。1年という長い周期の生命現象の分子基盤の解明は極めて挑戦的なテーマであるため、ほとんど手付かずであったが、本研究ではこれに関与する転写プログラムを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Circannual rhythms are approximately 1-year biological rhythms driven by the endogenous circannual clock and determines the timings of reproduction, hibernation and migration. Although the molecular mechanisms of approximately 1-day circadian clocks are well understood, the mechanisms underlying long-term circannual clock is a challenging and unresolved mystery. In this study, we showed the existence of endogenous circannual rhythms in medaka, and we have also identified the transcriptional program underlying the circannual rhythm.

研究分野：動物分子生理学

キーワード：概年時計 メダカ

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

動物の繁殖、渡りや冬眠、あるいは植物の開花のように、生物の様々な営みには季節のリズムがある。ヒトも例外ではなく、代謝、免疫機能、気分、病気のリスクなどに季節の変化が存在する。恒常条件下で10年間にわたって飼育されたノビタキという小鳥の繁殖活動と換羽には約10か月周期の内因性のリズムが観察される。このように生物の身体には概ね1年の内因性のリズムを刻む「概年時計」が存在する。生物には概年リズムの他にも、概ね1日のリズムを刻む「概日時計」や、約2時間のリズムを刻み体節の形成に関与する「分節時計」など、様々な周期のリズムを刻む「体内時計」が存在する。2017年のノーベル生理学・医学賞が概日時計の分子機構の解明に授与されたように概日時計の分子機構については近年大幅に理解が進んだ。その結果、概日リズムは時計遺伝子の転写・翻訳フィードバックループ(transcription-translation feedback loop: TTFL)によって刻まれていると考えられている。しかし、約1年という長期のリズムを刻む「概年時計」は謎に包まれたままである。人類は有史以来、生物の示す一年周期のリズム現象に魅了されてきたが、研究に膨大な時間がかかるため、ほとんど手付かずで極めて挑戦的なテーマである。

### 2. 研究の目的

概年時計の研究には長期の時間を要するため、内因性の概年リズムが確認されている生物種も多くない。本研究では明瞭な季節応答を示し、ゲノムが解読されているメダカをモデルとして概年リズムの分子基盤を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) メダカの季節変動遺伝子の探索

屋外の自然条件下で飼育したメダカから毎月、2年間にわたって視床下部・下垂体を採材して得られた時系列試料についてトランスクリプトーム解析を行い、季節変動する遺伝子を抽出した。

#### (2) 概日時計の季節変化の解析

約1日のリズムを刻む概日時計は日長応答など、季節の感知に重要な役割を果たすことが知られている。季節変動遺伝子の中には概日時計遺伝子も含まれていたことから、それぞれの季節で概日時計遺伝子がどのようにふるまっているかを解析した。

#### (3) メダカの生殖腺の季節変動を制御する環境因子の同定

屋外の自然条件下で飼育したメダカにおいて、毎月、2年間にわたって生殖腺指数（生殖腺重量/体重×100）を算出するとともに、環境の日長、日射量、水温をモニターし、線形回帰解析で生殖腺の季節変化を制御する環境因子を推定した。

#### (4) メダカの概年時計の解析

これまでに概年リズムが観察されている生物種の記録から、概年リズムは特定の日長条件下で顕在化することが報告されている。そこで、メダカを長日条件、春分条件、短日条件でそれぞれ500日に渡って飼育し、産卵を指標とした概年リズムを観察した。

#### (5) 概年時計の位相応答

内因性の体内時計の外部刺激に対する応答は位相依存的であり、一定ではない。これを確認するために、様々な季節に夏の刺激を与え、位相応答曲線を作成した。

#### (6) 概年遺伝子の探索

長日条件の恒常条件下で毎月、視床下部・下垂体を採材し、トランスクリプトーム解析を行い、恒常条件下で概年リズムを刻む遺伝子を同定し、同定した概年遺伝子について、Gene Ontology解析を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) メダカの季節変動遺伝子の探索

屋外の自然条件下で飼育したメダカから毎月、2年間にわたって視床下部・下垂体を採材して得られた時系列試料についてトランスクリプトーム解析を行ったところ、3341個の季節変動する季節変動遺伝子を抽出した。これらの季節変動遺伝子には季節によって変化する繁殖活動を制御する性腺刺激ホルモンをコードする *cga*, *fshb*, *lhb* 遺伝子やストレス応答を制御する *crh* 遺伝子が含まれており、様々な生理機能の季節変化を制御していることが明らかになった（図1）。

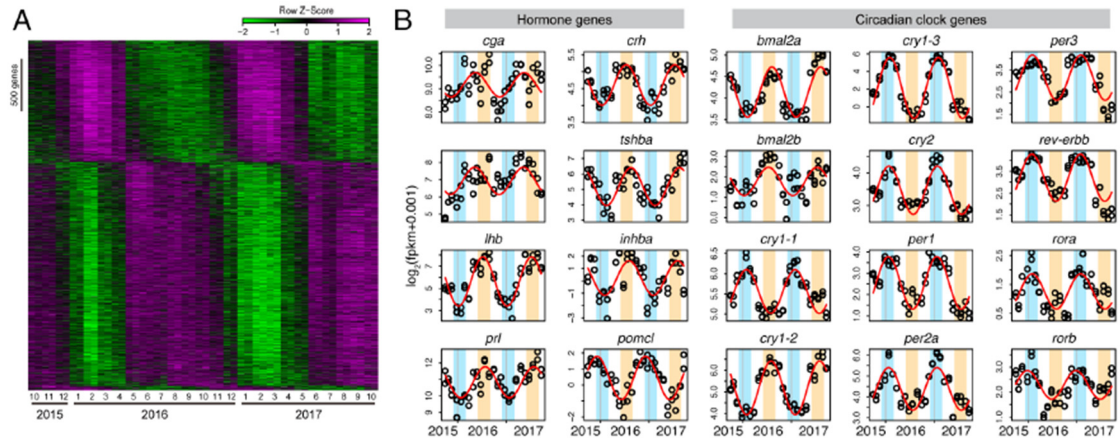


図 1. (A) 2 年間のトランスクリプトーム解析から季節変動遺伝子を同定した. (B) 季節変動遺伝子には様々なホルモンをコードする遺伝子や概日時計遺伝子が含まれていた.

(2) 概日時計の季節変化の解析

季節変動遺伝子の中には概日時計遺伝子も含まれていたことから (図 1B)、春分、夏至、秋分、冬至において 4 時間ごとに視床下部・下垂体を採材して得られた時系列試料についてトランスクリプトーム解析を実施した。その結果、概日時計遺伝子は夏至と秋分には明瞭に日内変動しているのに対して、冬至と春分には発現リズムの位相が著しく低下していることが明らかになった (図 2B-C)。これらの解析から、日内変動を伴わない狭義の季節変動遺伝子を抽出した (図 2D)。

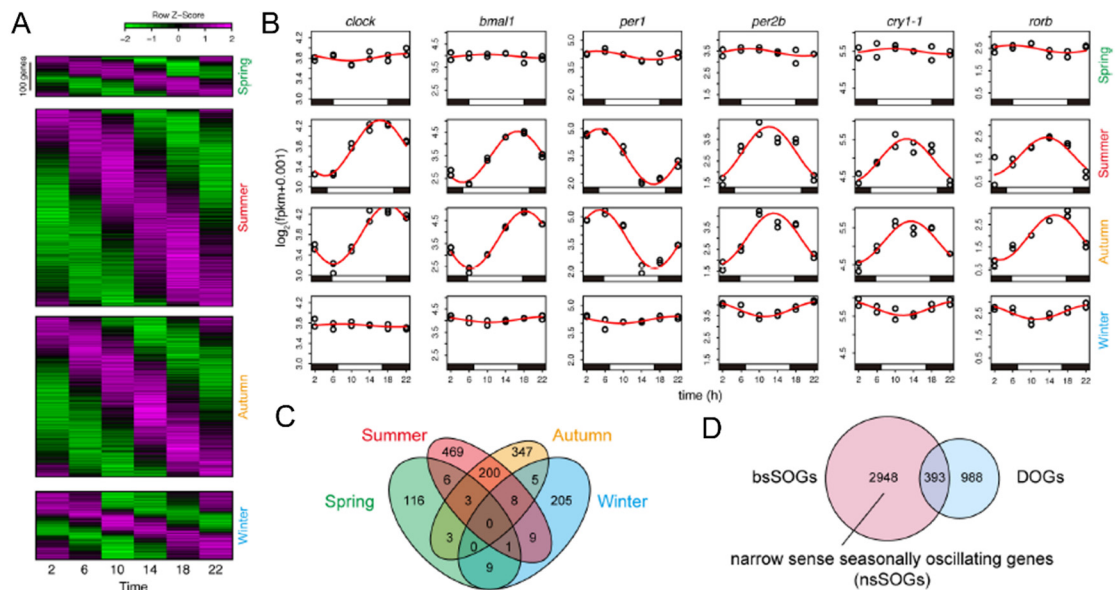


図 2. (A-C) 春分、夏至、秋分、冬至のそれぞれ季節に日内変動する遺伝子を同定した. (D) 日内変動を伴わない狭義の季節変動遺伝子を同定した.

(3) メダカの生殖腺の季節変動を制御する環境因子の同定

屋外の自然条件下で飼育したメダカにおいて、毎月、2 年間にわたって生殖腺指数を算出するとともに、環境の日長、日射量、水温の情報を記録した。ここで得られた 1 年目のデータを test データとして 2 年目の結果を予測したところ、メダカの生殖腺の季節変化は自身の生殖腺の変化の履歴に最も影響を受けており、そこにさらに日長、水温、日射量の環境情報が加わると、予測の精度が向上することが明らかになった。この結果から、メダカが外部環境の変動に直接応答しているわけではなく、内因性の時計機構によって季節のリズムを刻んでいるという可能性が示唆された。

#### (4) メダカの概年時計の解析

これまでに概年リズムが観察されている生物種の記録から、概年リズムは特定の日長条件下で顕在化することが報告されている。そこで、メダカを長日条件（14 時間明期 10 時間暗期）、春分条件（12 時間明期 12 時間暗期）、短日条件（10 時間明期 14 時間暗期）でそれぞれ 500 日に渡って飼育し、産卵を指標とした概年リズムを観察した（図 3A）。概年リズムの振幅は繁殖条件の長日条件下でもっと大きかったが、周期解析を行ったところ、いずれの条件においても約 6 か月の概年リズムを示すことが明らかになった（図 3B,C）。

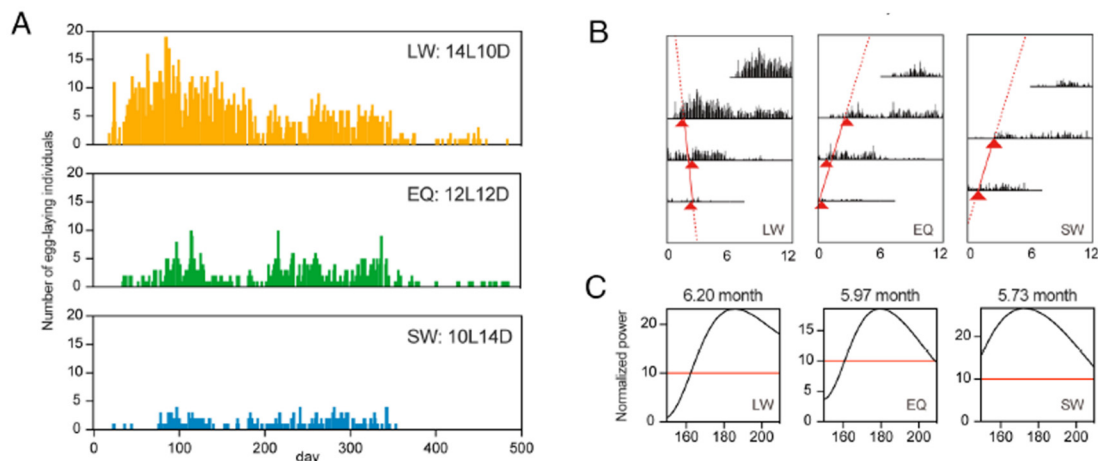


図 3. それぞれの日長条件下でのメダカの産卵リズム(A)とその周期解析の結果(B,C).

#### (5) 概年時計の位相応答

内因性の体内時計の外部刺激に対する応答は位相依存的であり、一定ではない。これを確認するために、様々な季節に長日、温暖の夏の刺激を与え、位相応答曲線を作成したところ、概年リズムなどの位相応答曲線と同様な位相応答曲線が得られ、内因性の概年時計の存在が裏付けられた。

#### (6) 概年遺伝子の探索

長日条件の恒常条件下で毎月、視床下部・下垂体を採材し、トランスクリプトーム解析を行い、恒常条件下で概年リズムを刻む遺伝子を同定した(図 4A)。同定した概年遺伝子について、Gene Ontology 解析を行ったところ、細胞分裂、細胞分化を担う遺伝子が概年リズムを刻んでいることが明らかになった。

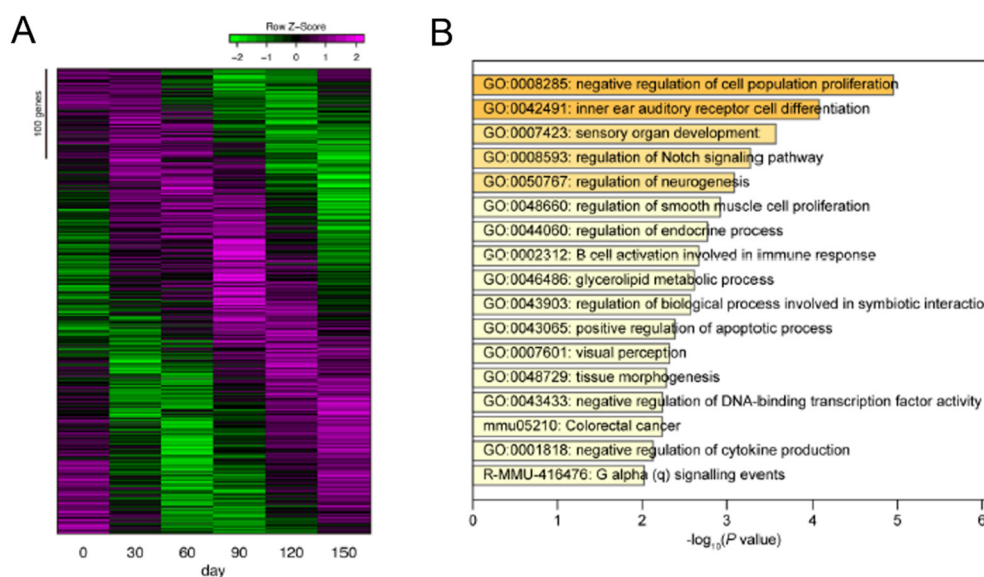


図 4. 同定した概年遺伝子(A)の gene ontology 解析の結果(B).

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Nakayama Tomoya, Tanikawa Miki, Okushi Yuki, Itoh Thoma, Shimmura Tsuyoshi, Maruyama Michiyo, Yamaguchi Taiki, Matsumiya Akiko, Shinomiya Ai, Guh Ying-Jey, Chen Junfeng, Naruse Kiyoshi, Kudoh Hiroshi, Kondo Yohei, Naoki Honda, Aoki Kazuhiro, Nagano Atsushi J., Yoshimura Takashi	4. 巻 120
2. 論文標題 A transcriptional program underlying the circannual rhythms of gonadal development in medaka	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences USA	6. 最初と最後の頁 e2313514120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2313514120	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 -

1. 著者名 Shinomiya Ai, Adachi Daisuke, Shimmura Tsuyoshi, Tanikawa Miki, Hiramatsu Naoshi, Ijiri Shigeo, Naruse Kiyoshi, Sakaizumi Mitsuru, Yoshimura Takashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Variation in responses to photoperiods and temperatures in Japanese medaka from different latitudes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Zoological Letters	6. 最初と最後の頁 16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40851-023-00215-8	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 -

1. 著者名 Nakayama Tomoya, Hirano Fuka, Okushi Yuki, Matsuura Kosuke, Ohashi Miki, Matsumiya Akiko, Yoshimura Takashi	4. 巻 814
2. 論文標題 Orphan nuclear receptor nr4a1 regulates winter depression-like behavior in medaka	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 137469 ~ 137469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2023.137469	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 -

1. 著者名 Maruyama M, Furukawa Y, Kinoshita M, Mukaiyama A, Akiyama S, Yoshimura T	4. 巻 17
2. 論文標題 Adenylate kinase 1 overexpression increases locomotor activity in medaka fish	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 e0257967
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0257967	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 -

1. 著者名 Chen Junfeng, Okimura Kousuke, Yoshimura Takashi	4. 巻 161
2. 論文標題 Light and Hormones in Seasonal Regulation of Reproduction and Mood	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/endo/bqaa130	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 Nakayama T, Okimura K, Shen J, Guh YJ, Tamai TK, Shimada A, Minou S, Okushi Y, Shimmura T, Furukawa Y, Kadofusa N, Sato A, Nishimura T, Tanaka M, Nakayama K, Shiina N, Yamamoto N, Loudon AS, Nishiwaki-Ohkawa T, Shinomiya A, Nabeshima T, Nakane Y, Yoshimura T	4. 巻 117
2. 論文標題 Seasonal changes in NRF2 antioxidant pathway regulates winter depression-like behavior	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA	6. 最初と最後の頁 9594~9603
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2000278117	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 Yassumoto Tamiris I., Nakatsukasa Mana, Nagano Atsushi J., Yasugi Masaki, Yoshimura Takashi, Shinomiya Ai	4. 巻 15
2. 論文標題 Genetic analysis of body weight in wild populations of medaka fish from different latitudes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0234803
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0234803	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 -

1. 著者名 Ikegami Keisuke, Refetoff Samuel, Van Cauter Eve, Yoshimura Takashi	4. 巻 15
2. 論文標題 Interconnection between circadian clocks and thyroid function	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Reviews Endocrinology	6. 最初と最後の頁 590~600
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41574-019-0237-z	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 該当する

1. 著者名 Guh Ying-Jey, Tamai Takako K, Yoshimura Takashi	4. 巻 95
2. 論文標題 The underlying mechanisms of vertebrate seasonal reproduction	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the Japan Academy, Series B	6. 最初と最後の頁 343 ~ 357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2183/pjab.95.025	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 -

〔学会発表〕 計36件 (うち招待講演 36件 / うち国際学会 16件)

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Understanding underlying mechanisms of infradian rhythms
3. 学会等名 The 10th Congress of Asian Sleep Research Society and Asian Forum of Chronobiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Photoperiod and seasonal reproduction
3. 学会等名 InSC School in Chronobiology 2023 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 月のリズムと季節のリズムの分子基盤
3. 学会等名 下垂体研究会第37回学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 脊椎動物の概年リズムの分子基盤
3. 学会等名 日本睡眠学会第45回定期学術集会第30回日本時間生物学会学術大会合同大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 脊椎動物の概年時計の分子機構
3. 学会等名 2023年度生理学研究所研究会「極限環境適応」（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Molecular basis of the circannual clock
3. 学会等名 The 61st Annual Meetings of the Biophysical Society of Japan（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Understanding the mystery of biological clocks: Learning from unique animals to contribute for food production and human health
3. 学会等名 JAACT2023（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年



1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 ユニークな動物から明らかになった驚きの季節適応戦略
3. 学会等名 第47回鳥類内分泌研究会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 自然条件下の魚類と哺乳類からみえてきた脊椎動物の季節適応機構
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第45回大阪大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Towards understanding the mystery of biological clocks: an interdisciplinary approach
3. 学会等名 iCeMS Retreat（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Towards understanding molecular mechanisms of infradian rhythms
3. 学会等名 19th International Conference on Retinal Proteins（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 季節繁殖の分子機構～鍵分子同定までの道のりとその後の展開
3. 学会等名 第29回日本時間生物学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 脊椎動物の季節適応機構：鳥類、魚類、霊長類をモデルとした比較生物学的アプローチ
3. 学会等名 第68回日本実験動物学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Towards understanding molecular mechanisms of infradian rhythms
3. 学会等名 The 18th Sapporo Symposium on Biological Rhythm（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 メダカ、ウズラ、マウス、アカゲザルに学ぶ動物の季節適応の仕組み
3. 学会等名 第35回日本下垂体研究会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Molecular basis of vertebrate seasonal adaptation
3. 学会等名 The 27th Japan Medaka and Zebrafish Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 脊椎動物の季節適応機構の解明
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 季節や月のリズムと動物の環境適応戦略
3. 学会等名 2021年度生理学研究所研究会「極限環境適応」(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 脊椎動物の季節適応戦略
3. 学会等名 第28回日本時間生物学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Understanding infradian rhythms by multi-omics approach
3. 学会等名 2nd International RMBPD Colloquium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Molecular basis of vertebrate infradian rhythms
3. 学会等名 EMBO   EMBL Symposium: Biological oscillators: design, mechanism, function (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 比較生物学から迫る脊椎動物の季節適応機構
3. 学会等名 第68回日本生態学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Seasonal clock: Towards the understanding of human seasonal clocks
3. 学会等名 The 12th Sleep Respiration Forum online from Barcelona (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 脊椎動物の季節適応機構
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Molecular and neuroendocrine mechanism of vertebrate seasonal reproduction
3. 学会等名 SAGE Pre V WCC Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Molecular basis of seasonal changes in behavior
3. 学会等名 V World Congress of Chronobiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Understanding molecular basis of seasonal changes in behavior
3. 学会等名 European Congress for Endocrinology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Molecular basis of seasonal changes in behavior in medaka
3. 学会等名 The 10th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshimura T
2. 発表標題 Molecular basis of seasonal changes in behavior
3. 学会等名 XVI Congress of the European Biological Rhythms Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉村崇
2. 発表標題 脊椎動物の行動の季節変化の分子基盤の解明に向けて
3. 学会等名 日本動物学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Nakayama T, Okubo K, Ansai S, Yoshimura T	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Humana Press	5. 総ページ数 429
3. 書名 Circadian Clocks, Neuromethods	

〔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			
スウェーデン	Uppsala University			
英国	マンチェスター大学			
米国	シカゴ大学			