

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 3月 31日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390066

研究課題名（和文） 環境からみた概日リズムの統合的研究

研究課題名（英文） Integrative analyses of circadian rhythms based on environment

研究代表者

内匠 透（TAKUMI TORU）

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：00222092

研究成果の概要（和文）：

概日リズムシステムの分子機構をゲノムワイドに理解するために、ChIP-seq および ChIP-chip を用いて、BMAL1 のゲノム上結合部位の網羅的解析を行った。Gene Ontology 解析から、BMAL1 が直接制御する遺伝子群には代謝プロセスに関わる遺伝子が有意に含まれ、また野生型と Bmal1 ノックアウトマウスの肝臓を用いて DNA マイクロアレイ解析を行った結果、グリコーゲン合成やコレステロール代謝に関わる遺伝子において顕著な差が見られた。これらの結果は、BMAL1 が介する遺伝子制御ネットワークのみならず、概日リズムと様々な生理的機能との分子的関連性に重要な知見を与えると考えられる。

研究成果の概要（英文）：

We use multiple high-throughput approaches including chromatin immunoprecipitation (ChIP)-based systematic analyses and DNA microarrays combined with bioinformatics, to generate genome-wide profiles of BMAL1 target genes. We reveal that, in addition to E-boxes, BMAL1 recognizes a consensus sequence CCAATG to elicit robust circadian expression. BMAL1 occupancy is found in more than 150 sites, including all known clock genes. Importantly, a significant proportion of BMAL1 targets include genes that encode central regulators of metabolic processes. The database generated in this study constitutes a useful resource to decipher the network of circadian gene control and its intimate links with several fundamental physiological functions.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
2010年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2011年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
総計	14,200,000	4,260,000	18,460,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：遺伝子、細胞・組織、環境、行動学、神経科学

1. 研究開始当初の背景
約 24 時間周期の概日リズム (circadian rhythm) は、24 時間で自転する地球環境に
適応すべく生命が獲得した生理現象と考え
られ、バクテリアからヒトに至るまでほぼ
すべての生物にそなわる基本的生命現象
である。生命の諸現象は、このリズムを
発振する生物時計 (biological clock) の
支配下において、互いに一定の時間関係
を保っている。

2. 研究の目的
本研究は、特に光、食事やストレスなど
の環境との関連に焦点をあてて、分子
から細胞、組織、そして個体レベルに
至るまで、ほ乳類の概日リズムの機構
を統合的に明らかにしようとするもの
である。

3. 研究の方法
ヒトをはじめとする哺乳類において、
概日リズムは睡眠、代謝、摂食など様
々な生理機能に影響し、ホメオスタシ
スの維持と密接に関与している。概日
リズムは、bHLH-PAS ドメインを有す
る転写因子 BMAL1/CLOCK (NPAS2) の
ヘテロ二量体と PER、CRY 遺伝子群
による転写・翻訳のフィードバックル
ープによって調節され、精巧な遺伝子
発現システムを制御している。我々は、
概日リズムシステムの分子機構をゲノ
ムワイドに理解するために、全ゲノム
クロマチン免疫沈降シーケンス法 (ChIP-
seq) およびマイクロアレイ法 (ChIP-
chip) を用いて、BMAL1 のゲノム上
結合部位の網羅的解析を行った。

4. 研究成果
ChIP-seq 解析より 172 箇所 (連続する
Tag>10.0)、ChIP-chip 解析より 32 箇
所 (Fold change>5.0) の BMAL1 結
合領域を同定し、共通する 8 遺伝子
には既知の Per1、Per2、Cry1、Cry2、
Rev-erba、Dbp、Tef と新規 BMAL1
制御遺伝子 Gm129 が含まれていた。レ
ポーター解

析から、Gm129 は BMAL1/CLOCK に
より増強される転写活性を抑制する機
能を有し、概日リズムシステムの新規
因子を担う可能性が示唆された。また
ChIP-seq より得られた配列よりモチ
ーフ解析を行った結果、リズム発振に
重要な CACGTG エlement (E-box) に
加え、転写活性に重要な CATTGG
Element を同定した。さらに、Gene
Ontology 解析から、BMAL1 が直接
制御する遺伝子群には代謝プロセスに
関わる遺伝子が有意に含まれ、また
野生型と Bmal1 ノックアウトマウスの
肝臓を用いて DNA マイクロアレイ解
析を行った結果、グリコーゲン合成
やコレステロール代謝に関わる遺伝子
において顕著な差が見られた。これら
の結果は、BMAL1 が介する遺伝子制
御ネットワークのみならず、概日リズ
ムと様々な生理的機能との分子的関
連性に重要な知見を与えると考えら
れる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 10 件)

1. G. Mazzocchi, Y. Cai, S. Liu, M. Francavilla, F. Giuliani, A. Piepoli, V. Paziienza, M. Vinciguerra, T. Yamamoto and T. Takumi: REV-ERBa and the clock gene machinery in mouse peripheral tissues: a possible role as a synchronizing hing. *J. Biological Regulators & Homeostatic Agents*, in press. 査読有, 2012
2. W. Kim, T. Matsui, M. Yamao, M. Ishibashi, K. Tamada, T. Takumi, K. Kohno, S. Oba, S. Ishii, Y. Sakumura and Y. Bessho: The period of the somite segmentation clock is sensitive to Notch activity. *Mol. Biol. Cell*, 22, 3541-3549, 2011. 査読有
3. F. Hatanaka, C. Matsubara, J. Myung, T. Yoritaka, N. Kamimura, S. Tsutsumi, A.

Kanai, Y. Suzuki, P. Sassone-Corsi, H. Aburatani, S. Sugano and T. Takumi: Genome-wide profiling of the core clock protein BMAL1 targets reveals strict relationship with metabolism. *Mol. Cell Biol.* 30, 5636-5648, 2010. 査読有

4. K. Tamada, S. Tomonaga, F. Hatanaka, N. Nakai, K. Takao, T. Miyakawa, J. Nakatani and T. Takumi: Decreased exploratory activity in the model mouse for 15q duplication syndrome; implication in disturbance of serotonin signaling. *PLoS ONE*, 5, e15126, 2010. 査読有

5. 内匠 透 : 概日時計と気分障害. *Clinical Neuroscience* 28 : 720-721, 2010. 査読無

6. J. Nakatani, K. Tamada, F. Hatanaka, S. Ise, H. Ohta, K. Inoue, S. Tomonaga, Y. Watanabe, Y. J. Chung, R. Banerjee, K. Iwamoto, T. Kato, M. Okazawa, K. Yamauchi, K. Tanda, K. Takao, T. Miyakawa, A. Bradley and T. Takumi: Abnormal behavior in a chromosome-engineering mouse model for human 15q11-13 duplication seen in autism. *Cell*, 137, 1235-1246, 2009. 査読有

7. Y. Watanabe, K. Inoue, A. Okuyama-Yamamoto, N. Nakai, J. Nakatani, K. Nibu, N. Sato, Y. Iiboshi, K. Yusa, G. Kondoh, J. Takeda, T. Terashima and T. Takumi: Fezf1 is required for penetration of the basal lamina by olfactory axons to promote olfactory development. *J. Comp. Neurol.*, 515, 565-584, 2009. 査読有

8. R. B. Sothorn, G. Cornelissen, T. Yamamoto, T. Takumi and F. Halberg: Time microscopy of circadian expression of

circadian clock gene mRNA transcription: chronodiagnostic and chrono-therapeutic implications. *Clin. Ter.*, 160, ep25-34, 2009. 査読有

9. R. B. Sothorn, T. Yamamoto, G. Cornelissen, T. Takumi and F. Halberg: Central and peripheral circadian clock genes, their statistical analysis for rhythms, and relationship to health and disease. *Scripta Med.*, 82, 133-163, 2009. 査読有

10. J. S. Pendergast, W. Nakamura, R.C. Friday, T. Takumi and S. Yamazaki: Robust food anticipatory activity in BMAL1-deficient mice. *PLoS ONE*, 4, e4860, 2009. 査読有

[学会発表] (計 11 件)

1. Yousuke Yamawaki, Atsuko Takano, Toru Takumi: The phosphorylation of PERIOD2 via glycogen synthase kinase 3 β has the possibility of the regulator in the depression-like behavior, The 32nd Naito Conference, Hokuto, Yamanashi, Oct 18-21, 2011

2. Toru Takumi: Rhythm and the blues Worldsleap 2011, Oct 16-20, 2011, Kyoto

3. Fumiyuki Hatanaka, Chiaki Matsubara, Jihwan Myung, Takashi Yoritaka, Naoko Uemura, Shuichi Tsutsumi, Akinori Kanai, Yutaka Suzuki, Hiroyuki Aburatani, Sumio Sugano, Toru Takumi: Genome-wide profiling of the core clock protein BMAL1 targets reveals strict relationship with metabolism 第 34 回日本神経科学大会 2011 年 9 月 14-17 日 (横浜)

4. 畠中史幸、松原千明、Jihwan Myung、寄高崇志、上村直子、堤修一、金井昭教、鈴木

譲、油谷浩幸、菅野純夫、内匠透：転写因子 BMAL1 のゲノム網羅的研究、第52回日本生化学会大会中国・四国支部例会 2011年5月13・14日（広島）

5. 畠中史幸、松原千明、寄高崇志、上村直子、堤修一、金井昭教、鈴木譲、油谷浩幸、菅野純夫、内匠透：転写因子 BMAL1 のゲノム網羅的研究、第33回日本分子生物学会年会、第83回日本生化学会大会合同大会 2010年12月7-10日（神戸）

6. T. Nakamura, T. Takumi, A. Takano, H. Kikuchi, and Y. Yamamoto: Alterations of locomotor activity dynamics in circadian-clock mutant mice. EMBL Workshop on Translating Behaviour: Bridging Clinical and Animal Model Research. EMBL, Heidelberg, Germany, November 14 - 16, 2009.

7. 内匠透：時計と気分、第62回日本自律神経学会総会 2009年11月5-6日（和歌山）

8. Toru Takumi: Molecular correlations between circadian rhythm and mood disorder 第82回日本生化学会大会 2009年10月21-24日（神戸）

9. 高野敦子、内匠透：うつ病ラットモデルを用いたリチウムシグナルとサーカディアンリズム解析、第82回日本生化学会大会 2009年10月21-24日（神戸）

10. Toru Takumi: Molecular interaction between circadian rhythm and mood disorders, XI Congress of the European Biological Rhythms Society 22-28 August 2009 (Strasbourg, France)

11. Toru Takumi: Circadian biology of SCN, XXXVI International Congress of Physiological Sciences 27 July- 1 August 2009 (Kyoto)

〔図書〕（計2件）

1. 内匠透. リズムと精神疾患. 時間生物学. 海老原史樹史、吉村崇編. 化学同人、京都：pp103-104, 2012.

2. 内匠透. 体内時計のからくり. NPO法人脳の世紀推進会議 編. クバプロ. 東京：pp75-96, 2010.

〔その他〕

ホームページ等

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/anatomy2/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内匠透 (TAKUMI TORU)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：00222092

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：