

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24390055

研究課題名(和文)概日時計システムの発達と環境因子：時計遺伝子機能と細胞間情報伝達

研究課題名(英文)Clock gene functions in the development of circadian system and effects of environmental factors

研究代表者

本間 さと (Honma, Sato)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・特任教授

研究者番号：20142713

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,500,000円

研究成果の概要(和文)：ほ乳類の生物時計、視交叉上核(SCN)が時計遺伝子Cryの機能により生後発達の過程で、質的に異なる組織時計を形成するに至る分子・細胞基盤を明らかにすることを目的とし、単一培養SCN細胞からの遺伝子発現、細胞内Ca<sup>2+</sup>レベル、膜電位などを同時にモニターする系の構築、Cry欠損マウスSCNと野生型SCNの共培養、ペプチド発現の遺伝子操作および薬理学的実験などを行った。その結果、SCNのCRY非依存性ネットワークに関わるシグナルが新生児期に分泌される液性シグナルであること、AVP細胞の時計が行動制御に重要であること、出生後の連続照明がCRY欠損による行動リズム出力障害を代償することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The hypothalamic suprachiasmatic nucleus (SCN), the site of the central circadian clock of mammals, exhibits circadian rhythms in clock gene expression and neuronal activities from the late fetal period through the end of life. We found that the neonatal SCN is clock gene Cry independent while Cry is indispensable for circadian rhythm expression in the adolescent SCN. Molecular and cellular mechanisms for coherent circadian rhythm expression in the SCN was examined using molecular and pharmacological techniques such as multiple bioluminescent reporters, co-culture of knockout and wild type SCNs. We found that peptidergic signals are critically involved in the CRY independent integration of cellular circadian rhythms, and continuous light exposure during postnatal development compensates the disorganization of behavior rhythms due to CRY deficiency.

研究分野：環境生理学

キーワード：生体リズム 視交叉上核 時計遺伝子 イメージング

## 1. 研究開始当初の背景

哺乳動物の生物時計、視床下部視交叉上核 (SCN) は、固有のリズム周期の神経細胞が同期して安定した概日周期を発振するとともに、環境の 24 時間の明暗サイクルに同調し (Welsh et al. *Neuron* 1995, Honma et al. *NeurociLett*, 1998)、全身の末梢時計を同調して生理機能に周期性と時間的秩序を与える (Liu et al. *PNAS*, 2007)。哺乳類の時計遺伝子クローニング以降、分子時計研究は飛躍的に発展し、CLOCK/BMAL1 による時計遺伝子 *Per*、*Cry* の転写促進と蛋白質産物による転写抑制というフィードバックループが細胞内リズム発振のための分子時計機構と考えられてきた。さらに、生物発光レポーターの導入による遺伝子発現リアルタイム計測は、時計機能研究を一段と加速させた (Yamazaki et al. *Science* 2001)。これに対し、組織としての時計機能研究は、分子時計研究に大きく遅れをとっており、ヘテロな細胞の階層構造、環境因子によるダイナミックな位相調節、ノイズ耐性、昼間の光を遮断するゲート機構などの分子・細胞基盤は未だ不明である。我々は、時計遺伝子 *Bmal1* のリズム発現 (Honma et al. *BBRC* 1998)、*Dec1*、*Dec2* が関与する分子ループによる振動安定化機構 (Honma et al. *Nature* 2002)、*Clock* 変異の組織レベルでの代償 (Nakamura et al. *Nat Neurosci.* 2002)、行動開始と終了を駆動する SCN 内の 2 振動体の存在 (Inagaki et al. *PNAS*, 2007) など、SCN の組織時計としての特徴を示す重要な発見をしてきた。さらに、分子フィードバックを形成する *CRY1,2* を共に欠損し、概日振動が停止しているとされてきたマウス (van der Holst et al. *Nature*, 1998) において、個々の SCN 細胞がリズムを発振することを見出し、*CRY* が時計細胞組織化の生後発達に必須のタンパクである可能性を示した。*CRY* を欠損すれば、細胞内振動が停止するという、これまでの分子フィードバックループ仮説を覆す画期的な本発見は、生物時計の発達・成長における遺伝子機能という新たな研究テーマを生み出し、本研究を提案するに至った。

## 2. 研究の目的

本研究では、SCN に局在するほ乳類生物時計が、成長に伴い質的に異なる組織時計を形成するに至る分子・細胞基盤を明らかにする。このため、培養 SCN 細胞から遺伝子発現、細胞内  $Ca^{2+}$  レベル、膜電位などを長期間モニターし、野生型と変異細胞の共培養、ペプチドによる情報伝達の操作などの分子・細胞・薬理的操作を駆使し、組織時計に必要な分子・細胞種を同定し、成長に伴う液性・神経性ネットワーク形成と再編によるリズム同期機序を明らかにすると共に、組織レベルでの時計遺伝子障害の代償機構を解明することを目的とする。また、光による時計の組織化の分子機構に迫る。

## 3. 研究の方法

### (1) 実験動物：

実験は、C57BL/6J バックグラウンドの *Per1-luc* マウス、*PER2::LUC* knock-in マウス、*Bmal1-Eluc* マウス、*Per1-dEGFP* マウス、および、*AVP::ELUC* knock-in mouse の新生児から成獣までの各段階の雌雄マウスを用いた。また、これらのバックグラウンドの *Cry1/Cry2* 欠損 (*Cry* 欠損) マウス、VIP 受容体 2 の欠損マウス (*VPAC2* ノックアウト) を用いた。

### (2) 組織培養：

新生児は Tissue chopper にて、成獣は Microslicer にて SCN 冠状断を作成し、Millicell Culture Insert 上で培養した。分散培養：胎児および生後 5 日までの新生児 SCN を酵素処理にて分散し、単一細胞～高密度培養まで、異なる細胞密度で培養を行った。単一神経細胞培養にはアガロース上コラゲンマイクロアイランド法を用い、細胞密度とリズム安定性を検討した。

### (3) 発光リズム計測：

スライス全体の発光計測には Lumicycle (Actimetrics 社) および Kronos (アトー社) を用い、数日から数週間の培養を行い遺伝子発現リズムの有無、振幅・周期・波形、薬理的・分子生物学的操作への対応を検討した。発光イメージングには、SCN スライスおよび分散培養細胞を LV200 (オリンパス社)、セルグラフ (アトー社) および自作の顕微鏡搭載発光イメージングシステムを用い数日から 2 週間の連続イメージングを行い、単一細胞およびピクセルレベルでの発光リズムの解析を行った。

### (4) マルチ電極アレイディッシュ：

MED64 システム (Alpha MED Scientific) を用い、培養 SCN スライスおよび分散培養 SCN 神経細胞より自発発火と発光、さらには  $Ca^{2+}$  リズムとの同時計測を行った。

### (5) 蛍光イメージング：

細胞内  $Ca^{2+}$  のリズムを FRET プロブ Yellow Cameleon 3.60 (単独計測) あるいは GCaMP6S (同時計測) を神経特異的プロモーター支配下にアデノ随伴ウイルスベクターにて新生児 SCN スライスに導入した。培養は導入 1 週間後より数日～1 週間 1 時間毎の連続測定を行った。

### (6) 行動リズム計測：

マウスを個別ケージに飼育し、自発行動リズムを赤外線センサーにて 1 分毎に計測した。恒常照明実験では、誕生日より 7 週間恒常明 (300 Lux) 下で飼育し、その後恒常暗とした。離乳までは母親と同腹の仔を恒常明におき、離乳後は単独飼育とした。

### (7) リズム解析：

行動および発光リズムの周期解析はカイ二乗ペリオドグラム法、およびウェーブレット解析にて行った。また、時系列イメージング画像は、ピクセルレベルでコサイン法にて周期、ピーク位相、振幅を算出し、概日リズムの有意性は、パーセントリズム法 ( $p < 0.01$ ) によった。これにより、SCN の部位、細胞種による概日リズム特性を検討した。

## 4. 研究成果

(1) 発達過程における SCN 細胞リズム間ネットワークに関わる細胞・分子基盤：

*CRY* 欠損マウスは、これまで概日リズム発

振のための分子ループのフィードバックが停止し、概日リズムが消失した無周期マウスと考えられてきた。一方、我々は、CRY欠損マウスのSCNが、新生児期には安定した概日周期リズムを発振し、成長の過程でそれが消失する事実を発見した。この研究成果は、主要事実の発見後、論文作成のための実験および査読過程での追加実験の成果であり、詳細は論文に報告した。本研究では、発光と電気活動の同時計測系を構築し、新生児期に細胞リズムが時計遺伝子発現と電気活動の両方に見られることを示した。CRY欠損SCNのリズムは野生型並みの振幅を持ち、同期しているが、周期が有意に短い事、また、電気活動では、同期したまま、周期が大きく変動することがあることも明らかにした(図1)。

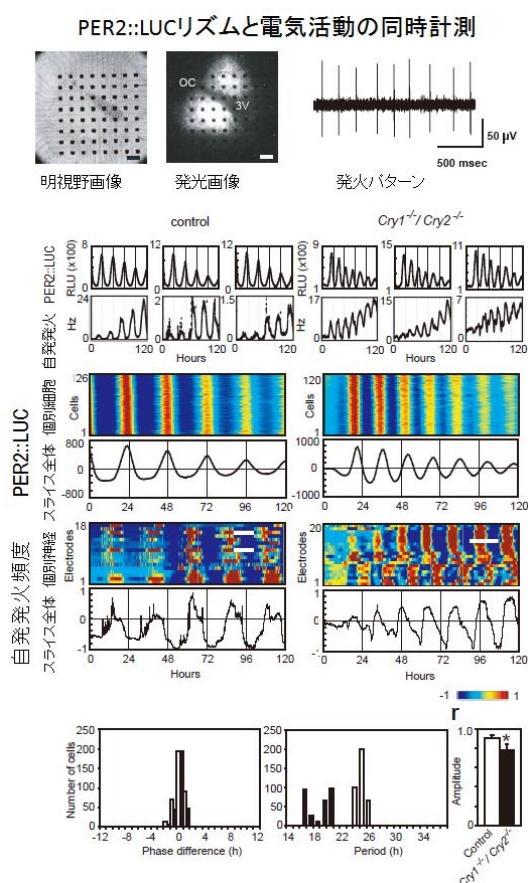


図1: PER2::LUCと電気活動の同時記録。同時計測時の明視野画像、発光画像、1電極における発火パターンの代表例を最上段に、CRY欠損(右)と野生型(左)のSCNスライス培養の一例を中段に示す。個々の発光リズムと電気活動リズムの個別データを時系列データとラスタプロットで示し、その下にSCN全体のパターンを示した。最下段は周期分布(左: PER2::LUC、中: 電気活動、右振幅)。

SCN内ネットワーク形成と維持に関わるメカニズムにシナプス連絡が関わっているか否かを、Na<sup>+</sup>チャネル阻害剤のテトロドトキシン(TTX)投与によるシナプス連絡の遮断により

検討した。生後7日のCRY欠損および野生型マウスのSCNを培養し、発光イメージングにてPER2::LUCを連続測定中にTTXを投与した。SCNの個々の細胞におけるPER2::LUCリズムは、投与前はCRY欠損マウスも安定した高振幅の同期したリズムを示した。TTX投与下ではCRY欠損、野生型とも細胞リズムの振幅が低下したが、CRY欠損ではその周期が大きく分散した。この結果、Na<sup>+</sup>チャネルを介するシナプス連絡がCRY非依存性同期に重要であることが分かった。

次に、同期シグナルに液性因子が関わっているか、また、発達過程でどのように変化するかを、細胞リズムが脱同調している成獣CRY欠損マウスのPER2::LUCリズムを指標に、共培養により検討した。成獣CRY欠損マウスを培養し、LumicycleまたはKronosで発光を測定し、その上に、培養1日目のレポーターを導入していない野生型マウスSCNを共培養した。共培養するマウスは、生後、1, 7, 14, 21日目のマウスより採取した。その結果、生後1, 7日目の野生型SCNは成獣CRY欠損SCNにリズムを回復させ、生後21日のSCNでは回復は無かった(図2)。このため、新生児期に分泌される液性因子がCRY欠損マウスの細胞リズムを同期させること、CRY欠損成獣マウスのSCNには受容体など液性因子に反応する機能が保存されていることが分かった。

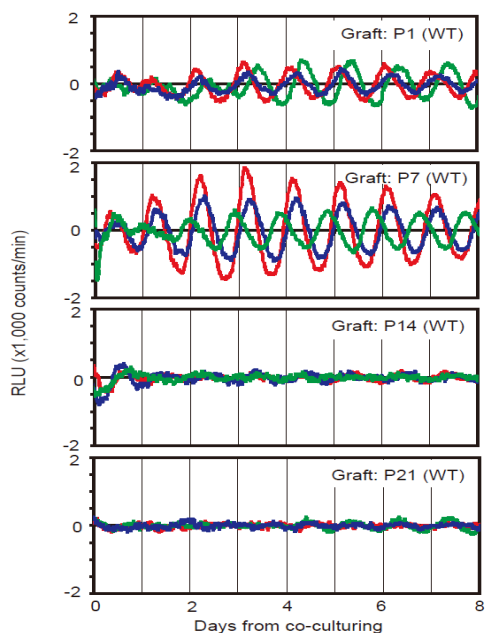


図2: 共培養によるリズム回復。組織レベルでリズムがみられない成獣CRY欠損SCNに、野生型マウスSCNを、共培養をした当日からPER2::LUCリズムを示す。3例ずつのデータを、色を変えて表示した。

また、CRY欠損マウスの新生児SCNの共培養ではリズムは回復するものの、振幅が野生型の共培養に比較して有意に低いこと、野生型のCortexの共培養ではリズムは回復しない



ことが分かった。このため、新生児期にはCRY欠損SCNでも同期のためのシグナルが分泌されていること、野生型においてもSCNで分泌されているペプチドであり、単なる物理的な刺激や、脳組織に普遍的に存在する物質ではないことが明らかとなった。しかし、SCNの主要ペプチドであるAVP, VIP, GRPの滴下でリズムは回復せず、VIP投与では一時的な発光上昇のみが観察された。このため、これらのペプチドの一過性上昇だけではリズム同期作用がないことが分かり、VIPについては何等かの同期シグナルとなる可能性も示唆された。

### (2) 発達期の光環境とCRY機能(文献)

CRY欠損マウスのSCNにおける発達期の機能的変化を検討するため、出生直後から恒常明で飼育した。恒常明暴露は、野生型マウスではSCNの細胞リズムを脱同調させることで行動リズムを消失させると報告されている一方、新生児では恒常明暴露により、成獣になってからのメラトニン分泌の光抑制への抵抗性が獲得されることが知られている。このため、出生後7週間に渡り300ルクスの恒常明に暴露した。その結果、恒常明でも一部のマウスに自発行動リズムが観察され、測定した9例全例のCRYマウスで恒常暗暴露後に有意の自発行動リズムが出現した(図3)。リズム周期は、個体により異なり、野生型恒常暗での周期に比較し広く分布した。また、出現後も、相対的協調を示すもの、途中で周期が変わるものがあった。背後のメカニズムの探索のため、SCNの時計遺伝子リズムを測定したが、リズム発現は一部のマウスに限られ、行動リズムとの乖離が確認された。発達期の恒常明は、SCN細胞の一部の同期に関わることが明らかとなった。

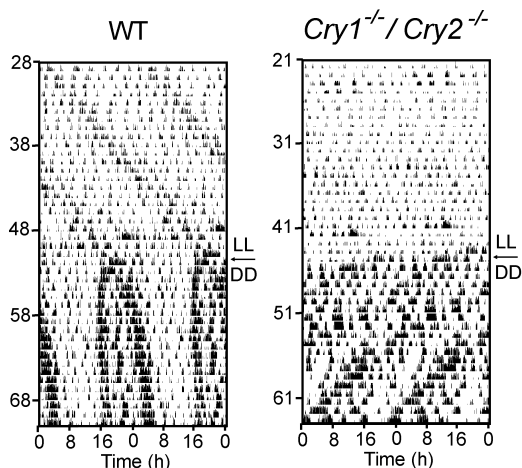


図3：恒常明(LL)の下で飼育し、生後48日目に恒常暗(DD)に移行した野生型(WT、右)とCRY欠損(左)の各1例の自発行動リズム。

### (3) SCN細胞におけるカルシウムリズム

細胞内カルシウムは、細胞外からの情報伝達の二次メッセンジャーであると同時に細

胞内の分子時計機構からの出力を担うメッセンジャーであると考えられる。本研究では、アデノ随伴ウイルスを用いてSCN神経細胞特異的にCa<sup>2+</sup>センサー蛋白Yellow Cameleon 3.60を発現させて、ニポウディスク型共焦点顕微鏡を用いたタイムラプスイメージングシステムを構築し(論文②)、SCNスライス表面のほぼ100%の神経細胞のカルシウムリズムを解析することに成功した。その結果、部位特異的な位相関係をもつ有意のカルシウムリズムが存在することが明らかとなった(文献②)。TTX投与で細胞リズムは振幅が30%ほど低下し、入力系シグナルの占める割合を反映すると考えられる。しかし、細胞リズムは安定して持続し、細胞内の固有のリズム発振には影響しないことが明らかとなった。しかし、TTXによりSCNの背側部と腹側部間の振動体が徐々に脱同期することが明らかとなった(図4)。Na<sup>+</sup>依存性の神経連絡で部位特異的振動体が同期しており、それぞれの部位に局在する振動体と、同期のメカニズムが異なることが推測された。

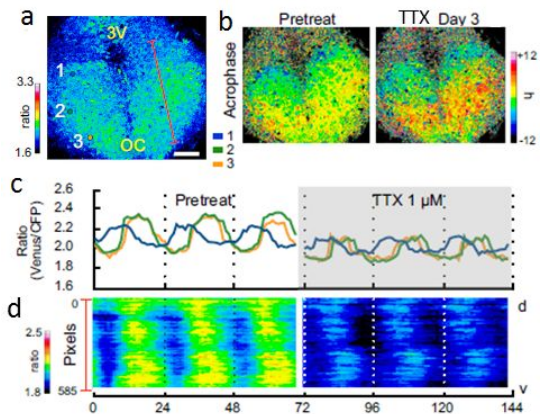


図4：SCN細胞内Ca<sup>2+</sup>リズムとTTXの影響  
a. ピクセルレベルのリズム解析による位相map. b. TTX投与前と投与3日目の位相map. c. aの1~3で示した細胞内Ca<sup>2+</sup>リズム. d. aの赤線部位のリズムのラスタプロット。

### (4) 概日振動発振におけるAVPの役割

SCNの外郭部(背部)の主要ペプチドであるAVPは、時計関連遺伝子でもあり、*in vivo*, *in vitro*とも明瞭な転写、分泌リズムを示す。しかし、SCNの細胞間ネットワークにおける機能は未だ不明である。機能解析の障害の1つが適当なレポーターがないことであった。そこで、AVPプロモーター下流にELuc cDNAを挿入して相同組替えベクターを作成した(文献)。受精卵に注入し、AVP-ELucノックインマウスを得た。本マウスではSCNのみならず室傍核(PVN)、視索上核(SON)でも発現に概日リズムがみられたが、SCNに比較して周期、振幅が不安定であった。SCNのリズムも、組織レベルでは安定していたが、個々の細胞リズムは、リズム振幅、位相のday-to-day variationが大きかった。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 29 件)

Yamanaka Y, Honma S and Honma K. Mistimed wheel-running interferes with re-entrainment of circadian *Per1* rhythms to shifted light-dark cycles in the mouse skeletal muscle and lung. *Genes Cells*. 21:264-274. 2016. 査読有, doi: 10.1111/gtc.12336. 2015. Yoshikawa T 他 8 名 7 番 Spatiotemporal profiles of arginine vasopressin transcription in cultured suprachiasmatic nucleus. *Eur. J. Neurosci*. 42:2678-2689, 2015. 査読有, doi: 10.1111/ejn.13061.

Tsuchiya Y, Minami Y, Umemura Y, Watanabe H, Ono D, Nakamura W, Takahashi T, Honma S, Kondoh G, Matsuishi T, Yagita K. Disruption of MeCP2 attenuates circadian rhythm in CRISPR/Cas9-based Rett syndrome model mouse. *Genes Cells*, 20:992-1005, 2015. 査読有, doi: 10.1111/gtc.12305.

Honma A, Yamada Y, Nakamaru Y, Fukuda S, Honma K. and Honma S. Glucocorticoids reset the nasal circadian clock in mice. *Endocrinology* 156:4302-4311, 2015. 査読有, doi: 10.1210/en.2015-1490.

Ono D, Honma S and Honma K. Circadian *PER2::LUC* rhythms in the olfactory bulb of freely moving mice depend on the SCN but not on behavior rhythms. *Eur. J. Neurosci*. 42:3128-3137, 2015. 査読有, doi:10.1111/ejn.13111.2015.

Mieda M, Ono D, Hasegawa E, Okamoto H, Honma K, Honma S and Sakurai T. Cellular clocks in AVP neurons of the SCN are critical for interneuronal coupling regulating circadian behavior Rhythm. *Neuron*. 85:1103-1116, 2015. 査読有, doi: 10.1016/j.neuron.2015.02.005.

Ono D, Honma K and Honma S. Circadian and ultradian rhythms of clock gene expression in the suprachiasmatic nucleus of freely moving mice. *Scientific Rep*. 5:12310, 2015. 査読有, doi: 10.1038/srep12310.

Tokuda I, Ono D, Ananthasubramaniam B, Honma S, Honma K and Herzog H. Coupling controls synchrony of clock cells in development and knockouts. *Biophysical J*. 109:2159-70, 2015. 査読有, doi: 10.1016/j.bpj.2015.09.024.

Nishide S, Hashimoto K, Nishio T, Honma K and Honma S. Organ specific development characterizes circadian clock gene *Per2* expression in rats. *Am. J. Physiol. Reg. Integ. Comp. Physiol*. 306:R67-74, 2014. 査読有, doi: 10.1152/ajpregu.00063.2013.

Natsubori A, Honma K and Honma S. Dual regulation of clock gene *Per2* expressions in discrete brain areas by the circadian pacemaker

and methamphetamine-induced oscillator in rats. *Eur. J. Neurosci*. 39:229-240, 2014. 査読有, doi: 10.1111/ejn.12400.

Kon N, Yoshikawa T, Honma S, Yamagata Y, Yoshitane H, Shimizu K, Sugiyama Y, Hara C, Kameshita I, Honma K, Fukada Y. CaMKII is essential for the cellular clock and coupling between morning and evening behavioral rhythms. *Genes Dev*. 28:1101-1110, 2014. 査読有, doi: 10.1101/gad.237511.114.

Ono D, Honma K and Honma S. Simultaneous and long-term measurement of gene expression and neuronal activity from a brain slice. *Protocol Exchange*. 査読無し, doi:10.1038/protex.2014.010, 2014.

Natsubori A, Honma K and Honma S. Differential responses of circadian *Per2* expression rhythms in discrete brain areas to daily injection of methamphetamine and restricted feeding in rats. *Eur. J. Neurosci*. 37:251-258, 2013. 査読有, doi: 10.1111/ejn.12034

Yoshikawa T, Matsuno A, Yamanaka Y, Nishide S, Honma S and Honma K. Daily exposure to cold phase-shifts circadian clock of neonatal rat *in vivo*. *Eur. J. Neurosci*. 37:491-497, 2013. 査読有, doi: 10.1111/ejn.12052.

Kononenko KI, Honma S and Honma K. Fast synchronous oscillations of firing rate in cultured rat suprachiasmatic nucleus neurons: possible role in circadian synchronization in the intact nucleus. *Neurosci. Res*. 75:218-227, 2013. 査読有, doi: 10.1016/j.neures.2013.01.003

Ono D, Honma S and Honma K. Postnatal constant light compensates Cryptochrome1 and 2 double deficiency for disruption of circadian behavioral rhythms in mice under constant dark. *PloS One* 8:e80615, 2013. 査読有, doi: 10.1371/journal.pone.0080615.

Yamada Y, Nishide S, Nakajima Y, Watanabe T, Ohmiya Y, Honma K and Honma S. Monitoring circadian time in rat plasma using a secreted Cypridina luciferase reporter. *Anal. Biochem*. 439: 80-87, 2013. 査読有, doi: 10.1016/j.ab.2013.04.019.

Natsubori A, Honma K and Honma S. Differential responses of circadian *Per2* rhythms in cultured slices of discrete brain areas from rats showing internal desynchronization by methamphetamine. *Eur. J. Neurosci*. 38:2566-2571, 2013. 査読有, doi: 10.1111/ejn.12265.

Yamanaka Y, Honma S and Honma K. Daily exposure to running-wheel entrains circadian rhythms in mice in parallel with development of pre-exposure increase in spontaneous movement. *Am. J. Physiol. Reg. Integ. Comp. Physiol*. 305:R1367-75, 2013. 査読有, doi: 10.1152/ajpregu.00389.2013.

Ono D, Honma S and Honma K. Cryptochromes are critical for the development of coherent circadian rhythms in the mouse suprachiasmatic nucleus. *Nat. Comm.* 4:1666. 2013. 査読有, doi: 10.1038/ncomms2670

- ⑳ Ozaki N, 他10名6番 Regulation of brain basic helix-loop-helix transcription factors Dec1 and Dec2 by ROR $\alpha$  and their roles in adipogenesis. *Genes Cells*, 17:109-21, 2012. 査読有, doi: 10.1111/j.1365-2443.2011.01574.x.
- ㉑ Enoki R, 他 6 名 4 番 Topological specificity and hierarchical network of the circadian calcium rhythm in the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 109:21498-21503, 2012. 査読有. doi: 10.1073/pnas.1214415110.
- ㉒ Kwon HJ, 他 6 名 3 番 Synchronized ATP oscillations have a critical role in prechondrogenic condensation during chondrogenesis. *Cell Death Dis.* 3: e278, 2012. 査読有, doi: 10.1038/cddi.
- ㉓ Yoshitane H, Honma S, 他 12 名 JNK regulates the photic response of the mammalian circadian clock. *EMBO Report.* 13:455-561, 2012. 査読有, doi: 10.1038/embor.2012.37.
- ㉔ Kasukawa T, 他 9 名 5 番 Human blood metabolite timetable indicates internal body time. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109(37):15036-41, 2012. 査読有. doi: 10.1073/pnas.1207768109.
- ㉕ Enoki R, Ono D, Hasan TM, Honma S and Honma K. Single-cell resolution fluorescence imaging of circadian rhythms detected with a Nipkow spinning disk confocal system. *J. Neurosci. Meth.* 207:72-79, 2012. 査読有, doi: 10.1016/j.jneumeth.2012.03.004.

〔学会発表〕(計 81 件)

Honma S. Development and adaptability of the master circadian clock in the suprachiasmatic nucleus. *Japanese Society for Chronobiology, International Symp.* 11.7, 2014. 「九州大学医学部百年講堂(福岡県・福岡市)」

Honma S. Cell network and system level circadian clocks in mammals. *Presidential Symposium, SRBR2014*, 7. 14-19, 2014. 「Big sky, Montana (USA)」

Honma S. Monitoring the circadian clock's tick. *4<sup>th</sup> International Symposium on Photonic Bioimaging*, 9.16-17, 2012. 「北海道大学学術交流会館(北海道・札幌市)」

〔図書〕(計 7 件)

Ono D, Kori H, Honma S, Daan S and Honma K. Cellular circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus: An oscillatory or a stochastic process? In: Honma K. (ed) *Dynamics of Circadian Oscillation in the SCN*, Hokkaido Univ.Press, Sapporo, pp.21-32, 2014.

Enoki R, Honma S and Honma K. Imaging Circadian Calcium Rhythm in the Suprachiasmatic Nucleus. In: Honma K.(ed) *Dynamics of Circadian Oscillation in the SCN*, Hokkaido Univ.Press, Sapporo, pp.33-45, 2014.

Honma S, Ono D and Honma K. Cellular oscillators in the suprachiasmatic nucleus for behavior rhythm expression in the mouse lacking CRYPTOCHROME. In: Honma K. (ed) *Dynamics of Circadian Oscillation in the SCN*, Hokkaido Univ.Press, Sapporo, pp.79-89, 2014. Honma K, Ono D, Honma S and Tokuda I. Bout oscillator: hypothetical circadian oscillators for activity bouts. In: Honma K. (ed) *Dynamics of Circadian Oscillation in the SCN*, Hokkaido Univ. Press, Sapporo, pp.91-105, 2014.

Tokuda I, Herzog H, Ono D, Honma S and Honma K. Oscillator Network modeling of the suprachiasmatic nucleus in *Cry1/Cry2* double deficient mice. In: Honma K. (ed) *Dynamics of Circadian Oscillation in the SCN*, Hokkaido Univ. Press, Sapporo, pp.139-153, 2014.

Honma S, Ono D and Honma K. Oscillator cell networks in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus, the mammalian circadian clock. In: Yamaguchi Y. (ed) *Advances in Cognitive Neurodynamics (III)*, Springer, Tokyo, pp.185-190, 2013.

Honma S 他 5 名 Suprachiasmatic nucleus: cellular clocks and networks. In: Kalsbeek A, Mellow M, Roenneberg T and Foster RG. (eds) *Progress in Brain Research 199:129-141*, The Neurobiology of circadian timing, Elsevier, Amsterdam, 2012.

〔産業財産権〕なし

〔その他〕なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

本間 さと (HONMA, Sato)  
北海道大学大学院医学研究科・特任教授  
研究者番号: 20142713

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者

平田快洋 (HIRATA, Yoshihiro)  
北海道大学大学院医学研究科・特任助教  
研究者番号: 90399824

仲村朋子 (NAKAMURA, Tomoko)  
(吉川朋子) (YOSHIKAWA, Tomoko)  
北海道大学大学院医学研究科・特任助教  
研究者番号: 30451397

徳田 功 (TOKUDA, Isao)  
立命館大学理工学部・教授  
研究者番号: 00261389