

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：24303

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659109

研究課題名(和文) 生体内単一ニューロン記録法による概日リズム発現の神経回路解析

研究課題名(英文) Single-cell recording of suprachiasmatic nucleus in rodent

研究代表者

八木田 和弘 (YAGITA, Kazuhiro)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90324920

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：概日リズムの乱れは、様々な疾患や健康障害の発症リスクとなることが明らかになってきている。本研究課題では、生きたラットやマウスから、概日リズムの中核である視交叉上核(SCN)の単一ニューロンから電気活動を記録し、光照射時における視交叉上核における中枢時計の情報統合過程とリセットの仕組みを解明する事を目的としている。その結果、非常に難しいと思われた生きたマウス視交叉上核の単一ニューロンからの記録および光照射時の反応をとらえることが、確率は低いながら可能であることが分かった。

研究成果の概要(英文)：Single-cell based neural activity recording from the suprachiasmatic nucleus is important to understand the resetting mechanism of circadian rhythm in mammals. We performed single-cell neural activity recording from living rat or mouse suprachiasmatic nucleus. We succeeded to record the single-cell neural activity responded to the light in mice and rats. It must be useful strategy to elucidate the resetting mechanisms in mammalian circadian clock.

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：概日リズム 視交叉上核 単一ニューロン 電気活動

1. 研究開始当初の背景

概日リズム(サーカディアンリズム)はほとんどの生物に認められる普遍的な生命現象である。概日リズムを駆動するのは、「概日時計」あるいは「体内時計」と呼ばれる生体内に内在する機構によるものが知られている。一方で、概日リズムは外部環境の影響で変化することも知られている。うつ病を代表とする気分障害に概日リズム障害が密接に関連している事実(Haderら、*Ann. Med.*, 2005 など)や、交代制勤務の人々に見られる種々の健康障害が概日リズムの乱れに起因するものが少なくないこと(Knutssonら、*Occup. Med.*, 2003 など)は、外部環境の窓口である概日時計が担う生体適応(リセット)の破綻が、多くの疾患や症状の誘因のひとつとなっていることを示している。

概日時計の中核は視床下部にある視交叉上核(SCN)である。視交叉上核は、全身の組織にある末梢時計を調律し、行動リズムや自律神経リズムを制御している。近年、時計遺伝子の発見などで視交叉上核の解析も飛躍的に進んだが、未だに全く分かっていない古くからの疑問がある。現在でも、概日リズムのリセットを担っている視交叉上核内での情報伝達や情報統合の仕組みは不明な部分が多い。

2. 研究の目的

概日リズムの乱れは、様々な疾患や健康障害の発症リスクとなることが明らかになってきている。つまり、概日リズムの乱れを修正するリセットのメカニズムは、心身の健康を維持に重要な役割を果たしている。

概日リズムの最も強いリセット因子は「光」であるが、概日リズムの中核である視交叉上核内には網膜から直接入力を受けるニューロンと、受けないニューロンが混在している。しかし、これらの機能分担と情報伝達・統合の仕組みはほとんど分かっていない。

今回、生きたラットから、視交叉上核(SCN)の単一ニューロンから電気活動を記録し、光照射時における視交叉上核における中枢時計の情報統合過程とリセットの仕組みを解明する。

3. 研究の方法

視交叉上核が、網膜からの投射を受ける腹外側領域(VLSCN)と、投射を受けない背内側領域(DMSCN)に明瞭に分かれているラットを用いる。

まず、1)視交叉上核のニューロンの活動を「in vivo 単一ニューロンレコーディング法」を用いて長時間記録する。2)ラットに光を照射して、反応するVLSCNニューロンと投射を受けないDMSCNニューロンの活動を記録し、光による刺激がVLSCNからDMSCNニューロンにどのように伝わるかを解析する。

3)単一ニューロン活動を記録しながらトレーサー色素を注入し、記録しているニューロンがどのような回路を形成しているのかを、免疫組織化学法と組み合わせて解析する。

以上の結果を統合し、視交叉上核における機能的形態学的局所神経回路を解明する。

4. 研究成果

概日リズムの乱れは、様々な疾患や健康障害の発症リスクとなることが明らかになってきている。つまり、概日リズムの乱れを修正するリセットのメカニズムは、心身の健康を維持に重要な役割を果たしている。

概日リズムの最も強いリセット因子は「光」であるが、概日リズムの中核である視交叉上核内には網膜から直接入力を受けるニューロンと、受けないニューロンが混在している。しかし、これらの機能分担と情報伝達・統合の仕組みはほとんど分かっていない。本研究課題では、生きたラットから、視交叉上核(SCN)の単一ニューロンから電気活動を記録し、光照射時における視交叉上核における中枢時計の情報統合過程とリセットの

仕組みを解明する事を目的としている。これまでに視交叉上核における単一ニューロンからの電気活動の記録およびトレーサー注入の条件検討を行った。その結果、非常に難しいと思われた単一ニューロンからの記録および光照射時の反応をとらえることが、確率は低いながら可能であることが分かった。また、本研究テーマとも一部関連する基盤的研究についても他の研究費のテーマと相乗効果が期待できる部分について解析を行い、末梢臓器における概日時計リセット機構や細胞レベルでの概日時計成立機構に関する知見を得た。

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3件)

Okubo N, Minami Y, Fujiwara H, Umemura Y, Tsuchiya Y, Shirai Y, Oda R, Inokawa H, Kubo T, Yagita K*.

Prolonged Bioluminescence Monitoring in Mouse ex vivo Bone Culture Revealed Persistent Circadian Rhythms in Articular Cartilages and Growth Plates., *PLoS One*, 8, e78306, 2013 (査読有り) (*Corresponding author)

Koinuma S, Asakawa T, Nagano M, Furukawa K, Sujino M, Masumoto KH, Nakajima Y, Hashimoto S, Yagita K, Shigeyoshi Y. Regional circadian period difference in the suprachiasmatic nucleus of the mammalian circadian center., *Eur J Neurosci*..38, 2832-41, 2013 (査読有り)

Umemura Y, Yoshida J, Wada M, Tsuchiya Y, Minami Y, Watanabe H, Kondoh G, Takeda J, Inokawa H, Horie K, Yagita K*. An in vitro ES cell-based clock recapitulation assay model identifies

CK2a as an endogenous clock regulator. *PLoS One*, 8, e67241, 2013 (査読有り) (*Corresponding author)

[学会発表](計12件)

Yagita K., Circadian Clock: A cell-autonomous time-keeping system in our body. 6th Asia Oceania Conference of Photobiology, Sydney, 2013 (Invited speaker)

Yagita K., ES cell-based approach elucidating the integrated physiology of mammalian circadian systems. 4th International Symposium on Photic Bioimaging 2012, Sapporo, 2012 (Invited speaker)

Yagita K., Cell-autonomous development of mammalian circadian clock during the differentiation culture of ES cells. *International Conference for Histochemistry and Cytochemistry 2012*, Kyoto, 2012 (Invited speaker)

八木田和弘, : 「Misregulation of transcriptional program controlling the cellular differentiation resulted in disruption of the circadian clock development.」, 日本生理学会大会, 鹿児島, Mar 16. 2014 (シンポジスト・オーガナイザー)

八木田和弘, : 「イメージング技術を用いた生体機能のCutting Edge」, 関西実験動物研究会 30周年記念大会, 京都, Dec. 6. 2013 (シンポジスト)

八木田和弘, : 「ES細胞を用いた概日時計のin vitro再現と分化制御機構との関連」, 第36回日本分子生物学会, 神戸, Dec. 5. 2013 (ワークショップ講演・オーガナイザー)

八木田和弘, : 「MYC induced disruption of circadian clock development」, 第

86回日本生化学会，横浜，Sep. 11. 2013

（シンポジスト・オーガナイザー）

八木田和弘，：「体内時計はいつ動き出すか」，第14回日本抗加齢医学会，横浜，June. 30. 2013（シンポジスト・オーガナイザー）

八木田和弘，：「ES cell-based in vitro evaluation system of circadian clock phenotypes in mammals」，第90回日本生理学会大会，東京，2013（シンポジスト・オーガナイザー）

八木田和弘，：「体内時計の発生・発達」，第1回日本発達神経科学会，明石，2012（特別講演）

八木田和弘，：「発生発達期における概日リズムの階層的形成」，第17回日本行動神経内分泌研究会，京都，2012（教育講演）

八木田和弘，：「時間軸生物学：細胞分化と概日時計の接点」，第12回日本抗加齢医学会総会，横浜，2012（シンポジスト・オーガナイザー）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

八木田 和弘 (YAGITA, Kazuhiro)
京都府立医科大学・医学研究科・教授
研究者番号：90324920

(2) 研究分担者

井之川 仁 (INOKAWA, Hitoshi)
京都府立医科大学・医学研究科・講師
研究者番号：40285250