

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25242077

研究課題名(和文) 気分障害と概日リズムの分子相関理解のための統合的研究

研究課題名(英文) Integrative research on mood and clock

研究代表者

内匠 透 (Takumi, Toru)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・シニアチームリーダー

研究者番号：00222092

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 36,300,000円

研究成果の概要(和文)：気分障害と概日リズムとの関連は従来から示唆されているところであるが、その分子相関研究は、時計遺伝子を含む様々なリズムの定量的アッセイ系が確立された現在でこそ可能になったプロジェクトである。本研究では、気分障害の新規エンドフェノタイプを同定・確立するとともに、そのシグナルパスウェイを明らかにした。本研究の成果として得られる新規抗体やモデルマウスは、これまでの概念とは一線を画す新規診断法や治療薬のスクリーニング系の開発基盤となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Dysfunction of mood and the circadian clock together represent a large proportion of mental illness with adverse economic impact. Clinical and genetic evidence indicates that the two disorders are co-regulated but direct molecular evidence is lacking. We showed that GSK3 phosphorylation of PER2 is essential for co-regulation of mood and the circadian clock. In rodent depression models, we observed defective circadian rhythms associated with the loss of synchronized phosphorylation of GSK3. Both molecular and behavioral phenotypes were restored by lithium, a mood stabilizer. GSK3 phosphorylation in PER2 was essential for both mood and circadian behaviors. Strikingly, Per2 mutant mice were resistant to both lithium and learned helplessness, a depression model. Together, these findings show that mood and the circadian clock share a coherent molecular mechanism and reveal the potential for synchronized drug and behavioral therapy of mood and circadian disorders.

研究分野：脳科学

キーワード：概日リズム 気分障害 時計遺伝子 リン酸化

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトゲノム計画が修了した現在、様々な生理現象、またその破綻である疾患の分子的理解は急速に進んでいる。しかしながら、脳機能、とりわけ精神機能及び精神疾患に関しては、まだまだ未解明な分野であり、特に分子的理解は他領域に比べて極めて遅れていると言わざるを得ない。精神機能の分子の基盤が明らかになることで、生物学から離れていた精神機能への分子のアプローチ、それに基づく薬物的治療も可能になる。

未知の現象を科学的に検証する場合に、もっとも大事な事柄の一つは、現象の定量的な解析である。しかし、精神機能に関しては、的確な定量的アッセイ法が存在しない。例えば、気分に関しても、その定量的評価は極めて困難である。ただ、気分障害に関しては、従来から概日リズム(生物時計)との関連が示唆されている。すなわち、うつ病患者の多くには概日リズムの障害がみられる(うつに限らず、多くの精神疾患の初発症状は睡眠障害である)、また季節性感情障害では光療法が有効である等のことが知られている。

概日リズムは、生物時計で規定される24時間周期の生物リズムで、(24時間周期で自転する)地球上に生息するほとんどすべての生物に備わる基本的生命現象である。ヒトを含む哺乳類の概日リズムは、入力系、振動体、出力系の3つに分けることができる。最大の入力系は光であるが、食事や社会的キューも同調因子となりうる。振動体は脳視床下部の視交叉上核(Suprachiasmatic nucleus, SCN)に存在するが、最近では末梢臓器や培養細胞にも分子時計を含む時計機構は存在することがわかっている。出力系としては、睡眠・覚醒リズムを含む行動リズム、ホルモン分泌の他、循環、代謝、消化等、自律神経系で制御されるほとんどすべての生理現象が含まれる。また、概日リズムの異常は、睡眠・覚醒障害のみならず肥満を含む代謝障害、癌等、さまざまな疾患との関連が示唆されている。

過去十数年の研究の進歩により、特に分子レベルでの概日リズムの機構解明が進み、同時に、分子から個体レベルに至る様々な実験手法が確立されてきた。従来から概日リズムと双極性障害を始めとする気分障害との関係は示唆されているが、時計遺伝子の同定や種々のリズムアッセイ法が確立した今、この古典的課題を特に分子レベルで取り込むことに意義があると考えた。最近のヒトの脳を用いたシステム生物学的解析で、大脳皮質のヒト特異的な転写ネットワークのハブ遺伝子として、時計遺伝子であるCLOCKが同定されていることは、時計遺伝子が睡眠障害、気分障害にかかわらず広く精神疾患とかかわる可能性を示唆している。

## 2. 研究の目的

本研究では、気分障害のあらたなエンドフェ

ノタイプを同定・確立するとともに、そのシグナルパスウェイを明らかにする。概日リズムと気分(障害)に関する分子相関を明らかにすることを通して、新規リン酸化特異抗体や新規気分障害モデルマウスの確立、さらには新規気分障害関連分子の同定を目的とする。

## 3. 研究の方法

分子生物学、細胞生物学的手法から行動解析に至るまでの多面的アプローチを含む統合的解析を行った。

## 4. 研究成果

(1)うつモデルである学習性無力(Learned Helplessness, LH)ラットの行動リズムの周期が短周期になること、(2)LHラット由来の線維芽細胞の細胞概日リズムも同様に短周期になること、(3)気分安定薬であるリチウム投与により、学習性無力が回復するだけでなく、これら *in vivo*, *in vitro* の概日周期が長くなりもどに戻ること、(4)リチウム阻害剤であるGSK3 $\beta$ のリン酸化型(p-GSK3 $\beta$ )の量的変化がみられること、(5)GSK3 $\beta$ ノックアウト由来の線維芽細胞ではリチウムによる概日周期の延長がみられないこと、(6)GSK3 $\beta$ の標的時計タンパク質として、PER2を同定したこと、さらに(7)Per2ノックアウトマウスでは、リチウムによる概日行動周期の延長がみられないことを明らかにした。

PER2リン酸化変異ノックインマウスの作製に成功した。行動解析の結果、PER2リン酸化変異ノックインマウスは睡眠相前進症候群と同じ表現型を示した。細胞生物学的解析により、PER2タンパク質の安定性や細胞内局在に異常が見られること明らかにした。

## 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24件)すべて査読有

1. Hughes AT, Croft CL, Samuels RE, Myung J, Takumi T, Piggins HD. Constant light enhances synchrony among circadian clock cells and promotes behavioral rhythms in VPAC2-signaling deficient mice. *Sci Rep.* 2015 Sep 15; 5: 14044. doi: 10.1038/srep14044.

2. Tanoue S, Fujimoto K, Myung J, Hatanaka F, Kato Y, Takumi T. DEC2-E4BP4 heterodimer represses the transcriptional enhancer activity of the EE element in the Per2 promoter. *Front Neurol.* 2015 Jul 23; 6: 166. doi: 10.3389/fneur.2015.00166.

3. DeWoskin D, Myung J, Belle MD, Piggins HD, Takumi T, Forger DB. Distinct roles for GABA across multiple timescales in mammalian circadian timekeeping. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Jul 21; 112(29): E3911-9. doi: 10.1073/pnas.1420753112.

4. Myung J, Hong S, DeWoskin D, De Schutter E, Forger DB, Takumi T. GABA-mediated repulsive coupling between circadian clock neurons in the SCN encodes seasonal time. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Jul 21; 112(29): E3920-9. doi: 10.1073/pnas.1421200112.

5. Goriki A, Hatanaka F, Myung J, Kim JK, Yoritaka T, Tanoue S, Abe T, Kiyonari H, Fujimoto K, Kato Y, Todo T, Matsubara A, Forger D, Takumi T. A novel protein, CHRONO, functions as a core component of the mammalian circadian clock. *PLoS Biol*. 2014 Apr 15; 12(4): e1001839. doi: 10.1371/journal.pbio.1001839.

6. Adachi AA, Fujioka A, Nagano M, Masumoto KH, Takumi T, Yoshimura T, Ebihara S, Mori K, Yokota Y, Shigeyoshi Y. Helix-loop-helix protein Id2 stabilizes circadian oscillation under constant light conditions. *Zoolog Sci*. 2013 Dec; 30(12): 1011-8. doi: 10.2108/zsj.30.1011.

7. Matsumura R, Matsubara C, Node K, Takumi T, Akashi M. Nuclear receptor-mediated cell-autonomous oscillatory expression of the circadian transcription factor, neuronal PAS domain protein 2 (NPAS2). *J Biol Chem*. 2013 Dec 20; 288(51): 36548-53. doi: 10.1074/jbc.M113.517235.

8. Nakamura T, Takumi T, Takano A, Hatanaka F, Yamamoto Y. Characterization and modeling of intermittent locomotor dynamics in clock gene-deficient mice. *PLoS One*. 2013; 8(3): e58884. doi: 10.1371/journal.pone.0058884.

[学会発表](計 22 件)

1. Toru Takumi. Mammalian circadian clock: Its mechanism, physiology and pathophysiology. IBRO/APRC Neuroscience School, 9-13 February, 2016 (Nagarkot, Nepal)

2. Toru Takumi. Mood and Clock. 4<sup>th</sup> Swiss Chronobiology Meeting, Sept 3, 2015 (Fribourg, Switzerland)

3. Forger DB, Myung J, Belle MDC, Cochran

A, DeWoskin D, Joshi A, Stinchcombe A, Walch OJ, Takumi T, Piggins H. Phase organization of clock neurons and its implications for mood disorders. XIV European Biological Rhythms Society (EBRS) and IV World Congress of Chronobiology (WCC), 2-6 August, 2015 (Manchester, UK)

4. Jihwan Myung, Toru Takumi. Plasticity of the circadian clock network enables a seasonal clock. 第 38 回日本神経科学大会 2015 年 7 月 28-31 日、神戸国際会議場 (神戸)

5. Toru Takumi. Rhythm and blues in mammals. 1<sup>st</sup> IBRO/APRC Chandigarh Neuroscience School, Nov 2-8, 2014, (Chandigarh, India)

6. Jihwan Myung, Toru Takumi. Plasticity in spatial patterning of clock phases in the neuron of the mammalian circadian center. Joint Annual Meeting of the Japanese Society for Mathematical Biology and the Society for Mathematical Biology, July 28-Aug 1, 2014 (Osaka)

7. Toru Takumi. Rhythms and blues in mice and cells Symposium on "Sleep, circadian rhythms and psychiatric disorders", May 13, 2014 (Paris, France)

8. Toru Takumi. Stress and circadian clock. 第 91 回日本生理学会大会 2014 年 3 月 16-18 日、鹿児島大学郡元キャンパス (鹿児島)

9. Toru Takumi. Rhythm and blues in mammals. The 2<sup>nd</sup> Annual IIS Symposium, 20 January 2014 (Tsukuba, Ibaragi)

10. 畠中史幸、内匠透. 新たなコア時計遺伝子 Chrono. 第 20 回日本時間生物学会学術大会 2013 年 11 月 9 日、近畿大学 (東大阪、大阪)

11. Toru Takumi. The final core clock gene, Chrono. 2nd Swiss Chronobiology Meeting, Sept 5, 2013 (Fribourg, Switzerland)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]  
出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：

出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

内匠 透 (Takumi Toru)

理化学研究所・脳科学総合研究センター・シ  
ニアチームリーダー

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：