

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2014

課題番号：26560460

研究課題名(和文) 発達期の生育環境による生体リズム異常のエピジェネティクス

研究課題名(英文) Epigenetics of developmental abnormality of biological rhythms

研究代表者

岡村 均 (Okamura, Hitoshi)

京都大学・薬学研究科(研究院)・教授

研究者番号：60158813

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：多くの精神疾患の原因は、遺伝的素因(脆弱性)と環境因子により規定されている。今回、遺伝的要素が強いとされる概日リズムが発達期の生育環境により影響を受けるかどうかを検証する。今回、遺伝的に均一な脆弱なマウスが飼育時のエピジェネティック効果により、異常を顕現するのかを検証した。遺伝的に脆弱な時計遺伝子を持つ仔マウスの行動リズムは、母親の行動リズム異常により異なった。この研究は、発達期の飼育環境が、生体リズム発振機構に影響を与えることを示唆しており、発達期の生体リズム環境の確立の重要性を示している。

研究成果の概要(英文)：Many psychiatric disorders such as manic depression and schizophrenia, are speculated to be caused by genetic predisposition and environmental factors. Circadian rhythm is also known as a brain function, and its molecular mechanisms are now well clarified. Here we examined the effect of haploinsufficiency of clock oscillatory system. Genetically uniform vulnerable mouse was nursed by normal mice or by mice with dysregulated clock at the time of breeding. Epigenetic effect was examined by measuring the period length of circadian behaviors. The results suggests that genetically determined circadian characteristics can be altered by epigenetic factors.

研究分野：時間医学

キーワード：生物リズム・エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

ヒトの概日リズムは、思春期になってはじめて確立されると言われ、胎児期、発達段階の小児期には、まだ発達段階に止まる。そのためか、小児の睡眠覚醒リズム障害は、正常小児でも見られる一般的な現象である。とりわけ、自閉症児にはその頻度は大きく上昇し、リズム異常による通常の日常生活適応への障害要因となっている。

躁うつ病や統合失調症など多くの精神疾患の原因は、遺伝的素因（脆弱性）に環境因子が加わって発症すると言われている。しかるに、素因のジェネティックな規定度や、生育環境などのエピジェネティックなものとの寄与度の解析は、現在でも不明である。

生体リズムはその駆動遺伝子が同定され、遺伝子による規定が強い現象と考えられている。今回、その遺伝子、分子機構が脳機能の中では最も解明された概日リズムを用いて、脆弱な時計遺伝子を抱えたマウスが、発達期の生育環境によりどのような生物学的にエピジェネティックな修飾によりリズム異常を発生するのかを、分子レベルで明らかにする。

2. 研究の目的

今回、強固な遺伝子制御を受ける概日リズム系が、生育環境によるエピジェネティック変異を受けるかどうかを検証した。我々は、遺伝的に脆弱な時計遺伝子を持つ仔マウスが、育児期に正常行動リズムを持つ母親マウスに育てられるのと、異常リズムを示す母親マウスに育てられるときとを比較した。

3. 研究の方法

遺伝的に均一な時計遺伝子の不全なマウスを作成し、リズム不全の母マウスに育てられたときと、正常マウスに育てられたときとで比較する。リズム不全マウスは、行動パターンの異常と共に、妊娠効率および妊娠維持が正常より劣るが、飼育条件を向上することで、交配可能となった。明暗（12時間明：12時間暗）環境下の元で、雄性リズム不全マウスと雌性野生型マウスの組み合わせ、または、雌性リズム不全マウスと雄性野生型マウスの組み合わせで交配させる。出産後、野生型母飼育群と、リズム不全母飼育群とにわけ、恒常暗条件で育児期を過ごさせ、離乳後初めて明暗条件の下で生活させる。8週齢におい

て、マウスの行動リズムを、恒常暗条件にて、赤外線センサーにて検出した。対照群として、野生型の仔マウスをリズム異常の母に飼育させ、8週齢において、恒常暗条件にて、行動リズムを赤外線センサーで検出した。

4. 研究成果および考察

リズム正常な野生型母親に飼育されると、遺伝的に脆弱な時計遺伝子を持つ仔マウスは全く異常なフェノタイプを示さなかった。しかし、リズム不全の母親が遺伝的に脆弱な時計遺伝子を持つマウスを飼育時には、離乳後に異常な行動リズムを示した。対照群として、野生型の仔マウスをリズム異常の母が飼育したときは、仔マウスは全く正常のリズムを示した。

今回の実験は、行動リズムが、発達期にエピジェネティック制御を受けることを示している。しかし、現在までの実験条件では、妊娠中は明暗条件下であり、胎内でのリズムが影響している可能性は否定できない。これは、妊娠率の低いリズム変異体の妊娠確認率の上昇を目指した処置であったが、今後、妊娠確認直後（妊娠中期）から恒常暗条件で妊娠期、育児期を過ごさせ、離乳後初めて明暗条件の下で生活させる試みを行なう。このような胎児期、育児期を通じてタイムキュー Time cues（時刻を認知させる要因）の全く無い環境で飼育すれば、仔マウスは母親の体内リズム産生機構が作る時間要素と、自らの遺伝子で規定された体内リズム産生機構の作る時間要素のみで時刻を知ることが出来ると期待される。

エピジェネティック機構の候補としては、時計遺伝子（Per1, Per2, Bmal1）のDNAメチル化、ヒストンメチル化、ヒストンのアセチル化に加えて、最近我々が明らかにした、ダイナミックな mRNA のメチル化が考えられる。mRNA メチル化制御とは、mRNA のアデノシン N6 位のメチル化(m⁶A)であり、時計遺伝子での m⁶A 化が生体リズムの周期を決定している（Fustin et al., Cell 2013）。現在、これらの機構を、生体リズム中枢である視交叉上核にて検索中である。

21世紀になって急速に長時間労働、交代制勤務が一般化し、生体リズムが乱れる社会変動が起こっており、両親の交替制勤務による、子供の睡眠覚醒リズムの異常が、発達段階の子供に与える影響が懸念されている。事実、

ヒトの生体リズムは思春期まで確立されず、小児の睡眠リズム障害は、正常小児でも見られる一般的な現象である(25%)。しかるに、発達障害児には頻度が高いと言われ、特に、自閉症スペクトラム(ASD)や FragileX 症候群(FXS)ではきわめて普遍的に存在し(60-95%)。その原因が注目されている。

生体リズムは、時計遺伝子の転写・翻訳フィードバックループの周期により決定される。時計遺伝子のフィードバックループは、ネガティブ因子を構成する PER1, PER2, CRY1, CRY2 の蛋白質レベルの動的な制御が主役となる。それには、PER2 蛋白質の casein kinase Iε (CKIε)によるリン酸化と、ユビキチン・プロテアソームによる蛋白質分解が想定されている。ヒトでのリン酸化の重要性は、PER2 のリン酸化部位の遺伝子変異を示す家系が、体内時計の周期が短いことで証明されている。今回の実験結果をさらに進展させ、遺伝的脆弱性を持つ個体の、生体リズム発達の確立に必要な要素を特定したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

Ota T, Doi M, Yamazaki F, Yarimizu D, Okada K, Murai I, Hayashi H, Kunisue S, Nakagawa Y, Okamura H. Angiotensin II triggers expression of the adrenal gland zona glomerulosa-specific 3β-Hydroxysteroid dehydrogenase isoenzyme through de novo protein synthesis of the orphan nuclear receptors NGFIB and NURR1. *Mol Cell Biol*, 34(20):3880-3894, 2014.

J.M. Fustin, 岡村均: 生体リズムの周期はメッセンジャーRNA のメチル化で変動する。医学のあゆみ 251, 179-180, 2014.

岡村均 パソプレッシン受容体と時差睡眠医療 8: 211-218, 2014.

岡村均, 土居雅夫 体内時計とアンギオテンシン II により制御される新規アルドステロン合成酵素と高血圧 最新医学 69 (887) 2329-2340, 2014.

〔学会発表〕(計3件)

岡村均:(特別講演) クロノメタボリズム: 時間相の医学生物学、第51回日本臨床分子医学会学術集会、2014年4月

11日 12日) 東京(東京国際フォーラム)

岡村均、特別講演 II、地球と時間と時計遺伝子、第39回日本睡眠学会定期学術集会、2014年7月3日 4日、徳島(あわぎんホール)。

Okamura H: (Invited Speaker) New inter- and intracellular regulations of the circadian pacemaker, in 14th SRBR meeting, June 15-18, 2014, at Big Sky, Montana (USA)

〔図書〕(計2件)

岡村均、山口賀章: 時差の分子機構とその治療。「脳内環境 維持機構と破綻がもたらす疾患研究」(遺伝子医学 MOOK26) 漆谷真, 山中宏二・樋口真人・高橋良輔(編集)、228頁、メディカルドゥ(大阪) 2014.

岡村均、山口賀章、脳内バソプレッシンと時差、「Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌 2015」, 寺内康夫・石橋俊・伊藤裕(編集)、209頁、中外医学社(東京) 2015年.

〔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

岡村 均 (OKAMURA HITOSHI)
京都大学・大学院薬学研究科・教授
研究者番号：60158813

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし