

メラトニン研究の歴史

飯郷 雅之[✉]

宇都宮大学農学部 生物生産科学科 応用生物化学講座 生物有機化学研究室

メラトニンは1958年にLernerらにより単離され、1959年に構造が*N*-acetyl-5-methoxytryptamineと決定された松果体ホルモンである。以来、今日に至るまで、メラトニン代謝系、合成制御機構、生理作用などが検討され、時間生物学の中心に位置するホルモンとなっている。本稿では、1917年のウシ松果体における黒色素胞明化物質の発見から、今日の分子生物学的展開まで、メラトニン研究の歴史を筆者の知るエピソードを交えて解説する。

1. はじめに

筆者は学部3年生だった1988年3月に東京大学農学部水産学科魚類生理学研究室に配属され、研究の世界へ第一歩を踏み出した。当時の研究テーマは「キンギョの排卵時刻を決定する生物時計の同定」であり、必然的に松果体とメラトニンを対象とした研究に携わるようになった [1-4]。以来二十数年の年月が流れ、その間に生物時計の研究対象の中心は、メラトニンや行動のリズムから時計遺伝子の分子生物学に移行し、メラトニン研究の歴史を知らない研究者も増えてきたように感じる。そこで本稿では、メラトニンの発見から今日の分子生物学的研究に至るメラトニン研究の歴史を筆者の知るエピソードを交えて解説し、時間生物学の発展におけるメラトニンの重要性を再認識する端緒としたい。

2. メラトニンの発見

松果体に含まれる物質がカエルのオタマジャクシの成長と変態におよぼす影響を調べるために、McCordとAllenは1915年にウシの松果体をカエル (*Rana pipiens*, *R. cantabrigiensis*, および *Bufo americana*) のオタマジャクシに食べさせる実験を行った。その結果、ウシの松果体を食べさせたオタマジャクシの体色が30分後に明化することを見いだした。彼らはウシ松果体のアセトンまたはエタノール抽出物に活性があることをすでに見いだしていた。この研究で

は12000尾のオタマジャクシが使用された。松果体抽出物の体色明化作用はイカでは見られなかったが、魚類 (*Fundulus*) では確認できたという。これらの結果は1917年に論文として出版された [5]。

Yale大学皮膚科のAaron Lernerは、皮膚のチロシナーゼやメラニン顆粒について研究を進めていた生化学者であり、皮膚の色の変化に関与するホルモンに興味を持った [6, 7]。下垂体から黒色素胞刺激ホルモン (MSH) を1955年に発見し [8]、1957年にアミノ酸配列を決定した [9]。また、1959年にはヒト副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) のアミノ酸配列も報告している [10]。当時Lernerの研究室に留学していた高橋善弥太は、40年近く前のMcCordとAllenの論文を見だし、1955年に「メラトニンプロジェクト」がスタートした [6, 7]。カエル (*R. pipiens*) の黒色素胞 (melanophore) のメラニン顆粒を凝集させて明化させる作用を彼らは「melatonin activity」と呼び、黒色素胞を用いたバイオアッセイによりメラトニンを単離精製し、1958年に報告した [11]。この論文には筆者が東京大学に入学した時に総長を務めていた森亘が名を連ねている。森がLernerの研究室に留学したのは、生化学者であるLernerが顕微鏡で黒色素胞の形態をきちんと見定めることのできる形態学者をチームに招き、異なる科学的バックグラウンドを持つチームを作り出すためであったと言う [7]。

[✉]iigo@cc.utsunomiya-u.ac.jp

50gの凍結乾燥ウシ松果体から単離精製された40mgの物質の構造が *N*-acetyl-5-methoxytryptamine と決定され、1 pg/mlの濃度で黒色素胞の明化を引き起こすことが1959年に報告された [12]。Lerner は25万個のウシ松果体を4年間のメラトニン単離・構造決定に使用した [6]。一方、現在筆者が研究対象としている魚類（アユやニジマス）の松果体を培養すると1個の松果体が暗期には1時間当たり約20 ngのメラトニンを分泌する [13, 14]。40mgのメラトニンを得るためには200個の松果体（1個の重さ約1 mg）を暗期に10時間培養して培養液を回収すれば良いことになる。Lernerらが大量にウシ松果体を必要としたのは、メラトニン合成に日周リズムが存在することがわかっていなかったため、明期にと殺されたウシから採取された松果体を用いていたためと考えられる。

3. 松果体の組織学と電気生理学

松果体に上頸神経節から交感神経が入力していることはKappersにより1960年に明らかにされた [15, 16]。また、Collin、Okscheらにより進められた比較形態学的研究により、哺乳類の松果体は内分泌腺の構造を取っているが、魚類や両生類の松果体には網膜の光受容細胞と良く似た構造の光受容細胞が存在することが示された [17-22]。魚類、両生類、鳥類などの松果体からは脳に神経の投射がみられるが、哺乳類には見られない。これらの構造の変化は、脊椎動物の進化の過程で松果体細胞が光受容能を失い、内分泌腺へと機能が特化していったことを示している。

魚類や両生類の松果体が直接光に対して応答することは電気生理学的に示された。1963年にDodtはニジマスの松果体が光応答を示すことを報告した [23, 24]。Dodtの研究室に留学した森田之夫はDodtとともに松果体の電気生理学的研究の世界の先駆者のひとりであった。また、筆者の卒業論文の指導教官であった羽生功は1969年に松果体の光受容細胞からの緩電位（光受容細胞の応答）を記録することに成功した [25]。松果体における光受容についての研究は、メラトニン合成の光による制御機構や生物時計のリセット機構解明へとつながっていくことになる。

4. メラトニンの代謝系

カテコールアミンの酵素による代謝系の解明により1970年にノーベル生理学医学賞を受賞したJulius

Axelrodにより、メラトニンの代謝系の大部分は解明された [26-28]。Lernerがメラトニンの構造を報告する前年、Axelrodはカテコール-*O*-メチルトランスフェラーゼ (EC2.1.1.6) を発見したが、この酵素はカテコールの水酸基をメトキシ化する酵素であり、メラトニンも同様にメトキシ化されて生合成されると予測し、ヒドロキシインドール-*O*-メチルトランスフェラーゼ (HIOMT、EC 2.1.1.4) を発見した [29]。HIOMTはアセチルセロトニン-*O*-メチルトランスフェラーゼとも呼ばれ、*S*-アデノシルメチオニンをメチル基供与体として*N*-アセチルセロトニンなどヒドロキシインドール化合物の-*O*-メチル化反応を触媒する酵素であり、メラトニン生合成の最終段階である*N*-アセチルセロトニンのメラトニンへの転換を司る。

Axelrodらは、1961年にセロトニンを*N*-アセチルセロトニンに転換するセロトニン*N*-アセチルトランスフェラーゼ（現在はアリルアルキルアミン*N*-アセチルトランスフェラーゼと呼ばれることが多い；AANAT、EC 2.3.1.87）も発見した [30]。AANATはアセチルCoAをアセチル基供与体として、セロトニン、トリプタミンなどのアリルアルキルアミンの*N*-アセチル化を触媒する。アリルアミンを主な基質とするアリルアミン*N*-アセチルトランスフェラーゼ (EC 2.3.1.5) とは別の酵素である。

現在では、メラトニンはトリプトファンから4段階の酵素反応でセロトニンを経て作られることが明らかになっている。トリプトファンはトリプトファンヒドロキシラーゼ (TPH、EC 1.14.16.4) により5-ヒドロキシトリプトファンに転換され、さらに芳香族L-アミノ酸デカルボキシラーゼ (AADC、EC 4.1.1.28) によりセロトニンに転換される。セロトニンはAANATにより*N*-アセチルセロトニンに転換され、HIOMTにより最終的にメラトニンが生成される。松果体から血中に分泌されたメラトニンは肝臓で水酸化されて6-ヒドロキシメラトニンとなり、硫酸抱合体（6-スルファトキシメラトニン）やグルクロン酸抱合体として尿中へ排泄される経路がメラトニン不活性化機構の主な経路である [28]。

5. メラトニンの日周リズム

松果体におけるインドール代謝に日周リズムが存在することは、Quayにより1963年に見いだされ [31]、網膜で受容された光により松果体におけるメラトニン合成が抑制されること、ならびにその交感神経系を介した制御がAxelrod 研究室のWurtman

やSnyderらにより報告された [32-34]。Snyderら [34] はラット松果体のセロトニン含量が明暗条件下では明期に高く暗期に低い日周リズムを示し、恒暗条件下でも存続するが、恒明条件下では消失することを示した。さらに、眼球を除去すると恒暗、恒明条件下ともにリズムが見られたが、上頸神経節の除去によりこのリズムは消失することも示した。

哺乳類松果体のメラトニン合成を制御する光情報は、網膜から網膜-視床下部神経路、視交叉上核、室傍核、上頸神経節を介して松果体に入力することはMooreらにより明らかにされた [35]。また、1970年にKleinらはメラトニン合成の律速酵素がAANATであることを発見した [36]。また暗期に交感神経から放出されるノルアドレナリンがcAMPを介してメラトニン合成を促進し、メラトニン合成の日周リズムが形成されることやAANAT活性の光による抑制が出口武夫、Kleinらの研究により明らかになった [37-42]。メラトニンの日周リズムが恒暗条件下でも自由継続し、サーカディアンリズムを示すことが報告されたのは1971年である [43]。また、出口、Illnerováは松果体のAANATリズムの生後発達を報告した [44, 45]。

1978年から1981年にかけてニワトリ松果体の研究に大きな進展が見られた。出口、Binkley、Menakerなど複数の研究室から器官培養されたニワトリ松果体のAANAT活性が恒暗条件下でサーカディアンリズムを示すことが報告された [46-50]。さらに出口は、ニワトリ松果体の細胞培養系でも同様のサーカディアンリズムが見られることを示した [51]。すなわち、ニワトリ松果体は中枢神経系から切り離された状態でも光受容能と生物時計機能を維持してメラトニン合成を制御することが明らかになり、鳥類の松果体に自律的な光感受性生物時計が存在することが確立された。同じ頃Menakerらはスズメの松果体交換移植実験を行い、松果体が行動リズムのペースメーカーであることを示した [52]。また、出口は光による松果体のAANAT活性抑制の作用スペクトルを作成し、ロドプシン様の光受容体がメラトニン合成の制御に関わっていることを予測した [53]。この研究は後に岡野俊行らやTakahashiらによる松果体の光受容体ピノプシンの発見へとつながる [54, 55]。

Takahashiらはニワトリ松果体の灌流培養を行って単一の松果体からメラトニンを長期連続測定する技術確立し [56]、Menakerらはトカゲの松果体の灌流培養を行ってメラトニン分泌リズムを指標に

生物時計の温度保償性を示した [57]。さらに、ZatzらとTakahashiらはそれぞれニワトリ松果体の細胞培養系を確立し、メラトニン分泌リズムの解析によりニワトリ松果体の生物時計機能の詳細な解析を進めた [58-60]。

6. メラトニン測定系

メラトニン発見時から使用されていたメラトニンのバイオアッセイの感度は十分高いものであったが、ステージの揃った元気なオタマジャクシをコンスタントに入手することは難しかった。メラトニンに対する抗体作成とラジオイムノアッセイ (RIA) による測定系は、1974年から1977年にかけてBrown、Arendt、Rollag、Kennawayなどが相次いで報告した [61-66]。また、この時代からガスクロマトグラフィー-質量分析法 (GC-MS) を用いたメラトニン測定がKennawayやLewyにより行われていたことは特筆すべきことであろう [66-67]。今日において、メラトニン測定の第一義的方法はRIAであるが、GC-MS、高速液体クロマトグラフィー、ラジオレセプターアッセイを用いた測定も行われている。RIAによるメラトニンの測定に際しては、抗体の特性、標識ホルモン (^3H -メラトニン、2-[^{125}I]ヨードメラトニン)、試料中の阻害物質 (主に脂質) の多寡により抽出操作が必要になる場合があるなど、適したRIA系が異なるので注意が必要である。筆者の経験では、最も感度が良いのはKennawayのG280抗体を用いたRIA (IC_{50} =約7 pg/ml) で、Bühlmann Laboratoriesから市販されている。Arendtが作成しStockground Ltd.から市販されている抗体を用いたRIAがこれに次ぐ (IC_{50} =約60 pg/ml) が、狂牛病の関係でイギリスから日本へ抗血清を輸入するのは現時点では不可能である。筆者は通常、若林克己が作成した抗体 (HAC-AA92-03RBP86) を用いたRIA (IC_{50} =約250 pg/ml) によりメラトニン測定を行っている [68, 69] が、この抗体は群馬大学生体調節研究所から現在も配布されている。

唾液中のメラトニンや尿中に排泄された6-スルファトキシメラトニンを測定すれば非侵襲的に日周リズムの測定を行うことができる。

7. 体内におけるメラトニンの分布

メラトニンは発見当初は松果体においてのみ産生されるホルモンであると考えられていた。血中のメラトニンの日周リズムは、多くの種で松果体除去に

より消失すると報告されているので、血中メラトニンの日周リズムは松果体由来のメラトニンにより作り出されていると考えられる [28]。

Quayは1965年に網膜にHIOMT活性があることを報告し [70]、Cardinaliは精力的に網膜のHIOMTについて研究を進めたが [71, 72]、メラトニンが網膜で合成されることが確信されたのは、Gern、Ralphらがニジマス網膜におけるメラトニン合成を証明し [73]、松果体を持たない生物（アルマジロ）においてもメラトニンが存在することを報告した1979-1980年頃であった [74]。その後、魚類から哺乳類に至る多くの種において網膜におけるメラトニンの日周リズム、サーカディアンリズムの存在が報告された [4, 75-80]。網膜のメラトニンの研究においては、Besharse、Iuvone、Wiechmann、Pangなどが重要な役割を果たした。

CahillはBesharse研究室でアフリカツメガエル網膜の光受容細胞層の灌流培養を行い、光受容細胞がメラトニン合成部位と生物時計の局在部位であることを1993年に示した [81]。この結果は、AANAT遺伝子がクローニングされた後、*in situ*ハイブリダイゼーションにより証明されることとなった。

BubenikはBrownとともに1974年からメラトニンの免疫組織化学による局在同定を行っていたが、彼らはハーダー腺や消化管にもメラトニンが存在することを見いだした [82-84]。脳脊髄液、尿、唾液、眼房水、卵胞液、乳など生体内のあらゆる組織にメラトニンは分布しているが [85-90]、これはメラトニンが脂溶性の物質であり、細胞膜を自由に通過して拡散していくためであると思われる。

8. 脊椎動物以外の生物におけるメラトニンの存在

脊椎動物においてのみメラトニンは存在するとはじめは考えられていたが、1984年に昆虫、1987年にプラナリア、1991年に渦鞭毛藻においてもメラトニンが存在することも報告された [91-96]。1995年には細菌*Rhodospirillum rubrum*や多くの植物においてもメラトニンが存在することが報告された [97-101]。筆者らが1995年に報告した [98] 植物におけるメラトニンの存在を証明する実験を進めていた頃、植物由来のメラトニンがヒトの血中メラトニン濃度を上昇させるかどうか調べるため、我々の試料中で最も高濃度のメラトニンを含んでいたカイワレダイコンをひとり1kg食べるという実験を試みたが、辛み成分のため生のカイワレダイコンを大量に摂取することができなかった苦い記憶が今も残っ

ている。

9. メラトニンの生理作用

古典的な内分泌学では、ホルモンを産生する器官の除去を行い、その影響を調べた後、産生されるホルモンの投与を行い、ホルモンの生理作用を検討することが広く行われてきた。メラトニンもその例外ではなく、松果体除去とメラトニンの投与がメラトニンの生理作用解明のために行われた。メラトニンは注射、経口投与、カプセルの埋め込み、インフュージョンなどにより投与することができる [2, 102-106]。これまでに報告されたメラトニンの生理作用を以下にまとめる。

(1)体色変化

メラトニンは魚類や両生類の皮膚に存在する黒色素胞においてメラノソームの凝集反応を惹起し、体色を明化させる。メラトニン発見のきっかけとなったメラトニンの生理作用である [11, 107-110]。色素胞は、さまざまなホルモンや神経伝達物質の調節を受けて体色を変化させる興味深い細胞で、近年はGタンパク質共役型受容体のリガンドスクリーニングの系として再評価されている [111, 112]。また、黒色素胞が直接光を感じることは古くから知られており [113, 114]、1998年に黒色素胞からメラノプシンがクローニングされた [115]。

(2)光周情報の伝達

松果体は暗期の長さをメラトニン分泌シグナルへと変換して伝達する。Russel Reiterは1960年代より松果体の研究を開始した研究者で、*Journal of Pineal Research*を創刊し編集長を務めるとともに、これまでに1000報を超える論文を発表した [116, 117]。Reiterらは長日繁殖型の季節繁殖動物であるハムスターを短日条件で飼育すると生殖腺が退縮するが、松果体除去を行うと生殖腺が退縮はみられなくなることを1965年に報告している [118, 119]。この頃ReiterはUniversity of Rochesterにいたが、Reiter、Klein、Brownが1970年代後半にこの大学に同時に在籍していたことはあまり知られていない。「ある日の午後、松果体を研究対象に見定めたKleinが『Is this the pineal?』と言って摘出したばかりの松果体を手に興奮した状態で研究室に駆け込んで来た」とReiterが懐かしそうに話してくれた。以来、機のある毎に研究の出発点など、歴史的側面の話を様々な研究者から伺うように筆者は務め

ている。

Menakerはコウモリのサーカディアンリズム研究からスタートしたが、ハムスターの生殖腺発達の臨界日長や、スズメを対象にBünning仮説の検証を1967年に行って報告するなど、生物時計と季節繁殖の関連にいち早く目をつけていた [120]。Turek、Menakerらは1975年にハムスターを用いてメラトニンの生殖腺に対する効果が光条件と投与量により異なることを見いだしている（メラトニンはカプセルの埋め込みにより投与） [121]。

Lincolnはシカの研究から、Pévetは松果体の形態学から、Goldmanは生殖腺刺激ホルモンの研究から、季節繁殖の研究に入り、重要な貢献をした [105, 106, 122-124]。

メラトニンの分泌亢進時間帯は明暗条件下では暗期の長さに影響を受け、短日条件下で長く、長日条件下で短くなることがわかった。この日長情報の伝達の機構としては、メラトニン亢進時間帯の長さが重要であるとする「duration hypothesis」、メラトニン分泌亢進時間帯の変化により生体のメラトニン感受性のある時間帯が変化するという「internal coincidence hypothesis」、メラトニン分泌量の多寡が重要だとする「amplitude hypothesis」などが提唱されているが、決着はまだついていない [117]。

近年、吉村崇らによりウズラの光周性発現に下垂体隆起葉の甲状腺刺激ホルモン（TSH）と脳室上衣細胞に発現する甲状腺ホルモンの活性化酵素Dio2が重要であることが明らかにされた [125, 126]。哺乳類（マウス）の光周性においてもこの系は保存されており、メラトニンが下垂体隆起葉のTSH発現を制御し、季節繁殖が制御されていることが2008年に報告された [127]。

(3)生物時計の同調

メラトニンは視交叉上核の生物時計を同調する作用を持つ [128-130]。Turek、Menakerらはスズメの自発行動のフリーランニングリズムがメラトニンカプセルの埋め込みにより周期の変化やリズムの消失を起こすことを1976年に報告した [131]。1983年にRedmanらはメラトニンを毎日決まった時刻に投与するとラットの自発行動のフリーランニングリズムを同調させることを見いだした [132]。メラトニンの位相反応曲線はトカゲの行動リズムに対するUnderwoodの1986年の論文が最初のものである [133]。ラットに対するメラトニンの位相反応曲線はArmstrongが1989年に [129]、ヒトに対するメ

ラトニンの位相反応曲線はLewyが1992年に報告した [134]。

(4)網膜における作用

網膜において産生されるメラトニンは網膜内で作用していると考えられる [79, 80, 135, 136]。1976年にAliらは色素上皮細胞のメラノソームがメラトニン投与により凝集することをコイとニジマスで確認した [137]。1983年にDubocovichはウサギ網膜からのドーパミン放出をメラトニンが抑制することを見いだし [138]、Besharseらはメラトニンが桿体外節の脱落を促進することを報告した [139]。メラトニンは、視感度、眼圧、網膜運動反応、ドーパミンのリズムなど多くの視覚機能調節に関与していることが示されている [79, 80, 135, 136]。

(5)睡眠誘導作用

メラトニンがヒトの睡眠を誘導することは古くから知られていた [140]。ヒトに対するメラトニンの投与が用量依存的に血中メラトニン濃度を上昇させ、これに伴って睡眠潜時が減少することが1994年にWurtmanの研究室から報告された [141]。メラトニンを利用した多くの臨床研究が行われてきた [142-145]。

(6)その他

松果体や網膜のみならず、免疫系の細胞においてもメラトニンは産生され、サイトカインの放出などの免疫機能の調節に関与する [146, 147]。また、メラトニンはフリーラジカルの消去剤として抗酸化作用を持つことが1993年にReiterらによって報告された [148]。以来活発に研究が進められている。これはメラトニン分子自身の反応性に基づくものであり、メラトニン受容体を介した作用ではない。

10. メラトニンフィーバー

メラトニンをめぐる社会現象として特筆すべきことは、1994年から1995年にかけて起こったメラトニンフィーバーであろう。上述のようにメラトニンはヒトの睡眠誘導作用を持つ [141] ことから、夢の睡眠薬として不眠症に悩む多くのアメリカ人の注目を集めた。1995年にはメラトニンに関する2冊の本「The Melatonin Miracle」 [149]、「Melatonin」 [150] が上梓され、Newsweekにも取り上げられ、スーパーマーケットには所狭しとメラトニンが陳列された。「The Melatonin Miracle」の表紙には

「Nature's age-reversing, disease-fighting, sex-enhancing hormone」という文字が踊っている。

これらの著書に書かれたメラトニンの効果のすべてに科学的根拠がないものではないが、この社会現象に対するコメント記事が幾多の雑誌に掲載された。これらのタイトルは、「Melatonin madness」、「Melatonin hype hard to swallow」、「Melatonin's multifarious marvels: miracle or myth?」、「Melatonin potentially useful but safety, efficacy remain uncertain」などであった [151-155]。一部の科学者と、「不老長寿、抗ガン作用、若返り、免疫強化」など都合の良い部分のみを喧伝するマスコミにより作り上げられた「メラトニンフィーバー」は、筆者にとって科学とマスコミの関係をじっくり考える契機となった。

11. メラトニン受容体

メラトニンはメラトニン受容体を介して生理作用を発揮する。古くからメラトニン受容体の探索が進められ、1978年に細胞質にメラトニン受容体が存在すると報告された [156] が、決定的なものではなかった。Vakkuri [157] により1984年に開発された $2\text{-}^{125}\text{I}$ ヨードメラトニン (^{125}I -MEL) がメラトニン受容体特異的高親和性のラジオリガンドであることが判明してからメラトニン受容体研究は大きく進展した。

Dubocovichは ^{125}I -MELを用いたラジオリセプターアッセイによりメラトニン受容体の性状を解析し、ニワトリ網膜のメラトニン受容体の性状を1987年に報告した [158]。 ^{125}I -MELの使用Dubocovichに勧めたのはTakahashiであった (Takahashi談)。

^{125}I -MELを用いたラジオリセプターアッセイとin vitroオートラジオグラフィーを用いた薬理的解析により高親和性メラトニン受容体 (K_D がpMオーダー) の分布と性状が明らかになった [159]。哺乳類のメラトニン受容体には高親和性の ML_1 サブタイプ (脳や網膜に分布；後のMT1、MT2、MEL1cメラトニン受容体) と低親和性の ML_2 サブタイプ (ハムスター脳などに分布；後のMT3メラトニン結合部位) の少なくとも二種類のサブタイプが存在することが報告された。後者は受容体ではなくキノレンダクターゼ2への結合であることが2000年に判明した [160]。

下垂体隆起葉や視交叉上核における高密度のメラトニン受容体の存在のみならず、多くの末梢器官にもメラトニン受容体が存在することが明らかになっ

た [161-166]。重要な役割を果たした研究者は、Dubocovichの他に、Niles、Reppert、Vaněček、Morgan、Pangなどである。

12. 分子生物学の時代～メラトニン受容体～

出口の最後の弟子である海老沢尚はReppertの研究室に留学していた際にexpression cloning法によりアフリカツメガエル黒色素胞の細胞株からメラトニン受容体をクローニングし1994年に発表した [167]。この論文にはメラトニンの発見者であるAaron Lernerの次男Michael Lernerが共著者となっている。この研究成果は1994年1月にCaliforniaで開催されたGordon Conferences on Pineal Cell Biologyではじめてポスター発表として公開された。

S抗原 (アレスチン) の研究者で、網膜の光受容細胞における遺伝子の特異的発現を制御するプロモータ塩基配列PCE1を発見した篠原利道 [168] に筆者は1992年にCopenhagenで行われたEuropean Pineal Societyで会った。そのとき「どのようにしたらメラトニン受容体はクローニングできるか？」と質問したら、即座に「expression cloning」との答えが返って来た。まさにその通りの方法でメラトニン受容体がクローニングされたのであった。メラトニン研究の分子生物学の時代はついに幕を開けた。

その後、さまざまな生物からメラトニン受容体のクローニングがなされ [169-171]、ゲノムプロジェクトの進展と合わせて、現時点では高親和性のメラトニン受容体は、MT1 (MEL1a)、MT2 (MEL1b)、MEL1c (哺乳類には存在しない) の3サブタイプに分類されている [159]。また、哺乳類からはGPR50というメラトニン受容体に構造は似ているがメラトニンに対する結合能がないメラトニン受容体様受容体の存在がReppertらにより報告された [172]。GPCRは二量体化して機能することが知られているが、GPR50がMT1メラトニン受容体とヘテロ二量体を形成するとMT1の機能が抑制されると報告されている [173]。また、GPR50は哺乳類に存在しないMEL1cサブタイプのオーソログなのではないかという報告もある [174]。

メラトニン受容体のノックアウトマウスがReppert、Weaverらにより作成され、メラトニン受容体の機能解析が進められた。メラトニンによる視交叉上核神経活動の抑制はMT1サブタイプが、PACAPによるCREBのリン酸化はMT2サブタイプが担っていることが明らかになった [175、

176]。また、安尾しのぶ、Korfらはメラトニン受容体ノックアウトマウスを使用して光周情報の伝達にはMT1サブタイプが関与していることを示した [177]。

クローニングされたメラトニン受容体の細胞発現系を活用してメラトニン受容体のアゴニストおよびアンタゴニストの開発が活発に行われてきた [178]。しかしながら、メラトニン受容体サブタイプに対して特異的に作用するリガンドはまだない。

フランスのServier社はMT1/MT2アゴニストであるagomelatine (S20098; N-[2-(7-methoxynaphthalen-1-yl) ethyl]acetamide) を開発した [179] が、この薬剤はセロトニン受容体のサブタイプ5HT2Cのアンタゴニストでもあり、新しいタイプの抗うつ剤Valdoxan / Thymanax / Melitorとして2009年にEUで承認された。また、武田薬品工業はラメルテオン (TAK-375; N-[2-[(8S)-1,6,7,8-tetrahydro-2H-indeno[5,4-b]-furan-8-yl]ethyl] propanamide) と名付けたメラトニン受容体アゴニストを開発し [180]、2010年7月に「ロゼレム」として日本国内で販売を開始した。効能・効果は「不眠症における入眠困難の改善」となっている。

13. 分子生物学の時代～ AANAT ～

Menakerの研究室に留学した海老原史樹文は、多くの純系マウスの松果体がAANATとHIOMT両者の活性を持たず、メラトニン合成能を持たないことを見だし1986年に報告した [181]。その後、AANATがマウス11番染色体上に位置することを1994年に報告した [182]。一方、出口らは1988年にニワトリ肝臓に発現するアリルアミンN-アセチルトランスフェラーゼをクローニングし [183, 184]、これをプローブとしてニワトリ松果体のAANATをスクリーニングすることを試みた。その結果、ニワトリ松果体から2種類のアリルアミンN-アセチルトランスフェラーゼがクローニングされたが、メラトニン合成に関わるAANATはクローニングされなかったと1989年に報告した [185]。また、1993年にはStehle、Sassone-CorsiらがCREMのアイソフォームICERが松果体におけるcAMPシグナリングの抑制に関わることを報告した [186]。

Kleinの研究室では、おそらくはReppertの研究室からメラトニン受容体のexpression cloning成功の報を受けてヒツジAANATのexpression cloningをCoonが行い、1995年に論文が発表された [187]。ヒツジのAANAT mRNAは昼夜で約2倍の変化し

か示さなかった。この論文が出版されて13日後、Snyderの研究室のBorjiginらはサブトラクション法によりラット松果体からAANAT遺伝子をクローニングし、AANAT mRNA量が昼夜で200倍以上変動することを見いだした [188]。

AANATはGCN5 N-アセチルトランスフェラーゼスーパーファミリーの一員であり、アリルアミンN-アセチルトランスフェラーゼとは構造が大きく異なることが判明した。この後、様々な生物のAANATがクローニングされた。筆者らはニジマスのAANATのcDNAクローニングを試み、ニジマス網膜からAANATをクローニングしたが、なぜか松果体におけるAANATの発現が確認できなかった [189]。古くから魚類の松果体を研究しているFalcón [190] とCoon、Kleinの共同研究により魚類には網膜に発現するAANAT1と松果体に発現するAANAT2が存在することが報告された [191]。キンギョの松果体と網膜のメラトニンの光抑制の閾値が異なることを筆者は明らかにしていたが [2]、これが松果体と網膜に異なるAANATが発現しているためである、という単純なことに気づけなかったことを後悔した。

発現解析の結果、ラット松果体のAANAT発現はcAMPシグナリングにより制御されていることが判明した [192]。一方、ニワトリなどメラトニン合成が松果体自身の生物時計に支配されている種の松果体においては、AANATの遺伝子発現が松果体自身の生物時計により制御されていることが判明した [193, 194]。また、網膜におけるAANATの主な発現部位は光受容細胞であることが*in situ*ハイブリダイゼーションにより同定された。また、Borjiginから提供されたラットAANAT cDNAを用いて吉村らは蛍光*in situ*ハイブリダイゼーションを行い、ラットとマウスの染色体上にAANAT遺伝子をマッピングした (ラット10q32.3、マウス11E2) [195]。

AANATがプロテアソームにより分解されることは1998年に報告された [196]。1999年にはAANATの結晶構造が報告された (PDB ID: 1b6b) [197, 198]。AANATには種間で保存されたcAMP依存性プロテインキナーゼでリン酸化されるスレオニン残基が存在するが、このスレオニン残基のリン酸化がAANATの14-3-3タンパク質との結合を促進し、プロテアソームによる分解を防いでいることもわかった [199, 200]。

AANATの触媒機構についてはKleinと共同研究を進めたColeらのグループにより精力的に進められ

[201]、2007年にはコンピュータでのモデリングを活用してAANAT阻害剤が開発された [202]。メラトニン受容体のアゴニスト、アンタゴニスト開発とともに、メラトニンの関与する生理・行動の分子機構解明・制御や病態の治療に貢献するAANAT阻害剤・活性化剤の開発が期待される。

14. おわりに

本稿では、メラトニンの発見から今日の分子生物学的展開に至るメラトニン研究の歴史について、筆者の知る限りまとめた。誌面の都合もあり、重要な知見が漏れているところも多数あると思うが、筆者の興味と体験に沿った部分も大きいのでご容赦いただきたい。本稿がメラトニンというホルモンに対するさらなる興味を引き起こし、新たな研究の展開を生むきっかけとなることを期待する。

謝辞

松果体研究の偉大なる先達であり、筆者を生物時計とメラトニンの研究に導いて下さった恩師、羽生功先生（東京大学農学部名誉教授、平成19年10月3日ご逝去）に本稿を捧げます。

引用文献

- 1) Iigo M, Kezuka H, Suzuki, T, Tabata M, Aida K: *Neurosci Biobehav Rev* 18:563-569 (1994)
- 2) 飯郷雅之：魚類のメラトニンリズムに関する研究. 学位論文, 東京大学, pp.1-171 (1996)
- 3) 飯郷雅之：日本水産学会誌 65:617-620 (1999)
- 4) Iigo M, Furukawa K, Nishi G, Tabata M, Aida K: *Brain Behav Evol* 69:114-121 (2007)
- 5) McCord CP, Allen FP: *J Exp Zool* 23:207-224 (1917)
- 6) Lerner AB: *Pigment Cell Res* 12:131-144 (1999)
- 7) Barchas JD: *J Invest Dermatol* 127:2085-2089 (2007)
- 8) Lerner AB, Lee TH: *J Am Chem Soc* 77:1066-1067 (1955)
- 9) Harris JI, Lerner AB: *Nature* 179:1346-1347 (1957)
- 10) Lee TH, Lerner AB, Buettner-Janusch V: *J Am Chem Soc* 81:6084 (1959)
- 11) Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W: *J Am Chem Soc* 80:2587 (1958)
- 12) Lerner AB, Case JD, Heinzelman, RV: *J Am Chem Soc* 81:6084-6085 (1959)
- 13) Iigo M, Abe T, Kambayashi S, Oikawa K, Masuda T, Mizusawa K, Kitamura S, Azuma T, Takagi Y, Aida K, Yanagisawa T: *Gen Comp Endocrinol* 154:91-97 (2007)
- 14) Iigo M, Fujimoto Y, Gunji-Suzuki M, Yokosuka M, Hara M, Ohtani-Kaneko R, Tabata M, Aida K, Hirata K: *J Neuroendocrinol* 16:45-51 (2004)
- 15) Kappers JA: *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 52:163-215 (1960)
- 16) Kappers JA: *Prog Brain Res* 10:87-153 (1965)
- 17) Collin JP, Kappers JA: *Brain Res* 11:65-106 (1968)
- 18) Collin JP, Voisin P, Falcón J, Faure JP, Brisson P, Defaye JR: *Arch Histol Cytol* 52 Suppl:441-449 (1989)
- 19) Oksche A: *Prog Brain Res* 10:3-29 (1965)
- 20) Wake K, Ueck M, Oksche A: *Cell Tissue Res* 154:423-442 (1974)
- 21) Korf HW, Zimmerman NH, Oksche A: *Cell Tissue Res* 222:243-260 (1982)
- 22) 飯郷雅之：松果体、「時間生物学事典」, 石田直理雄, 本間研一編, pp. 148-151, 朝倉書店 (2008)
- 23) Dodt E: *Experientia* 19:642-643 (1963)
- 24) Dodt E, Morita Y: *Vision Res* 4:413-421 (1964)
- 25) Hanyu I, Niwa H, Tamura T: *Vision Res* 9:621-623 (1969)
- 26) Axelrod J: *Nobel Lecture* (1970)
- 27) Axelrod J: *J Biol Chem* 278:1-13 (2003)
- 28) 飯郷雅之：メラトニン, 「ホルモンハンドブック新訂eBook版」, 日本比較内分沁学会編, 南江堂 (2008)
- 29) Axelrod J, Weissbach H: *Science* 131:1312 (1960)
- 30) Weissbach H, Redfield BG, Axelrod J: *Biochim Biophys Acta* 54:190-192 (1961)
- 31) Quay WB: *Gen Comp Endocrinol* 14:473-479 (1963)
- 32) Wurtman RJ, Axelrod J, Fischer JE: *Science* 143:1328-1330 (1963)
- 33) Snyder SH, Axelrod J, Fischer JE, Wurtman RJ: *Nature* 203:981-982 (1964)
- 34) Snyder SH, Zweig M, Axelrod J, Fischer JE:

- Proc Natl Acad Sci USA 53:301-305 (1965)
- 35) Moore RY: Behav Brain Res 73:125-130 (1996)
 - 36) Klein DC, Weller JL: Science 169:1093-1095 (1970)
 - 37) Klein DC, Weller JL, Moore RY: Proc Natl Acad Sci USA 68:3107-3110 (1971)
 - 38) Klein DC, Weller JL: Science 177:532-523 (1972)
 - 39) Deguchi T, Axelrod J: Anal Biochem 50:174-179 (1972)
 - 40) Deguchi T, Axelrod J: Proc Natl Acad Sci USA 69:2208-2211 (1972)
 - 41) Deguchi T, Axelrod J: Proc Natl Acad Sci USA 69:2547-2550 (1972)
 - 42) Deguchi T, Axelrod J: Proc Natl Acad Sci USA 70:2411-2414 (1973)
 - 43) Ralph CL, Mull D, Lynch HJ, Hedlund L: Endocrinology 89:1361-1366 (1971)
 - 44) Deguchi T: Proc Natl Acad Sci USA 72:2814-2818 (1975)
 - 45) Illnerová H, Skopová J: J Neurochem 26:1051-1052 (1976)
 - 46) Binkley SA, Rieberman JB, Reilly KB: Science 202:1198-1120 (1978)
 - 47) Kasal CA, Menaker M, Perez-Polo JR: Science 203:656-658 (1979)
 - 48) Wainwright SD: Nature 285:478-480 (1980)
 - 49) Wainwright SD, Wainwright LK: Can J Biochem 57:700-709 (1979)
 - 50) Deguchi T: Science 203:1245-1247 (1979)
 - 51) Deguchi T: Nature 282:94-96 (1979)
 - 52) Zimmerman NH, Menaker M: Proc Natl Acad Sci USA 76:999-1003 (1979)
 - 53) Deguchi T: Nature 290:706-707 (1981)
 - 54) Okano T, Yoshizawa T, Fukada Y: Nature 372:94-97 (1994)
 - 55) Max M, McKinnon PJ, Seidenman KJ, Barrett RK, Applebury ML, Takahashi JS, Margolskee RF: Science 267:1502-1506 (1995)
 - 56) Takahashi JS, Hamm H, Menaker M: Proc Natl Acad Sci USA 77:2319-2322 (1980)
 - 57) Menaker M, Wisner S: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:6119-6121 (1983)
 - 58) Takahashi JS, Zatz M: Science 217:1104-1111 (1982)
 - 59) Takahashi JS, Murakami N, Nikaido SS, Pratt BL, Robertson LM: Recent Prog Horm Res 45:279-352 (1989)
 - 60) Natesan A, Geetha L, Zatz M: Cell Tissue Res 309:35-45 (2002)
 - 61) Grota LJ, Brown GM: Can J Biochem 52:196-202 (1974)
 - 62) Arendt J, Paunier L, Sizonenko PC: J Clin Endocrinol Metab 40:347-350 (1975)
 - 63) Levine L, Riceberg LJ: Res Commun Chem Pathol Pharmacol 10:693-702 (1975)
 - 64) Rollag MD, Niswender GD: Endocrinology 98:482-489 (1976)
 - 65) Wurzbarger RJ, Kawashima K, Miller RL, Spector S: Life Sci 18:867-877 (1976)
 - 66) Kennaway DJ, Frith RG, Phillipou G, Matthews CD, Seamark RF: Endocrinology 101:119-127 (1977)
 - 67) Lewy AJ, Markey SP: Science 201:741-743 (1978)
 - 68) Iigo M, Kitamura S, Ikuta K, Sánchez-Vázquez FJ, Ohtani-Kaneko R, Hara M, Hirata K, Tabata M, Aida K: Biol Rhythm Res 29:86-97 (1998)
 - 69) Iigo M, Tabata M, Aida K: Zoolog Sci 14:243-248 (1997)
 - 70) Quay WB: Life Sci 4:983-991 (1965)
 - 71) Cardinali DP, Rosner JM: Endocrinology 89:301-303 (1971)
 - 72) Cardinali DP, Wurtman RJ: Endocrinology 91:247-252 (1972)
 - 73) Gern WA, Ralph CL: Science 204:183-184 (1979)
 - 74) Roth JJ, Gern WA, Roth EC, Ralph CL, Jacobson E: Science 210:548-550 (1980)
 - 75) Binkley S, Hryshchshyn M, Reilly K: Nature 281:479-481 (1979)
 - 76) Hamm HE, Menaker M: Proc Natl Acad Sci USA 77:4998-5002 (1980)
 - 77) Besharse JC, Iuvone PM: Nature 305:133-135 (1983)
 - 78) Wiechmann AF, Bok D, Horwitz J: Invest Ophthalmol Vis Sci 26:253-265 (1985)
 - 79) Wiechmann AF: Exp Eye Res 42:507-527 (1986)
 - 80) Pang SF, Allen AE: Pineal Res Rev 4:55-95

- (1986)
- 81) Cahill GM, Besharse JC: *Neuron* 10:573-577 (1993)
- 82) Bubenik GA, Brown GM, Grota LJ: *J Histochem Cytochem* 24:1173-1177 (1976) I
- 83) Bubenik GA, Brown GM, Grota LJ: *Experientia* 33:662-663 (1977)
- 84) Bubenik GA: *J Physiol Pharmacol* 59 Suppl2:33-51 (2008)
- 85) Smith I, Mullen PE, Silman RE, Snedden W, Wilson BW: *Nature* 260:716-718 (1976)
- 86) Lynch HJ, Wurtman RJ, Moskowitz MA, Archer MC, Ho MH: *Science* 187:169-171 (1975)
- 87) Vakkuri O: *Acta Physiol Scand* 124:409-412 (1985)
- 88) Brzezinski A, Seibel MM, Lynch HJ, Deng MH, Wurtman RJ: *J Clin Endocrinol Metab* 64:865-867 (1987)
- 89) Yu HS, Yee RW, Howes KA, Reiter RJ: *Neurosci Lett* 116:309-314 (1990)
- 90) Illnerová H, Buresová M, Presl J: *J Clin Endocrinol Metab* 77:838-841 (1993)
- 91) Vivien-Roels B, Pévet P, Beck O, Fevre-Montange M: *Neurosci Lett* 49:153-157 (1984)
- 92) Vivien-Roëls B, Pévet P: *Experientia* 49:642-647 (1993)
- 93) Morita M, Hall F, Best JB, Gern W: *J Exp Zool* 241:383-388 (1987)
- 94) Balzer I, Hardeland: *Science* 253:795-797 (1991)
- 95) Hardeland R: *Experientia* 49:614-622 (1993)
- 96) Tilden AR, Becker MA, Amma LL, Arciniega J, McGaw AK: *J Pineal Res* 22:102-106 (1997)
- 97) Manchester LC, Poeggeler B, Alvares FL, Ogden GB, Reiter RJ: *Cell Mol Biol Res* 41:391-395 (1995)
- 98) Hattori A, Migitaka H, Iigo M, Itoh M, Yamamoto K, Ohtani-Kaneko R, Hara M, Suzuki T, Reiter RJ: *Biochem Mol Biol Int* 35:627-634 (1995)
- 99) Dubbels R, Reiter RJ, Klenke E, Goebel A, Schnakenberg E, Ehlers C, Schiwara HW, Schloot W: *J Pineal Res* 18:28-31 (1995)
- 100) Murch SJ, Simmons CB, Saxena PK: *Lancet* 350:1598-1599 (1997)
- 101) Kolár J, Machácková I: *J Pineal Res* 39:333-341 (2005)
- 102) Gaston S, Menaker M: *Science* 158:925-928 (1967)
- 103) Kennaway DJ, Gilmore TA, Seamark RF: *Endocrinology* 110:2186-2188 (1982)
- 104) Kennaway DJ, Gilmore TA, Seamark RF: *Endocrinology* 110:1766-1772 (1982)
- 105) Goldman BD: *J Biol Rhythms* 16:283-301 (2001)
- 106) Pévet P: *J Neuroendocrinol* 15:422-426 (2003)
- 107) Gern WA, Gorell TA, Owens DW: *Adv Biosci* 29:223-233 (1980)
- 108) Fujii R, Oshima N: *Zoolog Sci* 3:13-47 (1986)
- 109) Fujii R: *Pigment Cell Res* 13:300-319 (2000)
- 110) Sugden D, Davidson K, Hough KA, Teh MT: *Pigment Cell Res* 17:454-460 (2004)
- 111) Lerner MR: *Trends Neurosci* 17:142-146 (1994)
- 112) Salim S, Ali SA: *Cell Mol Biol Lett* 16:162-200 (2011)
- 113) Bagnara JT, Obika M: *Experientia* 23:155-157 (1967)
- 114) Daniolos A, Lerner AB, Lerner MR: *Pigment Cell Res* 3:38-43 (1990)
- 115) Provencio I, Jiang G, De Grip WJ, Hayes WP, Rollag MD: *Proc Natl Acad Sci USA* 95:340-345 (1998)
- 116) Reiter RJ: *Endocr Rev* 1:109-131 (1980)
- 117) Reiter RJ: *Endocr Rev* 12:151-180 (1991)
- 118) Hoffman RA, Reiter RJ: *Nature* 207:658-659 (1965)
- 119) Hoffman RA, Reiter RJ: *Science* 148:1609-1611 (1965)
- 120) Menaker M, Eskin A: *Science* 157:1182-1185 (1967)
- 121) Turek FW, Desjardins C, Menaker M: *Science* 190:280-282 (1975)
- 122) Lincoln GA, Short RV: *Recent Prog Horm Res* 36:1-52 (1980)
- 123) Bartness TJ, Goldman BD: *Experientia* 45:939-945 (1989)
- 124) Tamarkin L, Hollister CW, Lefebvre NG, Goldman BD: *Science* 198:953-955 (1977)
- 125) Yoshimura T, Yasuo S, Watanabe M, Iigo M,

- Yamamura T, Hirunagi K, Ebihara S: *Nature* 426:178-181 (2003)
- 126) Nakao N, Ono H, Yamamura T, Anraku T, Takagi T, Higashi K, Yasuo S, Katou Y, Kageyama S, Uno Y, Kasukawa T, Iigo M, Sharp PJ, Iwasawa A, Suzuki Y, Sugano S, Niimi T, Mizutani M, Namikawa T, Ebihara S, Ueda HR, Yoshimura T: *Nature* 452:317-322 (2008)
- 127) Ono H, Hoshino Y, Yasuo S, Watanabe M, Nakane Y, Murai A, Ebihara S, Korf HW, Yoshimura T: *Proc Natl Acad Sci USA* 105:18238-18242 (2008)
- 128) Underwood H, Goldman BD: *J Biol Rhythms* 2:279-315 (1987)
- 129) Armstrong SM: *Experientia* 5:932-938 (1989)
- 130) Cassone VM: *Oxford Rev Reprod Biol* 12:319-367 (1990)
- 131) Turek FW, McMillan JP, Menaker M: *Science* 194:1441-1443 (1976)
- 132) Redman J, Armstrong S, Ng KT: *Science* 219:1089-1091 (1983)
- 133) Underwood H: *J Pineal Res* 3:187-196 (1986)
- 134) Lewy AJ, Ahmed S, Jackson JM, Sack RL: *Chronobiol Int* 9:380-392 (1992)
- 135) Dubocovich, M.L. Role of melatonin in retina. *Prog. Retinal Res.* 8:129-151 (1988)
- 136) Wiechmann AF, Summers JA: *Prog Retin Eye Res* 27:137-160 (2008)
- 137) Chèze G, Ali MA: *Can J Zool* 54:475-481 (1976)
- 138) Dubocovich ML: *Nature* 306:782-784 (1983)
- 139) Besharse JC, Dunis DA: *Science* 219:1341-1343 (1983)
- 140) Lieberman HR, Waldhauser F, Garfield G, Lynch HJ, Wurtman RJ: *Brain Res* 323:201-207 (1984)
- 141) Dollins AB, Zhdanova IV, Wurtman RJ, Lynch HJ, Deng MH: *Proc Natl Acad Sci USA* 91:1824-1828 (1994)
- 142) Arendt J, Marks V: *Lancet*. 2:698-699 (1986)
- 143) Wurtman RJ, Zhdanova I: *Lancet* 346:1491 (1995)
- 144) Mishima K, Okawa M, Hozumi S, Hishikawa Y: *Chronobiol Int* 17:419-432 (2000)
- 145) Scheer FA, Czeisler CA: *Sleep Med Rev* 9:5-9 (2005)
- 146) Carrillo-Vico A, Guerrero JM, Lardone PJ, Reiter RJ: *Endocrine* 27:189-200 (2005)
- 147) Srinivasan V, Spence DW, Trakht I, Pandi-Perumal SR, Cardinali DP, Maestroni GJ: *Neuroimmunomodulation* 15:93-101 (2008)
- 148) Poeggeler B, Reiter RJ, Tan DX, Chen LD, Manchester LC: *J Pineal Res* 14:151-168 (1993)
- 149) Pielpaoli W, Regelson W, Colman C: *The Melatonin Miracle*, pp.1-314, Pocket Books, New York (1995)
- 150) Reiter RJ, Robinson J: *Melatonin*, pp.1-399, Bantam Books, New York (1995)
- 151) Reppert SM, Weaver DR: *Cell* 83:1059-1062 (1995)
- 152) Arendt J: *BMJ* 312:1242-1243 (1996)
- 153) Bonn D: *Lancet* 347:184 (1996)
- 154) Turek FW: *Nature* 379:295-296 (1996)
- 155) Lamberg L: *JAMA* 276:1011-1014 (1996)
- 156) Cohen M, Roselle D, Chabner B, Schmidt TJ, Lippman M: *Nature* 274:894-895 (1978)
- 157) Vakkuri O, Lämsä E, Rahkamaa E, Ruotsalainen H, Leppäluoto J: *Anal Biochem* 142:284-289 (1984)
- 158) Dubocovich ML, Takahashi JS: *Proc Natl Acad Sci USA* 84:3916-3920 (1987)
- 159) Dubocovich ML, Delagrange P, Krause DN, Sugden D, Cardinali DP, Olcese J: *Pharmacol Rev* 62:343-380 (2010)
- 160) Nosjean O, Ferro M, Coge F, Beauverger P, Henlin JM, Lefoulon F, Fauchere JL, Delagrange P, Canet E, Boutin JA: *J Biol Chem* 275:31311-31317 (2000)
- 161) Vaněček J, Pavlík A, Illnerová H: *Brain Res* 435:359-362 (1987)
- 162) Reppert SM, Weaver DR, Rivkees SA, Stopa EG: *Science* 242:78-81 (1988)
- 163) Dubocovich ML: *FASEB J* 2:2765-2773 (1988)
- 164) Williams LM, Morgan PJ: *J Endocrinol* 119:R1-3 (1988)
- 165) Morgan PJ, Williams LM: *Experientia* 45:955-965 (1989)
- 166) Pang SF, Dubocovich ML, Brown GM: *Biol Signals* 2:177-180 (1993)
- 167) Ebisawa T, Karne S, Lerner MR, Reppert SM: *Proc Natl Acad Sci USA* 91:6133-6137 (1994)
- 168) Kikuchi T, Raju K, Breitman ML, Shinohara T:

- Mol Cell Biol 13:4400-4408 (1993)
- 169) Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T: Neuron 13:1177-1185 (1994)
- 170) Reppert SM, Godson C, Mahle CD, Weaver DR, Slaugenhaupt SA, Gusella JF: Proc Natl Acad Sci USA 92:8734-8738 (1995)
- 171) Reppert SM, Weaver DR, Cassone VM, Godson C, Kolakowski LF Jr: Neuron 15:1003-1015 (1995)
- 172) Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T, Mahle CD, Kolakowski LF Jr: FEBS Lett 386:219-224 (1996)
- 173) Levoye A, Dam J, Ayoub MA, Guillaume JL, Couturier C, Delagrèze P, Jockers R: EMBO J 25:3012-3023 (2006)
- 174) Dufourny L, Levasseur A, Migaud M, Callebaut I, Pontarotti P, Malpoux B, Monget P: BMC Evol Biol 8:105 (2008)
- 175) Liu C, Weaver DR, Jin X, Shearman LP, Pieschl RL, Gribkoff VK, Reppert SM: Neuron 19:91-102 (1997)
- 176) Jin X, von Gall C, Pieschl RL, Gribkoff VK, Stehle JH, Reppert SM, Weaver DR: Mol Cell Biol 23:1054-1060 (2003)
- 177) Yasuo S, Yoshimura T, Ebihara S, Korf HW: J Neurosci 29:2885-2889 (2009)
- 178) Sugden D, Pickering H, Teh MT, Garratt PJ: Biol Cell 89:531-537 (1997)
- 179) de Bodinat C, Guardiola-Lemaitre B, Mocaër E, Renard P, Muñoz C, Millan MJ: Nat Rev Drug Discov 9:628-642 (2010)
- 180) Miyamoto M: CNS Neurosci Ther 15:32-51 (2009)
- 181) Ebihara S, Marks T, Hudson DJ, Menaker M: Science 231:491-493 (1986)
- 182) Goto M, Oshima I, Hasegawa M, Ebihara S: Mol Brain Res 21:349-354 (1994)
- 183) Deguchi T, Sakamoto Y, Sasaki Y, Uyemura K: J Biol Chem 263:7528-7533 (1988)
- 184) Ohsako S, Ohtomi M, Sakamoto Y, Uyemura K, Deguchi T: J Biol Chem 263:7534-7538 (1988)
- 185) Ohtomi M, Sasaki M, Deguchi T: Eur J Biochem 185:253-261 (1989)
- 186) Stehle JH, Foulkes NS, Molina CA, Simonneaux V, Pévet P, Sassone-Corsi P: Nature 365:314-320 (1993)
- 187) Coon SL, Roseboom PH, Baler R, Weller JL, Namboodiri MA, Koonin EV, Klein DC: Science 270:1681-1683 (1995)
- 188) Borjigin J, Wang MM, Snyder SH: Nature 378:783-785 (1995)
- 189) Mizusawa K, Iigo M, Suetake H, Yoshiura Y, Gen K, Kikuchi K, Okano T, Fukada Y, Aida K: Zoolog Sci 15:345-351 (1998)
- 190) Falcón J: Prog Neurobiol 58:121-162 (1999)
- 191) Coon SL, Bégay V, Deurloo D, Falcón J, Klein DC: J Biol Chem 274:9076-9082 (1999)
- 192) Klein DC, Coon SL, Roseboom PH, Weller JL, Bernard M, Gastel JA, Zatz M, Iuvone PM, Rodriguez IR, Bégay V, Falcón J, Cahill GM, Cassone VM, Baler R: Recent Prog Horm Res 52:307-358 (1997)
- 193) Iuvone PM, Bernard M, Alonso-Gomez A, Greve P, Cassone VM, Klein DC: Biol Signals 6:217-224 (1997)
- 194) Iuvone PM, Tosini G, Pozdeyev N, Haque R, Klein DC, Chaurasia SS: Prog Retin Eye Res 24:433-456 (2005)
- 195) Yoshimura T, Nagabukuro A, Matsuda Y, Suzuki T, Kuroiwa A, Iigo M, Namikawa T, Ebihara S: Cytogenet Cell Genet 79:172-175 (1997)
- 196) Gastel JA, Roseboom PH, Rinaldi PA, Weller JL, Klein DC: Science 279:1358-1360 (1998)
- 197) Hickman AB, Klein DC, Dyda F: Mol Cell 23:32 (1999)
- 198) Hickman AB, Namboodiri MA, Klein DC, Dyda F: Cell 97:361-369 (1999)
- 199) Ganguly S, Gastel JA, Weller JL, Schwartz C, Jaffe H, Namboodiri MA, Coon SL, Hickman AB, Rollag M, Obsil T, Beauverger P, Ferry G, Boutin JA, Klein DC: Proc Natl Acad Sci USA 98:8083-8088 (2001)
- 200) Obsil T, Ghirlando R, Klein DC, Ganguly S, Dyda F: Cell 105:257-267 (2001)
- 201) De Angelis J, Gastel J, Klein DC, Cole PA: J Biol Chem 273:3045-3050 (1998)
- 202) Szewczuk LM, Saldanha SA, Ganguly S, Bowers EM, Javoroncov M, Karanam B, Culhane JC, Holbert MA, Klein DC, Abagyan R, Cole PA: J Med Chem 50:5330-5338 (2007)