

## 巻頭言

視交叉上核 1998

井上慎一  
山口大学理学部自然情報科学科

### 視交叉上核25周年

昨年1997年は、視交叉上核を破壊するとリズムが無くなることを Stephan and Zucker、それに Moore and Eichler が報告してちょうど25年目に当たった。この Silver Anniversary を記念して、Center for Biological Timing と Harvard University がボストンでシンポジウムを開いた。

視交叉上核が発見され、解明が進んだこの25年の間に節目になった論文(Milestone Papers)11を選定し、その著者達が昔の研究のアイデアがどこから来たのか、どこで苦労したのか、何がきっかけでその問題を解決できたのか、その仕事の意義は何だったのか、いわば今だから話せる、という内容をユーモアと教訓を織り交ぜて、話した。Mike Lehman はギターを弾き、Rae Silver は SCN を歌い込んだ替え歌を披露したり、実験を直接行った当時のポストドックとラストオーサーのボスがそれぞれの立場から自分の仕事を振り返ったり、とてもユニークなシンポジウムであった。この会を組織した Steve Reppert と Chuck Czeisler が選定した、視交叉上核に関する11の論文のリストとは次のようなものであった。この選定にはいろいろ意見があると思うが、私にとっては自分の生きてきた25年の時間を思い起こさせるものばかりであった。本格的に視交叉上核について仕事をしようと思う方は目を通されたら得るものが多いと思う。

### The Eleven Papers of the SCN

- Moore, R. Y. and Eichler, V. B. (1972) Loss of circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic nucleus lesion in the rat. *Brain Res.* 42:201-206.
- Stephan, F. K. and Zucker, I. (1972) Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity are eliminated by suprachiasmatic lesions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 54:1521-1527.
- Rusak, B. (1977) The role of the suprachiasmatic nuclei in the generation of circadian rhythms in the golden hamster, *Mesocricetus auratus*. *J. Comp. Physiol.* 118:145-164.
- Schwartz, W. J. and Gainer, H. (1977) Suprachiasmatic nucleus: use of <sup>14</sup>C-labeled deoxyglucose uptake as a functional marker. *Science* 197:1089-1091.
- Inouye, S.-I. T. and Kawamura, H. (1979) Persistence of circadian rhythmicity in a hypothalamic 'island' containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76:5962-5966.
- Prosser, R. A. and Gillette, M. U. (1989) The mammalian circadian clock in the suprachiasmatic nuclei is reset in vitro by cAMP. *J. Neurosci.* 9:1073-1081.
- Reppert, S. M. and Schwartz, W. J. (1983) Maternal coordination of the fetal biological clock in utero. *Science* 220:969-971.

- Lehman, M. N., Silver, R., Gladstone, W. R., Kahn, R. M., Gibson, M. and Bittman, E. L. (1987) Circadian rhythmicity restored by neural transplant. Immunocytochemical characterization of the graft and its integration with the host brain. *J. Neurosci.* 7:1626-1638.
- Ralph, M. R., Foster, R. G., Davis, F. C. and Menaker, M. (1990) Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* 247:975-978.
- Vitaterna, M. H., King, D. P., Chang, A.-M., Kornhauser, J. M., Lowrey, P. L., McDonald, J. D., Dove, W. F., Pinto, L. H., Turek, F. W. and Takahashi, J. S. (1994) Mutagenesis and mapping of a mouse gene, *clock*, essential for circadian behavior. *Science* 264:719-725.
- Welsh, D. K., Logothetis, D. E., Meister, M. and Reppert, S. M. (1995) Individual Neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neurons* 14:697-706.

### 遺伝子フェーズ元年

この特集号はちょうど25周年に符合して企画されたのであるが、その年は図らずも、視交叉上核の研究が大きく飛躍し、次のフェーズに突入する最初の年でもあった。もし25年後に、視交叉上核発見の Gold Anniversary が企画されるとすれば、それに招待されるに違いないような論文がいくつか刊行された。視交叉上核で発現する時計遺伝子がたて続けに見つけられたのである。Joe Takahashi がついに *Clock* 遺伝子をクローニングした論文(Antoch, et al. 1997, King, et al 1997)を皮切りに、Tei(Tei, et al, 1997)と Sun(Sun, et al., 1997)の2グループが一日単位で先陣争いを繰り広げた、マウスにおける *Drosophila* Period 相同遺伝子 *mPer1* の発見、続いて *mPer1* の光応答(Shigeyoshi, et al.,1997, Albrecht, et al.,1997, Shearman, et al., 1997 ), さらに、少なくとも3グループが胃の痛くなるような競争を繰り広げた *mPer2* の発見(Takumi, et al., 1998, Albrecht, et al.,1997, Shearman, et al., 1997 )が行われた。今、間違いなく *mPer3*, *mPer4* の競争が日夜を分かたず、続けられている。

この激しい競争は視交叉上核研究をサイエンスの中でもメジャーな領域に引き上げた。その証拠に世界の大新聞が *Clock* の話を載せ、また Period 遺伝子の論文は *Science*, *Nature*, *Cell* といったノーベル賞をたくさん出した雑誌に掲載された(Hall, 1997, Takahashi, 1995, Sassone-Corsi, 1997, Reppert and Sauman, 1995, Reppert and Weaver, 1997)。今や、視交叉上核研究は脳と行動を対象とする研究分野の中でもっとも華やかな脚光を浴びているものの一つである。

#### 生理学の休息

視交叉上核の分子生物学が著しく脚光を浴びている陰で、今まで視交叉上核研究の主役だった解剖学、生理学は一休みを余儀なくされている。視交叉上核の分子生物学が一段落すれば、いずれは、生理レベルの研究が進むことになると私は期待しているが、それは生理レベルで研究してきたもののひがみかもしれない。しかし、最近の分子生物学の進歩に置き去りにされた者は、今こそ5年、10年先を見通して、その時必要になる技術や考え方を準備しておかなければならない。そのことは、今の分子生物学の進展をもたらした Joe Takahashi や Steve Reppert のことを思いだしてみれば明らかである。Joe は動物行動学をバックグラウンドにして、とりの視交叉上核を破壊することからこの分野の研究を始めた。それが Northwestern に研究室を作ってから、次第に薬理学から分子生物学の勉強を初歩から始めた。*Clock* のクローニングに難渋しているころには、Joe にクローニングができるかという、周囲の声も強かったが、自分でも新しい分子生物学をよく勉強し、若い人を叱咤して、マウスの遺伝学を1

歩進めるような成果を挙げた。Steve はもともと小児科医で、血中のバソプレシンを測定する仕事から出発し、すでに大きな仕事をしていたにもかかわらず、ハーバードの別の教室に通って、分子生物学を学んだ。その後、研究室を分子生物に完全に衣替えし、今日の *Clock*, *Period* の研究を進める主要な力となった。

それは、不断の努力と今の研究の先を見通す確信に裏打ちされた優れた科学者の直感であろうと思う。この特集号を読んでくださる読者の皆さんも、ここから、視交叉上核研究の先を見通す確信をつかんでいただければ、と思っている。

## 視交叉上核研究の今後の課題

ここに述べるのは私の狭い知識から考えてこれから重要と思われる課題を列挙したものである。おそらくこれらは誰でも考えることであるから、ここに載っていないことこそ、多分大事なことなのだと考えて読んでいただきたい。

### 遺伝子レベルの課題

Per のミュータント、ノックアウトマウス

*clock* 遺伝子にミューテーションが入ると自由継続周期が異常に長くなることが証明されているが、*mPer* ファミリーに関してはそのような動物はまだ作られていない。おそらく *Per* のノックアウト動物を作ることが現在もっとも苛烈な競争が繰り広げられている実験であろう。*mPer* にミューテーションを導入された動物は自由継続周期が大きく異なっているのか？ Allele に依ってはリズムを失ったものが生じるのだろうか？この動物では、他の遺伝子や蛋白はどんな影響を受けているのだろうか。これらの疑問は数ヶ月の内に答えられるであろう。それは、もしかしたら明日のこともかもしれないほど進歩が早い。

時計遺伝子はいくつあるのか

視交叉上核のリズムに本質的な役割を果たしている遺伝子はいくつあるのだろうか？ *Neurospora* では *Frequency* と *White Collar* (Dunlap, 1996, Crossthwaite et al., 1997)、*Drosophila* では *Period* と *Timeless* (Sehgal, 1995)、それに最近、*DoubleTime* というのがあることがわかっている。マウスではすでに *Clock* がクローニングされ、*Period* 相同遺伝子として *mPer1*, *mPer2* が見つかり、まだ *mPer3*, *mPer4* の存在が知られ、さらにあるだろうと多くの人が予想しているような状態である。*mPer* が本当にペースメーカーの分子機構に組み込まれた時計遺伝子かどうかはまだノックアウトの実験が行われていないので、証明されてはいない。多分、そうであろうという状況証拠は、視交叉上核に強く発現し、しかも発現量は一日の時刻に強く依存し、位相変位を引き起こす時間、すなわち夜の光に反応して発現が誘導されることなど、十分にある。

マウスではまだみつかっていない *Drosophila* の *Timeless* に相同の遺伝子は存在しているのだろうか？この辺のことも、今多くの人が取り組んでいる問題に違いない。

相互作用

沢山の遺伝子が視交叉上核のペースメーカーを構成しているとしたら、その相互作用、機能の分担はどのようなものなのだろうか。すでに明らかにされたように *mPer* ファミリーでも *mPer1* と *mPer2* ではその発現がピークになる時刻がずれている事は、24時間全体をカバーしてその時々で位相を進める役割を分担しているそれぞれの遺伝子があることを示唆しているのだろうか？

*Clock* 遺伝子の発現は視交叉上核で日周変化していない事がわかっているが、この遺伝子の中に組

み込まれたミューテーションはリズムの周期を狂わせる。その機構として CLOCK タンパクが *mPer* と、PAS ドメインを介して相互作用する事が想像されているが、本当であろうか？例えば、*Drosophila* の場合は *Per* は PAS ドメインを持たない *Tim* と二量体を作る (Sehgal, et al., 1995)。

#### 時計以外の機能

*Clock* も *Period* も視交叉上核に強い発現が見られるが、この遺伝子は身体の、リズムとは何も関係ないと思われるところでも発現している。このようなところで発現する時計遺伝子は同じ遺伝子でありながら、リズムとは違った機能を担っているのだろうか？

### 細胞内のレベルでの課題

#### タンパクのリズム

現在までのところ、*mPer* 遺伝子の産物については何も知られていない。タンパクを認識する抗体を作ることにもまだだれも成功していないからで、これも間違いなく苛烈な競争の舞台となっている。*mPer1* と *mPer2* の産物タンパクのリズムは in situ hybridization で見つけられた mRNA のリズムの位相とどれだけ遅れているのだろうか？遅れが見つかれば、フィードバックループの存在が予想されることになる。このタンパクは post transcriptional に制御されている分子多型がみられるだろうか？他の時計遺伝子で言われるような時刻によるリン酸化の違いがあるだろうか？

#### タンパクの核移行

*Drosophila* では *Per* と *Timeless* が細胞質で増え、それが二量体を作ってリズムの特定の位相で (CT17~19) 核に移行することがリズム生成のキーになる現象ではないかといわれている (Sehgal, et al. 1995)。同じように *mPer* が特定の位相で核に移行するのか？これは遺伝子のフィードバックループがリズム生成の一般様式であるかどうかを検証する重要な実験であり、良い抗体を使って、細胞内の局在を調べれば直接検証できるはずである。

### 細胞間相互作用の課題

視交叉上核細胞一個一個にリズムを生成するペースメーカーがあるのか？それは全部の細胞にあるのか、一部の細胞なのか？沢山のペースメーカーがあるとするとその同調を保証している機構は何か？これらもまだ未解決な問題である。

この問題は本特集号では議論の焦点になっている (本間、篠原、山崎論文参照) ので、項目だけをあげ、ここでは触れない。

#### グリア細胞

#### Welsh の実験の解釈

#### Gap Junction

### システムレベルでの課題

#### 眼のオッシレーター

哺乳動物においても網膜に自律的オッシレーターがあることが示されている (Tosini, and Menaker 1996)。この眼のオッシレーターは眼のリズムを支配しているだけで、他の個体の行動などは視交叉上核が支配していると言われるが、それならば、いったいどのような意味があるのだろうか？これは生理的状态でも何か役割を果たしているのだろうか？

### 網膜のサーカディアンリセプター

リズムを明暗サイクルに同調させるために特別に分化した光受容細胞が存在しているのではないかと、という可能性がだんだん大きくなりつつある(Foster, et al., 1991)。もしそれが本当であれば、どんな分子、細胞機構が働いているのか？特にその視物質は何か、以上のような実験も大変重要な研究方向である。

### アウトプット信号

視交叉上核で作られたリズムの信号を何が脳内全体に運んでいるのか？これに関しては視交叉上核の移植実験から、いろいろな見解が出された。特に Rae Silver たちのキャプセルに視交叉上核組織片を入れて移植してもリズムが回復する結果 (Silver, et al., 1996) が報告され、液性因子の関与が主張されている。この役割、全体像はまだ漠然としていて、正確には把握されていない。Rae の主張が正しいとして、前から知られている神経連絡を介するアウトプットとはどのような関係にあるのだろうか？。

## 進化と保存性のレベルでの課題

### *frq, kai, timeless*

サーカディアンリズムを担っている細胞は視交叉上核、網膜、松果体と三カ所に分かれている。しかし、光によって位相反応するとか、温度補償が働いているとか、フォーマルな性質は Colin Pittendrigh が示したように(Pittendrigh, 1981, Pittendrigh, 1981)、全ての生物で共通である。これから、どこかのレベルでは共通のメカニズムを持っていることが予想されてきた。それにもかかわらず、ペースメーカーの分子、遺伝子レベルまで明らかになりつつある現在も、何がサーカディアンリズムの共通のベースなのか、まだ明らかではない。PAS ドメインが共通な時計遺伝子の特徴であることが強調されているが、Per 遺伝子が *Moth* では *Drosophila* と全然違う機構でリズムを作っているという話もある。*Neurospora* の *Frq* も *Drosophila* の *timeless* も PAS ドメインはない。*Cyanobacteria* でクローニングされた時計遺伝子群 *kaiABC* のコードするタンパクも PAS ドメインは持たず、他の生物で見つかっている *Frq*, *Per* との相同性は低い。

多くの研究者が予想している、あるいは期待しているように、全てのサーカディアンリズム細胞には PAS ドメインをコードする遺伝子がいくつかりズミックに発現し、それが相互作用した結果、特定の位相で核に移行し、そこで自らの遺伝子の発現を押さえるというフィードバックループが成立しているのだろうか？

### 温度補償性

*Frq* の温度補償性に関しては、温度によって同じ *Frq* 遺伝子から読み出される長さの違う二型のタンパクの比が変わるといふ、見事な説明が与えられている(Dunlap, 1996, Hall, 1997)。他にも複数の時計遺伝子産物の相互作用が温度に依存するとすれば温度補償が実現できるとする考えがある。*Drosophila* では PER:TIM 二量体形成を温度に依存する PER-PER 二量体が制御しているとするモデルが検討されている。恒温動物であるマウスで温度補償性にどんな意味があるのかかわからないが、*mPer* でも同様な機構は保存されているのだろうか？

## 引用文献

Albrecht U, Sun ZS, Eichele G and Lee CC (1997) A differential response of two putative mammalian circadian regulators, *mPer1* and *mPer2*, to light. *Cell* 91:1055-1064.

- Antoch MP, Song E-J, Chang A-M, Vitaterna MH, Zhao Y, Wilsbacher LD, Sangoram AM, King DP, Pinto LH and Takahashi JS (1997) Functional identification of the mouse circadian *Clock* gene by transgenic BAC rescue. *Cell* 89:655-667.
- Crossthwaite S, Dunlap JC and Loros JJ (1997) *Neurospora wc-1* and *wc-2*: transcription, photoresponses, and the origins of circadian rhythmicity. *Science* 276:763-769.
- Dunlap JC (1996) Genetic and Molecular analysis of circadian rhythms. *Annual Review of Genetics* 30:579-601.
- Foster RG, Provencio I, Hudson D, Fiske S, De Grip W and Menaker M (1991) Circadian photoreception in the retinally degenerate mouse (*rd/rd*). *J. Comp. Physiol.* 169:39-50.
- Hall JC (1997) Circadian pacemakers blowing hot and cold - but they're clocks, not thermometers. *Cell* 90:9-12.
- King DP, Zhao Y, Sangoram AM, Wilsbacher LD, Tanaka M, Antoch MP, Steeves TDL, Vitaterna MH, Kornhauser JM, Lowrey PL, Turek FW and Takahashi JS (1997) Positional cloning of the mouse circadian *Clock* gene. *Cell*:641-653.
- Pittendrigh CS (1981) Circadian Systems: Entrainment. In *Biological Rhythms*, J. Aschoff,eds, pp 95-124. Plenum Press, New York.
- Pittendrigh CS (1981) Circadian Systems: General Perspective. In *Biological Rhythms*, J. Ashoff,eds, pp 57-80. Plenum Press, New York.
- Reppert SM and Sauman I(1995) period and timeless tango: A dance of two clock genes. *Neuron* 15:983-986.
- Reppert SM and Weaver DR (1997) Forward genetic approach strikes gold: Cloning of a mammalian *Clock* gene. *Cell* 89:487-490.
- Sassone-Corsi P (1997) PERpetuating the PAST. *Nature* 389:443-444.
- Sehgal A (1995) Genetic dissection of the circadian clock: a timeless story. *Seminars in the Neurosciences* 7:27-35.
- Sehgal A, Rothenfluh-Hilfiker A, Hunter-Ensor M, Chen Y, Myers MP and Young MW (1995) Rhythmic expression of *timeless*: A basis for promoting circadian cycles in period gene autoregulation. *Science* 270:808-810.
- Shearman LP, Zylka MJ, Weaver DR, Kolakowski LFJ and Reppert SM (1997) Two Period homologs: Circadian expression and photic regulation in the suprachiasmatic nucleus. *Neuron* 19:1261-1269.
- Shigeyoshi Y, Taguchi K, Yamamoto S, Tekekida S, Yan L, Tei H, Moriya T, Shibata S, Loros JJ, Dunlap JC and Okamura H (1997) Light-induced resetting of a mammalian circadian clock is associated with rapid induction of the *mPer1* transcript. *Cell* 91:1043-1053.
- Silver R, LeSauter J, Tresco PA and Lehman MN (1996) A diffusible coupling signal from the transplanted suprachiasmatic nucleus controlling circadian locomotor rhythms. *Nature* 382:810-813.
- Sun Zs, Albrecht U, Zhuchenko O, Bailey J, Eichele G and Lee CC (1997) RIGUI, a putative mammalian ortholog of the *Drosophila period* gene. *Cell* 90:1003-1011.
- Takahashi JS (1995) Molecular neurobiology and genetics of circadian rhythms in mammals. *Ann. Rev.*

Neurosci. 18:531-553.

Takumi T, Matsubara C, Shigeyoshi Y, Taguchi K, Yagita K, Maebayashi Y, Sakakida Y, Okamura K, Takashima N and Okamura H (1998) A new mammalian period gene predominantly expressed in the suprachiasmatic nucleus. *From Gene to Cells* In Press.

Tei H, Okamura H, Shigeyoshi Y, Fukuhara C, Ozawa R, Hirose M and Sakaki Y (1997) Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila period* gene. *Nature* 389:512-516.

Tosini G and Menaker M (1996) Circadian rhythms in cultured mammalian retina. *Science* 272:419-421.