

細胞間同調 — 時間生物学を臨床医学へ応用するための1つのキー・ワード —

太田英伸¹⁾

東北大学病院 周産母子センター

ルシフェラーゼ・GFPを用いたレポーターシステムの開発により、中枢・末梢時計の単一細胞レベルでの細胞間同調の詳細が明らかになりました。その結果、特定の環境下で、繊維芽細胞あるいは視交叉上核 (suprachiasmatic nuclei : SCN) のmRNA計測において、リズムが消失しているように見えた現象は見かけ上のもので、「単一細胞ではリズムが維持されているにもかかわらず、個々の細胞のリズム位相がバラバラである」ために起っていることが明らかになりました。この「細胞間同調」のコンセプトを時差ボケ治療に延長すると、1) 中枢時計レベルでは、腹部・背部SCN細胞間の同調、2) 個体レベルでは、SCNと末梢臓器の細胞間同調に、研究の焦点が浮かんできます。

1. はじめに

「同調」という概念は時間生物学において常に研究のキー・ワードになってきました^{1) 2)}。どのように生物が光・温度といった環境サイクルの変化に同調するのか? この疑問は、行動リズムを指標に時間生物学研究が開始された当初から重要な学問的テーマでした。また臨床的なテーマとしても、海外旅行によって生じる体内時計の新しい環境への同調不和 (時差ボケ) を効果的に治療しようとする薬剤開発が日本を含め各国で精力的に行われています^{3) 4) 5)}。

特に1998年、スイスのSchiblerグループ (ジュネーブ大学) から繊維芽細胞を使用した「血清ショック・モデル」(一時的な血清ショックが繊維芽細胞にサーカディアン・リズムを開始させること) が提唱されるに至り⁶⁾、「細胞間」同調の重要性が時間生物学で意識されるようになりました。このモデルに対する最終的な解答が2004年の末、Nagoshi⁹⁾・Welsh¹⁰⁾ からそれぞれ提出されるに至りました。私達のグループもこの問題について視交叉上核 (suprachiasmatic nuclei : SCN) を対象として取り組み、この結果が今後の臨床医学において示した可能性を2004~2005年の一連の研究動向の中でご説明したいと思います。

2. 「血清ショック・モデル」による問題提起⁹⁾

SchiblerグループのBalsalobreらは、高濃度の血清 (50% adult horse serum) を繊維芽細胞 (rat-1 fibroblast) に2時間投与することにより、細胞中の時計遺伝子 *period1* (*per1*) / *period2* (*per2*) 及び転写因子 *rev-erb a* / *albumin D element-binding protein* (*dbp*) / *thyrotroph embryonic factor* (*tef*) のmRNA がリズムを刻み始めることを報告しました。そのリズム周期は約22.5時間で、血清ショック後3日間のリズムを刻むことを確認しました。彼らは、この実験により血清ショックによる①「リズム誘導」、と②個々の細胞間の「リズム同調」の2つの仮説を示しました。「リズム誘導」とは、それまでリズムが存在しなかった細胞に血清ショックによりリズムを励起し、繊維芽細胞の時計遺伝子・転写因子にサーカディアン・リズムが観察できるようになったとする仮説です。一方、「リズム同調」仮説では、血清ショック以前においても、個々の細胞にはリズムが存在しているものの、個々の細胞がもつリズム位相は異なると仮定しています。そのため、シャーレに含まれる培養細胞全体でmRNAを測定すると、結果的には個々のリズムが合算・平均化され、見かけ上リズムが存在しないように見えると考えています。血清ショックによって、この細胞間の異なる位相が

✉hideohta@mail.tains.tohoku.ac.jp (〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1)

同調し、リズムが出現したように見えるというのが、「リズム同調」仮説です。

3. 末梢時計（繊維芽細胞）における細胞間同調（Nagoshiら⁹⁾・Welshら¹⁰⁾の解答）

2つの仮説のうち、どちらが正しいのか？この解答に対する鍵は、同一の単一繊維芽細胞のリズム計測を行うことでした。この観察によって、リズムが止まっているのか、あるいは個々の細胞にリズムが存在する状態で細胞毎にリズム位相が異なっているのか、その答えを出すことができます。既にSchiblerグループは、この仮説を発表した1998年、自ら投げかけた研究テーマへの解答を得るため、*dbp::GFP*レポーターシステムの開発に取りかかっています¹¹⁾。レポーターシステムとは、目的遺伝子のプロモーターと蛍光・発光作用をもつ遺伝子(GFPあるいはルシフェラーゼ:luciferase:luc)を結合させたDNA配列を対象となる細胞・個体に遺伝子導入し、その蛍光強度・発光量を計測することにより、目的遺伝子の活動レベルを間接的に評価するしくみです。結局、最終的な解答が得られたのは、それから6年後の2004年11月のことで、2つの異なるグループから、ほぼ同時に発表されました。11月24日にSchiblerグループのNagoshiらがCell誌上に、その前日の11月23日にKayグループ(スクリプス研究所)のWelshらがCurrent Biologyにon line publication(実際のCurrent Biology誌上にはそれから1ヶ月後の12月末に)と非常に近接した日程で発表が行われました。両グループとも繊維芽細胞を対象にレポーター遺伝子を用い、単一細胞のリズム記録に成功していました。

Nagoshiらは、*rev-erb a* 遺伝子プロモーターに「ヴィーナス」と呼ばれる黄色蛍光タンパクを遺伝子工学的に接合させたコンストラクトを繊維芽細胞NIH3T3に遺伝子導入し、個々の細胞のリズム観察に成功しました。この観察により、血清ショック前の個々の細胞は既にリズムを持ち、そのリズム位相が異なること、一方、血清ショック後ではリズム位相がほぼ同一になることを示しました。

また、Welshらは、2つのアプローチからNagoshi博士らと同様の解答を得ています。第一に、時計遺伝子*bmal1*プロモーターにレポーター遺伝子lucを組み込んだDNA配列を繊維芽細胞rat1に一時的に遺伝子導入することにより単一細胞のリズム観察を行いました。第二に、ノースウェスタン大学のTakahashiグループが作成した*per2::luc* knock-in マ

ウス由来¹²⁾の繊維芽細胞を用い、ショック導入後15日間という長期間、安定したリズム計測に成功しました。

4. 中枢時計SCNにおける細胞間同調（バンダービルト大学グループの解答¹³⁾）

細胞間同調はまた、末梢時計だけではなく、行動リズムの形成という意味で、中枢時計のメカニズムにも深く関わっています。Granados-Fuentesら(Herzogグループ、Washington University in St. Louis)は2004年1月に恒明条件(LL)($3.9 \times 10^{17} \sim 6.9 \times 10^{18}$ photons/sec)下で行動リズムが消失した*per1::luc*ラットからSCNを切り出し培養を行いました¹⁴⁾。このとき、培養細胞におけるルシフェラーゼの発光リズムを測定したところ、SCNにおいてもリズムが消失していました。考察の中で彼らは、Schiblerグループが繊維芽細胞(末梢時計)のリズムに関して提出したものと同様の仮説を提出しています。つまり、LLにおけるラットの行動リズムの消失は、①LLがSCN細胞におけるリズムを止めたために起こる、あるいは②LLがSCNの個々の細胞間のリズム位相を脱同調したために起こる、という仮説です。

この2つの仮説に対して、私たちバンダービルト大学のグループは*per1::GFP*マウスのSCNを対象として、解答を試みました。*per1::GFP*マウスは*mouse per1*プロモーターとGFPを結合させたDNA配列を組み込んだ遺伝子操作マウスです。このマウスを使い、視交叉上核SCNにおけるGFPの蛍光強度を計測することにより、*per1*遺伝子の活動レベルを個々の神経細胞において評価できます。

実験プロトコルはマウスをLL条件下(350ルクス)で飼育し、①行動リズムが無周期になった個体と②サーカディアン・リズムが維持されている個体の2グループからSCNを切り出し培養を行い、GFP信号パターンを比較するという単純なものです。実際には行動リズムが無周期となるマウスを得るためには、5ヶ月間という長期間の飼育が必要でした。

この実験で無周期となったマウスの個体は全体の9%(5/58)で、その個体数は少なく、サンプル数を確保するために、培養実験に失敗が許されない緊張感がありました。また、驚いたことに12時間周期の行動リズムをもつ個体も同様に9%出現しました(その当時、ハムスターではマサチューセッツ州立大学医学部Schwartzグループのde la Iglesiaら¹⁵⁾が、マウスでは名古屋大学海老原グループが開発した

CSマウス¹⁶⁾でAbeらが、同様に12時間周期の行動リズムを報告していました)。その結果、当初の計画とは異なり、①サーカディアン・リズムをもつ個体、②無周期リズムの個体、③12時間周期のリズムをもつ個体、の3グループから得られたSCNを用い、GFP信号パターンの解析を行いました。

最初に行った②無周期リズムの個体のSCNの観察から、第一の仮説「LLはSCN細胞のリズムを止める」が否定的であることが分かりました。培養開始直後、共焦点レーザー顕微鏡を覗くと、GFP信号を放つ細胞を見つけることができました。その後24時間の観察で、個々の細胞がもつGFP信号が24時間周期で変動することを確認し、「LLはSCN細胞のリズムを止めていない」ことが分かりました。加えて個々のSCN細胞はリズムを刻むものの、その位相がバラバラで個々に異なっていることも確認しました。1時間に1度の割合で撮影した映像をつないだ高速ムービーから自分が感じた印象は「まるで花火みただ」というものでした。今まで見たことのない映像に驚き、生物現象の奥深さに感動したことを覚えています。

一方、リズムをもつ個体のSCN培養細胞からは、SCNの背側部から腹側部に向かってウェーブ状に24時間周期で変動するGFP信号を確認しました。これは、以前岡村グループ(神戸大学)の山口ら¹⁷⁾がScienceに発表した*per1::luc*マウスの結果と非常に似た信号パターンでした。

また、当初予定していなかった、③12時間周期のリズムをもつ個体では、左右それぞれのSCNは24時間周期で変動するウェーブ状のGFP信号をもつものの、リズム位相は12時間逆転し、左右のSCNが交互に光るといふ、これも生物の不思議さを感じさせる映像でした。

以上のようにLL条件下で発生する無周期行動リズムのマウスでは、生物時計が止まるのではなく、個々のSCN細胞のリズム位相がバラバラになることが明らかになりました。これは末梢時計の細胞間同調と類似した結果で、SCNからの時計信号が行動リズムを形成するシステムに対し、細胞間同調を基礎として出力されていることを示唆しています(しかし、LL条件下でのSCNから行動システムへの出力機構の詳細については検討が不十分です)。

5. 時差ボケの治療はどこに? SCN内の細胞間同調を考える方向と末梢時計を考える方向の2つへ?

これまでの研究を基礎とすると、細胞間同調の視点から、時差ボケに対し2つの定義を与えることができると思います。

- 1) 「時差ボケはSCN細胞間のリズム位相が同調していない現象である。」
- 2) 「時差ボケは中枢時計(SCN)と末梢時計(SCN以外の組織)が同調していない現象である。」

前述したようにSCN神経細胞間の同調が行動リズムの形成に重要である可能性が分かってくると、時差ボケに対する1つの理解として、1)の定義を行うことができると思います。実際、複数の研究者がラット・マウスを対象に行った明暗サイクルの位相後退・前進実験から、SCN背側部の細胞は、腹側部の細胞に比べ、ゆっくりとしたスピードで時計遺伝子の発現パターンが変化することが確かめられています。¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾細胞間の脱同調、特にSCN背側部と腹側部のズレが、時差ボケと呼ばれる一連の現象の本体かもしれません。

また、2)の定義は、*per1::luc*ラットを対象に、明暗環境の位相を前進・後退させた際、SCN・肺・肝臓・骨格筋といった組織・臓器のリズム位相が異なるスピードで反応した観察に基づいています²¹⁾。海外旅行の際、「睡眠サイクルは1週間ほどで順応してきたけれども、便通のリズムはまだおかしい」という経験はよくあるのではないのでしょうか?新しい明暗サイクルに対する脳の時計の適応スピードと腸管の時計の適応スピードは異なっているのかもしれない。

この2つの定義は、時差ボケの新薬の効果を動物実験を通し評価する上で、意外とクリア・カットな見方です。時差ボケの新薬をマウス・ラットに投与し、

- 1) SCNの時計遺伝子リズムの変化を追い、SCNの腹・背側領域の時計遺伝子リズム位相のギャップがどのくらい素早くなくなったのか?
- 2) SCNと他の臓器の時計遺伝子リズムの位相関係は、どのくらい素早く元通りになったのか?

この2つの細胞間・組織間同調をクリアできる薬が時差ボケの薬の候補になるのではないのでしょうか?その意味では、時計遺伝子:*luc*/GFPといったレポーターシステムをもつ遺伝子操作動物が薬の効果を判定する上で今後も重要な実験対象となるかもしれません。

(1) 腹側部・背側部SCNの同調メカニズム

腹側部・背側部SCNの同調メカニズムについて Albusら (Block & Meijerグループ) が行ったGABAの研究は非常に興味深いものです (2005年3月に *Current Biology* に報告¹⁹⁾)。彼らは、明暗サイクルを変化させ6時間の位相後退をラットに負荷した後に、脳からSCNを取り出し初代培養の急性実験 (SCNを取り出した直後に記録を開始) を行いました。その際、カッターによって腹側部と背側部のSCNを切り分け別々に培養を開始し、SCN神経の細胞活動を細胞外電位を用い記録しました。その結果、分割されたSCNの領域がそれぞれサーカディアン・リズムを刻み、かつ腹側部SCNのリズムが背側部SCNに比べ早いスピードで、新しい6時間の位相後退のスケジュールに適應していくことを確認しました。これと同じ現象が、GABAaアンタゴニスト bicucullineを投与することにより、腹側部・背側部SCNをカッターで切り分けていないまとまりのSCN培養細胞においても観察されました。この背側・腹側SCN間の相互連絡を絶ったモデル実験およびbicuculline投与実験が同様の結果だったことから、GABAが腹側部SCNと背側部SCNのリズム位相を結び付けている可能性が指摘されました。また山口ら¹⁷⁾ の新生仔 *per1:luc* マウスのSCNを用いた初代培養の慢性実験 (培養開始2週間後に記録を開始) においては、カッターによって腹側部・背側部SCNを切り分け、別々に培養を開始したところ、背側部SCNのリズムが消失しました。SCN細胞の発達レベルの違い (対象が大人と新生仔) 及び慢性実験系では実験開始直後に比較し細胞数・細胞構築が変化することから²⁰⁾、急性培養・慢性培養の2つの実験系の単純な比較は難しいですが、腹側部と背側部SCNのリズムを同調させるには、単純にGABAをターゲットに薬剤開発を行うだけでなく、背側部SCNのリズム形成メカニズムを明らかにする必要があるかもしれません。

またAtonら (Herzogグループ) が2005年3月に *Nature Neuroscience* に報告したVIPとそのレセプターVIPAC2Rに関する研究²⁰⁾ も腹側部SCN・背側部SCNの同調メカニズムを考える上で示唆に富んでいます。彼らは、VIP KOマウス、VIPAC2R KOマウスの約60%がその行動に単一のサーカディアン・リズムを刻まず24時間以外の周期も加えた複数のリズムを刻むという観察結果から、VIPが細胞間同調に関わっているという仮説を検討しました (この背景には「SCN細胞間の同調が乱れる→行動に複数のリ

ズム周期を発生」という仮説が意識されています)。次に彼らは新生仔マウスSCNをバラバラに分離した単一神経細胞をマルチ電極上に蒔き、培養を行いました (分散培養)。そして、細胞外電位のリズムを野生型 (C57Bl/6)、VIP KOマウス、VIPAC2R KOマウスの3タイプで観察し、個々のSCN細胞のリズムの有無、リズム位相を調べました。その結果、VIP KOマウスとVIPAC2R KOマウスでは共に、約70%の培養細胞のサーカディアン・リズムが消失し、残り30%のリズムのある細胞のリズム周期は24時間以外の周期を含む広範囲に渡っていました (一方、野生型でリズムを示したものは全体の70%の培養細胞でした)。

更にAtonらは、VIPAC2RアゴニストのRo 25-1553を一日に一度投与し、VIP KOマウスから得たSCN細胞のサーカディアン・リズムを回復できることを示しました。加えて、同様にRo 25-1553をVIPAC2R KOマウスから得たSCN細胞に毎日投与しても、リズムが回復しないことから、VIPレセプター (VIPAC2R) の存在がリズム回復に必要なこと、VIPが細胞間同調に貢献しリズムを回復させている可能性を示しました。しかし、Atonらの実験では、新生仔マウスSCNの「分散」培養で行われているため、腹側・背側SCNのカップリングにVIPに関わっているか否か、直接の解答を得ることはできません。加えてVIPリズムが新生仔ラットと大人ラットで異なる点も考えると²⁰⁾、できれば大人のVIP KOマウス、VIPAC2R KOマウスを対象にSCNの構造が保たれる「器官」培養で同様の実験を行うことができればベストのように思います。

SCN全体における個々の細胞間同調がより問題となるのは、恒明環境によってSCNが光の影響をより強く受けている人工環境で、時差ボケとは若干異なる病態生理かと考察します。例えば、対象となるのはICU (集中治療室)・NICU (新生児集中治療室)・宇宙ステーションといった人工環境です。この場合、腹側部SCNと背側部SCN間のリズム位相のズレを考えた治療より、恒明環境で乱れたSCN全体の細胞間同調を整える治療が必要となることと思います。その意味で、SCN全体の細胞を同時に同調開始させる薬剤開発が必要かもしれません。また、同様な効果は、規則正しい明暗周期を導入することによっても得られる可能性があります。薬剤による副作用のリスクを減らすことも考えると、光治療といった非薬剤治療の可能性を丁寧に検討することが実際は現実的な選択かもしれません。

ヒトSCNの細胞間同調を非侵襲的に確かめることは技術的に難しいのが現状です。PET、Functional MRI (fMRI) において、分子生物学的プローブを使用すれば原理的に可能かもしれませんが、現在のMRIの解像度は視交叉上核の腹・背側を見分けるほど性能は高くないようです²⁵⁾。現在、fMRIを使用して個々の細胞レベルの活動を記録した研究は報告されていますが、対象は主にげっ歯類で、分子生物学的プローブの安全性の確立にはまだ時間がかかりそうです²⁶⁾。

(2) SCNと末梢時計の同調メカニズムの評価

一方、ヒトにおいてSCNと末梢時計の位相関係を時計遺伝子を含めて解明することは原理的に可能かと思えます。SCNのサーカディアン・リズムをメラトニン・リズムで評価できると仮定して、末梢時計のリズムを皮膚生検²⁷⁾・血液サンプル²⁸⁾で評価することにより位相関係を決めるという方法です。上田グループが動物モデルで提案した複数の時計遺伝子パターンから一点のサンプリングで生物時計の時刻を評価する方法は、検査対象となる方のストレスを減らすことができるという意味で非常に魅力的です²⁹⁾。このメカニズム解明のターゲットは、2005年7月のScienceの特集「私達の知らない125の疑問」の1つに選ばれた「何が臓器の生物時計を同調させるのか？」³⁰⁾の答えにつながるかと思えます。以前よりSCNと末梢時計をつなぐものとして、ヒトではコルチゾール、げっ歯類ではコルチコステロンといった副腎皮質ホルモンがその役割を果たしているのではないかという期待の元、過去に幾つかの研究³¹⁾³²⁾が発表されていますが、残念ながらはっきりとした解答は得られていません。

加えて、SCNと末梢時計の位相関係を調べる技術には直接結びつきませんが、ヒト末梢時計のリズムを計測する技術は、SchiblerグループのBrownらによって最近報告されています³³⁾。彼らは、時計遺伝子*Bmal1*プロモーターにルシフェラーゼを接合させたコンストラクトをレンチウイルス・ベクターに組み込み、採取したヒト表皮細胞・単核球・毛根ケラチン生成細胞に遺伝子導入することに成功しています。この技術を使ったヒト表皮細胞からのリズム計測により、平均24.5時間のサーカディアン・リズムが報告されています。

6. まとめ

振り返ってみると、2004年末～2005年初めという

半年は、末梢・中枢時計における「細胞間同調」のメカニズムに関する研究が一斉に発表された時期でした。またそれは今後「時差ボケ」という臨床的なテーマを別の角度から考える材料を提供したように個人的に感じています。

今回の原稿は、自分がバンダービルト大学でポスドクとして勤務していた2003～2005年に、自分の研究テーマに関連して職場の上司・同僚と日頃話していた内容をまとめた形になっています。アメリカで仕事をして学んだことは、各研究分野には歴史的に重要とされているテーマ、またそこから新たに派生したテーマが存在し、それらを意識しながら研究することが大事だということでした。こういった研究テーマにはその分野の根本的な疑問が存在することを、遅ればせながら実感しました。今後は、時間生物学に限らず、今まで学んだ発達心理学・新生児医学においてもテーマ性という感覚を大事にしていきたいと思えます。このような意識は、定期のミーティングやコーヒーを飲むような休み時間に、自由な雰囲気でのディスカッションを行うことにより培われたように思います。その意味で、自分の直属の上司だったマックマーン先生と研究室の同僚、またバンダービルト大学の時間生物学グループのページ先生・ジョンソン先生・山崎先生そしてポスドク仲間・大学院生・大学生の方々に深く感謝の意を表します。また、この場をお借りしてアメリカ滞在中、私達の研究をサポートして頂いた日本の多くの研究者の方々に礼を申し上げます。本当にありがとうございました。

—後書き— その後も進展が続いています

この原稿は第12回日本時間生物学会の発表に合せて準備しましたが、その後「SCN細胞間同調」におけるVIP/GRPの役割について進展があり、新たに付け加えさせていただきます。

特に興味深いのは、Pigginsグループ(マンチェスター大学)のBrownら³⁴⁾の報告です。彼らは、「大人」VIPAC2R KOマウスを対象に「吸引電極」と呼ばれるおもしろい方法で、SCN培養細胞の安定した細胞外電位リズムの計測に成功しています。レポーター動物の弱点は、行動という生理メカニズムを制御する神経細胞由来の電気信号を直接評価できない点です。その意味で、Brownらの研究は生物時計の分子メカニズムと行動システムの橋渡しの研究とも言えます。彼らはVIPAC2R KOマウスには恒暗条件(DD)において行動リズムが消失するタイプとリズム

ムが持続するタイプの2グループが存在する点に着目し、それぞれのSCN培養細胞の細胞外電位リズムを評価しました。その結果、行動リズムが消失するマウスでは、細胞外電位リズムも消えていること、行動リズムが持続するマウスでは細胞外電位リズムも維持されていることを確認しました。これは私たちのチーム（バンダービルト大学）の恒明条件下の *perl::GFP*マウスの結果を連想させるもので、恒明条件においてもVIP分泌・VIPAC2R機能の変化が細胞間同調に影響することを示唆しているかもしれません。更にBrownらは、細胞外電位リズムの消失したSCN培養細胞に Gastrin Releasing Peptide (GRP) を投与し、VIPAC2R KOマウスのSCN培養細胞にリズムを回復させることに成功しました。この結果から、VIPとGRPの2つの神経伝達物質がリズムの維持に関わっていることを示しました。

同様のテーマをHastingsグループ（ケンブリッジ大学）のMaywoodら³⁵⁾が、レポーター・マウス [VPAC2R KO マウス X *perl::luc* マウス]（以下VPAC2R KO: *luc*マウスと表記します）を用い検討しています。彼女らは、このレポーター・マウスのSCN培養細胞の発光パターンをCCDカメラを用い画像解析しました。その結果、VPAC2R KO: *luc*マウスでは、確かに単一のSCN細胞でサーカディアン・リズムを認めるものの、野生型・ヘテロ型に比べ、リズムを刻むSCN細胞の個数は少なく、その振幅も1/10以下になっていることを確認しました（しかし、このプロトコールでは、「新生仔」マウスを使用していることに少し注意が必要だと思います。Atonら³⁶⁾・Brownら³⁴⁾の報告によると、DD下の「大人」VPAC2R KOマウスでは行動リズムが消失するタイプと行動リズムが持続するタイプの2つが存在していました。Maywoodらは、行動計測できない新生仔マウスを対象としているので、この2グループを区別せず混合した状態でデータを取っていることとなります）。更にMaywoodらは、VPAC2R KO: *luc*マウスにBrownら同様GRPを投与し、この操作によってルシフェラーゼの発光リズムの振幅が増大し、かつ一時的ながらも4日間ほど個々のSCNの細胞間同調が維持されることを確認しました。その他にも、Maywoodらの論文は、Blockグループ（バージニア大学）のLundkvistら³⁶⁾が以前報告した細胞内Caイオン濃度がリズム維持に重要な点を再検討し、VIPAC2RがSCN細胞の膜電位のコントロールに関与する可能性を示した点、VPAC2R KO: *luc*マウスSCNにおいてリズムが残っている細

胞がAVP分泌細胞が多いSCN背側部（正確にはshell領域との表現）に存在することを示した点など、非常に示唆に富んだ興味深い報告になっています。

一連の論文の流れを取って短い言葉でまとめると、「個々のSCN細胞間のカップリングにはVIP/GRPが、SCN腹側・背側部のカップリングにはGABAが関係している」というデータが少なくとも提出されていることとなります。

参考文献

- 1) Pittendrigh CS, Dann S: J Comp Physiol [A] 106:291-331 (1976).
- 2) Pittendrigh CS, Dann S: J Comp Physiol [A] 106:333-355 (1976).
- 3) Teshima K, Minoguchi M, Tounai S, Ashimori A, Eguchi J, Allen CN, Shibata S: Br J Pharmacol 146:33-40 (2005).
- 4) Sprouse J: Expert Opin Ther Targets 8:25-38 (2004).
- 5) Yukihiro N, Kimura H, Nishikawa H, Ohkawa S, Yoshikubo S, Miyamoto M: Brain Res 1027: 59-66 (2004).
- 6) Nickelsen T, Samel A, Vejvoda M, Wenzel J, Smith B, Gerzer R: Chronobiol Int. 19:915-936 (2002).
- 7) Moriya T, Yoshinobu Y, Ikeda M, Yokota S, Akiyama M, Shibata S: Br J Pharmacol. 125:1281-1287 (1998).
- 8) Balsalobre A, Damiola F, Schibler U: Cell. 93:929-937 (1998).
- 9) Nagoshi E, Saini C, Bauer C, Laroche T, Naef F, Schibler U: Cell 119:693-705 (2004).
- 10) Welsh DK, Yoo SH, Liu AC, Takahashi JS, Kay SA: Curr Biol 14:2289-2295 (2004).
- 11) Rosbash M: Cell 93:917-919 (1998).
- 12) Yoo SH, Yamazaki S, Lowrey PL, Shimomura K, Ko CH, Buhr ED, Siepkha SM, Hong HK, Oh WJ, Yoo OJ, Menaker M, Takahashi JS: Proc Natl Acad Sci U S A 101:5339-5346 (2004).
- 13) Ohta H, Yamazaki S, McMahon DG: Nat Neurosci 8:267-269 (2005).
- 14) Granados-Fuentes D, Prolo LM, Abraham U, Herzog ED: J Neurosci 24:615-619 (2004).
- 15) de la Iglesia HO, Meyer J, Carpino A Jr, Schwartz WJ: Science 290:799-801 (2000).
- 16) Abe H, Honma S, Honma K, Suzuki T, Ebihara

- S: *J Comp Physiol [A]* 184:243-251 (1999).
- 17) Yamaguchi S, Isejima H, Matsuo T, Okura R, Yagita K, Kobayashi M, Okamura H: *Science* 302:1408-1412 (2003).
 - 18) Nagano M, Adachi A, Nakahama K, Nakamura T, Tamada M, Meyer-Bernstein E, Sehgal A, Shigeyoshi Y: *J Neurosci* 23:6141-6151 (2003).
 - 19) Albus H, Vansteensel MJ, Michel S, Block GD, Meijer JH: *Curr Biol* 15:886-893 (2005).
 - 20) Nakamura W, Yamazaki S, Takasu NN, Mishima K, Block GD: *J Neurosci* 25:5481-5487 (2005).
 - 21) Yamazaki S, Numano R, Abe M, Hida A, Takahashi R, Ueda M, Block GD, Sakaki Y, Menaker M, Tei H: *Science* 288:682-685 (2000).
 - 22) Schwartz WJ, Meijer JH: *Trends Neurosci* 27:513-516 (2004).
 - 23) Aton SJ, Colwell CS, Harmar AJ, Waschek J, Herzog ED: *Nat Neurosci* 8:476-483 (2005).
 - 24) Ban Y, Shigeyoshi Y, Okamura H: *J Neurosci* 17:3920-3931 (1997).
 - 25) Perrin F, Peigneux P, Fuchs S, Verhaeghe S, Laureys S, Middleton B, Degueldre C, Del Fiore G, Vandewalle G, Balteau E, Poirrier R, Moreau V, Luxen A, Maquet P, Dijk DJ: *Curr Biol* 14:1842-1846 (2004).
 - 26) Heyn C, Ronald JA, Mackenzie LT, MacDonald IC, Chambers AF, Rutt BK, Foster PJ: *Magn Reson Med* 55:23-29 (2006).
 - 27) Bjarnason GA, Jordan RC, Wood PA, Li Q, Lincoln DW, Sothorn RB, Hrushesky WJ, Ben-David Y: *Am J Pathol* 158:1793-1801 (2001).
 - 28) Kusanagi H, Mishima K, Satoh K, Echizenya M, Katoh T, Shimizu T: *Neurosci Lett* 365:124-127 (2004).
 - 29) Ueda HR, Chen W, Minami Y, Honma S, Honma K, Iino M, Hashimoto S: *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:11227-11232 (2004).
 - 30) Stokstad E: *Science* 309: 78-102 (2005).
 - 31) Balsalobre A, Brown SA, Marcacci L, Tronche F, Kellendonk C, Reichardt HM, Schutz G, Schibler U: *Science* 289:2344-2347 (2000).
 - 32) Stokkan KA, Yamazaki S, Tei H, Sakaki Y, Menaker M: *Science* 291:490-493 (2001).
 - 33) Brown SA, Fleury-Olela F, Nagoshi E, Hauser C, Juge C, Meier CA, Chicheportiche R, Dayer JM, Albrecht U, Schibler U: *PLoS Biol* 3:e338 (2005).
 - 34) Brown TM, Hughes AT, Piggins HD: *J Neurosci* 25:11155-11164 (2005).
 - 35) Maywood ES, Reddy AB, Wong GK, O'Neill JS, O'Brien JA, McMahon DG, Harmar AJ, Okamura H, Hastings MH: *Curr Biol* 16:599-605 (2006).
 - 36) Lundkvist GB, Kwak Y, Davis EK, Tei H, Block GD: *J Neurosci* 25:7682-7686 (2005).