

# 概日NAD<sup>+</sup>/SIRT1活性による老化進行 および老化関連疾患発症の可能性

中畑泰和<sup>✉</sup>

奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 遺伝子発現制御

概日時計研究はこの10年余りの間でめざましい進展を遂げ、リズム発振の分子メカニズムの概要は解明された。さらに近年の遺伝子工学的研究や臨床研究により、ガン、うつ病、肥満、メタボリックシンドロームや老化との関連が明らかになりつつある。本稿では2000年に今井、Guarenteらにより脱アセチル化活性が報告されて以来、2型糖尿病やアルツハイマー病などの老化関連疾患やエネルギー代謝への関与が知られるようになった脱アセチル化酵素“SIRT1”について概説し、概日時計によるSIRT1活性制御、さらに老化や糖尿病をはじめとする老化関連疾患との関連性を筆者の報告を交えて解説する。

## 1. はじめに

厚生労働省の統計によれば、日本人の2010年平均寿命は女性86.4歳、男性79.6歳でそれぞれ長寿世界1位、4位である（総合では長寿世界1位）。また国立社会保障・人口問題研究所によれば、2050年には男女共平均寿命が約5歳延びると予測されている。年齢別人口比では、2008年現在約5人に1人が65歳以上の高齢者であるのに対し、2055年には驚くべきことに日本人の約2.5人に1人が65歳以上の高齢者になると見込まれている。また、厚生労働省の発表によれば、2010年度医療費は過去最高で36兆円超であった。医療費の増加は8年連続であり、特筆すべきは、総医療費の約45%が70歳以上の高齢者医療費であることである。一方で、同研究所の統計資料によれば、日本総人口の自然増加が2007年に初めて減少に転じた。総人口の減少はこれからもさらに続き、推計では2050年には1億人を割り込むことが予想されている。

少子高齢化に加え、先進諸国でみられる飽食や運動不足など生活スタイルの変化により肥満が社会問題になっている。日本においても厚生労働省の2009年度国民健康・栄養調査で、20歳以上の男性3人に1人、女性5人に1人が肥満（BMI $\geq$ 25）に該当し、肥満を基盤とし、虚血性心疾患、脳卒中などの動脈硬化性疾患にも発展する危険性が高まるメタボ

リックシンドロームは、すでに医療、福祉、経済の点から深刻な社会問題となっている。上記データが指し示すのは、労働人口の減少、老人医療費増加など、これまでに日本が経験したことのない深刻な問題を含んだ社会がすぐそこまで来ているということである。

この社会問題を回避するため2000年、21世紀における国民の健康づくり運動、通称「健康日本21」が厚生省(当時)によりスタートした。その一環として重点化された基礎医学研究により、肥満やメタボリックシンドローム発症メカニズムの解明に日本は多大な貢献をしている。一方、先進諸国における高齢化社会問題を背景に『老化』の生物学研究も近年アメリカを中心として急速な進歩を遂げつつある。本総説では、老化・老化関連疾患に対するSIRT1の働きについて概説し、さらに、概日時計からみた『老化』研究および老化関連疾患発症メカニズム解明の可能性について概説していきたい。

## 2. NAD<sup>+</sup>依存性脱アセチル化酵素“Sirtuin”

Sir2遺伝子は1979年にKlarらにより、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の接合型を制御する遺伝子の1つとして同定された [1]。その後20年ほどはあまり注目されていなかったが、2000年に今井眞一郎、Leonald P Guarenteらにより酵母Sir2および

✉yasu-nakahata@bs.naist.jp

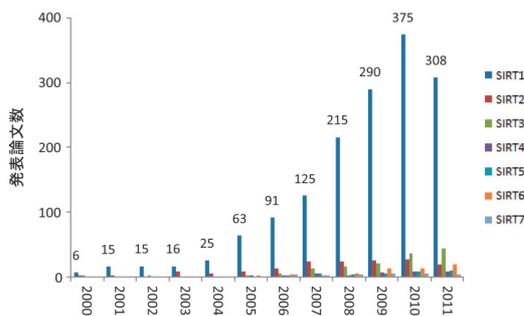


図1 Sirtuin研究における発表論文数の推移  
SIRT1が脱アセチル化酵素であることが発表された2000年以降のSIRT1～7に関する論文数を論文検索サイト「Pubmed」により検索した（2011年9月1日現在）。

哺乳類Sir2オルソログであるSIRT1が脱アセチル化活性を有することが示されて以降、非常に盛んに研究されるようになった〔2〕（図1）。Sir2ファミリー（Sirtuinとも呼ばれる）はその脱アセチル化活性にNAD<sup>+</sup>を必須とするクラスIIIに属する脱アセチル化酵素である〔3〕が、その類似代謝物であるNADP<sup>+</sup>、NADH、NADPHを必要としないことから、Sirtuinは細胞内のエネルギー状態のセンサーとして機能していることが示唆されていた。さらに、酵母や線虫などの下等動物において老化・寿命を制御する重要な因子として注目を浴びた。これら初期の報告が現在のSirtuin生物学発展の基礎となっている。

哺乳類においては、7つのSirtuin（SIRT1-7）の存在が確認されている。これら哺乳類Sirtuinの細胞内局在はそれぞれ異なり、多種多様なタンパク質を基質とし、アポトーシス、ストレス応答、オートファジー、糖代謝ホメオスタシス、老化や寿命など多くの細胞・生体機能に関与していることが明らかになりつつある（表1）〔4, 5〕。

### 3. SIRT1とメタボリックシンドローム・老化関連疾患

メタボリックシンドローム、特に2型糖尿病に対するSIRT1の機能を調べるために、遺伝学的・薬理的にSIRT1活性を上昇させたマウスを用いた研究が複数の研究室よりほぼ同時期に報告された。SIRT1を全身で高発現させたトランスジェニックマウスは3つの研究室で作成され、いずれのトランスジェニックマウスも耐糖能の改善、体重増加の抑制が認められた〔6-8〕。一方で、SIRT1活性化化合物として知られているレスベラトロール、

表1 哺乳類Sirtuinのおもな機能

Sirtuin	細胞内局在	機能	ノックアウトマウスの表現系
SIRT1	核、細胞質	糖新生、コレステロール調節（肝臓） 脂肪発動員、アディポカイン制御（白色脂肪細胞） 脂肪酸化（骨格筋） インスリン分泌（膵β細胞） 心臓発生 血管萎縮/拡張、血管新生、細胞老化（血管内皮細胞） 細胞老化（血管平滑筋） 神経保護（脳） Notchシグナル経路の制御（癌発生時）	発生異常 致死
SIRT2	核、細胞質	チューブリンの脱アセチル化 脂肪分化（3T3-L1細胞）	正常発生
SIRT3	ミトコンドリア	ミトコンドリアタンパク質の脱アセチル化によるATP合成（肝臓、心臓、腎臓）	正常発生 心肥大 長鎖脂肪酸蓄積
SIRT4	ミトコンドリア	インスリン分泌（膵β細胞）	正常発生
SIRT5	ミトコンドリア	尿素サイクル（肝臓）	正常発生
SIRT6	核	塩基除去修復 DNA二本鎖損傷修復 解糖系、中性脂肪産生制御（肝臓）	低血糖 早老
SIRT7	核	Po1 II転写制御 心臓発生	心異常 短命

SIRT1720を高脂肪食下で摂取すると代謝状態の改善、肥満軽減や寿命延長などの効果が見られた〔9, 10〕。これらの報告は、SIRT1の活性化が生体にとって有利に働くことを指し示している。以下に各臓器でのSIRT1とメタボリックシンドローム・老化関連疾患の関連性の一部を簡単に説明する。

#### 3-1 膵β細胞とSIRT1

膵β細胞では、インスリン合成・分泌が行われ、糖代謝制御に必須の役割を果たしている。これまでにSirt1ノックアウトマウスでは、インスリン分泌能が低下しており、その原因が膵β細胞でのSIRT1によるUCP-2の発現制御によるものであることが報告された〔11〕。逆に、膵β細胞特異的にSIRT1を過剰発現させたトランスジェニックマウスを用いた研究では、膵β細胞でUCP-2の発現が有意に減少し、グルコース刺激に対するインスリン分泌能が亢進していることが明らかになった〔12〕。また、Sirt1過剰発現トランスジェニックマウスは高脂肪食下でもグルコース刺激に対し、十分なインスリン分泌能を有し、耐糖能を維持していた〔13〕。初代または株化膵初細胞による研究でも、SIRT1を強制発現もしくは薬剤で活性化することでサイトカインによる膵β細胞破壊を防ぎ、グルコース刺激に対するインスリン分泌応答を正常に維持できることが報告されている〔14〕。

#### 3-2 肝臓とSIRT1

肝臓は非常に多くの機能を持つ臓器として知られているが、そのなかでも糖新生/解糖系、脂肪酸酸化、コレステロール/脂質代謝にSIRT1が関与していることが知られている。絶食により、肝臓ではSIRT1タンパク質量の上昇・活性化が起こり、糖新

生を促進し、解糖系を抑制することで血糖値の維持を行っている。この時のSIRT1標的タンパク質としてPGC-1P、FOXO1、CRTC2 (TORC2)、STAT3が同定されている [15]。さらに、肝臓特異的*Sirt1*ノックアウトマウスは、高脂肪食下においても耐糖能を維持し、体重増加を抑制した [16]。またSIRT1は、PGC-1P、PPARPを介して脂肪酸酸化を調節している [17]。さらに、コレステロール・脂質ホメオスタシスを制御しているLXRLをSIRT1は脱アセチル化し活性化することでコレステロール流入を調節している [18]。

### 3-3 脂肪細胞とSIRT1

脂肪細胞は脂肪酸を産生・貯蔵するだけの組織ではなく、様々な生理活性物質を分泌する内分泌組織であると近年考えられるようになってきた。脂肪細胞から分泌されるこれら生理活性物質を総称してアディポサイトカイン (アディポカイン) と呼ぶ。その中でもアディポネクチンはその血中濃度と内臓肥満量に逆相関がみられ、2型糖尿病、動脈硬化などとの関連が示されているアディポサイトカインである。SIRT1は転写因子FOXO1を脱アセチル化することにより脂肪細胞でのアディポネクチン遺伝子の発現を促進することが報告されている [8]。また、脂肪細胞の分化と脂肪蓄積を促進する作用を持つ核内受容体PPARAとSIRT1が複合体を形成する結果、脂肪細胞分化、脂肪蓄積を抑制することが明らかになった [19]。

### 3-4 神経とSIRT1

脳機能におけるSIRT1の役割も近年注目されている。たとえばSIRT1は、神経保護作用、老化関連疾患のひとつであるアルツハイマー病や老化にともなうシナプス可塑性の低下や認知障害、記憶障害に関与していることが報告されている [20-23]。

## 4. 概日時計とメタボリックシンドローム・老化関連疾患

これまでの概日時計遺伝子改変マウスを用いた研究によって、概日時計と老化関連疾患の関連性が示されている [24] (表2)。*Per1,2*ダブルノックアウトマウスおよび*Cry1,2*ダブルノックアウトマウスは骨密度制御に異常をきたすこと [25]、*Clock/clock*変異マウスでは糖・脂質代謝異常を呈し、肥満を引き起こすこと [26, 27]、*Bmal1*ノックアウトマウスでは寿命短縮に加え、筋肉減少症、白内障、皮下

表2 概日時計と代謝の関連性

概日時計遺伝子名	概日行動リズム異常	代謝異常
clock mutant	周期が4時間延長したのち、周期性なし	肥満およびメタボリック症候群、早老
bmal1 knockout	周期性なし	早老を伴う寿命短縮、血糖グルコース、中性脂肪の概日変動異常
per2 knockout	周期が短くなったのち、周期性なし	報告なし
per1/per2 double knockout	周期性なし	骨密度異常
cry1 knockout	周期が1時間短縮	報告なし
cry2 knockout	周期が1時間延長	報告なし
cry1/cry2 double knockout	周期性なし	骨密度異常 インスリン感受性異常 (肝臓) 高血圧症
Rev-erb $\alpha$ knockout	周期が短縮	血漿中性脂肪の増加
Ror $\alpha$ knockout	周期が短縮	血漿中性脂肪およびHDLの減少 粥状動脈硬化症の増加

脂肪減少や臓器委縮などを含む早老現象が観察され [28]、榛葉らは培養細胞を使った実験系で、BMAL1が脂肪細胞分化および脂質代謝に関与していることを証明した [29]。さらに最近では*Clock/clock*変異マウスおよび*Bmal1*ノックアウトマウスは低インスリン血症および糖尿病であること [30]、さらにはCryによるインスリン感受性 [31]、血圧制御機構 [32] が明らかになってきた。このように概日時計による代謝調節への関与が明らかにされつつある一方で、代謝異常が概日時計に与える影響も示唆されている。例えば、食事性および遺伝性肥満・2型糖尿病モデルマウスでは、概日行動周期の延長、時計遺伝子発現リズムの減弱などが報告されている [24, 33-35]。

## 5. 概日時計とSIRT1

Sassone-Corsi研究室に在籍していた土居らにより転写因子CLOCKがヒストンアセチル基転移酵素 (HAT: histone acetyltransferase) 活性を有すること [36] が報告する直前の2005年9月、筆者はポスドクとしてSassone-Corsi研究室に留学するチャンスを得た。当然の流れとして、HATとしてのCLOCKに拮抗する脱アセチル化酵素 (HDAC: histone deacetylase) を見つけることが研究テーマとなった。幸運なことに、CLOCKに拮抗するHDACがSIRT1であることを示唆するデータを得るまであまり時間を要しなかった。SIRT1は、その活性に概日変動を示し、さらにHATであるCLOCKと複合体を形成することで、CLOCKのアセチル化標的タンパク質であるヒストンH3およびBMAL1を周期的に脱アセチル化し、概日時計遺伝子発現を調節している [37] (図2)。

さらに筆者は、SIRT1の概日酵素活性変動メカニズムを解明するためにNAD<sup>+</sup>生合成機構に注目し

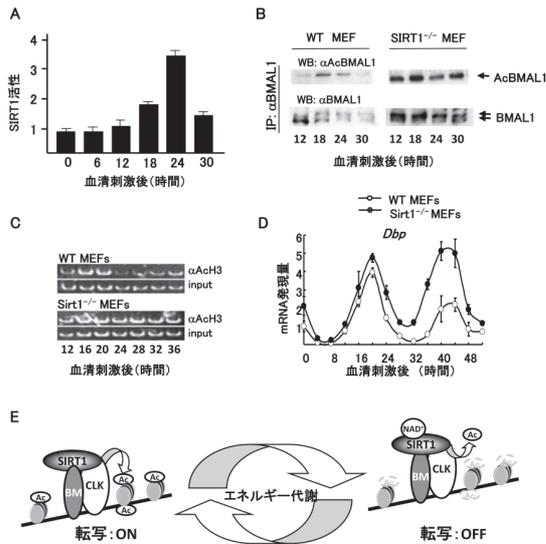


図2 概日時計とNAD<sup>+</sup>依存性脱アセチル化酵素SIRT1 (A) 正常線維芽細胞でSIRT1の脱アセチル化活性は概日変動する。(B、C) CLOCK標的のタンパク質であるBMAL1 (B) とヒストンH3 (C) の周期的アセチル化は概日SIRT1活性により制御されている。(D) SIRT1欠損線維芽細胞では、概日時計遺伝子 (*Dbp*遺伝子) の発現調節に異常がみられる。(E) SIRT1による概日時計遺伝子発現制御のモデル図

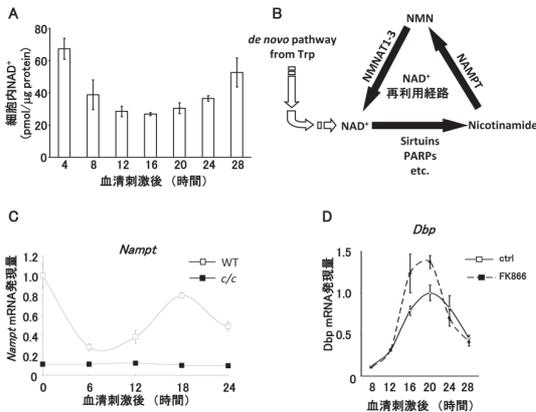


図3 概日時計による細胞内NAD<sup>+</sup>濃度制御 (A) 正常線維芽細胞において細胞内NAD<sup>+</sup>量は概日変動する。(B) NAD<sup>+</sup>生合成経路 (*de novo*経路と再利用経路)。(C) NAD<sup>+</sup>再利用経路の律速酵素である*Nampt*遺伝子発現変動。正常線維芽細胞では、血清刺激後18時間をピークとする概日変動を示したが、*clock/clock*線維芽細胞では、概日変動を示さなかった。(D) NAMPT酵素活性阻害剤であるFK866処理により、*Dbp*遺伝子の発現量が上昇した。

た。NAD<sup>+</sup>生合成経路および酵素の生化学的研究は1950年代から盛んに行われ、1970年にはすでに、マウス臓器においてNAD<sup>+</sup>量が概日変動することが示されていた (この論文では給餌性トリプトファンが組織内NAD<sup>+</sup>量を変化させる要因だと結論付けてい

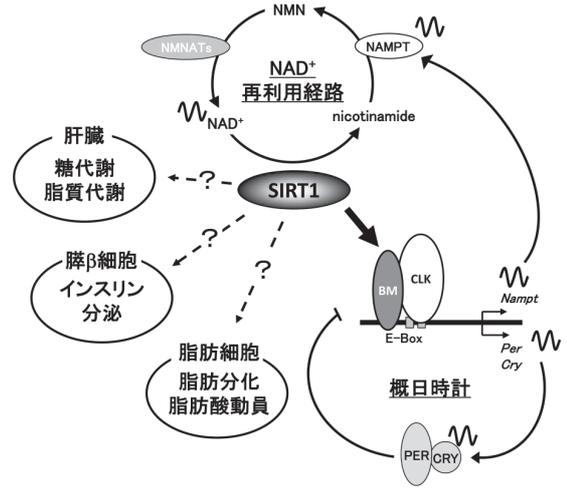


図4 概日時計とNAD<sup>+</sup>再利用経路のクロストーク 概日時計とNAD<sup>+</sup>再利用経路はSIRT1を介して相互制御している。概日NAD<sup>+</sup>/SIRT1活性変動は種々の代謝を制御し、生体の恒常性・ロバスト性を維持することで老化・老化関連疾患に抵抗しているのか？

る) [38]。また、過去に報告されたマイクロアレイを用いた研究によると、主要NAD<sup>+</sup>合成経路の律速酵素である*Nampt* 遺伝子 (詳しくは下記参照) の発現が概日変動していることが示されている [39-41]。筆者と今井らのふたつのグループは、細胞内NAD<sup>+</sup>量が概日時計制御により24時間周期で変動していることを証明した [42,43] (図3 A)。

NAD<sup>+</sup>合成にはアミノ酸であるトリプトファンから作られる*de novo*経路とニコチンアミドあるいはニコチン酸を利用する経路の3通りが存在するが、高等動物では主に、細胞内NAD<sup>+</sup>はニコチンアミドからの再利用経路により供給されている (図3 B)。再利用経路に関与する酵素のうち、前述の通り、再利用経路の律速酵素である*Nampt*遺伝子のみ顕著な概日変動を示した (図3 C)。さらに、*clock/clock*変異マウスおよび*Cry1,2*ダブルノックアウトマウス由来線維芽細胞で*Nampt*遺伝子の発現変動が消失していた [42] ことより、概日時計が*Nampt*遺伝子の発現を制御し、細胞内NAD<sup>+</sup>量を調節していることが明らかになった。

興味深いことに、NAMPT特異的阻害剤 (FK866) を用いて細胞内NAD<sup>+</sup>量を減少させた環境下では、時計遺伝子の発現が上昇していた (図3 D)。この結果は、*Sirt1*欠損線維芽細胞での時計遺伝子発現パターンと一致する (図2 D)。これらの結果は、細胞内NAD<sup>+</sup>量がSIRT1活性を制御し、時計遺伝子の発現を調節していることを示している (図4)。すなわち、概日時計とNAD<sup>+</sup>生合成という

独立した生命現象がSIRT1を介してクロストークしていることが初めて分子レベルで証明された。

## 6. 概日NAD<sup>+</sup>/SIRT1活性で老化・老化関連疾患発症メカニズムを説明できるか？

現在のSirtuin生物学が挑むべき主要命題として、以下の2つが挙げられる。①Sirtuinは肥満、2型糖尿病、神経変性疾患などの老化関連疾患発症において中心的な働きをしているか？②哺乳類Sirtuinは、酵母や線虫Sirtuinと同様に、老化や寿命の制御因子として働いているのか？筆者らを含む最近の報告 [37, 42-44] は、命題①を解明する1つの糸口となり得るのではないかと考えている(図4)。また、命題①と②は独立した生命現象ではなく、複数の老化関連疾患を併発することで生体としてのロバスタ性が脆弱になった結果、個体レベルでの老化が加速度的に進行し、寿命が尽きると筆者は考えている。すなわち、命題②に取り組むためには、生体をひとつのシステムとして捉えることが必要であり、これまでの細胞・臓器レベルでの老化関連疾患研究を一つ上の階層である臓器連関、すなわち生体レベルまで引き上げて研究する必要がある。筆者らのこれまでの研究成果は、SIRT1をはじめとするSirtuinの活性制御に生体内NAD<sup>+</sup>の概日変動が重要であることを示唆している。概日NAD<sup>+</sup>変動の重要性を検証するため、NAD<sup>+</sup>生合成経路の律速酵素であるNAMPTを全身または臓器特異的に高発現するトランスジェニックマウスの作製を行っている。これらマウスを用いて、臓器連関に注目した生体レベルでの解析を行うことでSirtuin生物学の2命題の解明に取り組んでいこうと考えている。

## 7. おわりに

本稿では、SIRT1を中心に老化関連疾患と概日時計のクロストークの可能性について述べた。現在、「Sirtuin生物学／老化の生物学」はアメリカの独壇場である。この分野に時間生物学という観点からの参入は非常に魅力的であると筆者は考えている。「Sirtuin生物学／老化の生物学」を長寿大国を誇る日本で推し進め、その中心に時間生物学研究者がいることを期待している。本稿がそのきっかけとなれば幸いである。

## 参考文献

1) Klar AJ, Fogel S, Macleod K: *Genetics* 93 (1): 37-50 (1979)

- 2) Imai S, Armstrong, CM, Kaerberlein M, Guarente, L: *Nature* 403: 795-800 (2000)
- 3) Frye RA: *Biochem Biophys Res Commun* 273: 793-798 (2000)
- 4) Schwer B, Verdin E: *Cell Metab* 7: 104-12 (2008).
- 5) Michan S, Sinclair D: *Biochem J* 404: 1-13 (2007)
- 6) Bordone L, Cohen D, Robinson A, Motta MC, van Veen E, Czopik A, Steele AD, Crowe H, Marmor S, Luo J, Gu W, Guarente L: *Aging Cell* 6(6): 759-67 (2007)
- 7) Pfluger PT, Herranz D, Velasco-Miguel S, Serrano M, Tschöp MH: *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(28): 9793-8 (2008)
- 8) Banks AS, Kon N, Knight C, Matsumoto M, Gutiérrez-Juárez R, Rossetti L, Gu W, Accili D: *Cell Metab* 8(4): 333-41 (2008)
- 9) Milne JC, Lambert PD, Schenk S, Carney DP, Smith JJ, Gagne DJ, Jin L, Boss O, Perni RB, Vu CB, Bemis JE, Xie R, Disch JS, Ng PY, Nunes JJ, Lynch AV, Yang H, Galonek H, Israelian K, Choy W, Iffland A, Lavu S, Medvedik O, Sinclair DA, Olefsky JM, Jirousek MR, Elliott PJ, Westphal CH: *Nature* 450(7170): 712-6 (2007)
- 10) Feige JN, Lagouge M, Canto C, Strehle A, Houten SM, Milne JC, Lambert PD, Matakis C, Elliott PJ, Auwerx J: *Cell Metab* 8(5): 347-58 (2008)
- 11) Bordone L, Motta MC, Picard F, Robinson A, Jhala US, Apfeld J, McDonagh T, Lemieux M, McBurney M, Szilvasi A, Easlson EJ, Lin SJ, Guarente L: *PLoS Biol* 4(2): e31 (2006)
- 12) Moynihan KA, Grimm AA, Plueger MM, Bernal-Mizrachi E, Ford E, Cras-Méneur C, Permutt MA, Imai S: *Cell Metab* 2(2): 105-17 (2005)
- 13) Ramsey KM, Mills KF, Satoh A, Imai S: *Aging Cell* 7(1): 78-88 (2008)
- 14) Lee JH, Song MY, Song EK, Kim EK, Moon WS, Han MK, Park JW, Kwon KB, Park BH: *Diabetes* 58(2): 344-51 (2009)
- 15) Imai S, Guarente L: *Trends Pharmacol Sci* 31 (5): 212-20 (2010)
- 16) Chen D, Bruno J, Easlson E, Lin SJ, Cheng HL,

- Alt FW, Guarente L: *Genes Dev* 22(13): 1753-7 (2008)
- 17) Purushotham A, Schug TT, Xu Q, Surapureddi S, Guo X, Li X: *Cell Metab* 9(4): 327-38 (2009)
  - 18) Li X, Zhang S, Blander G, Tse JG, Krieger M, Guarente L: *Mol Cell* 28(1): 91-106 (2007)
  - 19) Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A, Senawong T, Machado De Oliveira R, Leid M, McBurney MW, Guarente L: *Nature* 429(6993): 771-776 (2004)
  - 20) Araki T, Sasaki Y, Milbrandt J: *Science* 305(5686): 1010-3 (2004)
  - 21) Kim D, Nguyen MD, Dobbin MM, Fischer A, Sananbenesi F, Rodgers JT, Delalle I, Baur JA, Sui G, Armour SM, Puigserver P, Sinclair DA, Tsai LH: *EMBO J* 26(13): 3169-79 (2007)
  - 22) Donmez G, Wang D, Cohen DE, Guarente L: *Cell* 142(2): 320-32 (2010)
  - 23) Gao J, Wang WY, Mao YW, Gräff J, Guan JS, Pan L, Mak G, Kim D, Su SC, Tsai LH: *Nature* 466(7310): 1105-9 (2010)
  - 24) Green CB, Takahashi JS, Bass J: *Cell* 134: 728-742 (2008)
  - 25) Fu L, Patel MS, Bradley A, Wagner EF, Karsenty G: *Cell* 122(5): 803-15 (2005)
  - 26) Rudic RD, McNamara P, Curtis AM, Boston RC, Panda S, Hogenesch JB, Fitzgerald GA: *PLoS Biol* 2(11): e377 (2004)
  - 27) Turek FW, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, McDearmon E, Laposky A, Losee-Olson S, Easton A, Jensen DR, Eckel RH, Takahashi JS, Bass J: *Science* 308(5724): 1043-5 (2005)
  - 28) Kondratov RV, Kondratova AA, Gorbacheva VY, Vykhoanets OV, Antoch MP: *Genes Dev* 20(14): 1868-73 (2006)
  - 29) Shimba S, Ishii N, Ohta Y, Ohno T, Watabe Y, Hayashi M, Wada T, Aoyagi T, Tezuka M: *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(34): 12071-12076 (2005)
  - 30) Marcheva B, Ramsey KM, Buhr ED, Kobayashi Y, Su H, Ko CH, Ivanova G, Omura C, Mo S, Vitaterna MH, Lopez JP, Philipson LH, Bradfield CA, Crosby SD, JeBailey L, Wang X, Takahashi JS, Bass J: *Nature* 466: 627-631 (2010)
  - 31) Zhang EE, Liu Y, Dentin R, Pongsawakul PY, Liu AC, Hirota T, Nusinow DA, Sun X, Landais S, Kodama Y, Brenner DA, Montminy M, Kay SA: *Nat Med* 16(10): 1152-1156 (2010)
  - 32) Doi M, Takahashi Y, Komatsu R, Yamazaki F, Yamada H, Haraguchi S, Emoto N, Okuno Y, Tsujimoto G, Kanematsu A, Ogawa O, Todo T, Tsutsui K, van der Horst GT, Okamura H: *Nat Med* 16(1): 67-74 (2010)
  - 33) Kohsaka A, Laposky AD, Ramsey KM, Estrada C, Joshu C, Kobayashi Y, Turek FW, Bass J: *Cell Metab* 6(5): 414-21 (2007)
  - 34) Ando H, Yanagihara H, Hayashi Y, Obi Y, Tsuruoka S, Takamura T, Kaneko S, Fujimura A: *Endocrinology* 146(12): 5631-5636 (2005)
  - 35) Kudo T, Akiyama M, Kuriyama K, Sudo M, Moriya T, Shibata S: *Diabetologia* 47(8): 1425-36 (2004)
  - 36) Doi M, Hirayama J, Sassone-Corsi P: *Cell* 125: 497-508 (2006)
  - 37) Nakahata Y, Kaluzova M, Grimaldi B, Sahar S, Hirayama J, Chen D, Guarente LP, Sassone-Corsi P: *Cell* 134: 329-340 (2008)
  - 38) Powanda MC, Wannemacher RW Jr: *J Nutr* 100: 1471-1478 (1970)
  - 39) Panda S, Antoch MP, Miller BH, Su AI, Schook AB, Straume M, Schultz PG, Kay SA, Takahashi JS, Hogenesch JB: *Cell* 109: 307-320 (2002)
  - 40) Storch KF, Lipan O, Leykin I, Viswanathan N, Davis FC, Wong WH, Weitz CJ: *Nature* 417: 78-83 (2002)
  - 41) Ueda HR, Chen W, Adachi A, Wakamatsu H, Hayashi S, Takasugi T, Nagano M, Nakahama K, Suzuki Y, Sugano S, Iino M, Shigeyoshi Y, Hashimoto S: *Nature* 418: 534-539 (2002)
  - 42) Nakahata Y, Sahar S, Astarita G, Kaluzova M, Sassone-Corsi P: *Science* 324: 654-657 (2009)
  - 43) Ramsey KM, Yoshino J, Brace CS, Abrassart D, Kobayashi Y, Marcheva B, Hong HK, Chong JL, Buhr ED, Lee C, Takahashi JS, Imai S, Bass J: *Science* 324: 651-654 (2009)
  - 44) Asher G, Gatfield D, Stratmann M, Reinke H, Dibner C, Kreppel F, Mostoslavsky R, Alt FW, Schibler U: *Cell* 134(2): 317-28 (2008)