

細胞の「時間」：時計を止めた細胞の不思議

八木田和弘[✉]

京都府立医科大学 大学院医学研究科 統合生理学

はじめに

筆者は、これまで「全身に存在する細胞の時計」の仕組みや意義を理解したいと思い、様々な試みでその解明を目指してきた。そして、いま、また異なる視点から「細胞と概日時計」の関係を考える契機となる知見が得られてきている。筆者は、初期胚細胞のみならず胚性幹細胞(ES細胞)に概日時計がなく、細胞分化に依存して概日時計が形成されることを明らかにした。さらにリプログラミングによって再消失するという、「概日時計と細胞分化の密接なリンク」を発見した。そして、この課題を掘り下げていくことで、生殖細胞と体細胞の成り立ちや発生学などとも関連するような、概日時計のフィルターを通して初めて見えてくる細胞の新しい姿を提示できるのではないかと考えるようになった。本稿では、筆者がこのような考えに至った一連の研究について概説し、関連する様々な知見と合わせて、細胞の「時間」について考察する。

全身の細胞に概日時計が存在！

筆者がまだ大学院一年生の時(1997年)、単離されたばかりの*mPeriod1* (*mPer1*)遺伝子発現を様々な臓器で検討した。そのとき得られた、全身の臓器に*mPer1*が発現し、しかも明瞭な日内リズムを刻んでいるという結果に驚きと強い興味を覚えた。現在、このようなことに驚く大学院生は皆無であるが、時計遺伝子が単離される以前は「哺乳類概日リズム研究=視交叉上核研究」と多くの研究者が受け止めている時代であり、概日リズム研究者が視交叉上核以外の組織でそのメカニズム研究を行うなどは考えられなかった。その理由は、1980年前後に川村らのランドマーク的研究によって初めて示され[1, 2, 3]、その後、世界中から視交叉上核が哺乳類概日リズムの中核であることを示す一連の研究が報告され

たからである。さらに、視交叉上核の破壊は全身の生理機能リズムを消失させる、という揺るぎない事実があった。つまり、哺乳類では、当時は「視交叉上核以外に概日時計は存在しない」という非常に強いドグマがあったのである。ところが、*mPer1*や*Clock*を始めとする哺乳類時計遺伝子が単離され、その発現分布などが調べられていくと、すべての時計遺伝子がほぼ全身の臓器や組織に発現していることが明らかになった。これに併せて、Schiblerらによる培養細胞株での概日性遺伝子発現の発見 [4]、末梢臓器での自律性時計遺伝子発現リズム [5]、そして筆者自身による線維芽細胞株での視交叉上核と共通する概日時計発振機構の証明 [6]、という一連の研究によって哺乳類の概日時計は全身の細胞に存在するという新しいドグマへと概念の転換が起こった。しかし、何事にも例外があるように、全身に存在する概日時計にもやはり例外が存在した。

唯一の例外「生殖細胞」

上述の通り、概日時計は全身の臓器・組織に存在し、また様々な培養細胞株にも共通の機構でリズムを発振する概日時計が存在することが次々と示され、培養細胞を用いた哺乳類概日時計研究も急速に発展していった。

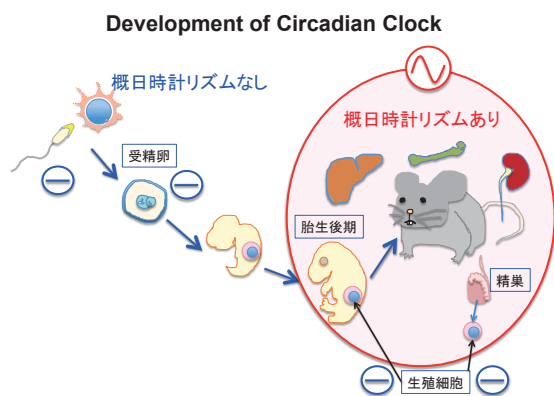
しかし、唯一、精巣だけは時計遺伝子発現の24時間リズムが全く見られないことが報告された。*mPer1*など時計遺伝子の発現自体は見られるのだが、リズムがないという現象であった。しかも、細胞レベルでの詳細な研究から、精祖細胞など生殖系列の細胞にのみ時計遺伝子や時計タンパク質のリズムが見られないことが明らかとなった [7, 8]。これらの詳細な研究から、時計遺伝子は発現していてもタンパク質としては検出されなかったり、時計タンパク質は発現していてもその細胞内局在が体細胞の

✉kyagita@koto.kpu-m.ac.jp

それとは異なっていたり、ということが明らかになり、特殊なメカニズムが生殖細胞にはあるのだらうと考えられた。

ちなみに、卵細胞に関する研究はほとんどなく、卵細胞に概日時計があるのかどうかについては、厳密な意味では明言することはできない。しかし、卵巣内の卵母細胞は、哺乳類ではほとんどが減数第一分裂の中期で停止した休眠細胞であり、また、受精卵では概日時計のリズムがない [9]。このように、卵細胞でも概日時計が機能していることを示す証拠はないことから、現在のところ卵細胞にも概日時計は機能していないのではないかと考える研究者が多い。

何れにしても、唯一の例外として、生殖系列の細胞には概日時計のリズムが見られず、それ以外の体細胞には概日時計が備わっており24時間周期のリズムを刻んでいるというのが現在の常識となっている (図1)。



(図1) マウス概日時計の発生
哺乳類の概日時計は全身の細胞に備わっているが、生殖細胞や受精卵などには概日時計のリズムが見られない。

哺乳類概日時計の発生

ここで、少し話の展開を変えて、哺乳類概日リズムの発生について触れる。哺乳類概日リズムの発生研究については、かなり古くからの歴史がある。それには、大昔からいたであろう、生まれたばかりの赤ん坊のために数ヶ月間の眠れない夜を過ごす母親の存在と無縁ではないように思う。つまり、経験的に、新生児期には概日リズムがなく発達とともにリズムが形成されることが知られていた。さらに、1980年代に、Schwartz, Reppert, Davis、本間、Moorらによって概日リズムの母子同調を指標として胎仔の概日リズム発生メカニズムが精力的に研究

された。げっ歯類を用いた動物実験において、妊娠中に母親のSCNを破壊した場合、出生後の仔動物(ラットもしくはハムスター)で同腹の仔動物間での授乳タイミングやSCNのグルコース取り込みリズム位相が大きく乱れることが示された[10,11]。これらの結果は、論文中にも触れられているが、母体リズムの消失により仔の概日時計が形成されなかったのではなく、母子同調がなくなったために同腹の胎仔間での同期が起こらなかったと解釈すべきである。それを裏付けるように、Albrechtらにより、時計遺伝子欠損による概日リズム消失を示す母親マウスと野生型のオスマウスとの交配で生まれた仔マウスにはいずれも概日リズムが見られ、母親のリズムに依存しない胎仔自律的な概日時計の発生が見られることを示している [12]。ここでも、同腹の仔マウス間での位相関係は、概日リズムが消失している母マウスから生まれた群でよりばらつきが大きいことが示されている。また、同一個体内での臓器による概日時計発生についても、臓器間で概日時計発生のスピードに多少の違いがあることが報告されている [13]。

ヒトの場合も、もちろん細胞レベルでの解析がされている訳ではないが、出生2日目の新生児にも弱いながら体温リズムが見られることから、やはり部分的に胎児期に概日時計が形成されていることが示唆されている[14]。

細胞分化に伴う概日時計の発生

上述の、全身の細胞に概日時計が備わっている、しかし生殖細胞には例外的に概日時計の発振がない、さらに発生過程で概日時計が形成される、という知見から筆者は哺乳類細胞における概日時計の成り立ちについて考えるようになった。

胎児期に視交叉上核の概日時計の形成が自律的に生じ、さらに全身の時計が主として胎児期に形成される。筆者は、以前から、末梢の組織・細胞にうまく概日時計が備わっていることの意義や意味は何か、という問に対する答えを探し続けていた。哺乳類では視交叉上核が中枢時計として働き、視交叉上核の破壊でほぼすべての生理機能リズムが消失するという、視交叉上核至上主義の制御になっているにも関わらず全身のほとんどの細胞に概日時計が備わっている。しかも、発生過程において、どうも最初から時計があるわけではなく胎児期に形成されるらしい。一方で、末梢の時計は、視交叉上核にある中枢時計の支配下であってその存在意義は未だに全

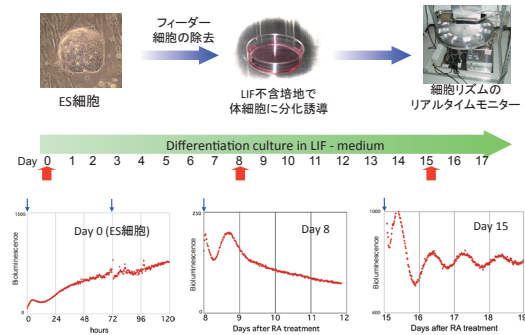
容が明瞭に見えている訳ではなかった。このようなことから、末梢時計の意義、特に全身の細胞に概日時計が備わっている根源的な理由について、その成立原理という視点から見てみようと思うようになった。つまり、視交叉上核の中樞時計に依存した末梢時計の形成がおこるのか、あるいは、末梢時計は視交叉上核と主従関係なくその成立から細胞自律的なのか、という問いの設定である。

このような動機から、哺乳類細胞における概日時計の発生メカニズムの解明を目的とした研究に入った。2006年ころからマウスES細胞を想定して、概日時計の発生を解析できる系の樹立に向けたレポーター系の開発をおこない、当時まだほとんど世に出ていなかったTol2トランスポゾンを利用した概日時計モニター発光レポーター系の作成に成功した。これは、国立遺伝学研究所の川上浩一教授が開発したTol2トランスポゾンベクターを基に構築した、初代培養細胞を含めた様々な細胞に非常に簡便かつ高効率に安定遺伝子導入できるレポーターベクターであり、非常に有効なツールとなった。さらに、マウスES細胞の*in vitro*分化誘導培養系について、幹細胞生物学分野で広く用いられている方法を基にして、概日時計の解析に適した方法を模索した。

これらの方法論の確立により、マウスES細胞を用いた概日時計解析が可能になった。そこで、まず、ES細胞の概日時計を解析したところ、必須の時計遺伝子発現は見られるにもかかわらず明瞭な時計遺伝子発現リズムがないことが明らかとなり、概日時計が発振していないことが示唆された [15]。これは、上記の概日時計の発生に関する一連の研究から予測していたことではあるが、細胞株であるES細胞であっても、多能性幹細胞という極めて未分化な初期胚の性質を有する細胞には概日時計がないことが確認された点で重要な発見であると考えている。さらに、ES細胞は、*in vitro*分化誘導培養によって培養皿上で神経細胞や心筋細胞など、正常な体細胞に分化誘導できることが知られている。そこで、筆者は、マウスES細胞を*in vitro*分化誘導培養することで、概日時計のリズム発振が見られるかどうかを検討した。興味深いことに、分化誘導7日程度で観察したところリズムが見られず、分化誘導15日目の細胞で非常に明瞭な概日リズムが検出された [15]。通常、幹細胞生物学者は、多能性幹細胞と分化細胞の比較をする場合、分化細胞として用いるのはせいぜい7-8日程度の分化誘導培養を施した細胞である。したがって、多能性幹細胞のマーカ

消失する7日程度の分化誘導培養で概日時計が見られなかった時には、かなりがっかりした。ほとんど諦めて、さらに1週間ほど培養を続けていた細胞をついでに測定したところ、極めて明瞭な概日リズムが観察されたのである。意外ではあったが、非常に嬉しい瞬間であった (図2)。

In vitro 分化誘導にともなう概日リズムの発生



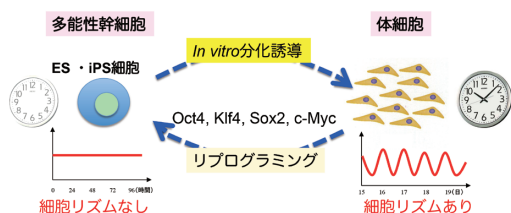
(図2) マウスES細胞の*in vitro*分化誘導培養による概日時計の形成

マウスES細胞をLIF不含培地(分化誘導培地)で培養すると、1週間ほどで完全に分化した細胞になり、ES細胞のマーカは消失する。しかし、概日時計の発生は分化誘導後1週間では確認できず、分化誘導培養2週間に明瞭な概日時計の振動が確認できる。(文献14より一部改変)

さらに、ときは山中らによるiPS細胞が出現して間もない頃であり、周囲の幹細胞生物学者はこぞってiPS細胞の樹立に取り組んでいた。これが幸いし、良い共同研究者に恵まれて、リプログラミングによるiPS細胞の作製も含めた研究に躊躇なく入って行くことができた。知りたかったのは、分化に伴って形成されているように見える概日時計の発生過程が、本当に細胞分化とリンクしたものであるかどうか、である。この実験が必要だと思った理由は、概日時計の形成が分化誘導後7日では全く見られず、2週間以上経ってから起こるという結果から、細胞分化そのものとリンクしているのであれば少し遅すぎるのではないかと危惧したからである。上述のように、幹細胞生物学者は、7-8日の分化誘導培養で十分に分化した細胞として取り扱うという、ある種の常識からくる違和感である。しかし、リプログラミングにより一旦形成された概日時計は再び消失し、さらにiPS細胞をもう一度分化誘導するとまた概日時計が形成されることを確認し、概日時計は細胞分化と連動して可逆的に出現と消失を行

き来できることを明らかにした [15] (図3)。

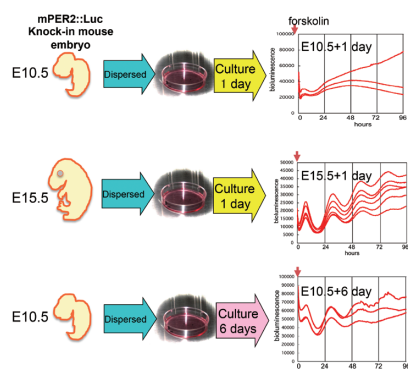
分化状態と細胞リズムの関係性



(図3) 細胞分化に伴い出現し、リプログラミングによって消失する概日時計

ES細胞などの多能性幹細胞には概日時計がなく、細胞分化に伴って約24時間周期の概日時計が形成される。しかし、分化した細胞をリプログラミングし、iPS細胞にすることで再び概日時計は消失する。哺乳類概日時計は、細胞分化と密接に関連する。

さらに、マウス胎仔を用い、E10.5の胎仔から採取した細胞（おそらく多くは線維芽細胞）では概日リズムがないこと、E15.5の胎仔細胞では明瞭な概日リズムを発振していること、E10.5の胎仔細胞を5日間培養すると概日リズムが出現すること、を明らかにし、細胞分化に伴う細胞自律的な概日時計の発生がES細胞だけでなく生体における個体発生でも当てはまる現象であることがわかった [16] (図4)。これらの結果により、概日時計の発生は、細胞分化という普遍的な現象と密接に関連した細胞機能であることを示した。時間生物学分野においても、幹細胞生物学分野においても、新しい概念であった。



(図4) マウス胎仔細胞も分化に伴い細胞自律性に概日時計の発生が起こる

E10.5 (+1日) のマウス胎仔の細胞（多くは線維芽細胞）では概日時計が形成されておらずリズムが見られない。一方で、E15.5 (+1日) のマウス胎

仔細胞ではすでに明瞭な概日時計の振動が見られる。さらに、概日時計のリズムが見られないE10.5マウス胎仔細胞を6日間培養すると明瞭な概日リズムが見られる。(文献15より一部改変)

ただ無いのではなく、積極的に止められていた概日時計

次に我々が挑戦したのは、細胞分化に伴う概日時計の発生メカニズムの実体を明らかにすることである。しかし、手がかりは、細胞分化とリンクしている、ということだけであり最初は何から手をつければ良いのか暗中模索の状態であった。そこで、まず、「細胞分化とは何か」を知ることから始めることにし、iPS細胞の発明以降に激変した細胞分化の概念を数多くの論文を読みながら体系的に理解していった。そうすることにより、突き詰めれば、細胞分化とは「エピジェネティック・プログラミング」とそれに引き続く「転写ネットワークのプログラミング」であることがわかり、これらに焦点を当てた摂動実験で手がかりをつかもうと考えた。こうなると、真っ先にあがってくるのはDNAメチル化やヒストンメチル化を制御するエピジェネティック因子とiPS細胞作製に使われたような鍵となる転写因子である。これらの欠損ES細胞や発現誘導ES細胞などを用いてスクリーニング的に解析を進めた結果、DNAメチル化酵素である*Dnmt1*欠損や山中4因子の一つである*c-Myc*過剰発現によって、分化誘導培養に伴う概日時計の形成が破綻することを突き止めた [17]。

これらはいずれも細胞分化過程に影響し、正常な細胞分化が障害されることが知られている。つまり、正常なプログラムされた細胞分化過程からの逸脱である。ここで、*c-MYC*の過剰発現による概日時計障害は、E-boxを介する転写-翻訳フィードバックループ (TTFL) に*c-MYC*が作用することによるものはずだ、と思われる読者も多いと思う。確かに、過剰発現した*c-MYC*がE-boxに作用してTTFLに影響することは間違いなく、我々も確認している。しかし、筆者らは、*c-MYC*過剰発現の影響は、完成したTTFLの阻害に局限したものではないと考えている。その理由として、*c-MYC*はスーパーエンハンサーに作用する主要な鍵転写因子の一つとして、数千にもおよぶ遺伝子発現ネットワークに大きな影響を与えるものであることが挙げられる。そして、この作用によって、細胞の性質 (cell fate) が変化してガンなどの異常な細胞に変化して

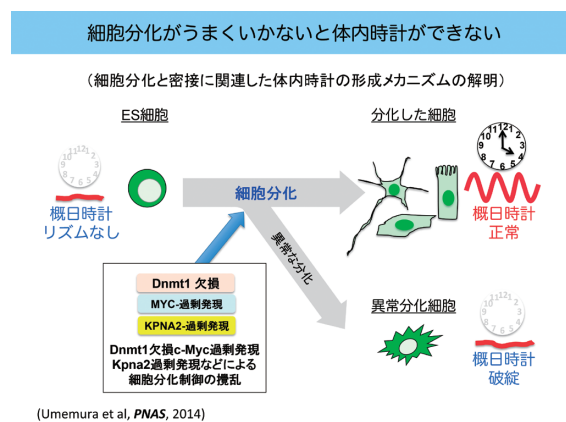
いくこともある。iPS細胞作製の場合も、まずc-MYCによってゲノムワイドな遺伝子発現の大きな変動が生じ、細胞の性質を変化させやすくすることでiPS細胞作製効率の上昇に寄与することが知られている。実際、我々のデータでも、ES細胞の分化誘導過程におけるc-MYCの過剰発現により、数千の遺伝子発現が大きく変化し、細胞全体の遺伝子発現ネットワークの変化が起こっている[17]。

話が少しずれたが、*Dnmt1*欠損やc-MYC過剰発現などによって細胞分化に伴う概日時計の形成が破綻する。そこで、これらの概日時計の形成阻害に関与する因子を同定しようと試みた。マイクロアレイやRNA-seqによる網羅的遺伝子発現解析で得られたデータを「リズム発振がある細胞」と「リズム発振がない細胞」それぞれの発現パターンを比較することで、概日時計発生の阻害に関わる可能性のある候補因子を484遺伝子同定した。この遺伝子セットを、概日時計の形成と相関する遺伝子群として「Clock Module (クロック・モジュール)」と名付けた。その中から、やはりES細胞の未分化性維持に関与することが知られているKPNA2という因子に着目した。KPNA2はインポーチンとよばれるタンパク質の核移行などを制御する因子のサブユニットの一つとして知られているが、ES細胞では分化を促進するOct6のような転写因子に対しては逆に核内移行を阻害する。ES細胞や概日時計が振動していない分化異常細胞では、時計タンパク質PER1が細胞質に異常蓄積し核内への移行が阻害されている現象が見られたため、このKPNA2に注目して解析することにした。我々は、ES細胞の分化誘導過程におけるKPNA2の過剰発現が概日時計の発生を障害することを示し、KPNA2も細胞分化に伴う概日時計の発生に関与する因子の一つであることが明らかとなった [17] (図5)。ただ、詳細な解析の結果、KPNA2の直接的作用によってPER1の細胞質貯留が引き起こされているわけではないことも明らかとなり、この点についてはさらなる検討が必要であることがわかった [17]。

しかし、概日時計のないES細胞などの細胞では、PER1の異常な細胞質内貯留や必須の時計タンパク質の発現抑制など、TTFLがサイクルできないような状況になっていることは明確であり、それが細胞分化により解消することから、なんらかのメカニズムによる発振抑制機構が働いていることが示唆される。つまり、発生初期段階や多能性幹細胞、そして生殖細胞などの細胞では、概日時計が「積極的

な抑制」を受けている可能性があるのである。これは、上述した「遅すぎる」概日時計の形成と無関係ではないと考えている。つまり、通常、ES細胞の分化誘導実験では7~8日間も分化させれば十分に分化した細胞として取り扱われる。それが、2週間以上の分化誘導培養が必要だということは、単なる細胞分化に依存した現象にとどまらず、さらにプラス・アルファのメカニズムが関与していることが想起される。ES細胞などで見られた、PER1タンパク質の細胞質貯留などは、おそらく「遅すぎる」概日時計発生の原因の一つになっているのではないかと想像する。もちろんこれだけではなく、他にも「積極的な抑制」メカニズムはあると考えており、二重、三重の概日時計抑制機構が多能性幹細胞に存在するようだが、これについては現在詳細な検討を行っているところである。

これらを総合的に考えると、やはり、初期胚や多能性幹細胞などでは概日時計は「あえて抑制し消している」と考えたほうが自然なのではないだろうか。現在のところ、その意義や利点については想像もつかず、今後の興味深いテーマだと考えている。



(図5) 細胞分化制御に依存した概日時計の発生

ES細胞はin vitroで正常な様々な細胞に分化誘導させることができる。それらは正常な細胞として生体内で機能できるため、再生医療にも応用される。マウスES細胞は概日時計がなく、in vitro分化誘導によって概日時計の細胞自律的な形成が見られる。しかし、分化誘導過程でDnmt1欠損やc-Myc過剰発現、そしてKpna2過剰発現など、細胞分化制御機構の攪乱が生じた場合は正常な細胞分化が起こらず異常に分化した細胞が生じる。この異常分化細胞では正常な概日時計の発生が阻害され、概日時計の破綻をきたす。Cell fate 依存的な哺乳類の概日時計。

「全身にある時計の不思議」から「時計がない細胞の不思議」へ

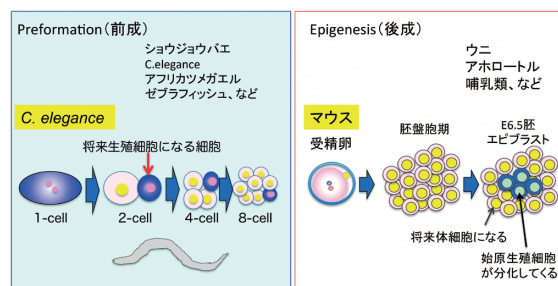
単細胞生物でも概日時計は備わっている。進化的に考えると、単細胞生物が集まってできた多細胞生物だとすれば、多細胞生物の全身の細胞に概日時計が備わっていることはむしろ普通のことであるのかもしれない。これまでの我々の研究からは、哺乳類などで概日時計が無い細胞が存在することのほうが不思議なことだと言えるのかもしれない。種としての存続を考えたとき、毎回、個体発生のたびに一から概日時計を形成させるような発生機構を、哺乳類はなぜとったのであろう？

哺乳類以外の脊椎動物では、概日時計の発生はどうなっているのか？あまり論文としては多くはないが、それでもいくつかの示唆に富んだ報告がある。代表的なものの一つは、ゼブラフィッシュの概日時計の発生を観察した論文である。Whitmoreのグループは、ゼブラフィッシュの胚を用いて、概日時計が発生第一日目の終わる頃には成立していることを示した [18]。哺乳類とは大違いである。最初、我々がマウス胎仔細胞でE10.5の細胞でも単一細胞レベルでリズムが無いことを報告したとき、Whitmoreらの結果との違いに対して質問をうけたことがあるが、種の違いによるのではないか、という回答しかできないのが実情である。しかし、筆者はこの点について何か重要なことが隠されているのではないかと心に引っかかるものがあり、その理由を探り続けている。概日時計はショウジョウバエからヒトに至るまで、遺伝子の種類まで共通する普遍的な生命機能である。したがって、同じ脊椎動物の仲間であるゼブラフィッシュの概日時計発生と大きく異なる様式が見られたときには、やはり不思議に思うし、そこに細胞と時間の関係を紐解くヒントが隠されているようにも感じる。

もちろん、この問題に明確な答えはまだ出すことはできておらず、今後の研究の展開を待たねばならない。ただ、ゼブラフィッシュと哺乳類では生殖細胞の発生様式に大きな違いがあることが知られている。直接、概日時計の発生様式の違いにつながるかどうかは分からないが、興味深いことなので簡単に紹介する。

動物界の生殖細胞の発生様式には、大きく分けて二つの仕組みがある。一つは前成 (preformation)、もう一つは後成 (epigenesis) である (図6)。前成とは、生殖細胞の運命が卵に局在する決定因子により最初から決められている様式であり、後成と

は、全く同じ細胞集団の中からある段階で生殖細胞が分化してくる様式である [19]。哺乳類は、エピブラストから始原生殖細胞(PGC)が分化誘導してくるので「後成」のタイプである。前成と後成では、将来的に生殖細胞に分化する細胞が出現する時期が大きく異なる。例えば、*C. elegans*は前成であるが、2細胞期には既に生殖細胞が発生する細胞と体細胞にしか分化しない細胞に運命が分かれている (図6)。生殖細胞には概日時計ができないことを考えると、「絶対に体細胞にしかならない」細胞がかなり早い段階で決まる前成と、かなり後になるまで生殖細胞系列に分化する細胞が分離しない後成、という生殖細胞の発生様式の違いが上述のような概日時計形成スピードの違いを生んでいるのかもしれない。じつは、ゼブラフィッシュは「前成」でありマウスは「後成」である。興味深いことに、生物学の爆発的な発展を担ってきた、モデル生物四天王ともいべき、ショウジョウバエ、アフリカツメガエル、線虫、ゼブラフィッシュはいずれも前成なのである。したがって、概日時計研究でも大きな役割を果たしているこれらのモデル生物だが、生殖細胞の発生と関連した生命現象に関しては哺乳類と大きく様子が異なる可能性が高いのである。今後は、このような視点からも概日時計の発生について考えてみたいと思っている。



(図6) 生殖細胞の発生様式。前成と後成。

生殖細胞の発生様式には二つの全く異なるタイプが存在する。一つは前成 (Preformation) で、もう一つは後成 (Epigenesis) である。前成とは、受精卵の時から将来生殖細胞になることを決定する物質が存在しており、それを含んだ細胞が生殖細胞になるよう運命づけられる。一方で、後成では、発生のある段階まで生殖細胞になるかどうか運命決定されず、後になって同じ性質を持った細胞の中から周囲の微小環境などに誘導されて生殖細胞に分化していく。将来、体細胞になるかどうかを決定するタイミングが、前成と後成では大きく異なる。多くが後成のタイプをとるのだが、興味深いことに、非常によ

く利用されるモデル生物は前成である。

おわりに

ES細胞でみられたように、多能性幹細胞のようなある種の特殊な性質を持つ細胞では、概日時計が「ただ無い」のではなく、何らかのメカニズムによって「あえて積極的に止められている」ことが分かってきた。言い換えれば、哺乳類の細胞が「時間情報を活用するかどうかを能動的に決める」仕組みを持っているとも言えるかもしれない。生物が生命活動を営むにあたり、細胞が「時」をどのように取り込み、あるいは遮蔽したりするのかを考えることは、普遍的な広がりをもたらずかもしれないと思っている。また、細胞の性質 (Cell fate) に依存した概日時計の成立・不成立という我々が見出した知見から、がんなどとの関連にも新しい視点を提供できるかもしれない。このような様々な観点から、概日時計という生命機能の生物学全体における位置付けも変わってくるかもしれない。まだまだ、全く分からないことも多く、またどうアプローチすれば良いかも分からない問題も含まれるが、生殖細胞、多能性幹細胞、初期胚細胞などで「あえて概日時計を消している意味」を深く考える研究は、生命の神秘に触れているような畏怖さえ感じさせてくれる。

<引用文献>

1. Ibuka N, Inouye SI, & Kawamura H : *Brain Res.*, 122(1):33-47. (1977)
2. Inouye SI, & Kawamura H : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 76(11):5962-5966. (1979)
3. Sawaki Y, Nihonmatsu I, & Kawamura H : *Neurosci. Res.*, 1(1):67-72. (1984)
4. Balsalobre A, Damiola F, & Schibler U : *Cell*, 93(6):929-937. (1998)
5. Yamazaki S, *et al.* : *Science* 288(5466):682-685. (2000)
6. Yagita K, Tamanini F, van Der Horst GT, & Okamura H : *Science*, 292(5515):278-281. (2001)
7. Alvarez JD, Chen D, Storer E, & Sehgal A : *Biol. Reprod.*, 69(1):81-91. (2003)
8. Morse D, Cermakian N, Brancorsini S, Parvinen M, & Sassone-Corsi P : *Mol. Endocrinol.*, 17(1):141-151. (2003)
9. Amano T, *et al.* : *Biology of Reproduction* 80(3):473-483. (2009)
10. Reppert SM & Schwartz WJ : *J. Neurosci.*, 6(9):2724-2729. (1986)
11. Davis FC & Gorski RA : *J. Comp. Physiol.*, 162(5):601-610. (1988)
12. Jud C & Albrecht U : *J. Biol. Rhythms*, 21(2):149-154. (2006)
13. Yamazaki S, *et al.* : *J. Biol. Rhythms*, 24(1):55-63. (2009)
14. Weinert D, *et al.* : *Early Human. Dev.*, 36(2): 117-126. (1994)
15. Yagita K, *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 107(8):3846-3851. (2010)
16. Inada Y, *et al.* : *FEBS Lett.*, 588(3):459-465. (2014)
17. Umemura Y, *et al.* : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 111(47):E5039-5048. (2014)
18. Dekens MP & Whitmore D : *EMBO J.*, 27(20):2757-2765. (2008)
19. Extavour CG & Akam M: *Development* 130(24):5869-5884. (2003)