

創造性を探して — 学術と創薬、ビジネスの交点 —

金 尚宏[✉]

東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻

1. はじめに

この度は令和元年度の日本時間生物学会の学術奨励賞を頂き、大変に光栄に感じております。時間生物学会は、修士1年から参加させて頂いており、私にとってホームの学会です。私は深田研究室にて博士取得後に8年ほど学術研究の現場から離れ、製薬会社の探索研究所・薬理研究所での創薬研究、そして本社にて臨床研究や製品戦略の企画・実行を行ってきました。昨年より古巣に戻って学術研究を再開したところで、内心は大学で再び研究できるものかと不安でした。そのため、今回の受賞は喜びもひとしおであり、精神的にとっても励みになります。本稿の読者は学生も多く、時間生物学だけでなく卒業後の進路やキャリア設計などを日々考え、学外の情報を収集していると思います。私のこれまでの環境での経験やその時に考えたことを紹介することで、何かのお役に立てれば幸いです。

2. 新興分野・概日時計の分子生物学

私が時間生物学の世界に入ったきっかけは、大学院での研究テーマを考えていた千葉大学薬学部の4年生時(2003年)、概日時計の分子生物学が非常にホットな分野だったからである。ワクワクすることを求めて毎日を過ごしており、大学1,2年生の頃は(学問よりも)フリースタイルでオリジナリティを追求するエクストリームスポーツ(BMXフラットランド)にのめり込んでいた。今のようにSNSは無かったため、人づてに練習仲間を増やして情報を集めていたのだが、当時から枠組みの無い中での試行錯誤を好む性格だった。大学3年生になってから、子供の頃から研究者になることを決めていたので、興味のある分子生物学や薬理学、神経科学を中心に手当たり次第に自学を進めた。4年生になって研究の世界をのぞいたときに、独自性が賞賛される世界であることを知って心が踊った。そして、実験的な手法は研究室によって大きくは変わらないのに、分野によって結果の重要性が大きく違う事を感じた。手法そのもの

を競うというより、手法を駆使してどのような新規概念を生み出すかを重要視されていると思った。それならば、新興分野を研究の方が科学的に重要な事にめぐりあうチャンスが大きいはず。そして、大学院から進学する研究室をいくつも訪問している過程で、東京大学の深田吉孝教授と出会った。

3. アーチファクト問題からの総長賞

2004年当時、リズム研究分野では時計遺伝子レポーターによる生細胞でのリズム解析系が普及しつつあった状況であり、タンパク質の生化学解析を得意とする深田研究室でもその実験系を立ち上げようとしていた。そこで、深田先生から最初に頂いたテーマは、時計遺伝子の発現リズムをルシフェラーゼレポーターにてリアルタイム測定する細胞実験系を立ち上げることであった。深田先生、廣田毅先生(現名古屋大学 特任准教授)とともに、毎週、細胞リズムデータが出てきては議論し、実験の条件検討法とともにリズムの基本的な性質を学んだ。その検討の際に偶然、培地pHを変化させると、細胞時計の位相がリセットするを見出した。自分の独自性を探していた時期であったため、その発見を追求させて欲しいと深田先生にお願いした。深田研究室の研究報告セミナーでは、大学院生を中心とする発表者は科学的批判を猛烈に受けて自分の哲学を磨き上げていく。案の定、私も「生体ホメオスタシスの代表例とも言えるpHを*in vitro*で変化させて観察された事象に、何の生理的意味があるのか」という批判を受けた。確かに、アーチファクトの可能性のある現象を自身の博士研究テーマとして追うことに不安を感じた。しかし、その時計リセット作用は非常に強かったため、きっと概日時計の重要なメカニズムの発見につながるのではないかと期待の方が大きかった。何より、そのテーマは自分自身が追求しなければ、世界で誰も明らかにすることはできない。それは素晴らしいチャンスなのではと考えた。培地pHによる時計リセットの際に発現変動する時計

[✉] naohiro.kon@bs.s.u-tokyo.ac.jp

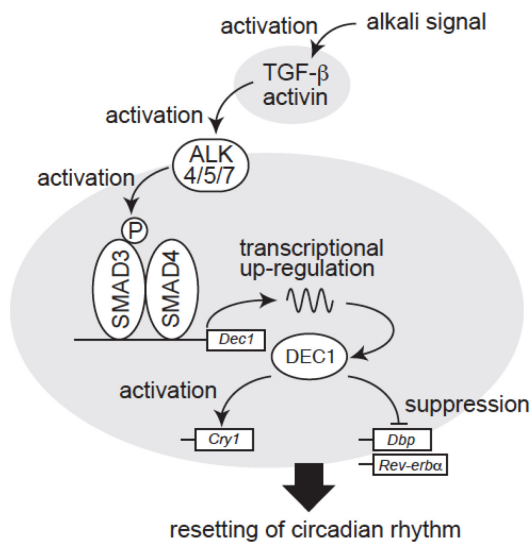


図1 時計リセットを担う TGF-β-SMAD-Dec1 シグナリング

遺伝子群を網羅的に解析したところ、bHLH 型転写因子をコードする *Dec1* 遺伝子が急性誘導されることを見出した。*Dec1* は北海道大学の本間 さと先生ら日本人研究者が発見した時計遺伝子であるが¹、概日時計においてどのような生理的局所で働いているのか謎が多かった。そのため、*Dec1* が時計リセットに機能的に関与することを示すのは重要な意義があると思えた。*Dec1* 誘導を指標にシグナル伝達に関わる薬剤をスクリーニングしたところ、トランスフォーミング成長因子 (TGF)-β の受容体キナーゼ阻害剤 (ALK4/5/7 阻害剤) SB431542 の存在下で、pH による *Dec1* 誘導と時計リセットが阻害されることが分かった。さらに解析を進めると、培地 pH 変化は細胞外マトリックスに存在する潜在型 (不活性型) TGF-β を活性型に変化させることで *Dec1* を誘導するというシグナル伝達経路が見えてきた (図1)。TGF-β の活性化様式はかなり特殊で、細胞外に分泌されても不活性型で待機している。pH などの物理刺激に応じて活性化フォームになることは、癌細胞分野で古くから研究されていた²。そして、TGF-β の他に発生に関与する因子であるアクチビンも、アクチビン受容体様キナーゼ (ALK) シグナリングを介して細胞時計をリセットすることが分かった。この時点で、培地 pH というアーチファクト感のある研究は、TGF-β やアクチビンといったシグナル伝達分野の重鎮と新しい時計遺伝子 *Dec1* の機能を追求する研究にスイッチしており、開始当初悩んでいたアーチファクト問題も気にならなくなっていた。その後、広島大学の河本 健先生、加藤 幸夫先生より *Dec1* ノックアウトマウスを共同研究にて入手し、TGF-β シグナリングが生体内においても

末梢時計の時刻リセットシグナリングとして機能することを示した³。結果として、当初進めるか悩んでいた研究テーマは、幸運なことに博士卒業時には東京大学総長賞の受賞論文となり、修士の時の決断が最高の形で報われた。最近、大学院生と話す中で、研究者としての能力や研究テーマに関して不安を聞くことがある。実は私の大学院生時代も (今も) 不安だらけで、自信を持って研究を進めているわけではない。ただ、不安を持つことは、目の前の課題にどれだけ真摯に取り組むかの姿勢につながると思う。先行研究をどれだけ精査して自分の考え方のベースにするか、自身が立てる実験計画をどれだけ綿密にするか、一つの実験から得られた結論を他の実験系でも検証し、どれほどしっかりした科学的結論を導くか。当たり前のことなのだが、信頼性の高いデータを得ること、それを多角的に吟味して進める科学的姿勢が少しずつ不安を取り除いてくれるのではないだろうか。

4. 機能的ランダムスクリーニング

-探索研究の王道として-

Dec1 研究を進めている過程で、培養細胞のリズム測定系は、未知因子を機能的に同定するスクリーニング系として強力であることを感じていた。そこで、深田研にあったキナーゼ阻害剤を手当たり次第に評価したところ、周期を長くする化合物や短くする化合物をいくつか見出した⁴。そして薬剤スクリーニングの中で、唯一細胞リズムを停止させた化合物として、Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase (CaMK) II 阻害剤である KN93 を見出した。当時、CLOCK や BMAL1 に対して優れた抗体を作製していた先輩の吉種 光さん (現東京大学 助教) に生化学的なアドバイスをもらい、CaMKII は CLOCK をリン酸化することや、CLOCK と BMAL1 のヘテロ二量体化を促進することを見出した。そして北海道大学の吉川 朋子先生 (現 近畿大学 助教)、本間 研一先生、本間 さと先生に体内時計中枢である視交叉上核 (SCN) における CaMKII の解析に関して共同研究をお願いした。その当時は 2009 年 3 月で、私は博士を修了して 4 月からは製薬会社に入社するという立場であったものの、本間研にて SCN の脳スライス作製法をあたたくご指導いただいた。SCN のシングルセルレベルでのリズムイメージングを目の当たりにして、時計中枢の動的な美しさに大変に感動したのを覚えている。その解析の結果として、CaMKII は細胞内の振動制御だけでなく、SCN の細胞間カップリングにも関わることが分かった。その後、CaMKIIα キナーゼデッドノックインマウスを生理学研究所の山肩 葉子先生との共同研究により解析し、当該マウスは輪回し行動リズムの

長周期化やリズム消失を示すことを見出した⁵。興味深いことに、CaMKII α 変異マウスは、朝の行動と夜の行動の自由継続周期が解離するという珍しい表現型を示した。2 振動体モデルの分子生理基盤を追求する本間研究室との共同研究の中で、行動を制御する複数振動体のカップリングに CaMKII が関わることを見出したのは嬉しかった。その後、2016 年に CaMKII はユスリカ(昆虫)の概日・概月リズム機能⁶、マウスの睡眠⁷や情動⁸との関連も報告され、リズム関連キナーゼとしての重要性が独立した研究室によって確立した。概日時計に関わる遺伝子ハンティングは、重要な分子のほとんどは順遺伝学によって発見されている。CaMKII の場合、完全欠損はショウジョウバエやマウスでは致死であると考えられているため、順遺伝学では取りづらい遺伝子なのかもしれない。この点、細胞での薬理スクリーニングは、細胞さえ生存していれば、個体レベルでの致死問題を回避できる。いずれにせよ、機能を指標としたランダムスクリーニングは新規分子ハンティングの王道であることを身をもって学んだ経験となった。

5. 製薬企業へ

大学院での時間生物学研究にこの上ない楽しみを感じていたため、そのまま学術機関で研究を続けたい気持ちもあった。一方で、大学院の5年間の自分の努力が、社会に対する貢献としては論文、文字通り paper にしかならないことに少し物足りなさを感じた。実質的な意味で社会に役立つ研究とは何かを悩む中で、思考の基盤に医薬品研究の考え方をもちたいと思うようになった。そして、スタチンという日本発の画期的な抗コレステロール薬を世界に先駆けて開発・商業化した実績がある第一三共という製薬会社に興味を持った。真菌の培養液からのスクリーニングによって見出されたスタチンが、動物試験や臨床試験で困難に会いながら世に出て、循環器分野の画期的な発明につながった創薬物語⁹を読んで感銘を受けた。入社後は循環領域における研究所にて、虚血再灌流障害の保護を目的とした化合物¹⁰や新規のミトコンドリア Ca²⁺チャネル (Mitochondrial Calcium Uniporter) の低分子阻害剤¹¹を同定した。製薬会社の研究環境は、設備や費用、人材の豊富さで非常にハイレベルである事に驚いた一方で、ほとんどの創薬研究活動は結実しないことや、創薬ビジネス自体が急激な衰退期にあることに愕然とした。医薬品ビジネスでは新薬は特許(パテント)によって独占的な販売期間が法的に認められるのだが、特許が切れた途端に安価なジェネリック医薬品に市場を奪われる。これにより、特許期間の終了とともに製品売上が崖のように減少するため、パテント

クリフと呼んで新薬メーカーは恐れている。新薬メーカーが生き残るためには、医療経済的に意味のある新薬を上市し続けるしかないのだが、市場には既に多くの薬が存在しており簡単ではない。そこで、近年多くのビジネスニュースとして報道されている様に、新薬メーカーは肥大化した組織を縮小するために度重なる人員削減を行っている。そのため、研究者がじっくりと創薬研究できる状況ではなくなってきている。2016年、私は人員削減が進む研究所から本社の新設部署の立ち上げメンバーとして呼ばれることになった。生命科学や薬理の知識しか持ち合わせていなかったため、あわてて夜間に早稲田大学ビジネススクールに通い、経営に関わる体系的な知識を学んだ。本社では新薬臨床研究と製品戦略に携わり、骨治療領域における臨床薬理研究を見よう見まねで進めた¹²。

会社では創薬から臨床研究、ビジネスまで携わったが、入社前に抱いていた疑問「なぜ基礎科学がこれほどのスピードで発展しているのに、新薬開発は困難になってきているのか？」という疑問は、いくつか理由が見えた気がする。基礎科学分野に関わる事としては、トップジャーナルに掲載される医学成果の多くは、製薬会社にて再現性が取れないという問題がある¹³。つまり、学術研究の発見のほとんどが創薬シーズの基盤になっていないどころか、産業における標的バリデーションの無駄投資の原因となっている。この問題は、学術活動と医薬品開発とは本質的に目的が異なることに起因していると思う。学術活動は、新規性や話題性が高いことが重要であり、高インパクト雑誌への掲載や論文の公表数が評価基準となっていることが多い。一方で、医薬品開発はヒトでの薬効を担保する普遍的で強い標的の発掘や高い再現性のデータを求めており、純系統マウスでしか確認できない知見や、異なる研究環境での再現にコツを要するようなデータは、創薬的に価値が低い。日本は医薬品を開発できる数少ない国であり、学術と産業の連帯による医療ビジネスの活性化は非常に重要な問題なのだが、前述のような価値観の違いをどうにかすり合せできないものかと考えている。

6. 大学に戻って何を研究するべきか？

-社会につながる時間生物学を目指して-

大きな組織に属する人間は誰しも悩むことだが、組織から期待されることと、自分の希望との折り合いをつけなければいけない。本社の仕事は自分が望んだ道ではなかったため、非常に悩んだが、そのまま進むことはできなかった。家庭では二人目の子供が生まれたところで、製薬会社を辞めることは決断を要したが、やりたい事に

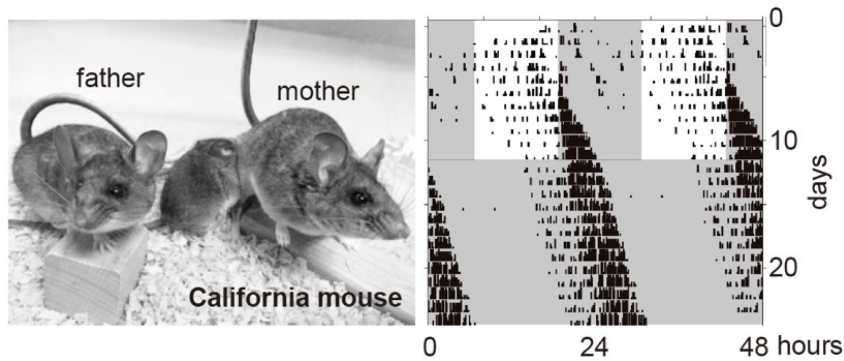


図2 カルフォルニアマウス *Free runner* 変異体
 左) カルフォルニアマウスは、一夫一妻や父親の育児などの特徴がある
 右) *Free runner* 変異体のアクトグラム (暗期を灰色表示)

挑戦しない人生を歩むことは無意味と考えた。深田先生に相談したところ、一過的なポジションを用意して頂けるとのあたたかい言葉を頂いた。かくして、2018年より古巣の研究室に戻ることができた。そして、生命科学産業の実情を学んだ上で、自分は時間生物学の基礎に戻り何を行うべきかと考えた。2017年に体内時計分野がノーベル賞の対象となり、時間生物学の社会の認知度は高まったが、その成果が応用されて経済的な活性化に大きく貢献している状況とは言い難い。体内時計が最も直接的に私たちの生活と関わるのは、まぎれもなく睡眠の制御である。しかし、睡眠障害の中でもとりわけ体内時計との因果関係が明瞭な概日リズム性睡眠障害 (CRSD, Circadian Rhythm Sleep Disorder) でさえ、時計遺伝子の変異に起因すると思われるのは一部の患者である。ヒトのリズム同調を制御する医薬品を考える上で、特異的かつ普遍的なメカニズムはまだ見つからないと感じた。そこで、CRSDの中でもとりわけ際立った症状を示す非24時間睡眠覚醒症候群 (non-24) に着目した。本疾患は睡眠・覚醒リズムが毎日0.5・1時間ずつ遅れていくという重篤なリズム同調不全を示す¹⁴。non-24患者の多くは盲目であり、その原因は概日光受容の障害で説明がつかののだが、視覚が正常な人においても稀に発症する。この視覚正常non-24に関わる分子を同定すれば、ヒトの概日時計の同調メカニズムの理解につながる。睡眠薬は古くからGABA受容体に作用する薬剤がよく使用されてきたが、近年発売されたメラトニンアゴニストやオレキシンアンタゴニストなどリズム機能に直接作用する薬剤は安全性が高いというメリットで市場参入できている。そこで、リズム同調に関わる特異的な経路を同定すれば、新規の医療技術の開発にもつながるのではと期待している。実験動物における光同調の障害例を調べ直したところ、ほとんどは網膜の概日光受容細胞であるipRGC (intrinsically photosensitive retinal ganglion cells) の機能障害であり、光同調とともにマスキング (夜行性動物における光

による行動量の抑制) など他の非視覚光受容も障害されていた。しかし、カナダのダルハウジー大学のBenjamin Rusak ラボから出ていた論文を見て目を疑った。一夫一妻と言う特殊な繁殖様式を示すシロアシネズミ属のカリフォルニアマウスにおいて、CM558という自然発生変異は、光マスキングはあまり影響を受けないが、明暗サイクルへの同調が破綻することが報告されていた¹⁵。深田先生と相談し、Rusak先生にコンタクトしたところ、当該論文の筆頭著者であるMarleen de Groot博士は、その変異マウスとともにJoseph Takahashi ラボに移り、原因遺伝子の解析を行なっていることを知った。そしてde Groot博士に聞いたところ、彼女は論文公表後15年以上にわたってCM558の変異遺伝子の探索を続けてきたが、原因を未だ同定できていないことを教えてくれた。変異は既知の時計遺伝子の中には存在しないことから、現状の時間生物学の分子的理解ではCM558の表現型は説明不可能とのことだった。私達はその遺伝子ハンティングに関して共同研究を申し出たが、それに対して、当該マウスと関連する全ての情報・実験材料とともに研究をバトンタッチしてくれるという最高の形で応えてくれた。日本にその変異マウスを輸入し、行動リズムを解析した結果、光マスキングは正常であるものの、明暗サイクルを無視した輪回し行動リズムの自由継続を確認できた (図2)。明暗下でも行動リズムがフリーラン (自由継続) することから、私たちはその原因となる遺伝子変異を*Free runner*と呼んでいる。カリフォルニアマウスはクローズドコロニー維持のため遺伝的背景が多様だが、その多様な中でも*Free runner*の表現型は明確な常染色体劣性遺伝を示す。また、一部のマウスではnon-24様症状に加え、ある条件下において睡眠相後退症候群 (DSPS) 様症状が観察されることが分かった。視覚正常non-24患者の26%はnon-24発症前にDSPSを示すことが知られており¹⁴、この点においても*Free runner*変異とヒト視覚正常non-24は症状が似ている。幸運なことに、日本は

視覚正常 non-24 の臨床研究で世界をリードしている。カリフォルニアマウス *Free runner* と、ヒト non-24 の比較解析によって、日本発のトランスレーショナル時間生物学を発信できれば有意義と考えている。

7. 振動体はどこに？ -表層のリズムと深層の振動体-

基礎科学としての時間生物学の目標に立ち返ってみる。そもそも概日時計の振動メカニズムはどこまで解けたのだろうか？1984年にショウジョウバエの *Per* 遺伝子が報告されて以来、真菌、哺乳類、シアノバクテリア、植物において時計遺伝子が続々と同定され、今や転写・翻訳フィードバックループ (TTFL) が表出されるリズム (*overt rhythm*) 創出の基本骨格であることは疑う余地もない。私自身が時間生物学を始めたタイミングはインターロックフィードバックループモデルの全盛期であって、動物の振動体の基本骨格は TTFL と考えることに疑問を持っていなかった。しかし考え直してみると、*overt rhythm* に必須である因子は振動体の構成要素であるとは限らず、リズム出力因子の可能性も考えられる。時間生物学に戻ってきて一連の報告を再び勉強して気になっていることは、TTFL が機能しない細胞における概日リズムが複数の研究室から報告されている点である。そのため、TTFL を唯一の振動メカニズムとして研究を進めるのは難しい状況と感じている。振動体とは何かを考える時には、概日時計の定義ともいえる三大性質がよりどころになる。すなわち、自律振動性、同調性、温度補償性がどこまで説明できるかによって、現状で分かっていないポイントが見えてくる。自律振動性に関しては、その閉じたループ構造ゆえ、TTFL モデルが振動構造として受け入れやすい格好になっている。しかし、TTFL が振動本体ならば、時計遺伝子の発現レベル自体が *state variable* として機能するはずであるが、動物のコア時計遺伝子の発現リズムは *overt rhythm* 生成に必須ではないとする報告が多い¹⁶⁻¹⁸。同調性に関しては、*Period* や *Dec* など、リズムの位相シフトにおける時計遺伝子の役割は示されているものの、時計遺伝子変異体において、(*Free runner* 変異体の様に) 明暗への同調が完全に破綻するような例は無い様に思える。食餌によるリズム同調に関しては、食餌予知行動を制御する概日振動体は SCN 外に存在し、既知の時計遺伝子では説明できない部分が多い²²。また、温度補償性に至っては、TTFL を構成する転写、翻訳、mRNA/タンパク質分解、タンパク質の核移行などの反応は温度感受性であるが、TTFL の概日リズム周期は補償されている。多くの温度感受性反応の速度変化を補償し、振動体レベルで周期を一定に保つメカニズムが必要と思われる。すなわち、

TTFL を構成する時計遺伝子の多くが明らかとなった現状でさえ、真核生物の概日時計の三大性質は分子の言葉で完全には説明できていない。そして、動物、真菌、植物、シアノバクテリアの間で時計遺伝子の相同性は限定的であるという事実は何を示唆しているのだろうか？リズム変異体の順遺伝学の成功要因は、時計遺伝子の多くが機能欠損で致死ではなく、個体がヘルシーな状態で *overt rhythm* の評価ができたことであつたと思う。これに対して、いくつかの系統の真核生物の時計機能に共通して働く因子である CK1 や CK2、GSK3 などの分子は、完全欠損の個体はヘルシーな状態を保てない。つまり、真核生物の系統間共通の既知時計因子は、リズムに機能特化した分子ではなく、本来の機能は細胞のハウスキーピングである。ここから、振動体の進化的起源は細胞の基本機能の振動であつたと思うのが自然であると思う。このように通説を疑う姿勢で考え直してみると、現行の時計発振モデルには不思議な点も多くあり、概日振動体の存在する深層に人間は未だ足を踏み入れていないのではないのかと思えてくる。未知の部分があることこそが、基礎研究者にとってはこのうえない面白さであり、今後のネオクロノバイオロジーの発展に少しでも貢献していきたいと考えている。

8. おわりに

この度の寄稿に際して、これまで自分がいかに多くの方々から手厚いご支援を頂いてきたかを感じました。深田先生、廣田先生をはじめ、自分を研究者として育ててくれた時間生物学の先生方に心より感謝しております。また、第一三共株式会社においても多くの方々のお世話になり、創薬・育薬研究や医薬品ビジネスを通じた貴重な経験をさせていただきました。大学に戻ってからは、光同調メカニズムや振動原理の追求のため、名古屋市立大学の条和彦先生、富田淳先生、加藤善章さん、早稲田大学の岩崎秀雄先生、河本尚大さん、川崎洸司さん、板木大知さん、奈良先端大学の遠藤求先生、上本恭平さん、生理学研究所の榎木亮介先生、理化学研究所の黒澤元先生、儀保伸吾先生、香川大学の杉山康憲先生、中根達人さん、九州大学の伊藤浩史先生、関元秀先生には多くのご尽力・ご助言を頂き、心から感謝しております。また、深田研究室のスタッフ、小島大輔先生、清水貴美子先生、吉種光先生、木股直規先生にはいつも有用なアドバイスを頂いております。研究を一緒に進めてきた坪田匡史さん、原千尋さん、王幸慈さん、梅田美帆さん、小島佑介さん、増田雄一朗さんはチームを盛り上げてくれて感謝しています。最後に、私がやりたい事に挑戦することを、いつも応援し見

守ってくれている家族に感謝しています。特に、私が家を不在にすることが多い中、自身も働きながら幼い子供達と家庭を守っている妻に最大限の感謝の気持ちを表したいと思います。

参考文献

1. Honma, S. *et al.* *Dec1* and *Dec2* are regulators of the mammalian molecular clock. *Nature* **419**, 841-844 (2002).
2. Miyazono, K., Katsuno, Y., Koinuma, D., Ehata, S., & Morikawa, M. Intracellular and extracellular TGF- β signaling in cancer: some recent topics. *Front. Med.* **12**, 387-411 (2018).
3. Kon, N. *et al.* Activation of TGF- β /activin signalling resets the circadian clock through rapid induction of *Dec1* transcripts. *Nat. Cell Biol.*, **10**, 1463-1469 (2008).
4. Kon, N., Sugiyama, Y., Yoshitane, H., Kameshita, I., & Fukada, Y. Cell-based inhibitor screening identifies multiple protein kinases important for circadian clock oscillations. *Commun. Integr. Biol.* **8**, e982405 (2015).
5. Kon, N. *et al.* CaMKII is essential for the cellular clock and coupling between morning and evening behavioral rhythms. *Genes Dev.*, **28**, 1101-1110 (2014).
6. Kaiser, T.S. *et al.*, The genomic basis of circadian and circalunar timing adaptations in a midge. *Nature* **540**, 69-73 (2016).
7. Tatsuki, F. *et al.* Involvement of Ca²⁺-dependent hyperpolarization in sleep duration in mammals. *Neuron* **90**, 70-85 (2016).
8. Hagihara, H., *et al.* Circadian gene circuitry predicts hyperactive behavior in a mood disorder mouse model. *Cell Rep.* **14**, 2784-2796 (2016).
9. 山内 喜美子、世界で一番売れている薬 (小学館, 2006)
10. Kon, N.*, Satoh, A., Miyoshi, N. A small-molecule DS44170716 inhibits Ca²⁺-induced mitochondrial permeability transition. *Sci. Rep.*, **7**, 3864 (2017).
*correspondence
11. Kon, N.* *et al.* DS16570511 is a small-molecule inhibitor of the mitochondrial calcium uniporter. *Cell Death Discov.*, **3**, 17045 (2017).
*correspondence
12. Sone, T.#, Kon, N.##, Gaither, K.W.# *et al.* Effects of 3-year denosumab on hip geometry in Japanese postmenopausal women and men with osteoporosis. *Bone Rep.* **7**, 164 (2017).
*correspondence, #equally contribution.
13. Bernal, A., Barnett, A.G., & Begley, C.G. Industry is more alarmed about reproducibility than academia. *Nature*. **563**, 626 (2018).
14. Hayakawa, T. *et al.* Clinical analyses of sighted patients with non-24-hour sleep-wake syndrome: a study of 57 consecutively diagnosed cases. *Sleep* **28**, 945-952 (2005).
15. de Groot, M.H., & Rusak, B. Entrainment impaired, masking spared: an apparent genetic abnormality that prevents circadian rhythm entrainment to 24-h lighting cycles in California mice. *Neurosci. Lett.* **327**, 203-207 (2002).
16. Lakin-Thomas, P.L. Transcriptional feedback oscillators: maybe, maybe not. *J. Biol. Rhythms.* **21**, 83-92 (2006).
17. McDearmon, E.L. *et al.* Dissecting the functions of the mammalian clock protein BMAL1 by tissue-specific rescue in mice. *Science* **314**, 1304-1308 (2006).
18. Fan, Y., Hida, A., Anderson, D.A., Izumo, M., & Johnson, C.H. Cycling of CRYPTOCHROME proteins is not necessary for circadian-clock function in mammalian fibroblasts. *Curr. Biol.* **17**, 1091-1100 (2007).
19. 海老原 史樹文、吉村 崇 (編) 時間生物学 (化学同人, 2012)