

# 視交叉上核の謎

岡村 均<sup>✉</sup>

京都大学大学院医学研究科神経生物学分野

生体リズムは、前世紀末に時計遺伝子 clock genes が発見されたことで、根本的にその理解が変貌した。現在の理解では、時を司るわずか数個の時計遺伝子の形成する転写・翻訳フィードバックループが、数千もの遺伝子を周期的に発現させて、細胞周期、エネルギー代謝を時間的オーダーで管理している。すなわち、時を刻む時計遺伝子の時間装置は全身の細胞にあり（細胞時計）、生体リズムは全身の細胞で出現することがわかったのである。では、これまで哺乳類の生体リズムの発振中枢とされてきた視交叉上核（suprachiasmatic nucleus:SCN）の役割はどうなったのであろうか？SCN では、個々の細胞の時計遺伝子の形成するフィードバックループが、密に連絡するヘテロなニューロン集団の形成する局所回路により修正・強化され、ロバストなリズムを形成していたのである。本稿では、SCN に関する研究を、著者自身の体験に基づき振り返る。

## 1. はじめに

視交叉上核（suprachiasmatic nucleus: SCN）は、間脳の下部を占める視床下部前部で、左右の視神経が交叉して脳に入る視交叉の直上の吻側第三脳室周囲に位置する、一对の大きさ約 0.5mm 径の扁長楕円体の神経核である。ここは、発生学的には眼胞が前脳胞から形成される部位の近傍である。

神経管が閉じるころ、左右の前脳胞は窪みながら膨隆し、眼胞が隆起して眼茎となり、先端は眼杯を形成して後に網膜となる。この眼胞形成の付け根にあたる間脳の周囲に形成されるのが SCN である。この発生学的知見は、SCN と眼球との強いつながりを予測させる。

SCN の理解は、時計遺伝子発見後の 1997 年以降、大きく変化した。SCN の総括的な記載は、1991 年に発行された「Suprachiasmatic nucleus: The Mind's Clock」<sup>1</sup>以来、存在せず、この神経核がそのリズムを如何にして刻むのか、そのリズム位相はどのようにして決定されるのかは、未だ謎である。本稿は、時計中枢である SCN の研究が如何にして哺乳類の概日リズムの概念の確立に貢献したのかを、著者自身の体験に基づき、振り返る。なお、概日リズム研究全体についての筆者の経験は、別書にまとめたので、併せて参照されたい<sup>2</sup>。

## 2. 概日時計中枢である SCN の発見

まず、SCN が時計中枢として同定された歴史を振り

返ってみよう。齧歯類の生体リズムの研究が現在のように進展したのは、1920 年代末からの Curt Richter らの貢献が大きい。1960 年代に入ると米国では、概日リズムは回転カゴのような簡単な行動リズム装置で記録できることが一般にも知られるようになり<sup>3</sup>、この明瞭な行動リズムを生み出す脳内中枢の探索は一つの大きな研究の流れになっていった。その過程で、各種内分泌臓器の除去実験の結果はネガティブであり、脳内各部の微小破壊実験へと移っていった。

1972 年、Irving Zucker らはラット SCN を破壊すると行動の概日リズムが消失することを報告した<sup>4</sup>。同年、Robert Moore らは、SCN の破壊により血中のコルチコステロンのリズムが消失することを報告し、SCN がホルモンの概日リズムを発振させる中枢でもあることが分かった<sup>5</sup>。Moore らはさらに、網膜の神経節細胞に取り込まれた放射性同位体を含むアミノ酸が、軸索輸送によって、直接 SCN に到達することを明らかにした<sup>6</sup>。

これらの形態学および生理学的研究により、SCN がリズム発振の中枢であり、また、光同調の主要な部位であるという概念が形成されたのである。

## 3. SCN の脳機能に及ぼす影響

これら海外の研究に劣らず、日本の研究者も優れた成果を上げている。三菱化成生命科学研究所の Nobuo Ibuka & Hiroshi Kawamura は脳機能に着目して研

✉ okamura.hitoshi.4u@kyoto-u.ac.jp

究を進め、1975年にSCN破壊による睡眠覚醒リズムの消失を脳波計測により報告した<sup>7</sup>。これは、睡眠がSCNにより日周制御されていることを示す初めての研究であった。

次に、SCN細胞自身の何が変わりリズムを起すのかが大きな関心となった。William Schwartzらは、1977年に放射性同位元素で標識したdeoxyglucoseの取り込みが、脳で唯一SCNだけで明瞭な昼夜差として現れることを示した<sup>8</sup>。これは、SCNの細胞のエネルギー代謝が、他の脳部位では見られないほど強い変動を示すことを意味していた。

その2年後の1979年、Shin-ichi Inouye & Hiroshi Kawamuraは、ラットSCNの周囲をハラスナイフでカットし、SCNを含むその内部(island)では神経細胞のスパイク活動に概日リズムがあるが、その外部ではその概日リズムが消失することを報告した<sup>9</sup>。これは、SCNの神経活動にリズムがあるが、他の脳部位の概日リズムは、SCNとの連絡を切り離すと消失することを示した重要な研究であった。

#### 4. VIPの定量的組織化学法の確立

では、実際に脳内でどんな物質がSCNのリズム産生に関与しているのであろうか？1980年はその同定に多くの研究者が挑戦することとなった。当時は、おびただしい数の「脳腸ペプチド」(神経ペプチド)が発見され、それらが研究の対象となった。

筆者が取り組んだのは、免疫組織化学や*in situ* hybridizationの手法によって、SCNという1mmにも満たない小神経核にあるvasoactive intestinal peptide (VIP)の昼夜変動を明らかにすることであった。ただ、組織化学という手法は本質的に定性的であり、定量には向いていなかった。そこで、数年かかって定量性に取り組み確立したのが「定量的組織化学」である。これで、昼夜差が2倍にも満たないVIPペプチドとVIP mRNAの24時間リズムを明らかにした。本稿では割愛するが、この時に苦労して確立した、非常にシンプルで誰もが再現可能な、数百枚以上のSCN前額断切片を用いて画像解析で計測する「定量的組織化学法」が<sup>10,11</sup>、その10年後の1997年にSCNにおける*Per1*遺伝子の発現解析に威力を発揮するとは、当時は知る由もなかった。

#### 5. SCNはヘテロな細胞の集合体である

世界中の多くのラボでなされたペプチド含有細胞の形態学的解析の結果、1990年には、SCNにはVIP、GRP、バソプレッシン、ソマトスタチン、プロキネチ

シン2(このペプチドの発見は2000年以降だが)が独立した細胞系として存在し、SCNがこのヘテロな神経細胞の集合体であることが明らかとなった。しかも、これらはすべてがGABA作動性である。さらに、照射後には、SCN腹側部の細胞にのみ、immediate early gene (IEG)であるc-Fosやc-Junが急速に(1時間以内)発現誘導されることが分かった。

これらの研究により、既に1990年に至るまでに、時計中枢であるSCNは、時計発振に重要な背側部分と、光入力を受け同調に関与する腹側部との、少なくとも2部位に分かれるヘテロな細胞集団で構成されると考えられるようになった。

#### 6. SCNはスライドガラス上でもリズムを刻む

1991年、Keiko Tominaga, Shin-ichi Inouye, Hitoshi Okamuraは、脳の外に取り出したSCNスライスをガラススライド上で培養するという手法を開始し、培養液中にバソプレッシンが24時間周期で分泌されることを報告した<sup>12</sup>。すなわち、SCNのバソプレッシンニューロンは、脳から完全に離れた状況下でもその細胞特性が変わらず、バソプレッシンを周期的に放出し続けるのである。睡眠や記憶形成などで脳機能がはたらくときは、さまざまな脳部位が相互に影響しあうことが必要であるが、驚いたことに、概日リズムは全く異なり、SCNという微小な神経核だけで生み出されることである。

#### 7. 哺乳類でも、ハエやカビと同様に、遺伝子レベルでリズムは生まれる可能性

哺乳類のリズム研究が始まったのと同じころ、ショウジョウバエでも生体リズムの研究が始まり、蛹が成虫となる羽化が朝のみに起こることが、既に観察されていた。Seymour Benzerは、行動を規定する遺伝子があるはずと考え、ショウジョウバエを研究対象にフォワードジェネティクスを創始し、1971年*period*遺伝子座を突き止めた。この研究は、Jeffrey C. Hall、Michael Rosbash、Michael W. Youngの1984年の時計遺伝子*period*の発見に結実した。少し遅れて、Jay Dunlapによりアカパンカビ時計遺伝子*freq*も同定され、概日時計は遺伝子で規定されるということが解ってきた。

哺乳類ではどうであろうか？1988年、Martin RalphとMichael Menakerは、20時間周期のフリーランリズムを示す突然変異の*tau*-mutantハムスターを報告した<sup>13</sup>。さらに、*tau*-mutantハムスターのSCNを取り出し、SCNを破壊した24時間周期の野生型ホ

ストハムスターに移植すると、20 時間周期で動き始めた<sup>14</sup>。この実験により、哺乳類の体内時計も遺伝子に規定され、しかも、SCN の遺伝子発現により動いている可能性が高くなった。

ならば、哺乳類の体内時計遺伝子を同定しよう、という機運が高まった。1994 年、Joseph Takahashi は、ショウジョウバエで Benzer らが行ったように、哺乳類でフォワードジェネティクスを展開しスクリーニングの結果、*Clock* 変異体を発見・報告した<sup>15</sup>。

## 8. SCN で 10 倍昼夜変動する *Per* との出会い： 哺乳類とショウジョウバエのリズム研究の結合

阪神・淡路大震災直後の 1995 年春、筆者は神戸大学医学部に研究室を持つことになった。これまでの記載により明らかなように、1990 年代初頭には SCN の生理学的、解剖学的研究は一種の飽和点に達していたが、カギになる時を刻む物質とそのメカニズムは全くわかっていなかった。当時筆者は、カギになる物質があるなら、生体リズムの中核である SCN にあるに違いないと考え、これまで疎遠だった分子生物学を取り入れ、なぜ朝めざめ、夜眠くなるのか、その答えとなる物質を探し出すことに研究目標を絞った。そのために参加してくれた研究者は、Yasufumi Shigeyoshi, Toru Takumi, Kazuhiro Yagita, Shun Yamaguchi, Satoru Masubuchi であり、各自が得意な研究手法で SCN の研究を開始してくれた。

一方、1990 年より世界中の研究者が参加した生命科

学の一大プロジェクトであるヒトゲノムプロジェクトが開始された。これから述べる哺乳類の時計遺伝子 *Per* の発見に携わった Yoshiyuki Sakaki, Hajime Tei, Cheng Chi Lee は、いずれもヒトゲノム研究の領域出身であった。

筆者がラボを立ち上げた一年後の 1996 年のある日突然、日本を代表するヒトゲノム研究者の東京大学 Yoshiyuki Sakaki, Hajime Tei から、ハエ *period* のホモログと思われるものに関する共同研究の提案があった。それは面白い。仮に生体リズムと関係があるならば SCN に有るか無いかは鍵になると考え、先に述べた SCN の定量的組織化学の手法を用いて *period* ホモログ (後の *Per1* 遺伝子) の発現を検討した<sup>16</sup>。

この *period* ホモログは、これまで経験したことのない奇妙な遺伝子であった。これまで検索してきた SCN のペプチドや受容体の遺伝子は、24 時間リズムを刻むものはあるが、せいぜい 2 倍程度の変動であった。ところがこの *period* ホモログである *Per1* は 10 倍かそれ以上の変動を示す。すなわち、ピーク時は強く発現するが、反対位相時にはほとんど発現が検出できないのである。

この哺乳類 *period* ホモログは、まさに Hall と Rosbash が観察した、ショウジョウバエの視葉における *period* と同じように、極めて大きな昼夜変動を示す遺伝子だったのである<sup>17</sup>。2017 年のノーベル賞受賞の要因の一つは、*period* 遺伝子の単離だけでなく、その昼夜の著明な発現差から考え出された転写・翻訳フィ

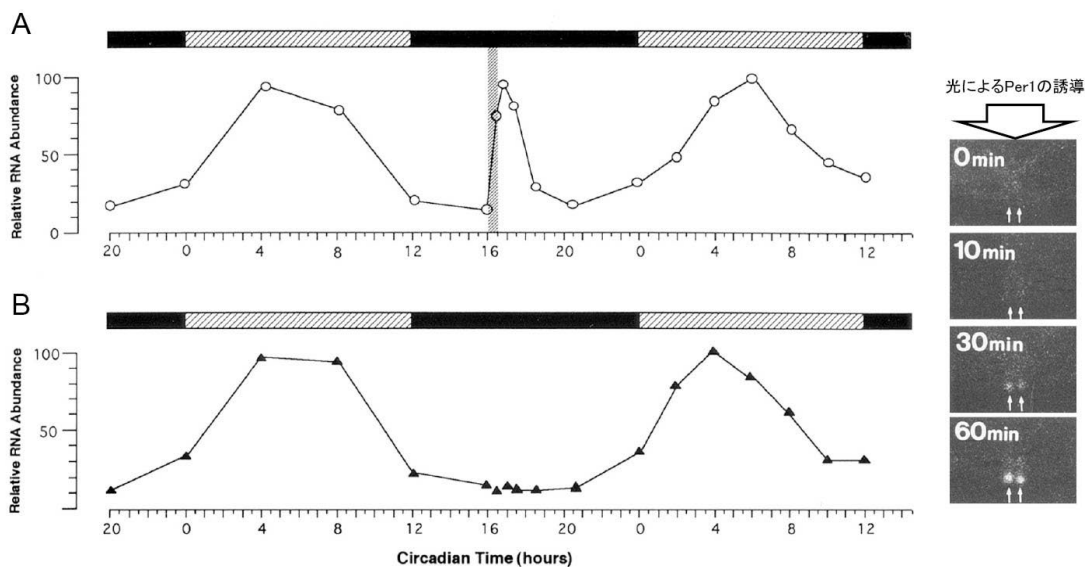


図1 *Per1* mRNA のマウス SCN での定量的組織化学法による 24 時間リズムと、光による *Per1* の急性誘導行動リズムの位相を後退させる夜の前半 (CT16) に光パルスを与えると、*Per1* が強く SCN に誘導される。(B) の光にさらされていない個体に比べると、(A) の光を照射したマウスの *Per1* mRNA リズムが次の日に既に後退していることに注目。各点 2 例の平均値を示す。右側に示すのは、CT16 の時、光を 30 分間照射。文献<sup>20</sup>より改変

ードバックループ (Transcription Translation Feedback Loop: TTFL)、すなわち、時計遺伝子がネガティブ因子として自身の発現を抑制するという生物一般に共通する振動機構の提唱にある。なんと、彼らがそのきっかけとなる *period* の時間特異的な発現を観察したのも、1988 年のハエ頭部の免疫組織化学の組織切片からである<sup>18</sup>。

この *Per1* の成果は、哺乳類もハエも基本は同じ原理で駆動するのではないか、という流れを作った。事実、哺乳類初の時計遺伝子である *Clock* に相当するハエの *dclock*、ハエの *cyc* に相当する哺乳類の *Bmal1*、ハエの *doubletime* に相当する哺乳類 *CK1 $\delta$* 、*CK1 $\epsilon$*  が 2-3 年で次々と単離された。哺乳類とハエの時計遺伝子研究は相乗的に進むことで、TTFL を構成する哺乳類の時計遺伝子はすべてそのカウンターパートがハエにもあることが解明された。時代が動いたのである。この一連の研究はついにヒトの睡眠覚醒異常の発見に至る。2001 年の Luis Ptacek と Ying-Hui Fu による FASPS (家族性睡眠相前進症候群) の患者のゲノム解析より、これらヒトの睡眠覚醒異常と TTFL の関係が明らかとなった<sup>19</sup>。すなわち、1971 年にショウジョウバエの *period* 変異体から始まった研究は、30 年を経てヒトの疾患の原因解明につながったのだ。

### 9. *Per1* の光によるインダクション

SCN には、24 時間のリズムをつくるという機能だけでなく、そのリズムを外界の明暗周期に同調させるという機能がある。我々が得意とする SCN の定量的組織化学を用いて *Per1* の発現量を解析すると、24 時間の発現リズムだけでなく、夜間に光を照射することにより *Per1* が 1 時間以内に急速に SCN に誘導される

ことを発見した (図 1)。通常 *Per1* は夜にはほとんど発現していないが、光を照射すると瞬時に昼の時間帯と同じレベルに発現することが分かったのである。これにより、ショウジョウバエが TIM を介したタンパク質レベルで、外部環境に対するリズムの同調 (リセッティング) を行うのに対し、哺乳類では *Per* 自身のインダクションという急速な遺伝子発現で対応していることが明らかとなった<sup>20</sup>。しかも、たった一回、短時間の光を照射するだけで、*Per1* 発現のリズム位相は次の日から動いたのである。

### 10. SCN とおなじ TTFL が全身にある : 細胞時計の TTFL

遺伝子の発見をきっかけに、生物時計の研究は、全くそれまで予測もされなかった方向に発展することになる。スイスの Ueli Schibler らは、血清刺激で線維芽細胞系の *Per1* 遺伝子がリズムを刻み始めることを明らかにした<sup>21</sup>。この画期的な発見は、リズムが SCN という一部の細胞に限局した特殊な現象ではなく、全身の細胞でも、その活動を制御する普遍的な現象であることを示している。最近、Schibler が当時の研究を振り返り、この線維芽細胞における現象の発見のヒントとなったのは、私たちによる SCN における *Per1* 遺伝子の急速な光誘導の報告である、と述懐しており<sup>22</sup>、その意外な影響に驚いている。

私たちは、この線維芽細胞系を用いて、時計遺伝子が SCN でも線維芽細胞でも同じ TTFL 機構を用いてリズムを発振していることを明らかにした。この研究で、時計遺伝子の形成する TTFL が脳の SCN だけでなく、その他の約 37 兆個の細胞全てに発現しているということが分かったのである<sup>23</sup>。

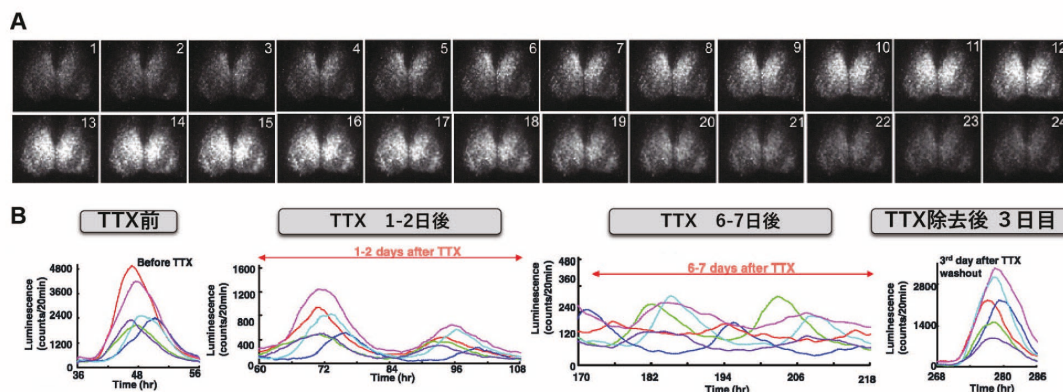


図 2 (A) *Per1*-promoter-*luciferase* トランスジェニックマウス SCN スライスカルチャー シングルセルレベルでの時計発振が、SCN の背側より起こり初め、14 時間後には SCN の中央部の細胞が強く *luc* を発現し、やがて減弱する。数字は時間を示す。(B) TTX 投与による細胞間リズム乖離 個々の SCN 細胞のリズム振幅も減弱する。TTX を除去すると、個々の細胞のリズムの振幅が回復するだけでなく、SCN 全体のロバストナリズムも回復する。文献<sup>24</sup>より改変

## 11. 時間を可視化する：SCN の時間の流れ

SCN で *Per1* の発現の昼夜差を見た時から、たしかに *Per* が時計遺伝子として細胞内でリズムを刻むのなら、実際に単一細胞レベルで 24 時間リズムを見たい、というのが私の願望となった。

これは、1) スライスカルチャーの技法、2) *Per* 遺伝子の発現制御プロモーターの解析、3) ルシフェラーゼの単一細胞での発光を検出できる極微弱光測定、以上三者のテクニックの融合で実現した。現在ではスタンダードなテクニックとなったが、顕微鏡下で *Per1*-promoter-*luciferase* transgenic mice (*Per1-luc*) の培養 SCN 切片からの微弱光をリズムとして検出することに成功したのは、震災後数年経った神戸でのことであった。単一細胞レベルでの 24 時間リズムの可視化に初めて成功したのである<sup>24</sup>。

SCN は決まった時刻を全身に出力するが、SCN 内の細胞の時間位相は全く同じなのだろうか？これを、私たちは SCN 内の局所回路が保たれたスライスカルチャーを用いて調べた。具体的には、単一細胞レベルで SCN スライスカルチャーの細胞の時間位相を解析した結果、各時計細胞のリズムピーク位相が SCN 内の空間的位置により異なることを明らかにした<sup>24</sup>。すなわち、背内側極のニューロン群の興奮は早く、SCN 本体のリズムより 4–8 時間先行し、そのリズムが徐々に中央に移り、最後に腹外側に放散した (図 2A)。従って、SCN 細胞の時刻位相は、始めと終わりのものには、8–12 時間の差がある。しかし、SCN 全体としては、きわめて綺麗な 24 時間リズムを描いたことは注目に値する。

さらに、生きて動いているマウスの *Per1* 遺伝子の発現リズムも、マウスの SCN の直上にプラスチック製の光ファイバーを挿入し、その発光リズムを光電子

倍增管で検出した<sup>25</sup>。不思議なことに、時計細胞の活動はマウスもヒトも全て昼にピークを迎える。昼行性と夜行性の差は中枢時計の時刻の差では無く、例えば朝 6 時なら、その時刻を見て、昼行性動物は起きる時間だと知り、夜行性動物は寝る時間だと知る。すなわち、動物の行動の位相に反映する機構は SCN より下流の脳内にあると考えられる。

## 12. SCN の時計と非 SCN 時計の違い

SCN の時計が、ほかの組織の時計と違うことは、*Per1-luc* マウスの SCN を生体外に取り出して培養してみるとすぐに分かる。SCN は、体外に取り出しても生体内でのリズム位相を保ってリズムを打ち始め、それが数ヶ月でも続く<sup>24</sup>。同じ条件で他の組織を培養しても、リズム位相は新しい溶液に入れると変位し、リズムもまもなく減弱し消失する<sup>26</sup>。すなわち、SCN にのみリズムを刻むだけでなく、そのリズムを維持する仕組みが備わっていると言える。SCN が発する強力で安定したリズムは、脳幹の自律神経系の神経核群を経て全身組織に張り巡らされた自律神経系に出力されて、全身のリズムを調律する<sup>27</sup>。

## 13. SCN の細胞間結合によるリズムの統合と強化

SCN のみが頑強なリズムを発振し続けるという結果は、SCN 全体のリズム発振が細胞レベルの TTFL だけによらず、さらにほかの機構が重層して存在するのではないかということを示唆する。注目したのは、SCN 内の細胞間の強固なシナプス結合である。この結合を切断すればどうなるのか？テトロドトキシン (TTX) を投与しニューロンの活動電位を止めると、綺麗な SCN の単一細胞レベルのリズムは、突然乱れ始め、振幅が減弱するとともに、リズム位相も様々なものとな

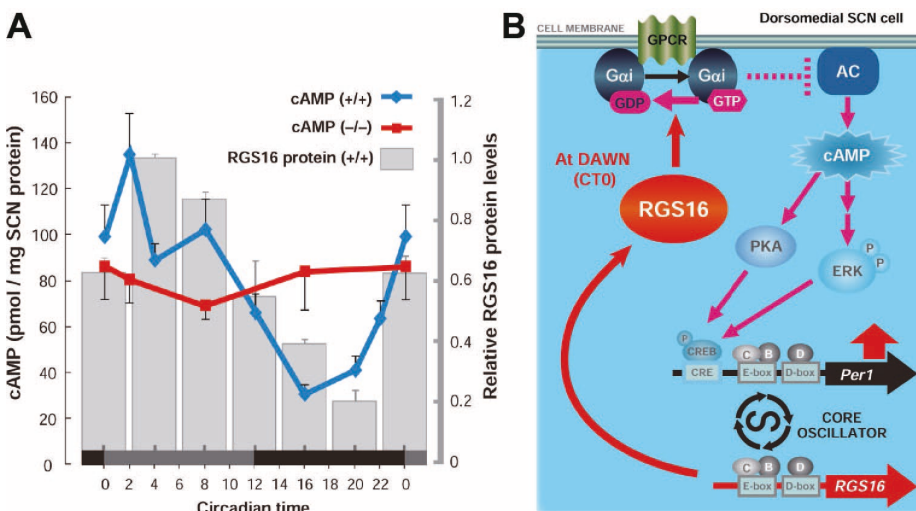


図 3 (A) SCN における cAMP の 24 時間リズム RGS-16 ノックアウトマウスでは cAMP の日内変動は消失する。(B) SCN における RGS16 の cAMP シグナリングを介した *Per1* 転写制御スキーム SCN-Gene Project で見出された、RGS16 は SCN にのみ発現する遺伝子で、朝から昼にかけて大量に発現する。RGS16 は ccg の一つであり、E-box により TTFL の制御を受ける。文献<sup>28</sup>より改変



った (図 2B) <sup>24</sup>。これは、SCN 全体として発振されるリズム (振幅、周期や位相決定) が単一の細胞の発振リズムだけで決まるのではなく、細胞間の相互作用が影響を及ぼし頑強なリズムを生み出すことを示している。これは、TTFL を超えた、神経回路レベルでの制御が SCN リズム発振には重要であることを示している。

#### 14. SCN-Gene Project: 多様なリズム異常マウスの作出

2007 年、筆者は京都大学薬学研究科に研究の場を移した。そこに参加してくれたのは、Masao Doi, Yoshiaki Yamaguchi, Jean-Michel Fustin で、SCN の回路の解析から各種疾患に及ぼす生体リズムの研究に取り組んでくれた。

まず、SCN の回路制御に重要なファクターを探すことにした。具体的に何がリズム形成に関与するのかを検索するため各種薬剤投与を行ったところ、百日咳毒素 (PTX) 投与を行った群において、TTX とほぼ同じ効果を認めた <sup>28</sup>。これは、SCN 各細胞リズムの形成に Gi/o タンパク質を介するシグナル伝達が重要であることを示している。

さらに、私たちは SCN の神経回路を物質的に網羅的に解析するプロジェクト (SCN-Gene Project: SCN に特異的に発現する遺伝子を網羅的に組織化学で同定し、リズムに及ぼす影響をノックアウトマウスで検出する) を進めた <sup>29</sup>。興味深いことに、このプロジェクトで作製した遺伝子改変マウスでは、リズム周期異常、睡眠相後退症候群 (DSPS)、光感受性異常、時差症候群の異常など、様々なタイプの睡眠覚醒リズム異常が極めて高率で発現することが分かった。これらの遺伝子は時計遺伝子のように末梢臓器にも普遍的に見られるものでなく、SCN に特異的に発現し、その機能に関わっているものであった。この結果は、近年急増してい

る概日リズム異常性睡眠障害 (Circadian rhythm sleep disorders) には、SCN の機能異常が深くかかわっていることを示唆している。

#### 15. 目覚ましタンパク質 RGS16 は cAMP を介して働く

SCN-Gene Project により見つけた遺伝子の中に、SCN に特異的に発現する Clock Controlled Gene である「目覚まし遺伝子」*Rgs16* がある <sup>28</sup>。一般に、G タンパク質は GDP-GTP 交換反応により活性型となり、自身の GTPase 活性により不活性型となるが、近年この GTPase 活性を制御する一群の RGS (Regulator of G-protein signaling) の存在が注目されている。

この仕組みを簡単に説明すると、SCN の細胞は、夜明け前、細胞内の TTFL のポジティブ因子である CLOCK/BMAL1 ヘテロダイマーの刺激で *Rgs16* を発現させ、Gi/o を不活性化する。それにより Gi/o に抑制されていた Adenylate cyclase が活性化し cAMP 産生が増大し、活性化 CREB が核内で時計遺伝子 *Per1* プロモーターの CRE 部位に結合し、時計遺伝子を誘導し、細胞の時間を早める。実際、*Rgs16* をノックアウトすると朝の cAMP 増大および CRE シグナル伝達は消失し、SCN の *Per* の立ち上がりのリズムは遅れてしまう (図 3) <sup>28</sup>。

SCN が多くのヘテロな細胞集団からなることは、ペプチドニューロンの分布の違いや神経入力の有無などの研究からよく知られているが、これら細胞間の相互カップリングの実体解明については未だ研究途上である。最近、一連の AAV ベクターを用いた SCN スライスカルチャーの研究が英国の Hastings グループによって進められている <sup>30</sup>。これらの努力により、SCN の独自性の謎の一端は解明されるであろう。

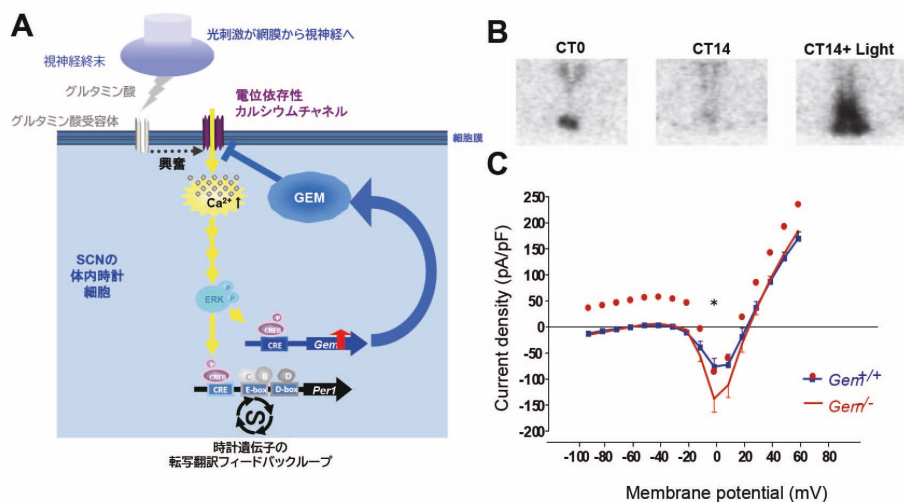


図 4 光による低分子量 G タンパク質 Gem の誘導 (A) GEM は VDCC の活動を直接抑制し、カルシウムイオンの流入を抑制する。

(B) CT14 における光パルスは Gem を誘導する。(C) ホールセルパッチクランプ法による SCN 細胞の Ca<sup>2+</sup> 電流 Gem ノックアウトマウス (*Gem*<sup>-/-</sup>) では、膜電位付近の Ca<sup>2+</sup> 電流が、野生型マウス (*Gem*<sup>+/+</sup>) に比べて、優位に増大していた。文献 <sup>31</sup> より改変

## 16. 光で SCN に誘導される低分子量 G タンパク質は VDCC からのカルシウムイオンの流入を直接抑制する

SCN 内の回路だけでは、SCN のリズム発振や同調の機構の全貌は解明できない。光同調に関しては、光照射により immediate early gene (IEG) である c-Fos や c-Jun が急速 (1 時間以内) に、網膜視床下部路の入力を受け VIP 細胞などが分布する SCN 腹側部の細胞に誘導されることが、1990 年のはじめを賑わせた重要なトピックであった。

最近、筆者らは、もう一度生体レベルに戻って、SCN の機能を振り返ろうとしている。Keiko Tominaga との共同研究を通して、IEG の一つである低分子量 G タンパク質である GEM が、光により、腹側部の SCN で誘導され、GEM タンパク質自身が直接、電位依存性カルシウムチャンネル (VDCC) に働きかけ、カルシウム電流を減少させることを明らかにした (図 4) <sup>31</sup>。

眼球に入る光情報は網膜で受容され、視神経を介して SCN に到達する。この時、光情報は神経終末からのグルタミン酸の放出に変換され、SCN のグルタミン酸受容体を活性化する。夜間、時計細胞はこの光刺激を受けて興奮し、VDCC が開き、細胞外からカルシウムイオンが細胞内に流入する。このシグナルは、核内のクロマチンリモデリング、CREB のリン酸化により CRE の活性化、時計遺伝子 Per の転写促進へとつながり、最終的に体内時計の位相を変位させる。SCN を活性化する光シグナルは同時に、Gem の発現も促進し、生成した GEM が VDCC の抑制因子となってカルシウムイオンの流入を抑制する。これにより、過剰な体内時計の位相変位が防止されるというわけだ。この GEM による制御機構が、光によるリズムの位相変位が約 3 時間と限界がある理由の一つとなりうると考えている。

## 17. おわりに

SCN を SCN たらしめているものは何か? SCN は通常の脳の神経核と同様、ニューロン、グリア、そして毛細血管から構成される。SCN のニューロンは小型で (脳内で最も小さい細胞の一つ)、片側で約 1 万個が密に詰まっている (脳内で最も密な神経核の一つ)。それらは、同じ神経核内の隣接するニューロンとの相互に強固なシナプス結合により局所回路を形成する。また、各々のニューロンは、周囲の大部分を薄いグリア細胞の突起で覆われている。

もう 30 年前になるが、Dale Edgar と William Dement は、昼行性霊長類であるリスザルの SCN を破壊すると、覚醒時間が減少することを発見した <sup>32</sup>。

これは、齧歯類の SCN では想定されていなかった現象である。現在もまだ、SCN と昼行性・夜行性の関係、睡眠覚醒との関係も、神経回路のレベルでも、分子レベルでもはっきりとは分かっていない。SCN は脳内でもとりわけ小さな神経核だが、いまだ多くの謎が残されており目が離せない。

## 参考文献

- 1 Klein, D.C., Moore, R.Y., & Reppert, S.M. *Suprachiasmatic nucleus* (Oxford University Press, 1991).
- 2 岡村均 時計遺伝子 からだの中の「時間」の正体 (講談社ブルーバックス, 2022) .
- 3 Schwartz, W.J. & Daan, S. *Origins: A brief account of the ancestry of circadian biology.* in *Biological Timekeeping: Clocks, Rhythms and Behaviour* (ed Kumar V) Ch.1, 3-22 (Springer, 2017).
- 4 Stephan, F.K. & Zucker, I. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **69**, 1583-1586 (1972).
- 5 Moore, R.Y. & Eichler, V.B. Loss of circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic nucleus lesion in the rat. *Brain Res.* **42**, 201-6 (1972).
- 6 Moore, R.Y. & Lenn, N.J. A retinohypothalamic projection in the rat. *J. Comp. Neurol.* **146**, 1-14 (1972).
- 7 Ibuka, N. & Kawamura, H. Loss of circadian rhythm in sleep-wakefulness cycle in the rat by suprachiasmatic nucleus lesions. *Brain Res.* **96**, 76-81 (1975).
- 8 Schwartz, W.J. & Gainer, H. Suprachiasmatic nucleus: use of <sup>14</sup>C-labeled deoxyglucose uptake as a functional marker. *Science* **197**, 1089-1091 (1977).
- 9 Inouye, S.T. & Kawamura, H. Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **76**, 5962-5966 (1979).

- 10 Takahashi, Y. *et al.* Vasoactive intestinal peptide immunoreactive neurons in the rat suprachiasmatic nucleus demonstrate diurnal variation. *Brain Res.* **497**, 374-377 (1989).
- 11 Okamura, H. *et al.* Circadian change of VIP mRNA in the rat suprachiasmatic nucleus following p-chlorophenylalanine (PCPA) treatment in constant darkness. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **29**, 358-364 (1995).
- 12 Tominaga, K., Inouye, S.I. & Okamura, H. Organotypic slice culture of the rat suprachiasmatic nucleus: sustenance of cellular architecture and circadian rhythm. *Neuroscience* **59**, 1025-1042 (1994).
- 13 Ralph, M.R. & Menaker, M. A mutation of the circadian system in golden hamsters. *Science* **241**, 1225-1227 (1988).
- 14 Ralph, M.R., Foster, R.G., Davis, F.C. & Menaker, M. Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* **247**, 975-978 (1990).
- 15 Vitaterna, M.H. *et al.* Mutagenesis and mapping of a mouse gene, Clock, essential for circadian behavior. *Science* **264**, 719-725 (1994).
- 16 Tei, H. *et al.* Circadian oscillation of a mammalian homologue of the Drosophila period gene. *Nature* **389**, 512-516 (1997).
- 17 Hardin, P.E., Hall, J.C. & Rosbash, M. Feedback of the Drosophila period gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature* **343**, 536-540 (1990).
- 18 Siwicki, K.K., Eastman, C., Petersen, G., Rosbash, M. & Hall, J.C. Antibodies to the period gene product of Drosophila reveal diverse tissue distribution and rhythmic changes in the visual system. *Neuron* **1**, 141-150, 1988.
- 19 Toh, K.L. *et al.* An hPer2 phosphorylation site mutation in familial advanced sleep phase syndrome. *Science* **291**, 1040-1043 (2001).
- 20 Shigeyoshi, Y. *et al.* Light-induced resetting of a mammalian circadian clock is associated with rapid induction of the mPer1 transcript. *Cell* **91**, 1043-1053 (1997).
- 21 Balsalobre, A., Damiola, F. & Schibler, U. A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell* **93**, 929-937 (1998).
- 22 Schibler, U. Getting surprising answers to unasked questions. *Cell* **169**, 1162-1167, (2017).
- 23 Yagita, K., Tamanini, F., van der Horst, G.T.J. & Okamura, H. Molecular mechanisms of the biological clock in cultured fibroblasts. *Science* **292**, 278-292 (2001).
- 24 Yamaguchi, S. *et al.* Synchronization of cellular clocks in the suprachiasmatic nucleus. *Science* **302**, 1408-1412 (2003).
- 25 Yamaguchi, S. *et al.* View of a mouse clock gene ticking. *Nature* **409**, 684 (2001).
- 26 Yamazaki, S. *et al.* Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science* **288**, 682-685 (2000).
- 27 Ishida, A. *et al.* Light activates the adrenal gland: timing of gene expression and glucocorticoid release. *Cell Metab.* **2**, 297-307 (2005).
- 28 Doi, M. *et al.* Circadian regulation of intracellular G-protein signalling mediates intercellular synchrony and rhythmicity in the suprachiasmatic nucleus. *Nat. Commun.* **2**, 327, (2011).
- 29 Okamura, H. Suprachiasmatic nucleus clock time in mammalian circadian system. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **72**, 551-556, (2007).
- 30 Patton, A.P. *et al.* The VIP-VPAC2 neuropeptidergic axis is a cellular pacemaking hub of the suprachiasmatic nucleus circadian circuit. *Nat. Commun.* **11**, 3394 (2020).
- 31 Matsuo, M. *et al.* A light-induced small G-protein gem limits the circadian clock phase-shift magnitude by inhibiting voltage-dependent calcium channels. *Cell Rep.* **39**, 110844 (2022).
- 32 Edgar, D.M., Dement, W.C., Fuller, C.A. Effect of SCN lesions on sleep in squirrel monkeys: evidence for opponent processes in sleep-wake regulation. *J. Neurosci.* **13**, 1065-1079 (1993).