

日米時間生物学セミナー
(U.S.-Japan Seminar on Molecular Mechanisms of Biological Rhythms)

報告

重吉康史

近畿大学医学部解剖学第二講座

7月31日から、8月3日にわたって日米時間生物学セミナーがハワイ島コナサーフリゾートホテルで開かれた。オーガナイザーは日本側が、名古屋大学近藤孝男氏、神戸大学岡村均氏、米側はバージニア大学 Gene Block 氏であった。筆者は、真夏のハワイは初めてであったが、日差しは強いのに戸外でも日陰にいる限りほとんど暑さを感じないのは驚きであった。海が近くにあるのに日本の夏のからみつくような湿気がほとんどない。さすが、夢のハワイである。ほとんどの参加者が、期待でそわそわしている(筆者が最たる者であったが)。結局、午後のセミナーを一部、午前中、あるいは日没後に回して、できるかぎり日のあるうちにハワイ島の調査に当てることとなった。ウミガメの回遊している砂浜(同行した6歳の私の娘は、岩だと思っていたところ海亀が突然泳ぎだして追いかけれられ、血相を変えて犬かきで逃げた。彼女によると、亀さんと一緒に泳いでいたそうであるが。)荒涼たるキラウエア火山、ホテルのプールサイドの灯火に照らされ海中を翻るマンタ(巨大なエイ。)など、この地特有の生物学、地学を参加者全員満喫した(と思う)。ホテルの宿泊代も比較的安価であり、従業員の接客技術も標準以上であった。できうるなら毎年この地において開かれんことを考えたのは私のみではあるまい。この様

な場所を選択いただいた Block 氏、近藤氏、岡村氏にこの場を借りて感謝したい。なお、バンケットにおいては、米側の開催の労を執られたブロック博士とその秘書であるメリッサ嬢に、南部鐵の急須が日本側から送られた(このプレゼントについてはエピソードがあり、知りたい方は筆者に連絡されたい。)

以下、私が興味を持った話題に関し、そのいくつかを紹介する。

Jadwiga Giebultowicz 氏は、ショウジョウバエにおける vas deferens の上皮において、*Per* 遺伝子の発現にリズムが存在し、精子分泌を制御している可能性について言及した。また、概日リズムを失った *per0*, *tim0* などの変異体の雄と、正常の雌を交配したところ、受精卵が 30% 減少していた。これは、精子の放出される時刻が、体内時計によってゲートされているのに対して、*per0*, *tim0* の個体では一日中垂れ流しになっていることがその原因であると思われた。

薬物依存と時計遺伝子の関連を示唆する Hirsh 氏の研究は突飛的なものである。Hirsh 氏は、頭部を切除したショウジョウバエを用いて、神経の断端に薬物を投与することによって、その影響を明らかにする手法を開発しており、頭のないショウジョウバエの手足が動くのをビデオで供覧した(少々気味が悪い。)。さらに、コカインに対し

での複数回投与による感受性の増大 (sensitization: 感作) が *per*, *clock*, *cycle*, *doubletime* を欠損したものでは失われていること、しかし、*timeless* の欠損では、sensitization が失われていないことを報告した。なにゆえ時計遺伝子が sensitization と関係するのか、*timeless* 変異ではなぜこの現象が生じないのかなどの疑問については現在のところ説明不可能であろう。しかし、時計遺伝子がリズム形成以外の役割を担っていることを示すという点で新しい方向性を示すものである。

ショウジョウバエでは他に Michael Young 氏が、新しい時計遺伝子 *vri* (*vri*) について発表した。日周変動を指標として、differential display 法によって採取された新規ショウジョウバエ遺伝子である *vri* は、哺乳類の DBP と相同性を持つ遺伝子である。DBP が視交叉上核において日周変動を示すのと同様に、*vri* 遺伝子は、*per* や *tim* と同様の変動を示す。*vri* の変異体では、サーカディアンリズムが失われる。*vri* のプロモーターには E-box が存在し、CLOCK、CYCLE によって転写が促進する。その一方で、*timeless* プロモーターには *vri* が結合し、*timeless* の発現に対して抑制性の効果を持つことも示された。すなわち、*per* 以外の抑制性のフィードバックループが存在する可能性がある。

もう一つの最近単離された時計遺伝子である *Cry* 遺伝子に関しては、ショウジョウバエと哺乳類においてその役割が異なることが示された。谷村禎一氏がショウジョウバエの CRY が *timeless* の分解を促進する光同調に関与する因子であることを示したのに対して、Charles Weitz 氏は、哺乳類の CRY が、光同調には関与しないこと、しかし、PER, CLOCK, BMAL1 といった時計分子と結合して、*Per* 遺伝子の転写の抑制

を行うことを示した。興味深いのは、哺乳類の CRY1, CRY2 が結合する相手の時計分子が異なることである。CRY1 は、BMAL1 とは結合するが、CLOCK とは結合せず、CRY2 は CLOCK と結合して、BMAL1 とは結合しない。マウスの CRY1 変異体、CRY2 変異体では、概日周期が異なることが知られており、それとの関連に興味を持たれる。

哺乳類の時計発振機構においては岡村均氏より、PER の核内移行に際して *Per1*, *Per2*, *Per3* の役割が異なることを示唆する興味ある報告があった。*Per1*, *Per2*, *Per3* のうち、明瞭な核局在シグナルをもつものは、*Per3* のみであり、シーラムショックを行うと mPER1 及び mPER2 は mPER3 と結合することによって核内に移行する。哺乳類においてはこの機構が PER の核内移行、ひいては *Per* 転写の negative feedback のメカニズムであることが示唆された。PER の抑制が、*per* の転写に及ぶ際に、CRY と PER3 はどのように機能分担するのであろうか。

哺乳類、視交叉上核における同期のメカニズムに関しては、以下の報告があった。北海道大学本間さと氏は、多電極ディッシュ上での視交叉上核の分散培養細胞をもちいて、シナプス結合が存在しなければ異なる周期で活動しているが、シナプス結合が存在する細胞間では同期が生じていることを示した。これは、視交叉上核における細胞間でも、シナプスを介してただ一個のリズムを作りだしていることを示唆するものである。

重吉康史は、ショウジョウバエの *per* 変異体 *per0* に *mPer1*, *mPer2* をショウジョウバエの *timless* のプロモーターの支配下に置いて、サーカディアンリズムが回復することを発表した。*mPer1* と *mPer2* を導入した場合では、有意に *mPer2* を導入した方が

周期が長い。しかし、視交叉上核においては、*mPer1*と*mPer2*は細胞レベルで共存し、その概日周期は一致した。よって、視交叉上核においては、*mPer1*がなすフィードバックループと*mPer2*がなすフィードバックループが視交叉上核の細胞レベルで同期していることが示唆された。

同調、位相変位機構については、哺乳類で、柴田重信氏が注目すべき発表を行った。セロトニン 1A, 7受容体のアゴニストである8-OH-DPATによって、主観的昼に行動の位相変位を生じることが知られていたが、その際に昼間の視交叉上核での*Per1*, *Per2*発現量が減少することを示した。ちょうど、光照射で、夜間の*Per1* 遺伝子が誘導される現象と対称をなす現象であり、光以外と同調因子に関しても*Per*の変動がそのinitial stepであることを示唆する。

鳥類の同調機構に関しては、以下の2つの発表があった。

海老原史樹文氏は、ウズラ(quail)の*Clock*, *Per2*, *Per3*を採取し、その網膜での変動を観察した。特徴的なのは、*Clock*に明瞭な内因性のリズムが存在することである。LD条件、DD条件のいずれにおいても、明期にピークが存在した。*qPer2*は、一日のどの時点でも光照射によって、誘導される。この点は、明確なゲート機構が存在する哺乳類視交叉上核とは異なる点であり、網膜特異的な同調機構が存在するのではないかと思われた。

深田吉孝氏は、ニワトリ松果体の光同調の機構について報告した。リン酸化されたMAP kinase (P-MAPK)は、光照射によって速やかに減少する。P-MAPKは夜間に高値で、昼間には低い。MAPK kinaseのinhibitorであるPD98059を投与すると、P-MAPKの量は減少する。投与によって、暗期では位相変位が生じたのに対して、明

期では位相変位は生じず、これは行動リズムの位相変位に一致するものであった。このことは、MAPKのリン酸化が時計の出力系として存在しているのではなく、時計の発振機構そのものに密接に関与する可能性を示唆する。

シアノバクテリアでは、新たな時計遺伝子*sasA*が発見された。近藤孝男氏は*KaiC*に結合する因子として、two hybrid systemにて採取された*sasA*遺伝子について発表した。*sasA*の欠損は、*kaiBC*の発現を低下させる。また、その過剰発現によって*kaiA*, *kaiBC*遺伝子発現の概日リズムが失われる。すなわち、*sasA*は*KaiC*がオートフィードバックを形成するのに必須の因子と考えられた。

今回、新規時計遺伝子として取り上げられたのは、ショウジョウバエ、哺乳類においては*Cry*, *Vrill*、シアノバクテリアの*sasA*などであったが、全体としては時計遺伝子獲得競争が、少なくともショウジョウバエ、哺乳類を代表とする動物群では一息ついて、新たな方向性が模索されている印象であった。また、ショウジョウバエ、哺乳類に共通な時計遺伝子が明らかになったことで、進化系統樹で共通の幹に属する鳥類、魚類を始めとした様々な種において時計遺伝子が採取され、それによって、生物時計の共通項と、逆に多様性が明らかになりつつある。今回も、様々な時計発振のモデルが提出され、生物が共通に持つ生物時計の大きな謎が解明されようとしているといった胎動を感じた。

しかし、その一方で、リズム生成の共通項が明らかになった後の大きな空洞を埋めるべきテーマはまだ現れていないと感じた。共通項が明らかになった後は、多様性を追いかけるしか無いのであろうか。時間生物学をさらに隆盛に導くには、新規参入者を

引き込む謎、研究すべき大目標が必要である。今後時間生物学者はどのような新たなターゲットに向けて進めばよいのだろうか。現在は生体内でリズムが生じることの機構に対する興味で人々は魅きつけられている。しかし、今後、時間生物学研究に対して、人類にとってその研究が有益かといった視点も持ち込まれることであろう。そういった点で、癌撲滅を掲げる癌研究、神経疾患の治療をターゲットとする脳研究に匹敵する時間生物学の錦の御旗を示すことができるだろうか。

今回、日本側がオールスターに近い陣容

であったのに対して、米国側は、big nameの多く（特に哺乳類の分野で）が参加せず、それでいて名前も知らない研究者がホームラン級の成果を披露した。米国時間生物学研究の底の深さを感じた。セミナー終了後、日本側は多くの参加者がそそくさと翌日に飛び立ったのに対して、米側参加者は数日から1週間ほどハワイにとどまる人が多いようであった。彼我の差はここにもあり、貧乏暇なしといったところか。私もがんばらねば。



主催者の方々（向かって左寄り Gene Block 氏、近藤孝男氏、岡村均氏）