

第12回日本時間生物学会を終えて

石田 直理雄

産業技術総合研究所 生物機能 生物時計

第12回日本時間生物学会が2005年11月24日、25日の両日つくば市の国際会議場（エポカル）において開催された。両日は天気とつくばエクスプレス開通という幸運にも恵まれ、約250名という多くの参加者に来ていただき、連日会場ばかりかロビーでも多くのディスカッションが見受けられた。理事会で小生がこの大役を引き受けたときにまず考えたのは、シンポジウムを少なくし、ワークショップの数を増やし、いかに次世代の人たちに興味を持ってもらえるかという点であった。どんな学会でも歴史をみれば明らかであるが、新しい潮流を作った団塊の世代が活躍した後の次世代が衰退する傾向にある。我々時間生物学会も12年という区切りを迎え、時計遺伝子のクローニングとその機能同定に奔走した第1世代の次に何がくるのか楽しみな時代となった。その意味で、今回は、次の世代を担えるこの学会のホープとも言える多くの人に参加していただけたと思う。勿論小生の独断で決めさせていただいた点もあるが、その点を考慮して、企画段階から準備委員会（池田 埼玉医大、前村 東大、霜田 農生研、宮崎 産総研、大石 産総研、花井 産総研）を作り、諸氏の意見を吸収した。

教育講演は阪大蛋白研の永井克也先生にお願いした。先生が永年主張してこられたSCNが自律神経系のコントロールセンターであるという実験を豊富な実例を元に歴史的スライドも交えて示された。運動中に骨格筋で合成され、分泌される β -alanyl-L-histidineが自律神経制御を介し、血圧及び血糖低下作用を及ぼすがそのセンターもSCNであることを示された。今後運動が時計に与える影響を考える上で重要な知見と言える。また、朝のグレープフルーツの香りが交感神経系を刺激し、就寝前のラベンダーの香りが副交感神経系を刺激し眠りを誘発し、これが嗅覚経路でSCNを介するという結果は、今後応用を考える上でも重要な知見といえる。様々なサプリメントが世には氾濫しているが、このようなEvidence basedなものが増えていく事を期待したい。永井先生は今

年で退官されるが、この発見を元に新たなベンチャービジネスを展開されるそうである。

招待講演には、米国Scripps研究所のSteve Kay博士に「Construction and Evolution of Circadian Networks in Plants and Animals」というタイトルでご講演をお願いした。最初にバクテリアから植物、昆虫、マウス、ヒトまで普遍的に存在する体内時計分子機構について概説し、進化の過程で何回か独立のリズム制御機構が発生したという仮説を述べられた。哺乳類については、時計遺伝子変異の効果が中枢と末梢で異なるケースがある事をマイクロアレイ解析から結論し、我々が最近主張している点と同様の見解を示された。光周性と概日時計機能は極めて密接な関係にある。中でも、植物における光周期依存型の花成制御機構は、最も研究が進んでいる分野である。昨年、花成ホルモン（フロリゲン）の候補としてFLOWERING LOCUS T (FT) が同定された。その遺伝子発現は概日時計の制御を受け、概日時計からFTに至る経路（GI-CO-FT経路）は植物界で高度に保存されていることが明らかにされ始めた。長日植物シロイヌナズナと短日植物イネにおける光周期応答の違いは、CO機能の逆転で部分的に説明可能であるとする説は大変興味深い。今後は、さまざまな生物の光周性の分子メカニズムの共通点と相違点が明らかになると期待される。あのスタイリストのSteveも少々腹が出てきたのが気になったが、釣りのやり過ぎでなく家庭円満の証しとお見受けした。

時間生物学会奨励賞の基礎・科学部門は、太田英伸氏（東北大学医産婦人科）が受賞した。1つは、バンダーヴィルド大学生物学部留学中に行った仕事で、恒明条件下でマウスが示すスプリットリズム、又は無周期の分子機構を解明した。Per1:GFPマウスを3~5ヶ月恒明で飼育し、スプリットリズムを示したSCN培養を行い、共焦点シーザー顕微鏡下で観察したところ、左右のSCNのリズムが位相逆転している事を見出した。この事実は行動のリズム・スプリッティングの背景に左右のSCNのリズム脱同調

があることを画像レベルで示した点に意義がある。Fred Turek博士(ノースウエスタン大)やBill Schwartz博士(マサチューセッツ医大)の先行の仕事に裏付けられたという点でも評価された。同様に無周期性行動を示したマウスにおいても個々のSCNは日周期を持つが、それぞれの細胞の位相が脱同調している事をPer1:GFP系で示した。これらの実験に当たり、メンターとしての山崎 晋氏(バンダービルド大)の指導力の貢献を強調していたが、うなずける話である。もう1つの太田氏の業績は光環境保育・母子分離が生物時計の発達に与える影響の研究である。特に、昼夜逆転させた母ラットが新生仔ラットのリズムに影響を与える事や、非活動期の母子分離を1週間行くとPer1/Per2のリズムが12時間逆転するという実験はヒトの臨床を考える上でも重要な知見である。太田氏が小児科の出身で早産の新生児環境に興味を持ってこの分野に入ったという強い動機づけを感じさせる良い仕事である。後半の実験は太田氏が北大医学部本間研究室に大学院生として在籍していた時の仕事である。

時間生物学会奨励賞の臨床・社会部門は、大阪医科大学第3内科の村上省吾氏が受賞された。早期高血圧とNON-dipper型(夜間血圧が下がらない型)は臨床的に心筋梗塞、脳梗塞等心血管疾患の誘因となり、臨床的に重要な問題である。村上氏はヒトの早朝高血圧(早朝収縮期と夜間拡張期血圧の差)が1週間の中で特に日曜から月曜の朝に上昇するという疫学的データを取った。ヒトの場合、土日フリーラ

ンした行動が月曜から仕事のために位相シフトせざる得ないという社会的要因が大きいと考えられる。今後基礎的にはストレスの体内時計とその遺伝子発現制御に与える影響は重要な研究分野になると考えられる。また、臨床的にはこのような疫学的研究の重要性は予防医学的観点から益々その必要性を増すであろう。

2つのシンポジウム「体内時計のモデル動物」「体内時計の光周性」、4つのワークショップ「時計分子機構」「生活習慣病と体内時計」「投薬時刻と時計」「睡眠リズムと発達」と15題の口頭発表、114題のポスター発表を2日間という短い日程の中で集中的に行った。分類をすると学問の垣根が出来て良くないが、どちらかというと、2つのシンポジウムとワークショップ「時計分子機構」が基礎寄りで3つのワークショップが臨床寄りの演題を集め、バランスをとった。「口頭発表」や「ポスター発表」の中にも大変注目すべき演題も多く、あえて個々には取り上げない。又、口演会場では、座長が制しきれないほどの多くの質問が飛び出し、参加者の皆様には心より御礼申し上げます。

最後にこの会を陰できめ細かくサポートしていただいた産総研 生物時計研究グループのスタッフ、ポスドクや学生、筑波大植物 溝口 剛氏とそのグループの学生達、農生研昆虫生産 霜田 政美氏と非常勤職員の皆様、つくば国際会議場 田村正敏、藤田俊男、市村公二各氏にこの場を借りて心より御礼申し上げます。

第12回日本時間生物学会印象記

志賀向子

大阪市立大学大学院理学研究科

つくば国際会議場にて2005年11月24日(木)、25日(金)に開催された第12回日本時間生物学会に参加した。ひと月前に同じ会場で動物学会があり、「また、つくばか…」という感否めなかったが、時間生物学会で初めての発表ということもあり、少しの緊張感と大きな期待を持って参加した。

私は、昆虫を用いて光周性神経機構の研究を行っている。これまで主に、社団法人日本動物学会、日

本比較生理生化学会、そして日本応用動物昆虫学会に参加してきた。光周性の生理機構に関する研究は、近年植物や脊椎動物で目覚ましい成果が上がっている。最新の研究成果を聞きたいのだが、私が参加する学会では光周性メカニズムの研究者は少ない。光周性に携わる一研究者として時間生物学会が気にはなっていたものの、参加学会を増やすことにためらいがあり、これまでほとんど参加したことは無かった。

今回の大会では「体内時計の光周性」というシンポジウムが二日目にあり、また、大会の前日にAschoff-Honma賞を受賞されたハエの時計研究者Helfrich-Förster博士が来られるということを知り、参加することにした。

今回の大会は、シンポジウム2つ、ワークショップ4つ、一般発表では口頭発表15題、ポスター発表114題から構成されていた。規模からすると、日本比較生理生化学会よりも少し大きいくらいだろうか。演題数は多くは無いが、自分の研究と関連するものが基礎分野には多くあり、中身の濃い内容だった。プログラムから数えると、キイロショウジョウバエのポスターが5題とそれ以外の昆虫が7題あり、私たちは思ったほど異端児ではないようである。さて、今回は昆虫以外の光周性研究に触れることが目的だったので、かねてから気になっていた研究グループのポスターを見てまわった。やはり概日時計に関する発表が多かった。概日時計の基本的な振動現象の分子機構の理解は進んでいるものの、未知の部分が多く残されているようである。中枢から離れて末梢時計の話も目立っていた。また、他の生物とは異なり、振動現象が転写・翻訳系とは独立したタンパク質因子からなるシアノバクテリアの話も興味深かった。光周性研究は概日時計に比べて少なかったが、シンポジウムも合わせて、哺乳類、鳥類、植物の話を知ることができた。これらの生物では光周性

機構に関与する、あるいは関与しそうな遺伝子がある程度みつかっており、光周性における日長測定機構を具体的に分子のレベルで考える材料がそろいつつあるように感じた。昆虫ではこれまでに、日長測定の理論的構造を考えるモデルが様々な実験により検証されてきた。しかし、現在それらのモデルを実体として説明できる分子や細胞の材料はまだほとんど無い。キイロショウジョウバエには光周性が見られない、あるいは、あっても非常に反応が弱い。これが昆虫光周性の分子機構が進まない原因の一つかもしれない。しかし、適切な研究対象として非モデル生物が選ばれた場合、皆その生物種のために特別にあつらえた方法を開発、駆使して研究成果を上げている。昆虫の光周性研究はずいぶん遅れをとっているが、それらを見習い何とかブレイクスルーを見つけたいものである。

最後になったが、Helfrich-Förster博士のAschoff-Honma賞受賞を大変嬉しく思う。丁寧な実験とデータ解析、事実を一番初めに見つけた研究者を尊重する姿勢、学生時代から彼女の論文を読んで感じてきたことが良く伝わってきた受賞者講演だった。また、本大会をオーガナイズして下さった産総研の石田直理雄博士に感謝いたします。懇親会での大会長の楽しい挨拶も含め、会は大いに盛り上がり、内容の充実した大会でした。

第12回日本時間生物学会ワークショップ1 「時計分子機構」印象記

梅田奈苗

山口大学大学教育機構保健管理センター

ワークショップ1「時計分子機構」は11月24日(木)、初日の午前中に行われました。ポスターを貼り終え大会議室に駆けつけるとすでにほぼ満員で、会場は熱気に溢れた様子でした。

岩崎先生と程先生が座長をされる中、時計遺伝子に関する最新の研究成果が発表されました。

まず、大石先生が、ICR系の*Clock*変異マウスでは血中脂質レベルが野生型に比べて有意に低く、高脂肪食負荷に対して抵抗性を示すことを示されました。これは脂肪分解に促進的なCCK-ARがCLOCKに制

御されているため、腸管からの脂質吸収が*Clock*変異マウスでは著しく損なわれているためである可能性を示唆されました。生命現象の様々なものが時計に制御されていることを改めて認識させられました。また、この結果は2005年5月にScience誌で報告された*Clock*変異マウスでの血中脂質レベルの測定結果とは逆の結果で、生物の系統により大きく結果が変わることがあるということがわかりました。ある現象を理解するためには多系統、多種の生物での知見が必要なのかもしれないと感じました。

八木田先生は、rat-1細胞に発光レポーターを利用した概日振動のリアルタイムモニター法を構築され、概日エンハンサーを同定する新たな手法を開発されました。そしてこの系では数種の時計遺伝子の中でも*Dbp*が最も強くリズムを示すということから*Dbp*のプロモーター解析が行われたところ、-462から-335の領域に振動をつくり出す領域があることがわかったということでした。さらなる詳細な解析の結果、-416のNon-canonical E-box配列でCLOCK/BMAL1による発現誘導が強いということを報告されました。これにより生物時計の分子フィードバックループにおける新たな転写制御の機構が明らかにされました。

小池先生は、*Per2*のプロモーターの構造およびその機能についての解析結果を発表されました。*Per1*のプロモーターには5個のE-boxが存在し、これがCLOCK/BMAL1と結合してその発現が誘導されることはすでに明らかにされていますが、比較ゲノム解析による保存領域の解析の結果*Per2*には典型的なE-boxは存在していないことがわかったとのことでした。そこで次に*Per2-luc*を用いたマウスNIH 3T3細胞での*Per2*の発現に必要な配列について検討された結果、転写開始点近傍約300bpに2つのE-box類似配列が存在し、これらがCLOCK/BMAL1、forskolinによる発現誘導、日周変動に必須であるという結果を得られたことを報告されました。このことから、*Per2*においても新たな転写制御機構の存在が明らかにされました。

内匠先生は、まずstaggererマウスの光に対する反応性の変化を紹介されました。その次にPMTを

用いたリアルタイムリズムモニター系を用いて*Per2*の概日振動に必須の領域の同定およびその制御機構の解析が行われた結果、*Per2*プロモーターにはE-box likeな配列が重要であることを示されました。リズム形成における時計遺伝子の転写機構にはまだまだ未知な部分が多くあることを実感させられました。また、新たな実験系が構築されることによって今まで未知であったことが次々明らかにされていく様子を目の当たりにしたように思いました。

中嶋先生は、シアノバクテリアでは3種の時計タンパク質KaiA、KaiB、KaiCとATPのみで概日振動が再構築可能であること、このリズムは自律性、周期の温度補償性を備えていることを紹介されました。さらに細胞内の遺伝子発現のリズムはKaiCリン酸化に支配されており、KaiCのリン酸化が主時計であると考えられること、KaiAはKaiCのリン酸化を促進し、リズムの周期、振幅に関与していること、KaiCリン酸化におけるATP消費量は極めて低く、低エネルギーでも効率的にリズムを維持できることなどのデータを示され、同時にシアノバクテリアの光絶対独立栄養生物としての特徴についても説明され、非常に興味深く内容の濃いご発表でした。生物が環境に適応して生きていくということの意味を改めて考えさせられました。

いずれも活発な質疑応答が行なわれ、今後の展開が楽しみだという印象を受けました。大変短く感じた2時間半でしたが、時計研究の先端を見ることができ、学んだことや考えさせられたことの多い有意義なワークショップでした。素晴らしい学会に参加させていただきありがとうございました。

ワークショップ2「生活習慣病と生体時計」を終えて

勢井宏義

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部統合生理学分野

2005年11月24-25日、第12回日本時間生物学会が、黄葉に囲まれた晩秋のつくば「エポカル」で開催されました。前村浩二先生（東京大学）とご一緒に、「生活習慣病と生体時計」と題するワークショップを持たせていただきました。実は、私にとって日本時間生物学会参加は初めてのことで、座長を引き受

けた自分の鉄面皮にも驚きです。

サーカディアンリズムと生活習慣病については、近年、基礎・臨床の両面から、大きな関心を集めています。塾やコンビニといった社会・経済活動の変化から、現代は休息のない24時間社会だといわれています。まさしく、生活習慣の変化が、肥満や高血

圧、糖尿病といった「生活習慣病」発症の一因となっていることは、数多くの疫学的調査によって明らかになってきています。はたして、それは生活リズムの乱れが原因しているのでしょうか？あるいは、TurekらがScienceに報告したClock ミュータントマウスにおけるメタボリックシンドロームのように、時計遺伝子群の異常そのものが関与しているのでしょうか？

今回のワークショップでは、時計遺伝子と生活習慣病との関連性について、基礎、臨床、そしてフィールドの幅広い観点から最新の知見を持ち合い、たくさんの参加者の方々と議論の場を共有しました。

まず、はじめに、早稲田大学の工藤崇先生が、糖尿病モデルdb/dbマウスでは時計遺伝子発現の変化が見られ、*Pai-1* 遺伝子発現が増加していること、*clock* ミュータントマウスの肝臓では脂肪代謝機構に変化があり、また、逆に、高コレステロール食によって、ミュータントマウスの時計遺伝子発現が影響を受ける、という知見を報告されました。

次に、これまで、*Pai-1* 遺伝子発現が血管内皮細胞や心筋細胞などに存在する末梢体内時計によって調節されていることを明らかにしてきた前村先生が、cDNAマイクロアレイによる解析によって、トロンボモデュリンなどの遺伝子が末梢体内時計の下流にあることを示されました。

続いて、神戸大学の江本憲昭先生が、CRY-1/2ダブルノックアウトマウスの血圧は、恒暗条件では日

内変動が消失するが、明暗条件ではマスクング効果による有意な日内変動が存在すること、さらに、ノックアウトマウスでは血圧値の短時間内の変動が大きく、生体時計が血圧の安定性に寄与している可能性を示唆されました。

同様に、クロックミュータントマウスにおいても、血圧・心拍数リズムの平坦化が観察され、それは、バゾプレッシンなどによる体液調節機構の変化が関与している可能性を、勢井が報告しました。

最後に、東京女子医科大学の大塚邦明先生がクロノミクスの見地から、北海道やチベット高原の地域住民の血圧・心拍変動などに関するフィールド調査結果を報告され、それら時系列データの解析結果が疾病予後・生命予後の評価に用いることができる可能性を示されました。

今回のワークショップでは、時計遺伝子が、肝臓における脂肪代謝や血液の線溶系、血圧調節、体液調節など、様々な生理機能に関与している可能性を提示することができました。各生理機能における時計遺伝子の役割については、さらに詳しく研究する必要があります。また、ヒトにおいて時計遺伝子の多型や発現の変化が生活習慣病とどのように関わるか、など、今後益々期待されるテーマだと確信しています。他の学会には見られない、若い研究者の多さと討論の活発さに刺激された私は、徳島に帰ってすぐに、入会手続きのメールを出しました。

第12回日本時間生物学会 ワークショップ3「投薬時刻と時計」参加記

安藤 仁

自治医科大学医学部薬理学講座臨床薬理学部門

筆者は大学卒業後より一貫して内科医として臨床医学に携わってきたが、1年ほど前から時間生物学の面白さに惹かれ、現在は時間生物学の分野でも基礎・臨床研究を行っている。今回、初めて日本時間生物学会大会に参加させていただいた。時間生物学会は、研究対象となる生物も単細胞生物からヒトまで多様だが、学会員も理工農系から医薬系、さらには文系まで幅広く所属しており、内容が実に多彩で、基礎から臨床医学まで興味のある筆者には非常に楽

しい学会であった。なかでも、大会2日目に行われたワークショップ3は、「身近な病態や治療薬が生体リズムにおよぼす影響」から「投薬時刻による治療効果・有害反応の差異」、そして「生体リズムを操作することにより、治療効果を増強させ有害反応を減弱させるような投薬方法の開発」へと、時間治療に焦点をあてた、まさしく基礎から臨床へと繋がるワークショップであった。本稿では、私見を交えつつ全4演題についてそれぞれ概説してみたい。

まず、自治医科大学薬理学講座・藤村昭夫先生が『ACE阻害薬の時間治療』と題し、アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害薬の治療効果および有害反応におよぼす投与時刻の影響を報告された。ACE阻害薬は強力な血圧上昇作用を有するアンジオテンシンIIの産生を抑制することにより血圧を効果的に低下させる高血圧治療薬であり、高血圧によって障害される臓器（心臓や腎臓など）の保護作用も認めることから、高血圧に対する第一選択薬として広く用いられている。また、ACE阻害薬はブラジキニンの分解も抑制し、ブラジキニンは乾咳を誘発するため、有害反応としてしばしば乾咳を認める（患者の10~20%）。そこで、高血圧患者を対象にACE阻害薬であるエナラプリルを朝（10:00）または夜（22:00）に投与し、血圧変化と咳嗽の出現を血中薬物濃度・血中ブラジキニン濃度の推移とともに観察した。その結果、薬物動態（薬剤投与後の血中濃度推移）には投与時刻による差異を認めなかったが、降圧効果持続時間は夜投与のほうが有意に長いことが明らかになった。さらに、有害反応である乾咳の頻度および重症度は朝投与のほうが夕投与よりも大であり、朝投与ではブラジキニン濃度の上昇も認めた。また、脳卒中を発症しやすい自然発症高血圧ラットを用いて脳卒中予防効果に対するACE阻害薬の投与時刻の影響を検討したところ、臨床における結果と同様、ACE阻害薬を安静期初めに投与した場合に最大のACE活性抑制、降圧効果の持続を認め、予後も顕著に改善することが判明した。これらのことより、ACE阻害薬は眠前あるいは夕食後に内服することによって最も効果的な降圧・臓器保護効果が得られ、しかも有害反応も少ないと考えられる。これまでは降圧薬というと朝投与が一般的だったが、近年は夜間血圧のコントロールの重要性が明らかにされ夕投与も少しずつ考慮されるようになってきている。今後は、大規模臨床試験によりACE阻害薬の時間治療の重要性がさらに明確となり、「ACE阻害薬の投与時刻は眠前」が一般的になることを期待したい。

2番目の演題は日本大学薬学部・榛葉繁紀先生より『脂肪細胞における時計遺伝子BMAL1の機能』についてご発表いただいた。この10年間、多くの研究室で脂肪細胞に関する研究が精力的に行われ、時計遺伝子群による生体時計の解明と同様、様々なことが明らかになった。すなわち、これまでは単なる中性脂肪を蓄えるエネルギー貯蔵臓器と考えられてきた脂肪組織が、実はレプチンやアディポネクチンなどの生理活性物質（アディポサイトカイン）を分泌

する内分泌器官であり、特に内臓脂肪組織は摂食やエネルギー代謝の調節、そして動脈硬化性疾患の発症と密接に関連していることが明らかになった。脂肪が蓄積した状態である肥満は、アディポサイトカイン分泌など脂肪組織の性質を変化させ、高血圧、耐糖能異常（糖尿病）、高脂血症の集積、いわゆるメタボリックシンドロームを惹起し、最終的には心筋梗塞や脳梗塞といった動脈硬化性疾患の発症に至る。以前より、一部の血中アディポサイトカイン濃度には明確な日内リズムが存在し、その日内リズムは肥満により減弱することが知られていた。そこで筆者（安藤）らは、肥満糖尿病モデルマウスの内臓脂肪組織における時計遺伝子発現を調べ、肥満糖尿病が重度になるほどアディポサイトカイン遺伝子の発現リズムが減弱・消失するとともに時計遺伝子の振幅も減弱することを見出した。榛葉先生のグループは、時計遺伝子の本体ともいえるBMAL1と脂肪細胞分化との関連をin vitroにおいて詳細に検討され、脂肪細胞の分化誘導時にはBMAL1が増加すること、BMAL1の機能を欠損した場合には脂肪細胞が分化しないことを明らかにされた。また、BMAL1がSREBP-1などの脂質代謝制御転写因子やそれらの標的因子である脂質代謝酵素群の発現調節に関与している可能性を示された。さらに、BMAL1により負に制御されるアディポサイトカインも見出したとのことである。これらの事実は、内臓脂肪組織の日内リズム異常がメタボリックシンドロームの発症・進展に深く関与することを強く示唆するものであり、糖尿病や心筋梗塞などの疾患を適切に治療・予防するためには日内リズムを正常に戻す・保つ治療法が望ましいと考えられる。現在のところ、如何なる治療法（食事療法、運動療法、薬物療法、それぞれの内容および治療時刻）が日内リズムを是正し得るのかは不明であり、これから臨床データを蓄積していく必要がある。

続いての演題は大阪府立成人病センター外科・矢野雅彦先生の『中心静脈栄養投与が体内時計に及ぼす影響とその意義に関する検討』であった。中心静脈栄養（以前はIVHと呼んでいたが最近ではTPNと言う）とは、十分な栄養（カロリー）が必要であるにもかかわらず経口摂取（経腸栄養）ができない、あるいは不十分な状態の患者に対し、高カロリーの輸液を継続して行う方法である。TPN製剤は末梢から投与する輸液に比べて3~6倍も高濃度であり、静脈炎をおこさないためには十分に太い心臓近くの大静脈内にカテーテルを留置し投与する必要がある。

TPN製剤は高濃度の栄養素と比較的大量の水分からなるため、24時間かけてゆっくりと投与するのが一般的であり（他にもカテーテルの閉塞予防や感染予防のために持続投与を行うと新人の頃に先輩医師や看護師に教えられた）、筆者もそれが当たり前だと思ってこれまでTPNを使用してきた。しかしながら考えてみると、24時間継続してカロリーや水分を取り続ける状態は、生体にとって極めて非生理的な状態である。矢野先生のグループはその点に着目し、ラットを用いてTPNを24時間持続投与した場合と活動期または安静期の12時間のみに投与した場合の肝時計遺伝子発現や血中グルココルチコイド濃度の日内変動におよぼす影響を検討した。その結果、TPNを活動期のみに投与した場合にのみ自由摂食時と同様の肝DBP発現リズム（位相・振幅）を認め、グルココルチコイドの日内変動も認められた。また、興味深いことに、TPNの成分であるブドウ糖、アミノ酸、生理食塩水のいずれの投与によってもPer2の位相が変位し、視交叉上核ではブドウ糖の、肝ではアミノ酸の影響が最もTPNの及ぼす影響に近かった。TPN施行中には肝障害等の合併症を生じることがあるが、TPNを24時間持続投与ではなく間欠投与にすることにより合併症の頻度が低下するとの報告もあり、生体リズムの面からはヒトにおいても日中のみTPNを投与するのがよいと考えられる。今後は臨床においてTPN日中投与の利点および欠点を詳細に検討し、適応を明確にする必要がある。

最後の演題は九州大学薬学研究院・大戸茂弘先生より『体内時計の分子機構を基盤にした時間薬物送達方法の開発』についてご講演いただいた。まず、化学療法（いわゆる抗がん剤治療）を中心に、十分な薬効を得る（あるいは有害反応を減らす）ためには薬物活性（薬物の標的分子）の日内リズムに考慮した時間治療が重要であることを示す研究結果が報

告された。さらに、単に生体リズムに合わせた時刻に治療を行うだけではなく、積極的に生体リズムを操作することにより治療を最適にする方法が示された。例えば、腫瘍を移植したマウスを用い、DNA合成阻害薬であるヒドロキシカルバミド・塩酸イリノテカン併用療法の時間治療の可能性を検討したところ、ヒドロキシカルバミド投与により腫瘍組織と正常組織のDNA合成リズム（細胞周期）を解離させた至適時刻に塩酸イリノテカンを投与することによって、塩酸イリノテカンの抗腫瘍効果を増強し有害反応（体重減少）を減弱させることが可能であった。生体リズムの操作は、化学療法以外にも様々な病態で考慮されるべき「これからの新しい治療法」であると考えられる。すなわち、現代の不規則な生活が生体リズムを狂わせ、それがメタボリックシンドロームや癌などのいわゆる生活習慣病の発症につながったとしても、現代人に生活を規則正しく改めさせることは現実的でないからである。TPNの間欠療法にしても、十分なカロリーを12時間で投与するのが困難な場合が少なくない。したがって、今後は生体リズムに合わせた治療法のみならず積極的に生体リズムを操作し是正する治療法の開発も行っていく必要がある。

以上、ワークショップ「投薬時刻と時計」の各演題について簡単に述べさせていただいた。いずれの先生方にも豊富な内容を解かりやすく詳細にご講演いただき、生体リズムを考慮した治療の重要性を再認識することができた。時間治療学の歴史は浅くないが、その本質である生体リズムの分子レベルでの解析はまだまだ始まったばかりである。特に、臨床における解析結果はほとんどないのが現状である。一日も早く、様々な病態や治療における体内時計の重要性が臨床的に明らかとなり、時間治療のブレークスルーが訪れることを願う。

第12回日本時間生物学会 ワークショップ4「睡眠リズムと発達」総括

海老澤 尚

東京大学大学院医学系研究科睡眠障害解析学

2005年11月24、24日にエポカルつくばで第12回日本時間生物学会が開かれた。久しぶりのつくばだっ

たが、その変わりように驚きを覚えた。秋葉原からつくば駅までつくばエクスプレスで約50分という便

利さ、揺れの少ない列車の快適さも勿論だが、駅前
は広々としてしゃれた店が立ち並び、さながらヨー
ロッパの学園都市のようであった。

このワークショップは学会最終日2日目の午後2
時半から5時まで開かれた。学会最後の時間帯だ
ったこともあり、参加者の数が心配されたが、最後
まで座席がほとんど埋まり、この分野への関心の強
さが印象的だった。睡眠覚醒リズムがヒトの発達・健
康にどのような影響を与えるかという観点で活発な
発表が続いた。

東北大学の木村芳孝氏は、ヒトの胎児のリズムに
ついての研究成果を発表した。自律神経系の活動指
標である心拍変動の周波数帯域(LF領域)を用いて
正常ヒト胎児、妊娠36週の子宮内発育遅延、妊娠30
-32週の子宮内発育遅延、低酸素血症を伴う子宮内
発育遅延の各胎児の概日周期を調べた。低酸素群以
外の全群に概日周期が見られること、正常群のほう
が発育遅延群に比べて概日周期の振幅が大きいこと
が示された。また、周波数解析では低酸素群以外の
胎児では12時間周期の変動が強く見られ、これは母
体にも見られなかった。これにより、胎児固有のウ
ルトラディアンリズムが存在することが示された。

東北大学の太田英伸氏は、恒明環境がマウス新生
仔の生体時計に与える影響を発表した。*Per1* 遺伝
子プロモーターの制御下で*GFP* 遺伝子を発現する
トランスジェニックマウスを確立し、そのマウスを
恒明条件下で飼育すると、1) 活動リズムが消失す
る個体や、2) 1日に2回の活動リズムを繰り返す
個体が現れた。視交叉上核の個々の神経細胞のリ
ズムを*GFP* を使って観察すると、1) では各神経細胞
の概日リズムの位相がまちまちで、2) では、左右
の視交叉上核の細胞で概日リズムの位相が逆にな
っていた。この体内時計の乱れは、成体と比較し新
生仔マウスでより高率に認められた。これは、新生
仔室などでは従来用いられていた恒明条件より、明
暗条件の方が新生仔の発達にとって適切であることを
意味する。

次に、早稲田大学の若月由香子氏が、*Clock*
mutant マウスを用いて発達期の光環境がリズムに
与える影響を調べた結果を報告した。*Clock*
mutant マウスを恒明条件下で飼育した場合には
83%という高い確率で睡眠相後退症候群と同様の
リズム異常を生じることが判明した。明暗環境では
10%、恒暗環境では47%に過ぎなかった。また、野
生型のマウスでは、いずれの条件下でもリズム異常
は示さなかった。成熟*Clock mutant* マウスを恒明

条件下で飼育しても、発達期の場合に比べてリズム
異常の発症率は少なかった。これは、概日リズム睡
眠障害が、遺伝的負因の上に環境因が重なると疾患
の発症にいたるという、経験的に信じられてきた現
象を、動物実験によって客観的に確認した大変興味
深い仕事である。

国立精神神経センターの内山氏は、長期にわたる
概日リズム睡眠障害の臨床研究の成果を網羅的に紹
介した。睡眠相後退症候群(DSPS)や非24時間睡眠
覚醒症候群(N-24)では、高照度光療法やメラト
ニン投与、睡眠薬の投与で改善する症例が多いが、難
治例も存在することを示した。発症の原因として、
光による同調不全、内因性周期の異常、睡眠恒常性
の維持の障害などを挙げた。視覚障害により、体内
時計を調整する光刺激を受けられずに発症する概日
リズム睡眠障害もあるが、視覚障害のない症例も多
く、視覚障害のない例では12-20歳が好発年齢であ
ることも示した。また、素因と環境の両方が関与し
ていることも示した。概日リズム障害では体温リ
ズムやメラトニン分泌リズムと比較し、睡眠覚醒リ
ズムが遅れており、このため、光により体内時計の位
相を前進させられる時間帯に光を浴びることができ
ず、睡眠の位相が後退するのではないかと報告した。

海老澤は、睡眠覚醒リズム障害について現在まで
に明らかになった時計遺伝子多型について総括した。
Per2/3、*Casein kinase1 delta/epsilon* 遺伝子から、
概日リズム睡眠障害の発症に関わる多型が見つかっ
ているが、いずれも時計蛋白のリン酸化に関わる多
型であり、概日リズムの維持におけるリン酸化の重
要性がうかがわれた。*Casein kinase1 epsilon* の多
型は自己リン酸化部位と推測される408番目のセリ
ンがグリシンに変化する多型で、その多型により酵
素活性が上昇することが示された。このため、PER
蛋白などの時計蛋白が強くリン酸化を受け、概日リ
ズム睡眠障害の発症に影響すると考えられると報告
した。

以上、ヒトの概日リズムは胎児のときから存在し、
発達期の明暗環境がその後の体内時計の形成に重要
であること、概日リズム障害の多くは環境と素因の
相互作用によって生じられることなどが客観的
データによって示された。体内時計研究の成果が
実地に役立つ時期に来ていると感じた。今後は社会
に向かってこれらの研究成果を伝え、体内時計を考
慮した生活環境・明暗環境が健康維持に重要である
ことを訴えていく必要があると痛感した。

第12回日本時間生物学会 シンポジウムA「体内時計のモデル生物」印象記

原田哲夫

高知大学教育学部環境生理学研究室

神戸大学の竹田真木生氏と世話人を務めさせて頂いた本シンポジウムは、本大会会長石田直理雄氏曰く、「オタクシンポジウム」の側面があった。ここ5年くらいで急速に明らかとなってきたのは、概日時計振動体の分子メカニズム、すなわち、「どのようなしくみで、時計遺伝子の発現が約24時間のサイクルで増えたり減ったりと定期的に振動するのか？」である。その概要は本大会でも何回となくカラフルなスライドで、かなり具体的に様々な講演者が発表のイントロのところで示していた。個体レベルが中心の泥臭い生理・生態学を続けている筆者にとって非常に興味深いのは、この時計遺伝子発現の概日振動が細胞、組織、器官そして個体レベルでの概日リズムや竹田氏が積極的に取り組んでいる光周性の発現機構、さらには集団レベルの現象や自然選択・進化などにどのように結びついてくるのか？である。そうならば、分子生物学の蓄積が圧倒的に多い、ラット・マウスやショウジョウバエ以外の様々な動物の出番があるはずである。なぜなら、それぞれの生き物の環境に適応すべく、さまざまに個性的な個体レベルでの概日振動や光周性などが存在するからである。それらの動物がモデル生物となれば、時計遺伝子の24時間振動と個体レベルの現象の間の様々なブラックボックスが解明されるかもしれない。

そのようなことを考えているうちに、典型的なモデル生物、トランスジェニックマウスを使った研究を宮崎歴氏が紹介した。核移行シグナルの塩基配列を欠損した変異型PER2はCRYを結合したまま、細胞質にとどまって核への移行が遅れ、そのために負のフィードバックループに時間がかかって約25時間の長周期になるという話であった。超夜型の人間の中に長周期概日時計を持つ場合が考えられるが、そのような長周期時計を持った人間のPERにも核移行シグナル関係塩基配列が欠損しているのだろうか。続いて、「カイコオタク」の竹田氏が、休眠の光周期反応への概日時計の関与を解明すべく、ショウジョウ

バエ時計関連遺伝子のホモログ6つを徹底的に調べ紹介した。脳内でのこれらのホモログの分布を見て驚いたのは、6つ全てが発現している神経細胞が存在したり、休眠ホルモン（光周期によって制御される）が生産される食道下神経節にも時計遺伝子は発現していたことである。将来、脳間部にある概日時計の“コア振動体”と、食道下神経節にある“もう一つの振動体”との関係、そして、光周期情報がどこでどのように処理されているのかなど、今後楽しみながら研究と拝察した。次は“ミバエオタク”の宮竹貴久氏の登場である。氏はウリミバエの発育期間と概日時計の周期長の間に遺伝的関係があることを突き止めた。つまり、何らかの自然選択が発育期間に起これば、それに伴って交尾時刻が著しく変化するのである。交尾時刻の変化は生殖的隔離を意味するので、種内で複数の異質遺伝的集団を生み出す可能性がある。時計遺伝子の概日振動機構と発育速度や脱皮のタイミングを決める機構との間にどのような分子レベルでの具体的関係があるのだろうか？ 4人目は“アメンボオタク”である筆者である。困ったことに筆者だけが今回“概日時計”の研究実績がない。その代わりアメンボ科昆虫の季節適応に関連して、光周性やその温暖化に伴う変化などを紹介した。あるカタピロアメンボ科昆虫の太陽コンパスの振れ幅が日長によって変化し、太陽の軌道幅の変化に合わせて補正するというBirukov (1957) の仕事を見ると、アメンボの仲間にも、概日時計と光周性の間の機能的関係が疑われる。今後の分子レベルでの概日時計研究と個体レベルでの行動リズム研究の展開が期待される。モデル生物としてのアメンボ類は、豊富な生態データと2次元の単純な生息場所＝水面によって、概日系の生態学的意義を考察するのに適している。最後は「ショウジョウバエ睡眠オタク」谷村禎一氏が、ショウジョウバエにも行動学的睡眠があり、しかも、ヒトでも日常経験する、カフェイン投与による睡眠抑制の現象を紹介した。氏はこれ

にとどまらず、カフェインの作用機構がアデノシン受容体を経由しているという、これまたヒトと共通する仕組みをつきとめたのである。140億個の神経細胞から出来ている脳を持つヒトと、10万から100万個程度の神経細胞からなる“脳”をもつショウジョウバエとでは、“睡眠”の質そのものが異なるに違いないが、谷村氏の話の話を聞いていると案外、基本的なしくみは同じで、例えばショウジョウバエが眠っているとき、昼間自動的に発火している脳の部分が、GABAなどを末端から分泌する抑制神経系の支配を

受けていたりするのかなどと空想してしまう。

今回のシンポジウムは典型的なモデル生物での時計分子機構の蓄積、成果を他の生物にも広げ、それぞれの生物の概日系や光周性などにおける“多様性”と結びつける将来を予感させる大変興味深いものであった。最後にこのようなシンポジウムの開催をご企画頂いた、本大会会長：石田直理雄先生、抄録集のまとめや講演順の調整などいろいろとお世話になった、大石勝隆先生にシンポジスト一同、厚く感謝・御礼申し上げる。