

## 目次

巻頭言	2
NSF 時間生物学センター2大教授の比較教授学	9
視交叉上核におけるリズム発振と同調の分子機構	22
視交叉上核のリズム発現と細胞間カップリング	33
生物時計の同期メカニズム	43
第5回日本時間生物学会学術大会の開催の御案内	50
運営委員選挙管理委員会からのお知らせ	51
第4回日本時間生物学会学会報告	52
日本時間生物学会ホームページのご案内	53
学会会則変更	58
第4回運営委員会報告	59
第4回総会議題	60
登録変更	61
事務局より	62
新入会員	63
97年度会計報告	65

## 巻頭言

視交叉上核 1998

井上慎一  
山口大学理学部自然情報科学科

### 視交叉上核25周年

昨年1997年は、視交叉上核を破壊するとリズムが無くなることを Stephan and Zucker、それに Moore and Eichler が報告してちょうど25年目に当たった。この Silver Anniversary を記念して、Center for Biological Timing と Harvard University がボストンでシンポジウムを開いた。

視交叉上核が発見され、解明が進んだこの25年の間に節目になった論文(Milestone Papers)11を選定し、その著者達が昔の研究のアイデアがどこから来たのか、どこで苦労したのか、何がきっかけでその問題を解決できたのか、その仕事の意義は何だったのか、いわば今だから話せる、という内容をユーモアと教訓を織り交ぜて、話した。Mike Lehman はギターを弾き、Rae Silver は SCN を歌い込んだ替え歌を披露したり、実験を直接行った当時のポストドックとラストオーサーのボスがそれぞれの立場から自分の仕事を振り返ったり、とてもユニークなシンポジウムであった。この会を組織した Steve Reppert と Chuck Czeisler が選定した、視交叉上核に関する11の論文のリストとは次のようなものであった。この選定にはいろいろ意見があると思うが、私にとっては自分の生きてきた25年の時間を思い起こさせるものばかりであった。本格的に視交叉上核について仕事をしようと思う方は目を通されたら得るものが多いと思う。

### The Eleven Papers of the SCN

- Moore, R. Y. and Eichler, V. B. (1972) Loss of circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic nucleus lesion in the rat. *Brain Res.* 42:201-206.
- Stephan, F. K. and Zucker, I. (1972) Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity are eliminated by suprachiasmatic lesions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 54:1521-1527.
- Rusak, B. (1977) The role of the suprachiasmatic nuclei in the generation of circadian rhythms in the golden hamster, *Mesocricetus auratus*. *J. Comp. Physiol.* 118:145-164.
- Schwartz, W. J. and Gainer, H. (1977) Suprachiasmatic nucleus: use of <sup>14</sup>C-labeled deoxyglucose uptake as a functional marker. *Science* 197:1089-1091.
- Inouye, S.-I. T. and Kawamura, H. (1979) Persistence of circadian rhythmicity in a hypothalamic 'island' containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76:5962-5966.
- Prosser, R. A. and Gillette, M. U. (1989) The mammalian circadian clock in the suprachiasmatic nuclei is reset in vitro by cAMP. *J. Neurosci.* 9:1073-1081.
- Reppert, S. M. and Schwartz, W. J. (1983) Maternal coordination of the fetal biological clock in utero. *Science* 220:969-971.

- Lehman, M. N., Silver, R., Gladstone, W. R., Kahn, R. M., Gibson, M. and Bittman, E. L. (1987) Circadian rhythmicity restored by neural transplant. Immunocytochemical characterization of the graft and its integration with the host brain. *J. Neurosci.* 7:1626-1638.
- Ralph, M. R., Foster, R. G., Davis, F. C. and Menaker, M. (1990) Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* 247:975-978.
- Vitaterna, M. H., King, D. P., Chang, A.-M., Kornhauser, J. M., Lowrey, P. L., McDonald, J. D., Dove, W. F., Pinto, L. H., Turek, F. W. and Takahashi, J. S. (1994) Mutagenesis and mapping of a mouse gene, *clock*, essential for circadian behavior. *Science* 264:719-725.
- Welsh, D. K., Logothetis, D. E., Meister, M. and Reppert, S. M. (1995) Individual Neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neurons* 14:697-706.

### 遺伝子フェーズ元年

この特集号はちょうど25周年に符合して企画されたのであるが、その年は図らずも、視交叉上核の研究が大きく飛躍し、次のフェーズに突入する最初の年でもあった。もし25年後に、視交叉上核発見の Gold Anniversary が企画されるとすれば、それに招待されるに違いないような論文がいくつか刊行された。視交叉上核で発現する時計遺伝子がたて続けに見つけられたのである。Joe Takahashi がついに *Clock* 遺伝子をクローニングした論文(Antoch, et al. 1997, King, et al 1997)を皮切りに、Tei(Tei, et al, 1997)と Sun(Sun, et al., 1997)の2グループが一日単位で先陣争いを繰り広げた、マウスにおける *Drosophila* Period 相同遺伝子 *mPer1* の発見、続いて *mPer1* の光応答(Shigeyoshi, et al.,1997, Albrecht, et al.,1997, Shearman, et al., 1997 ), さらに、少なくとも3グループが胃の痛くなるような競争を繰り広げた *mPer2* の発見(Takumi, et al., 1998, Albrecht, et al.,1997, Shearman, et al., 1997 )が行われた。今、間違いなく *mPer3*, *mPer4* の競争が日夜を分かたず、続けられている。

この激しい競争は視交叉上核研究をサイエンスの中でもメジャーな領域に引き上げた。その証拠に世界の大新聞が *Clock* の話を載せ、また Period 遺伝子の論文は *Science*, *Nature*, *Cell* といったノーベル賞をたくさん出した雑誌に掲載された(Hall, 1997, Takahashi, 1995, Sassone-Corsi, 1997, Reppert and Sauman, 1995, Reppert and Weaver, 1997)。今や、視交叉上核研究は脳と行動を対象とする研究分野の中でもっとも華やかな脚光を浴びているものの一つである。

### 生理学の休息

視交叉上核の分子生物学が著しく脚光を浴びている陰で、今まで視交叉上核研究の主役だった解剖学、生理学は一休みを余儀なくされている。視交叉上核の分子生物学が一段落すれば、いずれは、生理レベルの研究が進むことになるかと私は期待しているが、それは生理レベルで研究してきたもののひがみかもしれない。しかし、最近の分子生物学の進歩に置き去りにされた者は、今こそ5年、10年先を見通して、その時必要になる技術や考え方を準備しておかなければならない。そのことは、今の分子生物学の進展をもたらした Joe Takahashi や Steve Reppert のことを思いだしてみれば明らかである。Joe は動物行動学をバックグラウンドにして、とりの視交叉上核を破壊することからこの分野の研究を始めた。それが Northwestern に研究室を作ってから、次第に薬理学から分子生物学の勉強を初歩から始めた。*Clock* のクローニングに難渋しているころには、Joe にクローニングができるかという、周囲の声も強かったが、自分でも新しい分子生物学をよく勉強し、若い人を叱咤して、マウスの遺伝学を1

歩進めるような成果を挙げた。Steve はもともと小児科医で、血中のバソプレシンを測定する仕事から出発し、すでに大きな仕事をしていたにもかかわらず、ハーバードの別の教室に通って、分子生物学を学んだ。その後、研究室を分子生物に完全に衣替えし、今日の *Clock*, *Period* の研究を進める主要な力となった。

それは、不断の努力と今の研究の先を見通す確信に裏打ちされた優れた科学者の直感であろうと思う。この特集号を読んでくださる読者の皆さんも、ここから、視交叉上核研究の先を見通す確信をつかんでいただければ、と思っている。

## 視交叉上核研究の今後の課題

ここに述べるのは私の狭い知識から考えてこれから重要と思われる課題を列挙したものである。おそらくこれらは誰でも考えることであるから、ここに載っていないことこそ、多分大事なことなのだと考えて読んでいただきたい。

### 遺伝子レベルの課題

Per のミュータント、ノックアウトマウス

*clock* 遺伝子にミューテーションが入ると自由継続周期が異常に長くなることが証明されているが、*mPer* ファミリーに関してはそのような動物はまだ作られていない。おそらく *Per* のノックアウト動物を作ることが現在もっとも苛烈な競争が繰り広げられている実験であろう。*mPer* にミューテーションを導入された動物は自由継続周期が大きく異なっているのか？ Allele に依ってはリズムを失ったものが生じるのだろうか？この動物では、他の遺伝子や蛋白はどんな影響を受けているのだろうか。これらの疑問は数ヶ月の内に答えられるであろう。それは、もしかしたら明日のことかもしれないほど進歩が早い。

時計遺伝子はいくつあるのか

視交叉上核のリズムに本質的な役割を果たしている遺伝子はいくつあるのだろうか？ *Neurospora* では *Frequency* と *White Collar* (Dunlap, 1996, Crossthwaite et al., 1997)、*Drosophila* では *Period* と *Timeless* (Sehgal, 1995)、それに最近、*DoubleTime* というのがあることがわかっている。マウスではすでに *Clock* がクローニングされ、*Period* 相同遺伝子として *mPer1*, *mPer2* が見つかり、まだ *mPer3*, *mPer4* の存在が知られ、さらにあるだろうと多くの人が予想しているような状態である。*mPer* が本当にペースメーカーの分子機構に組み込まれた時計遺伝子かどうかはまだノックアウトの実験が行われていないので、証明されてはいない。多分、そうであろうという状況証拠は、視交叉上核に強く発現し、しかも発現量は一日の時刻に強く依存し、位相変位を引き起こす時間、すなわち夜の光に反応して発現が誘導されることなど、十分にある。

マウスではまだみつかっていない *Drosophila* の *Timeless* に相同の遺伝子は存在しているのだろうか？この辺のことも、今多くの人が取り組んでいる問題に違いない。

相互作用

沢山の遺伝子が視交叉上核のペースメーカーを構成しているとしたら、その相互作用、機能の分担はどのようなものなのだろうか。すでに明らかにされたように *mPer* ファミリーでも *mPer1* と *mPer2* ではその発現がピークになる時刻がずれている事は、24時間全体をカバーしてその時々で位相を進める役割を分担しているそれぞれの遺伝子があることを示唆しているのだろうか？

*Clock* 遺伝子の発現は視交叉上核で日周変化していない事がわかっているが、この遺伝子の中に組

み込まれたミューテーションはリズムの周期を狂わせる。その機構として CLOCK タンパクが *mPer* と、PAS ドメインを介して相互作用する事が想像されているが、本当であろうか？例えば、*Drosophila* の場合は *Per* は PAS ドメインを持たない *Tim* と二量体を作る (Sehgal, et al., 1995)。

#### 時計以外の機能

*Clock* も *Period* も視交叉上核に強い発現が見られるが、この遺伝子は身体の、リズムとは何も関係ないと思われるところでも発現している。このようなところで発現する時計遺伝子は同じ遺伝子でありながら、リズムとは違った機能を担っているのだろうか？

### 細胞内のレベルでの課題

#### タンパクのリズム

現在までのところ、*mPer* 遺伝子の産物については何も知られていない。タンパクを認識する抗体を作ることにもまだだれも成功していないからで、これも間違いなく苛烈な競争の舞台となっている。*mPer1* と *mPer2* の産物タンパクのリズムは in situ hybridization で見つけられた mRNA のリズムの位相とどれだけ遅れているのだろうか？遅れが見つかれば、フィードバックループの存在が予想されることになる。このタンパクは post transcriptional に制御されている分子多型がみられるのだろうか？他の時計遺伝子で言われるような時刻によるリン酸化の違いがあるのだろうか？

#### タンパクの核移行

*Drosophila* では *Per* と *Timeless* が細胞質で増え、それが二量体を作ってリズムの特定の位相で (CT17~19) 核に移行することがリズム生成のキーになる現象ではないかといわれている (Sehgal, et al. 1995)。同じように *mPer* が特定の位相で核に移行するのか？これは遺伝子のフィードバックループがリズム生成の一般様式であるかどうかを検証する重要な実験であり、良い抗体を使って、細胞内の局在を調べれば直接検証できるはずである。

### 細胞間相互作用の課題

視交叉上核細胞一個一個にリズムを生成するペースメーカーがあるのか？それは全部の細胞にあるのか、一部の細胞なのか？沢山のペースメーカーがあるとするとその同調を保証している機構は何か？これらもまだ未解決な問題である。

この問題は本特集号では議論の焦点になっている (本間、篠原、山崎論文参照) ので、項目だけをあげ、ここでは触れない。

#### グリア細胞

#### Welsh の実験の解釈

#### Gap Junction

### システムレベルでの課題

#### 眼のオッシレーター

哺乳動物においても網膜に自律的オッシレーターがあることが示されている (Tosini, and Menaker 1996)。この眼のオッシレーターは眼のリズムを支配しているだけで、他の個体の行動などは視交叉上核が支配していると言われるが、それならば、いったいどのような意味があるのだろうか？これは生理的状态でも何か役割を果たしているのだろうか？

### 網膜のサーカディアンリセプター

リズムを明暗サイクルに同調させるために特別に分化した光受容細胞が存在しているのではないか、という可能性がだんだん大きくなりつつある(Foster, et al., 1991)。もしそれが本当であれば、どんな分子、細胞機構が働いているのか？特にその視物質は何か、以上のような実験も大変重要な研究方向である。

### アウトプット信号

視交叉上核で作られたリズムの信号を何が脳内全体に運んでいるのか？これに関しては視交叉上核の移植実験から、いろいろな見解が出された。特に Rae Silver たちのキャプセルに視交叉上核組織片を入れて移植してもリズムが回復する結果 (Silver, et al., 1996) が報告され、液性因子の関与が主張されている。この役割、全体像はまだ漠然としていて、正確には把握されていない。Rae の主張が正しいとして、前から知られている神経連絡を介するアウトプットとはどのような関係にあるのだろうか？。

## 進化と保存性のレベルでの課題

### *frq, kai, timeless*

サーカディアンリズムを担っている細胞は視交叉上核、網膜、松果体と三カ所に分かれている。しかし、光によって位相反応するとか、温度補償が働いているとか、フォーマルな性質は Colin Pittendrigh が示したように(Pittendrigh, 1981, Pittendrigh, 1981)、全ての生物で共通である。これから、どこかのレベルでは共通のメカニズムを持っていることが予想されてきた。それにもかかわらず、ペースメーカーの分子、遺伝子レベルまで明らかになりつつある現在も、何がサーカディアンリズムの共通のベースなのか、まだ明らかではない。PAS ドメインが共通な時計遺伝子の特徴であることが強調されているが、Per 遺伝子が *Moth* では *Drosophila* と全然違う機構でリズムを作っているという話もある。*Neurospora* の *Frq* も *Drosophila* の *timeless* も PAS ドメインはない。*Cyanobacteria* でクローニングされた時計遺伝子群 *kaiABC* のコードするタンパクも PAS ドメインは持たず、他の生物で見つかっている *Frq*, *Per* との相同性は低い。

多くの研究者が予想している、あるいは期待しているように、全てのサーカディアンリズム細胞には PAS ドメインをコードする遺伝子がいくつかリズム的に発現し、それが相互作用した結果、特定の位相で核に移行し、そこで自らの遺伝子の発現を押さえるというフィードバックループが成立しているのだろうか？

### 温度補償性

*Frq* の温度補償性に関しては、温度によって同じ *Frq* 遺伝子から読み出される長さの違う二型のタンパクの比が変わるといふ、見事な説明が与えられている(Dunlap, 1996, Hall, 1997)。他にも複数の時計遺伝子産物の相互作用が温度に依存するとすれば温度補償が実現できるとする考えがある。*Drosophila* では PER:TIM 二量体形成を温度に依存する PER-PER 二量体が制御しているとするモデルが検討されている。恒温動物であるマウスで温度補償性にどんな意味があるのかわからないが、*mPer* でも同様な機構は保存されているのだろうか？

## 引用文献

Albrecht U, Sun ZS, Eichele G and Lee CC (1997) A differential response of two putative mammalian circadian regulators, *mPer1* and *mPer2*, to light. *Cell* 91:1055-1064.

- Antoch MP, Song E-J, Chang A-M, Vitaterna MH, Zhao Y, Wilsbacher LD, Sangoram AM, King DP, Pinto LH and Takahashi JS (1997) Functional identification of the mouse circadian *Clock* gene by transgenic BAC rescue. *Cell* 89:655-667.
- Crossthwaite S, Dunlap JC and Loros JJ (1997) *Neurospora wc-1* and *wc-2*: transcription, photoresponses, and the origins of circadian rhythmicity. *Science* 276:763-769.
- Dunlap JC (1996) Genetic and Molecular analysis of circadian rhythms. *Annual Review of Genetics* 30:579-601.
- Foster RG, Provencio I, Hudson D, Fiske S, De Grip W and Menaker M (1991) Circadian photoreception in the retinally degenerate mouse (*rd/rd*). *J. Comp. Physiol.* 169:39-50.
- Hall JC (1997) Circadian pacemakers blowing hot and cold - but they're clocks, not thermometers. *Cell* 90:9-12.
- King DP, Zhao Y, Sangoram AM, Wilsbacher LD, Tanaka M, Antoch MP, Steeves TDL, Vitaterna MH, Kornhauser JM, Lowrey PL, Turek FW and Takahashi JS (1997) Positional cloning of the mouse circadian *Clock* gene. *Cell*:641-653.
- Pittendrigh CS (1981) Circadian Systems: Entrainment. In *Biological Rhythms*, J. Aschoff,eds, pp 95-124. Plenum Press, New York.
- Pittendrigh CS (1981) Circadian Systems: General Perspective. In *Biological Rhythms*, J. Ashoff,eds, pp 57-80. Plenum Press, New York.
- Reppert SM and Sauman I(1995) period and timeless tango: A dance of two clock genes. *Neuron* 15:983-986.
- Reppert SM and Weaver DR (1997) Forward genetic approach strikes gold: Cloning of a mammalian *Clock* gene. *Cell* 89:487-490.
- Sassone-Corsi P (1997) PERpetuating the PAST. *Nature* 389:443-444.
- Sehgal A (1995) Genetic dissection of the circadian clock: a timeless story. *Seminars in the Neurosciences* 7:27-35.
- Sehgal A, Rothenfluh-Hilfiker A, Hunter-Ensor M, Chen Y, Myers MP and Young MW (1995) Rhythmic expression of *timeless*: A basis for promoting circadian cycles in period gene autoregulation. *Science* 270:808-810.
- Shearman LP, Zylka MJ, Weaver DR, Kolakowski LFJ and Reppert SM (1997) Two Period homologs: Circadian expression and photic regulation in the suprachiasmatic nucleus. *Neuron* 19:1261-1269.
- Shigeyoshi Y, Taguchi K, Yamamoto S, Tekekida S, Yan L, Tei H, Moriya T, Shibata S, Loros JJ, Dunlap JC and Okamura H (1997) Light-induced resetting of a mammalian circadian clock is associated with rapid induction of the *mPer1* transcript. *Cell* 91:1043-1053.
- Silver R, LeSauter J, Tresco PA and Lehman MN (1996) A diffusible coupling signal from the transplanted suprachiasmatic nucleus controlling circadian locomotor rhythms. *Nature* 382:810-813.
- Sun Zs, Albrecht U, Zhuchenko O, Bailey J, Eichele G and Lee CC (1997) RIGUI, a putative mammalian ortholog of the *Drosophila period* gene. *Cell* 90:1003-1011.
- Takahashi JS (1995) Molecular neurobiology and genetics of circadian rhythms in mammals. *Ann. Rev.*

Neurosci. 18:531-553.

Takumi T, Matsubara C, Shigeyoshi Y, Taguchi K, Yagita K, Maebayashi Y, Sakakida Y, Okamura K, Takashima N and Okamura H (1998) A new mammalian period gene predominantly expressed in the suprachiasmatic nucleus. *From Gene to Cells* In Press.

Tei H, Okamura H, Shigeyoshi Y, Fukuhara C, Ozawa R, Hirose M and Sakaki Y (1997) Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila period* gene. *Nature* 389:512-516.

Tosini G and Menaker M (1996) Circadian rhythms in cultured mammalian retina. *Science* 272:419-421.

## NSF 時間生物学センター2大教授の比較教授学

山崎 晋

バージニア大学生物学部

本稿はSCN特集号の中でかなり異色であることを承知して、あえてこのテーマを選んだのは、アメリカのサーカディアンリズム研究の中心的存在である時間生物学センターがどういった研究を行っているか(または行おうとしているか)を伝える事が、私がSCNの総説を書くよりも読者の方にSCN研究(サーカディアンリズム研究)の現状を知ってもらえるのではないかと思ったからである。しかし、いざ書き出してみると、話はわき道にそれがちで、本稿がSCNの総説としての役割をほとんど果たしていないことに気がついた。そこで本稿の最後に、SCN研究で私自身が興味を持っている問題を取り上げた。

現在、私は NSF 時間生物学センターで、Michael Menaker (Mike)、Gene D. Block (Gene) 両教授のもとで、自由行動下のハムスターの脳のいろいろな部位から電気活動のリズムを長期記録し、そこに含まれる複数周波数成分を解析するといった研究をしている。In vitroの系がSCN研究の主流となっている中で、あえてこの方法を選んだのは、SCN(サーカディアンペースメーカー)がどのようにして活動リズムをコントロールしているか、SCNがどのようにして光などの環境情報を受け取りそれらに同調しているか、を知るのには、インタクトの状態をモニターすることが一番近道であると思ったからである。さらには、この方法で、SCNに存在する複数ペースメーカー間の相互作用も知ることができると思っている。もともと、このテクニックは、三菱化成生命科学研究所で井上慎一先生(現:山口大学)がラットのSCNがサーカディアンオシレーターであることを示す実験で開発した(Inouye and Kawamura 1979, 1982)。その後、残念ながらだれもこの方法を受け継いでおらず、ごく最近、オランダのJ. Meijerのグループが試みただけである(Meijer et al., 1996, 1997)。私は、井上先

生のもとでポスドクとして1年間ほど過ごしたが、その当時はすでにこの研究は続けられておらず、SCNの細胞内伝達物質や神経伝達物質のサーカディアン変動を調べる実験を行っていた(Yamazaki et al., 1994a, b)。それでも、私は電気生理が好きであったため、日頃から井上先生から苦労話や細かなテクニックを聞いており、またすっかり実験室の片隅に追いやられてしまったかつて活躍していた電気生理の機械(パルスカウンタからはSCNからであろうきれいな周期的な電気活動を示した紙が半分出たままになっていた)を眺めては当時行われていたであろう実験光景をあれこれと勝手に想像していたものである。こちらへ来て、実験をセットアップする際にも井上先生から詳しい情報を教えて頂いたもので、自分で一から始めるよりもずっと早くできた。それでも、アメリカにはこの実験に適した既製のアンプがなく自分で作らなければならなかったこと、ハムスターはラットとあらゆる面で少しずつ違い、ラットのテクニックをそのまま使えなかったこと、輪回し活動も同時記録したかったので、頭に置いたアンプにワイヤーがつながっているハムスターが回し車に自由に出入りできる工夫をしなければならなかったことなどから、安定した記録が取れ始めるのに2年間もかかってしまった。その間、井上先生から、「たとえ今、きれいなリズムが記録できなくとも続けていれば必ず取れるようになる」と、先生自らの経験に基づく励ましの言葉を頂いた。

こちらへ来た時、私の給料は、Russell G. Fosterのグラントから支払われていたが(山崎, 1995)、来て1年が過ぎた時点でRussellがイギリスに帰ることが決まり、グラントが継続できない(つまり私の給料が支払われない)という事態が生じた。給料の支払いがないとJ-1ビザでは違法滞在になってしまうので、

私は日本へ帰国するか他の給料を保証してくれる場所への移動を考えなければならなくなった。Mike はちょうどグラントの切れ目で、私の給料を保証できないから、積極的に他を探せということとなり、いろいろあたってみたところ、カナダの Ben Rusak とドイツの Ebo Gwinner から好意的な返事を頂き、積極的な話し合いを進めた。しかし、他へ移るとなるとこちらで手がけたことを結果も出さずに捨ててしまわなければならない。そんな時、Gene が私のテクニックと出始めていた結果に興味を示してくれた。また、それは新しく申請するグラントの内容に相当ではないかと言ひ、Mike と話し合っ2人でグラントの残りを出し合っ、とりあえずなんとか3カ月ずつ給料を延長して、その間にグラントを申請して、それが通ったら3年間の給料を保証するといった条件を提示してくれた。しかし、グラントが取れる保証はないし、3カ月ごとの延長は決して好条件とは言えないので、私が他へ移動するならそちらを選んでも構わないとの事だった。厳しい決断を余儀なくされたが、この研究を続けるためにこちらに留まることを選んだ。どうやら私は正しい選択をしたようで、グラントも無事にとれ、私の給料は40%アップしたうえに3年間保証された。そのおかげで、ハムスターの輪回し行動が SCN の電気活動に影響を及ぼすこと(Yamazaki et al., 1996a)、SCN の出力系の一部を明らかにできたこと(Yamazaki et al., 1997)、SCN のサーカディアンリズムはタウミューテーション(活動リズムが20時間になる突然変異)の影響を受けるが、SCN のウルトラディアンリズムは受けない(Yamazaki et al., 1996b)などの結果を示すことができた。しかし、私の立場は複雑になり、給料は Gene が出して、スペースは Mike が提供してと、両ラボに所属している形となった。また、大規模なプロジェクトの拡大となり、今まで自分のペースで実験していたことが、ポストドク、学生、テクニシャンの参加によって出来なくなり、彼らのペースにこちらが合わせなければならなくなった。いわゆる”中間管理職”となってしまった。実験が早く進む反面、人間関係のトラブルも増えた。両方のラボミーティングにも出席しなければならなかつ

たり、新しい実験を始めるときや、学会発表の内容なども、2人のポスト話し合わなければならなかつたりと(しかも、両者ともにとても忙しく3人で一緒に話し合いをすることは不可能)いろいろ不都合なことも増えた。しかし、Mike と Gene に接して両者からそれぞれ全く違ったやり方のサイエンスを学ぶことが出来た。しかも、両者ともに、サーカディアンリズム研究の分野で成功しているサイエンティストである。彼らが、日本語を読めないことを幸いに、気兼ねなく自由に私の感じたことを書いてみたいと思う。

Mike と Gene 両者に共通していることは、Colin S. Pittendrigh から多大な影響を受けていることだろう。Mike がサーカディアンリズムの研究を始めたのは、Pittendrigh (当時 Princeton 大学)の大学院生だったからで、コウモリの冬眠を利用して、恒温動物のコウモリのサーカディアンリズムに温度補償性があることを示した(Menaker 1959)。Gene は、Stanford 大学心理学部の学部学生の時、ヒトの視覚に関する研究をしていたが、そのテーマが好きになれず、他の研究室をいろいろ回って歩き、サーカディアンリズムを研究している M. Gordon-Lickey の研究室の大学院生となった。その当時 Pittendrigh は、まだ Princeton 大学にいたが、Stanford へ移る準備をしていて、Gene は彼にいろいろ影響を受けた。Gene は、アメフラシのサーカディアンリズム研究で学位を取った後(Block and Lickey, 1973)、Pittendrigh (当時 Stanford 大学)のポストドクとなった。しかし、アメフラシがもつとも良いモデルであるとは思えなかったために、他の軟体動物から、より優れたモデルを探すということをしつナツメガイに出会い、その後バージニア大学に就職した後もナツメガイの眼のサーカディアンペースメーカーの細胞レベルでの研究を続けている(Block and Walance, 1982)。テクニックも一貫して電気生理中心である。

それに対し、Mike は、個体レベルから生態レベルに興味があり、植物こそ扱わなかったものの、昆虫、トリ、トカゲ、魚、ほ乳類と様々な動物種を用い、活動リズム、ホルモン測定、電気生理といろいろなア

ブローチでサーカディアンリズム、光周性の研究をしている。

ラボの運営の方法は、まるで異なり、Gene は事細かに実験計画からグラントの申請、テクニシャンやポストドクの雇用に至るまでラボミーティングで話し合う。これは、実際に実験するのはポストドクであり大学院生であるので、これらの人に影響を及ぼす決断をする場合は、まずこれらの人に了解を得ることが先であるという考えからであろう。また、Gene はグラントに申請した実験計画は出来るだけ忠実に実行しようと努力している。Mike は、ポストドクや大学院生にはかなり自由勝手に研究をさせているが、人事やグラントの申請となるとポストドクや学生には全く相談せず独自に決める。グラントに申請した実験計画を後に我々が知り、一体誰が実験するのだと質問すると、「誰もやってくれなかったら誰か探し、見つからなかったらやらなくてもいいよ」とまで言う。これは、お金を取ってくるのと人事といったことは彼の仕事で、我々は研究だけを行っていればよいのだ、という考えからであろうか。

実験に対する姿勢も違い、Gene は今でも時間をみつけては、新しい学生に電気活動のリズムを記録する標本の作り方を教えている。時間があれば自分で手を下したいタイプである。Mike は実際に手を動かすよりも、いろいろな所から仕入れてきた情報からあれこれ考え、ストーリーを展開するのが好きなようである。事実、かなり前から、自分で実験をすることから遠ざかっていたようである。しかし、データを見る能力はさすがにすごく、私が持っていった紙切れ一枚のデータからいろいろな情報を即座に読みとり、新しい仮説を立て、それを証明する実験を考える。私は別のプロジェクトで、ハムスターの眼(第2のサーカディアンオシレーター)の座が活動リズムや光周性におよぼす影響を調べている。この実験にいたる過程を少し述べると、Russell が持っていた眼のロッドがないトランスジェニックマウスの位相反応実験を私が解析していて、この動物が野生型よりも活動時間が長いことを見つけた。Russell の rd マウスのデータを見直してみると(Foster et al., 1991) 、

このマウスではみられない。すぐに Mike と相談した。そして、これは発生(発育)段階で眼が何らかの影響を SCN に与えている可能性を示しているから、ハムスターを使って生後違った時期で眼を除去してその影響を見てみようということになった。バージニア大学の場合、許可なしで新しい方法での動物実験は許されておらず(*In vitro*は全く問題ないが)、動物実験を管轄している大学の組織に計画を申請して許可を得なければならぬ。その許可番号なしでは、動物を買うことすらできないし、無許可で実験をしたことがその組織に知れると、研究室の一切の動物実験を禁止される。眼を取ることの必要性を説明し、詳しい手術法を記載した申請書を提出した。生まれて直後の動物は麻酔薬を用いることができず、低温麻酔(氷の中に体をいれる)を施すこととしたが、それが問題となった。低温麻酔は麻酔ではないというのである(動物が痛みを感じる可能性が高いという)。しかし、それに変わる方法は見つかることが出来ず、結局毎月定期的にデータベースを検索してそれに変わる新しい良い方法を探すということで、とりあえず低温麻酔は許可された。申請してから2カ月後である。実験が遅れたことはある面で幸いした。イグアナの眼や、松果体を培養していた Gianluca Tosini が、突然ほ乳類の眼の培養をすと言い出した。これまでに、ほ乳類の眼に見られるサーカディアンリズムは、SCN 破壊後も続くことが示されていたが(Terman et al., 1993)、直接眼の中にサーカディアンオシレーターが存在することを示唆した実験はなかった。Gianluca はこれを直接証明したいと言い出したのだ。ラボにいたすべての人(私を含め)が、ほ乳類の眼は、ニワトリやカエルやイグアナとは違って培養は難しいし、たとえ培養できたとしてもメラトニンのリズムを検出するなんて無理だと冷たい態度を示した。Mike だけは、違っていた。「クレージーな実験を10回やって、その中の一個がもし成功したらおまえはラッキーだ」といい、「今の系をそのまま使えて、ただ材料をかえるだけの簡単な実験なので、試してみない理由はない」と言い切った。結果は、Science 誌に載った(Tosini and Menaker,

1996)。この実験結果は、ハムスターの網膜にサーカディアンオシレーターがあることを示していて、私の実験に、眼のオシレーターが SCN のサーカディアンペースメーカーにおよぼす影響を見るという付加価値を付けてくれた。しかし、いざ実験を開始して2カ月が経過しても、恒暗においたインタクトとの違いを見つけることができなかった。Mike へ結果がネガティブだから実験を終了することを告げにいった。しかし、Mike はそのことに反対した。いままで動物を維持してきた費用や、私と学部学生が動物の世話に費やした時間が、ここで実験をやめるとすべて無駄になる。少なくとも後1カ月は動物を維持し、ネガティブだと言いつける結果を出すべきだというのである。そうすれば、我々の仮説を書いて、しかしそれは間違っていたという論文を発表できる。そして、それはサイエンスにも貢献するというのだ。Mike の意見に従い、実験をやめなかった事が幸いした。1カ月後、違いが見え始め、2カ月後それらは、有意な違いとなった。また、Mike はその動物の脳、少なくとも SCN がどうなっているか調べることを提案した。半年も動物を恒暗条件下で維持するような実験は再度行うことは非常に大変なので、脳を取り出す位相もそろえ、条件を徹底的にそろえたサンプリングを行えというのである。半年間もフリーランした動物である、位相は個体間でバラバラで、私は24時間動物室へ留まって動物を灌流固定した。次に、インタクトのコントロールをどうするかが問題となった。私は赤外線照明下で動物を麻酔し、眼を除去してから明るい部屋で灌流する方法を提案した。Mike はその方法に同意したが、もしかして問題があるかもしれないので、眼に詳しい Block ラボのポスドクに相談しようという。ポスドクによると、眼を除去するという事は視神経を切断することであり、それは一番強い刺激であるという。つまり、それは直射日光下で動物を灌流固定していると同じ事であろうという。何事もその道に詳しい者に聞けという Mike の姿勢が正しかった。インタクトの動物はインタクトのまま赤外線照明下で麻酔し、頭を黒い布で覆い、部屋の電気をつけ灌流するという方法を取った。これらの

実験結果は、長編論文にすることにはできるだけではなく、新しいグラントを3つ申請する材料となった。我々研究者との関わり方も両者は少し違う。Gene は、少しでも時間があれば、ラボへやってくるが、Mike はあまりそういった事はせずに、こちらからデータをもって話しに行かない限り、向こうから聞いてくることはあまりない。しかし、思いついた時いつでもオフィスへ行って、実験結果を話し合うことが可能である。このことは、予期しなかった実験結果が出た時、次にどうするかを相談する時によい。In vivo の実験はその場に合わせた臨機応変な判断が大切なのである。Gene の場合は、スケジュールがかなり事細かに組まれており、そのスケジュールはインターネットを通してみんなが見ることが可能である(パスワードは必要)。そして、アポイントメントを取る場合もスケジュール表にアクセスして、あいている時間を見つけて、そこに自分の名前を書き込む。もし Gene が了解した場合はそのまま名前が残るが、そうでないと消されてしまう。そこで、一番確実なコミュニケーション手段は電子メールとなってしまふ。

集まってくる大学院生やポスドクのタイプもかなり違うようで、Block ラボには長期滞在型が多く、ポスドクだった S. B. S. Khalsa は11年、S. Michel は6年、M. Geusz は8年いた。大学院生だった M. Roberts は6年、D. Whitmore は8年いた。また彼らの中の幾人かは、職を得た今でも定期的に(1年に1カ月といったペースで)帰ってきて実験を続けている。Menaker ラボには長期滞在した人は少なく、一番長くいたのは大学院生の M. Max で8年間である。しかし、Mike の下で育った研究者の名前をあげると、Mike がかなり多くの現在のサーカディアンリズムの研究をリードしているサイエンティストを育てたかがよく分かる。大学院生:A. Eskin, H. Underwood, J. Elliott, J. S. Takahashi, V. M. Cassone, M. R. Ralph, F. C. Davis, G. M. Cahill, M. Max, C. S. Colwell, ポスドク: F. W. Turek, D. A. Foa, G. E. Pickard, R. G. Foster, D. J. Hudson, A. S. I. Loudon, 学部学生:C. H. Johnson。日本人では、海老原先生(名古屋大

学)、大島さん(塩野義製薬)、下村さん(J. Takahashi ラボ)、私、梅津さん(国立環境研究所)、千葉さん(上智大学)、後藤さん(名古屋大学)となる。自分でアイデアがあり自分で実験を立ち上げるタイプの人はMenakerラボでうまくやって行けるが、テクニックを学びたいといった指導を期待するタイプはうまくやって行けないようである。先にあげなかった Block ラボのポストドクで、現在サーカディアンリズムの分野で活躍中の人は、M. Ralph, N. Wayne, C. Colwell, A. Millar などであろうか。日本人は、富永さん(大阪大学)、浜田さん(通産省工技院)、篠原さん(横浜市立大学)が短期間滞在した。

我々ポストドクは、研究のみを行っていればよいとはいえず、セミナー、授業、グラント申請のネタをボスへ提供しなければならぬ。Mike の場合は、いろいろ突然ひらめくことが多いらしく、急に、「明日までに(ひどいときは今日の午後までに)おまえの結果でこういったグラフを作ってくれ」といった依頼が多い。Gene は計画的で、かなり前から打診してくる。以前こんな事があった。Gene から、昼休みにピザがあるので食べに来てくれといった手紙をもらった。行ってみると多くのポストドクと大学院生が招待されており、Gene は我々がピザを食べ終わった頃やってきて、「実は来月に時間生物学センターの延長の審査があり、審査員がセンターのサポートを受けている大学院生とポストドクに話しを聞くことを予定しているので、どうかよろしく頼む」という。やり方は、日本的で「根回しをする」という言葉が適切である。去年、わたしがサポートを受けている米空軍グラントの中間報告会があり、Mike も Gene もそれぞれ成果を発表しなければならず、私にデータのスライドを作ってくれと言ってきた。Gene が予定を組んでどちらが何を発表するかを3人で話し合った。それは、報告会の1カ月前であった。私は、1週間ぐらい前までにスライドを作成し両者に渡しておいたのだが、その後 Gene から電話があつて、詳しい実験内容を知りたいし発表の練習をしたいので、時間を作ってくれという。一通り詳しい実験の条件や、データについて説明してその場は終わったが、

Mike によると発表の前日 Gene がかなり神経質になっていて、答えられない質問をされたらどうしようと Mike に相談してきたそうである。Mike は、もし答えられなかったら、詳しいことは分からないので実験を行った山崎に聞いてみると言えということで、その場は納得したとのことである。でも、私が朝ラボへ行くと、質問されたら答えられないことがあるので教えてほしいといった電子メールが Gene から入っていた。とにかく、Gene はまじめなのである。私は、論文の下書きを両者へ渡してあるのだが、Gene は会う度に「まだ、読み終わっていないのだけど、努力するから申し訳ないけど待っていてくれ」と本当に申し訳なさそうに言うが、Mike は、こちらから質問しても、「うーむ、まだ読んでないから」と簡単に流されてしまう。でも、毎日しつこく言っても決して気を悪くしない。授業のやり方も違う。私は両者の授業を聞いたことはまだないのだが、Gene は時間をかけて準備しているようである。しかし、私は Mike が授業の準備をしているのを見たことはない。時間生物学の授業などは、Gene は図はすべてパワーポイントで準備した。Mike は学会発表のスライドの流用である。しかし、両者に共通していることは、内容は常にアップデートしていることである。授業のプリントをみると、一ヶ月前に発表した論文を取り上げていた。Mike は、講義は全くの素人(学部生の一般授業)か、全くの専門家へするのが面白いと言っていた。全くの素人からは思いがけない質問を受けることがあり、かなり違った角度からアイデアを得ることがあるからだそう。アメリカの場合、講義は一方的ではなく、教授は質問の時間を他に設けなければならない、後日オフィスへ授業の内容が理解できなかつたり、質問がある学生が尋ねてきて個人面談となる。

ラボミーティングのやり方を見てもそれぞれの個性がよく見られる。Block ラボは、よくオーガナイズされていて、毎週トピックスを設ける。注目すべき論文が発表されればそれを紹介し、細かい方法に至るまで徹底的に話し合う。そこから、新しいアイデアが生まれる。論文を投稿する前にもラボミーティングで話し合う。去年は、ラボのみんなで分担して時間

生物学の授業を行った。かなりの時間をミーティングにあてた。Menaker ラボは、全くオーガナイズされていない。Mike は雑談を好み、トピックスなしのミーティングがよくある。なにが起きるか予期できない。昨年は試験的にミーティングをオーガナイズしようと試みた。メンバーがまわりもちでその週のミーティングを担当する。しかし、内容は個人の自由で論文を紹介してもいいし、実験結果か実験計画を発表してもいいというものだった。

サイエンスにおける貢献度を比較すると、2人の年齢が14歳も違うので(Mike:1934年生まれ、Gene:1948年生まれ)、直接は比較できないし、発表した論文の総数や雑誌のクオリティーで業績を判断できると思えないが参考までに記すると、1996年の資料で、Mikeは153編、Geneは74編となっている。それらの内、Nature, Science, PNAS誌に発表されたものを数えれば、Mike、28編、Gene、4編となっている。Mikeは現在特に要職についていないが、Geneは時間生物学センターのDirector、Gordon Conference on ChronobiologyのChairman、Society for Research on Biological RhythmsのPresidentである。Mikeは、バージニア大学の生物学部へ学部長としてオレゴン大学からやってきたのだが、Geneがバージニアにいたことが大きな理由の一つであると言っていた。

さて、本題のSCNである。両者がなぜSCN研究を始めたか聞いてみた。Geneの場合明瞭で、アメフラシとナツメガイの実験結果から築いたモデル(Block et al., 1996)がほ乳類にも当てはまるかどうか試すために、SCNの培養を始めたそうである。また、その他の大きな理由として、ほ乳類だと大きなグラントが取りやすかったためでもあったと述べていた。S. KhalsaとM. Geuszが基盤電極の上でSCNの培養を試み、E. Herzogがそれを引き継いだ(Herzog et al., 1997)。M. Geuszは、医学部のR. Dayと当時こちらにいたS. Kayとの共同でc-fosのリズミックな発現をルシフェレースによってリアルタイムでモニターした(Geusz et al., 1997)。常に新しい技術を取り入れようとするGeneの姿勢がみられる。

Mikeの場合、少し複雑で、J. Takahashi(1982)がトリのSCN破壊実験を行った。複数ペースメーカーがどのように調和しているか(周期決定、温度補償性)がMikeの興味である。こういったサーカディアンシステムの研究はトリ、マス、トカゲと来て、現在はイグアナ(Tosini and Menaker, 1998)とヤツメウナギ(Menaker and Tosini, 1996)が彼の中心的な興味である。彼は、常にサーカディアンリズムの進化を考えているのである。ハムスターの研究は光周性の実験で始められ、世界に先駆けハムスターに光周反応があることを示した(Gaston and Menaker, 1967)。その後、J. Takahashiら(1984)が、ハムスターの活動リズムの位相反応の光スペクトルカーブを求めた。ほ乳類のSCNを始めたのは、かなり後でG. Cahillがスライス標本で薬理実験をした(Cahill and Menaker 1989a, b)。その後、タウミュタントを見つけたこと(Ralph and Menaker, 1988)を機に、野生型のSCNと交換移植を行った(Ralph et al., 1990, Vogelbaum and Menaker, 1992)。こうしてみると、両者に共通しているのは、SCN研究は、サイドプロジェクトの中の一つであるということである。それぞれ、モデルシステムを持っていて、ほ乳類のSCN研究は、これらの比較対象である。こんな状況のなか、両教授が、自由行動下の動物からSCNの活動を記録する重要性を認めてくれたことを感謝している。2大教授の比較教授学、実は、両教授の親や子供、家や車、そして普段の服装、パーティーのしかた、等々を比較するともっと2人の違いが見えてくるのだが、個人情報の公開は今回は差し控えておきたい。

(さて、本稿のはじめに述べたように、ここで私がSCN研究で楽しんでいる2つの問題について述べることとする)

私がSCN研究で、一つ疑問に思っていることは、多くの人がD. K. Welshら(1995)の論文を「SCNの一つ一つの神経細胞がサーカディアンオシレーターであることを示した」と引用していることである。孫引きによって誤引が始まることはありえるが、共著者の

S. M. Reppert 自身がそのように引用していること (Liu et al., 1997) に私はかなり疑問を感じる。Welsh は、ラットの胎児の SCN を電極基盤上に分散培養し、個々の神経細胞がそれぞれ違った周期でフリーランすることを示した。また、TTX 存在下では、スパイクが抑制されリズムが測定できないが、それを洗い流した後再び現れたリズムの位相は、TTX を与える前のリズムの位相の延長上にあった。これらの結果から彼らは、SCN の一つ一つの神経細胞にサーカディアンリズムを刻む能力がある可能性を示唆した。しかし、一般に分散培養した個々の神経間はシナプスを形成しており (Ichikawa et al., 1991, Kuroda et al., 1992, Muramoto et al., 1993)、グリア細胞間にはギャップジャンクションがみられる (van den Pol et al., 1992, Welsh and Reppert, 1996)。最近、SCN の神経細胞間にもギャップジャンクションが存在することが確認された (Jiang et al., 1997a, b)。また、SCN の神経細胞間で、TTX 存在下でも同期した神経活動が存在することが報告されている (Bouskila and Dudek, 1993)。Welsh らは、一つの神経細胞から電気活動を記録しているものの、その細胞が TTX 存在下でも、他の細胞とカップリングしている可能性は十分考えられる。Herzog ら (1997) は、同様の方法でマウスの SCN のスライスカルチャーから、電気活動を記録した。個々の神経のサーカディアンリズムは、ほとんどが同位相か反対位相で同期していた。これらの結果の違いは、培養方法の違いから生じたのかもしれない。両者に共通していることは、同じ電極から2つ以上のユニットが記録できることで、彼らはスパイクの波形によってシングルユニットを分別している。この方法は、スパイクの波形は、常に一定であることを前提としているが、波形がサーカディアン変化していることも十分考えられる。

SCN 以外でも、近年いくつかのグループが「サーカディアンリズムは細胞の性質なのか、それとも細胞間のネットワークなのか」という問題に挑戦した。J. Takahashi らは、ニワトリの松果体の細胞1つを培養し、メラトニン放出の日内変動を測定した (Takahashi, et al., 1989)。しかし、恒暗条件での実験はなされて

いない。Pickard と Tang (1993) はトカゲの松果体を分散培養して、分泌されるメラトニン量をメラトニンに抗原性をもつ赤血球が壊される反応で調べ、それにサーカディアンリズムがあることを示した。しかし、個々の培養細胞は接してはいないが、液性の連絡が存在している可能性は否定できない。Michel ら (1993) はナツメグイのサーカディアンペースメーカーである網膜基底細胞を一個一個違う培養皿で培養し、それらの細胞膜のコンダクタンスがサーカディアン変動することを示した。しかし、この結果は同一細胞から記録されたものではない。ごく最近、中原ら (1997) が、ニワトリの松果体の一つ一つの細胞を別々に培養し、恒暗条件でもメラトニン放出にサーカディアンリズムがあることと、そのリズムが光に同調することを示した。これらの結果は、多細胞生物でも単一細胞内 (サーカディアンペースメーカーの) にリズムを刻む能力が存在することを強く示唆しており、SCN も例外ではないと考えることは自然なことかもしれない。しかし、ここで、バクテリアからヒトに至るまで、すべて同じメカニズムで説明しようとする考えを見直してみようと思う。SCN は、他のサーカディアンペースメーカーと明らかに異なる特徴がある。それは、光感受性である。ナツメグイの網膜基底細胞は、サーカディアンペースメーカーであり光に同調できる (Block et al., 1996)。ニワトリの松果体も、そうである (Nakahara et al., 1977)。カエルの網膜の視細胞も、同一細胞内かどうかはわからないものの、サーカディアンオンシレーターと光受容性の両方の機能がある (Cahill and Besharse, 1995)。しかし、SCN にはそれがない。トリやイグアナで、脳内に光受容器が見つけれられたが septum 近辺であり、SCN とは離れている (Grace et al., 1996)。SCN は例外である。そうだとすれば、SCN と他のペースメーカーが同じメカニズムで時を刻んでいると考える必然性もないように思える。

ここでもう少し柔軟に、ネットワーク仮説を検討しても良さそうではないか。数理モデルでは、短い周期 (ウルトラディアンリズム) を組み立てて、長い周期 (サーカディアンリズム) をつくる「ネットワーク仮説」

は、Pavlidis が 1969 年に提唱した。このモデルの問題点は、最終的に出てくるサーカディアンリズムの安定性である。しかし、階層構造の工夫でこの問題は解決されつつある (Barrio et al., 1996)。Davis と Gorski (1984) は、ハムスターの SCN の部分破壊を行い、90% の SCN を壊しても活動リズムは継続することを示した。しかし、周期と SCN の体積にきれいな相関関係があり、SCN が多く壊された場合は、周期が短くなった。私は、ラットの胎児の SCN を含む視床下部を分散培養し、細胞内カルシウムのウルトラディアンリズムを測定した (Yamazaki et al., 1995a)。視床下部細胞のカルシウムオシレーションは、大脳皮質細胞のそれと異なり、TTX 存在下でも継続し、重水によって周期が延長するサーカディアンリズムと似た特徴があった。この結果は、ネットワーク仮説に有利なもの、それを肯定も否定もできない。数理的に、ウルトラディアンリズムとサーカディアンリズムはとてよく似た特徴がある (Goldbeter, 1996)。同じ組織から得られた2つの異なるリズムが、それらがまったく別のメカニズムで発生していても、特徴が似ていることは十分考えられるからである。先に述べたが、自由行動条件下のハムスターの SCN からは、サーカディアン、ウルトラディアンの両方の電気活動リズムを測定できる。しかし、活動リズムが20時間のタウミュタントハムスターでは、サーカディアンリズムは短くなっているが、ウルトラディアンリズムは短くなっていない (Yamazaki et al., 1996b)。この結果は、ネットワーク仮説を支持しないように思えるが、タウミュレーションが細胞間のカップリングに影響をおよぼしていると考え、ウルトラディアンリズムの周期が同じでも最終的に出てくるサーカディアンリズムの周期が変化することもありうる。活動リズムが20時間のハムスターのタウミュタントでは、SCN、網膜両方ともに20時間のリズムを示す (Davies and Mason, 1994, Liu et al., 1997, Tosini and Menaker, 1996)。違った組織で、同様にミュレーションが働いていることは、リズム発振メカニズムが細胞内に存在すると考えると理解しやすいようである。総括すると SCN でも細胞内にリズム発振機構が

存在しているとするとほうに有利な結果が多いようであるが、ドグマを無理矢理作り上げるよりも、いろいろ可能性を考える方がサイエンスを楽しめると思うのだが。でも、ドグマを崩すのもサイエンスの別なたのしみでもあることも事実である。

私が、楽しんでいるもう一つのテーマはEオシレーターとMオシレーターがどこにあるかということである。EM2オシレーターモデルは、Pittendrigh と Daan によって 1976 に提唱された。Eオシレーターは活動開始の位相、Mオシレーターは活動終了の位相を支配する。ハムスターを恒明条件下へ置くと、活動リズムが二つに分割し(スプリット)、180度の位相角関係で安定する。これは結合した2つのリミットサイクルオシレーターの分岐理論で説明できる (Kawato and Suzuki, 1980)。その後、森ら (1986) は、ハムスターの光パルス投与後の位相変位の移行期から2オシレーターのパラメータをすべて計算し、そのパラメータを基に実際に計算機上に結合した2つのオシレーターを組立て、ハムスターのいくつかの実験結果(位相反応の移行期、2パルス実験、光周期性等)をシミュレーションすることに成功した。また、話がわき道にそれてしまうが、2オシレーターモデルを常に検証しているのが、J. Elliott である。しかし、彼は全然論文を書かないのである。Pittendrigh と共に行った大変興味深い実験もまだ発表されていない。私がタウミュタントハムスターで2オシレーターモデルを検証したとき (Yamazaki et al., 1995b)、彼が未発表のデータの束を送ってくれたので、私は彼の興味深い実験を知ることができた。Mike は、これはひどい見本なので、絶対まねをしないようにと強調した。

さて、この推測された2つのオシレーターは実際に脳のどの場所に存在するのであろうか？この問題に最初に取り組んだのは、Pickard と Turek (1982) である。彼らは、恒明条件下でスプリットしているハムスターの片側の SCN を破壊し、2つの活動リズムの中の1つが消滅したことを見つけた。しかし、その後、彼らは SCN の近傍を破壊しても同様な結果がみられることを報告している (Pickard and Turek,

1983)。Davis と Gorski(1984)は、あらかじめ片方の SCN を破壊しておいたハムスターを恒明下へ置くと、活動リズムがスプリットすることを見つけた。しかし、みられたスプリットは、正常個体のものとやや異なり、2つのコンポーネントが同じ大きさではなく、片側が大きかった。Zlomanczuk ら(1991)は、スプリットしているジャンガリアンハムスターの SCN を取り出し、その電気活動を測定し、左右の SCN とともに2峰性のリズムを示すことを発表した。しかし、SCN スライス標本は左右2つに分けられておらず、SCN 神経間が強くカップリングしていた場合、もし左右の SCN がそれぞれEとMオシレーターであったとしても、片側の SCN が2峰性のリズムを示すことも考えられる。篠原ら(1995)は、ラットの SCN をスライス培養し、放出される神経ペプチドのリズムを測定した。測定したVIP と AVP 共にサーカディアンリズムを示し、2つのリズムは同期していた。しかし、薬によりグリア細胞の増殖を抑えると、2つのペプチドのリズムの同期は見られなくなった。VIP と AVP がEとMオシレーターなのであろうか？もう一つの可能性は、EMオシレーターがともに同一細胞内に存在することである。ごく最近、ショウジョウバエの時計遺伝子と考えられている *per* の相同遺伝子がマウスでクローニングされた(Tei et al., 1997, Sun et al., 1997)。さらに、この *mper1* と相同性のある *mper2* がクローニングされた(Albrecht et al., 1997, Shearman et al., 1997)。これらの遺伝子は、サーカディアンペースメーカーである SCN と網膜の両方でリズムに発現しており、興味深いことに SCN での *mper1* と *mper2* の位相が4時間ほどずれていて、光に対する反応性も異なる。(Albrecht et al., 1997, Shearman et al., 1997, Shigeyoshi et al., 1997)。この位相差と光応答性が違う特徴は、森らの求めた理論上の結果と似ている。ペプチドのグループにせよ細胞内(遺伝子)にせよ、もし、左右の SCN にそれぞれEとMオシレーターの両方が存在するとなると、左右両側にあるEオシレーター群とMオシレーター群がそれぞれ別々にカップリングしたうえで、さらにE群とM群がカップリングしなければならぬ。そうでないと、スプリッティ

ングが説明できない。この構造はかなり複雑である。ここで私の電気生理の研究へ戻るが、このような問題も、インタクトの SCN から同時に測定されたデータを詳しく解析することで、なにか分かってくるのではないかと思っているのであるが、いかがであろうか？

## 引用文献

- Albrecht, U., Sun, Z. S., Eichele, G. and Lee, C. C. (1997) A differential response of two putative mammalian circadian regulators, *mper1* and *mper2*, to light. *Cell* 91: 1055-1064.
- Barrio, R. A., Zhang, L. and Maini, P. K. (1996) Hierarchically coupled ultradian oscillators generating robust circadian rhythms. *BMB* 96-02: 1-11.
- Block, G. D. and Lickey, M. (1973) Extraocular photoreceptors and oscillators can control the circadian rhythm of behavioral activity in *Aplysia*. *J. Comp. Physiol.* 84: 367-374.
- Block, G. D. and Wallace, S. F. (1982) Localization of a circadian pacemaker in the eye of a mollusc, *Bulla*. *Science* 217: 155-157.
- Block, G. D., Geusz, M., Khalsa, S. B., Michel, S. and Whitmore, D. (1996) Circadian rhythm generation, expression and entrainment in a molluscan model system. *Progress in Brain Res.* 111: 93-102.
- Bouskila, Y. and Dudek, F. E. (1993) Neuronal synchronization without calcium-dependent synaptic transmission in the hypothalamus. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 3207-3210.
- Cahill, G. M. and Menaker, M. (1989a) Responses of the suprachiasmatic nucleus to retinohypothalamic tract volleys in a slice preparation of the mouse hypothalamus. *Brain*

- Res. 479: 65–75.
- Cahill, G. M. and Menaker, M. (1989b) Effects of excitatory amino acid receptor antagonist on suprachiasmatic nucleus responses to retinohypothalamic tract volleys. *Brain Res.* 479: 76–82.
- Cahill, G. M. and Besharse, J. C. (1995) Circadian rhythmicity in vertebrate retinas: regulation by a photoreceptor oscillator. *Prog. Retinal and Eye Res.* 14: 267–291.
- Davies, I. R., and Mason, R. (1994) Tau-mutant hamster SCN clock neurons express a 20 h firing rate rhythm *in vitro*. *Neuroreport* 5: 2165–2168.
- Davis, F. C. and Gorski, R. A. (1984) Unilateral lesions of the hamster suprachiasmatic nuclei: evidence for redundant control of circadian rhythms. *J. Comp. Physiol. A* 154: 221–232.
- Foster, R. G., Provencio, I., Hudson, D., Fiske, S., De Grip, W. and Menaker, M. (1991) Circadian photoreception in the retinally degenerate mouse (rd/rd). *J. Comp. Physiol. A* 169: 39–50.
- Gaston, S. and Menaker, M. (1967) Photoperiodic control of hamster testis. *Science* 158: 925–928.
- Geusz, M. E., Gletcher, C., Block, G. D., Straume, M., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Kay, S. A. and Day, R. N. (1997) Long-term monitoring of circadian rhythms in *c-fos* gene expression from suprachiasmatic nucleus cultures. *Current Biology* 7: 758–766.
- Goldbeter, A. (1996) From ultradian biochemical oscillations to circadian rhythms. In: *Membranes and circadian rhythms* (Th. V. Driessche, ed), pp68–93. Berlin : Springer-Verlag.
- Grace, M. S., Alones, V., Menaker, M. and Foster, R. G. (1996) Light perception in the vertebrate brain: an ultrastructural analysis of opsin and vasoactive intestinal polypeptide-immunoreactive neurons in the iguanid lizards. *J. Comp. Neurology* 367: 575–594.
- Herzog, E. D., Geusz, M. E., Khalsa, S. B. S., Straume, M. and Block, G. D. (1997) Circadian rhythms in mouse suprachiasmatic nucleus explants on multimicroelectrode plates. *Brain Res.* 757: 285–290.
- Ichikawa, M., Kuroda, J., Yasui, K. and Kuroda, Y. (1991) Expression of synaptophysin during synapse formation between dissociated cortical neurons. *Neurosci. Res.* 12: 452–458.
- Inouye, S.-I. T. and Kawamura, H. (1979) Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic “island” containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 5962–5966.
- Inouye, S.-I. T. and Kawamura, H. (1982) Characteristics of a circadian pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *J. Comp. Physiol.* 146: 153–160.
- Jiang, Z.-G., Yang, Y., Liu, Z.-P., Allen, C. N. (1997a) Membrane properties and synaptic inputs of suprachiasmatic nucleus neurons in rat brain slices. *J. of Physiol.* 499: 141–159.
- Jiang, Z.-G., Yang, Y., Allen, C. N. (1997b) Tracer and electrical coupling of rat suprachiasmatic nucleus neurons. *Neurosci.* 77: 1059–1066.
- Kawato, M. and Suzuki, R. (1980) Two coupled neural oscillators as a model of the circadian pacemaker. *J. Theor. Biol.* 86: 547–575.
- Kuroda, Y., Ichikawa, M., Muramoto, K., Matsuda, Y., Ogura, A. and Kudo, Y. (1992) Block of synapse formation between cerebral cortical neurons by a protein kinase inhibitor. *Neurosci. Lett.* 135: 255–258.
- Liu, S., Weaver, D. R., Strogatz, S. H. and

- Reppert, S. M. (1997) Cellular construction of circadian clock: period determination in the suprachiasmatic nuclei. *Cell* 91: 855-860.
- Meijer, J. H., Watanabe, K., Detari, L. and Schaap, J. (1996) Circadian rhythm in light response in suprachiasmatic nucleus neurons of freely moving rats. *Brain Res.* 741: 352-355.
- Meijer, J. H., Schaap, J., Watanabe, K. and Albus., H. (1997) Multiunit activity recordings in the suprachiasmatic nuclei: *in vivo* versus *in vitro* models. *Brain Res.* 753: 322-327.
- Menaker, M. (1959) Endogenous rhythms of body temperature in hibernating bats. *Nature* 184: 1251-1252.
- Menaker, M. and Tosini, G. (1996) The evolution of vertebrate circadian system. In: *Circadian organization and oscillatory coupling* (Honma K, Honma, S, eds), pp39-52. Sapporo, Japan: Hokkaido VP.
- Michel, S., Geusz, M. E., Zaritsky, J. J. and Block, G. D. (1983) Circadian rhythm in membrane conductance expressed in isolated neurons. *Science* 259: 239-241.
- 森すみ子、川人光男、鈴木良次 (1986) ハムスターの位相変位データにもとづく定量的2振動体モデル. *MBE* 85-88: 67-76.
- Muramoto, K., Ichikawa M., Kawahara, M., Kobayashi, K. and Kuroda, Y. (1993) Frequency of synchronous oscillation of neuronal activity increases during development and is correlated to the number of synapses in cultured cortical neuron networks. *Neurosci. Let.* 163: 163-165.
- Nakahara, K., Murakami, N., Nasu, T., Kuroda, H. and Murakami, T. (1997) Individual pineal cells in chick possess photoreceptive, circadian clock and melatonin-synthesizing capacities *in vitro*. *Brain Res.* 774: 242-245.
- Pavlidis, T. (1969) Populations of interacting oscillators and circadian rhythms. *J. Theor. Biol.* 22: 418-436.
- Pickard, G. E. and Turek, F. W. (1982) Splitting of the circadian rhythm of activity is abolished by unilateral lesions of the suprachiasmatic nuclei. *Science* 215: 1119-1121.
- Pickard, G. E. and Turek, F. W. (1983) The suprachiasmatic nuclei: two circadian clock? *Brain Res.* 268: 201-210.
- Pickard, G. E. and Tang, W.-X. (1993) Individual pineal cells exhibit a circadian rhythm in melatonin secretion. *Brain Res.* 627: 141-146.
- Pittendrigh, C. A. and Daan, S. (1976) A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. V. Pacemaker structure: a clock for all seasons. *J. Comp. Physiol.* 106: 333-355.
- Ralph, M. R., Menaker, M. (1988) A mutation of the circadian system in golden hamsters. *Science* 241: 1225-1227.
- Ralph, M. R., Foster, R. G., Davis, F. C. and Menaker, M. (1990) Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* 247: 975-978.
- Shearman, L. P., Zylka, M. J., Weaver, D. R., Koiakowski, L. F. and Reppert, S. M. (1997) Two period homologs: circadian expression and photoic regulation in the suprachiasmatic nuclei. *Neuron* 19: 1261-1269.
- Shigeyoshi, Y., Taguchi, K., Yamamoto, S., Takekida, S., Yan, L., Tei, H., Moriya, T., Shibata, S., Loros, J. J., Dunlap, J. C. and Okamura, H. (1997) Light-induced resetting of a mammalian circadian clock is associated with rapid induction of the *per1* transcript. *Cell* 91: 1043-1053.

- Shinohara, K., Honma, S., Katsuno, Y., Abe, H. and Honma, K. (1995) Two distinct oscillators in the rat suprachiasmatic nucleus *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 7396-7400.
- Sun, Z. S., Albrecht, U., Zhuchjenko, O., Bailey, J., Eichiele, G. and Lee, C. C. (1997) RIGUI, a putative mammalian ortholog of the *Drosophila period* gene. *Cell* 90: 1003-1011.
- Takahashi, J. S., and Menaker, M. (1982) Role of the suprachiasmatic nuclei in the circadian system of the house sparrow, *Passer domesticus*. *J. Neurosci* 2: 815-828.
- Takahashi, J. S., De Coursey, P. J., Bauman, L. and Menaker, M. (1984) Spectral sensitivity of a novel photoreceptive system mediating entrainment of mammalian circadian rhythms. *Nature* 308: 186-188.
- Takahashi, J. S., Murakami, N., Nikaido, S. S., Tratt, B. L., and Robertson, L. M. (1989) The avian pineal, a vertebrate model system of the circadian oscillator: cellular regulation of circadian rhythms by light, second messenger, and macromolecular synthesis. *Rec. Prog. Horm. Res.* 45: 279-352.
- Tei, H., Okamura, H., Shigeyoshi, Y., Fukuhara, C., Ozawa, R., Hirose, M. and Sakaki, Y. (1997) Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila period* gene. *Nature* 389: 512-516.
- Terman, J. S., Reme, C. E. and Terman, M. (1993) Rod outer segment disk shedding in rats with lesions of the suprachiasmatic nucleus. *Brain Res.* 605: 256-264.
- Tosini, G. and Menaker, M. (1996) Circadian rhythms in cultured mammalian retina. *Science* 272: 419-421.
- Tosini, G., Menaker, M. (1998) Multioscillatory circadian organization in a vertebrate, Iguana iguana. *J. Neurosci.* 1998 18 (3): p. 1105-1114.
- Vogelbaum, M. A. and Menaker, M. (1992) Temporal chimeras produced by hypothalamic transplants. *J. Neurosci.* 12: 3619-3627.
- van den Pol, A. N., Finkbeinker, S. M. and Cornell-Bell, A. H. (1992) Calcium excitability and oscillations in suprachiasmatic nucleus neurons and glia *in vitro*. *J. Neurosci.* 12: 2648-2664.
- Welsh, D. K., Logothetis, D. E., Meister, M. and Reppert, S. M. (1995) Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron* 14: 697-706.
- Welsh, D. K. and Reppert, S. M. (1996) Gap junctions couple astrocytes but not neurons in dissociated cultures of rat suprachiasmatic nucleus. *Brain Res.* 706: 30-36.
- Yamazaki, S., Maruyama, M., Cagampang, F. R. A. and Inouye, S.-I. T. (1994a) Circadian fluctuations of cAMP content in the suprachiasmatic nucleus and anterior hypothalamus of the rat. *Brain Res.* 651: 329-331.
- Yamazaki, S., Ishida, Y. and Inouye, S.-I. T. (1994b) Circadian rhythms of adenosine triphosphatase contents in the suprachiasmatic nucleus, anterior hypothalamic area and caudate putamen of the rat—negative correlation with electrical activity. *Brain Res.* 664: 237-240.
- 山崎 晋 (1995) National Science Foundation Center for Biological Timing, Michael Menaker 研究室 比較生理生化学 12: 271-274.
- Yamazaki, S., Inouye, S.-I. T. and Kuroda, Y. (1995a) TTX-resistant  $Ca^{2+}$  oscillation in cultured hypothalamus: similarity to the mammalian circadian pacemaker. *Neuroreport*

6: 1306-1308.

- Yamazaki, S., Shimomura, K. and Menaker, M. (1995b) Phase relationship of evening and morning oscillators regulates phase responsivity: comparative study between wild-type and tau mutant hamsters. Soc. Neurosci. Abst. p954.
- Yamazaki, S., Kerbeshian, M. C., Hocker., C. G., Block, G. D. and Menaker, M. (1996a) Ultradian and circadian rhythms in neural activity in and outside the suprachiasmatic nucleus of wild type and tau mutant hamsters. SRBR Abst. p63.
- Yamazaki, S., Kerbeshian, M. C., Hocker., C. G., Block, G. D. and Menaker, M. (1996b) Phase relationships in ultradian and circadian rhythms between the suprachiasmatic nucleus and other brain regions. Soc. Neurosci. Abst. p2056.
- Yamazaki, S., Alones, V. E., Block, G. D. and Menaker, M. (1997) Functional connection between the circadian and motor systems. Soc. Neurosci. Abst. p790.
- Zlomanczuk, P., Margraf, R. R. and Lynch, G. R. (1991) *In vitro* electrical activity in the suprachiasmatic nucleus following splitting and masking of wheel-running behavior. Brain Res. 559: 94-99.

## 視交叉上核のリズム発現と細胞間カップリング

本間さと

北海道大学医学部生理学第一講座

### SCN の発見とその意義

哺乳動物におけるサーカディアンリズムの formal properties をすでに 1920 年代から報告していた Richter は、これらを支配している生物時計の存在を、数十年に渡り探し続けた。その局在部位が明らかになったのは、1972 年であり、Stephan と Zucker、Moore と Eichler の 2 つのグループがラット視交叉上核 (SCN) の破壊で、前者は行動リズムが、後者は血漿コルチコステロンリズムが消失することを報告したことによる。その後、SCN が生物時計からの pathway にあたるのではなく、時計そのものの局在部位であることを、Inouye と Kawamura (1979) が明らかにして以来、SCN におけるサーカディアン振動機構の研究において、わが国の研究は常にトップレベルを維持している。哺乳動物におけるサーカディアン振動体の局在が明らかになったことで、その後の研究は大きく発展した。神経核内の細胞構築が明らかにされ (van den Pol, 1980, van den Pol and Tsujimoto, 1985)、電気生理学的手法 (Green and Gillette 1982, Shibata ら 1982)、器官培養 (Earnest and Sladek, 1987, Tominaga ら, 1993, Shinohara ら, 1994)、細胞培養 (Murakami ら, 1991, Watanabe ら, 1993)、移植 (Lehman ら, 1987, Saitoh ら, 1987) 等の技術が導入され、さらには昨年の clock gene のクローニング等の分子機構へのアプローチが可能となったわけである (King ら, 1997, Tei ら, 1997, Sun ら, 1997)。サーカディアン振動の発現と光同調機構がこの小さな一對の神経核に集中しているため、SCN は、複雑な哺乳動物の中樞神経機構の中でも、分子レベルから

個体の機能までの解析が可能な、優れた実験系を提供している。

### 多振動体ペースメーカーとしての SCN

SCN はラットでは一側、約 8,000 から 10,000 個の神経細胞から構成される (van den Pol, 1980)。これらのどの細胞がサーカディアン振動を発現しているか、あるいはすべての細胞が振動を発現しているのか、そのメカニズムは長い間不明であった。図 1 は、多数の神経細胞から構成される SCN 内からのサーカディアンリズム発現の可能性を示したものである。過去の破壊実験からは、SCN が完全に破壊されない限り、行動やホルモンのサーカディアンリズムが存続することがわかっており、少数の振動細胞によるリズム発現の可能性 (図 1a) は否定的であった。しかし、移植実験では、移植片中の特定細胞、例えば VIP 細胞 (Sollars と Pickerd, 1995) や Ca 結合蛋白 (Silver ら, 1998) の生着とリズム発現の相関が報告されており、サーカディアンリズムの発振と表現に、SCN の特定細胞が関与している可能性を示唆する結果も報告されている。大脳皮質などでいわれている神経ネットワークによるリズム発現の可能性は (図 1b)、テトロドトキシン投与で行動、ホルモン、神経活動といった表現型リズムは一時的にマスクされるが、サーカディアン振動は持続していることが、個体レベル (Schwartz ら, 1987)、神経核レベル (Shibata and Moore, 1993)、SCN 神経細胞レベル (Welsh ら, 1995) で明らかにされることで、否定された。ただし、これらの結果は、振動細胞間連絡がシナプス連絡である可能性を否定するものでは

ない。また、テトロドトキシンは Na チャンネルを介する連絡のみを抑制するため、それ以外の機序での神経連絡による、リズム表現の可能性もある。図1cに示したSCNにおける振動共役説は、たとえ個々の細胞振動が減衰性であっても、あるいは不安定であっても、互いに影響しあうことにより、高精度高振幅のサーカディアン周期を発現するという振動理論(Enright, 1982)から、SCNでの安定した高振幅のリズム発現の機序として推測されているものである。行動リズムの詳細な機能解析により、夜行性齧歯類のサーカディアンペースメーカーが、朝方と夕方を支配する二つの振動体から構成されることが示唆されており(PittendrighとDaan, 1976)、この齧歯類生物時計の二振動体仮説も、両者に支配されるリズムが共にSCN破壊で消失するため、振動共役説を支持するものと考えられる。SCNの部分破壊でフリーラン周期が短くなる(Rietveld, 1984)という、細胞数が周期に影響する結果も、振動共役による安定したサーカディアン周期発現の可能性を支持している。

### 培養SCNによるSCN内多振動体の発見

1995年に発表された二つのSCNの *in vitro* 実験結果は、これらの議論に終止符を打つものであった。一つは Shinohara らの、SCN の organotypic slice culture におけるペプチドリズムの報告であり、もう一つは Welsh らのSCN神経細胞の多電極ディッシュ上での分散培養の報告である。Shinohara らの結果は、分裂阻止剤の投与により、バゾプレッシンとVIP(vasoactive intestinal polypeptide)のリズムが異なる周期でフリーランすることを示し、同一ペプチド細胞間ではリズム同期が維持されること、異種ペプチド間ではリズムが解離しうることを明らかにしたものであり、一方、Welsh らの結果は、個々の神経細胞が脱同調して独自のフリーランリズムを示すことを明らかにした。これらの結果により、SCNは multi oscillatory system であること、さらに培養条件により振動細胞の同期、脱同期が生じることが分かった。

ラットSCNの無血清培地による分散培養では、すでに Murakami らが約 27 時間周期のバゾプレッシンリズムを発現することを報告し(1991)、一方、Watanabe らは、約 24 時間周期のバゾプレッシンリズムの発現と、母親の昼夜逆転によるリズム逆転を報告している(1993)。

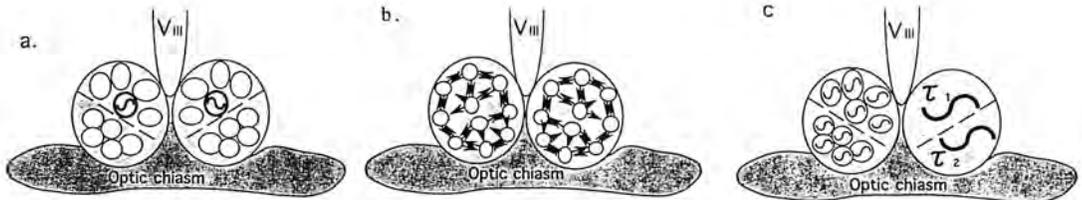


図1: 視交叉上核におけるサーカディアンリズム発現とその表現の3つの可能性

- a: 単一(あるいは極少数の)振動体細胞のみが振動を発現する場合。
- b: 個々の細胞は振動体を持たないが、ニューラルネットを形成して振動を発現する可能性。
- c: 個々の細胞が独自の振動体を持ち、振動共役して、全体として1つのリズムを発現する可能性。右側核の図は、背内側と腹外側で別の周期を持ちうる可能性を示したもの。

我々は、同様の無血清培地によるラットSCN分散培養で、培養開始 24 時間後から、バソプレッシンと VIP が同期したリズムを示すことを確認した。ディッシュ表面のコーティング条件により培養1~2週間目には細胞分布に大きな差が見られ、また、培養初期の分裂阻止剤処置では、グリア細胞の数が極めて少なくなり、形態も細く分岐した突起を多数もつもののみとなったが、2つのペプチドの同期したリズムはこれらの変化には影響されないことを報告した(Honmaら,1998)。これら一連のSCN分散培養におけるペプチドリズムの結果は、同一ディッシュ内の個々の神経細胞発火リズムが脱同調しているという Welsh らの結果とは、一見矛盾するものである。しかし、もし、同じSCNの分散培養でも、条件により振動細胞が同調したり脱同調したりするならば、両培養条件の差に、*in vivo*での振動細胞間の安定したカップリング機序を解明する鍵があるかもしれない。そこで、我々は、Welsh らと我々の培養条件の間で最も差があると考えられる培地中の血清レベルに注目し、無血清培地と牛胎児血清(FCS)を含有する培地でのペプチドレベルを比較した。その結果、5~10%FCS含有培地では、多くの例でサーカディアンリズムが検出できないことを見出した。さらに、彼らと同様に、マルチ電極ディッシュを用いて、ペプチドリズムと個々の神経活動リズムを比較した。松下のマルチ電極ディッシュの表面素材は、Welsh らの用いたディッシュと同一と考えられるので、1~2.5%FCS含有培地で培養し、ペプチドレベルと個々の神経活動リズムとを比較してみた。残念ながら、発火頻度が培地の交換や振動により数10分から1時間程度マスキングを受けることがあるため、ペプチド解析のサンプリングを行った直後から電気活動を調べるという方法をとった。その結果、有意のサーカディアンペプチドリズムが検出できる例では、同一ディッシュ上で記録

した複数の神経活動リズムが同期しており、ペプチドリズムの検出できなかったディッシュでは、個々の神経活動にはサーカディアンリズムが存在するが位相、周期がそれぞれ異なることを見出した(図2)。また、20枚のマルチ電極ディッシュから10秒間隔で連続2~6週に渡り自発発火頻度を測定した88個の神経細胞活動記録のリズム解析を行ったところ、連続5サイクル以上のサーカディアンリズムを示した神経が67個存在した(76%)。これらの実験結果から以下のことが示唆された。

1. SCNの神経細胞の多くはサーカディアン振動体を有する。
2. 個々の振動細胞は、独自の周期でフリーランしうるが、振動細胞間同調も存在する。
3. 培養細胞におけるペプチドリズムの消失は、SCN振動停止ではなく、個々の振動細胞の脱同調を反映している。

### 振動細胞間カップリング

振動細胞が互いに連絡しあい、リズムの周期と位相を一致させるカップリングのメカニズムは、未だ明かでない。神経組織内でカップリングを可能とする機序としては、シナプス連絡、液性(ガス性)連絡、ギャップ結合などが考えられる。また細胞間の接近や接着には、細胞外マトリックスや各種接着因子、成長因子などの関与も考えられる。

- 1) シナプス連絡によるカップリングの可能性  
先にのべたテトロドトキシンの実験結果から、細胞内でのリズム発振にはシナプス連絡は不要であることが明かとなったが、この実験結果からは、細胞間のカップリングがシナプス連絡を介するかどうかは不明である。そこで、マルチ電極上分散培養で、4~8個の神経から同時に記録される自発発火パルスデータを用い、cross correlation 解析を行ったところ、同期した神経活動リズムを示す神経細胞のいくつか

が数 m sec の差で発火していることが確認された。この事実は、少なくとも、分散培養SCN神経細胞間では単シナプス連絡でリズムが同期する可能性を示唆している。ただし、*in vivo*で、同一の機序が存在するかどうかは不明である。

液性の因子がSCN内で何らかの情報伝達を行っている可能性は、これまでの多くの実験結果から示唆されている。特に、仔ラットのSCNが胎生期にサーカディアン振動を開始し、母親のリズムに胎内同調していることが分かっており(Reppert ら,1983)、SCNを破壊した母ラットの仔は、胎内でフリーランを開始することが示

## 2) 液性、ガス性連絡

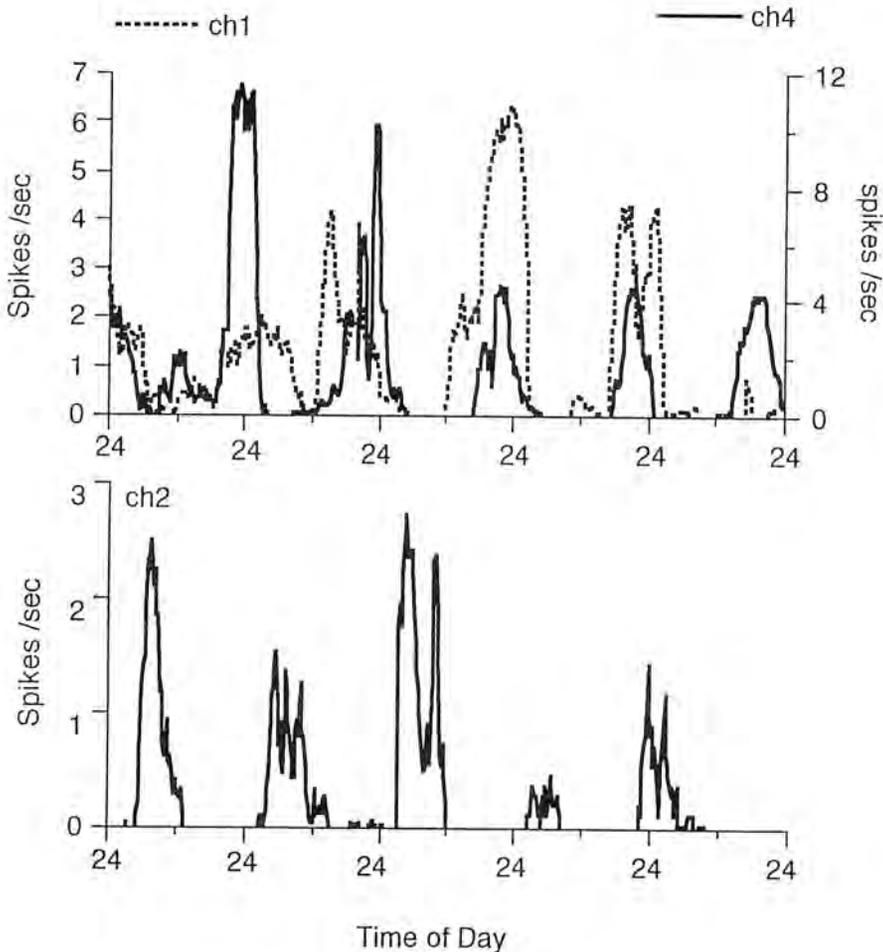


図2: マルチ電極ディッシュ上で培養した視交叉上核神経細胞活動リズム

同一ディッシュ上の3つの神経細胞の発火頻度を示した。周期は ch1 が 23.8 時間、ch2 が 22.6 時間、ch4 が 23.4 時間。ch1,4 は位相、周期ともほぼ一致しているが、ch2 は周期がやや短く、位相がほぼ逆転している

唆されている(Honma ら,1984)。これらの実験結果は、シナプス形成以前の胎児 SCN が母親の血中の物質あるいは環境因子を何らかの機序で感受し、リズム同調していることを示している。胎盤を介して作用した物質による胎児リズムの同調としては、メラトニン(Grosse ら,1995)およびドパミン作動薬(Viswanathan ら,1994)の例がすでに報告されている。また、Silver ら(1996)は、一定分子量以下の物質のみを通過させる膜でできたチューブにSCN の組織を入れてSCN破壊ハムスターに移植すると、行動リズムが回復することを報告している。NO のSCN内での作用も報告されており(Ding et al,1995)、CO なども含め、各種の diffusible substance の関与も検討の必要がある。

これまで述べてきたような *in vitro* 実験系では、カップリングが液性連絡によるのか、神経性連絡によるのか、区別がつけにくい。電気刺激を行えば、シナプス連絡の存在は明らかになるが、そのシナプスがリズムカップリングに関与しているかどうかは確定できない。培養条件下で液性連絡によるカップリングが存在するかどうかは、現在各社から発売されているカルチャーインサート等の membrane を用いて行うことができるが、位相・周期の異なる2組のSCN細胞が液性連絡によって同期するかどうかを検討した実験は未だ報告されていない。

シナプス形成や神経細胞機能維持には、各種の成長因子の関与が示唆されており、新たな成長因子の発見が続いている。Nerve growth factor のサーカディアンリズムへの関与も報告されており(Bina と Rusak,1996)、これらのどの因子が振動細胞カップリングにどのように影響しているかも、今後の研究課題である。

### 3) ギャップ結合

一方、我々が行ったマルチ電極上SCN分散培養細胞の cross correlation では、二神経の

発火にほとんど時間差がない例も見つかった。この場合は、記録をとった2つの神経細胞は、それ自体自律振動を行わないが、振動細胞から等距離でシナプス連絡を受けていることで説明可能であるが、両者がギャップ結合を介して同時発火していることも否定できない。これまでの電子顕微鏡によるSCNの観察からは、SCN神経細胞間のギャップ結合は確認されていない。単一神経細胞への Neurobiotin 等の色素注入による dye coupling を調べた結果では、SCN神経細胞間の electrical synapse の可能性を示すものもある一方(Jiangら,1997)、グリア間にはギャップ結合があっても神経細胞間の dye coupling はないという報告もある(Welsh と Reppert,1996)。electrical synapse は、複数の神経細胞を機能的合体とするため、色々なアプローチにより、SCNにおける存在の有無を明らかにしていく必要がある。

グリア細胞はギャップ結合を介して緊密な連絡している。特に、SCNは、アストロサイトのマーカー蛋白である Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) が、他の視床下部組織に比べ極めて濃く染色されること(Morin ら,1989)、GFAP の分布にサーカディアン変動があること(Lavialle と Serviere,1993)等の報告からも、アストロサイトがサーカディアン振動において何らかの機能を発揮している可能性がある。培養系では、グリアの種類および数が培地条件によって大きく影響される。血清含有培地での培養では、いわゆる Type I グリアがディッシュ面を敷石状に張りつめ、グリア細胞間に多数のギャップ結合による密接な連絡が生じる(Welsh と Reppert,1996)。上に述べたように、この状態では、ペプチドリズムが消失する例が多い。一方、無血清培地では、グリアの増殖が抑制され、細い突起をもつ分化したグリアが神経細胞と網目構造を形成する(Honma et al,1998)。この状態では、同期したペプチドリズムが観察される。ま

た、SCN以外の部位や、培養グリア細胞では、血清を抜いてグリアを分化されると神経伝達物質のレセプター数が cAMP やアラキドン酸などの系を介して増加し(Murphy,1987, Barres,1991)、また、VIP,PCAP がグリアの機能を調節すること(Grimaldi ら,1994, Tatsuno と Arimura,1994)などが報告されている。このため、グリアのもつギャップ結合以外の細胞間情報伝達の可能性も考慮にいれる必要があると考えられる。

#### 4) その他の可能性

SCNの分散細胞培養では、神経細胞間にシナプス連絡がなされていない培養開始時から同期したペプチドリズムが見られたが(Honma ら,1998)、これは、母親のリズムに同調した個々の振動細胞リズムを反映していたのかもしれない。*in vivo* での安定したサーカディアンリズム発現には、細胞間の接近や特殊な細胞配列が重要であるかもしれない。事実、視交叉上核細胞には、中枢神経ではめずらしく、神経細胞が soma を接して配列する構造がみられる(van den Pol, 1991)。成長因子と同様、細胞接着因子も、最近数多く発見されており、神経細胞間、グリア間、神経細胞・グリア間の接着因子がカップリングに何らかの作用をもつ可能性がある。Glass らは、SCNに NCAM(neuronal cell adhesion molecule)が多く発現していることに注目し(1994)、NCAM knock out mice でサーカディアンリズムを調べたところ、heterozygote では短周期を、そして homozygote では無周期性を示すことを見出した(Shen ら,1997)。この結果は、NCAM が振動発現そのものに必要である可能性も示しているが、リズムカップリングに必要であり、NCAM knock out のためカップリング障害が生じ、短周期や無周期が出現したとも解釈できる。同様に、Takahashi らのグループが mutagen を作用させた mice の中

から見出したリズム変異体の Clock mice は、heterozygote ではリズム周期が正常よりも長いこと、homozygote では連続暗で直ちに arrhythmic となることが特徴である(Vitaterna ら,1994)。行動などの表現型リズムの無周期性は、1.サーカディアン振動の停止、ペースメーカーを構成している複数の振動体間の脱同期、3.表現リズムとの間のマスキング(ペースメーカーの振動は持続)の可能性が考えられる。連続暗の下で 27 時間という長い周期でフリーランした後行動リズムが無周期となったクロック変異マウスに 6 時間の光照射を行うと、リズムが再び発現することが報告されている。この事実は、振動細胞間の脱同調を生じた結果、行動リズムが消失した可能性も示唆している。

#### おわりに

哺乳動物では、個体レベルで安定したサーカディアン振動、光同調が長い寿命の間維持されている。しかし、個々のSCN細胞の振動は、環境条件で大きくばらつき、脱同調によってSCN全体ではサーカディアン変動が消失することも明らかにされた。安定したリズムの発現には、多数の振動細胞のカップリングが必須と考えられる。哺乳動物のサーカディアンリズム発現機構の探求は、やっと分子レベルでの研究がスタートしたばかりである。次々と明らかにされていく遺伝子群の内、リズムの発振や光同調と同時にリズムカップリングに関わる遺伝子も、個体のリズム発現に必須の「時計遺伝子」の1つとして重要な位置を占めると考えられる。

この様に、最近の実験技術の発展により、SCNは、中枢神経のなかでも、おそらく唯一、*in vitro* で一個の神経細胞のモニタリングからでもその機能が解析できるという、すばらしい実験系となった。今後さらに reporter gene, transgene, knock out, cell line 化などで、機能

解析に大きな発展が期待できる。リズム研究の特徴の一つに、振動理論、あるいは下等生物における発見をもとに、仮定を立てて実験を行うことが可能な点がある。そこで、若い研究者の方々は、行動リズムなど、個体レベルでの機能解析によって明らかになった生物時計の基本を忘れずに、先端技術を応用することにより、この素晴らしい実験系を存分に生かした研究をしていただきたい。

## 文献

- Barres, B.A. (1991) New roles for glia. *J. Neurosci.* 11:3685-3694.
- Bina K.G. and Rusak B. (1996) Nerve growth factor phase shifts circadian activity rhythms in Syrian hamsters. *Neurosci. Lett.* 206, 97-100.
- Enright, J.T. (1980) The Timing of Sleep and Wakefulness, On the substructure and dynamics of the circadian pacemakers underlying the wake-sleep cycle. *Studies of Brain Function*, vol. 3, Springer Verlag, Berlin.
- Glass, J.D., Lee, W., Shen, H. and Watanabe, M. (1994) Expression of immunoreactive polysialylated neural cell adhesion molecule in the suprachiasmatic nucleus. *Neuroendocrinology.* 60:87-95.
- Grimaldi, M., Pozzoli, G., Navarra, P., Preziosi, P., and Schettini, G. (1994) Vasoactive intestinal peptide and forskolin stimulate interleukin 6 production by rat cortical astrocytes in culture via a cytidil AMP-dependent, prostaglandin-independent mechanism. *J. Neurochemistry* 63:344-350.
- Grosse, J., Velickovic, A., Davis, F.C. (1995) Entrainment of Syrian hamster circadian activity rhythms by neonatal melatonin injections. *Brain Res.* 686:10-16.
- Ding J.M., Chen D. Weber E.T., Faiman L.E., Rea, M.A. and Gillette, M.U. (1995) Resetting the biological clock: mediation of nocturnal circadian shifts by glutamate and NO. *Science* 266, 1713-1717.
- Green D.J., and Gillette R. (1982) Circadian rhythm of firing rate recorded from single cells in the rat suprachiasmatic brain slice. *Brain Res.* 245, 198-200.
- Earnest D.J. and Sladek C.D. (1987) Circadian rhythms of vasopressin release from individual rat suprachiasmatic explants *in vitro*. *Brain Res.* 382, 129-133.
- Honma S., Shirakawa T., Honma K., and Hiroshige T. (1984) Maternal phase setting of fetal circadian oscillation underlying the plasma corticosterone rhythm in rats. *Endocrinology* 114, 1791-1796.
- Honma, S., Katsuno, Y., Tanahashi, Y., Abe, H. and Honma, K. (1998) Circadian Rhythms of Arginine Vasopressin and Vasoactive Intestinal Polypeptide do not depend on Cytoarchitecture of Dispersed Cell Culture of Rat Suprachiasmatic Nucleus. *Neuroscience* (in press)
- Inouye, S.T. and Kawamura, H. (1979) Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76:5962-5966.
- Jiang, Z.G., Yang, Y.Q., Allen, C.N. (1997) Tracer and electrical coupling of rat suprachiasmatic nucleus neurons. *Neuroscience.* 77:1059-1066.
- King, D.P., Zhao, Y., Sangoram, A.M., Wilsbacher, L.D., Tanaka, M., Antoch, M.P.,

- Steeves, T.D.L., Vitaterna, M.H., Kornhauser, J.M., Lowrey, P.L., Turek, F.W. and Takahashi, J.S. (1997) Positive cloning of the mouse circadian *clock* gene. *Cell* 89:641-653.
- Lavialle, M. and Serviere, J. (1993) Circadian fluctuations in GFAP distribution in the Syrian hamster suprachiasmatic nucleus. *Neuroreport* 4:1243-1246.
- Lehman, M.N., Silver, R., Gladstone, W.R., Kahn, R.M., Gibson, M., Bittman, E.L. (1987) Circadian rhythmicity restored by neural transplant. Immunocytochemical characterization of the graft and its integration with the host brain. *J. Neuroscience* 7:1626-1638.
- Liu, C., Weaver, D.R., Strogatz, S.H., Reppert, S.M. (1997) Cellular construction of a circadian clock: period determination in the suprachiasmatic nuclei. *Cell* 91:855-860.
- Moore, R.Y. and Eichler, V.B. (1972) Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res.* 42:201-206.
- Morin, L.P., Johnson, R.F., and Moore, R.Y. (1989) Two brain nuclei controlling circadian rhythms are identified by GFAP immunoreactivity in hamsters and rats. *Neurosci. Lett.* 99:55-60.
- Murakami, N., Takamura, M., Takahashi, K., Utsunomiya, K., Kuroda, H. and Etoh, T. (1991) Long-term cultured neurons from rat suprachiasmatic nucleus retain the capacity for circadian oscillation of vasopressin release. *Brain Res.* 545:347-350.
- Murphy, S. and Pears, B. (1987) Functional receptors for neurotransmitters on astroglial cells. *Neuroscience* 22:381-394.
- Pittendrigh, C.S. and Daan, S. (1986) A Functional analysis of circadian pacemaker in nocturnal rodents. V. Pacemaker Structure, a clock for all seasons. *J. Com. Physiol.*
- Reppert S.M., and Schwartz W.J. (1983) Maternal coordination of the fetal biological clock in utero. *Science* 220, 969-971.
- Reppert S.M. and Uhl G.R. (1987) Vasopressin messenger ribonucleic acid in suprachiasmatic and supraoptic nuclei: appearance and circadian regulation during development. *Endocrinology* 120, 2483-2487.
- Richter, C.P. (1922) A behavioristic study of the activity of the rat. *Psychol. Monogr.* 1:1-55.
- Rietveld, W.J. (1984) The effect of partial lesion of the hypothalamic suprachiasmatic nucleus on the circadian control of behaviour. *Ann. Rev. Chronopharmacol.* 1:1-4.
- Saitoh, Y., Nihonmatsu, I. and Kawamura, H. (1987) Transplantation of the suprachiasmatic nucleus in the rat. *Acta Neurol. (Suppl.)* 41:41-45.
- Schwartz, W. J., Gross, R. A., and Morton, M. T. The suprachiasmatic nuclei contain an tetrodotoxin-resistant circadian pacemaker. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84 (1987) 1694-1698.
- Shen, H., Watanabe, M., Tomasiewicz, H., Rutishauser, U., Magnuson, T., and Glass, J.D. (1997) Role of neural cell adhesion molecule and polysialic acid in mouse circadian clock function. *Journal of Neuroscience*:17:5221-5229.
- Shibata S., Oomura Y., Kita H. and Hattori K. (1982) Circadian rhythmic changes of neuronal activity in the suprachiasmatic

- nucleus of the rat hypothalamic slice. *Brain Res.* 247, 154-158.
- Shibata S., Moore R.Y. (1993) Tetrodotoxin does not affect circadian rhythms in neuronal activity and metabolism in rodent suprachiasmatic nucleus *in vitro*. *Brain Res.* 606, 259-266.
- Shinohara K., Honma S., Katsuno Y., Abe H. and Honma K. (1994) Circadian rhythms in the releases of vasoactive intestinal polypeptide and arginine-vasopressin in organotypic slice culture of rat suprachiasmatic nucleus. *Neurosci. Lett.* 170, 183-186.
- Shinohara K., Honma S., Katsuno Y., Abe H. and Honma K. (1995) Two distinct oscillators in the rat suprachiasmatic nucleus. *Proc.Natl.Acad .Sci .U.S.A.* 92, 7396-7400.
- Silver, R., LeSauter, J., Tresco, P.A., Lehman, M.N., (1996) A diffusible coupling signal from the transplanted suprachiasmatic nucleus controlling circadian locomotor rhythms. *Nature* 382:810-813.
- Stephan F. and Zucker I. (1972) Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity are eliminated by suprachiasmatic lesions. *Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A.* 54,1521-1527.
- Sollars, P.J., Pickerd,G.E. (1997) Vasoactive intestinal peptide efferent projections of the suprachiasmatic nucleus in anterior hypothalamic transplants: correlation with functional restoration of circadian behavior. *Exp. Neurol.* 136:1-11.
- Sun, Z.S., Albrecht, U., Zhuchenko, O., Bailey, J., Eichele, G., Lee, C.C. (1997) RIGUI, a putative mammalian ortholog of the *Drosophila period* gene. *Cell* 90:1003-1011.
- Tei, H., Okamura, H., Shigeyoshi, Y., Fukuhara, C., (1997) Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila period* gene. *Nature* 389:512-516.
- Tominaga K., Inouye S.-I., and Okamura H. (1993) Organotypic slice culture of the rat suprachiasmatic nucleus: sustenance of cellular architecture and circadian rhythm. *Neuroscience* 58, 1025-1042.
- van den Pol A.N.(1980) The hypothalamic suprachiasmatic nucleus or rat: intrinsic anatomy. *J.Comp.Neurol.* 191, 661-702.
- van den Pol, A.N. and Tsujimoto, K.L. (1985) Neurotransmitters of the hypothalamic suprachiasmatic nucleus: immunocytochemical analysis of 25 neuronal antigens. *Neurosci* 15: 1049-1086.
- van den Pol A.N.(1991) The suprachiasmatic nucleus: morphological and cytochemical substrates for cellular interaction. In: *Suprachiasmatic Nucleus, The Mind's Clock*. Eds. by Klein,D.C., Moore,R.Y.and Reppert,S.M. Oxford Univ.Press, New York,pp.17-50.
- Viswanathan, N., Weaver, D.R., Davis, F., Reppert, S.M., (1994) Entrainment of the fetal hamster circadian pacemaker by prenatal injections of the dopamine agonist SKF 38393. *J. of Neuroscience.* 14:5393-5398.
- Vitaterna,M.H., King,D.P., Chang,A.-M., Kornhauser,J.M., Lowrey,P.L., McDonald,J.D., Dove,W.F., Pinto,L.H., Turek,F.W. and Takahashi,J.S. (1994) Mutagenesis and mapping of a mouse gene, *clock*, essential for circadian behavior. *Science* 264:719-725.

- Watanabe,K., Koibuchi,N., Ohtake,H. and Yamaoka, S. (1993) circadian rhythms of vasopressin release in primary cultures of rat suprachiasmatic nucleus. *Brain Res.* 624:115-120.
- Welsh D.K., Diomedes E.L., Logothetis M.M., and Reppert S.M. (1995) Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron* 14, 697-706.
- Welsh D.K. and Reppert,S.M. (1996) Gap junction couples astrocytes but not neurons in dissociated cultures of rat suprachiasmatic nucleus. *Brain Res.* 706:30-36.

## 第5回日本時間生物学会学術大会の開催の御案内

川崎晃一

九州大学・健康科学センター

日時: 1998年11月13日(金)―11月14日(土)

場所: 福岡市健康づくりセンター(あいれふ)10階(ホール&講堂)

福岡市中央区舞鶴2丁目5-1

地下鉄赤坂駅(福岡空港から15分; JR博多駅から8分位)下車、徒歩5分

一般講演(口演、ポスター)、シンポジウムを予定しています。口演会場とポスター展示場は同じフロアです。ふるってご参加下さい。

なお、今回は11月14日(土)午後13:30分より、あいれふホールにて市民公開講演会『生体のリズムと健康』を開催する予定です。

演題参加の案内は6月末の予定

演題締め切りは8月15日(土)の予定

問い合わせ先: 九州大学・健康科学センター

川崎晃一

TEL&FAX:092-583-7859

e-mail : [kawasaki@ihs.kyushu-u.ac.jp](mailto:kawasaki@ihs.kyushu-u.ac.jp)

## 運営委員選挙管理委員会からのお知らせ

柴田重信  
選挙管理委員長

本年度は運営委員の改選選挙の年に当たります。追って投票用紙を配布しますので、皆様のご協力の程よろしく申し上げます。

### 1.選挙管理委員会:

柴田 重信(委員長、早稲田大学人間科学部)

電話 0429-47-6732、030-807-5224)

高橋 清久 (国立精神神経センター、総長)

石田 直理雄(工技院、生命工学工業技術研究所、生体情報部)

### 2.選挙権:

1998年6月30日現在会員であること。

### 3.選挙用紙の配布:

8月上旬の予定。



## 第4回日本時間生物学会学会報告

柴田重信

早稲田大学人間科学部

昨年(2019年)の11月7日から8日にかけて開催されました第4回日本時間生物学会学術大会は会員の皆様の協力を賜りまして無事盛会で終わることができました。本年は *Clock* や *mPer* など哺乳動物の時計遺伝子が発見され、新聞にもぎわした年であり、このようなときに本学会を主催できたことを大変光栄に思っています。本学術大会の出席者数は約300名であり、また一般演題83題は前年度とほぼ同規模であったと思われます。今回、山口大学名誉教授で日本時間生物学会の会長でもいらっしゃる千葉喜彦先生は教育講演で、リズム研究の注意点と研究視点についてわかりやすく、またリズム研究の歴史にも触れられながら解説されました。今回の特別講演は日本を代表する新進気鋭のリズム研究者、近藤孝男(名大大学院、理学研究)先生にお願いしました。得てして特別講演は外国人を招待しがちであります。まず、日本を代表する研究者にやっていただいて良かったという意見を後日頂戴しました。近藤先生のシアノバクテリアの研究開始はそう昔ではないはずですが、アカパンカビやショウジョウバエの研究を追い越す勢いを感じたのは私だけではなかったのではないのでしょうか。さて、シンポジウムはリズム研究を「創薬から治療薬へ」という視点で開きました。講演者は以下のような方々にお願いしました。平沼豊一(明治製菓、薬品総研)、守屋孝洋(早稲田大学、人総研)、永山治男(大分医大、精神神経)、山田尚登(滋賀医大、精神医学)、内山 真(国立精神神経センター、精神保健研究所)、程肇(東大医科研、ヒトゲノム解析センター)。製薬企業の方にも講演していただいたこともあり、

なかなか活発に質問が出ていまして、非常に盛り上がったタイムリーなシンポジウム企画だったとの評判を得ています。

ここで今回の学術大会の特徴を以下に述べます。(1)基礎系の演題数が多かった。(2)製薬企業など大学以外の研究者等の参加者が例年より多かった。(3)懇親会の参加者、特に若手研究者の参加が多かった(140名)。今回の学会開催での反省点は、「もっと広報活動に力を入れて、他の学会の若手研究者を引き入れる工夫をすべき点である」と思われます。最後に無償で講演していただいた講演者ならびにシンポジスト、さらに学会運営に協力していただいた方々に厚く御礼申し上げます。今年の秋は魚がおいしい玄海の町、博多で皆様再びお会いしましょう。



# 日本時間生物学会

*Japanese Society for Chronobiology*

## 日本時間生物学会ホームページのご案内

大島五紀

日本時間生物学会ホームページ運営委員  
塩野義製薬(株) 実験動物研究センター

E-mail: itsuki.oshima@shionogi.co.jp

この記事をお読みになされている皆さんは、本学会のホームページがインターネット上で公開されていることを御存じでしょうか？もし、インターネットにアクセスできる方でまだご覧になったことが無い方は、是非

<http://wwwsoc.nacsis.ac.jp/jsc/> をご覧になって下さい(この URL はこの学会誌の表紙にも印刷されています)。上のロゴは、本学会ホームページの最初に表示されるページ(トップページ)からコピーしたものです。すでにホームページをご覧になられた方なら「あ、あれね」と思い出していただけたと思います。

本学会のホームページが公開されてから1年余りになります。昨年、第4回学術大会の学会会場でホームページ運営委員会が開催され、その席上で、「学会ホームページを運営して行く上で、このページを閲覧される方々の意見を採り入れ、より有用な情報を提供することが重要である。そのためには、まず学会員の方々に学会ホームページの存在を PR し、見てもらうことが大切であることから、学会誌にホームページを PR する記事を投稿すべきである。」という意見が出されました。そこで、この記事では

学会ホームページが公開されるまでの経緯と、現在のホームページの内容の PR、そして、今後ホームページをより充実させて行くにあたっての学会員の皆様へへのお願いを述べたいと思います。

そもそも、学会ホームページが開設されることになったのは、本学会誌 Vol.2 No.1 の「日本時間生物学会学術大会を終えて」という記事で、第2回学術大会会長を務められた名大の海老原先生が述べられているように、「コンピュータネットワークを利用し、一般学会員からの意見、提案などを吸い上げ、会員相互の意見交換ができる組織作りが時間生物学発展のために必要であろう」という意見が発端でした。海老原先生の意見は、学会運営委員会でも承認され、さっそく海老原先生を委員長とするホームページ運営委員会(表1)が結成され、1996年11月より、具体的なホームページの作製作業に入りました。

表1 ホームページ運営委員会の構成員

[委員長]	海老原史樹文(名大・農学部) (日本時間生物学会運営委員)
[委員]	吉田尚生 (北大大学院・地球環境) 海老澤 尚 (埼玉医大・医学部) 吉村 崇 (名大・農学部) 大島五紀 (塩野義製薬・実験動物) 竹内潤一 (山梨医大・医学部)* 竹内浩昭 (静岡大・理学部)*
[オブザーバー]	中島秀明 (岡山大・理学部) (日本時間生物学会事務局長)

\*:1997年よりホームページ運営委員を委嘱

海老原先生が私の大学時代の指導教官であったことから、私がリーダーになってホームページの作製作業に入るようにとの依頼を受けましたが、当時コンピューターに関する知識はある程度有していたものの、ホームページを作製するのは初めての経験で、HTML 文の文法を勉強することから始めて、作製作業を開始しました。幸い、ホームページ運営委員の中に、経験豊富な吉田さん(北大)がおられましたので、ホームページの内容や技術的な問題に関して、ずいぶん助けていただきました。

ホームページの作製にあたり、まず最初に検討したことは、ホームページの内容に関することでした。ホームページ運営委員の皆さんは全員が電子メールを利用できましたので、地理的には離れていたものの、ネットワークを利用して活発な意見交換を行うことができました。運営委員会での結論は、当初の目的を踏まえて、「単なる学会の宣伝ページでは無く、学会員や一般の閲覧者に対して時間生物学に関する有用な情報を提供できるものにしよう」というものでした。そこで、必要と思われる項目をピックアップし、最終的に表2に示す内容を盛り

込んだホームページを作製することになりました。次に問題となったのは、ホームページを公開するサーバーをどこにするかという事です。これについては、(1)大学あるいは大学の研究室のサーバー (2)民間のプロバイダー (3)公的機関のホームページ公開サービスの利用といった案が検討されました。(1)では、サーバーが担当者の身近にあるため、メンテナンスがし易いという利点がある一方で、担当者の移動により利用ができなくなる可能性があります。また、複数の委員によるメンテナンスを行う場合には、アカウントの取得やセキュリティ上の問題が生じます。(2)のケースでは経費の問題と共に、最近経営上の問題から閉鎖されるプロバイダーも見受けられることから、やはりホームページの安定した公開という点で問題があります。(3)のケースでは、経費が安い、あるいは無料である。(1)、(2)と比較して、長期間安定してホームページを公開できるといった利点があります。

当初は、名古屋大学農学部のサーバーを利用させていただく事を検討していましたが、吉田さんが学術情報センターの「WWW 資源提供サービス」の情報を提供して下さり、委員会で検討した結果、学術情報センターにサービスの利用申請を行うことになりました。申請に際しては、委員長の海老原先生にご尽力を頂き、無事に学術情報センターからの WWW 資源提供サービスを受ける許可を得ることができました。こうして、学会のホームページを公開できるサーバーが無料で利用できることになりましたので、97年2月を目処に、ホームページを開設することを目標にして、本格的な作製作業に入りました。これに先立ち、名古屋大学農学部のサーバーを利用させていただき、学会員、学会運営委員、ホームページ運営委員のメーリングリストを作製しました。メーリングリストというのは、そのアドレスへ E-mail を出すことにより、登録者全員に同一内容のメールが送ら

表2 日本時間生物学会ホームページの内容

英語版トップページ(現在はトップページのみ)
日本語版トップページ
時間生物学の内容紹介
時間生物学に関する情報
研究室紹介、研究室ホームページへのリンク
今月のトピック
時間生物学研究の情報コーナー
海外からの情報コーナー
時計遺伝子に関する総説と文献データベース
時間生物学会の案内
学会の歴史と活動内容
学会規約
学会誌の内容紹介
事務局からのお知らせ
学会役員の紹介
学会の入会案内
学会のメーリングリストの紹介とリンク
学術大会に関する情報
第4回学術大会の案内と演題リスト
第1回～第3回学術大会の記録
関連学会の情報とリンク
情報掲示板
学会開催等の案内
求人情報
ホームページ運営委員会のメンバー紹介

れるシステムで、委員会などで、ある提案に対するメンバーの意見を求めたり、多くの人に質問をして広く回答を求めたりする場合に便利なシステムです。勿論ホームページ運営委員会においても毎日のようにメーリングリストを用いた情報交換が行われています。

1997年2月19日に、学術情報センターの Society Home Village からのリンクが設定され、時間生物学会のホームページが公開されました。その後、公開内容の追加やアップデートを行い現在に至っています。中でも「海外からの情報コーナー」で Virginia 大学の山崎さんが毎月送って下さるセミナーレポートは、リズム研究の拠点となっているこの大学でしか聞くことができない、論文になる前の最新情報を日

本に居ながらにして入手できる本ホームページの目玉の一つです。英語の講演を聞いてメモを取り、内容を日本語で要約して毎回送るといふ、大変な作業をボランティアとして快く引き受けて下さった山崎さんには、この場をお借りして心から感謝させていただきます。

学術情報センターから提供していただいたアクセスログを基に、97年2月から12月までの本ホームページへのアクセス数を調べてみますと、開設以来、毎月50-80件程度のアクセスがあることがわかりました(図1)。また、97年12月から98年1月にかけてのアクセスログから、調べてみますと国内からのアクセスが約90%であり、大学や国公立の研究機関(.acドメイン)以外からのアクセスも予想より多いこと

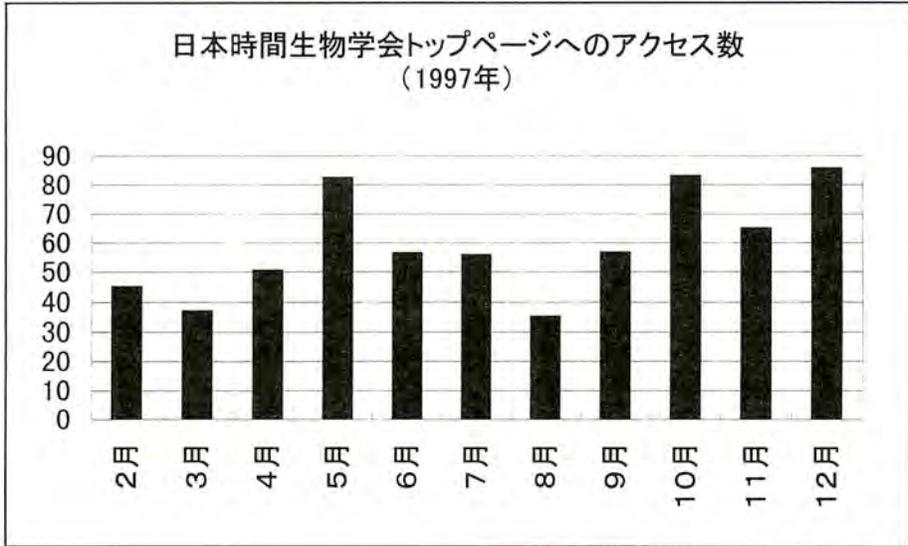


図1 1997年2月～12月までのホームページへの月間アクセス数

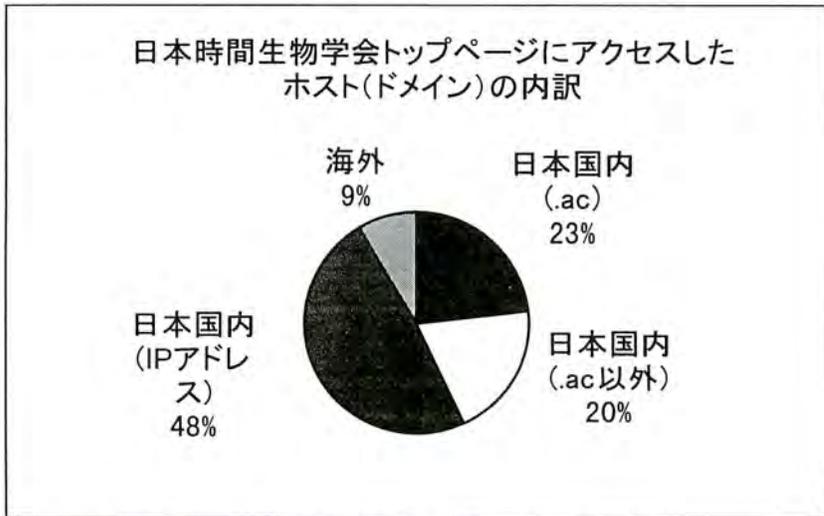


図2 ホームページへアクセスしたホスト(ドメイン)の内訳

がわかりました(図2)。近年、NHK で特集番組が放映されるなど、ようやく時間生物学が社会的にも注目されるようになってきました。

本ホームページが学会員の方々や、研究者の方々のみならず、時間生物学に興味を持つ一般の方々に対しても、有用な情報を提供する場になれば、時間生物学に対する社会の

認知を一層進めることになり、時間生物学の発展にも寄与できるのではないかと思います。今後はさらに、内容の充実を計ると共に、現在トップページのみにも留まっている英語ページを拡張し、広く海外へも情報発信を行う必要があると考えています。また、近年、時間生物学の基礎研究で得られた知見を基に、これらの知

識を臨床医学や労務管理等に応用する試みがなされています。本ホームページで提供している時間生物学に関する情報も多くが基礎研究に関する物であるため、今後は臨床の場で時間生物学の応用に取り組んでおられる先生方にもご協力をいただき、この分野の研究がどの様に私たちの実生活と結びついているのかというような情報も提供していきたいと考

えています。

学会ホームページがこれからも有用な情報交換の場として機能していくためには、会員の皆さんからのご意見やアドバイス、情報の提供などが不可欠です。特に若手の研究者の方々からの斬新なアイデアと情報提供をお待ちしています。どうかご協力をお願いいたします。