

## 目次

|  |    |
|--|----|
| 巻頭言  | 1  |
| 本間 研一  |    |
| 「時間治療の最前線」                                   |    |
| 1.ワークショップ「時間治療の最前線」オーバービュー                   | 2  |
| 藤村 昭夫  |    |
| 2.時間診断に基づく時間治療                               | 7  |
| 久保 豊   |    |
| 3.血管内皮末梢時計からみた心臓病の治療戦略                       | 11 |
| 前村浩二、武田憲彦、森田啓行、今井靖、永井良三                      |    |
| 4.時間薬理学に基づく時間治療 - vitamin D製剤を例として -         | 16 |
| 鶴岡 秀一  |    |
| 5.生体リズムと投薬タイミングに実証される時間治療の展望                 | 20 |
| 大戸 茂弘  |    |
| 6.ゲノム創薬と時間治療                                 | 28 |
| 赤羽 浩一  |    |
| 生物時計説はいかにして生まれたか…エルヴィン・ビュニング (1906-1990) の物語 |    |
| 1. 日周リズムの内律性と遺伝性                             | 34 |
| 田澤 仁   |    |
| 海外レポート                                       |    |
| カリフォルニア大学・バークレー校 Prof. Irving Zucker 研究室     | 43 |
| 高須 奈々  |    |
| 第2回チェコ国際昆虫学セミナー 光周性と周期性に参加して                 | 47 |
| 富岡 憲治  |    |
| 第9回日本時間生物学会・名古屋の報告                           | 50 |
| 太田 龍朗  |    |
| 第9回日本時間生物学会シンポジウムⅠ                           |    |
| 「分子時計の解明とその展開 ～分子から個体レベルまで」印象記               | 51 |
| 広田 毅   |    |
| 第9回日本時間生物学会シンポジウムⅡ                           |    |
| 「遺伝子発現と治療薬からみた体内時計研究」印象記                     | 53 |
| 吉信 ゆう子                                       |    |
| 第10回 日本時間生物学会学術大会                            | 56 |
| 第1回時間生物学世界大会                                 | 56 |
| 「日本時間生物学会 会誌 Vol.8 NO.2 2002」のお詫びと訂正         | 58 |
| 日本時間生物学会学術奨励賞公募のお知らせ                         | 59 |
| 会誌名称に関するアンケート結果について                          | 62 |
| 事務局からのお知らせ                                   | 63 |
| 賛助会員リスト                                      | 68 |
| 執筆者のプロフィール                                   | 69 |
| 執筆要領   | 71 |



## 血管内皮末梢時計からみた心臓病の治療戦略

前村浩二、武田憲彦、森田啓行、今井靖、永井良三

東京大学大学院医学系研究科 循環器内科学

血圧や心拍数などの心血管系機能や、不整脈、心筋梗塞などの循環器疾患の発症頻度には明らかな日内変動が見られるが、その分子メカニズムは十分に解明されていない。最近心血管系組織にも末梢体内時計が存在する可能性が示され、我々は、培養血管内皮細胞において体内時計関連遺伝子の発現が明らかな日内変動を呈することを示した。さらに、心筋梗塞の早朝多発の一因である PAI-1 遺伝子発現の日内変動が末梢体内時計により調節されている可能性を示した。現在、末梢体内時計により直接調節される標的遺伝子を探索する一方、自律神経系や内分泌系による調節と、末梢体内時計による調節の役割の違いについて研究中である。循環器機能は、少なくともその一部は末梢体内時計によって調節されている可能性があり、そのメカニズムを明らかにすることは、今後、循環器疾患の治療戦略を考える上で重要であると考えられる。

### 1. はじめに

さまざまな循環器疾患の好発時間には明らかな日内変動が見られ、既に降圧剤や狭心症薬の作用持続時間や投与時間を変えることにより、時間を考慮した循環器病の治療が行われている。一方、体内時計の中枢は視交差上核にあることが知られていたが、最近末梢組織にも体内時計の存在が示唆された。我々は、循環器系組織にも末梢体内時計が存在することを示し、その役割を明らかにするために循環器機能の日内変動に結びつく標的遺伝子の同定を試みている。末梢体内時計の病態形成における役割を明らかにすることは、循環器疾患の新たな治療戦略の開発につながると期待される。

### 2. 循環器疾患における概日リズム

血圧や心拍数など循環機能には、明らかな日内変動が見られる。例えば、血圧は日中に上昇し夜間に下降し、心拍数も日中に増加し夜間に減少する。また疾患の発症頻度にも明らかな日内変動が見られる(表1)。心筋梗塞、不安定狭心症、心臓突然死などの急性冠症候群、脳梗塞あるいは冠動脈スパズムは、早朝に多く発症する(図1)<sup>1), 13), 14)</sup>。さらに治療への反応性についても日内変動がみられ、例えば血栓溶解療法が朝方に効きにくいことが知られている<sup>3)</sup>。

血圧のタイプには夜間に血圧の低下する正常なタイプの dipper の他に、夜間血圧が低下しない nondipper、夜間過度に血圧の低下する extreme dipper、逆に夜間血圧の上昇する riser などのタイプが知られており、心血管病のリスクとの関連が示されている。心筋梗塞が午前中に多く発症する原因については、いくつか提唱されている。まず、早朝に交感神経の活動性が亢進することにより、血圧、心拍数、心筋収縮力が上昇し心筋の酸素需要が増加する一方、

表1 循環器病とサーカディアンリズム

さまざまな循環器疾患には明らかな好発時間帯が認められる。また、血圧のタイプには通常の夜間に血圧の低下する dipper、夜間血圧低下しない nondipper、夜間過度に血圧の低下する extreme dipper、逆に夜間血圧の上昇する riser などのタイプが知られており、心血管病のリスクと関連している。

|        | 疾患  | 好発時間    |
|--------|---|---------|
| 不整脈    | 心房細動<br>心室頻拍, 心室細動                                  | 夜朝      |
| 虚血性心疾患 | 急性冠症候群<br>(心筋梗塞, 不安定狭心症, 突然死)<br>冠攣縮性狭心症            | 朝<br>早朝 |
| 脳卒中    | 脳梗塞<br>クモ膜下出血                                       | 朝<br>午後 |
| 高血圧    | 早朝高血圧<br>dipper, nondipper, extreme dipper<br>riser |         |

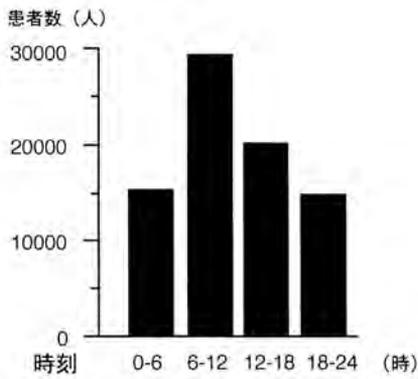


図1 急性心筋梗塞の発症時間帯 (文献4より改変して引用)  
午前6時から12時の間に急性心筋梗塞は最も多く発症する。

冠動脈の血管抵抗が上がることにより、冠血流量が減少し、需要と供給のアンバランスがおこることがあげられる。次に、早朝に血液凝固能が亢進することも一因として考えられている。これは血小板凝集能の亢進と、線溶系の活性低下によることが示唆されている。さらに早朝の凝固能亢進の原因を明らかにするため、血液凝固因子、線溶系因子のタンパク量あるいは活性値の日内変動を検討した臨床研究がいくつかなされてきた。これらの結果、多くの血液凝固因子、線溶系因子の中で明らかに日内変動を呈するのは、組織型プラスミノゲンアクチベーター (tPA) の活性とプラスミノゲンアクチベーターインヒビター1 (PAI-1) のタンパク量あるいはその

活性値である。つまり、tPAの活性が早朝に低下し、PAI-1の活性が上昇することにより線溶系の活性が早朝に低下し、血栓ができやすい状態にあることがわかった。さらに、tPAの活性低下はPAI-1の活性上昇による二次的なものと考えられ、PAI-1活性の日内変動が、血液凝固能の日内変動を調節している一義的なものだと考えられるようになってきている<sup>1)</sup>。心筋梗塞の初期治療に血栓溶解療法が行われるようになると、早朝発症の心筋梗塞は他の時間帯の心筋梗塞に比べて、血栓溶解療法が効きにくいことも気づかれるようになった<sup>2)</sup>。これも早朝にPAI-1の活性が亢進することにより説明可能である。しかし、PAI-1の活性がこのような日内変動を呈するメカニズムについては明らかにされていない。

### 3. 心血管系組織における末梢体内時計の存在

従来、体内時計は中枢に局在すると考えられていたが、体内時計を構成する遺伝子群がクロニングされると<sup>3)</sup>、それらは、末梢組織でも豊富に発現しており、さらにその発現パターンは日内変動を示すことが明らかになった<sup>16), 18)</sup>。そこで、末梢組織にも体内時計が存在する可能性が提唱された<sup>5), 17), 22)</sup>。我々は心血管系においても、末梢体内時計が存在するのではないかと考え、マウスを12時間ごとの明所と暗所で飼育し、経時的に末梢組織における体内時計構成遺伝子群の発現をノーザンプロット法で検討した。心臓や腎臓において、Bmal1、Per2、Cry1などの遺伝子発現が日内変動を呈することが明らかにな

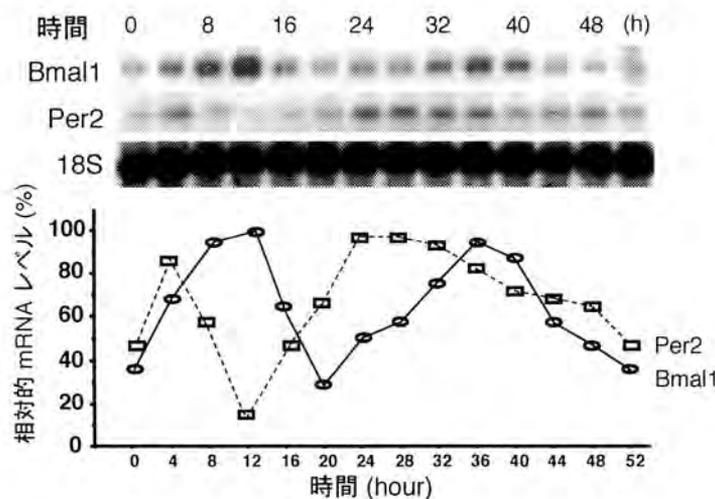


図2 培養内皮細胞での遺伝子発現の日内変動  
マウス培養内皮細胞を50%血清で2時間刺激した後、経時的にRNAを抽出し、ノーザンプロットを行った。体内時計に関連する遺伝子Bmal1とPer2発現の日内変動を示す。

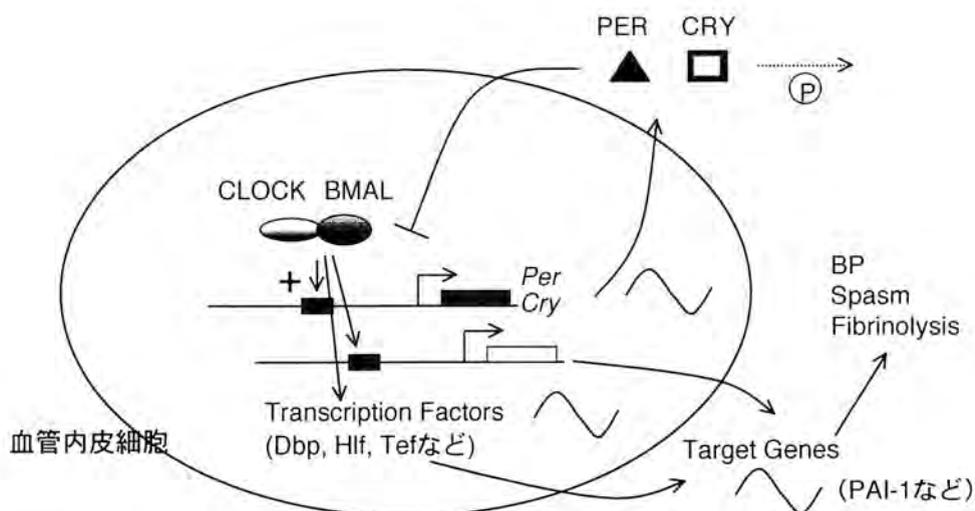


図3 CLOCK:BMAL1の標的遺伝子の探索

CLOCKとBMAL1の二量体はPerやCryのEboxに結合し、それらの遺伝子の発現を誘導する。細胞質においてPERはリン酸化を受けdegradationをおこす。残ったPERは次第に細胞内に蓄積し、核内に移行してCRYとともにCLOCKとCLIF/BMAL2による転写活性を抑制しネガティブフィードバックを形成する。この局所の体内時計が直接あるいは、Dbpなどの転写因子を介して、アウトプット遺伝子の発現の日内変動を調節していると考えられる。

った<sup>11)</sup>。また大動脈においても同様な日内変動が見られることが確認されている<sup>12)</sup>。さらに、心血管系を構成する筋細胞や、血管内皮細胞自体が、このような末梢時計が存在するか検討した。線維芽細胞のcell lineを用いた研究では、培養細胞を50%血清にて2時間刺激することにより、体内時計を構成する遺伝子発現が日内変動を呈することが知られている<sup>21)</sup>。そこで、同様に筋細胞や血管内皮細胞を血清にて刺激すると、培養細胞において、これらの遺伝子発現が日内変動を呈することが示された(図2)。これらの結果より、心血管系においても末梢体内時計が存在することが示唆される。

#### 4. 末梢体内時計によるPAI-1遺伝子発現の日内変動の調節

では末梢体内時計が生理的な役割をになっているかは、実際にその下流のアウトプット遺伝子があるのか、また中枢による調節と末梢による調節をどのように使い分けているのかを明らかにする必要がある。我々は、血管内皮細胞で発現している転写因子であるEndothelial PAS domain protein 1をbaitとして、Yeast two-hybrid法にてヒト臍帯静脈内皮細胞cDNAライブラリーをスクリーニングしている過程で、新規のbasic helix-loop-helix (bHLH) PASドメイン転写因子CLIF/BMAL2をクローニングし

た<sup>11) 11)</sup>。この遺伝子は、体内時計遺伝子であるBMAL1とホモロジーを有しBMAL1同様、体内時計の構成因子であると考えられる<sup>11) 11)</sup>。CLIF/BMAL2は、視床下部視交叉上核と血管内皮細胞で発現が確認された。前述したPAI-1は血管内皮細胞で多く発現していることより、血管内皮細胞の末梢体内時計のアウトプット遺伝子の候補としてPAI-1を考えた。ノーザンブロット法にてPAI-1遺伝子の発現が、暗相の初期にピークを有する日内変動を呈し、PAI-1活性の日内変動が遺伝子発現レベルで調節されていることが示された。次に、CLOCKとCLIF/BMAL2の二量体がPAI-1遺伝子を誘導できるかを検討した。ヒト臍帯静脈内皮細胞においてアデノウイルスを用いてCLOCKとCLIF/BMAL2を強制発現させるとPAI-1 mRNAの発現が亢進した。さらに、そのメカニズムを詳細に検討するために、PAI-1プロモーターを用いたレポーター解析を行った。その結果、CLOCKとCLIF/BMAL2の発現により、PAI-1のプロモーター活性が上昇し、これは、2カ所のCACGTGタイプのE-boxを介することが明らかになった。また、ゲルシフト解析により、CLOCKとCLIF/BMAL2の二量体はこのPAI-1遺伝子のE-boxに結合することも明らかになった。さらに前述のように体内時計の負の調節因子であるPERやCRYはCLOCKとCLIF/BMAL2によ

る PAI-1 遺伝子の誘導を抑制し、末梢組織においてもネガティブフィードバックループを形成していると考えられた。

以上の結果より末梢組織にも体内時計が存在し、少なくとも一部は局所において PAI-1 遺伝子発現の日内変動を調節していること、それが心筋梗塞発症の日内変動に寄与していることが示唆された<sup>12)</sup>。

## 5. 血管内皮細胞末梢体内時計により調節される遺伝子群

末梢体内時計により調節される遺伝子群は、CLOCK と BMAL により直接誘導されるか、Dbp などの転写因子を介して誘導されると考えられる (図 3)。そこで、血管内皮細胞末梢体内時計の下流遺伝子を網羅的に同定するために、cDNA マイクロアレイによる解析を行った。ヒト臍帯静脈内皮細胞に CLOCK と CLIF/BMAL2 を発現するアデノウイルスを感染させ、48 時間後に RNA を回収した。コントロールとしては、GFP を発現するアデノウイルスを感染させた細胞を用いた。CLOCK と CLIF/BMAL2 により発現が上昇した遺伝子群の中で、さらに DNA chip の解析から心臓や肝臓でその発現が日内変動を呈することが既に報告されている遺伝子を選択すると<sup>13)</sup>、その遺伝子は末梢体内時計の下流遺伝子である可能性があると考えた。それらの中には転写因子、分泌タンパク、膜受容体を含む遺伝子が含まれていた (表 2)。現在、この方法で同定された遺伝子と、血圧、血管トーン、線溶系の日内変動との関連を解析中である。さらに、その中には、最近新たな時計遺伝子として報告された Dec1 も含まれていた<sup>7)</sup>。ただし Dec1 の場合は下流遺伝子

表 2 血管内皮細胞において CLOCK と CLIF/BMAL2 により誘導されその発現が日内変動を呈する遺伝子  
従来明らかなように Per の著名な誘導が認められた。さらに最近時計遺伝子として提唱された DEC1 も誘導された。その他にもいくつかの転写因子、受容体、分泌タンパクが誘導された。

|               | 倍率    |
|---------------|-------|
| • Per1        | x 2.8 |
| • Per2        | x 3.2 |
| • Dec1/bHLHB2 | x 6.3 |
| • 転写因子        |       |
| • 膜受容体        |       |
| • 分泌タンパク      |       |

としてより、コアループを形成する転写因子として働いている可能性が高いようである。

## 6. おわりに

末梢体内時計の役割を明らかにするためには、さらに中枢の体内時計と末梢の体内時計による調節がどのように使い分けられているのか解明するのが今後の課題であろう。そのためには食餌制限で末梢の体内時計のみシフトさせたモデルで解析するのも一つの方法であろうが<sup>14)</sup>、我々は現在、血管内皮細胞特異的に末梢体内時計をノックダウンしたトランスジェニックマウスの開発を行っている。

また、末梢体内時計が、心肥大や動脈硬化でどのように障害されるのか、逆に末梢体内時計の障害がこれらの病態の形成に寄与しているのかも、今後明らかにしていく必要がある<sup>23)-25)</sup>。これらの末梢体内時計の役割、特に病態形成における役割が明らかになれば、従来の投薬のタイミングを考慮した循環器病の治療のみでなく、末梢体内時計を正常に保つ治療が可能になるかもしれない。

組織固有の日内リズム発生のメカニズムを理解することは、心筋梗塞や冠動脈スパズムなどの病態の理解をさらに深めることにつながり、これらの疾患のタイミングを考慮した予防、さらに時間に即した治療法の開発に結びつけられることが期待される。

## 参考文献

- 1) Andreotti, F., and Kluff, C. *Chronobiol Int* 8, 336-351 (1991)
- 2) Balsalobre, A., Damiola, F., and Schibler, U. *Cell* 93, 929-937 (1998)
- 3) Braunwald, E. *Circulation* 91, 1604-1606 (1995)
- 4) Cohen, M. C., Rohtla, K. M., Lavery, C. E., Muller, J. E., and Mittleman, M. A. *Am J Cardiol* 79, 1512-1516 (1997)
- 5) Dunlap, J. C. *Cell* 96, 271-290 (1999)
- 6) Hogenesch, J. B., Gu, Y. Z., Moran, S. M., Shimomura, K., Radcliffe, L. A., Takahashi, J. S., and Bradfield, C. A. *J Neurosci* 20, RC83 (2000)
- 7) Honma, S., Kawamoto, T., Takagi, Y., Fujimoto, K., Sato, F., Noshiro, M., Kato, Y., and Honma, K. *Nature* 419, 841-844 (2002)
- 8) Ikeda, M., Yu, W., Hirai, M., Ebisawa, T., Honma, S., Yoshimura, K., Honma, K. I., and

- Nomura, M. *Biochem Biophys Res Commun* 275, 493-502 (2000)
- 9) King, D. P., Zhao, Y., Sangoram, A. M., Wilsbacher, L. D., Tanaka, M., Antoch, M. P., Steeves, T. D., Vitaterna, M. H., Kornhauser, J. M., Lowrey, P. L., Turek, F. W., and Takahashi, J. S. *Cell* 89, 641-653 (1997)
  - 10) Maemura, K., Hsieh, C. M., Jain, M. K., Fukumoto, S., Layne, M. D., Liu, Y., Kourembanas, S., Yet, S. F., Perrella, M. A., and Lee, M. E. *J Biol Chem* 274, 31565-31570 (1999)
  - 11) Maemura, K., de La Monte, S. M., Chin, M. T., Layne, M. D., Hsieh, C. M., Yet, S. F., Perrella, M. A., and Lee, M. E. *J Biol Chem* 275, 36847-36851 (2000)
  - 12) Maemura, K., Layne, M. D., Watanabe, M., Perrell, M. A., Nagai, R., and Lee, M. E. *Ann N Y Acad Sci* 947, 398-402 (2001)
  - 13) Muller, J. E., Stone, P. H., Turi, Z. G., Rutherford, J. D., Czeisler, C. A., Parker, C., Poole, W. K., Passamani, E., Roberts, R., Robertson, T., and et al. *N Engl J Med* 313, 1315-1322 (1985)
  - 14) Muller, J. E., Tofler, G. H., and Stone, P. H. *Circulation* 79, 733-743 (1989)
  - 15) Nonaka, H., Emoto, N., Ikeda, K., Fukuya, H., Rohman, M. S., Raharjo, S. B., Yagita, K., Okamura, H., and Yokoyama, M. *Circulation* 104, 1746-1748 (2001)
  - 16) Oishi, K., Sakamoto, K., Okada, T., Nagase, T., and Ishida, N. *Biochem Biophys Res Commun* 253, 199-203 (1998)
  - 17) Ripperger, J. A., and Schibler, U. *Curr Opin Cell Biol* 13, 357-362 (2001)
  - 18) Sakamoto, K., Nagase, T., Fukui, H., Horikawa, K., Okada, T., Tanaka, H., Sato, K., Miyake, Y., Ohara, O., Kako, K., and Ishida, N. *J Biol Chem* 273, 27039-27042 (1998)
  - 19) Stokkan, K. A., Yamazaki, S., Tei, H., Sakaki, Y., and Menaker, M. *Science* 291, 490-493 (2001)
  - 20) Storch, K. F., Lipan, O., Leykin, I., Viswanathan, N., Davis, F. C., Wong, W. H., and Weitz, C. J. *Nature* 417, 78-83 (2002)
  - 21) Yagita, K., Tamanini, F., van Der Horst, G. T., and Okamura, H. *Science* 292, 278-281 (2001)
  - 22) Yamazaki, S., Numano, R., Abe, M., Hida, A., Takahashi, R., Ueda, M., Block, G. D., Sakaki, Y., Menaker, M., and Tei, H. *Science* 288, 682-685 (2000)
  - 23) Young, M. E., Razeghi, P., Cedars, A. M., Guthrie, P. H., and Taegtmeier, H. *Circ Res* 89, 1199-1208 (2001)
  - 24) Young, M. E., Razeghi, P., and Taegtmeier, H. *Circ Res* 88, 1142-1150 (2001)
  - 25) Young, M. E., Wilson, C. R., Razeghi, P., Guthrie, P. H., and Taegtmeier, H. *J Mol Cell Cardiol* 34, 223-231 (2002)

## 生体リズムと投薬タイミングに実証される 時間治療の展望

大戸 茂弘

九州大学大学院薬学研究院医療薬科学専攻臨床薬学講座薬物動態学分野

生体には体内時計が存在し、その本体は視神経が交差する視交叉上核（SCN）に位置し、時計遺伝子により制御されている。この機構により多くの生体機能や疾患症状に24時間周期のサーカディアンリズムが認められる。近年、医薬品適正使用の向上を目指し、投薬時刻により薬の効果が大きく異なることがわかってきた（時間薬理学：chronopharmacology）。また、医薬品の添付文書などに服薬時刻が明示され、時間を考慮した製剤も臨床応用されるに至っている。しかし、時間治療のさらなる振興を図るには、これまで蓄積された時間薬理学的所見を体系化していく必要がある。このような背景から、我々は細胞レベルの周期性を考慮した投薬設計、新規副作用（生体の恒常性の破綻）を克服するための投薬設計の構築および至適投薬タイミングの設計を容易にする生体リズム操作方法の開発などを目的とした研究を行っているので紹介する。薬物療法の最終ゴールが治療の個別化であるとすれば、個々の生体リズムにマッチした投薬設計を構築することが必要不可欠といえる。

### はじめに

近年、医薬品適正使用の向上を目指し、薬物治療の個別化を指向した研究が活発に行われている。これまで薬物動態の個体差に関する研究は、薬物濃度に着目した研究が中心であった。しかしながら、分子生物学的手法の急速な発展により個体間の変動に着目した遺伝子診断や薬物代謝酵素の多型性に関する研究が活発に行われ、薬物動態の個体差に着目した投薬設計は確立されつつある。また21世紀は薬物治療のテーラーメイドの時代に突入するものと思われる。したがって、医薬品適正使用のさらなる充実を図るには、個体間変動のみならず個体内変動に着目した研究の充実は必至である。こうした状況の中で、投薬時刻により薬の効き方が大きく異なることがわかってきた（時間薬理学：Chronopharmacology）<sup>1)</sup>。また薬の効き方を決定する薬の体内での動き方や薬に対する生体の感じ方も生体リズムの影響を受ける。最近では、医薬品の添付文書などに服薬時刻が明示されるようになってきた。しかしながら、抗腫瘍薬を含む多くの薬物に関しては治療応用されるに至っていない。その理由として薬効や薬物動態の日周リズムの制御機構が明らかにされていない点

と蓄積された時間薬理学的所見が整理、体系化されておらず臨床現場に役立つ形に整備されていない点あげられる。このような状況の中で我々は、「薬物活性の日周リズム：薬力学的側面および薬物動態学的側面からの機序解明」の研究に力を注いできた<sup>2)</sup>。これらの中から抗腫瘍薬を中心にいくつかの研究内容について紹介する。

### (1) 生体リズムの制御機構

生体には、体内時計が存在し、種々の生体リズムを制御している。その本体は、視神経が交差する視交叉上核（suprachiasmatic nucleus, SCN）に位置している<sup>3,4)</sup>。体内時計の発振周期は、24時間ではなく、ヒトの場合約24.2-25.1時間である。環境サイクルのない、いわゆる恒常環境下での約1日の変動リズムを「概日リズム」という。このような変動を24時間のサイクルに合わせることを「同調」といい、光が最も強力な作用を示す。また、体内時計が発する概日リズム振動のことを「発振」という。その信号が例えば松果体のメラトニン分泌を調節するような機構を「出力」という。これらの機構はSCNの時計遺伝子により制御されているが、その遺伝子は中

枢のみならず末梢組織でも発現し、ローカル時計として機能している<sup>10)</sup>。このことはSCNが中心時計として働き、他の部位に発現している時計遺伝子はローカル時計として働き、SCNから何らかの情報（ホルモン、神経機能）が他の臓器の機能をコントロールしていると考えられる<sup>10-13)</sup>。すなわち、生体は体内時計の階層構造をうまく利用し、生体のホメオスタシス機構を維持している。

## (2) 時間薬理学

### 2-1. 生体リズムと疾患

起床時に副腎皮質ホルモン（コルチゾール）の急激な上昇により、我々は眠りからさめて行動できるように身体の体制が準備される。引き続き交感神経の活動が活発になり、眠りに付く頃には副交感神経の活動が活発になる。またホルモン分泌や神経活動の日周リズムと関連して様々な疾患に日周リズムが認められる<sup>14)</sup>。例えば、高血圧症患者では、一日の中で血圧が最高に達する夕方頃に高血圧症状を示す。血圧の日周リズムとも関連して、クモ膜下出血や脳梗塞の発症頻度は、時間により大きく変化する。コレステロールの生合成は夜間に高まる。喘息発作による呼吸困難の増加および最大気流量の低下は深夜に起こる。消化性潰瘍時の胃酸分泌増加は夜間に起こる。歯などの痛みは夜間から早朝に発現する。以上のように喘息、高血圧、高脂血症、内分泌疾患などでは、症状が悪化する時間帯が決まっており、投薬タイミングを設定することが比較的容易である。一方、病型が多岐にわたり一律に疾患症状の日周リズムを規定できない場合もある。また、睡眠障害などのいわゆる生体リズム障害は、生体リズムが変容していることが問題となる。

### 2-2. 生体リズムと薬物活性リズム

疾患症状や生体機能に日周リズムが存在するため添付文書などに至適投薬時刻が記載されている代表的医薬品として気管支喘息治療薬、降圧薬、高脂血症治療薬、副腎皮質ホルモン、利尿薬、消化性潰瘍治療薬、睡眠薬などがある。一方で、疾患症状の日周リズムの存在の有無にかかわらず多くの薬物の効果、副作用および薬物動態が、投薬時刻により異なることが知られている。その機序としてレセプター機能、神経伝達物質などの生体の感受性や吸収、分布、代謝、排泄などの薬物動態の日周リズムが関与している。薬物動態の日周リズムは、吸収、分布、代謝、排泄の時間的变化により生じる<sup>15)</sup>。経口投与

時の薬物吸収過程は、薬の物理化学的性質、生体膜の面積と構造、胃内通過時間および消化管のpH、運動および血流量などの要因により支配されている。これらの要因には日周リズムが認められ、薬物吸収リズムの機序であると考えられる。薬物は血中蛋白（アルブミンやグロブリン）と結合するため、血中蛋白濃度や薬物蛋白結合率に影響を及ぼす血中遊離脂肪酸などの生体内物質の日周リズムにより遊離型の薬物濃度が変動し、その結果薬物の組織への移行性が変化することが考えられる。薬物の肝代謝は、一般に肝酵素活性および肝血流量により制御されている。両者ともに日周リズムを示し、薬物代謝の日周リズムの機序として考えられる。最近、遺伝子型と薬物代謝の表現型との関連が活発に研究されている。薬物代謝の表現型から評価して、代謝が亢進している群と低下している群の二群間で、デブリソキンの代謝能が昼間低下することが明かにされている<sup>16)</sup>。このように、遺伝子型毎に薬物代謝能の日周リズムを比較検討することにより、個体間変動を減少させ、個体内変動をより正確に評価できるものとする。多くの薬物が腎臓を介して排泄される。糸球体ろ過、腎血流量、尿のpHおよび尿細管の再吸収は、活動期に高まる有意な日周リズムを示す。これが主として腎から未変化体として排泄される親水性薬物の排泄の日周リズムの機序と考えられる。

### (3) 薬物活性日周リズムの機序解明と生体リズムマーカーの探索。

一般に抗腫瘍薬の効果は、薬物動態、薬力学および癌細胞の感受性により規定される。また感受性は、癌細胞の増殖状態、細胞周期によって異なることが知られている。一方、抗腫瘍薬の薬物治療において、癌細胞に対し抗腫瘍効果を最大にする点と正常細胞に対し毒性を最小にする点が重要である。抗腫瘍薬の共通した副作用として骨髄抑制があり、その他頻度の高い副作用として消化管障害がある。すなわち、活発に増殖を繰り返している骨髄細胞や消化管細胞は抗腫瘍薬による副作用の標的臓器となりうる。健康人の骨髄細胞のDNA合成能には、活動期に高値を、休息期に低値を示す有意な日周リズムが認められる<sup>17-19)</sup>。同様の所見は、直腸粘膜細胞でも認められる。一方、癌細胞のDNA合成能にも日周リズムが認められる。すなわち、生体内では抗腫瘍薬に対する細胞の感受性が時間と共に変化していることが推察される。生体の感受性の側面から細胞動態（細胞周期や標的酵素の動き）の日周リズムが、正常細胞

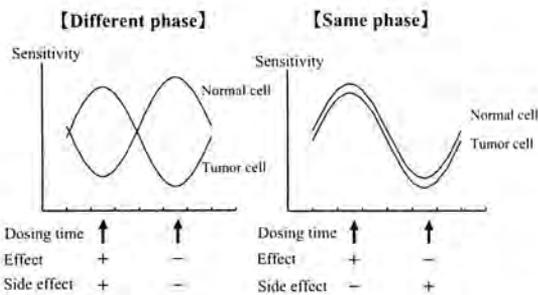


図1. 抗腫瘍薬の時間薬物治療の指針

胞と癌細胞との間で同じか異なるか（リズムの位相が同じか異なるか）が重要である（図1）。位相が異なる場合は正常細胞の感受性が低く、癌細胞の感受性が高い時刻に投薬することが望ましい。位相が同じ場合は、薬物を用い細胞動態を制御することにより細胞種間に位相の差異を見いだすことも可能である。一般にmRNAの発現はS期の直前あるいは前半に高まり、その後DNA合成と共にタンパク合成能が高まる。期特異性薬剤の作用機序としては、DNA、RNAおよびタンパク合成阻害や紡錘系形成阻害などが知られており、細胞分裂の中で特定の期（S期、M期）に有効である。実際ヒト白血病細胞（HL-60）を対象に、細胞培養系で、S期特異性薬剤であるメトトレキサート（MTX）の抗腫瘍効果は、S期の細胞の割合が増加する時間帯に増強し、減少する時間帯に減弱する<sup>20,21)</sup>。その機序として薬力学的側面より、標的酵素であるジヒドロ葉酸還元酵素（DHFR）の活性およびそのmRNAの時間的変化が関与している。

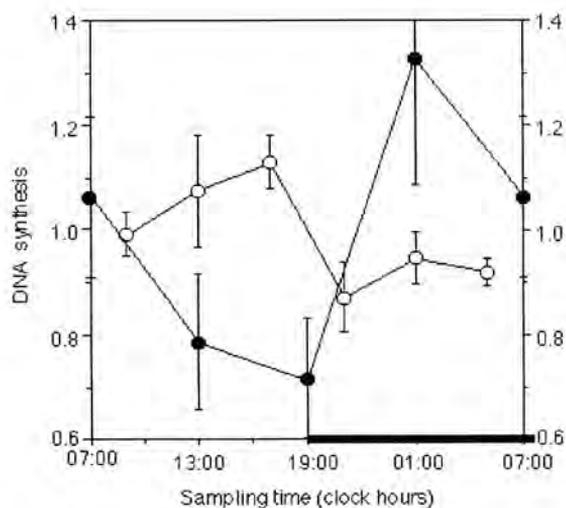


図2. colon-26細胞および骨髄細胞のDNA合成の日周リズム。●: colon-26; ○: 骨髄細胞 (N=6, mean ± s.e.)

マウスを対象としたI型トポイソメラーゼの選択的阻害剤である塩酸イリノテカン（CPT-11）投薬後の体重減少は、活動期後半から休息期前半の投薬で最大となり、休息期後半の投薬で最小となる<sup>22)</sup>。CPT-11投薬後の白血球減少は、休息期投薬で最大となり、活動期前半投薬で最小となる。この機序としてCPT-11の標的酵素であるI型トポイソメラーゼ活性の時間的変化が一部関与している。一方、footpadにcolon26を移植したマウスにおいて、CPT-11の抗腫瘍効果は、毒性が減弱する時間帯（19：00）の投薬で増強し、毒性が増強する時間帯（07:00）の投薬で減弱する。DNA合成能の日周リズムには、正常骨髄細胞と移植した腫瘍細胞との間で約12時間の位相の差が認められる（図2）。これが効果と毒性のリズムの位相差に関与しているものと思われる。またCPT-11投薬後のCPT-11および主活性代謝物であるSN-38の血中濃度にも投薬時刻による差異が認められる。血中エステラーゼ活性には活動期に高値を示す日周リズムが認められ、これがCPT-11からSN-38への代謝の時間的変化に関与しているものと思われる。その他、受容体を介して作用を発揮するインターフェロン（IFN）の抗ウイルス作用および抗腫瘍作用、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の白血球増加作用も投薬時刻により異なる。その機序としてレセプターの日周リズムが関与している<sup>23,24)</sup>。現在、標的細胞のDNA合成能、標的酵素、レセプター機能および薬物動態の日周リズムの成因を時計遺伝子など周期的に変動する因子の中から探索している。

#### (4) 新規副作用（生体の恒常性の破綻）とそれを回避するための投与方法。

生体リズムは、健康を保持・増進させる上でも重要な役割を果たしている。生体リズムの破綻が不眠や胃腸障害などを引き起こし、持続的に続くと精神疾患などの慢性の疾患を生じることもしばしばない。一方、薬物治療中に睡眠・覚醒のサイクル、コチゾール、体温などの生体リズムが変容することが注目され始めている。

IFNは腫瘍および慢性肝炎治療などに幅広く使用されているが、重要な副作用としてリズム障害と関連の深いうつ状態、不眠、自殺などが報告されている<sup>30-33)</sup>。IFN非投与時には、ヒトにおいてリンパ球数は08:00時頃に最低となり、22:00時頃に最高となるが、コチゾール濃度は08:00時頃に最高となり、22:00時頃に最低となる。これらのリズムはIFNを08:00時頃に連日投与するとリンパ球数は低値を維持

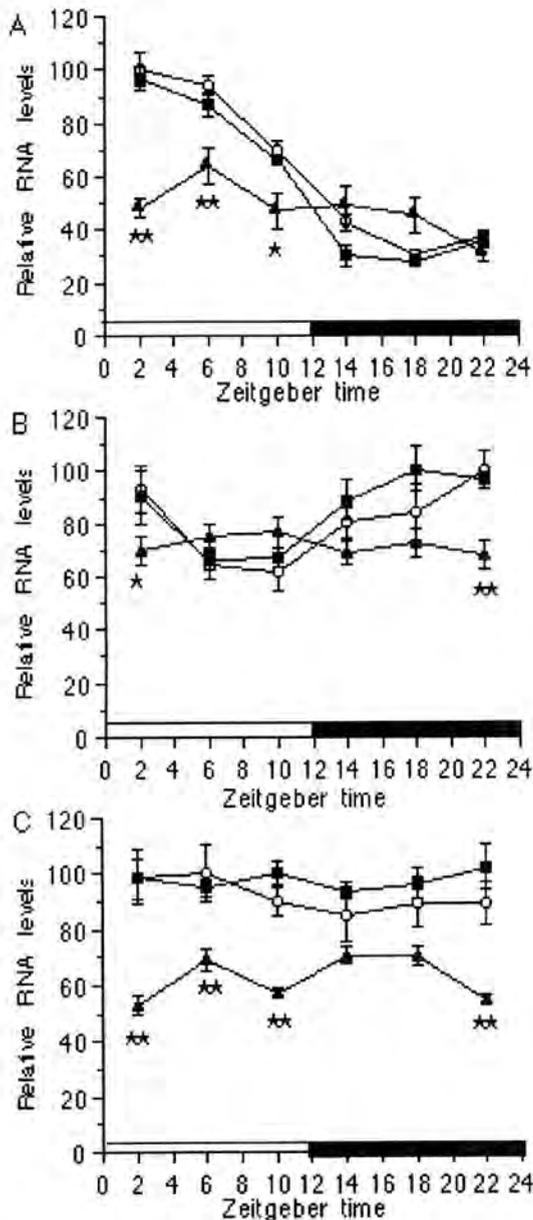


図3. SCNの時計遺伝子 mRNA 発現に及ぼす IFN 投薬時刻の影響<sup>32,33)</sup>。明暗周期 (明期 (休息期) : 07:00-19:00、暗期 (活動期) : 19:00-07:00) 条件下で飼育した ICR 雄性マウスを対象に IFN (2MIU/kg, sc) を 07:00 あるいは 19:00 のいずれかに 6 日間連続投与した。A:Per1, B:Bmal1, C:Clock, ■:07:00 (ZT0) 投薬, ▲:19:00 (ZT12) 投薬, ○:saline 投薬, \*\*:P<0.01, \*:P<0.05, 相当する時刻のコントロール群との比較 (N=6, mean±s.e.)

し、コーチゾール濃度は高値を維持する。すなわち正常なリンパ球数とコーチゾール濃度の逆相関関係は崩れリズムは消失する。一方、IFN を 22:00 時頃に隔日投与すると正常に維持される。以上の結果は、IFN を夜間に投与し、かつ隔日に投与することが生体リズムを崩さない理想的な投与方法であることを

示している。しかしながら、IFN の生体リズム障害の機序については明らかにされていない。そこで、マウスを対象に、体内時計の本体である視交叉上核の時計遺伝子の日周リズムが薬物投与中に如何に変容するかを明らかにすること、および時計遺伝子の日周リズム障害を克服するための至適投薬設計を構築することを目的に以下の検討を行った<sup>32-34)</sup>。

マウスを対象として、IFN による生体リズムの障害が末梢のみならず SCN でも認められることを明らかにした (図 3)。薬物非投与時には SCN の Per1、Per2、Per3 mRNA 発現量はそれぞれ明期 (休息期) 前半、後半、中間に最高値を示す。一方、IFN の連続投与によりそれらのリズムの振幅は顕著に低下する。Per 遺伝子の転写促進因子である Clock および Bmal1 の mRNA も抑制される。また光刺激による Per 遺伝子の誘導も障害される。薬物非投与時には肝臓や副腎における Per1 mRNA は SCN と比べ数時間遅れて最高値を示す。一方、IFN 投薬によりリズムは障害される。行動や体温のリズムは暗期に高値を示すが、IFN 投薬によりその振幅は顕著に低下する。IFN は末梢でリンパ球を活性化させたり、抗腫瘍効果を示すとともに、中枢性の副作用を示す。従って、IFN は中枢と末梢の両方に作用すると考えられる。SCN を電氣的に破壊することにより末梢のリズムは障害される。一方、環境を操作することにより行動リズムを変容させた場合、SCN のリズムは必ずしも変化しない。そのため IFN の末梢での作用が SCN の機能障害の機序であるとは考えがたい。また IFN がそのレセプターを介して誘導する interferon stimulated gene factor (ISGF) は SCN でも強く発現しており IFN の SCN での直接作用を指示する所見である。IFN による時計機能障害は活動期前半の投薬で認められるが、休息期前半の投薬では認められない。この結果は上記ヒトでの所見と類似している。また SCN における IFN レセプターには活動期に高値を示す有意なリズムが存在するため、時計機能障害の投薬時刻による差の機序として考えられる。このような現象は他の薬物でも認められるため IFN 以外の薬物に関しても生体のホメオスタシス機構を維持しながら治療していくことが、副作用、合併症の防止という点で重要であろう。

#### (5) 生体リズム (生体内環境) を操作することによる新規時間治療法の開発。

生体リズムは、生活パターン、治療状況、疾患の症状など様々な要因により影響される<sup>35,36)</sup>。そのた

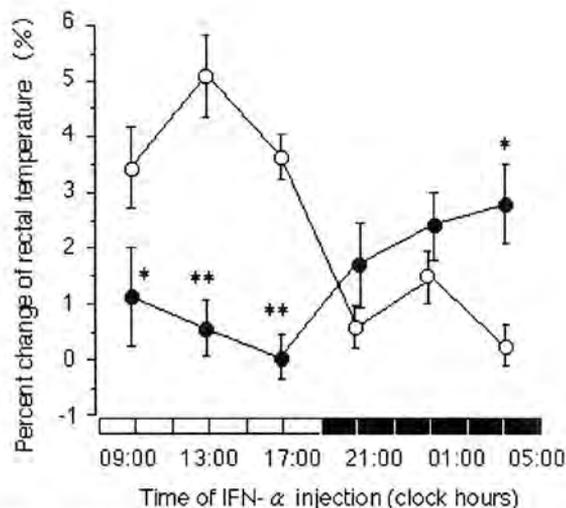


図4. IFN- $\alpha$  (10 MIU/kg, iv) 投薬後0.5時間目における直腸温の日周リズムに及ぼす摂食条件の影響<sup>37)</sup>. ○: 自由摂食; ●: 時間制限摂食 (摂食時間帯 09:00-17:00). \*\*:P<0.01, \*:P<0.05, 相当する時刻の自由摂食群との比較 (N=8-10, mean  $\pm$  s.e.)

めリズムの位相が前進したり後退する。また振幅が小さくなり消失することもある。ヒトを対象とした研究で栄養液 (デキストリン、アミノ酸などの混液) の投与方法によりコーチゾールの日周リズムは大きく異なる<sup>36)</sup>。通常の食事リズムにあわせて栄養液を昼間投与した場合、コーチゾールは朝最高値、夜最低値を示す有意な日周リズムを示す。一方、栄養液を夜間投与あるいは一日中連続投与した場合には、コーチゾールの日周リズムは変容する。生体リズムは個体内変動であるが、個体差が認められるため、時間治療において個体差を調整することが重要である。

マウスを対象にIFN- $\alpha$ の薬物活性の日周リズムに及ぼす摂食時間帯の影響について検討した<sup>37)</sup>。自由摂食群における体温には明期に低値を、暗期に高値を示す有意な日周リズムが認められ、IFN- $\alpha$ による発熱作用は暗期投薬において軽減される (図4)。また、IFN- $\alpha$ の抗ウイルス作用の指標である 2'5' OAS 活性は発熱が軽減される 07:00 投薬時に高まる。一方、IFN- $\alpha$ による発熱および抗ウイルス作用ともに摂食時間帯を繰り返し操作することにより、自由摂食群におけるリズムと位相が逆転する。摂食時間帯を繰り返し操作することによりIFN- $\alpha$ の薬物活性の日周リズムが変化する機序として、IFN- $\alpha$ 薬物動態およびIFNレセプター発現量の日周リズムの変化が一部関与している。同様の所見は、バルプロ酸、テオフィリン、ゲンタマイシン、メトトレキサート、

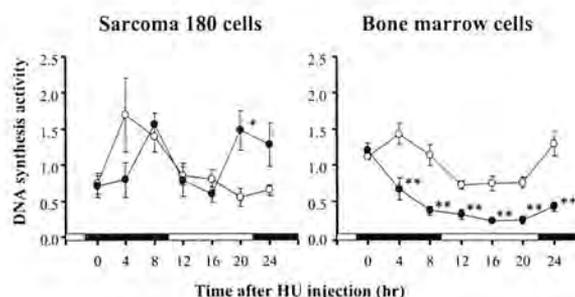


図5. ヒドロキシウレア (HU: 300 mg/kg, ip) あるいは生理食塩水を 09:00 投薬後の S-180 sarcoma 細胞 (左図) および骨髄細胞 (右図) における DNA 合成の日周リズム<sup>39)</sup>. ○: saline 投薬; ●: ヒドロキシウレア投薬. \*\*:P<0.01, \*:P<0.05, 相当する時刻のコントロール群との比較 (N=6, mean  $\pm$  s.e.)

モルヒネ、漢方薬など多くの薬物で認められる<sup>38)</sup>。

CPT-11の効果増強と副作用軽減を目的として細胞周期同調作用を有するヒドロキシウレア (HU) 併用時におけるCPT-11の至適投薬タイミングについて検討した<sup>39)</sup>。CPT-11の抗腫瘍効果はHU投薬後20時間目併用群が最大となり単独投与と比較して有意に増強する。体重減少作用は0時間目併用群 (同時併用群) が最小であったが単独投与と差は認められない。薬物未処置時には、腫瘍および骨髄の細胞動態は類似しDNA合成能はともに休息期に高値を示し、活動期に低値を示す (図5)。HU投薬により骨髄細胞のDNA合成は抑制され、その作用は20時間以上持続する。しかし腫瘍細胞のDNA合成はHU投薬後一時的に抑制されるがすぐに回復する。更に薬物未処置時において低値を示した活動期後半のDNA合成能はHUによって高値を示すなど、そのリズムは変容する。CPT-11はS期特異的な抗腫瘍薬であるため、その殺細胞効果と標的細胞の細胞動態との間に関連性がみられる。以上のことから、摂食条件の繰り返し操作および細胞同調剤の投与により、種々の薬物の薬物活性日周リズムの位相を制御することが可能となる。これにより、生体リズムをモニターし至適投薬タイミングを設定する受動的な従来の時間治療に対し、生体リズムを操作することにより至適投薬タイミングを設定する能動的な時間治療が可能となる。

## (6) 時間治療の今後の展開

この10数年の間にいくつかの薬物の添付文書に投薬時刻が明示されるに至っている。また時間薬理学的所見を考慮したDDSの開発も進み治療応用されるに至っている。一方、最近急速に発展した分野とし

て体内時計の分子機構をあげているが、今後の重要な課題は臨床応用である。そのため時計遺伝子に関する情報に基づき時間治療の今後の展開について紹介する。

睡眠障害の機序として時計遺伝子の変容が一部関与していると考えられるが、家族性睡眠相前進症候群 (familial advanced sleep phase syndrome: FASPS) における hPer2 リン酸化部位の突然変異が知られている<sup>10)</sup>。FASPS は常染色体優性の生体リズム異常であり、睡眠、体温、メラトニンの各周期が正常より4時間進んでいる「早起き」型を示す。FASPS 患者では、hPer2 のCKIε 結合領域内でセリンがグリシンに置換した突然変異が見られる。このためCKIε による hPer2 のリン酸化低下が生じている。したがって、FASPS 患者に睡眠行動の異常が発現するのは、生体リズムに影響を及ぼす時計遺伝子 hPer2 のミスセンス突然変異によると考えられる。このようにある種の時計遺伝子の変異により生体リズムが障害されることが明らかにされている。心筋梗塞の発症は朝にピークを示す日周リズムが認められる。心筋梗塞の発症に関与する線溶系の調節因子、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター1 (PAI-1) 遺伝子発現がE-box を介して時計遺伝子により調節されている<sup>11)</sup>。in vitro の系において PAI-1 は、CLOCK と BMAL2 のヘテロダイマーのE-box への結合により転写活性化されるが、この活性化は PER2 およびCRY1 によって抑制される。このように疾患の日周リズムと密接に関連した遺伝子の日周リズムも時計遺伝子の制御下にある。またSCN や肝臓でリズム的に発現している Dbp は出力系の遺伝子であり、時計遺伝子により制御されている<sup>12)</sup>。肝臓におけるアルブミン遺伝子や数種のP450分子の転写はこの転写因子の制御下にあり、転写活性が概日リズムを示す<sup>13)</sup>。従って、Dbp の概日リズムが薬物動態の日周リズムの成因の一部であると考えられている。今後種々の薬物代謝酵素、レセプター機能などの日周リズムの成因を体内時計の分子機構の側面より解明することにより、生体リズムマーカーを抽出することも可能となるであろう。

生体リズムは、生活パターン、治療状況、疾患の症状など様々な要因により影響される。また種々の薬物が、体内時計に作用し、生体リズムの位相を変化させることが明らかにされつつある。光刺激は主観的暗期に特異的に体内時計の位相を変化させるが、多くの非光刺激は明期に作用して体内時計をリセットする。このような非光同調因子としては、制限給

餌、薬物などが知られている。例えば、セロトニン受容体 (5HT1A/5HT7) のアゴニストである8-OH DPAT は行動リズムの位相を時刻依存的に変化させる<sup>14)</sup>。しかし、その位相反応曲線は光同調刺激によるものと180度位相が異なる。すなわち、8-OH DPAT は主観的明期に投与したときのみ行動リズムの位相前進を誘導する。8-OH DPAT 投与2時間後のSCN のPer1 やPer2 の発現パターンはコントロール群に比べ有意に減少する。この結果は非光同調時にもPer1 発現と行動リズムの位相変化に関連があることを示している。また摂食条件を繰り返し操作することにより、末梢での時計遺伝子の日周リズムが摂食時間帯に応じて変化することが知られている<sup>15)</sup>。逆に薬物や摂食条件を操作することにより、生体リズムを調整したり、意図的に変化させることも可能である。今後、摂食条件の繰り返し操作や薬物による生体内環境を操作することによる積極的な時間治療の展開が期待される。

#### おわりに

実際の治療において、これまで蓄積された時間薬理学的所見を整理して体系化していくことが必要となる。すなわち、何を生体リズムの指標とすべきか、生体リズムの中でいつ投薬すべきか、を決定することが重要となる。そのためにも薬物活性の日周リズムを生理機能の日周リズムと関連づけて、時計遺伝子により如何に制御されているかを明らかにしていく必要がある。これらの点を考慮して、現在我々は時計遺伝子を基盤にした薬物代謝酵素、レセプター機能などの日周リズムの成因解明、生体の恒常性の破綻を克服するための投薬設計の構築、至適投薬タイミングの設計を容易にする生体リズム操作方法の開発などを目的とした研究を行っている。身近なところで、これまで経験的に行われている1日2回あるいは3回均等分割する投薬設計を、生体リズムを考慮して治療効果が望まれる時間帯に高用量、不必要な時間帯には投与量を減量するといった試みだけでも医薬品適正使用の向上につながるのではないだろうか。多くの生体機能や疾患に日周リズムが認められるため、個々の生体リズムにマッチした投薬タイミング、投与方法、製剤の工夫が望まれる。薬物療法の最終ゴールが治療の個別化であるとすれば、個々の生体リズムにマッチした至適投薬設計を構築することが必要不可欠といえよう。

## 参考文献

- 1) Ohdo S: 時間薬理学, pp.51-64, 朝倉書店 (2001)
- 2) Ohdo S, Watanabe H, Ogawa N, Yoshiyama Y, Sugiyama T: *Eur J Pharmacol.* 293: 281-285 (1995)
- 3) Watanabe H, Ohdo S, Ishikawa M, Ogawa N: *J Pharmacol Exp Ther.* 263 (3) : 1036-1045 (1992)
- 4) Viyoch J, Ohdo S, Yukawa E, Higuchi S: *J Pharmacol Exp Ther.* 298 (3) : 964-969 (2001)
- 5) Yoshiyama Y, Nishikawa S, Sugiyama T, Kobayashi T, Shimada H, Tomonaga F, Ohdo S, Ogawa N, Nakano S: *Antimicrob Agents Chemother.* 37 (9) : 2042-2043 (1993)
- 6) Ohdo S, Ogawa N, Song JG: *Eur J Pharmacol.* 293: 151-157 (1995)
- 7) Jin X, Shearman LP, Weaver DR, Zylka MJ, De Vries GJ, Reppert SM: *Cell* 96: 57-68 (1999)
- 8) Okamura H, Yamaguchi S, Yagita K: *Cell Tissue Res.* 309: 47-56 (2002)
- 9) Moore RY, Eichler VB: *Brain Res.* 42: 201-206 (1972)
- 10) Sakamoto K, Nagase T, Fukui H, Horikawa K, Okada T, Tanaka H, Sato K, Miyake Y, Ohara O, Kako K, Ishida N: *J Biol Chem.* 273: 27039-27042 (1998)
- 11) Silver R, LeSauter J, Tresco PA, Lehman MN: *Nature* 382: 810-813 (1996)
- 12) Ueyama T, Krout KE, Nguyen XV, Karpitskiy V, Kollert A, Mettenleiter TC, Loewy AD: *Nature Neurosci.* 2: 1051-1053 (1999)
- 13) Shigeyoshi Y, Taguchi K, Yamamoto S, Takekida S, Yan L, Tei H, Moriya T, Shibata S, Loros JJ, Dunlap JC, Okamura H: *Cell* 91: 1043-1053 (1997)
- 14) Smolensky MH, Labrecque G: *Pharmaceutical News* 4: 10-16 (1997)
- 15) Bruguerolle B: *Clin Pharmacokinet.* 35: 83-94 (1998)
- 16) Shaw GL, Falk RT, Caporaso NE, Issaq HJ, Kase RG, Fox SD, Tucker MA: *J Nat Cancer Inst.* 82: 1573-1575 (1990)
- 17) Bjarnason GA, Hrushesky WJM: *Circadian Cancer Therapy*, pp 241-263, CRC Press Inc, Boca Raton, Ann Arbor, London and Tokyo (1994)
- 18) Levi F, Zidani R, Misset JL: *Lancet* 350: 681-686 (1997)
- 19) Hrushesky WJM, von Roemeling R, Sothorn RB: *Chronopharmacology: Cellular and Biochemical Interactions*, pp439-473, Marcel Dekker Inc, New York and Basel (1989)
- 20) Yamauchi A, Ohdo S, Aramaki H, Hayashida Y, Yukawa E, Higuchi S : *Jpn J Clin Pharmacol Ther.* 27 (1) : 289-290 (1996)
- 21) Ohdo S, Inoue K, Yukawa E, Higuchi S, Nakano S, Ogawa N : *Jpn J Pharmacol.* 75 : 283-290 (1997)
- 22) Ohdo S, Makinosumi T, Ishizaki T, Yukawa E, Higuchi S, Nakano S, Ogawa N : *J Pharmacol Exp Ther.* 283 (3) : 1383-1388 (1997)
- 23) Ohdo S, Arata N, Furukubo T, Yukawa E, Higuchi S, Nakano S, Ogawa N : *J Pharmacol Exp Ther.* 285 (1) : 242-246 (1998)
- 24) Koyanagi S, Ohdo S, Yukawa E, Higuchi S : *J Pharmacol Exp Ther.* 283 (1) : 259-264 (1997)
- 25) Ohdo S, Wang DS, Koyanagi S, Takane H, Inoue K, Aramaki H, Yukawa E, Higuchi S : *J Pharmacol Exp Ther.* 294 (2) : 488-493 (2000)
- 26) Takane H, Ohdo S, Yamada T, Yukawa E, Higuchi S : *J Pharmacol Exp Ther.* 294 (2) : 746-752 (2000)
- 27) Wang DS, Ohdo S, Koyanagi S, Takane H, Aramaki H, Yukawa E, Higuchi S : *Antimicrob Agents Chemother.* 45 (1) : 176-180 (2001)
- 28) Takane H, Ohdo S, Yamada T, Koyanagi S, Yukawa E, Higuchi S : *Life Sci.* 68 : 1449-1455 (2001)
- 29) Ohdo S, Grass GM, Lee VHL : *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 32 (10) : 2790-2798 (1991)
- 30) Abrams PG, McClamrock E, Foon KA : *New Engl J Med.* 312 : 443-444 (1985)
- 31) Bocci V : *Cancer Drug Deliv.* 2 : 313-316 (1985)
- 32) Ohdo S, Koyanagi S, Suyama H, Higuchi S, Aramaki H : *Nature Med.* 7 : 356-360 (2001)
- 33) Koyanagi S, Ohdo S : *Molecular Pharmacology* 62 (6) : 1393-1399 (2002)
- 34) Lundkvist GB, Robertson B, Mhlanga JDM, Rotenberg ME, Kristensson K : *NeuroReport* 9 : 1059-1063 (1998)

- 35) Duncan WC : Pharmacol Ther. 71 : 253-312 (1996)
- 36) Nishimura K, Kato H, Saito M : J Nutr Sci Vitaminol. 38 : 117-125 (1992)
- 37) Suyama H, Ohdo S, Yukawa E, Higuchi S, Koyanagi S : Jpn J Clin Pharmacol Ther. 32 (2) : 297S-298S (2001)
- 38) Ohdo S, Ogawa N, Nakano S, Higuchi S : J Pharmacol Exp Ther. 278 (1) : 74-81 (1996)
- 39) Akagi T, Ushinohama K, Kage Y, Ishizaki T, Makinosumi T, Yamauchi A, Inoue K, Yukawa E, Higuchi S, Ohdo S : Life Sci. 72 : 1183-1197 (2002)
- 40) Toh KL, Jones CR, He Y, Eide EJ, Hinz WA, Virshup DM, Ptacek LJ, Fu YH : Science 291 : 1040-1043 (2001)
- 41) Maemura K, de la Monte SM, Chin MT, Layne MD, Hsieh CM, Yet SF, Perrella MA, Lee ME : J Biol Chem. 275 : 36847-36851 (2000)
- 42) Ripperger JA, Shearman LP, Reppert SM, Schibler U : Genes Dev. 14 : 679-689 (2000)
- 43) Lavery DJ, Lopez-Molina L, Margueron R, Fleury-Olela F, Conquet F, Schibler U, Bonfils C : Mol Cell Biol. 19 : 6488-6499 (1999)
- 44) Horikawa K, Yokota S, Fuji K, Akiyama M, Moriya T, Okamura H, Shibata S : J Neurosci. 20 : 5867-5873 (2000)
- 45) Damiola F, Minh NL, Preitner N, Kornmann B, Fleury-Olela F, Schibler U : Genes Dev. 14 : 2950-2961 (2000)

## カリフォルニア大学・バークレー校 Prof. Irving Zucker 研究室

(Departments of Psychology and Integrative Biology, University of California, Berkeley)

高須 奈々

北海道大学大学院・医学研究科・統合生理学講座（本間研究室）

### はじめに

平成 14 年度から文部科学省助成による大学院生（博士課程）対象の「最先端分野学生交流推進制度」が開始され、この度、この助成を受け 8 月から 6 ヶ月間、University of California, Berkeley (UCB) の Irving Zucker 研究室で勉強する機会を得ることが出来ました。この制度の主旨は社会的要請があり推進を図る必要のある最先端分野で研究を行う国内外の大学院生を共同教育研究を通して学術交流させ、学術レベルの向上、及び先導的人材を育成することです。医学系、生物系に限らず全ての分野から計 100 名の大学院生が選出され、相互派遣されます。興味のある方は文部科学省のホームページへどうぞ。  
<http://www.mext.go.jp/>

これまで私は奈良女子大学学士課程から修士課程にかけて「日中の異なる光照度がニホンザルの腹腔内温度や自発行動概日リズムに及ぼす影響」と「ガードルによる腹部・臀部の圧迫が食物の消化吸收、消化管通過時間、排便量に及ぼす影響」について研究してきました。現所属の北海道大学大学院博士課程では低照度閉鎖環境下で時差ボケやシフトワークを模擬した睡眠位相の変位固定や、宇宙ステーションを模擬したスケジュール化された共同生活がヒトの深部体温、メラトニン、睡眠構造、精神機能概日リズムに及ぼす影響について研究しています。ヒトにはハムスターやリスのように季節繁殖や体重・毛等のような顕著な季節変動は見られませんが、季節変化に伴う概日リズム位相や睡眠・覚醒リズム、睡眠構造、感情の変化が数多く報告されています。概日リズム研究を進めていく上でも基本的な季節性リズムに関する知識や理解を深める必要を感じ、又、「リズム学的視点から健康を提案する」という私の目標を達成するには季節という概念も取り入れたいと思っていたため、これまで齧歯類での動物実験の経験はほぼ皆無だったのですが、Zucker 教授のご好意

で留学を実現することが出来ました。

### 研究室紹介

Zucker 教授は言うまでもありませんが 1972 年に視交叉上核 (SCN) が生物時計であることを発見された方です。Pub Med で SCN を検索すると 1972 年当時は 3 本程度であったものが、現在では年間 300 本近くの論文が発表されています。生物時計を発見した人！という印象が強すぎて Zucker 教授は厳格な方なのだろうと思っていましたが、実際はとても気さくでユーモアに富む、全く裏表のない感じでほっとしました。好奇心旺盛な面や何事にも精神的に取り組まれる姿は実際の年齢よりも随分若々しい印象を与えていました。

現在、Zucker 研究室には大学院生が 3 人、勤続 30 年のベテランテクニシャンが 2 人、その他に他研究室のポスドクが数人出入りしています。研究室での様子を伝える場合 1 週間の生活パターンとして紹介されることが多いようですが、Zucker 研究室ではそのような固定されたパターンはありません。定期的な実験進行状況の報告会や論文抄読はなく、それぞれが必要に応じて Zucker 教授にアポイントメントをとり研究の進行状況や実験計画について話し合いをし、学生は学生同士でお互いの研究進行状況などの情報をやりとりしています。こういった感じですので 6 ヶ月こちらでお世話になっている間に研究室員が全員集合したことは私の歓迎会と送別会を開いてくれた時だけでした。これまで受け身の姿勢であった私には、積極的に行動しなければ何も情報が入ってこないこのスタイルに最初は大変戸惑いましたが、とても鍛えられました。

研究室初日に Zucker 教授から最初に言われた言葉は、「You can do whatever you want, but if you need my help, I will gladly help you.」でした。この言葉はとても印象的だったので今でも忘れられませ

ん。言われた時は、交換留学生としてきた立場上このように言われたのだらうと思ったのですが、これは彼がボスになって以来の方針で、彼自身こういった自由な環境で教育を受けてきたのだそうです。彼の狙いは、学生が自ら思考する姿勢を養い、綿密な実験計画を立て遂行できる能力を身につけさせること、だそうです。そして実験が成功した時の達成感を味わい、自信を身につけ、研究室を巣立って行く時には独立出来るよう指導することが研究と同じぐらい重要な位置を占めているとのことでした。叱咤激励して学生の負担や焦りをあおったりすることを好まず、学生が自分のペースで着実に実力をつけていくのを横で暖かく見守る感じの方でした。学生に参考論文や本を紹介し、必要だと思われる時は助言し、学生を誉めることを決して忘れません。何度か私が提案した実験アイデアのうち1つだけ「名案だ!」と誉めていただいたことがありましたが、その時は実験に対するおもしろさを教えてくれた、そんな瞬間でした。学生は Zucker 教授からエネルギーを吸収し、のびのびと実験に励みます。反面、Zucker 教授は自分の方針を自らも実践しているのか? 突然教授室を訪問しても不在なことが多々ありアポイントメントをとって話しをすることに慣れるまでは大変不便に感じました。

Zucker 教授 (1940 生まれ、カナダ・モントリオール出身) は McGill University 卒業 (1961 年卒)、University of Chicago にて学位取得 (1964 年卒)、その後、Oregon Primate Center で 2 年間ポストドクを経験し (1964 - 66 年)、1966 年に憧れの UCB にて心理学部助教授就任、1974 年に心理学部教授就任、1995 年には生物学部教授にも就任され現在に至ります。幼い頃から未知なこと (特に進化を繰り返してきた野生動物について) を考え、答えを探求するのが好きだった彼は大学時代にして自らグラントと研究室を獲得し、摂食行動 (特に空腹に関する)、性行動、動機付けの起因と機序を行動学的、分子生物学的視点から分析を始めました。大学院時代は行動 (学習や認知) における大脳辺縁系の役割について研究していたそうですが、当時の方法では脳と行動の関係をうまく説明出来ず、また学習行動のような自然界に存在しない行動では野生動物の行動を説明出来ないと感じ、学位取得後は専門分野を行動内分分泌学に変え、Oregon Regional Primate Research Center (1964 - 66 年) では性行動 (特に発情) に対するプロジェステロンの役割について研究しています。UCB 就任後は引き続き行動内分分泌学 (摂食行

動や性行動) に関する研究をしていましたが、動物行動学の授業を担当することになったことがきっかけで生体リズム学と出会い、研究のメインテーマを概日リズムに、従来の研究テーマである行動内分分泌学 (摂食行動や性行動) をサブテーマに改めたそうです。並行していくつかの実験を進める中、1972 年に生物時計の所在を発見しました。おおよそ部位の見当はついていたのでそれほど苦勞せずに発見出来たそうですが、まさかこんなに小さな神経核が生体リズムの発振を担っていたとは想像していなかったとのこと。現在は概日リズムの研究を続ける一方、メインテーマは季節変動へと移行、定着しています。

季節変動を示す動物は季節の移り変わりに伴い行動、形態、生理機能を変化させ環境適応しますが、Zucker 教授は季節性繁殖 (生殖器の大きさや機能を変化させて食料が豊富で子育てに最適な環境である時期に出産時期を適応させたもの)、日内休眠や冬眠 (食料が欠乏する時期に最小エネルギーで越冬出来るよう体重や毛の質や長さを変化させて適応させたもの) に関心を持ち、それらを指標として、季節変動を神経内分分泌-脳-行動という側面から長い間、研究しています。

季節変動を示す 3Type の動物群のうち、Type2 (代表動物:リス) は約 1 年の周期を持つ内因性自律振動体により完全駆動され、日長の変化は年周期を 1 年に同調させる役割を担います。一方、Type1 (代表動物:ハムスター) の内因性自律振動体は不完全で日長の変化なしにリズムを刻み続けることは出来ません。Type1 は日長の操作で望みの季節型を表現し固定出来るという点では、Type2 に比べると柔軟性に富み、実験が進めやすいという利点があります。Type3 は完全に外因性要因によって駆動されています (例:花粉症)。これまで Zucker 研では Type1 と Type2 に関する数多くの報告をしてきていますが、現在は Type1、特にシベリアン・ハムスターを中心に実験を進めています。季節型を引き起こす光周期 (通常、夏型は 14 時間、冬型は 10 時間で飼育される) やその臨界値 (12.5 時間) については Michael Menaker らによって詳細な研究がなされています。Zucker 教授は臨界値の次に来る日長は光履歴から判断しますが光履歴が確立するのにかかる日数や持続期間について、また例外として日長 18 時間の長日条件下後に日長 10 時間の短日条件下に移行させた場合長日条件の影響が持続するというを示しました。光周期の伝達メラトニンを介

して行われますが、松果体を摘出、或いはLL環境下でメラトニンフリーの状態にした下、メラトニンを注入し、どのようなメラトニンパターン（分泌持続時間、枠周期等）が季節変化を引き起こすシグナルなのか報告しています。その他にも母子間の光情報伝達や異なる日長条件下で飼育された母から産まれた子供の成長・発達度合いについて、また光感受性の季節変化、低温度環境の冬型促進作用についてなど、研究は多岐に渡っています。昨年より新規プロジェクトとして、性ホルモンと生殖系の発達と機能、行動に関する研究を開始しました。私もこのプロジェクトに参加し、実験に携わりました。現在行われている生殖器の未発達、機能不全患者へのホルモン治療は効き目が強く、生殖器の過肥大や強い副作用が問題点として挙げられていますが、このプロジェクトの最終目標はホルモン治療への応用、及び改善という形で社会に還元することだそうです。

#### 憧れのカリフォルニア生活

派遣が決定されてから万全を期して留学にのぞんだつもりでいましたが、渡航前にどうしても出来なかったことは家探しでした。大半の物件が家主（或いは不動産屋）との面接なしでは決められず、私も入居前に部屋を実際に見なければ不安です。そうであれば、せっかくだしホームステイを体験してみたいと欲張った私は家が見つかるまでの仮住まいとしてホームステイをすることにしました。暖かい家族に迎えられて始まる生活を思い浮かべながら家に向かうと・・・まず誰も家にはいない！初めての土地でしばらく外で待たされました。そしてようやく家に入れ、部屋に通されたその瞬間とても嫌な雰囲気を感じました。学生の部屋は地下室をシングルベッドがようやく入る程度の小部屋に幾つも改造したものでした。窓はあるものの、光が全く届かないため昼間でも真っ暗。まるで独房のようでした。ざっと見る限り学生は15人ほど。契約内容とは全く違い、日本人コミュニティーの方に見てもらったところ違法な部屋の改造も幾つもある。悪徳なホームステイ斡旋業者にひっかかってしまったことに気づきました。渡航直前にホームステイの場所を学校からとても離れた不便な場所に変更されるなど気になることはあったのですが、大学から紹介された斡旋会社であったため安心してしまい、後で変更は可能だと聞いていたので英語が不得手な私はとりあえず現地へ向かってしまったのです。こういった学生を狙う悪徳業者が警察の目を盗んで多く存在し、泣く思いを

する学生が増えているそうです。アメリカ到着初日にしてリアルアメリカを経験することとなりました。周りの方の勧めでアメリカ生活初日にホームステイを解約することになり、家探しと既に払いこんでしまったホームステイ費用の払い戻し作業という予定外のハプニングで留学生活が始まりました。パークレーは住宅事情が大変悪く、家が見つかるまでに通常約1ヶ月かかり、その間、友人宅を転々とするのが一般的のようですが、幸い周りの方が一丸となって探して下さったおかげで異例の1週間という早さで、しかも広いキッチン、リビングルーム、2ベッドルームのとても素敵なお部屋を学生の相場にまで安くしていただけるという本当に恵まれた条件で見つけることが出来ました。家具やキッチン用品全てを周りの方が皆に声をかけて集めてくださりなんとお礼を言って良いのか分かりませんでした。払い込んでしまったお金は約定期限になっても届かず、いろいろな手を打ってもなかなか取り戻せず大変でした。斡旋会社は全く返す気がなく、彼らの魂胆は私たちが諦めてしまうまで粘り勝ちしようということだったようです。周りで裁判したら絶対勝つなどという声が上がってきたためどうしようかと頭を抱えていたのですが、大事に至る前に取り戻すことができほっとしました。その間2ヶ月。留学生活の最初はこの件で大変でした。

カリフォルニアはご存知の通り国際色豊かな土地で、ここに住む人達は外国人との接し方が非常に上手いという印象を受けました。私のジャパニーズ英語でもなんとか通用し、私が理解するまで繰り返し話し、辛抱強く聞いてくれる態度には本当に感動しました。いろいろな不安を抱えての渡航でしたがこのような土地柄のおかげで全ての不安が一気に解消し生活や研究をスムーズに開始することが出来ました。こちらで経験すること全てが新鮮でとても感心したことは皆、自己表現や人との接し方が上手いということです。日本では自己主張をあまり良しとされませんが、様々な文化的背景を持つ民族で構成されたアメリカではそれと同じ数だけの価値観が存在し誤解を招かないためにも自己主張が必要なのだと教えられました。これは人種のるつぼと言われる米国だからこそかもしれません。

さすが日本人が多く住むカリフォルニア。電話、電気、ガス、健康保険の契約等が日本語で出来、しかも毎日決められた時刻になると日本のテレビ番組やニュースが放送されます。年末年始は1チャンネルほぼ貸し切り状態で紅白歌合戦や大河ドラマを放

送していたのにはとてもびっくりしました。英語がさほど出来なくても生活を始めやすい土地、カリフォルニア。日本語が氾濫する環境だとついついそれに頼りがちになってしまいます。英語力を鍛えたいと思っても意識して日本人や日本語を避けなければなかなか難しい状況です。

年中温暖なカリフォルニアはとても暮らしく、真っ青な空と強い日差しは人々の気持ちを明るくしてくれる、とても魅力的な土地でした。しかし日本人の四季折々を楽しむ贅沢な気分もなにも捨てがた

い！と季節変化の勉強をしながらあれやこれやと考えた留学生活でした。

#### 最後に

この留学を通して大変貴重な経験をすることができました。留学の機会を与えて下さった本間教授、Zucker教授、並びに文部科学省にこの場を借りて心よりお礼申し上げます。また私の留学を全面的に支え、いつも応援してくれた夫の中村渉に感謝します。



カリフォルニア大学・バークレー校



Zucker研究室メンバー（左から大学院生の Matthew Paul, テクニシャンの Christiana Tuthill, Irving Zucker 教授, 本人, 大学院生の Jin Ho Park, テクニシャンの Pelz Kimberly）

## 第2回チェコ日国際昆虫学セミナー 光周性と周期性に参加して

富岡 憲治

山口大学理学部自然情報科学科

2002年8月5日から8日まで、「第2回チェコ日国際昆虫学セミナー：光周性と周期性」がチェコ共和国、チェスケー・ブデヨビツェで開催された。この会議は1999年に日本側主催により高知で第一回が開催されて以来、チェコ側で継続して開催することが予定されていたものであり、チェコ科学アカデミーと南ボヘミア大学の主催による。1988年のビロード革命以前にはプラハにあったチェコ科学アカデミーが、国策により南ボヘミアの当地に移され、さらに大学も過去10年間の間に拡充が進められているとのことであった。チェスケー・ブデヨビツェはプラハから鉄道で約3時間南へ下った、オーストリアとの国境近くに位置する町で、比較的工場の多い地域である。郊外には多くの池があり、コイなどが養殖されている。また、町全体が世界遺産に指定されている、チェスキー・クルムロフやたくさんの古城もあり、大変美しい地域である。

さて、この集会にはチェコと日本以外にも、アメリカや中国、エジプトそしてヨーロッパ各地12カ国から約50名の研究者が参加し、光周性や概日時計などに関する最新の研究成果が講演とポスターにより発表され、熱い討論が交わされた。全体の概要と、特に印象に残ったものを紹介させていただく。

光周性に関しては、いまだに光周期と休眠率などとの関係を扱った古典的な手法を用いた現象論的な研究が堅実にされる一方で、以前からその関与が推定されてきた概日時計との関連をより鮮明にしようとする模索する研究が進められつつある。一つは概日時計遺伝子の発現を光周性と関連付けようとするものである。たとえば、オハイオ州立大学のD. Denlingerはハエ(*Sarcophaga*)を用いて、*period*、*timeless*などをクローニングし、その発現パターンをmRNAレベルでの解析を始めていた。まだ周期的な発現があるとの予備的な結果のみの紹介であったが、おそらく異なる光周条件下でどのような発現パターンを示すのかを明らかにすることを既に水面下で

試みていることを想像させられた。しかし、mRNAのみの発現パターンでは不十分であり、実際にタンパク質レベルでどのような発現制御が行われているのか、また、タンパク質の細胞内での局在など、今後取り扱うべき問題が山積している。また、チェコ科学アカデミーのM. Hodokovaはカメムシの一種(*Pyrrhocoris*)を用いて、各種の光周条件下での活動リズムのパターンと時計遺伝子*period*の発現パターンとを比較することを試みていた。われわれがとっているのと良く似たアプローチであり、非常に興味をそそられたが、残念なことにこのカメムシの活動リズムがそれほど明瞭ではないこと、さらにそれ以上に*period*の発現リズムが不明瞭であることから、この虫では光周性と時計遺伝子との関連を明らかにすることは困難なように思えた。

筆者は、コオロギの活動パターンが各種の光周条件下に置かれることで大きく変化すること、またその変化の原因が視葉にある概日時計そのものの変化にあるらしいことを報告した。フタホシコオロギ成虫は夜行性であり、その活動は夜に集中して生じ、それを制御するのは視葉にある概日時計である。一日の夜昼の配分は光周期に大きく依存し、暗期が長いほど活動時間帯にあたる主観的夜が長くなる。この光周期依存的な昼夜配分の変化は、恒暗条件下でも数週間にわたって維持される。昼夜配分の変化は、たった1サイクルの光周期を経験することによっても生ずるが、経験するサイクル数が多いほど変化の程度が大きくなり、10サイクルほどの経験で最大に達する。この変化の過程はちょうど光周反応機構に見られる光周カウンターに対応するように思われる。この光周期による昼夜配分の変化の背後に、時計間の相互作用系が関与することも合わせて報告し、参加者からかなりの反響があった。

一方、北大の島田は、光周性を欠失したハシリシヨウジョウバエ(*Chymomyza costata*)の突然変異*npd*では、時計遺伝子の一つである*timeless*の発現が

転写レベルで抑制されていることを報告した。野生型ハエでは *tim* の mRNA は明期に低く、暗期に高い。*npd* では、*tim* mRNA はほとんど検出できない。詳細な解析の結果、*npd* は *tim* の null mutation によって生ずることが示唆された。今後詳細な検討が必要であるが、この結果は光周機構に時計遺伝子 *tim* が関与することを初めて示したものであり、*tim* の上流部や下流部を解析することにより、光周機構そのものを遺伝子レベルで解明できる可能性を示すものである。

概日時計そのものに関する興味深い報告として、チェコアカデミーの I. Sauman は、ゴキブリやコオロギなど数種の昆虫を用いた免疫組織化学的研究により、*period* 遺伝子を発現する時計関連細胞が脳視葉に分布することを報告した。しかし、いずれの昆虫の場合もキイロショウジョウバエで報告されているような、PERIOD 蛋白が核へ移行する様子は観察されないことを強調した。これは彼がヤママユガで最初に報告した結果を支持するものである。PER 蛋白が核移行し、それ自身の転写に抑制をかけるという自己フィードバックによる振動モデルは、キイロショウジョウバエのみならず、相同な遺伝子が発見されている哺乳類でも広く受け入れられており、彼の結果はこのモデルをもう一度慎重に再検討すべきであることを意味している。

その他に興味を引いたものとしては、休眠と湿度との関係である。ご存知の方も思うが、アフリカのナイジェリアの不毛地帯に生息するネムリユスリカ (*Polypedilum vanderplancki*) の幼虫は岩の窪みにできた雨水の水溜りに棲息している。その水が蒸発してしまうと中にいた幼虫は完全に乾燥し、次の雨が再び水溜りを作るまで乾燥状態で休眠する。このユスリカの休眠について、農業生物資源研究所の奥田が興味深い発表をした。幼虫は急速に乾燥させると死んでしまう。乾燥休眠にはトレハロースの蓄積が必要であるという。乾燥休眠中は 100℃ を超える高温や -270℃ の極低温にも耐えるという。この昆虫にも神経系や消化器系、脂肪体や筋肉などが通常の昆虫と同じく備わっている。どこにそのような過酷な条件に耐える生理的な能力が秘められているのか非常に興味深い。奥田氏は乾燥休眠しないユスリカ (*Chironomus yoshimatsui*) との比較をいろいろなレベルで試みているとのことであった。

さて、2002 年のヨーロッパの夏は異常気象が続き、チェコでも連日雨が降り続いた。最終日の朝、中世の歴史の残る旧市街を見ようと、朝食後数人で

出かけた。大学前の通りでバスに乗ったが、ほんのわずか走ったところでなぜかバスは停車し、乗客は降ろされてしまった。「どうしたの?」「何が起こったんだ?」とチェコ語のわからないわれわれは、何もわからないままバスを降り、旧市街の方に歩くことにした。ほんの数ブロック歩いたところで、原因がわかった。なんと、ブルタバ川が氾濫し、こちら側と旧市街を結ぶ橋のたもとが水没していたのだ。ズボンと靴を脱いで、水の中を渡っている人もいた。われわれはとてもそんな勇氣はなく、大学へと引き返した。引き返す途中、工技院の石田氏ご一家と農業生物資源研究所の霜田氏にであった。彼らは次の目的地に向けて出発するところで、とにかく鉄道の駅に行かねばならないと、水の中を荷物を担いで渡って行かれた。大学に戻り、主催者にどうなるのかと聞いても、「われわれも初めての経験で、どうなるかわからない。」とのこと。仕方なくその日は大学の中を散策して過ごした。幸いなことに夕方になって水が引き、次の日の早朝には列車も通常どおり運行したので、われわれは予定通りプラハへ移動することができた。

プラハでは、チェコアカデミーの Ivo Hodeck 夫妻が旧跡を案内してくれた。私は、Purkinje の墓がどうしても見たかったので、最初はそこを案内していただいた。墓地にはかつてのチェコスロバキアを代表する学者、政治家、文化人などの墓が並んでいて、一つ一つその人の功績を紹介してもらったが、あまりに多くて憶えることができなかった。ちょうど墓地の真中あたりにその Purkinje の墓があった。真っ白な大理石に墓碑が刻んであった。偉大な神経解剖学者の墓に敬意を表し、学問に対する思いを新たにす思いだった。それから、市街地を歩き、かつてはこの町の中にチェコ科学アカデミーがあり、Hodeck 夫妻もここで学生生活を過ごし、その後もほんの 10 年ほど前までここで研究生活を送っていたことなどを聞いた。最後に旧ユダヤ人街を案内してもらった。シナゴグの上に立つ塔に設置された時計の文字盤の向きが逆さになっていることを、初めて知った。ユダヤ人の時計はわれわれの時計とは逆に回っているらしい。

翌日、よく晴れた朝、われわれはプラハを立ち、フランクフルト経由で帰国の途に着いた。その後、メールでお礼を書いたところ、先方からはわれわれが帰国した後、雨の状況はますます悪くなっていると返事がきた。ニュースでは連日、東ヨーロッパの大雨のニュースが流れ、プラハも市街地が水没したこ

とを伝えていた。あの美しい街は大丈夫だろうか。  
今年7月にはプラハでIBROの世界大会が開催される。  
参加される方も多いと思う。どんな様子か、教えていただければと思う。



写真1. 会議の参加者、古城 Hulboka への小旅行にて。



写真2. Hulboka 城からの南ボヘミアの眺め。

## 第9回日本時間生物学会・名古屋の報告

大会会長 太田 龍朗  
名古屋大学大学院医学系研究科精神医学分野

日本時間生物学会の第9回学術大会が、2002（平成14）年11月14日（木）、15日（金）の2日間、名古屋市中小企業振興会館（吹上ホール）で開催された。たまたま、日本臨床神経生理学会が同時期に開かれたことで、臨床の一部の会員が出席できなかったが、それでも230余名の参加を得て盛会のうちに幕を閉じることができた。

特別講演にはColumbia大学教授で、SRBRの会長でもあるRae Silver先生においでいただき、SCN内の時間遺伝子と蛋白の発現に関する先生のグループの研究成果を基にして、現在迄に明らかになったSCNの機構についてお話いただいた。SCN内の時計遺伝子の発現は前進と後退では異なることや、光によって誘導されるが律動性を示さないものと、光によらないが律動性を示す発現様式があることなど、きわめて興味深い解説が行われた。また2日間にはミニレクチャーとして、往年の研究者であられる東大理学部の田澤 仁先生から生物時計の発見者エルヴィン・ビュニングの業績を御紹介いただいたが、歴史的にも大変興味深い内容であり、今日の研究にインパクトを与える有意義なお話をうかがうことができた。

シンポジウムは基礎と臨床の2つで、前者は今や時代の最先端の研究を行く5人の演者によって、リズム発振や時計機構の分子生物学的研究が披露され、また後者はこうした成果を踏まえた上で、その臨床応用としてのリズム障害を示す疾患への薬物療法や新しい治療法の開発を指向するストラテジーが、そのような開拓研究に携わる5名の演者によって発表された。いずれも斬新な着想と目覚ましい成果が熱っぽく語られ、盛んな討論を呼び起こしていた。第2日目に行われたワークショップは、主として循環器系や身体疾患での時間治療の最前線を行く気鋭の研究者5人による発表と討論が、夕刻にもかかわらず熱心に行われた。

一般演題は、口頭発表が34題、ポスター発表が45題、計79題が発表された。前者では臨床系11題、基礎系23題、後者では臨床系15題、基礎系30

題と臨床と基礎の比率はほぼ1：2であり、やはり基礎研究の発表が多かったが、各会場とも活発な討論が繰り広げられていた。ランチョンセミナーは各日2題ずつ行われ、旧・新理事長の千葉、高橋両先生の御経験に基づく示唆に富むレクチャーと、大阪大学蛋白研の永井所長と久留米大学精神科の内村助教授による光や薬物の自律系への働きかけや効果について、治療への応用に役立つ講義が行われたが、いずれの会場も満員の盛況ぶりであった。

第1日夕刻に行われた懇親会は、名古屋大学医学部室内合奏団員による演奏を背景に、会長、理事長、招待のSilver教授の挨拶が続き、川村 浩名誉会員の音頭で乾杯が行われ、和やかな交流が行われた。会の最後に次期会長から本年秋に予定されている大会の紹介があった。

最終日の夜に行われた市民公開講座は「健やかなくらしと生体リズム」のテーマで、4人の講演が行われたが、眠りと体のリズムを中心に基礎から臨床まで、各方面の研究や現状が話題となり、わかりやすい懇切丁寧な各演者の話により市民の評判は上々であった。事前に数回の新聞広告があったこともあり、満席の会場は熱心に聞き入る人々でうめられた。

大会全体の運営には、名古屋市から数名のボランティアに参加していただくなど、各方面から多大な御援助と御協力をいただいた。この場をお借りして厚く御礼申し上げたい。会場の配分や時間の割振りがいろいろな企画に出やすいようになっていたとの評価を後でいただき、主催者としてほっとしているところである。事務局や担当の方々の労を多としたい。次回は2003年9月9日～9月12日まで、北海道大学の本間研一教授を会長に、第1回時間生物学世界大会（WCC）と合同で札幌で開催される予定である。

## 第 10 回 日本時間生物学会学術大会

第 1 回時間生物学世界大会の合同会議として、下記の通り、札幌市・北海道大学にて開催されます。一般演題はすべてポスター形式です。多くの会員の参加と演題申し込みをお願いいたします。

## 第 1 回時間生物学世界大会 1st World Congress of Chronobiology (WCC2003)

主催：World Federation of Societies for Chronobiology, Japanese Society for Chronobiology  
会期：2003 年 9 月 9 日（火）9:00 ～ 9 月 12 日（金）12:00  
会場：北海道大学学術交流会館、北海道大学百年記念会館、北海道大学クラーク会館  
会長：本間研一（北海道大学大学院医学研究科 教授）  
使用言語：英語

### サテライト会議（北海道大学学術交流会館）

- ・第 10 回生物リズムに関する札幌シンポジウム：2003 年 9 月 8 日（月）9:00 - 18:00
- ・第 5 回時間循環血圧研究会：2003 年 9 月 12 日（金）13:00 - 18:00

### ■学会登録、演題申し込み、宿泊申し込み

すべて大会ホームページ URL <http://www.e-convention.org/wcc2003/> より申し込んで下さい。日本時間生物学会ホームページ URL <http://www.soc.nii.ac.jp/jsc/> からリンクしています。なお、演題申し込みには事前に学会登録が必要です。

|         |           |                 |              |  |
|---------|-----------|-----------------|--------------|--|
| ●演題申し込み | 締め切り      | 2003 年 5 月 29 日 |              |  |
| ●学会登録   | 事前登録締め切り  | 2003 年 6 月 30 日 |              |  |
| ●会費     | 事前登録      | 一般 (¥25,000)    | 学生 (¥10,000) |  |
|         | 7 日 1 日以降 | 一般 (¥30,000)    | 学生 (¥12,000) |  |

## プログラム

### Scientific Program

9 月 9 日（火）

- ・特別講演：M.Young(U.S.A.), J.Takahashi(U.S.A.), C.Czislser(U.S.A)
- ・シンポジウム：

Molecular Mechanism of Mammalian Circadian Clock (JSC symposium)

Organized by H. Okamura (Japan)

Melatonin : from circadian to seasonal signals (EPBRS symposium)

Organized by P. Pevet (France)

Human Cancer Chronotherapy (ACM symposium)

Organized by F. Levi (France)

Molecular Clock Mechanism Beyond Species Barrier

Organized by N. Ishida (Japan), B. Kyriacou (UK)

Functional Subdivision Within the Suprachiasmatic Nucleus

Organized by S. Inouye (Japan), W. Schwartz (USA)

Circadian Rhythm Sleep Disorders: Physiology and Molecular Mechanism

Organized by T. Ebisawa (Japan), L. Ptacek (USA)

- ポスターセッション

### 9月10日 (水)

- 特別講演: B.Lemmer (Germany), R.Moore (USA), H.Okamura (Japan)
- シンポジウム:
  - The Relationships Within and Among Oscillators of the SCN and the Periphery (SRBR symposium)  
Organized by M. Menaker (USA)
  - Circadian Systems in Photosynthetic Organisms (JSC symposium)  
Organized by T. Kondo (Japan) and C. Johnson (USA)
  - Light and Behavior (SFC symposium)  
Organized by Y. Touitou (France)
  - Molecular Mechanisms of Circadian Clock in Vertebrates  
Organized by S. Ebihara (Japan), H. Korf (Germany)
  - Multi-Oscillator Organization of Insect Circadian Systems  
Organized by K. Tomioka (Japan), T. Page (USA)
  - The Role of Circadian Rhythm Disturbances in Aging (SLTBR symposium)  
Organized by D. Harper (USA)
- ポスターセッション

### 9月11日 (木)

- 会長講演: K.Honma (Japan)
- シンポジウム:
  - Mammalian Photoreception Associated With Circadian Timekeeping (SRBR symposium)  
Organized by D. McMahon (USA)
  - Modeling Circadian Complexity Networks of Molecular, Cells and Tissues  
Organized by S. Honma (Japan), T. Roenneberg (Germany)
  - Circadian and Homeostatic Control of Daily Rhythms (ISC symposium)  
Organized by D. Weinert (Germany)
- ポスターセッション:

### 9月12日 (金)

- 特別講演: J. Arendt (UK), Y.Touitou (France)
- シンポジウム:
  - SCN-Independent Rhythm: Molecular to Behavioral Analysis  
Organized by S. Shibata (Japan), R. Mistlberger (Canada)
  - Mechanism and Adaptive Significance of Seasonal Rhythms in Mammals  
Organized by N. Ibuka (Japan), I. Zucker (USA)
  - Biological Rhythm as an Indicator for Longevity  
Organized by K. Otsuka (Japan)

|                  |                         |       |             |
|------------------|-------------------------|-------|-------------|
| Social Program   | Get-together party (無料) | 9月8日  | 18:00-20:00 |
|                  | コンサート (無料)              | 9月9日  | 19:00-21:00 |
|                  | 懇親会 (¥7000)             | 9月11日 | 19:00-21:30 |
| Business Program | 時間生物学世界大会総会             | 9月9日  | 17:00-18:00 |
|                  | 日本時間生物学会総会              | 9月11日 | 12:00-13:00 |

## 第 10 回生物リズムに関する札幌シンポジウム

- Aschoff/Honma Prize Winner's Lecture : P. Hardin(USA)
- 特別講演 : Eberhard Gwinner(Germany)
- シンポジウム 1 : Human Circadian Rhythms  
A.Wirz-Justice(Swiss), H.Tokura(Japan), J. Zully(Germany)
- シンポジウム 2 : Molecular Mechanism of Biological Clock  
S.Daan(Netherlands), T.Roenneberg(Germany), G.Block(USA), H.Ueda(Japan)

### 「日本時間生物学会 会誌 Vol.8 NO.2 2002」のお詫びと訂正

1. 本文 22 頁上から 2 行目第 10 回日本時間生物学会学術集会のお知らせで 2003 年 9 月 11 日ですが 2003 年 9 月 9 日の誤りです。
2. 本文 40 頁に掲載されております展望ホール (9 階) 12:00 - 13:00 懇親会は時間が 18:00 - 20:00 の誤りです。
3. 本文 69 頁一般演題 A6 の抄録が最後一部漏れ
4. 本文 71 頁一般演題 A10 の抄録が最後一部漏れ
5. 協賛一覧に日本イーライリリー株式会社

## 日本時間生物学会学術奨励賞公募のお知らせ

本年より日本時間生物学会の新企画として学術奨励賞を募集することとなりました。この制度は時間生物学領域で顕著な業績をあげ、今後の活躍が期待される若手研究者を表彰するためのもので、年齢 37 歳までの方を対象としております。自薦他薦を問いませんので、記念すべき第 1 回学術奨励賞へどしどしご応募ください。応募にあたっては内規をご確認の上、所定の様式にご記入いただきますようお願いいたします。

■ 締め切り： 平成 15 年 7 月 17 日（木）必着

■ あて先： 〒464-8602 名古屋市不老町 名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻内  
日本時間生物学会事務局 近藤孝男

日本時間生物学会学術奨励賞選考委員長

石田 直理雄 （産業技術総合研究所）

選考委員

海老澤 尚 （埼玉医科大学）

海老原 史樹文（名古屋大学）

大川 匡子 （滋賀医科大学）

深田 吉孝 （東京大学）

### 日本時間生物学会学術奨励賞の選考に関する内規

1. 時間生物学領域で顕著な業績をあげ、今後の活躍が期待される若手研究者を表彰する。
2. 本賞受賞者の年齢制限は、原則として応募時点で 37 歳以下とする。
3. 上記の目的で理事の中から委員長 1 名、委員 4 名より成る選考委員会を設け、公募により募集した候補者の中から本賞受賞者を原則として毎年 1 名を選定し、賞金を贈呈する。
4. 委員会は毎年設置し、委員長及び委員を理事会が理事の中から選出し、選考委員の任期は理事の期間とする。

7. 業績

1) 研究の名称 :

2) 研究の内容 :

3) 時間生物学に対するこれまでの貢献と今後の可能性 (具体的・分かり易く記述すること) :

日本時間生物学会学術奨励賞候補者調書

ふりがな  
1. 氏 名 :

2. 生 年 月 日 : (平成 年 月 日現在)

3. 現 職 :

4. 最終学歴ならびに職歴 :

5. 学会等での表彰歴 :

6. 本件に関する連絡担当者名 :

8. 論文リスト (ピアレビューのある原著論文のみ)

## 会誌名称に関するアンケート結果について

■期 間：平成 14 年 12 月 3 日～12 月 17 日

■対象者：評議員のうちメールアドレスがわかっている方 131 名

■方 法：以下の会誌名から適当と思うものを二つ選び、順位をつけて回答するように求めた。

会誌名（案）

1. 時間生物学 (Chronobiology)
2. 時間生物学雑誌 (Journal of Chronobiology)
3. 生物リズム研究 (Biological Rhythm Research)
4. 生物と時間 (Biology and Chronology)

### ■アンケート結果：

時間生物学雑誌を 1 位としたのが最も多く 25 票を獲得し、続いて時間生物学が 22 票であった。しかし、時間生物学雑誌を 2 位としたものが 17 票で時間生物学の 21 票より少なかった。1 位、2 位の合計獲得数を見ると、時間生物学が 43 票、時間生物学雑誌 42 票ではほぼ同数であった。生物と時間、生物リズム研究の獲得数は少なく、時間生物学雑誌あるいは時間生物学のいずれかに決定すべき結果を得た。問題点として、日本名と英名をセットにして回答を求めたため、どちらの名称を優先して回答するかにより異なった結果を生む可能性があった。

頂いた意見を列挙すると以下のようになります。

- ・ 時間生物学の英名を Chronobiology ではなく、Journal of Chronobiology にしたらどうか。
- ・ Journal of Chronobiology を Japanese Journal of Chronobiology にしたらどうか。
- ・ 時間生物学雑誌よりも時間生物学会雑誌の方が良いのではないか。
- ・ Journal of Chronobiology and Medicine はどうか。

などの意見があった。

■回答者数：63 名

■回 答 率：48 %

| 順 位     | 1 位 | 2 位 | 合 計 |
|---------|-----|-----|-----|
| 時間生物学   | 22  | 21  | 43  |
| 時間生物学雑誌 | 25  | 17  | 42  |
| 生物と時間   | 6   | 5   | 11  |
| 生物リズム研究 | 9   | 17  | 26  |
| 1 位のみ   | 0   | 2   | 2   |
| その他の名称  | 1   | 1   | 2   |
| 合 計     | 63  | 63  | 126 |

以上のアンケート結果から、時間生物学 (Chronobiology) と時間生物学雑誌 (Journal of Chronobiology) から日本語名称として時間生物学、英語名称として Journal of Chronobiology を採用し理事及び編集委員に提案し賛同を得た。よって、新学会誌の名称を以下のように決定しました。

日本時間生物学会会誌新名称

日本語名称：時間生物学

英語名称：Journal of Chronobiology

## 賛助会員リスト (50音順)

以下の団体（代表者、敬称略）からは2003年度賛助会員として学会運営に御協力頂いております。お名前を掲載し感謝いたします。

|              |        |
|--------------|--------|
| 岩井化学薬品（株）    | （岩井廣行） |
| （株）化研        | （吉田幸介） |
| 光華産業（有）      | （越山順一） |
| 三協ラボサービス（株）  | （椎橋明広） |
| （有）シンワ科学     | （上原和敬） |
| （株）薬研社       | （鈴木泰志） |
| ヤンセン-ファーマ（株） | （手塚慎也） |
| 理科研（株）       | （森川義雄） |
| 塩野義製薬株式会社    | （竹村俊彦） |

時間生物学会事務局

## 執筆要領

### 原稿について

本誌では、投稿原稿を受け付けています。以下の執筆要領にしたがって原稿を編集局までお送り下さい。原稿の採用については、編集委員会が中心になって査読を行います。必要に応じて関連分野の専門家に依頼し決定します。

原稿は、ワードプロセッサまたはコンピュータソフトを用いて作成する。プリントアウトした原稿1部（図表を含む）とフロッピーディスクを編集局へ送付する。フロッピーディスクのフォーマット、使用したマイコンの機種、ワープロソフトは一般に使われているものなら何でも結構ですが、使用したマイコンの機種、ワープロソフト、氏名及びタイトル名をフロッピーディスクの上に明記して下さい。なお、念のため、テキスト形式で保存したファイルも添付するようにして下さい。

総説と技術ノートの著作には、別刷り50部を無料でさしあげます。50部以上希望の場合は有料となりますので、編集局までその旨連絡して下さい。また、非会員で総説または技術ノートを執筆いただいた場合、会費免除で1年間本学会会員になれます。

### 1. 総説と技術ノート

- 1) 原稿の長さは、図、表、文献を含め刷り上がりで4~5ページ程度（1頁は約2100字と考えて下さい：横1行23文字で1頁46×2=92行）とする。
- 2) 第1頁に表題、著者名、所属及びその所在地、電話番号、FAX番号、E-mailアドレス及び脚注（必要がある場合）を記す。
- 3) 第2頁に400字程度のアブストラクトを記入する。
- 4) 本文に節を設ける場合、1.、2.、3.、・・・とする。
- 5) 書体の指定は、プリントアウトした原稿に朱で行い、斜体（イタリック体）は1本下線（\_\_\_\_\_）、太文字（ゴシック体）波下線（~~~~~）とする。
- 6) 参考文献の数は特に制限しないが、50編以内が望ましい。参考文献は、アルファベット順に通し番号を付けて文末にまとめて掲げる。本文中の引用箇所には、通し番号を右肩に付けて示す。  
（例）Aschoffによる<sup>1-4)</sup>、・・・である。<sup>5, 8, 9)</sup>。
- 7) 文末の参考文献の記載は、次のようにする。  
[雑誌]通し番号) 著作名：誌名、巻数、ページ（発行年）  
[書籍]通し番号) 著作名：書名、ページ、発行所（発行年）  
（例）1) Aschoff J, Gerecke U, Wever R: Jpn J Physiol. 17:450-457 (1967)  
2) Aschoff J: Circadian Clocks, pp 95-111, North-Holland, Amsterdam (1965)
- 8) 表は原則として3~5程度とするが、必要に応じて増やすことができる。簡潔な標題と必要な説明をつけて、本文とは別の用紙に作成する。
- 9) 図は原則として3~5程度とするが、必要に応じて増やすことができる。図には簡単な標題を付ける。図の標題と説明は別紙にまとめる。
- 10) 図及び表の表示は、図1、図2、・・・、表1、表2、・・・の通し番号で行う。これらを挿入する箇所を、プリントアウトした本文の原稿欄外にエンピツ書きで指示する。
- 11) 図及び表を文献から引用した場合、引用を明記するとともに、引用の許可が必要な場合には、著者の責任で許可をとっておく。

### 2. 研究グループ

研究室や研究グループの紹介記事。刷り上がりで1~2ページ程度。執筆者を含む顔写真、または研究現場のスナップ写真を少なくとも1枚は添付する。写真には標題と説明を付ける。

### 3. 海外レポート

留学などで滞在した研究室、訪問した研究施設、あるいは海外調査や見聞の紹介記事。写真があれば添付する。刷り上がりで2~4ページ程度とする。

### 4. 関連集会報告

国内外の関連集会の紹介記事。写真があれば添付する。刷り上がりで2~4ページ程度。

## 編集後記

- 本学会では年2回会誌を発行していますが、今月号で通算9巻、合計17冊の会誌を発行することになりました。会誌の内容も徐々にではありますが充実し、投稿論文など増えてきました。そこで、さらに学術雑誌として充実するために、本号から従来のB5版をA4版に拡大し、会誌名称についても「時間生物学」に変更することにしました（アンケートの結果をご覧ください）。本誌は査読制度を設けた学術雑誌です。投稿を希望される方は、執筆要項にしたがって原稿を編集局までお送り下さい。特に、若手研究者の総説などを期待しています。
- 第1回時間生物学世界大会（WCC2003）が9月9日～12日、札幌で開催されます。各国の時間生物学関連学会を結集して設立した時間生物学会世界連合の記念すべき第1回の大会です。本年度の時間生物学会学術大会も兼ねていますので、是非御参加下さい。
- 時間生物学領域で顕著な業績をあげ、今後の活躍が期待される若手研究者を表彰するために「学術奨励賞」を設けました。他薦、自薦を問いませんのでどしどし応募下さい。詳しくは、本誌をご覧ください。
- 昨年の大会のワークショップ「時間治療の最前線」の内容を論文にまとめていただきました。時間生物学の基礎研究の成果を治療に生かす研究が進んでいます。御一読下さい。
- The physiological Clock（生理時計、古谷雅樹・古谷妙子訳、東大出版）の著者であるE.ビュニングは「生物時計の父」と呼ばれています。ビュニングと古くから親交のあった田澤先生に、その業績について紹介し、いかにして生物時計の概念が形成されたかを解説していただきました。大作ですので2回に分けて掲載します。次回も御期待下さい。（S.E）

時間生物学 Vol. 9, No. 1 (2003)

平成15年5月発行

発行：日本時間生物学会 (<http://wwwsoc.nii.ac.jp/jsc/index.html>)

（事務局）〒464-8602 名古屋市千種区不老町

名古屋大学大学院理学研究科 生命理学専攻内

TEL：052-789-2498 FAX：052-789-2963

（編集局）〒464-8601 名古屋市千種区不老町

名古屋大学大学院生命農学研究科 応用分子生命科学専攻内

TEL&FAX：052-789-4066

（印刷所）名古屋大学消費生活協同組合 印刷・情報サービス部