

目次

巻頭言		
体内時計と体内恒常性	永井 克也	1
第3回学術奨励賞受賞者論文		
細胞間同調ー時間生物学を臨床医学へ応用するための1つのキー・ワードー	太田 英伸	3
Blood pressure soars on Mondays.心血管疾患の新しいリスクとしての“Monday surge”	村上 省吾	10
総説		
ショウジョウバエの睡眠覚醒制御機構	桑 和彦	14
脂肪組織における時計遺伝子の機能とその疾病への関与	榛葉 繁紀	20
ACE阻害薬の時間治療	藤村 昭夫	25
第12回大会関連記事		
第12回日本時間生物学会を終えて	石田 直理雄	30
第12回日本時間生物学会印象記	志賀 向子	31
第12回日本時間生物学会ワークショップ1「時計分子機構」印象記	梅田 奈苗	32
ワークショップ2「生活習慣病と生体時計」を終えて	勢井 宏義	33
第12回日本時間生物学会ワークショップ3「投薬時刻と時計」参加記	安藤 仁	34
第12回日本時間生物学会ワークショップ4「睡眠リズムと発達」総括	海老澤 尚	36
第12回日本時間生物学会シンポジウムA「体内時計のモデル生物」印象記	原田 哲夫	38
学術集会報告		
“Neurobiology of Drosophila” 参加記	吉井 大志	40
日本動物学会第76回大会シンポジウム～概日時計の振動機構と機能分化～に参加して	伊藤 千紘	42
大阪大学蛋白質研究所セミナー「体内時計と体内恒常性維持機構」に参加して	池田 真行	44
第1回Aschoff-Honma記念シンポジウムに参加して	山崎 昌子	46
第4回日本時間生物学会学術奨励賞公募のお知らせ		49
第13回学術大会のお知らせ		50
第14回学術大会のお知らせ		51
事務局報告		52
執筆者のプロフィール		57
日本時間生物学会会則		59
賛助会員リスト		62
執筆要領		63
編集後記		

巻 頭 言

— 体内時計と体内恒常性 —

永井克也

大阪大学蛋白質研究所

「規則正しい生活をするようにしたらうつ病のような症状は消えました！」と言われて、私はすぐさま「その甘いものを欲しがりませんでしたか？」と尋ねていました。1995年アムステルダムで開催されたオランダ脳研究所主催のサマースクールで、私の講演後にNIHのDr. Wehrから「冬季うつ病の患者が何故甘いものを欲しがるか貴方の研究結果から説明できるのではないか？」と質問されたことがあるからです。

私は、院生時代にラット肝臓の糖新生経路の律速酵素であるPEPCKの活性に日周リズムを認めて以来、概日リズムの形成機構に関する研究に従事しました。この研究では自律神経遮断剤を使用した実験により、PEPCK活性の日周リズムの形成には自律神経が関与する結果を得ました。その後、PEPCK活性の日周リズムの位相が摂食時刻に依存するので摂食行動の概日リズムの研究に従事し、視床下部視交叉上核 (SCN) の電気破壊により摂食行動の概日リズムが消失することを認め、1978年に報告しました。この年には、Biorhythms and Its Central Mechanismという内藤財団のシンポジウムが、恩師須田正己先生と中川八郎先生、早石修先生を世話人として東京で開催され、私も出席させて頂きました。Pittendrigh, Strumwasser, Lynch, Klein, Zatz, Weitzman, Krieger, Moore, Schwartz, Zucker, Moore-EdeやHalbergといった海外からの演者の中に、Menakerの代理として大学院生であったJoseph S. Takahashiが出席していたのを覚えています。米国留学中に研究した2-deoxy-D-glucose (2 DG)の脳内投与による自律神経制御を介する高血糖反応に、日周リズムの有無があるかを帰国後検討しました。その結果、日周リズムが認められたので、SCN破壊効果を調べたところ、2 DG高血糖反応自体が消失していました (Biomedical Res. 5:55, 1984)。この事実は、SCNが自律神経の制御を介して2 DG高血糖反応に関与することを示します。当時ラットの自律神経活動を電気生理学的に測定できるのは新潟大学の新島旭教授だけだったので、新島先生に測定をお願いしたところ、2 DG脳内投与後に肝臓、副腎、膵臓などの糖代謝関連臓器の自律神経活動が変化し、SCNの電気破壊でそれらの変化が消失することが明らかになりました。このことから、SCNから末梢臓器への自律神経連絡路が存在することが考えられました。その後、北米神経科学会で白色脂肪組織に神経を逆行するウイルスであるPRV (Pseudorabies virus) を注入するとSCNに逆行するという発表に出会い、その意味を尋ねたところ、「不思議だ、分からない！」という答えが返ってきました。そこで、同様の方法でオランダ脳研究所のBuijs博士と共同研究を行い、膵臓に投与したPRVが脊髄や脳の交感神経と副交感神経の中継核を逆行して1週間後にSCNまで達すること、および横隔膜下でこれら両神経を切断するとSCNまで達しないことを認めました (J.Comp. Neurol. 431: 405, 2001)。このことは膵臓へのSCNからの自律神経経路の存在を示しています。

哺乳類の概日リズムの主時計がSCNにあり、概日リズムの分子機構が時計遺伝子の転写、翻訳と産物の核移行に基づくfeedback 機構であることは読者もご存知だと思います。SCNにある主時計が末梢時計を同調することにより、統一のとれたリズムが形成されるのですが、筆者らはこの主時計による末梢時計の同調には自律神経系が主な働きをすると考えています。筆者らもSCNの時計関連蛋白質の探索を行い、光照射によりSCNでBIT/DHPD-1/SHPS-a蛋白質のチロシンリン酸化が起り、SCNでのBITのリン酸化が体内時計の位相移動を引き起すこと (Brain Res. 976:194, 2003) を認めました。このことは、SCNでのBITのチロシンリン酸化が体内時計の同調に関与することを示唆します。上記のように、SCNが自律神経の中核として機能し、血糖調節に関与することを示す結果を得ていますが、SCNでのBITのチロシンリン酸化は副腎や腎臓の交感神経活動を興奮させて胃の副交感神経の活動を抑制し、血圧を低下させる (Taniguchi et al. Neurosci. Lett. in press, 2006) ことも認めているので、体内時計の分子機構が自律神経制御を介する血糖を含む体内恒常性維持に関与すると考えています。最近、Turekらはclock mutantのマウスが肥満しメタボリックシンドロームを示す (Science

308: 1043, 2005) と報告し、Fuらはleptinによる骨形成の調節が*per*、*cry* や*bmall* などのmutantで異常になる (Cell 122:803, 2005) と報告するなど、代謝調節に時計機構が関連することを示す結果が報告されています。筆者らも、光 (J. Autonom. Nerv. Syst. 40:155, 1992)、匂い (Brain Res. 1058: 44, 2005)、音楽、乳酸菌 (Neurosci. Lett. 389: 109, 2005) などや血液中のL-carnosine濃度 (Am. J. Physiol. 288: R447, 2005) 等の体内外環境の変化による自律神経活動や血圧などの変動が、SCNの電気破壊で消失することを認めています。これらのSCN破壊実験にみられる変化は、同時に破壊されるSCNの通過神経線維の切断による可能性も否定できませんが、最近遺伝子変異により概日リズムの消失したマウスでも、SCN破壊と同様に匂い刺激による自律神経活動や血圧の変化が消失する事実を認めました (未発表)。この事実は、BITの結果も相俟って概日リズムの主時計の分子機構そのものが自律神経制御を介した体内恒常性維持に関与することを示唆しています。

冒頭の会話の主は、高卒後米国の専門学校に留学して帰国後のOL時代にうつ状態になり、2年近く心療内科を回っても治らなかったのも、自ら書物を読み勉強して体内時計の重要性を悟ったと言い、その間「甘いものが欲しかった」と述べました。体内時計の異常によるうつ状態は時差ぼけ状態であり、自律神経が十分に働かずそのために血糖値が上がらないので甘いものを欲しがったのでしょう。このように、SCNに存在する哺乳類の概日時計は自律神経系やホルモンの調節を介して、リズム形成も含み体内環境の恒常性維持に重要な働きをしていると考えられます。こう考えると、肥満時のメタボリックシンドロームにも体内時計の異常が関与しているのかも知れません。

細胞間同調 — 時間生物学を臨床医学へ応用するための1つのキー・ワード —

太田英伸¹⁾

東北大学病院 周産母子センター

ルシフェラーゼ・GFPを用いたレポーターシステムの開発により、中枢・末梢時計の単一細胞レベルでの細胞間同調の詳細が明らかになりました。その結果、特定の環境下で、繊維芽細胞あるいは視交叉上核 (suprachiasmatic nuclei : SCN) のmRNA計測において、リズムが消失しているように見えた現象は見かけ上のもので、「単一細胞ではリズムが維持されているにもかかわらず、個々の細胞のリズム位相がバラバラである」ために起こっていることが明らかになりました。この「細胞間同調」のコンセプトを時差ボケ治療に延長すると、1) 中枢時計レベルでは、腹部・背部SCN細胞間の同調、2) 個体レベルでは、SCNと末梢臓器の細胞間同調に、研究の焦点が浮かんできます。

1. はじめに

「同調」という概念は時間生物学において常に研究のキー・ワードになってきました^{1) 2)}。どのように生物が光・温度といった環境サイクルの変化に同調するのか? この疑問は、行動リズムを指標に時間生物学研究が開始された当初から重要な学問的テーマでした。また臨床的なテーマとしても、海外旅行によって生じる体内時計の新しい環境への同調不和 (時差ボケ) を効果的に治療しようとする薬剤開発が日本を含め各国で精力的に行われています^{3) 4) 5)}。

特に1998年、スイスのSchiblerグループ (ジュネーブ大学) から繊維芽細胞を使用した「血清ショック・モデル」(一時的な血清ショックが繊維芽細胞にサーカディアン・リズムを開始させること) が提唱されるに至り⁶⁾、「細胞間」同調の重要性が時間生物学で意識されるようになりました。このモデルに対する最終的な解答が2004年の末、Nagoshi⁹⁾・Welsh¹⁰⁾ からそれぞれ提出されるに至りました。私達のグループもこの問題について視交叉上核 (suprachiasmatic nuclei : SCN) を対象として取り組み、この結果が今後の臨床医学において示した可能性を2004~2005年の一連の研究動向の中でご説明したいと思います。

2. 「血清ショック・モデル」による問題提起⁸⁾

SchiblerグループのBalsalobreらは、高濃度の血清 (50% adult horse serum) を繊維芽細胞 (rat-1 fibroblast) に2時間投与することにより、細胞中の時計遺伝子 *period1* (*per1*) / *period2* (*per2*) 及び転写因子 *rev-erb a* / *albumin D element-binding protein* (*dbp*) / *thyrotroph embryonic factor* (*tef*) のmRNA がリズムを刻み始めることを報告しました。そのリズム周期は約22.5時間で、血清ショック後3日間のリズムを刻むことを確認しました。彼らは、この実験により血清ショックによる①「リズム誘導」、と②個々の細胞間の「リズム同調」の2つの仮説を示しました。「リズム誘導」とは、それまでリズムが存在しなかった細胞に血清ショックによりリズムを励起し、繊維芽細胞の時計遺伝子・転写因子にサーカディアン・リズムが観察できるようになったとする仮説です。一方、「リズム同調」仮説では、血清ショック以前においても、個々の細胞にはリズムが存在しているものの、個々の細胞がもつリズム位相は異なると仮定しています。そのため、シャーレに含まれる培養細胞全体でmRNAを測定すると、結果的には個々のリズムが合算・平均化され、見かけ上リズムが存在しないように見えると考えています。血清ショックによって、この細胞間の異なる位相が

✉hideohta@mail.tains.tohoku.ac.jp (〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1)

同調し、リズムが出現したように見えるというのが、「リズム同調」仮説です。

3. 末梢時計（繊維芽細胞）における細胞間同調（Nagoshiら⁹⁾・Welshら¹⁰⁾の解答）

2つの仮説のうち、どちらが正しいのか？この解答に対する鍵は、同一の単一繊維芽細胞のリズム計測を行うことでした。この観察によって、リズムが止まっているのか、あるいは個々の細胞にリズムが存在する状況で細胞毎にリズム位相が異なっているのか、その答えを出すことができます。既にSchiblerグループは、この仮説を発表した1998年、自ら投げかけた研究テーマへの解答を得るため、*dbp::GFP*レポーターシステムの開発に取りかかっています¹¹⁾。レポーターシステムとは、目的遺伝子のプロモーターと蛍光・発光作用をもつ遺伝子(GFPあるいはルシフェラーゼ:luciferase:luc)を結合させたDNA配列を対象となる細胞・個体に遺伝子導入し、その蛍光強度・発光量を計測することにより、目的遺伝子の活動レベルを間接的に評価するしくみです。結局、最終的な解答が得られたのは、それから6年後の2004年11月のことで、2つの異なるグループから、ほぼ同時に発表されました。11月24日にSchiblerグループのNagoshiらがCell誌上に、その前日の11月23日にKayグループ(スクリプス研究所)のWelshらがCurrent Biologyに on line publication (実際のCurrent Biology誌上にはそれから1ヶ月後の12月末に)と非常に近接した日程で発表が行われました。両グループとも繊維芽細胞を対象にレポーター遺伝子を用い、単一細胞のリズム記録に成功していました。

Nagoshiらは、*rev-erb a* 遺伝子プロモーターに「ヴィーナス」と呼ばれる黄色蛍光タンパクを遺伝子工学的に接合させたコンストラクトを繊維芽細胞NIH3T3に遺伝子導入し、個々の細胞のリズム観察に成功しました。この観察により、血清ショック前の個々の細胞は既にリズムを持ち、そのリズム位相が異なること、一方、血清ショック後ではリズム位相がほぼ同一になることを示しました。

また、Welshらは、2つのアプローチからNagoshi博士らと同様の解答を得ています。第一に、時計遺伝子*bmal1*プロモーターにレポーター遺伝子lucを組み込んだDNA配列を繊維芽細胞rat1に一時的に遺伝子導入することにより単一細胞のリズム観察を行いました。第二に、ノースウェスタン大学のTakahashiグループが作成した*per2::luc* knock-in マ

ウス由来¹²⁾の繊維芽細胞を用い、ショック導入後15日間という長期間、安定したリズム計測に成功しました。

4. 中枢時計SCNにおける細胞間同調（バンダービルト大学グループの解答¹³⁾）

細胞間同調はまた、末梢時計だけではなく、行動リズムの形成という意味で、中枢時計のメカニズムにも深く関わっています。Granados-Fuentesら(Herzogグループ、Washington University in St. Louis)は2004年1月に恒明条件(LL)($3.9 \times 10^{17} \sim 6.9 \times 10^{18}$ photons/sec)下で行動リズムが消失した*per1::luc*ラットからSCNを切り出し培養を行いました¹⁴⁾。このとき、培養細胞におけるルシフェラーゼの発光リズムを測定したところ、SCNにおいてもリズムが消失していました。考察の中で彼らは、Schiblerグループが繊維芽細胞(末梢時計)のリズムに関して提出したものと同様の仮説を提出しています。つまり、LLにおけるラットの行動リズムの消失は、①LLがSCN細胞におけるリズムを止めたために起こる、あるいは②LLがSCNの個々の細胞間のリズム位相を脱同調したために起こる、という仮説です。

この2つの仮説に対して、私たちバンダービルト大学のグループは*per1::GFP*マウスのSCNを対象として、解答を試みました。*per1::GFP*マウスは*mouse per1*プロモーターとGFPを結合させたDNA配列を組み込んだ遺伝子操作マウスです。このマウスを使い、視交叉上核SCNにおけるGFPの蛍光強度を計測することにより、*per1*遺伝子の活動レベルを個々の神経細胞において評価できます。

実験プロトコルはマウスをLL条件下(350ルクス)で飼育し、①行動リズムが無周期になった個体と②サーカディアン・リズムが維持されている個体の2グループからSCNを切り出し培養を行い、GFP信号パターンを比較するという単純なものです。実際には行動リズムが無周期となるマウスを得るためには、5ヶ月間という長期間の飼育が必要でした。

この実験で無周期となったマウスの個体は全体の9%(5/58)で、その個体数は少なく、サンプル数を確保するために、培養実験に失敗が許されない緊張感がありました。また、驚いたことに12時間周期の行動リズムをもつ個体も同様に9%出現しました(その当時、ハムスターではマサチューセッツ州立大学医学部Schwartzグループのde la Iglesiaら¹⁵⁾が、マウスでは名古屋大学海老原グループが開発した

CSマウス¹⁶⁾でAbeらが、同様に12時間周期の行動リズムを報告していました)。その結果、当初の計画とは異なり、①サーカディアン・リズムをもつ個体、②無周期リズムの個体、③12時間周期のリズムをもつ個体、の3グループから得られたSCNを用い、GFP信号パターンの解析を行いました。

最初に行った②無周期リズムの個体のSCNの観察から、第一の仮説「LLはSCN細胞のリズムを止める」が否定的であることが分かりました。培養開始直後、共焦点レーザー顕微鏡を覗くと、GFP信号を放つ細胞を見つけることができました。その後24時間の観察で、個々の細胞がもつGFP信号が24時間周期で変動することを確認し、「LLはSCN細胞のリズムを止めていない」ことが分かりました。加えて個々のSCN細胞はリズムを刻むものの、その位相がバラバラで個々に異なっていることも確認しました。1時間に1度の割合で撮影した映像をつないだ高速ムービーから自分が感じた印象は「まるで花火みただ」というものでした。今まで見たことのない映像に驚き、生物現象の奥深さに感動したことを覚えています。

一方、リズムをもつ個体のSCN培養細胞からは、SCNの背側部から腹側部に向かってウェーブ状に24時間周期で変動するGFP信号を確認しました。これは、以前岡村グループ(神戸大学)の山口ら¹⁷⁾がScienceに発表した*per1::luc*マウスの結果と非常に似た信号パターンでした。

また、当初予定していなかった、③12時間周期のリズムをもつ個体では、左右それぞれのSCNは24時間周期で変動するウェーブ状のGFP信号をもつものの、リズム位相は12時間逆転し、左右のSCNが交互に光るといふ、これも生物の不思議さを感じさせる映像でした。

以上のようにLL条件下で発生する無周期行動リズムのマウスでは、生物時計が止まるのではなく、個々のSCN細胞のリズム位相がバラバラになることが明らかになりました。これは末梢時計の細胞間同調と類似した結果で、SCNからの時計信号が行動リズムを形成するシステムに対し、細胞間同調を基礎として出力されていることを示唆しています(しかし、LL条件下でのSCNから行動システムへの出力機構の詳細については検討が不十分です)。

5. 時差ボケの治療はどこに? SCN内の細胞間同調を考える方向と末梢時計を考える方向の2つへ?

これまでの研究を基礎とすると、細胞間同調の視点から、時差ボケに対し2つの定義を与えることができると思います。

- 1) 「時差ボケはSCN細胞間のリズム位相が同調していない現象である。」
- 2) 「時差ボケは中枢時計(SCN)と末梢時計(SCN以外の組織)が同調していない現象である。」

前述したようにSCN神経細胞間の同調が行動リズムの形成に重要である可能性が分かってくると、時差ボケに対する1つの理解として、1)の定義を行うことができると思います。実際、複数の研究者がラット・マウスを対象に行った明暗サイクルの位相後退・前進実験から、SCN背側部の細胞は、腹側部の細胞に比べ、ゆっくりとしたスピードで時計遺伝子の発現パターンが変化することが確かめられています。¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾細胞間の脱同調、特にSCN背側部と腹側部のズレが、時差ボケと呼ばれる一連の現象の本体かもしれません。

また、2)の定義は、*per1::luc*ラットを対象に、明暗環境の位相を前進・後退させた際、SCN・肺・肝臓・骨格筋といった組織・臓器のリズム位相が異なるスピードで反応した観察に基づいています²¹⁾。海外旅行の際、「睡眠サイクルは1週間ほどで順応してきたけれども、便通のリズムはまだおかしい」という経験はよくあるのではないのでしょうか?新しい明暗サイクルに対する脳の時計の適応スピードと腸管の時計の適応スピードは異なっているのかもしれない。

この2つの定義は、時差ボケの新薬の効果を動物実験を通し評価する上で、意外とクリア・カットな見方です。時差ボケの新薬をマウス・ラットに投与し、

- 1) SCNの時計遺伝子リズムの変化を追い、SCNの腹・背側領域の時計遺伝子リズム位相のギャップがどのくらい素早くなくなったのか?
- 2) SCNと他の臓器の時計遺伝子リズムの位相関係は、どのくらい素早く元通りになったのか?

この2つの細胞間・組織間同調をクリアできる薬が時差ボケの薬の候補になるのではないのでしょうか?その意味では、時計遺伝子:*luc*/GFPといったレポーターシステムをもつ遺伝子操作動物が薬の効果を判定する上で今後も重要な実験対象となるかもしれません。

(1) 腹側部・背側部SCNの同調メカニズム

腹側部・背側部SCNの同調メカニズムについて Albusら (Block & Meijerグループ) が行ったGABAの研究は非常に興味深いものです (2005年3月に *Current Biology* に報告¹⁹⁾)。彼らは、明暗サイクルを変化させ6時間の位相後退をラットに負荷した後に、脳からSCNを取り出し初代培養の急性実験 (SCNを取り出した直後に記録を開始) を行いました。その際、カッターによって腹側部と背側部のSCNを切り分け別々に培養を開始し、SCN神経の細胞活動を細胞外電位を用い記録しました。その結果、分割されたSCNの領域がそれぞれサーカディアン・リズムを刻み、かつ腹側部SCNのリズムが背側部SCNに比べ早いスピードで、新しい6時間の位相後退のスケジュールに適應していくことを確認しました。これと同じ現象が、GABAaアンタゴニスト bicucullineを投与することにより、腹側部・背側部SCNをカッターで切り分けていない一まとまりのSCN培養細胞においても観察されました。この背側・腹側SCN間の相互連絡を絶ったモデル実験およびbicuculline投与実験が同様の結果だったことから、GABAが腹側部SCNと背側部SCNのリズム位相を結び付けている可能性が指摘されました。また山口ら¹⁷⁾ の新生仔 *per1:luc* マウスのSCNを用いた初代培養の慢性実験 (培養開始2週間後に記録を開始) においては、カッターによって腹側部・背側部SCNを切り分け、別々に培養を開始したところ、背側部SCNのリズムが消失しました。SCN細胞の発達レベルの違い (対象が大人と新生仔) 及び慢性実験系では実験開始直後に比較し細胞数・細胞構築が変化することから²⁰⁾、急性培養・慢性培養の2つの実験系の単純な比較は難しいですが、腹側部と背側部SCNのリズムを同調させるには、単純にGABAをターゲットに薬剤開発を行うだけでなく、背側部SCNのリズム形成メカニズムを明らかにする必要があるかもしれません。

またAtonら (Herzogグループ) が2005年3月に *Nature Neuroscience* に報告したVIPとそのレセプターVIPAC2Rに関する研究²⁰⁾ も腹側部SCN・背側部SCNの同調メカニズムを考える上で示唆に富んでいます。彼らは、VIP KOマウス、VPAC2R KOマウスの約60%がその行動に単一のサーカディアン・リズムを刻まず24時間以外の周期も加えた複数のリズムを刻むという観察結果から、VIPが細胞間同調に関わっているという仮説を検討しました (この背景には「SCN細胞間の同調が乱れる→行動に複数のリ

ズム周期を発生」という仮説が意識されています)。次に彼らは新生仔マウスSCNをバラバラに分離した単一神経細胞をマルチ電極上に蒔き、培養を行いました (分散培養)。そして、細胞外電位のリズムを野生型 (C57Bl/6)、VIP KOマウス、VIPAC2R KOマウスの3タイプで観察し、個々のSCN細胞のリズムの有無、リズム位相を調べました。その結果、VIP KOマウスとVIPAC2R KOマウスでは共に、約70%の培養細胞のサーカディアン・リズムが消失し、残り30%のリズムのある細胞のリズム周期は24時間以外の周期を含む広範囲に渡っていました (一方、野生型でリズムを示したものは全体の70%の培養細胞でした)。

更にAtonらは、VIPAC2RアゴニストのRo 25-1553を一日に一度投与し、VIP KOマウスから得たSCN細胞のサーカディアン・リズムを回復できることを示しました。加えて、同様にRo 25-1553をVIPAC2R KOマウスから得たSCN細胞に毎日投与しても、リズムが回復しないことから、VIPレセプター (VIPAC2R) の存在がリズム回復に必要なこと、VIPが細胞間同調に貢献しリズムを回復させている可能性を示しました。しかし、Atonらの実験では、新生仔マウスSCNの「分散」培養で行われているため、腹側・背側SCNのカップリングにVIPに関わっているか否か、直接の解答を得ることはできません。加えてVIPリズムが新生仔ラットと大人ラットで異なる点も考えると²⁰⁾、できれば大人のVIP KOマウス、VIPAC2R KOマウスを対象にSCNの構造が保たれる「器官」培養で同様の実験を行うことができればベストのように思います。

SCN全体における個々の細胞間同調がより問題となるのは、恒明環境によってSCNが光の影響をより強く受けている人工環境で、時差ボケとは若干異なる病態生理かと考察します。例えば、対象となるのはICU (集中治療室)・NICU (新生児集中治療室)・宇宙ステーションといった人工環境です。この場合、腹側部SCNと背側部SCN間のリズム位相のズレを考えた治療より、恒明環境で乱れたSCN全体の細胞間同調を整える治療が必要となることと思います。その意味で、SCN全体の細胞を同時に同調開始させる薬剤開発が必要かもしれません。また、同様な効果は、規則正しい明暗周期を導入することによっても得られる可能性があります。薬剤による副作用のリスクを減らすことも考えると、光治療といった非薬剤治療の可能性を丁寧に検討することが実際は現実的な選択かもしれません。

ヒトSCNの細胞間同調を非侵襲的に確かめることは技術的に難しいのが現状です。PET、Functional MRI (fMRI) において、分子生物学的プローブを使用すれば原理的に可能かもしれませんが、現在のMRIの解像度は視交叉上核の腹・背側を見分けるほど性能は高くないようです²⁵⁾。現在、fMRIを使用して個々の細胞レベルの活動を記録した研究は報告されていますが、対象は主にげっ歯類で、分子生物学的プローブの安全性の確立にはまだ時間がかかりそうです²⁶⁾。

(2) SCNと末梢時計の同調メカニズムの評価

一方、ヒトにおいてSCNと末梢時計の位相関係を時計遺伝子を含めて解明することは原理的に可能かと思えます。SCNのサーカディアン・リズムをメラトニン・リズムで評価できると仮定して、末梢時計のリズムを皮膚生検²⁷⁾・血液サンプル²⁸⁾で評価することにより位相関係を決めるという方法です。上田グループが動物モデルで提案した複数の時計遺伝子パターンから一点のサンプリングで生物時計の時刻を評価する方法は、検査対象となる方のストレスを減らすことができるという意味で非常に魅力的です²⁹⁾。このメカニズム解明のターゲットは、2005年7月のScienceの特集「私達の知らない125の疑問」の1つに選ばれた「何が臓器の生物時計を同調させるのか？」³⁰⁾の答えにつながるかと思えます。以前よりSCNと末梢時計をつなぐものとして、ヒトではコルチゾール、げっ歯類ではコルチコステロンといった副腎皮質ホルモンがその役割を果たしているのではないかという期待の元、過去に幾つかの研究³¹⁾³²⁾が発表されていますが、残念ながらはっきりとした解答は得られていません。

加えて、SCNと末梢時計の位相関係を調べる技術には直接結びつきませんが、ヒト末梢時計のリズムを計測する技術は、SchiblerグループのBrownらによって最近報告されています³³⁾。彼らは、時計遺伝子*Bmal1*プロモーターにルシフェラーゼを接合させたコンストラクトをレンチウイルス・ベクターに組み込み、採取したヒト表皮細胞・単核球・毛根ケラチン生成細胞に遺伝子導入することに成功しています。この技術を使ったヒト表皮細胞からのリズム計測により、平均24.5時間のサーカディアン・リズムが報告されています。

6. まとめ

振り返ってみると、2004年末～2005年初めという

半年は、末梢・中枢時計における「細胞間同調」のメカニズムに関する研究が一斉に発表された時期でした。またそれは今後「時差ボケ」という臨床的なテーマを別の角度から考える材料を提供したように個人的に感じています。

今回の原稿は、自分がバンダービルト大学でポスドクとして勤務していた2003～2005年に、自分の研究テーマに関連して職場の上司・同僚と日頃話していた内容をまとめた形になっています。アメリカで仕事をして学んだことは、各研究分野には歴史的に重要とされているテーマ、またそこから新たに派生したテーマが存在し、それらを意識しながら研究することが大事だということでした。こういった研究テーマにはその分野の根本的な疑問が存在することを、遅ればせながら実感しました。今後は、時間生物学に限らず、今まで学んだ発達心理学・新生児医学においてもテーマ性という感覚を大事にしていきたいと思えます。このような意識は、定期のミーティングやコーヒーを飲むような休み時間に、自由な雰囲気でのディスカッションを行うことにより培われたように思います。その意味で、自分の直属の上司だったマックマーン先生と研究室の同僚、またバンダービルト大学の時間生物学グループのページ先生・ジョンソン先生・山崎先生そしてポスドク仲間・大学院生・大学生の方々に深く感謝の意を表します。また、この場をお借りしてアメリカ滞在中、私達の研究をサポートして頂いた日本の多くの研究者の方々にお礼を申し上げます。本当にありがとうございました。

—後書き— その後も進展が続いています

この原稿は第12回日本時間生物学会の発表に合せて準備しましたが、その後「SCN細胞間同調」におけるVIP/GRPの役割について進展があり、新たに付け加えさせていただきます。

特に興味深いのは、Pigginsグループ(マンチェスター大学)のBrownら³⁴⁾の報告です。彼らは、「大人」VIPAC2R KOマウスを対象に「吸引電極」と呼ばれるおもしろい方法で、SCN培養細胞の安定した細胞外電位リズムの計測に成功しています。レポーター動物の弱点は、行動という生理メカニズムを制御する神経細胞由来の電気信号を直接評価できない点です。その意味で、Brownらの研究は生物時計の分子メカニズムと行動システムの橋渡しの研究とも言えます。彼らはVIPAC2R KOマウスには恒暗条件(DD)において行動リズムが消失するタイプとリズム

ムが持続するタイプの2グループが存在する点に着目し、それぞれのSCN培養細胞の細胞外電位リズムを評価しました。その結果、行動リズムが消失するマウスでは、細胞外電位リズムも消えていること、行動リズムが持続するマウスでは細胞外電位リズムも維持されていることを確認しました。これは私たちのチーム（バンダービルト大学）の恒明条件下の *perl::GFP*マウスの結果を連想させるもので、恒明条件においてもVIP分泌・VIPAC2R機能の変化が細胞間同調に影響することを示唆しているかもしれません。更にBrownらは、細胞外電位リズムの消失したSCN培養細胞に Gastrin Releasing Peptide (GRP) を投与し、VIPAC2R KOマウスのSCN培養細胞にリズムを回復させることに成功しました。この結果から、VIPとGRPの2つの神経伝達物質がリズムの維持に関わっていることを示しました。

同様のテーマをHastingsグループ（ケンブリッジ大学）のMaywoodら³⁵⁾が、レポーター・マウス [VPAC2R KO マウス X *perl::luc* マウス]（以下VPAC2R KO: *luc*マウスと表記します）を用い検討しています。彼女らは、このレポーター・マウスのSCN培養細胞の発光パターンをCCDカメラを用い画像解析しました。その結果、VPAC2R KO: *luc*マウスでは、確かに単一のSCN細胞でサーカディアン・リズムを認めるものの、野生型・ヘテロ型に比べ、リズムを刻むSCN細胞の個数は少なく、その振幅も1/10以下になっていることを確認しました（しかし、このプロトコールでは、「新生仔」マウスを使用していることに少し注意が必要だと思います。Atonら³⁶⁾・Brownら³⁴⁾の報告によると、DD下の「大人」VPAC2R KOマウスでは行動リズムが消失するタイプと行動リズムが持続するタイプの2つが存在していました。Maywoodらは、行動計測できない新生仔マウスを対象としているので、この2グループを区別せず混合した状態でデータを取っていることとなります）。更にMaywoodらは、VPAC2R KO: *luc*マウスにBrownら同様GRPを投与し、この操作によってルシフェラーゼの発光リズムの振幅が増大し、かつ一時的ながらも4日間ほど個々のSCNの細胞間同調が維持されることを確認しました。その他にも、Maywoodらの論文は、Blockグループ（バージニア大学）のLundkvistら³⁶⁾が以前報告した細胞内Caイオン濃度がリズム維持に重要な点を再検討し、VIPAC2RがSCN細胞の膜電位のコントロールに関与する可能性を示した点、VPAC2R KO: *luc*マウスSCNにおいてリズムが残っている細

胞がAVP分泌細胞が多いSCN背側部（正確にはshell領域との表現）に存在することを示した点など、非常に示唆に富んだ興味深い報告になっています。

一連の論文の流れを取って短い言葉でまとめると、「個々のSCN細胞間のカップリングにはVIP/GRPが、SCN腹側・背側部のカップリングにはGABAが関係している」というデータが少なくとも提出されていることとなります。

参考文献

- 1) Pittendrigh CS, Dann S: J Comp Physiol [A] 106:291-331 (1976).
- 2) Pittendrigh CS, Dann S: J Comp Physiol [A] 106:333-355 (1976).
- 3) Teshima K, Minoguchi M, Tounai S, Ashimori A, Eguchi J, Allen CN, Shibata S: Br J Pharmacol 146:33-40 (2005).
- 4) Sprouse J: Expert Opin Ther Targets 8:25-38 (2004).
- 5) Yukihiro N, Kimura H, Nishikawa H, Ohkawa S, Yoshikubo S, Miyamoto M: Brain Res 1027: 59-66 (2004).
- 6) Nickelsen T, Samel A, Vejvoda M, Wenzel J, Smith B, Gerzer R: Chronobiol Int. 19:915-936 (2002).
- 7) Moriya T, Yoshinobu Y, Ikeda M, Yokota S, Akiyama M, Shibata S: Br J Pharmacol. 125:1281-1287 (1998).
- 8) Balsalobre A, Damiola F, Schibler U: Cell. 93:929-937 (1998).
- 9) Nagoshi E, Saini C, Bauer C, Laroche T, Naef F, Schibler U: Cell 119:693-705 (2004).
- 10) Welsh DK, Yoo SH, Liu AC, Takahashi JS, Kay SA: Curr Biol 14:2289-2295 (2004).
- 11) Rosbash M: Cell 93:917-919 (1998).
- 12) Yoo SH, Yamazaki S, Lowrey PL, Shimomura K, Ko CH, Buhr ED, Slepka SM, Hong HK, Oh WJ, Yoo OJ, Menaker M, Takahashi JS: Proc Natl Acad Sci U S A 101:5339-5346 (2004).
- 13) Ohta H, Yamazaki S, McMahon DG: Nat Neurosci 8:267-269 (2005).
- 14) Granados-Fuentes D, Prolo LM, Abraham U, Herzog ED: J Neurosci 24:615-619 (2004).
- 15) de la Iglesia HO, Meyer J, Carpino A Jr, Schwartz WJ: Science 290:799-801 (2000).
- 16) Abe H, Honma S, Honma K, Suzuki T, Ebihara

- S: *J Comp Physiol [A]* 184:243-251 (1999).
- 17) Yamaguchi S, Isejima H, Matsuo T, Okura R, Yagita K, Kobayashi M, Okamura H: *Science* 302:1408-1412 (2003).
 - 18) Nagano M, Adachi A, Nakahama K, Nakamura T, Tamada M, Meyer-Bernstein E, Sehgal A, Shigeyoshi Y: *J Neurosci* 23:6141-6151 (2003).
 - 19) Albus H, Vansteensel MJ, Michel S, Block GD, Meijer JH: *Curr Biol* 15:886-893 (2005).
 - 20) Nakamura W, Yamazaki S, Takasu NN, Mishima K, Block GD: *J Neurosci* 25:5481-5487 (2005).
 - 21) Yamazaki S, Numano R, Abe M, Hida A, Takahashi R, Ueda M, Block GD, Sakaki Y, Menaker M, Tei H: *Science* 288:682-685 (2000).
 - 22) Schwartz WJ, Meijer JH: *Trends Neurosci* 27:513-516 (2004).
 - 23) Aton SJ, Colwell CS, Harmar AJ, Waschek J, Herzog ED: *Nat Neurosci* 8:476-483 (2005).
 - 24) Ban Y, Shigeyoshi Y, Okamura H: *J Neurosci* 17:3920-3931 (1997).
 - 25) Perrin F, Peigneux P, Fuchs S, Verhaeghe S, Laureys S, Middleton B, Degueldre C, Del Fiore G, Vandewalle G, Balteau E, Poirrier R, Moreau V, Luxen A, Maquet P, Dijk DJ: *Curr Biol* 14:1842-1846 (2004).
 - 26) Heyn C, Ronald JA, Mackenzie LT, MacDonald IC, Chambers AF, Rutt BK, Foster PJ: *Magn Reson Med* 55:23-29 (2006).
 - 27) Bjarnason GA, Jordan RC, Wood PA, Li Q, Lincoln DW, Sothorn RB, Hrushesky WJ, Ben-David Y: *Am J Pathol* 158:1793-1801 (2001).
 - 28) Kusanagi H, Mishima K, Satoh K, Echizenya M, Katoh T, Shimizu T: *Neurosci Lett* 365:124-127 (2004).
 - 29) Ueda HR, Chen W, Minami Y, Honma S, Honma K, Iino M, Hashimoto S: *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:11227-11232 (2004).
 - 30) Stokstad E: *Science* 309: 78-102 (2005).
 - 31) Balsalobre A, Brown SA, Marcacci L, Tronche F, Kellendonk C, Reichardt HM, Schutz G, Schibler U: *Science* 289:2344-2347 (2000).
 - 32) Stokkan KA, Yamazaki S, Tei H, Sakaki Y, Menaker M: *Science* 291:490-493 (2001).
 - 33) Brown SA, Fleury-Olela F, Nagoshi E, Hauser C, Juge C, Meier CA, Chicheportiche R, Dayer JM, Albrecht U, Schibler U: *PLoS Biol* 3:e338 (2005).
 - 34) Brown TM, Hughes AT, Piggins HD: *J Neurosci* 25:11155-11164 (2005).
 - 35) Maywood ES, Reddy AB, Wong GK, O'Neill JS, O'Brien JA, McMahon DG, Harmar AJ, Okamura H, Hastings MH: *Curr Biol* 16:599-605 (2006).
 - 36) Lundkvist GB, Kwak Y, Davis EK, Tei H, Block GD: *J Neurosci* 25:7682-7686 (2005).

ショウジョウバエの睡眠覚醒制御機構

糸 和彦*

熊本大学発生医学研究センター

睡眠覚醒制御は概日時計の出力系として最も重要なものの一つである。近年の研究の進展に伴い両者の関係も注目され、時間生物学と睡眠科学は急速に接近している。睡眠は基本的に高等脊椎動物の脳機能だが、昆虫などの無脊椎動物にも睡眠類似行動があることが示されている。また脊椎動物と昆虫の間で核酸レベルで保存された時計遺伝子が概日周期を制御する。私たちは遺伝学手法に優れるショウジョウバエの睡眠の研究中に、睡眠が量的にも質的にも減少したショウジョウバエの*fmn* 変異株を発見し、その原因がドパミントランスポーターの欠失であることを突き止めた。哺乳類においてもコカインやアンフェタミンなどの覚醒物質がこの遺伝子産物を標的にすることから、行動レベルだけでなく遺伝子・物質レベルでも睡眠覚醒制御機構に類似性があることが示され、今後の研究の発展が期待される。

1. はじめに

1 日約24時間のリズムを刻む概日周期は植物・動物・原核生物にまで広く存在し、様々な生物を用いて研究が進められてきた。概日周期の発振機構は遺伝学手法に優れるショウジョウバエでの研究が先行し、哺乳類の時計遺伝子機能の解明にも結びついた¹⁾。哺乳類の*Per* 遺伝子群はショウジョウバエのものと相同であることが示され、その他にも多くの時計遺伝子の機能が類似している²⁻³⁾。系統発生的に遠く隔たる昆虫と哺乳類が核酸レベルで相同性を持つピリオドなどの時計遺伝子を使って生物時計を構成することは、本能行動の起源を考える上で興味深い。

時計発振機構の分子生物学的解明が進んだ現在では、生物時計を外部環境へ同調させる入力系や時計の情報を生理現象に反映させる出力系にも研究の興味注がれている。概日周期の出力系として最も身近で重要なものは睡眠覚醒サイクルの制御である。まだ未解明の部分が多い睡眠覚醒制御機構は高等脊椎動物の脳機能として研究されてきたが、近年昆虫などの無脊椎動物にも睡眠類似行動（以後単に睡眠と呼ぶ）が認められることが報告された⁴⁾。

筆者のグループはショウジョウバエの睡眠の性状を解析する研究中に睡眠が減ったショウジョウバエの変異株を見つけた⁷⁻⁹⁾。その遺伝子を同定した結果、昆虫の睡眠覚醒制御が分子生物学的にも哺乳類との類似点があることを発見した¹⁰⁾。本稿ではその研究経験を含めて概日周期制御と睡眠覚醒制御を概観する。

2. 概日周期と睡眠の関係

まず概日周期と睡眠の関係を簡単にまとめる。人間は眠気を我慢して睡眠を意識的に自己調節しうるのが一般的に睡眠の量は眠気の強さに比例する。この眠気の強さを決める主要要素は睡眠の量そのもののホメオスターシス（恒常性維持）機構と概日周期の二つである。前者はそれまでの覚醒時間（つまり睡眠の不足、睡眠負債と呼ぶ）に比例して眠気が増え一定量の睡眠を確保する。後者は1日の活動時間帯（人間では昼、夜行性動物では夜）に眠気を覚ます覚醒信号を作るとされ、睡眠負債の量にかかわらず時刻に応じて変化する成分である。

Borbelyのtwo process model¹¹⁾では睡眠負債による眠気をS（process S）概日周期からの覚醒シグナ

*kkume@medic.kumamoto-u.ac.jp (〒860-0811 熊本市本荘2-2-1)

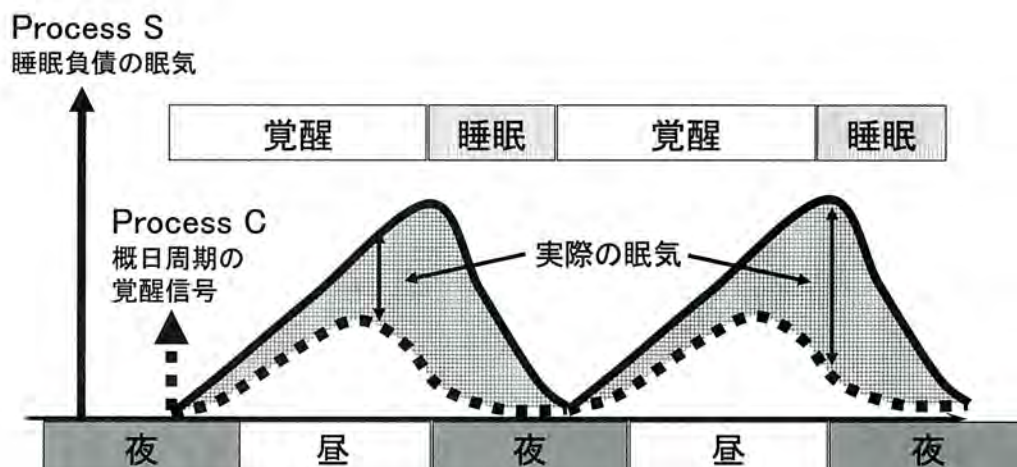


図1. 二過程モデルTwo Process Model

実線が睡眠負債による眠気 (process S) を点線が概日周期からの覚醒信号 (process C) を示す。この差 (灰色に塗りつぶした部分) がその時点での実際の眠気の強さを表す。

ルをC (process C) と呼び、この両者の差がその時点での実際の眠気であるとする (図1)。日中覚醒状態が続くと睡眠負債が貯まりSによる眠気が強まる。夜間に睡眠を取るとこの眠気は急速に減弱する。一方前日の睡眠量に関わらず日中には眠気を弱めるCが強まる。その結果ある時点における眠気の強さはSからCを差し引いたもので表され、日中は緩やかに増加し夜が近づくと急速に増加する。このモデルは時差ボケや徹夜明けに睡眠不足でも目が覚めてくる現象をうまく説明できるが、眠気には24時間だけではなく12時間やさらに短い周期の変動もあり限界もある。

3. 行動学的な睡眠の定義

哺乳類の場合睡眠は電気生理学的に脳波で定義され、レム睡眠とノンレム睡眠という2種類の性質の異なる睡眠がある。ノンレム睡眠時は脳幹の睡眠中枢が働き大脳皮質の活動レベルは低下する。これに対してレム睡眠時には大脳皮質は覚醒時に近い活動レベルを保つ。このレム睡眠は哺乳類以外には恒温動物である鳥類にも認められるが一部の爬虫類の報告を除き爬虫類・両生類・魚類などの変温動物には認められない¹²⁾。しかし脳波を計測することが難しい動物種においても睡眠類似行動が認められるために行動学的な睡眠の特徴も記載されている。

睡眠は不動つまり積極的・意図的な活動を休止してマクロの個体レベルの動きがない状態である。ほぼ全ての動物には活動 (運動) 状態と非活動 (不動) 状態がある。また活動をしていない状態の中に、

眠っている状態と (単に活動を止めているだけで) 眠ってはいない状態がある。ただし泳ぐことにより呼吸をするためずっと動きを続けるマグロなどの回遊性の魚類のような例外もある。また逆に睡眠中と考えられるのに身体の動きが止まらないこともあり、人間の場合は睡眠時遊行症 (いわゆる夢遊病) やレム睡眠行動障害などの寝ぼけ症状がある。さらにイルカでは脳の片側だけが睡眠状態になり対側の活動により泳ぎ続けられるという。

さてこの眠っている状態 (睡眠) と眠っていないが動いてもいない状態 (休息) は、以下の3点で異なる。

1 番目は睡眠は昼夜の区別つまり概日周期の制御を受けるが、休息は一般的に昼夜を問わない。人間は昼行性だが昼でも運動をして疲れれば横になって休むが眠ることは少なく、たとえ昼寝をしたとしても睡眠は深まらず短時間で終わる。それに対して日中にほとんど運動をせず肉体的な疲労がなくても夜間には眠る。

2 番目に睡眠の量は身体的な活動の量には直接は比例せず覚醒の量に比例する。つまり夜間眠気があるのに我慢して起きていた場合、たとえ横になって身体的な疲れがなくても翌日の睡眠量は増える。一方運動後の休息は運動の量が多ければより長く必要となるので休息の量は運動の量にある程度の比例関係がある。このように睡眠には睡眠の量そのものを一定にしようとする恒常性維持機構が働く。

3 番目に睡眠中は意識が失われ外部からの刺激に対して反応性が低下する。深い睡眠時は外部からの

情報入力遮断された状態で軽く触られた程度では目を覚まさない。ところが単に横になって身体を休めているだけの時には意識があり、外部の刺激に対する反応性は活動時と同じレベルである。

1, 2番目に述べた睡眠の特徴はある時点でその個体が睡眠中か否かを判断するためには利用できず、3番目の特徴が重要となる。睡眠は可逆性も必須で非常に強い刺激に対しては反応して覚醒状態に戻らなければならない。もし身体をゆすられても起きなければ、眠っているのではなく気を失っている状態である。

4. ショウジョウバエの睡眠

このような行動学的な特徴を持ち睡眠に類似する「不動状態」が1992年にゴキブリで示され¹³⁾、2000年にはアメリカの二つのグループからショウジョウバエでも報告された^{14,15)}。Hendricksらは30分Shawらは10分を基準とし、それより長い時間ショウジョウバエが動かない場合を睡眠とみなした。するとその量の変化は概日周期の制御を受け刺激を与えることで休ませないで睡眠を剥奪すると反動でその後の睡眠量が増えた。さらに直前まで活動していた個体よりも一定時間じっと動かない状態にいた個体の方が外部の刺激に対する反応性が低下していた。これらは前項にあげた3つの行動学的な基準を満たしている。

さらに一定時間不動だったハエは直前まで動いていたハエに比べて姿勢を低くすること(姿勢の変化)じっとしている時には餌の近くの一定の場所を好むこと(巣の存在)睡眠の量がカフェインで減り抗ヒスタミン剤で増えること(薬理的な類似)哺乳類で睡眠に関与するとされる遺伝子がハエでも睡眠時に変化していることなどもショウジョウバエに哺乳類に類似した睡眠がある傍証とされた。

5. 不眠変異株の性質

われわれもショウジョウバエの睡眠に興味を持ち、特に時計遺伝子との関連について解析を行った。ハエの活動を連続的に観察するため図2に示すように一匹のハエを細いガラス管の中に入れ活動度モニター装置にセットする。この装置ではガラス管中央部に赤外線レーザーのビームが通りハエが歩いてこのビームを横切るとセンサーがその回数を計数する。コンピュータでこのデータを一定時間毎に記録することでハエが動いているのか止まっているのかを判定する。この装置はもともと活動の概日周期を観察するために開発されたのでその目的では30分間隔でデータを記録していたが睡眠を観察する目的で1分単位のデータを取り込みそれを自動的に解析するプログラムを開発した。これを使って概日周期変異株(*per*, *tim*, *clk*, *cyc*:いずれも無周期変異株)の活動・睡眠を詳細に解析したところ*per*と*tim*では睡眠

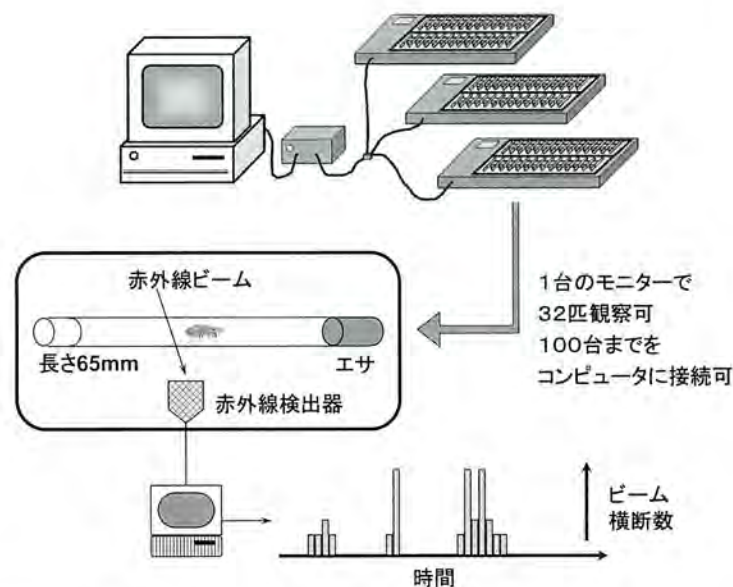


図2. ショウジョウバエの活動記録装置

細いガラスチューブの中に1匹のショウジョウバエを入れ赤外線レーザーで動きを計測する。1台のモニターが32匹用で複数台のモニターを使うことで多数のハエ(当研究室では40台で1280匹)の観察を同時に行うことができる。

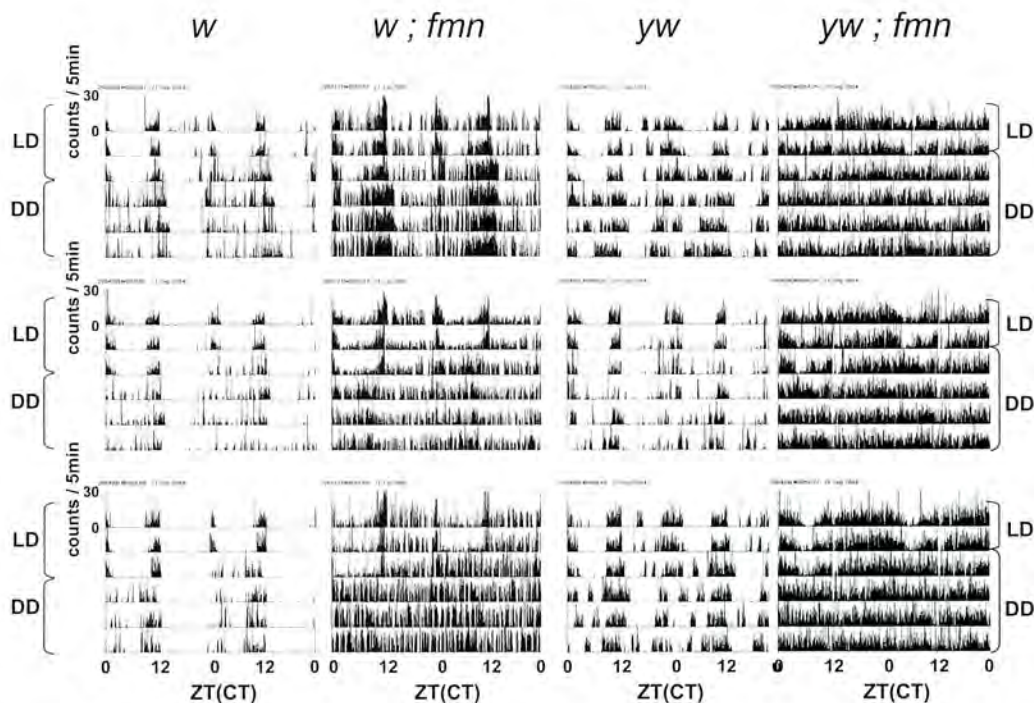


図3. 活動記録

野生型 (*w*, *yw*) *fmn* 変異株それぞれ3匹ずつの記録を示す。各段は2日間分の記録を並べたダブルプロット法で3日間が明暗条件(明期・暗期12時間ずつ)でその後4日間が恒常暗条件である。横軸が時刻、縦軸が5分間あたりの赤外線ビーム横断数を示す。

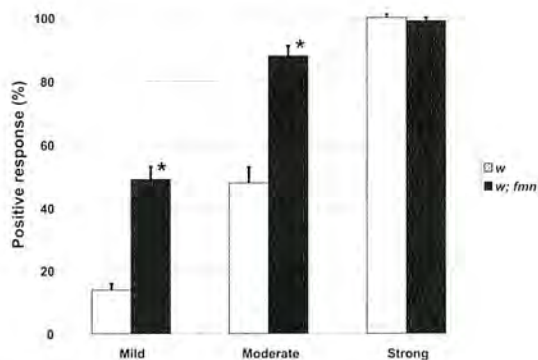


図4. 物理的刺激に対する反応性の変化

野生型(白)と*fmn*変異株(黒)が5分間以上活動を停めている時に、強度の異なる3種類の刺激を与えた場合、反応して動き始めた個体の割合を示す。それぞれ16匹ずつ、5回の試行の平均とその偏差を示す。野生型がほとんど反応しない弱い刺激でも*fmn*変異株が反応していることがわかる。

量の変化はなかったが*clk*と*cyc*では睡眠量が減少していた⁷⁾。

この研究の過程で偶然睡眠の量が減っている変異株を発見し*fmn* (*fumin* = 不眠)と名付けた。*fmn*は研究室のストックの中に偶然発生した変異だったため2種類の異なる遺伝的背景を持つ系統(*w*と*yw*)に戻し交配したところ、どちらの系統でも睡眠

量が減る同じ表現型を示した。図3にこの2種類の系統で、*fmn*の野生型と変異型の個体の活動記録を示すが*fmn*はそれぞれのコントロールに比べて活動量が3~4倍睡眠量が3分の1から4分の1に減少していた。さらに図4に示すように睡眠中の覚醒閾値を調べてみると野生型では20%以下しか反応しない弱い刺激に対して半分程度が反応し、野生型の半数程度が反応するやや強い刺激に対して大多数が反応した。このことは*fmn*変異株は睡眠時間が短くなっているだけではなく、睡眠の深さも浅くなっていることを示し、量だけではなく質的にも睡眠に変化があることを示す。

6. 睡眠と寿命の関係

*cyc*変異株では休ませないように刺激を与え続け断眠をすると死んでしまう個体があることが報告され¹⁶⁾ ショウジョウバエでも哺乳類同様に断眠が致死的可能性が示唆された。また*fmn*変異の発表と同年に他のグループからカリウムチャンネルの変異(*Shaker*)をもつショウジョウバエも睡眠が短くなりまた寿命の短縮も認められることが報告された¹⁷⁾。しかし*fmn*変異株は寿命には全く影響がなかった。図5には*yw*の例を示すが、他の遺伝背

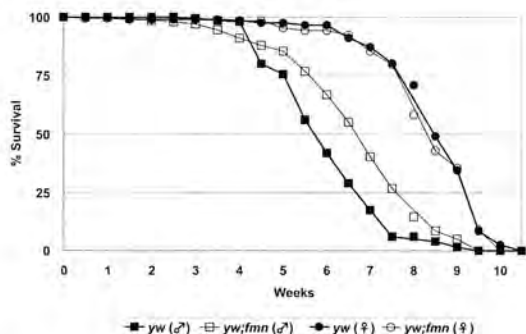


図5. 寿命
野生型（黒）と *fnn* 変異株（白）のオス（四角）、メス（丸）の寿命曲線。X軸が羽化後の週齢をY軸が生存率を示す。*fnn* 変異株はオスもメスも野生型と同じかそれ以上の寿命を持つ。

景・雌雄・飼育温度（20, 25, 30℃）の全ての異なる条件下で *fnn* はコントロールと同程度の寿命をしめた。そのためショウジョウバエで断眠による致死性や睡眠の量と寿命の関係の一般性には疑問がある。

7. *fnn* の原因遺伝子

fnn 変異株は研究室のストックの中に自然に発生したものだったため、定型的な forward genetics で変異遺伝子の同定を試み、最終的にドパミントランスポーター（DAT）遺伝子の挿入変異であることを解明した。図6に示すように *fnn* 変異株ではDAT

遺伝子の6番目のイントロン部分にトランスポゾンの断片が挿入されたことによりスプライシングが阻害され、3'側の欠失した短いcDNAが作られることによりDATタンパク質が失われていると考えられる。

DATは哺乳類ではドパミン作動性神経細胞の軸索末端の前シナプス膜に発現して、放出されたドパミンを再取り込みしてシナプス間隙の量を一定以下に調節する役割を持つ。覚醒物質のコカインやアンフェタミンはDATに結合して働きを抑えてしまうことでドパミンシグナルを強め覚醒を誘導することからわかるように、人間でもDATは覚醒制御に重要な役割をしている。ショウジョウバエでもDATはチロシン水酸化酵素を発現するドパミン作動性神経細胞に発現していることが知られているため¹⁸⁾ 同様の作用を持つと考えられる。このことからショウジョウバエと人間という種としてかなり離れた動物の間で覚醒制御に同じ物質と同じ遺伝子が使われていることが示された。

8. 今後の展望

睡眠にはまだわからないことが多い。特に人間のレベルではさまざまな睡眠物質が知られており、睡眠に関与する脳内の回路も詳細に調べられている。では眠くなっている時には何が起きているかと問われると明確には答えられない。その理由の一つは眠気は意識に影響を及ぼすが意識がどのように作られ

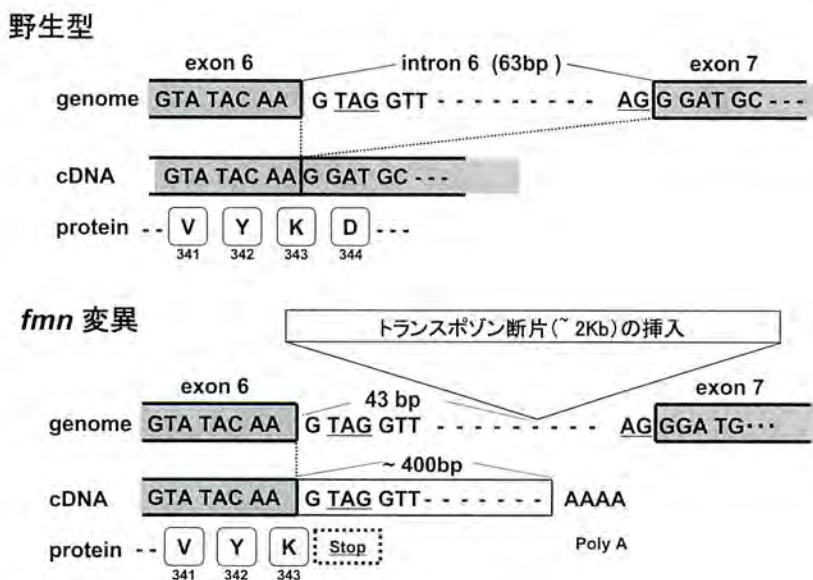


図6. *fnn* のドパミントランスポーター（DAT）遺伝子の変異
野生型と *fnn* 変異のDAT遺伝子のゲノムとcDNAの配列。*fnn* では6番目のイントロンに長いDNA断片が挿入されたためスプライシングが阻害されストップコドンが生成することで翻訳が中断してしまう。

ているのがほとんどわかっていないからである。種々の遺伝子も関与が示されているだけのものも多い。

ショウジョウバエの睡眠は機能的にはヒトの睡眠とは全く異なると推察されるがドパミンという同じ物質を使い同じような行動を取ることから睡眠行動の原型は哺乳類と同じと考えられる。つまりこの2種類の動物が進化的に分離した数億年前まで睡眠覚醒行動のルーツ、そしてその生物学的意義もさかのぼれる可能性がある。またショウジョウバエという遺伝学的ツールが用いやすいモデル動物を使うことで睡眠覚醒制御の分子機構のさらなる解明も期待される。

終わりに

私が最初に時間生物学会に参加したのは1998年のことです。その後留学先のMGHで行った哺乳類のクリプトクロームの機能解析について書かせて頂いて以来、今回が2回目です。執筆の機会を与えて下さった富岡憲治先生に感謝いたします。

[文献]

- 1) 糸和彦: 講談社現代新書(2003)
- 2) King DP, Zhao Y, Sangoram AM, Wilsbacher LD, Tanaka M, Antoch MP, Steeves TD, Vitaterna MH, Kornhauser JM, Lowrey PL, Turek FW, Takahashi JS: *Cell* 89:641-53(1997)
- 3) Tei H, Okamura H, Shigeyoshi Y, Fukuhara C, Ozawa R, Hirose M, Sakaki Y: *Nature* 389:512-6(1997)
- 4) Kume K, Zylka MJ, Sriram S, Shearman LP, Weaver DR, Jin X, Maywood ES, Hastings MH, Reppert, SM: *Cell* 98:193-205(1999)
- 5) Shearman LP, Sriram S, Weaver DR, Maywood ES, Chaves I, Zheng B, Kume K, Lee CC, van der Horst, GT, Hastings MH, Reppert SM: *Science* 288:1013-9(2000)
- 6) Tobler I: *Behav Brain Res* 8:351-60(1983)
- 7) Hendricks JC, Lu S, Kume K, Yin JC, Yang Z, Sehgal A: *J Biol Rhythms* 18:12-25(2003)
- 8) Morales J, Hiesinger PR, Schroeder AJ, Kume K, Verstreken P, Jackson FR, Nelson DL, Hassan BA: *Neuron* 34:961-72(2002)
- 9) Jackson FR, Schroeder AJ, Roberts MA, McNeil GP, Kume K, Akten B: *J Insect Phys* 87:833-42(2001)
- 10) Kume K, Kume S, Park SK, Hirsh J, Jackson FR: *J Neurosci* 25:7377-7384(2005)
- 11) Borbely AA: *Hum Neurobiol* 1:195-204(1982)
- 12) Campbell SS, Tobler I: *Neurosci Biobehav Rev* 8: 269-300(1984)
- 13) Tobler I, Neuner-Jehle M: *J Sleep Res* 1:231-239(1992)
- 14) Shaw PJ, Cirelli C, Greenspan RJ, Tononi G: *Science* 287:1834-7(2000)
- 15) Hendricks JC, Finn SM, Panckeri KA, Chavkin J, Williams JA, Sehgal A, Pack AI: *Neuron* 25:129-38(2000)
- 16) Shaw PJ, Tononi G, Greenspan RJ, Robinson DF: *Nature* 417:287-91(2002)
- 17) Cirelli C, Bushey D, Hill S, Huber R, Kreber R, Ganetzky B, Tononi G: *Nature* 434:1087-92(2005)
- 18) Porzgen P, Park SK, Hirsh J, Sonders MS, Amara SG: *Mol Pharmacol* 59:83-95(2001)

第12回日本時間生物学会を終えて

石田 直理雄

産業技術総合研究所 生物機能 生物時計

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

第12回日本時間生物学会印象記

志賀向子

大阪市立大学大学院理学研究科

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

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

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

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

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

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

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

第12回日本時間生物学会ワークショップ1 「時計分子機構」印象記

梅田奈苗

山口大学大学教育機構保健管理センター

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ワークショップ2「生活習慣病と生体時計」を終えて

勢井宏義

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部統合生理学分野

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

けた自分の鉄面皮にも驚きです。

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

第12回日本時間生物学会 ワークショップ3「投薬時刻と時計」参加記

安藤 仁

自治医科大学医学部薬理学講座臨床薬理学部門

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

第12回日本時間生物学会 ワークショップ4「睡眠リズムと発達」総括

海老澤 尚

東京大学大学院医学系研究科睡眠障害解析学

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

第12回日本時間生物学会 シンポジウムA「体内時計のモデル生物」印象記

原田哲夫

高知大学教育学部環境生理学研究室

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

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

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

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

受けていたりするのかなどと空想してしまう。

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

“Neurobiology of Drosophila” 参加記

吉井大志

岡山大学自然科学研究科生命分子科学専攻

2005年10月5日から9日まで、アメリカ合衆国、ニューヨーク、コールドスプリングハーバーで、Neurobiology of Drosophilaが開催された。開催場所はケネディ空港から車で約1時間のところにあるコールドスプリングハーバー研究所であった。研究所は小さな山を越えた場所にあり、研究所周辺の道路はほとんど車も通らないような人気のない環境である。研究所内は自然が多く残っており、至る所でシマリスなどの小動物を見かけることができる、大変美しい場所である。さらに研究所の西側にはヨットハーバーがあり、同時に海も楽しめる。ご存知の方も多いと思うが、この研究所の所長は2重らせんのジェームス・ワトソンである。ワトソンに会えるかもしれないという希望を胸に、会った時の言葉まで考えて、興奮気味に会議に参加した。しかし、彼のオフィスを覗くことはできたが、残念ながら彼は休暇中であった。

この会議では神経科学に関するショウジョウバエ研究者が集まり、それぞれの分野の研究報告を行っている。分野の範囲はかなり広く、行動学、生理学、発生学まで様々な分野の研究者が混在していた。発表内容は、論文などで公表されていないものでなければならぬ。とはいっても、投稿中の論文やすでに受理されているものもあったようで、学会から帰った後、すぐに雑誌に掲載された発表もあった。主な参加者はアメリカ合衆国内で研究をしている方だったが、私のように外国から参加した人も少なくはなかった。会議は朝9時から始まり、毎日夜10時ぐらいまで発表があるというかなり長丁場である。時差ボケだった私には体力的にかなりつらい5日間であった。

初日に“行動”のセッションの一部として、概日時計に関する発表が3つ組まれていた。それぞれの発表者は、R. Allda, M. Rosbash, P. Hardinの研究室の方々であり、リズム研究をリードしている研究内容ばかりである。それぞれの発表は大変興味深く、自分のリスニング能力を呪いたくなったのだが、最

も印象深かったのはHardin氏の研究室のYuさん(ポスドク)が発表した内容であった。これまで、ショウジョウバエのCLKは周期的に発現していることが信じられてきたが、彼らの発表では、CLKはその発現量に周期的変動はなく、むしろ周期的に変化するのはCLKのリン酸化/脱リン酸化であるというものであった。さらに、*per* mRNAの発現のピークとCLKのリン酸化のピークがほぼ同じであることを明らかにしており、リン酸化されたCLKが*per*の転写を活性化することを提案していた。これが事実であるなら*per*、*tim*の転写のタイミングを制御する機構を明らかにする大きな発見であると思う。しかし、これまでの説を部分的に覆す結果であることから、より慎重な検討が必要であると感じた。

ショウジョウバエの歩行活動リズムは朝方と夕方に活動のピークを持つ2峰性の活動パターンを示す。2004年には2つの研究グループによって朝と夕方の活動ピークは、別々の時計細胞によって制御されていることが報告されている。今回、Rosbash氏の研究グループのポスドクPengさんが発表した内容は、その研究をさらに発展させており、脳側方部の腹側に存在する小型の細胞 (small LNV) が朝方の活動ピークを制御することと、夕方の活動ピークを制御する細胞とsmall LNVの間にはカップリングがあり、互いに時間情報をやり取りしていることが提案された。かなり曖昧な行動データからの結論であったので、さらなる検討を要する研究であると感じたが、観察している現象自体は大変興味深いものであった。今後はこのような個々の時計細胞の役割を明らかにする研究や細胞間のカップリング機構の研究がショウジョウバエでも盛んになることを予感させるものであった。

“神経機能”のセッションでも2題、概日時計に関する研究発表があった。私自身、脳内のPER発現神経細胞を解析する機会が多くなっていたので、彼らの発表は参考になると期待していた。まず1題目の発表では、時計の出力分子と予想されているPDFの

リセプターが同定されたという話であった。この研究は最近Neuron誌に掲載され、3つの研究グループが同時にPDFリセプターの同定を行っている。その3つの研究グループのうち、1つのグループは口頭発表を行い、別の1つのグループはポスター発表を行っていた。彼らの研究では、リセプターが発現している細胞を同定しており、いくつかの背側のPER発現細胞でPDFリセプターが発現していることを明らかにしていた。この研究内容自体すばらしいものであったが、私は発表者のShaferさんが示した免疫組織染色の美しさに深く感心した。私も日ごろから免疫組織染色を行っているが、彼のようにうまくいかない。会議の2日目、3日目には彼と話す機会があり、いろいろな情報を得ることが出来たのは収穫であった。もう1つの発表ではT. Holmes氏の研究グループが、PDF神経を過剰興奮させたトランスジェニックの歩行活動パターンを解析していた。結論としてはPDF神経の発火が活動の昼行性と夜行性のバランスに関与しているというものであった。トランスジェニックを用いて特定の神経細胞の活動を異常にする手法は様々な応用が考えられることから、我々の研究室でも導入するべきだと感じた。

ポスター発表は発表者のアルファベット順にされており、分野ごとにまとまりが作られていない。聞く側は会場をうろうろして同じ分野を探さないといけないが、会場は狭いのでさほど大変ではなかった。発表は3日間に分けて行われたのだが、アルファベット順で行われたことで、すべての日で自分の研究に関連した発表が聞けることは有意義である。さらに自分が発表している時間に、同じ分野の人がたくさん来てくれることも良い点であると感じた。私の場合(“Y”もしくは“よ”)発表が常に最終日になることから、この方式の導入を積極的に推薦する気にはならないが、多くの分野が集まる学会などでは良い方法なのかもしれない。

私はポスター発表で概日時計の温度サイクル同調機構の研究を発表した。この会議のタイトルが“Neurobiology of Drosophila”だったことから、温度サイクル同調に関わる時計細胞についての研究を中心に発表を行った。他の発表者がレベルの高い研究発表を行っていたので、自分の発表に興味を持ってもらえるかどうか心配していたのだが、かなり多くの研究者が発表を聞きに来てくれたことは良かった。ただ、いくつかの質問がうまく聞き取れなかったことや、こちらからうまく意思表示をすることができなかったことは反省している。最も後悔しているこ

とは、ある学生が言ったジョークを理解できなかったことである。(彼女はなんて言ったのだろうか?)我々の研究は、他のリズム研究者にとって、興味深いものであったようだ。我々は、温度同調にも*per*、*tim*などの時計遺伝子によって構成されるフィードバックループが関与することを明らかにし、さらにPER発現細胞“LPN”が温度サイクル下ではPERを強く発現することを見出している。特に後者の発見について、LPNでは他の時計タンパク質も発現しているのか?と言った質問が多かった。また温度受容体の質問も多く、フィードバックループがどういった入力経路で温度に同調するのか興味を持っている研究者が多かった。少しでも彼らの質問に答えていけるよう、今後もこのテーマで研究を続けていきたいと感じた。P. Emery氏らは我々と同じく時計の温度サイクル同調の研究を始めており、会議初日にポスター発表を行っていた。彼らとはこの会議で様々な議論を交わすことができ交友を深めることができた(写真1)。彼らと共に概日時計の温度同調性の研究を盛り上げて行けたらと思う。



写真1. 会場内でP. Emery氏(右)とその研究室の学生A. Buszaさん(中央)と議論する筆者(左)

この会議では、フィードバックループに関わる新規の時計遺伝子についての研究が1題行われていた。J. Blau氏の研究グループでは新規時計遺伝子のスクリーニングを行っており、新規に時計に関わる遺伝子として、*mef2*という遺伝子を同定していた。今回の発表では*mef2*の発現部位の特定や変異系統、強制発現系統での活動リズムの変化などが示されており、*mef2*が時計に関与する遺伝子であることを強く示唆していた。しかし、フィードバックループに関わるかを明らかにするには至っておらず、今後の研究に期待したい。

会議最終日の前夜はピアノ演奏者のコンサートが行われた。芸術に疎い私には少し高尚過ぎたのだが、

それなりに楽しめた。その後は晩餐会であった。メインはロブスターだったのだが、近くに座っていた研究者に食べ方を教えていただきながら、十分に楽しむことができた。会場には似顔絵画家も来ており、私の似顔絵も描いていただいたのだが・・・(写真2)。



写真2. 筆者の似顔絵。ワインを片手に。

似ているかどうかは別として、良い記念である。晩餐会では会議で初めて知り合いになった先生方や、晩餐会まで知らなかった人までいろいろな方と雑談をする機会ができて大変楽しい時間を過ごせた。

この会議を通じて感じたことは、ショウジョウバエの研究はまだまだ発展していくという確信である。研究者の数、研究テーマの多様さ、研究技術の進歩、また新規研究分野への積極的な参入、そして研究者の熱意。それぞれをこの会議で強く感じ取ることができた。また私も1人のショウジョウバエ研究者として、今後も研究に貢献できるように努力しなければならないと感じた。

最後に、この会議への参加を勧めていただいた九州大学の谷村先生、松本先生にこの場を借りてお礼申し上げます。またこの会議に快く送り出してくれた富岡先生にお礼申し上げます。

日本動物学会第76回大会シンポジウム ～概日時計の振動機構と機能分化～に参加して

伊藤千紘

大阪市立大学大学院理学研究科情報性学研究室後期博士課程1年

本大会は2005年10月6日～8日につくば国際会議場で開催された。つくばに行くのは初めてだったので多少不安があったが、つくばエクスプレス開通のおかげで予想していたよりも都心からのアクセスがよく、街並みもきれいに整備されており、すぐに不安は解消された。また、つくば国際会議場は建物の側面がガラス張りになっているため光がたくさん入り建物内がとても明るく、開放感がある会場だった。会場の冷房が効きすぎてとても寒かったことと、ポスターを1日交替で張り替えるために興味のある研究をその日のうちに見ておかなければならず、じっくり見ることができなかつたという点は残念であったが、会場はいつも大賑わいで活発に議論がなされており、よい大会だったと思う。

本シンポジウムは大会3日目である10月8日の9:00～11:30に行われた。現在、概日時計の振動機構はperiod 遺伝子(以下per)をはじめとする時計遺伝子が形成するフィードバックループにより形成されており、約24時間の周期を作り出していると

考えられている。しかし、概日リズムの背景にはもっと複雑な機構が関与しており、複数の時計が関与することがこれまでに示唆されている。本シンポジウムではこの複雑な時計機構の解明に取り組む研究の一部を聴くことができた。私はキイロショウジョウバエの末梢概日時計の研究を行っており、最近、時計機構の複雑さや多様性を感じていたところであったこと、また、昆虫以外の時計の話詳しく聞いたことがなかったことから、本シンポジウムを楽しみにしていた。富岡憲治先生(岡山大学大学院)と深田吉孝先生(東京大学大学院)のオーガナイズのもと、キイロショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、ラットやマウスといったモデル生物を用いた研究を5人の演者が紹介し、生物時計関連の研究者や学生だけでなく他分野からも多くの人が参加して、さまざまな議論がなされた。簡単ではあるが以下に演題と演者、シンポジウムの内容を紹介する。

① ショウジョウバエ時計関連遺伝子の網羅的探索
松本顕 (九州大学高等教育総合開発研究センター)

時計機構の全体像を探るため、ショウジョウバエの成虫頭部において約1日周期で発現する遺伝子をGeneChipを用いて網羅的にスクリーニングした結果を報告した。頭部で発現する約6000の遺伝子のうち、振動が観察されたのは約1000個で、さらにこれらの中から恒暗条件で振動がはっきりしていた遺伝子に焦点をあて解析が行われた。*tim-Gal4*をドライバとしてRNA干渉を行い、歩行活動リズムにどのような変化が起こるかが示された。今回は明期の前半で多く発現する遺伝子KS2(現時点では仮名称とのこと)が詳しく紹介された。KS2をRNA干渉によりノックダウンすると歩行活動リズムは無周期になること、KS2にはDNA結合ドメインがあることなどから、KS2と*per*遺伝子の関連が示唆された。予想以上に多くの遺伝子が恒暗条件で振動していることは驚きだった。これまでは変異を起こしてその表現型を観察し、概日周期に異常が見られるものをスクリーニングすることにより時計遺伝子が同定されてきたが、この何倍ものスピードで時計関連遺伝子がわかってくるのだろうか。自分が行っている実験の手法とスケールが違うので圧倒されたが、どれくらいの遺伝子が時計に関与しているのかが解明されるのが楽しみだと感じた。

② ショウジョウバエ遺伝子強制発現による時計遺伝子の探索
霜田政美 (独立行政法人・農業生物資源研究所)

先に紹介した演者のアプローチとは逆に、GS系統を利用し様々な遺伝子を脳の時計遺伝子が発現する領域に特異的に強制発現させることにより、新規の時計遺伝子の探索にアプローチするものであった。約7000系統ものスクリーニングの結果、歩行活動リズムに変異が起こった系統が単離された。今回の話の中で特に興味深かったのは、すでに単離されていた*FMRI*についての詳しい解析結果だった。ヒトでは*FMRI*が欠失すると、精神遅滞、自閉症様症状、睡眠障害といった症状を示す脆弱X症候群を引き起こす。*FMRI*を過剰発現すると歩行活動リズムの周期が長くなり、さらに*FMRI*を欠失させるとリズムに休止期がなくなった。また、この遺伝子をレスキューするとリズムが回復することが示された。先に述べたように脆弱X症候群は深刻な睡眠障害を引き起こす。これがショウジョウバエの休止期がなくなる表現型と共通する点は非常に興味深かった。重

要な遺伝子は保存性が高く機能も同じになるということなのだろうか。一連の結果から*FMRI*は時計の出力系に関与していることが示唆された。時計の出力系についてはあまり研究が進んでいないので、おもしろく感じた。今回は紹介していただけなかったが他の新規時計関連遺伝子についての解析にも興味をもたれる。

③ ショウジョウバエ概日活動リズムの光と温度による制御
富岡憲治 (岡山大学大学院自然科学研究科)

キイロショウジョウバエは夜明けと日暮れにピークを持つ双峰性歩行活動リズムを示す。時計遺伝子を発現する神経細胞は脳側方部にあるLNsと脳背側にあるDNsが知られており、最近、D. Stoleruら(2004)とB. Grimaら(2004)は夜明けのピークと日暮れのピークをそれぞれ制御する神経細胞群を同定し、報告した。演者らのグループはこの研究とは異なるアプローチで、光と温度にそれぞれ反応する時計細胞を探索した。明暗周期と温度周期を異なる位相で組み合わせ、それぞれの時計細胞で時計タンパク質PERとTIMの発現を調べてLNs細胞群が光に、DNs細胞群が光と温度に、前大脳側方部にあるLPN細胞群が温度に感受性をもつことが発表された。巧みな実験デザインと詳細な観察により、温度に反応して*per*を発現する神経細胞群を探索しようという試みにはとても感銘を受けた。LPN細胞群とLN、DN細胞群との間に神経連絡があるのか、光と温度の情報をどのように統合し出力するのかに興味を持った。光と温度に異なる反応を示す時計を持つことによって行動を変化させ周囲の環境に適応する、という時計の生態学的意義についても興味を持たれた。

④ ゼブラフィッシュの概日リズム形成におけるメラトニンの役割
岡野俊行 (東京大学大学院理学系研究科、科学技術振興機構・PRESTO)

メラトニンは松果体や網膜で産生されるホルモンで概日時計の出力として知られる代表的な分子であるが、時刻情報の伝達に関与するのかについてはまだ不明なところが多いようである。演者はゼブラフィッシュを用いて、メラトニンが概日リズムにどのように関与しているのかを、トランスジェニック(Tg)系統を作成しその役割を探る研究を報告した。時計タンパクBMALのドミナントネガティブ体を松果体に発現させたTg系統では松果体でのメラトニンの合成リズムが消失した。しかし、末梢の臓器で

は時計遺伝子の発現リズムは消失せず、末梢で見られるリズムは中枢時計から独立していることが示唆された。昆虫の場合、末梢の時計は中枢の時計から光同調機構も時計機構もある程度独立していることが知られているので、ゼブラフィッシュは哺乳類よりも昆虫に近い時計システムを使っている印象を受けた。遊泳リズムは消失する個体もあったがリズムが残る個体もあり、個体変異が大きかった。さらに興味深かったのは雌雄で遊泳リズムが消失する個体の割合が異なったことである。口演後の議論では、雌雄での表現型の違いが今後の研究の新しい切り口につながるのではないかということが提案された。Tg系統の表現型にばらつきがでてしまうことや魚の遊泳リズムをとることが難しかったことなど口演でしか聞けない苦労話を聴く事ができ、実際にどのように実験をしたのが身近に感じられた。

⑤哺乳類行動リズムの複数振動体系による制御 安倍 博 (北海道大学大学院医学研究科)

現在、哺乳類の概日リズムは複数の振動体によって駆動されていると考えられているが、これらの振動体の局在や振動体間の関係はまだ明らかになっていない。哺乳類の複数振動体系を解明するために、恒暗条件でリズムがスプリットするCSマウスの行動リズムと脳内の時計遺伝子の発現リズムを調べた結果が報告された。恒暗条件でリズム・スプリッティングしているCSマウスに制限給餌サイクル (RF)

を与えると、行動リズムはRFに同調した。また、CSマウスの *mouse Period* (*mPer1*, *mPer2*, *mPer3*) の mRNA の発現を視交叉上核 (SCN) と大脳皮質と比較したところ、*mPer3* の発現パターンに違いはなかった。しかし、*mPer1* と *mPer2* の発現は、SCNにおいてシングルピークを持つ概日振動があり、大脳皮質ではスプリットした活動と一致する双峰性の振動が観察された。これらの結果から、SCNの *per* 遺伝子群はCSマウスのスプリッティングには関係しておらず、SCN外振動体の存在が示された。また、CSマウスにRFを与えたところ大脳皮質において *mPer1* のみがRFに同調することがわかった。この口演内容からSCN外振動体は大脳皮質にあるのだと予想できたが、そこまで言及があったかは聞き逃してしまいわからなかった。野生型マウスではSCNと大脳皮質との関係はどうなっているのかに興味を持った。

今回のシンポジウムでは、時計の分子機構がおよそ解明されつつあるのに伴い、概日時計の研究の流れが、時計の出力系、複数振動体からなる時計機構の全体像や振動体間の関係を解明するという方向へシフトしていることを感じた。また、最先端で活発に研究されている方々の講演を短時間で5題も聴くことができ有意義な時間であった。皆個性的で興味深い研究であり非常に刺激を受け、私も頑張ろうという気にさせられた。

大阪大学蛋白質研究所セミナー 「体内時計と体内恒常性維持機構」に参加して

池田真行

富山大学理学部生物学科

視交叉上核のリズム発振機構や出力機構研究をリードされてきた永井克也先生が、長年にわたり所長を勤められた阪大・蛋白質研究所では、これまで時間生物学に関するセミナーが何回か行われてきたが、本年3月に先生がご退官されるにあたり、その最終回が昨年10月24-25日に開催された。永井先生を含めて発表者が計16名という少人数セミナーであったが、多数の時間生物学研究リーダーが集った内容の濃いセミナーであった。名古屋大学・近藤孝

男先生のKaiCリン酸化サイクルによるシアノバクテリアの概日振動機構に関するご講演や、神戸大学・岡村均先生の中枢時計から抹消組織への神経連絡の話題など、昨年のゴードンカンファレンスを思い起こさせる最先端の話題が多く、また研究のバックグラウンドを含めかなり詳細にわたる講演が多かったように思われる。小生は幸い、最終回にして今回初めて参加することができた訳であるが、こうした内容を日本語でまとめて聞ける稀有な機会

あったように思う。

阪大蛋白研セミナー演題一覧（演者敬称略）

KaiCリン酸化サイクルによるシアノバクテリアの概日振動機構 近藤孝男・名大

シアノバクテリア時計蛋白質の立体構造解析に基づく分子機構解析 石浦正寛・名大

昆虫の概日リズム機構 富岡憲治・岡山大

ゼブラフィッシュの概日リズムの分子機構

David Whitmore・University College London
時計遺伝子Periodの機能解析 程肇・三菱生命研
翻訳後修飾によるmCRY 2の安定性の制御機構

原田裕子・ハーバード大／深田吉孝・東大
体内時計遺伝子-ショウジョウバエ生殖リズムから肥満まで 産総研／筑波大・石田直理雄

光と哺乳類時計遺伝子：中枢時計と末梢時計 岡村均・神戸大

中枢時計と末梢時計の振動メカニズム：発光レポーターを用いた解析 本間さと／本間研一・北大

哺乳類概日転写制御機構 内匠透・大阪バイオサイエンス研

体内時計ニューロン細胞質Ca²⁺濃度にみられるサーカディアンリズム 池田真行・富山大

睡眠覚醒リズム障害の遺伝子解析 海老澤尚・東大

生体時計による血圧日内変動の分子機構 江本憲昭・神戸大

末梢臓器の体内時計に対する神経性・ホルモン性調節 柴田重信・早稲田大

Clockミュータントマウスにおける循環調節の変化 勢井宏義・徳島大

ヒスタミン神経系と睡眠覚醒行動 裏出良博・大阪バイオサイエンス研

視交叉上核による自律神経系を介する体内恒常性維持機構 永井克也・阪大

小生にとっては、恩師である岡山大学・富岡憲治先生の研究成果を久々に聴くことができ大変嬉しかった。近年、ショウジョウバエの概日ペースメー

カーは腹側に位置する脳側方部ニューロン (LN_s)である可能性が示唆されているが、発表によると、例えばsmall LN_sのPer遺伝子発現リズムは主に明暗サイクルに同調し、恒明条件下ではすぐに消失するのに対して、ある未同定細胞群では恒明条件下でも温度サイクル依存的にPer発現リズムを示すという。小生は昨年より、ショウジョウバエのペースメーカーニューロンを、カルシウムイメージングで画像化すること試みており、そうした意味においても大変興味をそそられる内容であった。海外からの招待演者としてはUniversity College LondonのDavid Whitmoreが、ゼブラフィッシュの概日リズムの分子リズム機構についての発表を行なった。ゼブラフィッシュ由来の細胞株も単一細胞レベルでClockタンパク発現にサーカディアンリズムがあり、光パルスにより位相変位を起こすことがわかっているらしい。masterblindという視覚系ミュータントを用いたり、RNA干渉法を用いたさまざまなスクリーニングを行なうなど、今日盛んに行なわれている分子時間生物学の手法を貪欲に取り入れているという印象を受けた。（こうした発表を聞く度に、この細胞のCa²⁺濃度はどのように変化しているのだろうか？とってしまうのは小生の悪い癖であろうか。）日本時間生物学会を除けば、理学系というよりは、どちらかといえば医学系の学会に参加することが多い小生にとっては、網羅的に多様な生物の体内時計の仕組みについて勉強できたことは大変有意義であった。

永井先生のご講演は、自律神経系の概日時刻制御に、視交叉上核からの神経出力が影響を及ぼしていることや、神経トレーサーを用いてその神経出力経路を明らかにした研究など、先生の視交叉上核研究の歴史に始まり、最後にはグレープフルーツの香りによる代謝調節の話題など、新たな展開を予感させる興味深いものであった。先生は、阪大をご退官後、ベンチャー企業を立ち上げて研究を継続発展されるらしい。蛋白研セミナーというかたちでは今回が最後ということではあるが、また別のスタイルで時間生物学者を集めたセミナーを企画していただけたらと思ったのは小生だけであろうか。

第1回Aschoff-Honma記念シンポジウムに参加して

山崎昌子

熊本大学発生医学研究センター

Aschoff-Honma記念シンポジウムは、これまで10回にわたって開催されてきた「生物リズムに関する札幌シンポジウム」を引き継ぐ形で新たに開催されることになったものです。その第1回目が日本時間生物学会の前日の2005年11月23日に、「Circadian Clock of *Drosophila* - A model system for Molecular Chronobiology」というタイトルで、つくば国際会議センターで開かれました(写真1)。記念すべき第1回Aschoff-Honma賞は、Charlotte Helfrich-Förster博士が受賞しました(写真2)。

シンポジウムは、ヴァージニア大学のGene Block博士による特別講演、4人のシンポジストによる講

演、Aschoff-Honma賞授与式と受賞者であるHelfrich-Förster博士の講演、祝賀パーティと続きました。

Helfrich-Förster博士は、生物における概日リズム研究の先駆者であるEngleman博士に学び、AschoffとBünningにより創立されたドイツの時間生物学の正統的な継承者と目されます。彼女はRegensburg大学教授を経て、現在はRegensburg大学の動物学研究所の所長を勤めています。彼女はこのような時間生物学者として華麗なキャリアを持ちますが、とても気さくな雰囲気を持った方でした。北海道大学の本間研一先生から記念品を贈呈される際は、終始

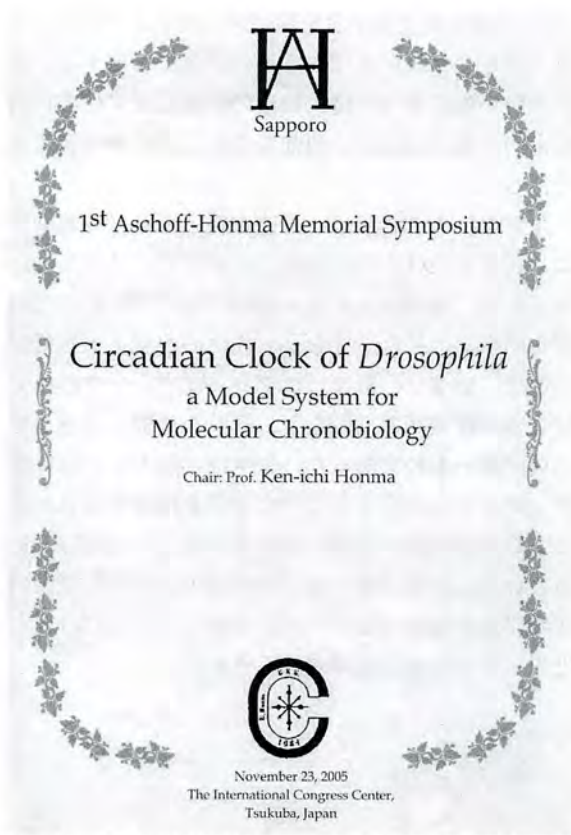


写真1. 第1回Aschoff-Honma記念シンポジウムのパンフレット



写真2. 授賞式の様子。左から、記念の楯を手渡される本間研一先生、Helfrich-Förster博士。

にこやかな笑顔を見せていました。家庭や育児のために研究から離れた経験を持ちながらも、再び復帰し、今日までの業績を築かれた彼女の歩みは、決して容易な道のりではなかったことでしょう。同性の研究者として、今回の受賞に心からの賛辞を送りたいと思いました。

Helfrich-Förster博士によってその重要性が指摘されたPDF分子はショウジョウバエの生物時計を語る時にははずせないものですが、受賞講演では、若き日の研究仲間との集合写真を混えつつ、soやdiscoなどのoptic systemに異常を有する変異体のリズムの解析によって、この分子の重要性を発見した経緯が語られました。また、博士はLL条件下のcry^Δにおいて観察されるrhythm splittingに興味を持ち、その現象を誘発していると考えられるLateral Neuronのinternal desynchronizationを、美しい免疫染色の写真とともに示しました（写真3）。



写真3. Helfrich-Förster博士の受賞記念講演の様子。

また、記念シンポジウムでは4名のシンポジストが最近の研究成果を発表しました。

岡山大学の富岡憲治先生はcry^Δのcircadian locomotor activityが明暗周期と温度周期に強く影響されることを見だし、3種類あるclock neuronは、温度条件の影響下にあるものと明暗条件の影響下にあるものとに分類できると述べました。

次に、九州大学の松本顕先生は、ショウジョウバエの生物時計に関与する遺伝子を、マイクロアレイを用いて網羅的に解析し、それらの機能の解明を進めています。脳で発現している6000個の遺伝子のうち、1000個が変動しているそうですが、候補を絞り、一部については既に変異の評価に入っているとのことでした。

アイオワ大学医学部の坂井先生は、求愛行動の拒絶という好ましくない経験によって長期記憶（数日単位）が形成される際に、Period分子の存在が不可

欠であると論じました。坂井先生の講演についての質疑応答のときに、Helfrich-Förster博士が、実験に使用したCREBの変異体について、Period分子の発現量を免疫染色で確認するように求めました。確かに、転写調節因子の変異株を使用する場合、用途によっては気をつけなければならない点だと思いました。

熊本大学の桑和彦先生は、Dopamine transporterの異常により終日歩き回っている変異体*fmn*についての話をしました。眠らず動き回っているというのに、*fmn*の寿命は野生型と比べて変わらないという点が不思議です。私がショウジョウバエの生物時計の研究に惹かれる理由は、小さなショウジョウバエの脳のなかに、ヒトやマウスと共通の因子が存在し、生物時計の制御機構のある部分は確実に両者に共通な機構があると、*fmn*の研究を通しておぼろげながら感じとれるようになったからです。

ともあれ、とても小さな生き物であるショウジョウバエの脳内にある生物時計をめぐって、core oscillatorの追求、網羅的な遺伝子解析、時計遺伝子産物と記憶の形成、本来のlocomotor activityを修飾する因子の発見と、多様なテーマでしかも深く研究が進められていることに感銘を受けました。

全体講演をされた米国バージニア大学のGene D.Block博士はマウスやラットなど、哺乳類の視交叉上核（SCN）の研究に取り組まれています。ショウジョウバエのclock neuronでのcore oscillatorは膜電位の変動だという報告がありますが、マウスのSCNの発振機能を制御しているのも、時計分子の発現量の変化ではなく、SCNの膜電位の変化であるということを示されました。また、SCNには他の臓器にはみられない、昼夜の位相変化に対する同調性の速やかさがあることなどを示しました。さらに、まだ論文化されていない最新の知見として、昼夜の位相を毎週6時間進めるだけで、マウスの寿命が極端に短くなるという興味深い知見も披露してくれました。

哺乳類のSCNとショウジョウバエのclock neuron、伴に生物時計の中核とされ、以上のようにさまざまな角度からその本体が研究されながら研究が進むほどその答えは遠くなるように思えます。生物時計の本体とはいったい何なのでしょう。両者を結び付ける研究上の共通の視点がきっとあるはず…。最近、PDF受容体がクローニングされ、PDF受容体はパソプレッシン受容体のorthologueであることがわかりました。この問いの答えはもしかするとその辺りにあるのではないかと楽しい想像をかき立てられた

Aschoff-Honma記念シンポジウムでした。

最後に私事ながら、熊本大学で眠らないショウジョウバエ *fmn* についての研究を始めて2年目、時

間生物学と言う言葉にもなじんできました。つくばは私が学生時代を過ごした地でもあり、懐かしく参加しました。

第4回日本時間生物学会学術奨励賞公募のお知らせ

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、原則として毎年基礎・科学部門1名、臨床・社会部門1名の計2名を表彰することになっております。自薦・他薦を問いませんので、第4回学術奨励賞へ奮ってご応募ください。応募にあたっては下記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18年8月31日（木）必着

■あて先：〒202-0021 西東京市東伏見2-7-5

早稲田大学理工学部、電気・情報生命工学科薬理研究室内

日本時間生物学会事務局 柴田 重信

日本時間生物学会学術奨励賞選考委員長

大川匡子（滋賀医科大学）

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. 学会での表彰暦：

6. 本件に関する連絡担当者名：

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（具体的に分かり易く記述すること）：

4) 論文リスト（ピアレビューのある原著論文のみ）

第13回学術大会のお知らせ

第13回学術大会の計画については、昨年4月7日に第1回の準備委員会を開き、2006年11月7日（火）および11月8日（水）を会期の第一候補として準備を進めて参りました。その後、以下のような事情から、当初の日程を変更して開催することにいたしました。当初の会期案をもとに日程調整などをお考えいただいた会員の皆様には、ご迷惑をおかけしまして誠に申し訳ございませんが、どうか皆様のご理解とご協力をいただきますよう、準備委員会よりお願い申し上げます。

【変更に至った理由】今年の年頭に、第22回 国際生物学賞（2006年）の授賞分野として「Chronobiology（時間生物学）」が選定された旨、日本学術振興会から連絡を受けました。国際生物学賞については <http://www.jsps.go.jp/j-biol/main.htm> をご覧いただきたいのですが、本賞は昭和天皇のご在位60年と共に生物学のご研究を記念し、さらには生物学の奨励を図るため、昭和60年（1985年）に創設された国際的な学術賞です。今回、「時間生物学」が授賞分野に選定されたことは、日本時間生物学会にとって誠に喜ばしいニュースと言えます。現在、国内外からの受賞候補者の推薦が締め切られ、これから、審査委員会での選考を経て、夏頃に受賞者が内定する予定とかがっております。

授賞者決定ののち、例年、11月の最終月曜日（宮内庁の都合により変更の可能性あり）に天皇皇后両陛下の御臨席のもと、日本学士院で授賞式が挙行されます。この授賞式の前後に近い日程で、受賞者を含め、国内外の第一線で活躍している研究者を招聘し、数日をかけて一般に公開する形で国際記念シンポジウムが開催されます。今回、この国際シンポジウムを東京地区で開催するという要請から、偶然、小生が主催責任者をお引き受けすることになりました。このような経過で、第13回日本時間生物学会学術大会と第22回国際生物学賞記念シンポジウムを同じく11月に東京で開催し、2つの研究集会をともに盛会にするための方策として、両者を同時に開催する変則の学術大会日程案を考え、急遽、会場を予約いたしました。その後、本学会の理事会にて事情をご説明し、本間研一理事長ならびに理事会の了承を得ております。

このような経緯から、当初の日程案を変更して、下記の通りの学術大会日程とさせていただきます。会員の皆様方にご理解いただきたく、また、多くの皆様が奮って参加していただけますよう、心よりお願い申し上げます。

第13回日本時間生物学会学術大会 準備委員会 委員長 深田吉孝

第13回日本時間生物学会学術大会

- 会 期：平成18年11月30日（木）～12月2日（土）
- 会 場：東京国際フォーラム（〒100-0005 千代田区丸の内3-5-1）
<http://www.t-i-forum.co.jp/general/accommodation/index.php>
- 大会会長：深田 吉孝 東京大学 大学院理学系研究科 生物化学専攻 教授
- 日程(案)：11月30日（木）第13回日本時間生物学会学術大会・総会
12月1日（金）第22回国際生物学賞記念シンポジウム
第13回日本時間生物学会学術大会（ポスター発表・展示）
12月2日（土）第22回国際生物学賞記念シンポジウム
第13回日本時間生物学会学術大会（ポスター発表・展示）

記念シンポジウムとの同時開催となる12月1日と12月2日は、シンポジウムの休憩時間をポスター討論時間に充てる計画です（未定）。

■演題申込：大会ホームページURLからのオンライン申込にする予定です。
8月中旬に締め切る予定です。

第14回学術大会のお知らせ

2007年度の第14回学術大会は、日本睡眠学会（大会長 大井田隆、日本大学医学部社会医学講座公衆衛生学部門）との共同開催とし、11月の7日（水）、8日（木）、9日（金）の3日間を予定しています。日本時間生物学会は7日（水）、8日（木）に、日本睡眠学会は8日（木）、9日（金）に開催し、3日間の参加費は共通となっています。特別講演、教育講演、シンポジウム、ワークショップなどを企画していますが、8日（木）は合同シンポジウムを組む予定です。下記の通り会場は、東京の都心で便利もよく、時間生物学だけでなく、睡眠科学の現状を知るよい機会と思いますので、多数の方の参加をお待ちしております。

記

会 期：2007年11月7日（水）、8日（木）、9日（金）
（7日、8日が日本時間生物学会の大会となります。）

会 場：京王プラザホテル
T E L：03-3344-0111（大代表）
F A X：03-3345-8269（フロント）
〒160-8330 新宿区西新宿2-2-1
U R L：http://www.keioplaza.co.jp/index1.html?

大会会長：高橋 敏治
法政大学文学部心理学科 教授

演題申し込み：大会ホームページを2007年4月初めに大学医療情報ネットワーク（UMIN）に作成し、on line申し込みとします。原稿締め切りは2007年6月末の予定です。

日本時間生物学会会則（2005年7月改定）

1章 名称

本会は日本時間生物学会（Japanese Society for Chronobiology）と称する。

2章 目的と事業

1. 本会は、生物の周期現象に関する科学的研究を推進し、時間生物学の進歩発展を図ること、およびその成果を広め 人類の健康と福祉に寄与することを目的とする。
2. 本会は前条の目的を達成するために次の事業を行なう。
 - 1) 学術大会及び総会の開催
 - 2) 会誌等の発行
 - 3) その他本会の目的を達成するために必要とされる事業

3章 組織と運営

（会員）

1. 本会の会員は正会員、名誉会員、賛助会員、臨時会員よりなる。
2. 正会員は、本会の目的に賛同し、所定の手続きを経て、年度会費を納めた者とする。正会員の入会及び退会は別に定める規則による。
3. 名誉会員は本会に功労のあった65歳以上の会員で、理事会が推薦し総会の承認を得た者とする。
4. 賛助会員は本会の目的に賛同し、本会の事業に財政的援助を行なう者で、理事会の承認を得た者とする。
5. 臨時会員は、正会員の紹介により、学術集会の参加費を納めた者とする。

（評議員）

1. 評議員は推薦基準に従って正会員を評議員として推薦し、これを理事会が決定する。任期は5年で再任を妨げない。
2. 評議員は学会の活動を積極的に行ない、理事を選出する。

（役員）

1. 本会には次の役員を置く。

理事長1名、事務局長1名、理事若干名、監査委員1名

役員は正会員でなければならない。役員の任期は3年とし、再任を妨げない。
2. 評議員の選挙で評議員の中から理事10名を選出し、総会において決定する。
3. 理事は理事会を組織し、本会の事業を行う。
4. 理事長は理事の互選で選ばれ、本会を代表し、会務を司り、総会および理事会を召集する。
5. 理事会は互選で事務局長を選任し、会の総務、財務を担当させる。
6. 理事会は本会の事業を行うために、必要に応じて専門委員会を設置することができる。専門委員会は評議員から構成され、委員長は理事をあてる。これらの委員の任期は理事の改選までとする。
7. 理事会は評議員の中から監査委員を選出する。理事がこれを兼務することはできない。
8. 理事会は学術大会会長を選出し、総会でこれを決定する。学術大会会長は理事でない場合はオブザーバーとして理事会に参加するように努める。
9. 理事長は理事会の承認を得て、学会の運営に対する助言を行う顧問をおくことができる。顧問は65歳以上の正会員とし、任期は理事会の任期終了までとする。

（総会）

1. 本会の事業および組織・運営に関する最終の決定は、総会の議決による。
2. 総会は、正会員より構成される。定期総会は原則として毎年1回開催され、理事長がこれを召集する。
3. 定期総会の議長は、大会会長がこれにあたる。

4. 理事長が必要と認めた場合、あるいは正会員の4分の1以上 または理事の2分の1以上の要請があった場合には、理事長は臨時総会を招集する。
5. 総会の議決は、出席者の過半数の賛成を必要とする。

(学術大会)

学術大会は、原則として毎年1回開催し、その企画・運営は学術大会会長がこれにあたる。

4章 会計

1. 本会の年度会費は、別に定める細則により納入するものとする。
2. 本会の会計年度は、毎年1月1日に始まり、12月31日に終わる。

5章 会則の変更

本会の会則の改正は、理事会の審議を経て、総会における出席者の3分の2以上の同意を経なければならない。

付則

1. 本改正会則は、2001年1月1日から施行する。
2. 本改正にともない、旧会則の学会会長、運営委員、専門委員はそれぞれ、理事長、理事および専門委員に就任し、任期は2001年度までとする。
3. 本改正にともない、運営委員会は評議員候補者を選出し、総会へ推薦する。

会則施行内規

1. 入会及び退会手続き

正会員の入会は、所定の様式により、事務局長まで届け出、理事会の承認を得なければならない。また退会しようとする者は、事務局長まで書面をもって届け出なければならない。

2. 会費納入

- 1) 正会員の年会費は、5,000円とする。ただし大学院学生等は3,000円とする。
- 2) 名誉会員は会費及び学術大会参加費を免除する。
- 3) 賛助会員の年会費は、1口、20,000円とする。
- 4) 年会費の改訂は総会の議決を必要とする。
- 5) 長期にわたり年会費を滞納した者は、理事会の承認を得て、除名することができる。

3. 評議員の推薦基準

- 1) 評議員の推薦基準は、原則として本会に所属し3年以上の活発な活動を行い、本会の目的とする研究分野および関連分野での十分な研究歴と業績をもつ(筆頭著者としての原著論文2報以上)ものとする。
- 2) 会員歴が3年未満でも、以下の条件を満たす会員は、理事の推薦と理事会の承認があれば、評議員として推薦できる。
 - 本会の目的とする研究分野と関連する分野で5年以上の研究歴を持っていること。
 - 本会の目的とする研究分野に関連する学会に3年以上所属し活発な活動を行っていること。
 - 上記の研究分野および関連分野で筆頭著者としての原著論文が2報以上あること。
 - 年齢が35歳以上であること。
- 3) 学会の活動を積極的に行うため、大会に直近の3年間に少なくとも1回は学術大会に参加することを再任の基準とする。

4. 理事の選出

- 1) 投票は無記名で5名以内の連記とする。
- 2) 理事長は分野を勘案し、5名の理事を評議員の中から追加して任命することが出来る。

5. 専門委員会

以下の専門委員会をおく。

- 編集委員会
- 国際交流委員会

- 評議委員推薦委員会
 - 広報委員会
 - 将来計画委員会
 - 選挙管理委員会
 - 奨励賞選考委員会
 - 学術委員会
 - その他、理事会が必要と認めたもの。
6. 学会事務局（会計責任者）は事務局長の所属する機関に置く。
7. 日本時間生物学会学術奨励賞の選考基準
- 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) 本章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章受賞者を原則として毎年基礎・科学部門1、臨床・社会部門1の計2名選定し、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。
8. 賛助会員に関する取り決め
- 1) 賛助会員の定義
 - 賛助会員は本会の目的に賛同し、本会の事業に財政的援助を行う者で、理事会の承認を得た者とする。
 - 2) 会費
 - 賛助会員の年会費は、一口（20,000円）以上とする。
 - 3) 賛助会員の特典
 - 一口につき1名の大会参加費を事務局が負担する。
 - 日本時間生物学会誌に賛助会員リストを掲載し、謝意を表す。
 - 日本時間生物学会誌に広告記事を掲載できるものとする。学会誌への広告記事の掲載は1年間（会費の有効期間）とし、掲載ページの場所と大きさは口数に応じて事務局で判断する。
 - 日本時間生物学会の大会での展示などをする場合は優遇する。
 - 4) 賛助会員の会費の取り扱い
 - 賛助会員の会費を学術大会の運営費に充当する場合は、6割を超えてはならない。
9. この内規の改定は理事会の議決を必要とする。

賛助会員リスト (50音順)

以下の団体（代表者、敬称略）からは賛助会員として学会運営にご協力いただいております。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）
三協ラボサービス（株）	（椎橋明広）
株式会社プライムジェイ	（越山順一）
（株）薬研社	（鈴木泰志）
ヤンセン ファーマ株式会社	（手塚慎也）
理科研（株）	（森川義雄）

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。原稿のファイルを図表のファイルとともに、編集局へメールの添付書類にてお送りください。念のため、書式付テキスト形式（RTF形式）で保存したファイルも添付するようにしてください。メールで送信できない場合には、プリントアウトした原稿1部（図表を含む）とそれらのファイルを保存したフロッピーディスクまたはCD-ROMなどを編集局へ送付下さい。フロッピーディスクのフォーマット、使用したパソコンの機種、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OS、ワープロソフト、氏名及びファイル名をフロッピーディスクの上に明記して下さい。なお、この場合にも念のため、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者には、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（電子ファイルで投稿の場合には、5）は無くても結構です）

- 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^{1,2,3,4}、・・・である^{5,6,7}。
- 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頁程度。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頁程度とする。

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頁程度。

編集後記

- 会誌12巻1号をお届けいたします。昨年からの課題は、印刷費の圧縮です。まず、できるところから取り掛かろうと、学術大会関連記事や学術集会報告等の記事については、それぞれを独立させず、連続して印刷する方式に改めました。これで幾分かでも経費が削減できると思います。会誌の編集や体裁等、会員の皆様からのご意見をいただければ感謝に存じます。
- 今年の年初の大雪、低温の春と季節の運びは少し異常です。このような環境にも適応して活発に生きる生物のように、私たちが激動の社会情勢の中でも生きいきと研究活動を続けてゆきたいものです。会員の皆様のますますのご発展を祈る次第です。
- 今回の総説は学術奨励賞受賞論文2編と、睡眠機構に関するもの、薬剤効果に関するもの、それに脂肪組織での時計制御に関するもの、の5編です。いずれも読み応えのある論文であり、ご執筆いただいた先生方に厚く感謝申し上げます。

時間生物学 Vol. 12, No. 1 (2006) 平成18年5月31日発行

発行：日本時間生物学会 (<http://wwwsoc.nii.ac.jp/jsc/index.html>)
(事務局) 〒202-0021 西東京市東伏見2-7-5
早稲田大学理工学部、電気・情報生命工学科薬理研究室内
Tel : 0424-61-1291 Fax : 0424-50-2271
(編集局) 〒700-8530 岡山市津島中3丁目1-1
岡山大学大学院自然科学研究科 生物科学専攻内
TEL&FAX : 086-251-8498
(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