

目次

巻頭言 「豊かな時間」	富岡 憲治	1
挨拶		
新理事長就任のご挨拶	近藤 孝男	2
新・事務局長に就任して	海老原史樹文	3
理事長退任によせて	本間 研一	4
事務局長退任のご挨拶	柴田 重信	5
第8回学術奨励賞受賞者論文		
出遅れ世代	明石 真	6
ハイスループットスクリーニングを用いた哺乳類概日時計の分子機構の研究	広田 毅	10
動物における光周性の分子・神経内分泌基盤	安尾しのぶ	17
総説		
メラトニン研究の歴史	飯郷 雅之	23
ヒトの社会生活における光環境と生物時計について：工学および文化的考察	小山 恵美	35
東日本大震災体験記		
東日本大震災で研究について感じたこと	太田 英伸	45
第17回日本時間生物学会学術大会関連		
第17回日本時間生物学会学術大会を開催して	三島 昭夫	48
第17回日本時間生物学会学術大会 体験記	村中 智明	48
事務局報告		50
第18回日本時間生物学会学術大会のお知らせ		58
第9回日本時間生物学会学術奨励賞公募のお知らせ		59
日本時間生物学会会則		60
賛助会員リスト		64
執筆要領		65
編集後記		

●●●●●●●●●●●●●●●● 卷 頭 言 ●●●●●●●●●●●●●●●●

豊かな時間

富岡憲治

岡山大学大学院自然科学研究科

研究には時間が必要であるのは自明であるが、実際に手を動かすのと同じくらい考える時間も必要である。この考えるゆとりを失っている自分に気づく。大学内外の仕事がいろいろと回ってくる年齢になったというのも一つの理由ではあるが。最近、男女共同参画に関わるようになり、どのように時間を使うべきかを改めて考えさせられている。研究者といえども一人の人間であり、家庭を持てば、研究ばかりに時間を使うことはできない。家族のためや個人的なことに使う時間も必要であるし、またそれなりの責任もある。一方、勤務時間内でも研究以外に、講義、実習とその準備、会議とその準備等々、多くのなすべきことがある。これらをどのように効率的にこなしていくか、またどのようにこれらの時間のバランスをとるのが常に問われているのである。時間に関する研究に従事しながら、時間に追われている自分の姿を垣間見るのである。コンピューターがわれわれの世界の奥深くまで浸透し、一瞬で必要な情報を得る事ができるし、どこの誰が何をしているのかについても情報が飛び交っている。立ち止まってゆっくりと考えている暇など無いといった状態で、まさに時間の崩壊と言えるのかもしれない。

ではどうすれば良いのか、どうすればもっと豊かな時間を取り戻せるのだろうか。これは現代社会の重要課題の一つであるが、もうずっと以前からこのことは意識されていたのだ。ミハエル・エンデの「モモ」を読んだことがあるだろうか。物語の中では時間泥棒が人々からどんどん時間を奪っていくのだが、エンデはモモを通して豊かな時間とは何か、どうすれば取り戻すことができるかを考えさせてくれる。ゆっくりと話し合い、考える時間を持ち、お互いに相手の言うことに耳を傾け議論する時間をできるだけ確保すること、それが答えのように思える。研究室でも、家庭においても同じであろう。これによって、新たな活力、新たなインスピレーションを得、仕事も進むのではないだろうか。その意味で、ゆっくりと論文を読み、考え、議論することは大切であるし、また学会での深い討論は研究をさらに進展させてくれるだろう。そのような訳で、学会の時から、ゆっくりと議論したいと思っている。

2011年は、過去2回日本で開催された時間生物学世界大会がメキシコのプエブラ市で5月に、また日本時間生物学会も共催する欧州時間生物学会議が英国オックスフォードで8月に開催される。国内の学術大会は11月に名古屋で開催予定である。これらに加えて、6月には名古屋で国際比較生理生化学会議が開催され、そこでもいくつか時間生物学に関係したシンポジウムが予定されている。これらの学会に多くの若い方々に積極的に参加して頂き、ゆっくりとした時間の中で議論を深めて欲しいと願っている。実際、これまでこうした会議での討論により学問が大きく進展してきた。1960年に開催された生物時計に関するCold Spring Harbor Symposiumは、時間生物学を学問分野として確立させ世界に認めさせた学会として特に意義深い。それから既に50年が経過したが、現象の解析から始まった研究は、時計の所在の探求へと進み、さらに時計の振動のメカニズムが明らかにされ、そこからさらに振動の制御機構の研究、医学への応用研究といった多様な方向へと発展しつつある。この状況は、生物の爆発的放散になぞらえられるのではないかとと思っている。多様性はまさに生物学の特徴であり、それぞれの研究分野が益々発展することを願うものである。本学会も、生物リズム研究会、臨床時間生物学研究会など、前身の歴史を背負いつつ、多くの研究者・学生諸氏の貢献により発展してきた。今年は、理事会も一新された。運営に携わられる理事の方々に大いに期待したい。

執筆中に地震のニュースが聞こえてきた。東北関東大震災に見舞われた方々には心からお見舞い申し上げます。被災地の大学を始めとする教育研究機関や医療機関も、大きな被害を受けていることが報道されている。わが国は過去何度も地震や災害に見舞われているが、そのたびに復興を成し遂げてきた。この災害からも力強く立ち上がることを信じている。

新理事長就任のご挨拶

近藤孝男

名古屋大学理学研究科生命理学専攻

この度、本間研一先生の後任として、日本時間生物学会の理事長をお引き受けすることになりました。日本時間生物学会の立ち上げとその後の発展に会長あるいは理事長としてご尽力された千葉喜彦先生、高橋清久先生、本間研一先生のお仕事を見習い、また会員の皆様のご協力を頂きながら、学会のさらなる発展に貢献できればと考えております。どうか、よろしくお願い致します。

生息する地球の周期性に対応した生命の多様な営みを解明し、その知見に基づき、人類の生活に資することが時間生物学会の目指すところですが、概日時計の研究を核とした多様な生命現象が進化・適応の所産として位置づけられ、その生理学的解析が本格的に開始されたのも、すでに半世紀以上前のことです。その後、現在に至るまで、研究の進展はまことに目覚ましいものがあり、50年前には予想もされていなかった多くの事実が明らかになっています。この経緯は、2年ほど前、本誌の巻頭言に書きましたので繰り返しません、こうした感想は多くの方もお持ちかと思えます。

このように概日時計の分子レベルの理解が大きく進んだことは、概日時計研究の求心性を低下させるという指摘ありますが、それは正しくないかと思えます。分子レベルの理解を目指す立場からも、その生理学的意義を追求し人類の幸福に貢献しようとする立場からも、時間生物学が地球の周期性に基づいた生命科学であるということは不変です。生命が地球上で発生し展開してきたこと、そして今後もおそらくそうである事を考えれば、研究が進展すればするほど、理解は深まり、様々な応用の可能性が広がります。ですから、時間生物学会の活動もさらに発展することはあっても、縮小す

るようなことはないと思えます。一方、環境との調和やその持続性が求められ、質の高い生活が追求される社会的な側面からも、時間生物学の重要性は大きくなると思えます。しかし、ここではなにより、多様な生命現象の研究者がつどい協力して、基礎的解析も応用的展開も隔てなく討議出来る学会の意義を再確認したいと思います。これは単に理学系、医学系、農学系などの多彩な生物種にわたる現象をあつかうということだけでなく、数理・情報系、工学系、社会学系なども含んだ、総合科学を目指すことが出来る学会であることです。こうした特徴をかけがえのないものとして、大切にしたいと思います。

日本時間生物学会は、1995年、生物リズム研究会と臨床時間生物学研究会が合併して設立されましたが、合併まえの期間も合わせ、日本時間生物学会はこれまでの概日時計の解明に大きく貢献してきました。概日時計研究はヨーロッパで始まり、アメリカで大きく発展しましたが、いまや日本時間生物学会は概日時計研究を担う学会として欠くことの出来ない学会として評価されています。言うまでもなく、これは会員各位の研究成果によるものですが、これを支えた学会の活動も重要です。特に、本間前理事長を中心とした国際的な活動は、学会の国際的な存在感を高めてきました。この成果を大切に、海外の時間生物学学会との協力を一層推進していきたいと考えています。

最後になりましたが、学会の運営には、事務局長を始め理事の方々のご協力が不可欠ですが、それにもまして、学会の今後の発展は、会員各位の研究に基づく、積極的な提案と参加が重要です。どうか会員の皆様の要望をできるだけお寄せ頂くようお願い致します。(2011年5月)

新・事務局長に就任して

海老原史樹文

名古屋大学大学院生命農学研究科

日本時間生物学会は、生物リズム研究会と臨床時間生物学研究会が併合して、1994年に発足しました。発足以来今年で17年の年月が経ちましたが、発足当初には考えられない程に時間生物学会は充実・発展してきました。この間、千葉喜彦、高橋清久、本間研一理事長の下、中島秀明、近藤孝男、柴田重信各事務局長の献身的な努力があり学会の発展につながったことは間違いありません。この度、近藤孝男新理事長のご指名により、事務局長の大役を引き受けることになり、その責任の重さを痛感しているところです。発足当初から比べますと、事務局が扱う事務内容は格段に増えてきましたが、過去6年間の長期にわたり安定した学会運営を続けてこられた、前任の柴田事務局長と佐藤明子事務局員の貢献

に改めて敬意を表したいと思います。

時間生物学は周知の通り、様々な分野の研究者が参加する学際的学問で、発展の著しい学問です。どの分野でもいえることですが、発展を支えるのは若手の研究者であり、彼・彼女らがのびのびと研究できる条件を整えることが重要です。時間生物学会では、昨年若手研究者からの提案により「生物リズム夏の学校」が開催されました。今年度も同様に開催されるように準備が進んでいると聞いています。事務局としては、若手学会員からのこうした提案を積極的に受け入れたいと思います。時間生物学会をさらに発展させるために、新しい企画など積極的な提案を期待しています。

出遅れ世代

明石 真[✉]

山口大学時間学研究所

1. はじめに

このたびは日本時間生物学会学術奨励賞を授与いただき、大変光栄なことだと思っております。この受賞論文の執筆を機会として、私自身のこれまでの研究生活を振り返って、受賞者として相応しい研究者に少しでも近づくために、今後の研究の豊富を述べさせていただきます。

2. 何も知らなかった

1997年に哺乳類の時計遺伝子が発見され、世界中の時間生物学研究者が興奮で湧いていた頃、残念なことに私はそのことを全く知らなかった。そのころ私は京都大学の修士課程の1年生で、「研究とはいかなるものなのか」ということもわかっておらず、助手の先生に迷惑をかけながら、ひたすら実験テクニックを学んでいた頃だった。MAPキナーゼスーパーファミリーに属する新規キナーゼの探索というとても挑戦的な仕事であったが、自分で考えたテーマではないこともあってか、その意義も良くわからずに言われた実験を遂行するだけでせいっぱいだった。ただ、今思えばあの頃ほど純粋に実験を楽しめた時期はないように思う。スクリーニング、クローニング、発現コンストラクトの作成などの全ての操作が真新しく、それまで教科書でしか学んでなかった分子生物学のイロハを実践することはまさに新鮮な毎日の連続であった。自分が長い目で見て何を研究していくのか、さらに言えば研究者になる意思があるのか、まだ何も決めていなかった。研究者を職業としてしまうと、純粋に楽しむだけでは難しくなってくる。アマチュアからプロに立場が変わると、研究成果を論文にまとめることが大きな目的となり、高インパクトジャーナルを意識し、サイエンスの本質とは必ずしも関係性が高くない「レフェリーとの闘い」などが常について回る。自分自身が

興味のあることを、伸び伸びと後先考えずにチャレンジできるのは、実際のところ大学院生までかもしれない。ポストクや任期付の教員では業績主義に偏らざるをえないし、ボスになっても研究費を稼ぐことを常に意識しなければならない。しかしながら、このような研究環境では、長期展望を見据えた研究を展開するのが非常に難しいように思う。

3. 強烈なインパクト

1998年の秋に、私はようやく概日時計の論文に接することになる。そのころ、助手の先生の仕事も一段落し、新しいテーマ探しを始めていた。私のモチベーションを動かしてくれる研究領域を見つけるために、3ヶ月ほど実験ベンチに向かうことなく、実験医学や細胞工学のようなレビューを読みあさり、またNature等のトップジャーナルを眺めては刺激を与えてくれる論文を探していた。しかし、私が目にした数々の論文からは、私を博士課程に進学させて研究の道に誘うほどの強力な魅力を感じることはなかった。それでも、なんとかいろいろなテーマを考えては、当時の指導教員の西田教授に何度も提案していたのだが、ことごとくコテンパンにされていた。にわか研究者の修士課程の学生が、研究のプロである教授を納得させるテーマを考えだすのは至難の業である。私は自身の研究者としての才覚を疑い、就職活動を意識し始めたときだった。ジュネーブ大学のSchiblerらによる論文を見つけた[1]。今まで感じたことのない強い衝撃を受けた。あの有名なRat-1線維芽細胞の論文である。「この実験だけはどうしてもやってみたいから、教授に止められないようにこっそりでも進めてみよう」という思いで、たまたま実験室にあったNIH3T3線維芽細胞を使って同じプロトコールで再現を試みた。すると、見事に時計遺伝子*Period1*の発現リズムを、慣れな

✉akashima@yamaguchi-u.ac.jp

いRNase protection assay法で検出することが出来たのである。近くにいた先輩たちにデータを見せると、「いつも実験で使っているような細胞にも、時計があることを意識しなきゃいけないね」などと言いながら、驚いて画面を覗き込んでいたのが印象的であった。そして、おそるおそる西田教授に現状を報告すると、「すごく面白そうじゃないか。是非続けて」という続行の許可を得ることができた。しかし、再現するだけでは当然論文にならない。そこで私は、シグナル伝達の研究室に所属していることもあり、時計遺伝子の発現をコントロールする細胞内情報伝達経路を調べるために応用できるのではないかと考え、様々な試薬をかけて*Period1*の発現変化を調べることにした。とはいえ、私自身が全くの素人であるにも関わらず、周囲に概日時計について知っている人間は皆無であり、若干修士2年生だった私はワクワクしつつも極めて心細い環境で研究を進めていた。見かねた研究室の先輩が、「概日時計に詳しい友人がいるから紹介してあげるよ」と声をかけてくれたことで、初めて時間生物学の関係者と接触することができた。当時名古屋大学に在学中だった岩崎秀雄氏（現・早稲田大学）だ。岩崎氏は、私の低レベルな質問に対して、長文メールで様々な情報を送ってくれただけでなく、研究会等にも何度も誘ってくれた。そのおかげで、時間生物学のコミュニティーに比較的スムーズに入り込んで行くことができた。

4. よその研究者

独学で時間生物学の研究に参入したと言うと聞こえは良いが、実際はいろいろな問題があっただけでなく、今でもその一部を引きずっている。もちろん、研究者として自立するための近道であるし、実際得ることができた物は多かったことは否定しない。しかしながら、長い目で見ると、自分にとって本当に良かったのかは自信が無い。一番の問題は、伝統ある時間生物学の研究室で経験を積んできた研究者と私自身を比べると、前者からは伝統という後光がさして見えるのか、もしくは私の自信の無さから来る妄想なのかは不明だが、何か言葉にできない奥深さの違いを感じずにはいられない。私のバックボーンは分子生物学であり、時間生物学に関しては直接指導を受けたことはない。本や論文で学んだ知識というのはどこか薄っぺらいと言わざるを得ない。伝統ある研究室で時間生物学を長年専門としてきた指導者より直接学ぶことによって、まさに

その伝統を背負うことができるように思える。私にはその部分が皆無であるために、いつもうらやましく思ってしまう。2009年10月に、幸いにも、山口大学にPIとして研究室を立ち上げることになった。初代の日本時間生物学会長である千葉喜彦教授から始まり、新研究領域である「時間学」の創設に関わった井上慎一教授に引き継がれた時間生物学研究室を、今度は私が受け継ぐようなかたちになっている。とても光栄なことであるのだが、伝統ある指導者から教えを受け継いでいない「よその研究者」である私が、日本でも最も伝統ある時間生物学研究室を受け継いで良いものだろうか、と申し訳ない気持ちになることがある。

5. 後出し論文

かくして私は博士課程一年時に、時計遺伝子発現に関するシグナル伝達経路としてMAP kinase経路を同定した [2]。様々な運も手伝って、インパクトのあるジャーナルに掲載することもできた。しかし、出遅れの影響だろうか、もしくは独学の弊害だろうか。いつの間にか、オリジナリティーの高い仕事を目指すよりも、先駆者たちの成果に便乗したような研究を無意識に続けることになった。次の仕事として、Casein Kinase Iが*Period*タンパク質の細胞内ダイナミクスに与える影響を調べたが [3]、このような仕事は*Drosophila*での*doubletime*の論文 [4] が発表された時点で、誰もがすぐに始める仕事である。私のように大学院生が独りで立ち向かって競争に勝てるはずがない。案の定、次々と私のデータは二番煎じのものへと様変わりしていった。ようやくこの辛い仕事から解放されたが、いつの間にか同じことを繰り返していた。*Bmall*発現リズムに対するRORの機能を調べた研究も、極めて運良く間に合うことができたが [5]、これもまた、REV-ERBの論文 [6] が出来た時点で多くの人が頭に浮かぶ仕事である。その次に進めた*Period2*プロモーター解析の仕事も、たまたま誰もやっていなかったに過ぎない [7]。結局これも、仕事をまとめている最中に、ビックラボにあって言う間に先を越されてしまった [8]。ここまでコテンパンにされると、さすがの私も疲れ果ててしまっていた。その当時、私は大阪バイオサイエンス研究所に日本学術振興会の特別研究員として所属していたが、思い切って研究環境も生活環境も変えることで、この悪循環を打破したいという気持ちが強まっていた。学振研究員の任期を半分のこして、北海道生まれの

私にとっては全くなじみの無い、九州の佐賀県に引っ越した。しかも、通常考えられないことだが、臨床医学教室で医師ではない私が基礎研究を展開するというチャレンジをスタートさせた。

6. 悪循環を断つ

実は、最初は私の研究に臨床医学的な視点を取り入れる目的はなかったし、それを求められるわけでもなかった。とにかく、生活環境も研究環境も一気に変えることで、悪い流れを断ち切る必要性を感じていた（実際には、九州に一度は住んでみたいという気持ちが、引っ越しをした一番大きな理由だったかもしれない）。この試みはうまく行ったように思う。まず、田舎育ちの私にとって、佐賀は、特に医学部のある鍋島はきわめて住みやすい環境であった。独身ならば、飲み友達も居ない地方に住むのはなんともしゃいさかも知れないが、家族で住むには地方都市は魅力的である。充実した公園がいくつかあり、週末は子供たちと一緒に遊具をよじ上って遊んでいた。私は同じ土地に長く住むとだんだん飽きてくる質なのだが、佐賀は5年住んでも飽きることがなかった。研究環境については、これまでの基礎系研究室とは全く違うところもあり、最初は戸惑うことも多かった。しかし、循環器内科の野出教授の寛大なサポートで伸び伸びと自由に研究を展開することができた。また、私より先に着任していた平瀬助教が医師でありながら基礎研究に精通した研究者であったことも、私にとってはとても幸いしたように思う。臨床教室に戸惑う私に、幾度と無く効果的なアドバイスをくれた。余談だが、臨床教室に行ってから私の言動が多少変化したようで、昔の同僚達からは「染まったね」と何度も言われたことがある。医学部以外の人間からすると、医学部というのは心理的に遠い存在であるように思う。かく言う私も、最初は必要以上にリスペクトしていたように思うが、医学部にしばらく所属するうちに、「お医者さんが我々と全く同じ人間である」と感じるようになってきたように思う。今では親近感すら感じる存在である。ところで、地方大学とは言っても、医学部というのは比較的恵まれた環境である。特殊な実験以外は問題なく実施可能である。特段の不自由を感じることも無く研究を展開させていった。当然ながら、自ずと医師との接触も頻繁になり、無意識に今までの概日時計のメカニズム研究から、医学的な展開性を目指した研究に興味を持つようになっていった。佐賀大学に赴任した当初は、これまでのバックグラウ

ンドである基礎研究から立ち上げた。出遅れ世代かつよその研究者である私にとって、最もハードルの高い研究対象である「視交叉上核」を材料にすることにした。これは、私にとっては勇気がいる挑戦だった。1998年に報告された論文の中で、MAP kinase活性が視交叉上核で日内リズムを示すことが知られていたが[9]、この意義は全く不明であった。私は、この活性が視交叉上核の自律的時計振動体にとって必須の役割をもつ可能性を示すことに成功した[10]。長年の研究成果が蓄積している視交叉上核に関する新しい研究成果を出すことによって、私が自分自身に抱く「よそのイメージ」はかなり薄らいだように思う。さらに、先ほど述べたが、臨床医学教室に居るうちに、ヒトを対象として医学領域に役立つ研究に興味を持つようになった。佐賀に来る前の私では到底考えられないことである。そして、ヒトの概日時計を測定する技術の開発に着手することにした。概日時計を測定するとは、すなわちその物質的本体である時計遺伝子の発現パターンを調べることと同義である。当時、このような論文はほとんど無く、報告されていたテクニックは再現性の高いデータを出すための克服すべきハードルがとても高かった。私がこの研究を始めてから論文として報告するまでに4年以上の時間がかかったが、体毛を利用することで比較的簡単にヒトの時計遺伝子発現リズムを測ることに成功した[11]。この論文が受理されたのは、山口大学に赴任した後である去年のことだが、初めて独自性の強い仕事が出来た充実感を感じている。余談になるが、私が自分自身の時計遺伝子の発現リズムを調べたとき、格別な感慨があった。それまで、10年近く時間生物学の研究をしてきていたが、概日時計に対して客観的な自然現象として向き合っていたのだと思う。しかしながら、自分の時計遺伝子発現リズムをはじめて見たとき、初めて心から「概日時計って自分にも本当にあるんだ」と実感したのである。とても奇妙な感覚であった。大学の講義や一般向けのセミナーで概日時計について紹介すると、「体内時計というものが本当にあるって、科学として成り立っていると思わなかった」という感想が大部分である。最近ではテレビや雑誌の報道で体内時計という言葉が出回っているが、視聴者は半信半疑の他人事として聞いているのかもしれない。私自身も、時計遺伝子の発現リズムを見るまでは真の意味で実感がなかったのだから、研究者以外の人がそう感じることは無理も無いことである。それにしても、ようや

く、私は概日時計を自分自身にも関わる研究対象として向き合えるようになった。「毛から体内時計がわかる」というシンプルなメッセージは、一般人の心をとらえやすかったようで、たくさんのところで報道された。特に、Scienceでニュースとして扱われ、また、National GeographicやScientific Americanなどで取り上げられたことは、私自身が驚いたほどである。かくして私は、自分自身に対して抱えてきた「時間生物学における余所者イメージ」を和らげ、後出しの悪循環からも解放されようとしている。ここまで来るのにずいぶんと時間がかかったように思う。

7. おわりに

時間生物学分野の最盛期に居合わせた時間生物学者はとても幸福だと思う。私が考える哺乳類領域における時間生物学分野の最盛期のトピックとしては、「視交叉上核の発見」と「時計遺伝子の発見」などが含まれる。当然ながら、その仕事に深く関わった人はもっと素晴らしい。このようなことを言うと、まるで、「自分がその時代に研究者として成熟していれば居れば、きっと素晴らしい発見が出来たはずだ」という図々しいことを言っているように聞こえるかもしれない。しかし、さすがの私もそこまでおめでたい人間ではない。私が言いたいことは、視交叉上核の発見、時計遺伝子の発見のような祭りに居合わせなかっただけで、研究者というものは何か埋められない疎外感を抱えてしまうのではないかと、ということである。これらのような発見が哺乳類の時間生物学の最盛期だと考えると、最盛期の後から、しかも独学的にこの分野に参入した私は、未だに「よそ者感」や「出遅れ感」から脱却できていないように思う。例えとしては、パーティーがさんざん盛り上がり佳境を過ぎた頃に、遅れてパーティーに登場したような気分である。そこから盛り上げ役になるのは難しく、即座に空気を読む高い能力が必要になるだろう。

しかしながら、視交叉上核が発見されてから参入した研究者も、当時は同じような空虚感を味わったかもしれない。それでも、時計遺伝子のブレークス

ルーが訪れているのである。幸いにもまだ時間生物学分野には再びブレークスルーが訪れる余地が感じられる。私のような出遅れ世代が目指すところはそこにあり、自分が主役になることは難しくても、リアルタイムでこれに貢献するような仕事を目指したいと思う。そうすれば、出遅れ世代のはずが、さきがけ世代に様変わりすることだろう。今度は準備ができています。なんとか運を拾いたい。これができれば、出遅れ世代のよそもの研究者である私は、ようやく今回の奨励賞にふさわしい「真の時間生物学者」になれると信じている。

引用文献

- 1) Balsalobre A, Damiola F, Schibler U: Cell 93: 929-937 (1998)
- 2) Akashi M, Nishida E: Genes Dev 14: 645-649 (2000)
- 3) Akashi M, Tsuchiya Y, Yoshino T, Nishida E: Mol Cell Biol 22: 1693-1703 (2002)
- 4) Kloss B, Price JL, Saez L, Blau J, Rothenfluh A, Wesley CS, Young MW: Cell 94: 97-107 (1998)
- 5) Akashi M, Takumi T: Nat Struct Mol Biol 12: 441-448 (2005)
- 6) Preitner N, Damiola F, Lopez-Molina L, Zakany J, Duboule D, Albrecht U, Schibler U: Cell 110: 251-260 (2002)
- 7) Akashi M, Ichise T, Mamme T, Takumi T: Mol Biol Cell 17: 555-565 (2006)
- 8) Yoo SH, Ko CH, Lowrey PL, Buhr ED, Song EJ, Chang S, Yoo OJ, Yamazaki S, Lee C, Takahashi JS: Proc Natl Acad Sci U S A 102: 2608-2613 (2005)
- 9) Obrietan K, Impey S, Storm DR: Nat Neurosci 1: 693-700 (1998)
- 10) Akashi M, Hayasaka N, Yamazaki S, Node K: J Neurosci 28: 4619-4623 (2008)
- 11) Akashi M, Soma H, Yamamoto T, Tsugitomi A, Yamashita S, Yamamoto T, Nishida E, Yasuda A, Liao JK, Node K: Proc Natl Acad Sci U S A 107: 15643-15648 (2010)

ハイスループットスクリーニングを用いた 哺乳類概日時計の分子機構の研究

廣田 毅[✉]

カリフォルニア大学サンディエゴ校生物科学部門

KonopkaとBenzerが*per*変異体を報告してから40年になる。この間、遺伝学的・分子生物学的・生化学的な手法により、多くの時計遺伝子が発見されてきたが、未知の時計因子はまだ存在すると考えられる。哺乳類において、一部の神経細胞だけでなく、株化された培養細胞でさえも概日時計機能を持つことが明らかになり、細胞をモデルとした研究が可能となった。近年開発されたハイスループットスクリーニング技術を応用することにより、新規時計因子の同定を加速できるに違いない。

1. はじめに

ショウジョウバエの*per*変異体の発見 [1] に始まり、遺伝学的スクリーニングは成功を収め、概日時計の発振系を構成する遺伝子群が様々な生物種において同定されてきた。さらに、ショウジョウバエの*per*遺伝子との相同性をもとに哺乳類の*Per1*がクローニングされ [2]、両者の間で時計遺伝子が保存されていることが明らかにされた。哺乳類においては、輪回し行動の周期変化を示す変異体のスクリーニングにより、マウスから*Clock*および*Fbxl3*が、ハムスターから*CKIε*が発見された [3]。また、ヒト睡眠相前進症候群の家系解析から*Per2*および*CKIδ*が見出され [4]、CKIによるPERのリン酸化が時計の周期調節に重要であることが示された。このように、個体の周期変化に着目した表現型スクリーニングは時計因子の探索において非常に重要な役割を果たしてきた。一方、既知時計因子の制御機構を解析することからも新たな時計因子が多数同定されてきた。本稿ではまず、このようなメカニズム側からのアプローチについて、網羅的なスクリーニングを用いた手法を中心に概説する。さらに、近年の技術革新により、周期変化を指標としたハイスループットスクリーニングを細胞レベルで行うことが可能になった。この技術は大規模化合物ライブラリーやゲノムワイドRNAiライブラリーと組み合わせることにより、新規時計因子を探索するた

めの強力な手段と成り得る。本稿後半では、このフェノタイプ側からの新しいアプローチについて、筆者らの試みを中心に紹介する。

2. メカニズム側からの網羅的なアプローチ

既知の時計因子をもとに新たな時計因子を探索しようという試みにおいても、網羅的なスクリーニングは有効である。その例を、時計発振の重要なプロセスである(a)時計タンパク質との相互作用、(b)時計遺伝子の転写調節、および(c)時計タンパク質のリン酸化について、以下に挙げる。

(a) **タンパク質間相互作用**：結合因子の探索に古くから用いられているのがyeast two-hybridスクリーニングである。哺乳類の*Per1*および*Clock*がクローニングされて間もなく、yeast two-hybridスクリーニングによりCLOCKの結合因子としてBMAL1が同定され、両者のヘテロダイマーが*Per1*遺伝子の転写を活性化することが発見された [5]。同時期に発表されたショウジョウバエの一連の論文とあわせ、動物時計のfeedback loopモデルが確立された [6]。その後、yeast two-hybridスクリーニングからCLOCK結合因子としてCIPCも同定された [7]。一方、時計タンパク質を培養細胞に発現させてpull downし、質量分析によって結合因子を同定する試みもなされている。この方法から、PER1結合因子としてNONOとWDR5が [8]、

✉thirot@ucsd.edu

CRY1結合因子としてMybbp1aが [9]、BMAL1結合因子としてRACK1が [10] それぞれ見出された。さらに様々な研究者によって、yeast two-hybridスクリーニングやpull down-質量分析などの手法を用いたタンパク質間相互作用の解析がゲノムワイドに行われており、その結果がNCBI Geneデータベース (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>) にまとめられている。この情報は新規の時計タンパク質結合因子を探索するのに役立つであろう。

(b) 遺伝子転写調節：発現量がリズムを示し（すなわち時計機構に制御され）、さらに時計遺伝子の発現を調節するような転写因子として、DBP、E4BP4、REV-ERB、ROR、DEC、PPAR、TIEG1/KLF10などが同定された。これらの転写因子は標的遺伝子群の調節を介して代謝などの出力系にも関与する [11]。このようなサブグループを形成する転写因子の探索において、発現リズムを示す遺伝子群のマイクロアレイ解析による包括的な同定 [12, 13] が重要な役割を果たす。各転写因子の標的遺伝子群のChIP-seq解析による網羅的な同定 [14-16] と組み合わせることにより、新規のサブグループを含む概日時計の転写因子ネットワークが解明されるであろう。その階層性から、概日時計がいかに出力系遺伝子群のリズムを生み出すのかも明らかになるに違いない。また、これらの遺伝子発現（トランスクリプトーム）に加え、タンパク質発現（プロテオーム） [17-19] や代謝物質量（メタボローム） [20] のリズムを組み入れた、高次のネットワークモデルの構築が期待される。

(c) タンパク質リン酸化：質量分析を用いた解析から、培養細胞に発現させたPER2およびCRY1のリン酸化サイトが網羅的に同定されている [21, 22]。これらのサイトは細胞に内在する複数のキナーゼによってリン酸化されると考えられるが、その多くは不明である。リン酸化コンセンサス配列をもとにした解析から、CRY1のキナーゼとしてAMPKが [22]、CRY2のキナーゼとしてGSK-3 β が [23] 見出された。また、時計タンパク質を*in vitro*でリン酸化するキナーゼを細胞懸濁液中から生化学的に精製することで、BMAL1のキナーゼとしてCK2が [24]、CRY2のキナーゼとしてDYRK1Aが [25] 同定された。一方、キナーゼの機能解析からは、ERK2がCRY1/2を [26]、GSK-3 β およびCK2がPER2を [27-29] それぞれリン酸化することが見出された。これらのアプローチに加え、上述のタンパク質間相互作用のスクリーニングや、後述する時計

周期に影響を与えるキナーゼのスクリーニングが、新規の時計キナーゼの同定に役立つと期待できる。

3. フェノタイプ側からの新しいアプローチ：ハイスループットスクリーニング系の構築

リズム周期を指標とした表現型スクリーニングは非常に強力であるが、マウス個体を用いた遺伝学的方法は他のモデル生物（シアノバクテリア、アカパンカビ、シロイヌナズナ、およびショウジョウバエ）と比べると、世代間隔や個体サイズ、維持費などの問題から限界がある。一方、近年の技術革新、特にロボティクスの発展により、タンパク質や細胞を用いた様々なハイスループットスクリーニングが可能になっている。例えば筆者らが共同研究をしているノバルティス財団ゲノミクス研究所（GNF）では、化合物を大規模スクリーニングするための装置 [30]、およびsiRNAスクリーニングをゲノムワイドに行うための装置 [31] が独自に開発され、多様な生理現象を対象にハイスループットスクリーニングが行われている。なお、アメリカでは民間の研究所だけでなく、NIHの主導でスクリーニングセンターが各地に設立され、ハイスループットスクリーニングは国家プロジェクトとなっている。このようなハード面の整備に加え、哺乳類の培養細胞が時計遺伝子の発現リズムを示すこと [32]、そのリズムをルシフェラーゼなどのレポーターを用いて単一細胞レベルで経時的に測定できること [33, 34]、さらに時計遺伝子の変異は個々の細胞のリズムに影響を与えること [35] が見出され、培養細胞をモデルとした概日リズムの表現型スクリーニングを行うことが可能であると考えられた。

遺伝学における遺伝子変異の代わりに、化合物を用いて機能変化を導き、その作用機構を探る学問分野として、ケミカルバイオロジー（ケミカルジェネティクスとも呼ばれる）がある。ユニークな生理活性をもつ化合物は、生理現象の分子機構を解き明かすためのプローブとなるだけでなく、創薬の起点にもなり得る。筆者らは、概日時計の機能を大幅に変化させる新規の化合物を同定し、その化合物を用いて概日時計の分子機構に迫ることを目的に、大規模な化合物ライブラリーをハイスループットスクリーニングする系を構築した [36]。具体的には、*Bmal1*プロモーターにルシフェラーゼ遺伝子を連結したレポーターを持つヒトU2OS細胞を384ウェルプレート上で培養し、各ウェルに化合物を投与した後生物発光を2時間おきに3-4日間にわたって計

測するという作業を、GNFの化合物スクリーニング装置を用いて行った。それまでGNFで行われていたスクリーニングは、ある一時刻の状態しか測定しないものであったため、経時変化を追うための様々な改変が必要であり、また、他のスクリーニングの妨げにならないよう測定は週末に限られた。さらに、得られる膨大なデータから周期などのパラメーターを抽出するために、CellulaRhythmという解析プログラムを開発した。なお、現在はActimetrics社が開発したMultiCycleという、より多機能で使いやすいプログラムを用いている。スクリーニングの成否の鍵を握るのはアッセイ系の安定性であり、筆者らの系では、コントロール（化合物なし）の条件において384ウェルプレート内の97%以上のウェルの周期を平均値から±0.5時間以内に収めることに成功した。

4. フェノタイプ側からの新しいアプローチ：小規模化合物ライブラリーのスクリーニング

スクリーニング系の有効性を確認するため、筆者らはまず1,280種類の既知化合物からなる市販ライブラリー（LOPAC; Sigma）を用いて解析を行った [36]。LOPACは化合物スクリーニングのためのエントリーモデルであり、機能がよく解析されているため、当たりの化合物が見つかった時に作用機序を容易に推測できるという利点があるが、数が限られている。なお、機能がわかっている化合物を用いるこの方法は、遺伝学におけるリバースジェネティクスに相当する。化合物の終濃度7 μ Mでスクリーニングを行った結果、再現性よく0.5時間以上の周期変化を導く化合物を11種類見出した。この中には、時計の周期延長を導くことが他の生物・組織において既に示されていたCDKの阻害剤roscovitine [37]、JNKの阻害剤SP600125 [38]、p38の阻害剤SB203580 [39] のアナログSB202190、およびCK2の阻害剤DRB [40] が含まれていた。なお、これら4つの周期延長化合物は上田先生のNIH3T3細胞およびU2OS細胞を用いたLOPACスクリーニング [41] や八木田先生のrat-1細胞を用いたキナーゼ阻害剤のスクリーニング [42] でも見出されている。

筆者らはさらに、CDKとGSK-3の両者を阻害するindirubin-3'-oximeおよびkenpaulloneが周期短縮を導くことを見出した。GSK-3に特異的な阻害剤およびGSK-3 β に対するRNAiを用いた解析から、哺乳類の培養細胞においてはGSK-3の阻害が周期短縮を導くことを明らかにした。一方、多くの生物におい

て周期延長を導くことが知られているリチウムは、筆者らの系においても周期を延長させたことから、その効果はGSK-3以外の標的因子を介していると考えられる。以上の結果から、ハイスループットスクリーニング系の有効性が示されただけでなく、哺乳類末梢時計の周期調節におけるGSK-3の役割が明らかになった [36]。なお、LOPACの一次スクリーニングの周期データはPubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) を介して公開している (AID: 2774)。

5. フェノタイプ側からの新しいアプローチ：大規模化合物ライブラリーのスクリーニング

大規模スクリーニングによって多様性に富む化合物群の作用を解析することは、様々なタンパク質を標的とし得るため、小規模ライブラリーでは見出せない時計因子を見出せる可能性がある [43]。筆者らは、GNFが所有する大規模な合成化合物ライブラリー [44] を用いて、概日時計の周期を変化させる新規の化合物を探索している。機能未知の化合物を用いるこの方法は、遺伝学におけるフォワードジェネティクスに相当する。筆者らが構築した系は、1回の実験で60枚の384ウェルプレートを用い、約2万の化合物をスクリーニングすることができる。この系を用いて12万の化合物の効果を解析し、用量依存的に顕著な周期延長を導く化合物を複数見出した。そのひとつについて、スクリプス研究所化学科のSchultz研究室の協力を得て30種類以上のアナログを合成した結果、3倍強い活性をもつ新規化合物を見出し、これをlongdaysinと名付けた [45]。Longdaysinは上述のLOPACスクリーニングで同定したどの化合物よりも強い活性を示し、約20 μ Mの濃度で20時間もの周期延長を引き起こした。

機能未知の化合物の標的タンパク質を同定することは、遺伝学における原因遺伝子のクローニングと同様に手間のかかる作業であり、一般的には化合物に結合するタンパク質の生化学的な同定を試みる [46]。筆者らはlongdaysinにリンカーを結合する部位を探索し、周期延長活性を保つリンカー化合物を見出すことに成功した。このリンカー化合物にアガロスピーズを連結し、特異的に結合するタンパク質群を細胞懸濁液中からアフィニティー精製して質量分析で同定した。さらに、これら結合タンパク質をsiRNAを用いてノックダウンし、時計周期に与える影響を解析した結果、CKI δ 、CKI α およびERK2がlongdaysinの標的として周期を調節することを明

らかにした。なお、*in vitro*キナーゼアッセイにおいてlongdaysinはこれらのキナーゼの活性を阻害した。CKI δ 、CKI α およびERK2を同時にノックダウンしたところ、longdaysinに匹敵する周期延長が観察されたことから、longdaysinはこれらのキナーゼを同時に阻害することによって大きな周期延長を導くと考えられた。さらに、CKI α とERK2は共に時計タンパク質のうちPER1とPER2に結合すること、およびCKI α がCKI δ と同様にPER1をリン酸化して分解に導き、これらの反応がlongdaysinによって用量依存的に抑制されることを見出した。以上の解析から、CKI δ の重要性を再確認しただけでなく、CKI α およびERK2の周期調節における役割を見出し、これらキナーゼのネットワークによるPER1タンパク質の調節が時計周期の安定性に重要であることを明らかにした。Longdaysinは培養細胞だけでなく、マウス視交叉上核のスライス培養やゼブラフィッシュの個体においても顕著な周期延長効果を示し、さらなる改良を加えれば概日リズムの調節薬の候補になるかもしれない [45]。

6. フェノタイプ側からの新しいアプローチ： siRNAライブラリーのスクリーニング

RNAiを用いたアプローチは標的遺伝子が予めわかっているため、機能阻害がうまく働けば、化合物を用いたアプローチよりも直接的である。ショウジョウバエでは、発現リズムを示す133遺伝子に対するRNAiスクリーニングから、行動周期を変化させる新たな時計遺伝子として*cwo*が見出された [47]。また、S2培養細胞を用いた発現系において、CRYの光分解に影響を与える因子のゲノムワイドRNAiスクリーニングが行われている [48]。

ヒトU2OS細胞は高いトランスフェクション効率を示し、GNFにおいても細胞周期調節因子のゲノムワイドsiRNAスクリーニングなどに用いられてきた [49]。そこで筆者らは、siRNAスクリーニング装置 [31] を応用し、*Bmall*レポーター U2OS細胞を用いて系の構築を試みた。384ウェルプレートを用いた場合、高いトランスフェクション効率を保ちつつ顕著なリズムを再現性よく得ることが非常に難しく、至適条件を見つけるまでに長い時間を要したが、最終的には40枚の384ウェルプレートを用い、約1万3千のsiRNAを1回の実験で解析することが可能になった [50]。ヒトの約2万2千遺伝子に対する市販のゲノムワイドsiRNAライブラリー (Qiagen) を用い、各遺伝子に対する4種類の

siRNAを、2種類ずつ混ぜた2つのプールとしてスクリーニングし、その結果をBioGPS (<http://biogps.gnf.org/circadian/>) にて公開した。このデータベースはsiRNAスクリーニングの結果だけでなく、遺伝子発現リズムや組織分布などのデータも各遺伝子について検索できる。

このスクリーニングによって見出した約300の時計調節遺伝子から、*Cry1*および*Cry2*に匹敵する強い周期効果を持つものをいくつか選び、そのノックダウンが既知時計遺伝子の発現量に与える影響を解析した。その結果、大部分において*Dbp*および*Rev-erba*の発現が低下していたことから、これらの因子はCLOCK-BMAL1の活性調節に関与すると考えられた。一方、約300の時計調節遺伝子を上述のNCBI Geneデータベース (項目2(a)を参照) およびGNFが所有するタンパク質間相互作用データベースで検索した結果から、新規の時計調節因子群の一部が直接的あるいは間接的に既知時計タンパク質に結合すると考えられた。また、DAVID (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/home.jsp>) を用いたパスウェイ解析からは、インスリンシグナル伝達と概日時計との相互関係が明らかになった。以上の解析から、新規の時計調節因子を多数見出し、それらがどのように時計機構に関与するのかを解明するための手がかりを示した [50]。なお、ドイツのKramer博士らはレンチウイルスを介したRNAiスクリーニングをU2OS細胞を用いて行い、キナーゼ、フォスファターゼおよびF-boxタンパク質の解析を完了した [28]。彼らのデータが公開されれば、筆者らのデータとの比較から、時計発振に関与するキナーゼに対するより精度の高い情報が得られるに違いない。

7. おわりに

留学をきっかけに、ハイスループットスクリーニングといういかにもアメリカらしい研究に足を踏み入れることになった。素晴らしいリソースに恵まれているからこそできた研究であり、Steve Kay教授をはじめ、チームの皆様は心より感謝したい。大規模スクリーニングは強力な手段であるが、気を付けられないといけないのが特異性である。例えば、LOPACスクリーニングから見出された周期延長を引き起こす化合物群は、CKI ϵ およびCKI δ をオフターゲットとして阻害することが報告されている [41]。また、臨床試験で用いられているキナーゼ阻害剤でさえも、それまで知られていなかった標的キ

ナーゼを持つことが明らかにされている [51]。これらの結果は、化合物を用いた研究において、その標的因子を正確に評価する必要性を示している。筆者らは、新規化合物longdaysinの標的タンパク質群を同定し、CKI δ 、CKI α およびERK2を同時に阻害することが大きな周期延長効果に重要であることを見出した。複数の標的タンパク質を持つことは、抗がん剤のsunitinibやsorafenibでも見られ、強い効果を示す化合物の特徴であると考えられる。一方、siRNAスクリーニングでは、同一遺伝子に対する2種類以上のsiRNAが同様の効果を示すことを指標としたが、様々な方法での検証が必要であろう。化合物スクリーニングとsiRNAスクリーニングは互いに相補しあうと考えられる。ハイスループットスクリーニングを用いたアプローチは始まったばかりである。得られた膨大な情報をいかに知識に変え、還元していくかが重要な課題であり、まさにこれからが面白いところであろう。

謝辞

この度、日本時間生物学会学術奨励賞を受賞できましたことを大変光栄に存じます。これまで、非常に多くの方々に支えられて研究を続けることができました。まず、長年に渡ってサポートして下さいました深田吉孝教授に心より感謝申し上げます。岡野俊行先生ならびに笠原和起先生には、学生時代よりご指導を頂き、とても感謝しております。また、共に研究を行ってくれた大学院生・学生の皆様にお礼申し上げます。なかでも、金尚宏さん、倉林伸博さん、辻崇裕さん、羽鳥恵さんは、それぞれ主体的に研究を行い、成果を挙げてくれました [18, 25, 52, 53]。さらに、留学の機会と素晴らしい研究環境を与えて下さっているSteve Kay教授に深く感謝申し上げます。最後に、共同研究を通じてお世話になった数多くの方々にこの場を借りてお礼申し上げます。

引用文献

- 1) Konopka RJ, Benzer S: Proc Natl Acad Sci U S A 68:2112-2116 (1971)
- 2) Tei H, Okamura H, Shigeyoshi Y, Fukuhara C, Ozawa R, Hirose M, Sakaki Y: Nature 389:512-516 (1997)
- 3) Takahashi JS, Shimomura K, Kumar V: Science 322:909-912 (2008)
- 4) Ptacek LJ, Jones CR, Fu YH: Cold Spring

- Harb Symp Quant Biol 72:273-277 (2007)
- 5) Gekakis N, Staknis D, Nguyen HB, Davis FC, Wilsbacher LD, King DP, Takahashi JS, Weitz CJ: Science 280:1564-1569 (1998)
- 6) Dunlap J: Science 280:1548-1549 (1998)
- 7) Zhao WN, Malinin N, Yang FC, Staknis D, Gekakis N, Maier B, Reischl S, Kramer A, Weitz CJ: Nat Cell Biol 9:268-275 (2007)
- 8) Brown SA, Ripperger J, Kadener S, Fleury-Olela F, Vilbois F, Rosbash M, Schibler U: Science 308:693-696 (2005)
- 9) Hara Y, Onishi Y, Oishi K, Miyazaki K, Fukamizu A, Ishida N: Nucleic Acids Res 37:1115-1126 (2009)
- 10) Robles MS, Boyault C, Knutti D, Padmanabhan K, Weitz CJ: Science 327:463-466 (2010)
- 11) Asher G, Schibler U: Cell Metab 13:125-137 (2011)
- 12) Hughes M, Deharo L, Pulivarthy SR, Gu J, Hayes K, Panda S, Hogenesch JB: Cold Spring Harb Symp Quant Biol 72:381-386 (2007)
- 13) Ukai H, Ueda HR: Annu Rev Physiol 72:579-603 (2010)
- 14) Hatanaka F, Matsubara C, Myung J, Yoritaka T, Kamimura N, Tsutsumi S, Kanai A, Suzuki Y, Sassone-Corsi P, Aburatani H, Sugano S, Takumi T: Mol Cell Biol 30:5636-5648 (2010)
- 15) Rey G, Cesbron F, Rougemont J, Reinke H, Brunner M, Naef F: PLoS Biol 9:e1000595 (2011)
- 16) Feng D, Liu T, Sun Z, Bugge A, Mullican SE, Alenghat T, Liu XS, Lazar MA: Science 331:1315-1319 (2011)
- 17) Reddy AB, Karp NA, Maywood ES, Sage EA, Deery M, O'Neill JS, Wong GK, Chesham J, Odell M, Lilley KS, Kyriacou CP, Hastings MH: Curr Biol 16:1107-1115 (2006)
- 18) Tsuji T, Hirota T, Takemori N, Komori N, Yoshitane H, Fukuda M, Matsumoto H, Fukada Y: Proteomics 7:3500-3508 (2007)
- 19) Deery MJ, Maywood ES, Chesham JE, Sladek M, Karp NA, Green EW, Charles PD, Reddy AB, Kyriacou CP, Lilley KS, Hastings MH: Curr Biol 19:2031-2036 (2009)
- 20) Minami Y, Kasukawa T, Kakazu Y, Iigo M, Sugimoto M, Ikeda S, Yasui A, van der Horst

- GT, Soga T, Ueda HR: *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:9890-9895 (2009)
- 21) Vanselow K, Vanselow JT, Westermark PO, Reischl S, Maier B, Korte T, Herrmann A, Herzel H, Schlosser A, Kramer A: *Genes Dev* 20:2660-2672 (2006)
 - 22) Lamia KA, Sachdeva UM, DiTacchio L, Williams EC, Alvarez JG, Egan DF, Vasquez DS, Juguilon H, Panda S, Shaw RJ, Thompson CB, Evans RM: *Science* 326:437-440 (2009)
 - 23) Harada Y, Sakai M, Kurabayashi N, Hirota T, Fukada Y: *J Biol Chem* 280:31714-31721 (2005)
 - 24) Tamaru T, Hirayama J, Isojima Y, Nagai K, Norioka S, Takamatsu K, Sassone-Corsi P: *Nat Struct Mol Biol* 16:446-448 (2009)
 - 25) Kurabayashi N, Hirota T, Sakai M, Sanada K, Fukada Y: *Mol Cell Biol* 30:1757-1768 (2010)
 - 26) Sanada K, Harada Y, Sakai M, Todo T, Fukada Y: *Genes Cells* 9:697-708 (2004)
 - 27) Iitaka C, Miyazaki K, Akaike T, Ishida N: *J Biol Chem* 280:29397-29402 (2005)
 - 28) Maier B, Wendt S, Vanselow JT, Wallach T, Reischl S, Oehmke S, Schlosser A, Kramer A: *Genes Dev* 23:708-718 (2009)
 - 29) Tsuchiya Y, Akashi M, Matsuda M, Goto K, Miyata Y, Node K, Nishida E: *Sci Signal* 2:ra26 (2009)
 - 30) Melnick JS, Janes J, Kim S, Chang JY, Sipes DG, Gunderson D, Jarnes L, Matzen JT, Garcia ME, Hood TL, Beigi R, Xia G, Harig RA, Asatryan H, Yan SF, Zhou Y, Gu XJ, Saadat A, Zhou V, King FJ, Shaw CM, Su AI, Downs R, Gray NS, Schultz PG, Warmuth M, Caldwell JS: *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:3153-3158 (2006)
 - 31) Konig R, Chiang CY, Tu BP, Yan SF, DeJesus PD, Romero A, Bergauer T, Orth A, Krueger U, Zhou Y, Chanda SK: *Nat Methods* 4:847-849 (2007)
 - 32) Balsalobre A, Damiola F, Schibler U: *Cell* 93:929-937 (1998)
 - 33) Nagoshi E, Saini C, Bauer C, Laroche T, Naef F, Schibler U: *Cell* 119:693-705 (2004)
 - 34) Welsh DK, Yoo SH, Liu AC, Takahashi JS, Kay SA: *Curr Biol* 14:2289-2295 (2004)
 - 35) Liu AC, Welsh DK, Ko CH, Tran HG, Zhang EE, Priest AA, Buhr ED, Singer O, Meeker K, Verma IM, Doyle FJ, 3rd, Takahashi JS, Kay SA: *Cell* 129:605-616 (2007)
 - 36) Hirota T, Lewis WG, Liu AC, Lee JW, Schultz PG, Kay SA: *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:20746-20751 (2008)
 - 37) Krucher NA, Meijer L, Roberts MH: *Cell Mol Neurobiol* 17:495-507 (1997)
 - 38) Chansard M, Molyneux P, Nomura K, Harrington ME, Fukuhara C: *Neuroscience* 145:812-823 (2007)
 - 39) Hayashi Y, Sanada K, Hirota T, Shimizu F, Fukada Y: *J Biol Chem* 278:25166-25171 (2003)
 - 40) Raju U, Koumenis C, Nunez-Regueiro M, Eskin A: *Science* 253:673-675 (1991)
 - 41) Isojima Y, Nakajima M, Ukai H, Fujishima H, Yamada RG, Masumoto KH, Kiuchi R, Ishida M, Ukai-Tadenuma M, Minami Y, Kito R, Nakao K, Kishimoto W, Yoo SH, Shimomura K, Takao T, Takano A, Kojima T, Nagai K, Sakaki Y, Takahashi JS, Ueda HR: *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:15744-15749 (2009)
 - 42) Yagita K, Yamanaka I, Koinuma S, Shigeyoshi Y, Uchiyama Y: *Acta Histochem Cytochem* 42:89-93 (2009)
 - 43) Hirota T, Kay SA: *Chem Biol* 16:921-927 (2009)
 - 44) Plouffe D, Brinker A, McNamara C, Henson K, Kato N, Kuhlen K, Nagle A, Adrian F, Matzen JT, Anderson P, Nam TG, Gray NS, Chatterjee A, Janes J, Yan SF, Trager R, Caldwell JS, Schultz PG, Zhou Y, Winzeler EA: *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:9059-9064 (2008)
 - 45) Hirota T, Lee JW, Lewis WG, Zhang EE, Breton G, Liu X, Garcia M, Peters EC, Etchegaray JP, Traver D, Schultz PG, Kay SA: *PLoS Biol* 8:e1000559 (2010)
 - 46) Rix U, Superti-Furga G: *Nat Chem Biol* 5:616-624 (2009)
 - 47) Matsumoto A, Ukai-Tadenuma M, Yamada RG, Houl J, Uno KD, Kasukawa T, Dauwalder B, Itoh TQ, Takahashi K, Ueda R, Hardin PE, Tanimura T, Ueda HR: *Genes Dev* 21:1687-1700 (2007)
 - 48) Sathyanarayanan S, Zheng X, Kumar S, Chen CH, Chen D, Hay B, Sehgal A: *Genes Dev* 22:1522-1533 (2008)

- 49) Mukherji M, Bell R, Supekova L, Wang Y, Orth AP, Batalov S, Miraglia L, Huesken D, Lange J, Martin C, Sahasrabudhe S, Reinhardt M, Natt F, Hall J, Mickanin C, Labow M, Chanda SK, Cho CY, Schultz PG: Proc Natl Acad Sci U S A 103:14819-14824 (2006)
- 50) Zhang EE, Liu AC, Hirota T, Miraglia LJ, Welch G, Pongsawakul PY, Liu X, Atwood A, Huss JW, 3rd, Janes J, Su AI, Hogenesch JB, Kay SA: Cell 139:199-210 (2009)
- 51) Fabian MA, Biggs WH, 3rd, Treiber DK, Atteridge CE, Azimioara MD, Benedetti MG, Carter TA, Ciceri P, Edeen PT, Floyd M, Ford JM, Galvin M, Gerlach JL, Grotzfeld RM, Herrgard S, Insko DE, Insko MA, Lai AG, Lelias JM, Mehta SA, Milanov ZV, Velasco AM, Wodicka LM, Patel HK, Zarrinkar PP, Lockhart DJ: Nat Biotechnol 23:329-336 (2005)
- 52) Kon N, Hirota T, Kawamoto T, Kato Y, Tsubota T, Fukada Y: Nat Cell Biol 10:1463-1469 (2008)
- 53) Hatori M, Hirota T, Iitsuka M, Kurabayashi N, Haraguchi S, Kokame K, Sato R, Nakai A, Miyata T, Tsutsui K, Fukada Y: Proc Natl Acad Sci U S A 108:4864-4869 (2011)

動物における光周性の分子・神経内分泌基盤

安尾しのぶ[✉]

九州大学大学院農学研究院 代謝・行動制御学

脊椎動物における光周性の分子生物学的研究は黎明期を超え、発展期に突入した。概日時計遺伝子との関わりや光周性制御遺伝子の同定により、日照時間の変化というシンプルな刺激が脳内でダイナミックな分子変化を生じることが解明されてきたのである。同時に、光周性をつかさどる中枢が脳視床下部と下垂体隆起葉との連携からなる複合系であることが解明され、時空間的な制御メカニズムがその姿を表してきた。これらの研究は、実験前には予想もできなかった結果の数々が積み重なったものであることは言うまでもない。また、季節によって変化する代謝や情動、免疫系の制御機構など、未解明の課題において、今後さらなる真摯な取り組みと新しい発見へと続けたい。本稿では、動物の光周性研究にて筆者が目撃した「予想外の発見」に焦点をあててこれまでの研究を俯瞰するとともに、今後の発展に向けた取り組みを紹介する。

1. はじめに

研究者にとって、最も喜びにあふれる瞬間とはどんな瞬間であろうか？ 画期的なアイデアを思いついた瞬間、素晴らしい実験結果を得た瞬間、感動を人に伝える瞬間、技巧的な実験が一度で上手くいった瞬間、など、10人に聞けば10通りの答えが挙げられるだろう。では筆者の場合はというと、「意外な真実がみえた瞬間」に無性の喜びを感じる。この「瞬間」は、予期せぬ実験結果によって新たな真実を示唆する道が開ける「瞬間」であり、まだ真実が証明されているわけではない。しかし、実験結果の隙間から漏れ出る真実の匂いには抗し難いものがある。

脊椎動物における光周性の研究は、季節繁殖をつかさどる脳内鍵遺伝子群の同定により、ここ数年で飛躍的に発展してきた。筆者は光周性の分子生物学的研究の黎明期ともいえる時計遺伝子の発現解析時から、各種鍵遺伝子の同定まで十年余りという素晴らしい期間に光周性の研究にたずさわることができ、この発展の裏に横たわる数々の「予想外の発見」を目撃してきた。幸運なことに自ら関わることができたものもあれば、人づてに聞いて「そんな上

手い仕組みがあっているのか」と驚嘆させられたことも多い。一年という季節サイクルを生物がどのように読み取り活用しているのか。我々人間はカレンダーをめくり、花々が咲き始めるのを見てようやく「もう春だなあ」と衣替えを始めたが、実は意識より先に体が季節に反応しているのならば、その生物学的仕組みをいかに活用して健康生活に繋げられるのか。光周性研究が発展してきたとはいえ、解明が待たれる興味深い課題が数多くある。言いかえれば、予想外の驚愕的な結果が、我々の手によって明かされるのを待っている。本稿では、筆者がこれまでに接してきた予想外の結果に触れながら光周性研究を概説し、今後の発展へといかに繋げたいかを紹介する。筆者の視点を中心に概説するため、総説の要素と経験談の要素が混在するがご容赦いただきたい。

2. 時計遺伝子と光周性

動物の光周性の分子生物学的研究において、最初に広範囲で研究が進められたのは時計遺伝子による日長計測機構であろう。哺乳類の時計遺伝子がクローニングされ、時計の振動機構が解明されると、

✉syasuo@brs.kyushu-u.ac.jp

視交叉上核やメラトニン主要ターゲット部位である下垂体隆起葉 (Pars tuberalis, PT) の時計により日長がいかに読み取られるのかが研究の焦点となった。そしてイギリスのグループを中心に、ハムスターのPTで*Per1*の発現リズムの振幅が長日条件で高まることや [1]、ヒツジのPTで様々な時計遺伝子の位相が日長により変化することなどが報告され [2]、「季節時計は日長により動く」ことが次第に解明されてきた。PTにおいて、メラトニンが転写因子である時計遺伝子を使って下流遺伝子群を調節する仕組みは大変リーズナブルである。

そのころ筆者は名古屋大学大学院生命農学研究科の海老原史樹文先生のもとへ入学し、同研究科の吉村崇先生によって鳥類で初めてクローニングされたウズラ時計遺伝子の情報をもとに、鳥類の視交叉上核の同定、そして鳥類の光周性中枢である視床下部内側基底部 (mediobasal hypothalamus, MBH) における発現解析を行なうことになった。当初は、哺乳類のように時計遺伝子が日長に応じてガンガンに動き、下流経路を調節すると予想していたが、結果は全く逆で、発現リズムがほとんど変化しないというものであった [3]。と、一言で書いてしまえる結論であるが、この結論を得るのは大変な道のりであった。なにしろ、変化がないことを示すには、一つ一つの可能性を地道につぶしていかねばならない。そのため、長日条件、短日条件、恒暗条件、恒明条件、3つの光中断条件、光パルス実験、とあらゆる条件で24時間6ポイントサンプリングを2~3ヶ月間毎週行い、使用ウズラ総数はゆうに200羽を超え、その合間をぬって一日13時間の切片作成、膨大な量の*in situ* hybridizationの日々である。実験結果を左うちわで楽しむ余裕は全くなく、疲れたと思うエネルギーすら節約する日々であったが、気がついた時には膨大なデータが積みもり、「季節により動かない時計」という哺乳類と異なる新しい説を示していた [3]。光周性の分子生物学的知見が乏しかったため時計の機能解析にまで至らなかったが、膨大なデータが結論を強くサポートしたと信じている。有り難いことに、この論文は*Endocrinology*のNews & Viewsに選ばれ、業績を獲得したことよりもむしろ、大変な仕事を評価して頂いたことが大きな喜びであった。

では当時、なぜ哺乳類で注目されていたPTに注目しなかったのか？ 後の節で詳述するが、今やPTは鳥類における光周性の最重要部位として脚光を浴びているのに、なぜ当時は無視したのか？ 答

えは簡単である。当時はウズラのPTに関する知見はほとんどなく、1960年代から数多く出版されている鳥類光周性の論文にも登場しなかった。哺乳類でPTが注目されていた理由はメラトニン受容体が高濃度で存在するため、日長計測にメラトニンを用いない鳥類では注目する理由がなかったといえる [4]。ところが、偶然の結果から、ウズラのPTの重要性が解明された。上記のMBHにおける時計遺伝子発現の解析中、MBHの発現シグナル周囲にゴミのようなシグナルが黒々と光っていたのである。実体が分からないままそのシグナルを定量すると、驚いたことに、*Cry1*のシグナルが光感受相への光パルスで著しい上昇を示していることが分かった。折しも、Dardenteらにより哺乳類のPTでメラトニンが*Cry1*の発現を誘導することが報告された矢先である [5]。この段階でようやく「このシグナルはPTかもしれない」と沸き立ち、PTのマーカーであるglycoprotein alpha-subunitの発現により、晴れてPTと証明された [6]。哺乳類でメラトニンが行なっている仕事を鳥類では光が直接担当し、結果として同じアウトプットに収束するとは、生物の多様性と統一性はなんとエレガントに組み合わせられているのだろう。そして偶然 (必然?) の結果にはなんとという宝物が潜んでいるのだろう。そう思わずにはいられない結果である。

3. 光周性の脳内鍵遺伝子

ウズラの光周性モデル動物としての強みは、迅速かつ明確な光周性反応である。一日の長日刺激で性腺刺激ホルモンの放出が高まるのみならず、光感受相に光パルスを与えるだけでも同じ反応が起こる [7]。言い換えれば、光周性スイッチのタイミングが明確であり、ピンポイントで仕組みの解明に取り組むことができる。この性質をもとに、吉村先生を中心に光周性の鍵遺伝子、すなわち日長情報と生理機能を橋渡しする機能遺伝子が探索されてきた。そして最初に同定された遺伝子が、甲状腺ホルモンの活性化酵素であるII型脱ヨード酵素 (*type 2 deiodinase, Dio2*) である [8]。長日条件にてMBHにおける*Dio2*の発現が急速に誘導され、プロホルモンのthyroxin (T_4) から合成された活性型甲状腺ホルモン (triiodothyronine, T_3) がゴナドトロピン放出ホルモン神経とグリア細胞の形態変化を通じて生殖腺を発達させる [9]。喉にある甲状腺と脳内の光周性機構とは何とも突飛なカップリングであり、正直、研究初期にはピンとこなかった。しか

し、*Dio2*の光周性制御機能を示すデータが重なるにつれて、またFollettやKarschらの光周性と甲状腺ホルモンに関する80～90年代の一連の論文 [10, 11] を読み進めるにつれて、点と点が有機的に繋がってゆく感覚を今でも強烈に覚えている。*Dio2*の重要性をいち早く捉えられ、機能証明まで一気に導かれた吉村先生の洞察力・行動力には大変多くのことを学ばせていただいた。

*Dio2*の論文がNatureに発表された直後には、*Dio2*の影にもう一つ大きな爆弾が潜んでいようとは誰も予想していなかったであろう。当時、別路線の実験を進めていたが、*Dio2*の発現結果が芳しくなく、仕方なく甲状腺ホルモンの不活性化酵素であるIII型脱ヨード酵素 (*type 3 deiodinase, Dio3*) の発現に目を向けることになった。とはいえ、光周性のメカニズムは*Dio2*で十分説明できるため、「切片が余っているからついでに調べておこう」という軽い気持ちであった。しかし、結果は驚くべきものであった。長日条件で発現が誘導される*Dio2*とは全く逆に、*Dio3*の発現は長日条件で抑制されていたのである [12]。活性化酵素が増えると同時に、不活性化酵素が減る—そんな出来すぎた仕組みを世界で最初に目撃できるとは、本当に研究者はやめられない。レベルは全くもって違うが、イスラエルのAvram Hershko教授は、世界中でタンパク質の生成経路が脚光をあびる中、大学院生のAaron Chiechanoverに与えるテーマが尽きてしまい、仕方なくタンパク質分解の仕事に彼に与えたところ、その結果がユビキチンシステムの発見に繋がり、2004年のノーベル化学賞受賞に至ったという (Abram Hershko, Aaron Chiechanover, Irwin Rose共同受賞)。筆者は2007年のリンダウ会議 (ノーベル賞受賞者と若手研究者が交流する会議) に参加した際、幸運にもHershko教授の話をうかがう機会があった。「誰もまだ注目していない点に取り組みば、面白い結果が出るかもしれないし、出ないかもしれない。そんなことどちらでもいいではないか」とヒョウヒョウと語る教授の言葉が心に残っている。

そして時代は一網打尽のゲノムワイドな解析に繋がる。2008年、ウズラにおいて光周性反応を引き起こす分子カスケードが網羅的に解析された [13]。もちろんターゲットはウズラの光周性中枢であるMBH、すなわち*Dio2*や*Dio3*が働いて性腺軸を調節する脳部位である。しかし、ここでまた常識をくつがえす結果が現れる。長日刺激に真っ先に反応する

のはMBH内の遺伝子ではなく、MBHを取り囲むPTの甲状腺刺激ホルモンベータサブユニット (*thyrotropin beta-subunit, TSHB*) と*eyes absent 3 (EYA3)* だったのである。そして、PTで合成された甲状腺刺激ホルモンがMBHの受容体に作用して*Dio2*や*Dio3*を動かす。鳥類光周性の歴史では注目度の低かったPTが実は光周性反応の要であるとは、まさに「真実は小説より奇なり」である。

4. 哺乳類の光周性

光周性研究の目覚ましい発展は、哺乳類においても例外ではない。実は鳥類よりも一足早くゲノムワイドな解析があちこちで行なわれており、ジャンガリアンハムスターで視床下部の T_4 -binding proteinが光周性に関わることや [14]、retinoidシグナリングが体重の季節変化に関わること [15] などが次々と報告されていた。これらの報告はウズラで重要性が見いだされた*Dio2*や*Dio3*などと重複せず (T_4 -binding proteinはニアミスであるが)、一見、鳥類と哺乳類とで別のメカニズムが存在するように思える。しかし、基本的に哺乳類の研究は数ヶ月間じつくりと日長条件に同調させた際に見られる状態を焦点としており、長日刺激の初期に起こるクリティカルな変化を焦点としたウズラの実験とは根本が異なる。ではウズラと同じ焦点のもと、ハムスターに長日刺激を与えたらどうなるかということ、*Dio2*や*Dio3*はウズラと同様、日長に反応する [16]。しかも、哺乳類ではこれらの遺伝子発現がメラトニンに制御されている [16]。すなわち、鳥類と哺乳類において光周性の中核メカニズムに関わる遺伝子は保存されているが、入力経路のみが異なる。この保存性に立ち、哺乳類独自の研究ではベールに包まれていた事象が、鳥類の研究によって脚光を浴びるようになった。例えば、PTにおける*TSHB*の発現が日長に影響を受けることは1988年の時点で既にハムスターで報告されていたが [17]、その機能は全く分かっていなかった。前節で述べた2008年のウズラにおける研究から、光周反応の引き金因子としての役割が突然クローズアップされたのである。

脳内光周性反応における主要な役者が解明され、これまで太刀打ちできなかった様々な光周性の謎に切り込むことができる—筆者がドイツへ渡ったのはこのような好機であった。ここで、ドイツ留学時の研究に移る前に、公私含めて100回ほど聞かれた質問、「なぜドイツなのか？」の答えに触れておきたい。ちなみに、この質問の裏には「なぜ研究留学者

の大多数がめざすアメリカではないのか？」との含みがある。一言で答えるならば、「ヨーロッパが好きで、自分に合っているから」なのだが、そう思う決定打はヨーロッパの雰囲気にある。ヨーロッパは伝統を重んじる気質から、見た目が派手な研究よりも、コツコツと時間をかけて積み上げる研究が重視される。研究者たちは自身が本質とを感じる研究を誰が何と言おうとことんまで突き詰め、社会はそれを広く受入れている。そのため、研究者同士の関わりは競争をベースにしたものではなく、尊重や受容をベースに成り立っている。このような雰囲気に惹き付けられ、ヨーロッパの中でも特に重厚感あふれる研究が盛んなドイツにて、Horst-Werner Korf教授に4年間お世話になったわけである。Korf教授の包容力に助けられ、ドイツ生活では雑音を気にせず純粹に研究に没頭できたと同時に、日本の常識ではありえないような人々の行動様式や出来事に直面し、生まれて以来30年近く日本で築いてきた価値観がいとも簡単に崩れ落ちた。とはいっても日本的価値観を捨てたのではなく、ドイツの価値観との融合から幅広い視点が養えたように思う。余談であるが、最近の学生は海外離れが進んでいると聞かすが、少しでも自分の殻が窮屈だと感じるならば、とりあえず海外へ飛び出してみることをお勧めする。研究水準のみに着目すれば、今や海外へ行かずとも日本国内でも立派な研究ができるが、海外生活の意義は研究内容以外の次元にも溢れている。

ドイツでは、かねてより疑問に思っていたメラトニン受容体の謎に取り組むことになった。哺乳類では*Dio2*や*Dio3*がMBH内のグリア細胞であるタニサイトに発現し、メラトニンの投与によってその発現量が調節される [16]。しかし、タニサイトには既知のメラトニン受容体MT1やMT2が存在しない(数年後にPTのTSHがタニサイトのTSH受容体経路で*Dio2*や*Dio3*を調節できると分かったが、当時はそのようなメカニズムを夢にも思わなかった)。そして興味深いことに、メラトニン関連受容体のGPR50がタニサイトに発現し [18]、さらにMT3/QR2の存在も示唆されている [19]。筆者は既に、光周性研究には予想外のことが幾らでも起こりうる「何でもあり」状態と認識していたため、MT1・MT2以外の受容体の重要性を示すつもりで、C3Hをバックグラウンドにもつメラトニン受容体のノックアウトマウス (MT1 KO, MT2 KO, MT1/MT2 KO) で*Dio2*や*Dio3*の発現を調べた。ちなみに光周性の研究で周年繁殖性のマウスを利用できる背景に

は、CBAなどメラトニン合成能を持つ系統では、*Dio2*や*Dio3*の発現がウズラやハムスターと同様、日長に反応するという知見がある [20]。しかし結果は、MT1を欠損すると光周性反応が起こらないというものであった [21]。これはこれでMT1の機能を直接証明する重要なデータなのだが、多少拍子抜けしてしまった。が、続きはまだあった。1996年にWeaverらによりハムスターのMT2遺伝子がnatural knockoutされていることが示され [22]、MT2受容体は光周性に関係がないと認識されていたが、驚いたことに、筆者らの結果によると、MT2のノックアウトマウスでは*Dio3*の光周性反応が野生型よりも強かったのである [22]。つまり、MT2は光周性反応を弱める働きを持ち、ハムスターでは強力な光周性反応を獲得して生存率を高く維持するために、MT2がnatural knockoutされたことを示唆する。遺伝子がいかに自然淘汰されてきたのかについては実験的な証明が困難であるが、大変ロマンのかき立てられる説である。

ドイツ留学時代には、PTからのプロラクチン制御因子としてのエンドカンナビノイドなど、他にも驚きの結果に支えられた研究をさせていただいたが、本会誌の前号 (Vol. 16, No. 1) で既に紹介していることを書き添えておく。

5. 季節と情動、ストレス、栄養—光周性の新たな展開へ

新しい研究環境は、新しい課題へとシフトするチャンスである。そして環境の変化が大きければ大きいほど、課題を飛躍させるチャンスは大きい。筆者は2009年の12月から九州大学大学院農学研究院に着任し、栄養学に30年以上たずさわっておられる古瀬充宏教授にお世話になっている。教員ポストの自由と責任のもと、新しい研究グループで新しい課題をゼロから始めるチャンスに恵まれた。

ここで筆者はあらためて光周性研究を一步引いた視点から眺めてみた。すると、季節と生物の関わりの大きく複雑な構図がおぼろげながら見えてきた。季節リズムは生物にとって宿命であり、生物はそのリズムに多様な性質を上手く絡ませながら、より良く生きる術を身につけてきた。生存率にダイレクトな影響を及ぼす生殖機能のみならず、代謝やストレス反応、情動、また免疫に至るまで、生物は今何をすべきで何をすべきでないかを体で知っている。近年解明されてきた光周性の分子機構はその優れた仕組みを目に見える形で示しつつあるが、果たしてそ

れが全体の階層的構造を束ねるマスター機構であるのか、あるいは独立した光周性の各機能のうち生殖機能に特異的な機構であるのか、まだ誰も知らない。もし前者であるならば、人間社会において深刻な問題である冬期うつ病や季節的な自殺率の変動、また脂肪率、免疫機能の季節変化との繋がりはどうなっているのか。あるいは後者の場合には、一体どのような仕組みが各機能の背後にあるのか。また各機能同士には如何なる関連があるのか。考えを巡らせれば、光周性の研究が取り組まなければならない課題が多くある。もちろん全ての側面を一気に検討することは不可能であるが、まずは起点として、生殖以外の光周性のメカニズム、すなわちストレス・情動の光周性からの取り組みを進めている。光周性の全貌が一つの山とするならば、未開の登山道を開拓すればいつか他の登山道と繋がるかもしれないし繋がらないかもしれない。先のことは全く分からないが、今は地道に新しい足場を固めている。とはいえ、古くから多くの動物モデルが報告されてきた季節繁殖と異なり、ストレス・情動については明確な反応性を示す動物モデルを作成するところからのスタートである。山あり谷ありの日々であるが、多くの方々に支えられていることを励みに、少しずつでも前進を続けたい。

新しい環境はまた、新旧の融合が生まれるチャンスでもある。現研究室の古瀬先生は、栄養によってストレスやうつ症状を軽減させる研究を進めてこられ、数々の栄養素を同定されてきた [23]。他にも、研究室内では栄養とアレルギーの関係や生後発達期の栄養など、生体に対する栄養の重要性が広く研究されている。これらを知るにつれて、筆者は根本的な疑問を抱きはじめた。そもそも栄養の根源は地球上に育つ植物やそれを食べる動物であり、そこには当然季節がかかわる。植物には旬の季節があり、野生生物には季節繁殖性があるのだ。ならば、栄養の季節サイクルは生物にいかなる影響を及ぼすのであろうか？ 生物は元来、季節ごとに異なった栄養バランスに慣れ親しんできたが、そこに生物学的な意義はあるのだろうか？ 人間が今や年中同じものを食べ続けることが、季節に制御されるメカニズムにいかなる影響を及ぼすのだろうか？ 現在、時間薬理学や時間栄養学によって、同じ薬や栄養でも摂取する時刻によりその効果が異なることが解明されてきているが、同じ原理で、季節ごとに体が必要とする栄養が異なることは十分あり得る。このような観点から、「季節栄養学」としての科学的知見

を深めるべく、こちらも地道に足固めを行なっている。

6. おわりに

これまで10年余り光周性研究にたずさわって、ようやく1年前に独立グループを形成したという段階で学術奨励賞という栄誉をいただいたことは、今後に向けて強く背中を押されたようで、あらためて気持ちが引き締まる思いである。大学の教員はポストク時代には無かった仕事が膨大にあり、この1年間とはにかく仕事をこなすことで手一杯であったが、徐々に研究と教育のバランスが取れてきたように思う。研究に関しては新たなテーマに取り組み初めたとはいえ、これまで光周性もリズムも関わっていない研究室に飛び込んだため、明暗を調節する飼育箱（コフィン）制作からスタートしたが、大阪大学の中村渉先生の懇切丁寧なご協力もあり、学生たちと共になんとか飼育環境を整えることができた。研究道具もノウハウも手探り状態であるが、多方面から手助けをいただいております、感謝している。またそれをきっかけに、異分野の研究者から共同研究の声をかけていただくことも増え、あらためて学際的な時間生物学の中で育てていただいた意義を感じている。自らの研究を掘り進めると同時に、横型の融合分野を増やしていく形でも、時間生物学の発展に貢献できればと思う。

昨年から色々と研究の種をまき、現在、ようやく生育するものが見え隠れする段階であるが、容赦なくはっきりとした出口や業績を求められるプレッシャーは強い。それでも、このような時だからこそ、本質的な仕事を大切に育て抜く気持ちが試されているように思う。自分の前にその片鱗を見せてくれた真実に対して、本来の姿まで近づけてあげるのが我々研究者の責任ではなからうか。時間生物学会の皆様には、どうか、今後を温かく見守っていただきたい。

謝辞

これまでの研究を導き、また深い洞察を与えてくださった名古屋大学の海老原史樹文教授ならびに吉村崇教授、そしてドイツで温かくご指導してくださったHorst-Werner Korf教授に感謝いたします。新天地のスタートを力強くサポートして下さった九州大学の古瀬充宏教授、ならびに友永省三助教に深く感謝いたします。現在、手探り状態の研究にも関わらず、楽しく研究を進めてくれている大学院生

の皆様にも感謝いたします。また時間生物学会の先生方には、国内外の学会等ふとしたきっかけで温かく交流していただき、この場をお借りしてお礼を申し上げます。本稿では青臭いことも述べさせていただきましたが、研究に対する想いを熱く語るような雰囲気を学会内に築き上げてくださった学会員の皆様に、感謝を申し上げます。

追伸

最後になりましたが、東日本大震災で被災された方々、また二次的被害を被られた方々に、心よりお見舞いを申し上げます。

引用文献

- 1) Messenger S, Ross AW, Barrett P, Morgan PJ: Proc Natl Acad Sci U S A 96: 9938-9943 (1999)
- 2) Lincoln G, Messenger S, Andersson H, Hazlerigg D: Proc Natl Acad Sci U S A 99: 13890-13895 (2002)
- 3) Yasuo S, Watanabe M, Okabayashi N, Ebihara S, Yoshimura T: Endocrinology 144: 3742-3748 (2003)
- 4) Gwinner E, Hau M, Heigl S: Brain Res Bull 44: 439-444 (1997)
- 5) Dardente H, Menet JS, Poirel VJ, Streicher D, Gauer F, Vivien-Roels B, Klosen P, Pevet P, Masson-Pevet M: Mol Brain Res 114: 101-106 (2003)
- 6) Yasuo S, Watanabe M, Tsukada A, Takagi T, Iigo M, Shimada K, Ebihara S, Yoshiura T: Endocrinology 145: 1612-1616 (2004)
- 7) Follett BK, Sharp PJ: Nature 223: 968-971 (1969)
- 8) Yoshimura T, Yasuo S, Watanabe M, Iigo M, Yamamura T, Hirunagi K, Ebihara S: Nature 426: 178-181 (2003)
- 9) Yamamura T, Hirunagi K, Ebihara S, Yoshimura T: Endocrinology 145: 4264-4267 (2004)
- 10) Follett BK, Nicholls TJ: J Exp Zool 232: 573-580 (1984)
- 11) Karsch FJ, Dahl GE, Hachigian TM, Thrun LA: J Reprod Fert Suppl 49: 409-422 (1995)
- 12) Yasuo S, Watanabe M, Nakao N, Takagi T, Follett BK, Ebihara S, Yoshimura T: Endocrinology 146: 2551-2554 (2005)
- 13) Nakao N, Ono H, Yamamura T, Anraku T, Takagi T, Higashi K, Yasuo S, Katou Y, Kageyama S, Uno Y, Kasukawa T, Iigo M, Sharp PJ, Iwasawa A, Suzuki Y, Sugano S, Niimi T, Mizutani M, Namikawa T, Ebihara S, Ueda HR, Yoshimura T: Nature 452: 317-322 (2008)
- 14) Prendergast BJ, Mosinger B, Kolattukudy PE, Nelson RJ: Proc Natl Acad Sci U S A 99: 16291-16296 (2002)
- 15) Ross AW, Webster CA, Mercer JG, Moar KM, Ebling FJ, Schuhler S, Barrett P, Morgan PJ: Endocrinology 145: 13-20 (2004)
- 16) Watanabe M, Yasuo S, Watanabe T, Yamamura T, Nakao N, Ebihara S, Yoshimura T: Endocrinology 145: 1546-1549 (2004)
- 17) Wittkowski W, Bergmann M, Hoffmann K, Pera F: Cell Tissue Res 251: 183-187 (1988)
- 18) Barrett P, Ivanova E, Graham ES, Ross AW, Wilson D, Ple H, Melcer JG, Ebling FJ, Schuhler S, Dupre SM, Loudon A, Morgan PJ: J Endocrinol 191: 687-698 (2006)
- 19) Boutin JA, Audinot V, Ferry G, Delagrangre P: Trends Pharmacol Sci 26: 412-419 (2005)
- 20) Ono H, Hoshino Y, Yasuo S, Watanabe M, Nakane Y, Murai A, Ebihara S, Korf HW, Yoshimura T: Proc Natl Acad Sci 105: 18238-18242 (2008)
- 21) Yasuo S, Yoshimura T, Ebihara S, Korf HW: J Neurosci 29: 2885-2889 (2009)
- 22) Weaver DR, Liu C, Reppert SM: Mol Endocrinol 10: 1478-1487 (1996)
- 23) Yamane H, Kurauchi I, Denbow DM, Furuse M: Asian-Aust J Anim Sci 22: 296-304 (2009)

メラトニン研究の歴史

飯郷 雅之[✉]

宇都宮大学農学部 生物生産科学科 応用生物化学講座 生物有機化学研究室

メラトニンは1958年にLernerらにより単離され、1959年に構造が*N*-acetyl-5-methoxytryptamineと決定された松果体ホルモンである。以来、今日に至るまで、メラトニン代謝系、合成制御機構、生理作用などが検討され、時間生物学の中心に位置するホルモンとなっている。本稿では、1917年のウシ松果体における黒色素胞明化物質の発見から、今日の分子生物学的展開まで、メラトニン研究の歴史を筆者の知るエピソードを交えて解説する。

1. はじめに

筆者は学部3年生だった1988年3月に東京大学農学部水産学科魚類生理学研究室に配属され、研究の世界へ第一歩を踏み出した。当時の研究テーマは「キンギョの排卵時刻を決定する生物時計の同定」であり、必然的に松果体とメラトニンを対象とした研究に携わるようになった [1-4]。以来二十数年の年月が流れ、その間に生物時計の研究対象の中心は、メラトニンや行動のリズムから時計遺伝子の分子生物学に移行し、メラトニン研究の歴史を知らない研究者も増えてきたように感じる。そこで本稿では、メラトニンの発見から今日の分子生物学的研究に至るメラトニン研究の歴史を筆者の知るエピソードを交えて解説し、時間生物学の発展におけるメラトニンの重要性を再認識する端緒としたい。

2. メラトニンの発見

松果体に含まれる物質がカエルのオタマジャクシの成長と変態におよぼす影響を調べるために、McCordとAllenは1915年にウシの松果体をカエル (*Rana pipiens*, *R. cantabrigiensis*, および *Bufo americana*) のオタマジャクシに食べさせる実験を行った。その結果、ウシの松果体を食べさせたオタマジャクシの体色が30分後に明化することを見いだした。彼らはウシ松果体のアセトンまたはエタノール抽出物に活性があることをすでに見いだしていた。この研究で

は12000尾のオタマジャクシが使用された。松果体抽出物の体色明化作用はイカでは見られなかったが、魚類 (*Fundulus*) では確認できたという。これらの結果は1917年に論文として出版された [5]。

Yale大学皮膚科のAaron Lernerは、皮膚のチロシナーゼやメラニン顆粒について研究を進めていた生化学者であり、皮膚の色の変化に関与するホルモンに興味を持った [6, 7]。下垂体から黒色素胞刺激ホルモン (MSH) を1955年に発見し [8]、1957年にアミノ酸配列を決定した [9]。また、1959年にはヒト副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) のアミノ酸配列も報告している [10]。当時Lernerの研究室に留学していた高橋善弥太は、40年近く前のMcCordとAllenの論文を見だし、1955年に「メラトニンプロジェクト」がスタートした [6, 7]。カエル (*R. pipiens*) の黒色素胞 (melanophore) のメラニン顆粒を凝集させて明化させる作用を彼らは「melatonin activity」と呼び、黒色素胞を用いたバイオアッセイによりメラトニンを単離精製し、1958年に報告した [11]。この論文には筆者が東京大学に入学した時に総長を務めていた森亘が名を連ねている。森がLernerの研究室に留学したのは、生化学者であるLernerが顕微鏡で黒色素胞の形態をきちんと見定めることのできる形態学者をチームに招き、異なる科学的バックグラウンドを持つチームを作り出すためであったと言う [7]。

✉iigo@cc.utsunomiya-u.ac.jp

50gの凍結乾燥ウシ松果体から単離精製された40mgの物質の構造が *N*-acetyl-5-methoxytryptamine と決定され、1 pg/mlの濃度で黒色素胞の明化を引き起こすことが1959年に報告された [12]。Lerner は25万個のウシ松果体を4年間のメラトニン単離・構造決定に使用した [6]。一方、現在筆者が研究対象としている魚類（アユやニジマス）の松果体を培養すると1個の松果体が暗期には1時間当たり約20 ngのメラトニンを分泌する [13, 14]。40mgのメラトニンを得るためには200個の松果体（1個の重さ約1 mg）を暗期に10時間培養して培養液を回収すれば良いことになる。Lernerらが大量にウシ松果体を必要としたのは、メラトニン合成に日周リズムが存在することがわかっていなかったため、明期にと殺されたウシから採取された松果体を用いていたためと考えられる。

3. 松果体の組織学と電気生理学

松果体に上頸神経節から交感神経が入力していることはKappersにより1960年に明らかにされた [15, 16]。また、Collin、Okscheらにより進められた比較形態学的研究により、哺乳類の松果体は内分泌腺の構造を取っているが、魚類や両生類の松果体には網膜の光受容細胞と良く似た構造の光受容細胞が存在することが示された [17-22]。魚類、両生類、鳥類などの松果体からは脳に神経の投射がみられるが、哺乳類には見られない。これらの構造の変化は、脊椎動物の進化の過程で松果体細胞が光受容能を失い、内分泌腺へと機能が特化していったことを示している。

魚類や両生類の松果体が直接光に対して応答することは電気生理学的に示された。1963年にDodtはニジマスの松果体が光応答を示すことを報告した [23, 24]。Dodtの研究室に留学した森田之夫はDodtとともに松果体の電気生理学的研究の世界の先駆者のひとりであった。また、筆者の卒業論文の指導教官であった羽生功は1969年に松果体の光受容細胞からの緩電位（光受容細胞の応答）を記録することに成功した [25]。松果体における光受容についての研究は、メラトニン合成の光による制御機構や生物時計のリセット機構解明へとつながっていくことになる。

4. メラトニンの代謝系

カテコールアミンの酵素による代謝系の解明により1970年にノーベル生理学医学賞を受賞したJulius

Axelrodにより、メラトニンの代謝系の大部分は解明された [26-28]。Lernerがメラトニンの構造を報告する前年、Axelrodはカテコール-*O*-メチルトランスフェラーゼ (EC2.1.1.6) を発見したが、この酵素はカテコールの水酸基をメトキシ化する酵素であり、メラトニンも同様にメトキシ化されて生合成されると予測し、ヒドロキシインドール-*O*-メチルトランスフェラーゼ (HIOMT、EC 2.1.1.4) を発見した [29]。HIOMTはアセチルセロトニン-*O*-メチルトランスフェラーゼとも呼ばれ、*S*-アデノシルメチオニンをメチル基供与体として*N*-アセチルセロトニンなどヒドロキシインドール化合物の-*O*-メチル化反応を触媒する酵素であり、メラトニン生合成の最終段階である*N*-アセチルセロトニンのメラトニンへの転換を司る。

Axelrodらは、1961年にセロトニンを*N*-アセチルセロトニンに転換するセロトニン*N*-アセチルトランスフェラーゼ（現在はアリルアルキルアミン*N*-アセチルトランスフェラーゼと呼ばれることが多い；AANAT、EC 2.3.1.87）も発見した [30]。AANATはアセチルCoAをアセチル基供与体として、セロトニン、トリプタミンなどのアリルアルキルアミンの*N*-アセチル化を触媒する。アリルアミンを主な基質とするアリルアミン*N*-アセチルトランスフェラーゼ (EC 2.3.1.5) とは別の酵素である。

現在では、メラトニンはトリプトファンから4段階の酵素反応でセロトニンを経て作られることが明らかになっている。トリプトファンはトリプトファンヒドロキシラーゼ (TPH、EC 1.14.16.4) により5-ヒドロキシトリプトファンに転換され、さらに芳香族L-アミノ酸デカルボキシラーゼ (AADC、EC 4.1.1.28) によりセロトニンに転換される。セロトニンはAANATにより*N*-アセチルセロトニンに転換され、HIOMTにより最終的にメラトニンが生成される。松果体から血中に分泌されたメラトニンは肝臓で水酸化されて6-ヒドロキシメラトニンとなり、硫酸抱合体（6-スルファトキシメラトニン）やグルクロン酸抱合体として尿中へ排泄される経路がメラトニン不活性化機構の主な経路である [28]。

5. メラトニンの日周リズム

松果体におけるインドール代謝に日周リズムが存在することは、Quayにより1963年に見いだされ [31]、網膜で受容された光により松果体におけるメラトニン合成が抑制されること、ならびにその交感神経系を介した制御がAxelrod 研究室のWurtman

やSnyderらにより報告された [32-34]。Snyderら [34] はラット松果体のセロトニン含量が明暗条件下では明期に高く暗期に低い日周リズムを示し、恒暗条件下でも存続するが、恒明条件下では消失することを示した。さらに、眼球を除去すると恒暗、恒明条件下ともにリズムが見られたが、上頸神経節の除去によりこのリズムは消失することも示した。

哺乳類松果体のメラトニン合成を制御する光情報は、網膜から網膜-視床下部神経路、視交叉上核、室傍核、上頸神経節を介して松果体に入力することはMooreらにより明らかにされた [35]。また、1970年にKleinらはメラトニン合成の律速酵素がAANATであることを発見した [36]。また暗期に交感神経から放出されるノルアドレナリンがcAMPを介してメラトニン合成を促進し、メラトニン合成の日周リズムが形成されることやAANAT活性の光による抑制が出口武夫、Kleinらの研究により明らかになった [37-42]。メラトニンの日周リズムが恒暗条件下でも自由継続し、サーカディアンリズムを示すことが報告されたのは1971年である [43]。また、出口、Illnerováは松果体のAANATリズムの生後発達を報告した [44, 45]。

1978年から1981年にかけてニワトリ松果体の研究に大きな進展が見られた。出口、Binkley、Menakerなど複数の研究室から器官培養されたニワトリ松果体のAANAT活性が恒暗条件下でサーカディアンリズムを示すことが報告された [46-50]。さらに出口は、ニワトリ松果体の細胞培養系でも同様のサーカディアンリズムが見られることを示した [51]。すなわち、ニワトリ松果体は中枢神経系から切り離された状態でも光受容能と生物時計機能を維持してメラトニン合成を制御することが明らかになり、鳥類の松果体に自律的な光感受性生物時計が存在することが確立された。同じ頃Menakerらはスズメの松果体交換移植実験を行い、松果体が行動リズムのペースメーカーであることを示した [52]。また、出口は光による松果体のAANAT活性抑制の作用スペクトルを作成し、ロドプシン様の光受容体がメラトニン合成の制御に関わっていることを予測した [53]。この研究は後に岡野俊行らやTakahashiらによる松果体の光受容体ピノプシンの発見へとつながる [54, 55]。

Takahashiらはニワトリ松果体の灌流培養を行って単一の松果体からメラトニンを長期連続測定する技術確立し [56]、Menakerらはトカゲの松果体の灌流培養を行ってメラトニン分泌リズムを指標に

生物時計の温度保償性を示した [57]。さらに、ZatzらとTakahashiらはそれぞれニワトリ松果体の細胞培養系を確立し、メラトニン分泌リズムの解析によりニワトリ松果体の生物時計機能の詳細な解析を進めた [58-60]。

6. メラトニン測定系

メラトニン発見時から使用されていたメラトニンのバイオアッセイの感度は十分高いものであったが、ステージの揃った元気なオタマジャクシをコンスタントに入手することは難しかった。メラトニンに対する抗体作成とラジオイムノアッセイ (RIA) による測定系は、1974年から1977年にかけてBrown、Arendt、Rollag、Kennawayなどが相次いで報告した [61-66]。また、この時代からガスクロマトグラフィー-質量分析法 (GC-MS) を用いたメラトニン測定がKennawayやLewyにより行われていたことは特筆すべきことであろう [66-67]。今日において、メラトニン測定の第一義的方法はRIAであるが、GC-MS、高速液体クロマトグラフィー、ラジオレセプターアッセイを用いた測定も行われている。RIAによるメラトニンの測定に際しては、抗体の特性、標識ホルモン (^3H -メラトニン、2-[^{125}I]ヨードメラトニン)、試料中の阻害物質 (主に脂質) の多寡により抽出操作が必要になる場合があるなど、適したRIA系が異なるので注意が必要である。筆者の経験では、最も感度が良いのはKennawayのG280抗体を用いたRIA (IC_{50} =約7 pg/ml) で、Bühlmann Laboratoriesから市販されている。Arendtが作成しStockground Ltd.から市販されている抗体を用いたRIAがこれに次ぐ (IC_{50} =約60 pg/ml) が、狂牛病の関係でイギリスから日本へ抗血清を輸入するのは現時点では不可能である。筆者は通常、若林克己が作成した抗体 (HAC-AA92-03RBP86) を用いたRIA (IC_{50} =約250 pg/ml) によりメラトニン測定を行っている [68, 69] が、この抗体は群馬大学生体調節研究所から現在も配布されている。

唾液中のメラトニンや尿中に排泄された6-スルファトキシメラトニンを測定すれば非侵襲的に日周リズムの測定を行うことができる。

7. 体内におけるメラトニンの分布

メラトニンは発見当初は松果体においてのみ産生されるホルモンであると考えられていた。血中のメラトニンの日周リズムは、多くの種で松果体除去に

より消失すると報告されているので、血中メラトニンの日周リズムは松果体由来のメラトニンにより作り出されていると考えられる [28]。

Quayは1965年に網膜にHIOMT活性があることを報告し [70]、Cardinaliは精力的に網膜のHIOMTについて研究を進めたが [71, 72]、メラトニンが網膜で合成されることが確信されたのは、Gern、Ralphらがニジマス網膜におけるメラトニン合成を証明し [73]、松果体を持たない生物（アルマジロ）においてもメラトニンが存在することを報告した1979-1980年頃であった [74]。その後、魚類から哺乳類に至る多くの種において網膜におけるメラトニンの日周リズム、サーカディアンリズムの存在が報告された [4, 75-80]。網膜のメラトニンの研究においては、Besharse、Iuvone、Wiechmann、Pangなどが重要な役割を果たした。

CahillはBesharse研究室でアフリカツメガエル網膜の光受容細胞層の灌流培養を行い、光受容細胞がメラトニン合成部位と生物時計の局在部位であることを1993年に示した [81]。この結果は、AANAT遺伝子がクローニングされた後、*in situ*ハイブリダイゼーションにより証明されることとなった。

BubenikはBrownとともに1974年からメラトニンの免疫組織化学による局在同定を行っていたが、彼らはハーダー腺や消化管にもメラトニンが存在することを見いだした [82-84]。脳脊髄液、尿、唾液、眼房水、卵胞液、乳など生体内のあらゆる組織にメラトニンは分布しているが [85-90]、これはメラトニンが脂溶性の物質であり、細胞膜を自由に通過して拡散していくためであると思われる。

8. 脊椎動物以外の生物におけるメラトニンの存在

脊椎動物においてのみメラトニンは存在するとはじめは考えられていたが、1984年に昆虫、1987年にプラナリア、1991年に渦鞭毛藻においてもメラトニンが存在することも報告された [91-96]。1995年には細菌*Rhodospirillum rubrum*や多くの植物においてもメラトニンが存在することが報告された [97-101]。筆者らが1995年に報告した [98] 植物におけるメラトニンの存在を証明する実験を進めていた頃、植物由来のメラトニンがヒトの血中メラトニン濃度を上昇させるかどうか調べるため、我々の試料中で最も高濃度のメラトニンを含んでいたカイワレダイコンをひとり1kg食べるという実験を試みたが、辛み成分のため生のカイワレダイコンを大量に摂取することができなかつた苦い記憶が今も残っ

ている。

9. メラトニンの生理作用

古典的な内分泌学では、ホルモンを産生する器官の除去を行い、その影響を調べた後、産生されるホルモンの投与を行い、ホルモンの生理作用を検討することが広く行われてきた。メラトニンもその例外ではなく、松果体除去とメラトニンの投与がメラトニンの生理作用解明のために行われた。メラトニンは注射、経口投与、カプセルの埋め込み、インフュージョンなどにより投与することができる [2, 102-106]。これまでに報告されたメラトニンの生理作用を以下にまとめる。

(1) 体色変化

メラトニンは魚類や両生類の皮膚に存在する黒色素胞においてメラノソームの凝集反応を惹起し、体色を明化させる。メラトニン発見のきっかけとなったメラトニンの生理作用である [11, 107-110]。色素胞は、さまざまなホルモンや神経伝達物質の調節を受けて体色を変化させる興味深い細胞で、近年はGタンパク質共役型受容体のリガンドスクリーニングの系として再評価されている [111, 112]。また、黒色素胞が直接光を感じることは古くから知られており [113, 114]、1998年に黒色素胞からメラノプシンがクローニングされた [115]。

(2) 光周情報の伝達

松果体は暗期の長さをメラトニン分泌シグナルへと変換して伝達する。Russel Reiterは1960年代より松果体の研究を開始した研究者で、*Journal of Pineal Research*を創刊し編集長を務めるとともに、これまでに1000報を超える論文を発表した [116, 117]。Reiterらは長日繁殖型の季節繁殖動物であるハムスターを短日条件で飼育すると生殖腺が退縮するが、松果体除去を行うと生殖腺が退縮はみられなくなることを1965年に報告している [118, 119]。この頃ReiterはUniversity of Rochesterにいたが、Reiter、Klein、Brownが1970年代後半にこの大学に同時に在籍していたことはあまり知られていない。「ある日の午後、松果体を研究対象に見定めたKleinが『Is this the pineal?』と言って摘出したばかりの松果体を手に興奮した状態で研究室に駆け込んで来た」とReiterが懐かしそうに話してくれた。以来、機のある毎に研究の出発点など、歴史的側面の話を様々な研究者から伺うように筆者は務め

ている。

Menakerはコウモリのサーカディアンリズム研究からスタートしたが、ハムスターの生殖腺発達の臨界日長や、スズメを対象にBünning仮説の検証を1967年に行って報告するなど、生物時計と季節繁殖の関連にいち早く目をつけていた [120]。Turek、Menakerらは1975年にハムスターを用いてメラトニンの生殖腺に対する効果が光条件と投与量により異なることを見いだしている（メラトニンはカプセルの埋め込みにより投与） [121]。

Lincolnはシカの研究から、Pévetは松果体の形態学から、Goldmanは生殖腺刺激ホルモンの研究から、季節繁殖の研究に入り、重要な貢献をした [105, 106, 122-124]。

メラトニンの分泌亢進時間帯は明暗条件下では暗期の長さに影響を受け、短日条件下で長く、長日条件下で短くなることがわかった。この日長情報の伝達の機構としては、メラトニン亢進時間帯の長さが重要であるとする「duration hypothesis」、メラトニン分泌亢進時間帯の変化により生体のメラトニン感受性のある時間帯が変化するという「internal coincidence hypothesis」、メラトニン分泌量の多寡が重要だとする「amplitude hypothesis」などが提唱されているが、決着はまだついていない [117]。

近年、吉村崇らによりウズラの光周性発現に下垂体隆起葉の甲状腺刺激ホルモン（TSH）と脳室上衣細胞に発現する甲状腺ホルモンの活性化酵素Dio2が重要であることが明らかにされた [125, 126]。哺乳類（マウス）の光周性においてもこの系は保存されており、メラトニンが下垂体隆起葉のTSH発現を制御し、季節繁殖が制御されていることが2008年に報告された [127]。

(3)生物時計の同調

メラトニンは視交叉上核の生物時計を同調する作用を持つ [128-130]。Turek、Menakerらはスズメの自発行動のフリーランニングリズムがメラトニンカプセルの埋め込みにより周期の変化やリズムの消失を起こすことを1976年に報告した [131]。1983年にRedmanらはメラトニンを毎日決まった時刻に投与するとラットの自発行動のフリーランニングリズムを同調させることを見いだした [132]。メラトニンの位相反応曲線はトカゲの行動リズムに対するUnderwoodの1986年の論文が最初のものである [133]。ラットに対するメラトニンの位相反応曲線はArmstrongが1989年に [129]、ヒトに対するメ

ラトニンの位相反応曲線はLewyが1992年に報告した [134]。

(4)網膜における作用

網膜において産生されるメラトニンは網膜内で作用していると考えられる [79, 80, 135, 136]。1976年にAliらは色素上皮細胞のメラノソームがメラトニン投与により凝集することをコイとニジマスで確認した [137]。1983年にDubocovichはウサギ網膜からのドーパミン放出をメラトニンが抑制することを見いだし [138]、Besharseらはメラトニンが桿体外節の脱落を促進することを報告した [139]。メラトニンは、視感度、眼圧、網膜運動反応、ドーパミンのリズムなど多くの視覚機能調節に関与していることが示されている [79, 80, 135, 136]。

(5)睡眠誘導作用

メラトニンがヒトの睡眠を誘導することは古くから知られていた [140]。ヒトに対するメラトニンの投与が用量依存的に血中メラトニン濃度を上昇させ、これに伴って睡眠潜時が減少することが1994年にWurtmanの研究室から報告された [141]。メラトニンを利用した多くの臨床研究が行われてきた [142-145]。

(6)その他

松果体や網膜のみならず、免疫系の細胞においてもメラトニンは産生され、サイトカインの放出などの免疫機能の調節に関与する [146, 147]。また、メラトニンはフリーラジカルの消去剤として抗酸化作用を持つことが1993年にReiterらによって報告された [148]。以来活発に研究が進められている。これはメラトニン分子自身の反応性に基づくものであり、メラトニン受容体を介した作用ではない。

10. メラトニンフィーバー

メラトニンをめぐる社会現象として特筆すべきことは、1994年から1995年にかけて起こったメラトニンフィーバーであろう。上述のようにメラトニンはヒトの睡眠誘導作用を持つ [141] ことから、夢の睡眠薬として不眠症に悩む多くのアメリカ人の注目を集めた。1995年にはメラトニンに関する2冊の本「The Melatonin Miracle」 [149]、「Melatonin」 [150] が上梓され、Newsweekにも取り上げられ、スーパーマーケットには所狭しとメラトニンが陳列された。「The Melatonin Miracle」の表紙には

「Nature's age-reversing, disease-fighting, sex-enhancing hormone」という文字が踊っている。

これらの著書に書かれたメラトニンの効果のすべてに科学的根拠がないものではないが、この社会現象に対するコメント記事が幾多の雑誌に掲載された。これらのタイトルは、「Melatonin madness」、「Melatonin hype hard to swallow」、「Melatonin's multifarious marvels: miracle or myth?」、「Melatonin potentially useful but safety, efficacy remain uncertain」などであった [151-155]。一部の科学者と、「不老長寿、抗ガン作用、若返り、免疫強化」など都合の良い部分のみを喧伝するマスコミにより作り上げられた「メラトニンフィーバー」は、筆者にとって科学とマスコミの関係をじっくり考える契機となった。

11. メラトニン受容体

メラトニンはメラトニン受容体を介して生理作用を発揮する。古くからメラトニン受容体の探索が進められ、1978年に細胞質にメラトニン受容体が存在すると報告された [156] が、決定的なものではなかった。Vakkuri [157] により1984年に開発された $2\text{-}^{125}\text{I}$ ヨードメラトニン (^{125}I -MEL) がメラトニン受容体特異的高親和性のラジオリガンドであることが判明してからメラトニン受容体研究は大きく進展した。

Dubocovichは ^{125}I -MELを用いたラジオリセプターアッセイによりメラトニン受容体の性状を解析し、ニワトリ網膜のメラトニン受容体の性状を1987年に報告した [158]。 ^{125}I -MELの使用Dubocovichに勧めたのはTakahashiであった (Takahashi談)。

^{125}I -MELを用いたラジオリセプターアッセイとin vitroオートラジオグラフィーを用いた薬理的解析により高親和性メラトニン受容体 (K_D がpMオーダー) の分布と性状が明らかになった [159]。哺乳類のメラトニン受容体には高親和性の ML_1 サブタイプ (脳や網膜に分布；後のMT1、MT2、MEL1cメラトニン受容体) と低親和性の ML_2 サブタイプ (ハムスター脳などに分布；後のMT3メラトニン結合部位) の少なくとも二種類のサブタイプが存在することが報告された。後者は受容体ではなくキノレンダクターゼ2への結合であることが2000年に判明した [160]。

下垂体隆起葉や視交叉上核における高密度のメラトニン受容体の存在のみならず、多くの末梢器官にもメラトニン受容体が存在することが明らかになっ

た [161-166]。重要な役割を果たした研究者は、Dubocovichの他に、Niles、Reppert、Vaněček、Morgan、Pangなどである。

12. 分子生物学の時代～メラトニン受容体～

出口の最後の弟子である海老沢尚はReppertの研究室に留学していた際にexpression cloning法によりアフリカツメガエル黒色素胞の細胞株からメラトニン受容体をクローニングし1994年に発表した [167]。この論文にはメラトニンの発見者であるAaron Lernerの次男Michael Lernerが共著者となっている。この研究成果は1994年1月にCaliforniaで開催されたGordon Conferences on Pineal Cell Biologyではじめてポスター発表として公開された。

S抗原 (アレスチン) の研究者で、網膜の光受容細胞における遺伝子の特異的発現を制御するプロモータ塩基配列PCE1を発見した篠原利道 [168] に筆者は1992年にCopenhagenで行われたEuropean Pineal Societyで会った。そのとき「どのようにしたらメラトニン受容体はクローニングできるか？」と質問したら、即座に「expression cloning」との答えが返って来た。まさにその通りの方法でメラトニン受容体がクローニングされたのであった。メラトニン研究の分子生物学の時代はついに幕を開けた。

その後、さまざまな生物からメラトニン受容体のクローニングがなされ [169-171]、ゲノムプロジェクトの進展と合わせて、現時点では高親和性のメラトニン受容体は、MT1 (MEL1a)、MT2 (MEL1b)、MEL1c (哺乳類には存在しない) の3サブタイプに分類されている [159]。また、哺乳類からはGPR50というメラトニン受容体に構造は似ているがメラトニンに対する結合能がないメラトニン受容体様受容体の存在がReppertらにより報告された [172]。GPCRは二量体化して機能することが知られているが、GPR50がMT1メラトニン受容体とヘテロ二量体を形成するとMT1の機能が抑制されると報告されている [173]。また、GPR50は哺乳類に存在しないMEL1cサブタイプのオースログなのではないかという報告もある [174]。

メラトニン受容体のノックアウトマウスがReppert、Weaverらにより作成され、メラトニン受容体の機能解析が進められた。メラトニンによる視交叉上核神経活動の抑制はMT1サブタイプが、PACAPによるCREBのリン酸化はMT2サブタイプが担っていることが明らかになった [175、

176]。また、安尾しのぶ、Korfらはメラトニン受容体ノックアウトマウスを使用して光周情報の伝達にはMT1サブタイプが関与していることを示した [177]。

クローニングされたメラトニン受容体の細胞発現系を活用してメラトニン受容体のアゴニストおよびアンタゴニストの開発が活発に行われてきた [178]。しかしながら、メラトニン受容体サブタイプに対して特異的に作用するリガンドはまだない。

フランスのServier社はMT1/MT2アゴニストであるagomelatine (S20098; N-[2-(7-methoxynaphthalen-1-yl) ethyl]acetamide) を開発した [179] が、この薬剤はセロトニン受容体のサブタイプ5HT_{2C}のアンタゴニストでもあり、新しいタイプの抗うつ剤Valdoxan / Thymanax / Melitorとして2009年にEUで承認された。また、武田薬品工業はラメルテオン (TAK-375; N-[2-[(8S)-1,6,7,8-tetrahydro-2H-indeno[5,4-b]-furan-8-yl]ethyl] propanamide) と名付けたメラトニン受容体アゴニストを開発し [180]、2010年7月に「ロゼレム」として日本国内で販売を開始した。効能・効果は「不眠症における入眠困難の改善」となっている。

13. 分子生物学の時代～ AANAT ～

Menakerの研究室に留学した海老原史樹文は、多くの純系マウスの松果体がAANATとHIOMT両者の活性を持たず、メラトニン合成能を持たないことを見だし1986年に報告した [181]。その後、AANATがマウス11番染色体上に位置することを1994年に報告した [182]。一方、出口らは1988年にニワトリ肝臓に発現するアリルアミンN-アセチルトランスフェラーゼをクローニングし [183, 184]、これをプローブとしてニワトリ松果体のAANATをスクリーニングすることを試みた。その結果、ニワトリ松果体から2種類のアリルアミンN-アセチルトランスフェラーゼがクローニングされたが、メラトニン合成に関わるAANATはクローニングされなかったと1989年に報告した [185]。また、1993年にはStehle、Sassone-CorsiらがCREMのアイソフォームICERが松果体におけるcAMPシグナリングの抑制に関わることを報告した [186]。

Kleinの研究室では、おそらくはReppertの研究室からメラトニン受容体のexpression cloning成功の報を受けてヒツジAANATのexpression cloningをCoonが行い、1995年に論文が発表された [187]。ヒツジのAANAT mRNAは昼夜で約2倍の変化し

か示さなかった。この論文が出版されて13日後、Snyderの研究室のBorjiginらはサブトラクション法によりラット松果体からAANAT遺伝子をクローニングし、AANAT mRNA量が昼夜で200倍以上変動することを見いだした [188]。

AANATはGCN5 N-アセチルトランスフェラーゼスーパーファミリーの一員であり、アリルアミンN-アセチルトランスフェラーゼとは構造が大きく異なることが判明した。この後、様々な生物のAANATがクローニングされた。筆者らはニジマスのAANATのcDNAクローニングを試み、ニジマス網膜からAANATをクローニングしたが、なぜか松果体におけるAANATの発現が確認できなかった [189]。古くから魚類の松果体を研究しているFalcón [190] とCoon、Kleinの共同研究により魚類には網膜に発現するAANAT1と松果体に発現するAANAT2が存在することが報告された [191]。キンギョの松果体と網膜のメラトニンの光抑制の閾値が異なることを筆者は明らかにしていたが [2]、これが松果体と網膜に異なるAANATが発現しているためである、という単純なことに気づけなかったことを後悔した。

発現解析の結果、ラット松果体のAANAT発現はcAMPシグナリングにより制御されていることが判明した [192]。一方、ニワトリなどメラトニン合成が松果体自身の生物時計に支配されている種の松果体においては、AANATの遺伝子発現が松果体自身の生物時計により制御されていることが判明した [193, 194]。また、網膜におけるAANATの主な発現部位は光受容細胞であることが*in situ*ハイブリダイゼーションにより同定された。また、Borjiginから提供されたラットAANAT cDNAを用いて吉村らは蛍光*in situ*ハイブリダイゼーションを行い、ラットとマウスの染色体上にAANAT遺伝子をマッピングした (ラット10q32.3、マウス11E2) [195]。

AANATがプロテアソームにより分解されることは1998年に報告された [196]。1999年にはAANATの結晶構造が報告された (PDB ID: 1b6b) [197, 198]。AANATには種間で保存されたcAMP依存性プロテインキナーゼでリン酸化されるスレオニン残基が存在するが、このスレオニン残基のリン酸化がAANATの14-3-3タンパク質との結合を促進し、プロテアソームによる分解を防いでいることもわかった [199, 200]。

AANATの触媒機構についてはKleinと共同研究を進めたColeらのグループにより精力的に進められ

[201]、2007年にはコンピュータでのモデリングを活用してAANAT阻害剤が開発された [202]。メラトニン受容体のアゴニスト、アンタゴニスト開発とともに、メラトニンの関与する生理・行動の分子機構解明・制御や病態の治療に貢献するAANAT阻害剤・活性化剤の開発が期待される。

14. おわりに

本稿では、メラトニンの発見から今日の分子生物学的展開に至るメラトニン研究の歴史について、筆者の知る限りまとめた。誌面の都合もあり、重要な知見が漏れているところも多数あると思うが、筆者の興味と体験に沿った部分も大きいのでご容赦いただきたい。本稿がメラトニンというホルモンに対するさらなる興味を引き起こし、新たな研究の展開を生むきっかけとなることを期待する。

謝辞

松果体研究の偉大なる先達であり、筆者を生物時計とメラトニンの研究に導いて下さった恩師、羽生功先生（東京大学農学部名誉教授、平成19年10月3日ご逝去）に本稿を捧げます。

引用文献

- 1) Iigo M, Kezuka H, Suzuki, T, Tabata M, Aida K: *Neurosci Biobehav Rev* 18:563-569 (1994)
- 2) 飯郷雅之：魚類のメラトニンリズムに関する研究. 学位論文, 東京大学, pp.1-171 (1996)
- 3) 飯郷雅之：日本水産学会誌 65:617-620 (1999)
- 4) Iigo M, Furukawa K, Nishi G, Tabata M, Aida K: *Brain Behav Evol* 69:114-121 (2007)
- 5) McCord CP, Allen FP: *J Exp Zool* 23:207-224 (1917)
- 6) Lerner AB: *Pigment Cell Res* 12:131-144 (1999)
- 7) Barchas JD: *J Invest Dermatol* 127:2085-2089 (2007)
- 8) Lerner AB, Lee TH: *J Am Chem Soc* 77:1066-1067 (1955)
- 9) Harris JI, Lerner AB: *Nature* 179:1346-1347 (1957)
- 10) Lee TH, Lerner AB, Buettner-Janusch V: *J Am Chem Soc* 81:6084 (1959)
- 11) Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W: *J Am Chem Soc* 80:2587 (1958)
- 12) Lerner AB, Case JD, Heinzelman, RV: *J Am Chem Soc* 81:6084-6085 (1959)
- 13) Iigo M, Abe T, Kambayashi S, Oikawa K, Masuda T, Mizusawa K, Kitamura S, Azuma T, Takagi Y, Aida K, Yanagisawa T: *Gen Comp Endocrinol* 154:91-97 (2007)
- 14) Iigo M, Fujimoto Y, Gunji-Suzuki M, Yokosuka M, Hara M, Ohtani-Kaneko R, Tabata M, Aida K, Hirata K: *J Neuroendocrinol* 16:45-51 (2004)
- 15) Kappers JA: *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 52:163-215 (1960)
- 16) Kappers JA: *Prog Brain Res* 10:87-153 (1965)
- 17) Collin JP, Kappers JA: *Brain Res* 11:65-106 (1968)
- 18) Collin JP, Voisin P, Falcón J, Faure JP, Brisson P, Defaye JR: *Arch Histol Cytol* 52 Suppl:441-449 (1989)
- 19) Oksche A: *Prog Brain Res* 10:3-29 (1965)
- 20) Wake K, Ueck M, Oksche A: *Cell Tissue Res* 154:423-442 (1974)
- 21) Korf HW, Zimmerman NH, Oksche A: *Cell Tissue Res* 222:243-260 (1982)
- 22) 飯郷雅之：松果体、「時間生物学事典」, 石田直理雄, 本間研一編, pp. 148-151, 朝倉書店 (2008)
- 23) Dodt E: *Experientia* 19:642-643 (1963)
- 24) Dodt E, Morita Y: *Vision Res* 4:413-421 (1964)
- 25) Hanyu I, Niwa H, Tamura T: *Vision Res* 9:621-623 (1969)
- 26) Axelrod J: Nobel Lecture (1970)
- 27) Axelrod J: *J Biol Chem* 278:1-13 (2003)
- 28) 飯郷雅之：メラトニン, 「ホルモンハンドブック新訂eBook版」, 日本比較内分沁学会編, 南江堂 (2008)
- 29) Axelrod J, Weissbach H: *Science* 131:1312 (1960)
- 30) Weissbach H, Redfield BG, Axelrod J: *Biochim Biophys Acta* 54:190-192 (1961)
- 31) Quay WB: *Gen Comp Endocrinol* 14:473-479 (1963)
- 32) Wurtman RJ, Axelrod J, Fischer JE: *Science* 143:1328-1330 (1963)
- 33) Snyder SH, Axelrod J, Fischer JE, Wurtman RJ: *Nature* 203:981-982 (1964)
- 34) Snyder SH, Zweig M, Axelrod J, Fischer JE:

- Proc Natl Acad Sci USA 53:301-305 (1965)
- 35) Moore RY: Behav Brain Res 73:125-130 (1996)
 - 36) Klein DC, Weller JL: Science 169:1093-1095 (1970)
 - 37) Klein DC, Weller JL, Moore RY: Proc Natl Acad Sci USA 68:3107-3110 (1971)
 - 38) Klein DC, Weller JL: Science 177:532-523 (1972)
 - 39) Deguchi T, Axelrod J: Anal Biochem 50:174-179 (1972)
 - 40) Deguchi T, Axelrod J: Proc Natl Acad Sci USA 69:2208-2211 (1972)
 - 41) Deguchi T, Axelrod J: Proc Natl Acad Sci USA 69:2547-2550 (1972)
 - 42) Deguchi T, Axelrod J: Proc Natl Acad Sci USA 70:2411-2414 (1973)
 - 43) Ralph CL, Mull D, Lynch HJ, Hedlund L: Endocrinology 89:1361-1366 (1971)
 - 44) Deguchi T: Proc Natl Acad Sci USA 72:2814-2818 (1975)
 - 45) Illnerová H, Skopová J: J Neurochem 26:1051-1052 (1976)
 - 46) Binkley SA, Rieberman JB, Reilly KB: Science 202:1198-1120 (1978)
 - 47) Kasal CA, Menaker M, Perez-Polo JR: Science 203:656-658 (1979)
 - 48) Wainwright SD: Nature 285:478-480 (1980)
 - 49) Wainwright SD, Wainwright LK: Can J Biochem 57:700-709 (1979)
 - 50) Deguchi T: Science 203:1245-1247 (1979)
 - 51) Deguchi T: Nature 282:94-96 (1979)
 - 52) Zimmerman NH, Menaker M: Proc Natl Acad Sci USA 76:999-1003 (1979)
 - 53) Deguchi T: Nature 290:706-707 (1981)
 - 54) Okano T, Yoshizawa T, Fukada Y: Nature 372:94-97 (1994)
 - 55) Max M, McKinnon PJ, Seidenman KJ, Barrett RK, Applebury ML, Takahashi JS, Margolskee RF: Science 267:1502-1506 (1995)
 - 56) Takahashi JS, Hamm H, Menaker M: Proc Natl Acad Sci USA 77:2319-2322 (1980)
 - 57) Menaker M, Wisner S: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:6119-6121 (1983)
 - 58) Takahashi JS, Zatz M: Science 217:1104-1111 (1982)
 - 59) Takahashi JS, Murakami N, Nikaido SS, Pratt BL, Robertson LM: Recent Prog Horm Res 45:279-352 (1989)
 - 60) Natesan A, Geetha L, Zatz M: Cell Tissue Res 309:35-45 (2002)
 - 61) Grota LJ, Brown GM: Can J Biochem 52:196-202 (1974)
 - 62) Arendt J, Paunier L, Sizonenko PC: J Clin Endocrinol Metab 40:347-350 (1975)
 - 63) Levine L, Riceberg LJ: Res Commun Chem Pathol Pharmacol 10:693-702 (1975)
 - 64) Rollag MD, Niswender GD: Endocrinology 98:482-489 (1976)
 - 65) Wurzbarger RJ, Kawashima K, Miller RL, Spector S: Life Sci 18:867-877 (1976)
 - 66) Kennaway DJ, Frith RG, Phillipou G, Matthews CD, Seamark RF: Endocrinology 101:119-127 (1977)
 - 67) Lewy AJ, Markey SP: Science 201:741-743 (1978)
 - 68) Iigo M, Kitamura S, Ikuta K, Sánchez-Vázquez FJ, Ohtani-Kaneko R, Hara M, Hirata K, Tabata M, Aida K: Biol Rhythm Res 29:86-97 (1998)
 - 69) Iigo M, Tabata M, Aida K: Zoolog Sci 14:243-248 (1997)
 - 70) Quay WB: Life Sci 4:983-991 (1965)
 - 71) Cardinali DP, Rosner JM: Endocrinology 89:301-303 (1971)
 - 72) Cardinali DP, Wurtman RJ: Endocrinology 91:247-252 (1972)
 - 73) Gern WA, Ralph CL: Science 204:183-184 (1979)
 - 74) Roth JJ, Gern WA, Roth EC, Ralph CL, Jacobson E: Science 210:548-550 (1980)
 - 75) Binkley S, Hryshchshyn M, Reilly K: Nature 281:479-481 (1979)
 - 76) Hamm HE, Menaker M: Proc Natl Acad Sci USA 77:4998-5002 (1980)
 - 77) Besharse JC, Iuvone PM: Nature 305:133-135 (1983)
 - 78) Wiechmann AF, Bok D, Horwitz J: Invest Ophthalmol Vis Sci 26:253-265 (1985)
 - 79) Wiechmann AF: Exp Eye Res 42:507-527 (1986)
 - 80) Pang SF, Allen AE: Pineal Res Rev 4:55-95

- (1986)
- 81) Cahill GM, Besharse JC: *Neuron* 10:573-577 (1993)
- 82) Bubenik GA, Brown GM, Grota LJ: *J Histochem Cytochem* 24:1173-1177 (1976) I
- 83) Bubenik GA, Brown GM, Grota LJ: *Experientia* 33:662-663 (1977)
- 84) Bubenik GA: *J Physiol Pharmacol* 59 Suppl2:33-51 (2008)
- 85) Smith I, Mullen PE, Silman RE, Snedden W, Wilson BW: *Nature* 260:716-718 (1976)
- 86) Lynch HJ, Wurtman RJ, Moskowitz MA, Archer MC, Ho MH: *Science* 187:169-171 (1975)
- 87) Vakkuri O: *Acta Physiol Scand* 124:409-412 (1985)
- 88) Brzezinski A, Seibel MM, Lynch HJ, Deng MH, Wurtman RJ: *J Clin Endocrinol Metab* 64:865-867 (1987)
- 89) Yu HS, Yee RW, Howes KA, Reiter RJ: *Neurosci Lett* 116:309-314 (1990)
- 90) Illnerová H, Buresová M, Presl J: *J Clin Endocrinol Metab* 77:838-841 (1993)
- 91) Vivien-Roels B, Pévet P, Beck O, Fevre-Montange M: *Neurosci Lett* 49:153-157 (1984)
- 92) Vivien-Roëls B, Pévet P: *Experientia* 49:642-647 (1993)
- 93) Morita M, Hall F, Best JB, Gern W: *J Exp Zool* 241:383-388 (1987)
- 94) Balzer I, Hardeland: *Science* 253:795-797 (1991)
- 95) Hardeland R: *Experientia* 49:614-622 (1993)
- 96) Tilden AR, Becker MA, Amma LL, Arciniega J, McGaw AK: *J Pineal Res* 22:102-106 (1997)
- 97) Manchester LC, Poeggeler B, Alvares FL, Ogden GB, Reiter RJ: *Cell Mol Biol Res* 41:391-395 (1995)
- 98) Hattori A, Migitaka H, Iigo M, Itoh M, Yamamoto K, Ohtani-Kaneko R, Hara M, Suzuki T, Reiter RJ: *Biochem Mol Biol Int* 35:627-634 (1995)
- 99) Dubbels R, Reiter RJ, Klenke E, Goebel A, Schnakenberg E, Ehlers C, Schiwara HW, Schloot W: *J Pineal Res* 18:28-31 (1995)
- 100) Murch SJ, Simmons CB, Saxena PK: *Lancet* 350:1598-1599 (1997)
- 101) Kolár J, Machácková I: *J Pineal Res* 39:333-341 (2005)
- 102) Gaston S, Menaker M: *Science* 158:925-928 (1967)
- 103) Kennaway DJ, Gilmore TA, Seamark RF: *Endocrinology* 110:2186-2188 (1982)
- 104) Kennaway DJ, Gilmore TA, Seamark RF: *Endocrinology* 110:1766-1772 (1982)
- 105) Goldman BD: *J Biol Rhythms* 16:283-301 (2001)
- 106) Pévet P: *J Neuroendocrinol* 15:422-426 (2003)
- 107) Gern WA, Gorell TA, Owens DW: *Adv Biosci* 29:223-233 (1980)
- 108) Fujii R, Oshima N: *Zoolog Sci* 3:13-47 (1986)
- 109) Fujii R: *Pigment Cell Res* 13:300-319 (2000)
- 110) Sugden D, Davidson K, Hough KA, Teh MT: *Pigment Cell Res* 17:454-460 (2004)
- 111) Lerner MR: *Trends Neurosci* 17:142-146 (1994)
- 112) Salim S, Ali SA: *Cell Mol Biol Lett* 16:162-200 (2011)
- 113) Bagnara JT, Obika M: *Experientia* 23:155-157 (1967)
- 114) Daniolos A, Lerner AB, Lerner MR: *Pigment Cell Res* 3:38-43 (1990)
- 115) Provencio I, Jiang G, De Grip WJ, Hayes WP, Rollag MD: *Proc Natl Acad Sci USA* 95:340-345 (1998)
- 116) Reiter RJ: *Endocr Rev* 1:109-131 (1980)
- 117) Reiter RJ: *Endocr Rev* 12:151-180 (1991)
- 118) Hoffman RA, Reiter RJ: *Nature* 207:658-659 (1965)
- 119) Hoffman RA, Reiter RJ: *Science* 148:1609-1611 (1965)
- 120) Menaker M, Eskin A: *Science* 157:1182-1185 (1967)
- 121) Turek FW, Desjardins C, Menaker M: *Science* 190:280-282 (1975)
- 122) Lincoln GA, Short RV: *Recent Prog Horm Res* 36:1-52 (1980)
- 123) Bartness TJ, Goldman BD: *Experientia* 45:939-945 (1989)
- 124) Tamarkin L, Hollister CW, Lefebvre NG, Goldman BD: *Science* 198:953-955 (1977)
- 125) Yoshimura T, Yasuo S, Watanabe M, Iigo M,

- Yamamura T, Hirunagi K, Ebihara S: *Nature* 426:178-181 (2003)
- 126) Nakao N, Ono H, Yamamura T, Anraku T, Takagi T, Higashi K, Yasuo S, Katou Y, Kageyama S, Uno Y, Kasukawa T, Iigo M, Sharp PJ, Iwasawa A, Suzuki Y, Sugano S, Niimi T, Mizutani M, Namikawa T, Ebihara S, Ueda HR, Yoshimura T: *Nature* 452:317-322 (2008)
- 127) Ono H, Hoshino Y, Yasuo S, Watanabe M, Nakane Y, Murai A, Ebihara S, Korf HW, Yoshimura T: *Proc Natl Acad Sci USA* 105:18238-18242 (2008)
- 128) Underwood H, Goldman BD: *J Biol Rhythms* 2:279-315 (1987)
- 129) Armstrong SM: *Experientia* 5:932-938 (1989)
- 130) Cassone VM: *Oxford Rev Reprod Biol* 12:319-367 (1990)
- 131) Turek FW, McMillan JP, Menaker M: *Science* 194:1441-1443 (1976)
- 132) Redman J, Armstrong S, Ng KT: *Science* 219:1089-1091 (1983)
- 133) Underwood H: *J Pineal Res* 3:187-196 (1986)
- 134) Lewy AJ, Ahmed S, Jackson JM, Sack RL: *Chronobiol Int* 9:380-392 (1992)
- 135) Dubocovich, M.L. Role of melatonin in retina. *Prog. Retinal Res.* 8:129-151 (1988)
- 136) Wiechmann AF, Summers JA: *Prog Retin Eye Res* 27:137-160 (2008)
- 137) Chèze G, Ali MA: *Can J Zool* 54:475-481 (1976)
- 138) Dubocovich ML: *Nature* 306:782-784 (1983)
- 139) Besharse JC, Dunis DA: *Science* 219:1341-1343 (1983)
- 140) Lieberman HR, Waldhauser F, Garfield G, Lynch HJ, Wurtman RJ: *Brain Res* 323:201-207 (1984)
- 141) Dollins AB, Zhdanova IV, Wurtman RJ, Lynch HJ, Deng MH: *Proc Natl Acad Sci USA* 91:1824-1828 (1994)
- 142) Arendt J, Marks V: *Lancet*. 2:698-699 (1986)
- 143) Wurtman RJ, Zhdanova I: *Lancet* 346:1491 (1995)
- 144) Mishima K, Okawa M, Hozumi S, Hishikawa Y: *Chronobiol Int* 17:419-432 (2000)
- 145) Scheer FA, Czeisler CA: *Sleep Med Rev* 9:5-9 (2005)
- 146) Carrillo-Vico A, Guerrero JM, Lardone PJ, Reiter RJ: *Endocrine* 27:189-200 (2005)
- 147) Srinivasan V, Spence DW, Trakht I, Pandi-Perumal SR, Cardinali DP, Maestroni GJ: *Neuroimmunomodulation* 15:93-101 (2008)
- 148) Poeggeler B, Reiter RJ, Tan DX, Chen LD, Manchester LC: *J Pineal Res* 14:151-168 (1993)
- 149) Pielpaoli W, Regelson W, Colman C: *The Melatonin Miracle*, pp.1-314, Pocket Books, New York (1995)
- 150) Reiter RJ, Robinson J: *Melatonin*, pp.1-399, Bantam Books, New York (1995)
- 151) Reppert SM, Weaver DR: *Cell* 83:1059-1062 (1995)
- 152) Arendt J: *BMJ* 312:1242-1243 (1996)
- 153) Bonn D: *Lancet* 347:184 (1996)
- 154) Turek FW: *Nature* 379:295-296 (1996)
- 155) Lamberg L: *JAMA* 276:1011-1014 (1996)
- 156) Cohen M, Roselle D, Chabner B, Schmidt TJ, Lippman M: *Nature* 274:894-895 (1978)
- 157) Vakkuri O, Lämsä E, Rahkamaa E, Ruotsalainen H, Leppäluoto J: *Anal Biochem* 142:284-289 (1984)
- 158) Dubocovich ML, Takahashi JS: *Proc Natl Acad Sci USA* 84:3916-3920 (1987)
- 159) Dubocovich ML, Delagrange P, Krause DN, Sugden D, Cardinali DP, Olcese J: *Pharmacol Rev* 62:343-380 (2010)
- 160) Nosjean O, Ferro M, Coge F, Beauverger P, Henlin JM, Lefoulon F, Fauchere JL, Delagrange P, Canet E, Boutin JA: *J Biol Chem* 275:31311-31317 (2000)
- 161) Vaněček J, Pavlík A, Illnerová H: *Brain Res* 435:359-362 (1987)
- 162) Reppert SM, Weaver DR, Rivkees SA, Stopa EG: *Science* 242:78-81 (1988)
- 163) Dubocovich ML: *FASEB J* 2:2765-2773 (1988)
- 164) Williams LM, Morgan PJ: *J Endocrinol* 119:R1-3 (1988)
- 165) Morgan PJ, Williams LM: *Experientia* 45:955-965 (1989)
- 166) Pang SF, Dubocovich ML, Brown GM: *Biol Signals* 2:177-180 (1993)
- 167) Ebisawa T, Karne S, Lerner MR, Reppert SM: *Proc Natl Acad Sci USA* 91:6133-6137 (1994)
- 168) Kikuchi T, Raju K, Breitman ML, Shinohara T:

- Mol Cell Biol 13:4400-4408 (1993)
- 169) Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T: Neuron 13:1177-1185 (1994)
- 170) Reppert SM, Godson C, Mahle CD, Weaver DR, Slaugenhaupt SA, Gusella JF: Proc Natl Acad Sci USA 92:8734-8738 (1995)
- 171) Reppert SM, Weaver DR, Cassone VM, Godson C, Kolakowski LF Jr: Neuron 15:1003-1015 (1995)
- 172) Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T, Mahle CD, Kolakowski LF Jr: FEBS Lett 386:219-224 (1996)
- 173) Levoye A, Dam J, Ayoub MA, Guillaume JL, Couturier C, Delagrèze P, Jockers R: EMBO J 25:3012-3023 (2006)
- 174) Dufourny L, Levasseur A, Migaud M, Callebaut I, Pontarotti P, Malpoux B, Monget P: BMC Evol Biol 8:105 (2008)
- 175) Liu C, Weaver DR, Jin X, Shearman LP, Pieschl RL, Gribkoff VK, Reppert SM: Neuron 19:91-102 (1997)
- 176) Jin X, von Gall C, Pieschl RL, Gribkoff VK, Stehle JH, Reppert SM, Weaver DR: Mol Cell Biol 23:1054-1060 (2003)
- 177) Yasuo S, Yoshimura T, Ebihara S, Korf HW: J Neurosci 29:2885-2889 (2009)
- 178) Sugden D, Pickering H, Teh MT, Garratt PJ: Biol Cell 89:531-537 (1997)
- 179) de Bodinat C, Guardiola-Lemaitre B, Mocaër E, Renard P, Muñoz C, Millan MJ: Nat Rev Drug Discov 9:628-642 (2010)
- 180) Miyamoto M: CNS Neurosci Ther 15:32-51 (2009)
- 181) Ebihara S, Marks T, Hudson DJ, Menaker M: Science 231:491-493 (1986)
- 182) Goto M, Oshima I, Hasegawa M, Ebihara S: Mol Brain Res 21:349-354 (1994)
- 183) Deguchi T, Sakamoto Y, Sasaki Y, Uyemura K: J Biol Chem 263:7528-7533 (1988)
- 184) Ohsako S, Ohtomi M, Sakamoto Y, Uyemura K, Deguchi T: J Biol Chem 263:7534-7538 (1988)
- 185) Ohtomi M, Sasaki M, Deguchi T: Eur J Biochem 185:253-261 (1989)
- 186) Stehle JH, Foulkes NS, Molina CA, Simonneaux V, Pévet P, Sassone-Corsi P: Nature 365:314-320 (1993)
- 187) Coon SL, Roseboom PH, Baler R, Weller JL, Namboodiri MA, Koonin EV, Klein DC: Science 270:1681-1683 (1995)
- 188) Borjigin J, Wang MM, Snyder SH: Nature 378:783-785 (1995)
- 189) Mizusawa K, Iigo M, Suetake H, Yoshiura Y, Gen K, Kikuchi K, Okano T, Fukada Y, Aida K: Zoolog Sci 15:345-351 (1998)
- 190) Falcón J: Prog Neurobiol 58:121-162 (1999)
- 191) Coon SL, Bégay V, Deurloo D, Falcón J, Klein DC: J Biol Chem 274:9076-9082 (1999)
- 192) Klein DC, Coon SL, Roseboom PH, Weller JL, Bernard M, Gastel JA, Zatz M, Iuvone PM, Rodriguez IR, Bégay V, Falcón J, Cahill GM, Cassone VM, Baler R: Recent Prog Horm Res 52:307-358 (1997)
- 193) Iuvone PM, Bernard M, Alonso-Gomez A, Greve P, Cassone VM, Klein DC: Biol Signals 6:217-224 (1997)
- 194) Iuvone PM, Tosini G, Pozdeyev N, Haque R, Klein DC, Chaurasia SS: Prog Retin Eye Res 24:433-456 (2005)
- 195) Yoshimura T, Nagabukuro A, Matsuda Y, Suzuki T, Kuroiwa A, Iigo M, Namikawa T, Ebihara S: Cytogenet Cell Genet 79:172-175 (1997)
- 196) Gastel JA, Roseboom PH, Rinaldi PA, Weller JL, Klein DC: Science 279:1358-1360 (1998)
- 197) Hickman AB, Klein DC, Dyda F: Mol Cell 23:32 (1999)
- 198) Hickman AB, Namboodiri MA, Klein DC, Dyda F: Cell 97:361-369 (1999)
- 199) Ganguly S, Gastel JA, Weller JL, Schwartz C, Jaffe H, Namboodiri MA, Coon SL, Hickman AB, Rollag M, Obsil T, Beauverger P, Ferry G, Boutin JA, Klein DC: Proc Natl Acad Sci USA 98:8083-8088 (2001)
- 200) Obsil T, Ghirlando R, Klein DC, Ganguly S, Dyda F: Cell 105:257-267 (2001)
- 201) De Angelis J, Gastel J, Klein DC, Cole PA: J Biol Chem 273:3045-3050 (1998)
- 202) Szewczuk LM, Saldanha SA, Ganguly S, Bowers EM, Javoroncov M, Karanam B, Culhane JC, Holbert MA, Klein DC, Abagyan R, Cole PA: J Med Chem 50:5330-5338 (2007)

ヒトの社会生活における光環境と生物時計について —工学および文化的考察—

小山恵美[✉]

京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科 デザイン経営工学部門

ヒトの生物時計についても光が同調因子となるが、パルス状の明暗切替りによるノンパラメトリック同調だけでなく、連続的な明るさ変化によるパラメトリック同調も考慮する必要があると考えられている。本稿では、約千年前から現代にいたる人工光や睡眠習慣の変遷を概説し、社会生活における光環境の昼夜変動状態と睡眠-覚醒サイクルを主な指標とする概日リズムの状態との関係を、日本社会の変動の節目ごとに考察した。その結果、千年前に比べると現代社会での平均的起床時刻は数時間後退しており、夜間の光が過剰となってパラメトリック同調を司る明暗変化のうち昼から夜への移行の薄明部分が消失したことがその要因であることが示唆された。光によるパラメトリック同調を成立させるためには、夜の暗さをまとまった時間確保し、暗から明への移行部分の薄明漸増状態を作ることが重要であるが、低照度条件では黒体放射を発光原理とする白熱電球の利用が適していると考えられる。

1. はじめに

ヒト概日生物時計の物理的同調因子として「光」が最も強力である [1] ことは、1990年代には周知の見聞となったが、筆者が生物リズムの勉強を始めた1970年代終わり頃までは、ヒトは例外で光には反応しないのだと考えられていて、当時は訳がわからないながらも奇妙な感じを抱いた記憶がある。やがて、高照度条件での光曝露による夜間メラトニン分泌抑制についてLewyらが1980年に論文を発表し [2]、大学院の先輩から「人間も光に反応するんだって！ でも光の量が多くないとダメだけどね」と聞かされた時には、驚く一方で生物として同じ反応だと安心したことを思い出す。

その後、ヒトの概日リズムについても光に対する反応があるとして、多くの研究がなされてきたことは、時間生物学に関わりのある諸氏には周知のことと思われる。ヒトの概日生物時計についても光が同調因子となるが、その同調には他の昼行性動物に比べてより明るい光が必要とされる。それはなぜか。人間は人工光を手にしたので光に対する感受性が弱体化したのだ、と一言で片づけられるほど話は単純

ではなさそうなのである。

まず、視覚情報処理についてはヒトの光受容感度は他の動物と比べて遜色なく、対応可能な明るさの範囲も広いとされる [3] (実際、汎用照度計で計測できる下限の0.01lxより低い照度でも何とか見える)。眼から生物時計の中枢への経路は視覚領への経路と途中で分岐し (非視覚系) [4]、かつ、環境の明るさに応じて光受容の感受性が適応進化するとはいえ、非視覚系だけが他の昼行性動物より格段に光感受性が弱体化しているとは考えにくい。次に、夜間のメラトニン分泌抑制などの非視覚的生理反応が生じる光曝露条件を照度について整理 (表1) すると [5]、初期の報告では数千lxであったものが、その後の研究では一桁以上低い照度条件でも反応が生じ始めることが示されている一方で、リズム異常への対策として午前 (あるいは日中) に光を用いる場合には数千lxの高照度条件が必要という説はくつがえっていない。さらに、ヒトにおいても朝に薄明から漸増する光の影響は重要で、季節性感情障害の治療 [6] だけでなく、一般の人々の目覚め改善にも役立つ [7] ことが示されている。

✉koyama28@kit.ac.jp

表1 光の非視覚的生理作用を生じ始める光曝露条件と使用光源 [5]

非視覚的生理作用	光曝露条件	使用光源	発表者	発表年・発表誌
メラトニン分泌ピーク付近時間帯の抑制	2,500 lx × 2時間 (1,500 lxで部分抑制)	白熱電球 (投光器)	Lewy et al	1980 Science
夜間睡眠の質低下 (浅眠化, 遮光動作など)	50 lx × 就寝中睡眠後半では30 lx ~	蛍光ランプ (天井)	岡田 他	1981 家政学研究
メラトニン分泌開始の抑制	250 lx × 3時間	白熱電球 (卓上箱)	Trinder et al	1996 J. Sleep Res
体温リズム位相反応におけるdose-response	180 lx × 5時間 × 3夜	cool white 蛍光ランプ (天井)	Boivin et al	1996 Nature
メラトニン抑制; 500 ~ 5,000 lx暴露結果による推定閾値	393 lx × 30分 285 lx × 2時間	cool white フルスベクトル蛍光ランプ	Aoki et al	1998 Neuroscience Letters
メラトニン抑制とメラトニンリズム位相反応	120 lx (dose-responseの中央照度) × 6.5時間	cool white 蛍光ランプ (UVカット)	Zeitzer et al	2000 J. Physiology
メラトニン分泌ピーク付近時間帯の抑制	3.1 μ W/cm ² × 1.5時間	単波長光, 460nm付近 (キセノンアークランプを分光)	Brainard et al	2001 J. Neuroscience

非視覚的生理作用を生じ始める光曝露条件を報告した先行研究結果を抜粋した。Lewyらの発表後、夜間の一般的室内照度レベルでも非視覚的生理作用を生じ始めることが示されたが、その光曝露条件は、あの環境の明るさだけでは決まらず、曝露時間や光源の波長特性にも依存すると考えられる。

つまり、ヒトの光受容器の機能自体は特に弱体化傾向はなさそうであるが、その感受性にはもともと昼夜で差異がありそうで、実際の生活環境においては、いわゆるLD切り替りによって位相変位するノンパラメトリック同調だけでなく、連続的な明るさ変化が生物時計の角速度を調節するというパラメトリック同調を考慮する必要がある [8]、ということが、話を複雑にしていると考えられる。もうひとつ困ったことには、人類が人工光を手にする以前の概日リズムや生活習慣の実態を直接知ることはできない。また、ヒトの場合、光以外に社会生活の約束事が同調因子になっている。したがって、人工光を手に入れたから…というほど話は単純ではないのである。

本稿では、人工光や睡眠習慣の変遷を概説するとともに、社会生活における光環境はいわゆるLDサイクルとどう違うと解釈すればよいのか、ヒトの生物時計秩序に影響する光環境の昼夜変動をどう考えればよいのか、などについて、工学的および文化的観点から考察する。

2. 人工照明の歴史

「火を使うこと」は人類の特徴のひとつと一般的に考えられ、「火」は、物質の燃焼に伴う「黒体放射」による発光として、人類最初の人工光源と解釈されている。しかしながら、いつ頃から「火」を人類が利用し始めたのかについては、考古学的証拠が

少なく、明確ではない。中国大陸で北京原人や元謀猿人の化石が見つかった付近の地層で火を使った痕跡が発見されたという発表をもとに、約35 ~ 100万年前には火を使っていたと考えられている [9] が、アジア大陸の原人は現生人類 (ホモ・サピエンス・サピエンス) の直接の祖先というわけではなく、また、自然発生した「火」を採火して絶やさないうように利用したとされる痕跡がアフリカ大陸に点在していることから、「火」の起源は未だ謎ではあるが、遅くとも現生人類が出現する10 ~ 20万年前頃までには、世界の広範囲で「火」を利用できるようになっていたと推測される。

人類がどのようにして「火」の存在とその利用法を考えついたかについて、想像の域を出ないが、火山の溶岩や落雷と並んで、森林の樹木がこすれ合っ山火事を起こす例が稀でないことから、摩擦による発火、というのが発火法の基本になっていると推測されている。日本の縄文時代の出土品に、もみ錐式発火具と思われる凹石 (くぼみいし) がみられることから、遅くとも今の日本列島の場所に人類が到達した頃には、摩擦により「火」を発生させる技術を持っていたと考えられている。 [9]

さて、「あかり (人工光照明)」として「火」を利用するための専用の道具がいつ頃出現したのか、これも定かではないが、縄文時代の遺跡にイノシシなどの獣脂を燃やしたと考えられるランプのような土器があったといわれている。また、調理などのため

に「火」を利用していたことが結果として「あかり」にもなっていたと考えられ、それは「いろり」として今も残っている。「いろり」を住宅照明の源流と考えると、屋外照明の源流は、「庭（にわ）火」や「篝（かがり）火」など、携帯光源の源流は「松明（たいまつ）」や「脂燭、紙燭（しそく）」などであるが、これらは植物を直接燃やして「あかり」としており、日本書紀、万葉集、平安文学などにそれらの記述がみられる [9]。

住居内で油を燃やす「燈火」を「あかり」とすることに関しては、仏教伝来（6世紀）後は植物（ハシバミ、エゴマ、ゴマなど）を原料とする油が使われるようになった [9]。植物から作られる燈油は高価であったので、炎を小さく安定させるために、植物繊維を材料とする「燈心」の技術が発達した。燈油に燈心を浸す器具が「燈台」で、スタンド型照明の源流というところであろうか。しかし江戸時代より前には「燈台」の利用は貴族など上流階級に限られ、「燈火」を風から守るため紙を張って火袋を作った「行燈（あんどん）」が江戸時代に多種作られ [10]、少しずつ庶民の生活に普及していったと考えられる。

油を燃やす他に「ろうそく」も現代につながる「燈火」のひとつであるが、融点が常温より高い燃料を植物繊維にしみ込ませて巻くあるいは型に流し込むなどして固め、中心に燈心を配置する、という基本構造は古代から変わらず、炎の安定化という点で、当時としては相当の高度技術であったと考えられる。日本では、奈良時代に中国大陸から輸入された「蜜蠟（みつろう）」のろうそくを宮廷や寺院などごく限られた場所で利用した記録が残っているが、国内でウルシやハゼなどから「木蠟（もくろう）」のろうそくを作り始めたのは15世紀頃からであると推測されている。江戸時代には「提灯（ちょうちん）」の光源としてしだいに普及していくが、「燈油」よりもさらに高価であったとされている。これらの植物燃料のろうそくは、明治以降にパラフィンなどを燃料とする洋ろうそくが輸入されると衰退していった。 [9]

以上のように、日本では江戸時代までは植物を燃料とする「火」があかりとして用いられてきたが、その炎の安定化と効率化のために、現生人類が登場してからほとんどの長さを費やしたと言っても過言ではない。一方、欧州では、18世紀半ば頃から鉱物原料を燃やしてあかりとする方法（石油ランプ、ガス灯）が開発され、その制御の容易さと発光効率の

良さから普及していったと考えられる [11]。日本には明治維新頃から伝えられ、特に石油ランプは、明治30年代（1900年）頃までに、植物油の燈火にとってかわって普及したとされる [12]。ここまでは、物質が実際に燃焼することを利用する燃焼性光源の歴史概説である。

20世紀に入ると、燃焼性光源に代わって、電気エネルギーの一部を光に変換する電気照明が普及することになる。「白熱電球=エジソン」というイメージが強いが、実際には、1800年頃から白熱電球の原理となる発光技術が欧州で研究され始め、1870年代に欧米で複数の研究者が同時期に白熱電球を試作した。そのうちの一人がエジソンで、その後事業化に成功したのでイメージが定着したのであろう。19世紀の白熱電球は、炭素フィラメントをガラスに封入してガラスの中を真空（現在の白熱電球は不活性ガスを充てん）にし、フィラメントに電流を流して高温に熱し、発光させていた。20世紀初頭に、フィラメントがカーボンからタングステンに替わり、現在の白熱電球の基本形ができあがった。これらの発光原理は、燃焼性光源と同様の黒体放射である。欧米では、タングステン電球が軌道に乗った1910年頃から白熱電球がガス灯に置き換わり、日本でも明治20年代（1890年頃）から白熱電球の製造が始まり、電力供給の拡大とともに、大正末（1920年）頃までに普及していったとされる。 [9, 11]

燃焼性光源の時代は長かったが、直接何かを燃やして光を得るのであるから、火事の危険とは隣り合わせで、光の点灯消灯や発光量の調節などが不便であることから、電力供給の拡大とともに、制御が容易な電気照明に置き換わっていった。ところで、白熱電球の場合、発光効率を高めようとフィラメントの温度を上げると電球の寿命が短くなり、電球の寿命を延ばそうとすると発光効率が下がるという問題点を抱えていた。そのため、20世紀前半から発光効率を高める発光方式「蛍光」について技術開発がなされるようになり、蛍光ランプの概念は1920年頃には欧米研究者の間に理解されていたといわれる。「蛍光」とは、蛍光物質という、ある種の金属化合物が、紫外線などの照射を受けると発する光のことである。蛍光ランプは1938年に米国で実用化され順調に普及していったが、欧州は受け入れに慎重であったといわれる。日本では、戦前は軍用途に限られ、昭和25年（1950年）頃から一般社会に普及し始め、その後の高度経済成長とともに、欧州をしのいで普及率が上昇した。 [11]

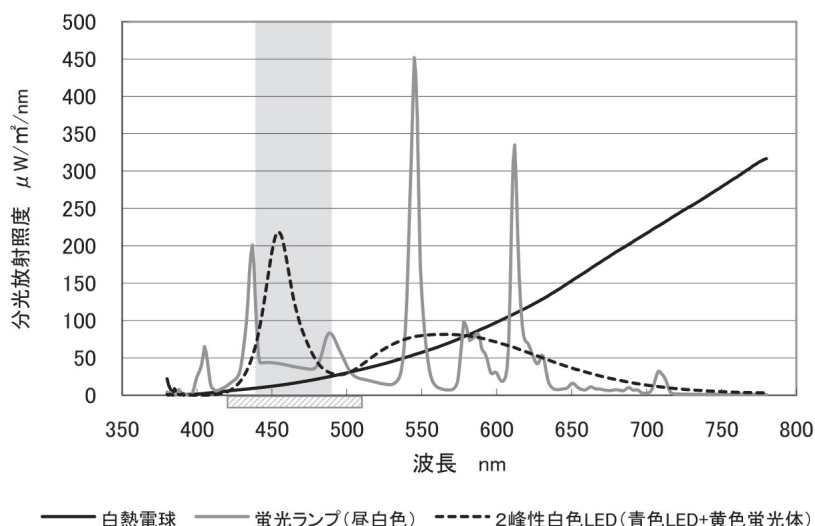


図1 人工光源の分光分布特性（分光放射照度）の例 [5]

水平面照度50lxを得た地点における分光放射照度の計測例を示す。非視覚的生理作用が大きいとされる青色付近の波長成分（440～490nm、グレー塗りつぶし部分）の分光放射照度積算値は、白熱電球に対して、昼白色蛍光ランプで約3倍、青色を励起光とする2峰性白色LED（青色成分相対比が大きいもの）では5倍を超える。メラトニン抑制の波長特性曲線 [23] から得られる推定半値幅（420～510nm）を波長軸の下に斜線塗り以示す。

さらに、1990年代に入ると、電子エネルギーを直接光エネルギーに変換すること（EL効果）を発光原理とする発光ダイオード（LED）を用いて白色光を出す技術が開発された。青色または紫外光を発光するLEDとさまざまな種類の蛍光物質を組み合わせると白色に見える光が出ることから、大分類すると、蛍光ランプと同じく「蛍光」を利用する光源、ということになり、同じ電気照明でも、黒体放射を発光原理とする白熱電球とは、光の質において大きな断絶（可視光の青色側成分が増大、赤外に近い成分が相対的に激減する分光分布となる傾向、図1）がある。現在、LEDが照明用光源として普及し始めているが、懸念もあり、それらについては本稿の後半部分で述べる。

3. 燈火時代の光環境と睡眠習慣

社会生活における光環境の昼夜変動とヒト概日リズムとの関係を考察する準備として、植物油燈火の時代について、光環境と睡眠習慣の推測結果 [13, 14] を概説する。概日リズムの指標として何を評価するか、問題点は残るかもしれないが、昔にさかのぼって体温やメラトニンのデータを得ることは不可能なので、睡眠-覚醒サイクルとの内的脱同調は無いと仮定して、睡眠習慣を調べることにした。

どのくらい前の時代にさかのぼるかであるが、現代と離れているほど対比が明確になるであろうが、

少なくとも文字資料が残っていないと推測もできないので、約千年前（平安時代中頃の藤原氏全盛期）の状態を対象とした。平安時代の暮らしを知るための資料としては、燈火についての専門書 [9] の他、時刻制度についての専門書 [15]、当時の生活のある程度反映していると考えられる文学資料として「源氏物語」「紫式部日記」「枕草子」などを活用した。「源氏物語」が考察の対象になることに抵抗感があるかもしれないが、その作者による「紫式部日記」の記録性が他の日記文学より高いという評価がある [16] ことに加え、「源氏物語」には宮中や貴族の暮らしの描写が多いながらも平安京下町や京都以外の地域の暮らしが描かれている部分もあることから、文学としての価値にとどまらず、当時の文化や生活環境、生活様式を研究するための資料としても貴重であると考えられている [17]。

まず、夜間の光環境について、当時の燈火に近いと考えられる条件で燈油を燃焼させた炎の光学特性を計測し、文学資料の記述とあわせてその光環境を評価した。平安時代の燈台実物は入手できないので、金属製の卓上燭台を用い、蠟の受皿部分に木工用エゴマ油を入れ、麻糸をよって試作した燈心を燈油に浸した後、ろうそく立ての金属針に細い竹串を継ぎ足した芯に麻糸を巻きつけて先を上向きに安定させて点火し、計測用の炎を作成した。千年前の燈心を忠実に再現することはできなかったが、照度や

分光放射輝度を計測するために炎の位置を安定させる必要があったので、燈心の固定はやむを得ないことであった。照度の計測条件は、燈火の近辺で文字を読むという状況を想定して、炎の位置を机上30cm高さに配置し、光源位置からの水平距離20、30、40cm地点の机上水平面照度を計測した。電気照明との比較のため、5W白熱豆電球についても同様の光源配置で計測を実施、加えて、炎と豆電球それぞれについて、行燈を模した和紙の囲いを追加した条件でも照度を計測した。

それぞれの照度計測結果および光源露出状態での分光放射輝度（相対分光分布）や色度図上の位置を図2と図3に示す。机上面照度については、炎（燈火条件）では白熱豆電球の5分の1程度で、水平距離30cmの地点で1lxを下回るが、物の形は識別可能で、大きなフォントの文字は読める状態であった[13]。相対分光分布の特徴としては、炎も白熱電球も黒体放射を発光原理としているので、青色が少なく赤色から赤外領域に向かって指数関数的に放射エネルギーが増大しているが、比較すると、燈火条件よりも白熱電球で短波長成分が相対的に多い（発光効率がよい）。色度図上では、両者ともに黒体軌跡に乗っているが、燈火条件の方がより赤色方向に寄っている。なお、相関色温度は両者とも2500K未満で、数値は実測できなかった。

「源氏物語」の記述からも、燈火の近傍では墨書き文字を読めていたようである（「大殿油（おとお

なぶら；燈台のこと）近くて書どもなど見たまふ」、『帚木』[18]より）。しかしながら、庶民にとって燈油は高価で入手できず、煮炊きに使った残り火（いろりの「埋み火」）や、建物、特に板葺きの屋根の隙間から差し込む月光（「八月十五日夜隈なき月影、隙多かる板屋残りなく漏り来て」、『夕顔』[18]より）などが実質の「あかり」になっていたと考えられている。

月光について補足すると、夜間の屋外の光源としては、月光が無い（月の出が遅い）闇夜に「火」を用いていた（「月もなきころなれば、遣水に篝火ともし、灯籠などにもまゐりたり」、『若紫』[19]より）ようである。満月で晴天の場合には0.2lx程度、月が細い場合でも0.01lx程度の水平面照度が広範な面積で得られることになる[20]ので、燃料コストの問題だけでなく、月光の方が「火」の局部照明より視覚的にも有利であったと考えられる。「枕草子」に「月のいと明かきに、川をわたれば、牛の歩むままに、水晶などのわれたるやうに、水の散りたるこそをかしけれ。『二一七』」[21]という記述がみられるように、月が明るい夜には、少なくとも薄明視（網膜の錐体と桿体の双方が働き、物の色と形がいくらかわかるくらいの視環境）での視覚は確保されていたと思われる。なお、月光の分光分布は燃焼光源の分光分布とは異なり、月光の方がより高い相関色温度（4500K程度）となるが、色の見え方の良し悪しについての記述が「枕草子」にある

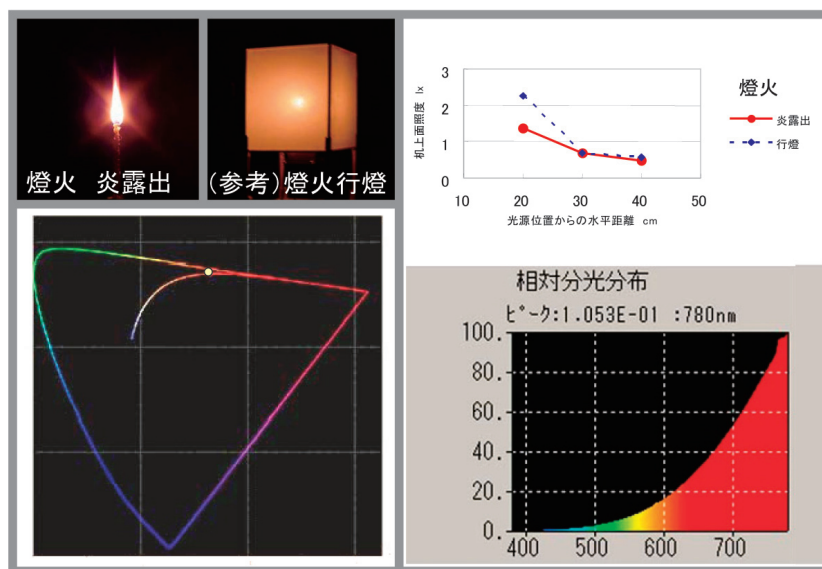


図2 燈火（麻糸+竹芯、荏胡麻油）の光学特性
 炎の位置を机上30cm高さに配置した場合の光源位置からの水平距離20、30、40cm地点の机上水平面照度および光源露出状態での分光放射輝度（相対分光分布）と色度図上の位置を示す。照度計測については、光源を和紙で囲んだ場合の結果も示した。

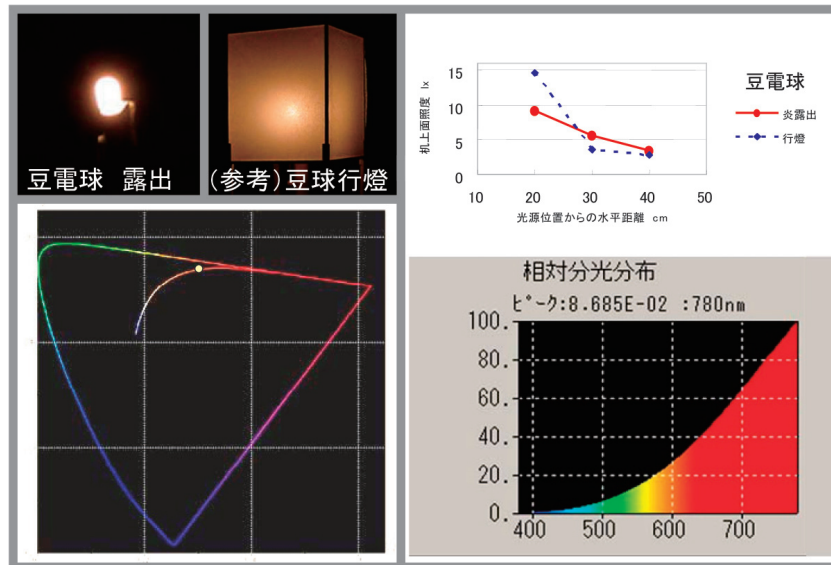


図3 白熱電球（5W 豆電球）の光学特性

豆電球の位置を机上30cm高さに配置した場合の光源位置からの水平距離20、30、40cm地点の机上水平面照度および光源露出状態での分光放射輝度（相対分光分布）と色度図上の位置を示す。照度計測については、光源を和紙で囲んだ場合の結果も示した。

（「ひかげ（ほかげ、燈火）におとるもの むらさきの織物。藤の花。すべて、その類はみなおとる。くれなるは、月夜にぞわるき。」『一本の二段』[21]）ことから、燈火や月光の下で、桿体だけでなく錐体も働き、色の識別が可能であったと推測される。

燈火は就寝前には消灯していたと思われる。防火目的はもちろんのこと、燈油が高価だったことが理由であろうが、実際にエゴマ油を燃やしてみると結構臭うので、点灯したままでは眠れるとは思えない[17]。なお、江戸時代の行燈については、常夜灯のように利用したという資料もある[10]が、綿の栽培が始まって綿実油が利用できたとすると、臭いの問題は多少解消されていたかもしれない。消灯後は、月光が漏れてこない限り、ヒトの薄明視あるいは暗所視（網膜の桿体のみが働き、明暗だけがおぼろげにわかる程度の視環境）での視覚能力をもってしても、物の形の識別ができないうくらい暗かった（「人の御けはひ、はた、手さぐりもしるきわざなりければ」、「いかでまからん、暗うて」、『夕顔』[18]より）と考えられる。『末摘花』[19]の巻で、光源氏が朝の雪明かりで姫君の容貌を初めて見て驚く場面なども象徴的である。

次に、昼間の光環境は、屋外については、曇天であっても桁でいうと $10^3 \sim 10^4$ lxレベルの照度が得られ、千年前と現代と差異はないと思われるので、屋内について建築資料などをもとに評価する。一言で結論すると、千年前の日中の屋内は、洋の東西を問

わず、日中でも電気照明を点灯する現代のオフィスなどに比べると、照度レベルは2桁近く暗かったと考えられる[11]。光を透過させる「ガラス窓」が無いのはもちろんのこと、自然光を部屋の奥にまで多く採光しようという考え方もなかった。和紙を用いる「明かり障子」が普及し始めるのは鎌倉時代と考えられ、平安時代は、寝殿造りといえども、格子や蓐（しとみ）という上下に開閉する建具が外界との仕切りになっていて[22]、さらに、軒下部分の奥行きが長く、格子を開いた状態でも直射日光が部屋の奥までは届かない。庶民の家では開放部が入口だけであるか、窓があっても小さいため、住居内はさらに暗い。それでも、夜間に燈火などを用いるよりはずっと明るい状態と推測される。

千年前の睡眠習慣はどのようであったか。起床時刻については、おおよその推定が可能である。「日本書紀」などの古代文書や室町時代の公卿の日記などの記述に加え、星食などの天文学的検算結果から、社会慣行上「1日の始まり」は「丑寅の境（午前3時頃）」であったと考えられていて[15]、夏至の頃では天文薄明（太陽伏角約 18° まで、東方の天空が少し明るくなって、夜明け前の東の空に見えていた6等星が見えなくなる時期）に相当する。「源氏物語」でも、下町の庶民が「暁」の頃（夜明け前のまだ暗い時間帯）に起き出して活動を始めている記述（「暁近くなりけるなるべし、隣の家々、あやしき賤の男の声々、目覚まして…」、『夕顔』[18]

より)がみられ、天文薄明の頃には活動が始まっていたことを示唆している。紫式部日記でも、物語の巻物製作のために、夜が明けるとすぐに式部が中宮の御前に伺候している記述がある(「…御前には、御冊子づくりいとなませたまふとて、明けたてば、まづむかひさぶらひて…」、『三二：御冊子づくり』[16]より)。当時は午前3時～4時頃には起床して活動を開始していたと考えられる。一方、就寝時刻に関しては明確な規則性についての記述がみられず、一般的には現代より数時間早いと推察されるが、夜間にも仕事などをしていて必ずしも日没後の早い時間帯に就寝するとは限らない場合(「作夜縫ひし御衣ども…」、『若紫』[19]より)や、宮仕えでの交替勤務や深夜におよぶ行事などもあったようである[16]。

4. 光環境および睡眠習慣の変遷

燈火による明るさ(実測)は机上水平面で1lxに満たず、5W白熱電球の5分の1程度であったので、60W相当の白熱電球を1つ点灯するだけでも燈火の数十倍もの明るさが得られることになる。一般に、電気照明では、各光源の明るさは電力(ワット数)に応じて増大し、同じワット数であれば、光源の発光エネルギー効率が低いほど明るい。蛍光ランプの方が白熱電球に比べて発光効率が高いので、同じ電力では蛍光ランプを用いる方が明るくなる。現代の住宅では、部屋の主照明として、部屋の広さに

応じて天井に60～100W相当の蛍光ランプが用いられることが多く、机上水平面の照度は500lx程度以上の明るさが容易に得られる状態になっている。したがって、21世紀初頭まで約1000年間について、夜間の一般的な室内照明能力を推定すると、この1000年間に明るさは1000倍近く増大しただけでなく、白熱電球が普及し始めた100年前頃と比較しても約100倍になるという急激な変遷をしたと推測される。

さらに最近100年間についても、明治時代に電燈会社によって電力供給が始まった当初は、夜間みの電力供給であったので、昼間に電気照明を用いることはなかったが、電力が安定して供給されるにしたがって、照明に関する要求も、環境の安全を主とする単なる暗さの駆逐から、視作業の効率や生活行動の能率の向上へと変化し、1950年代以降、蛍光ランプの普及とともに室内は昼夜ともに高照度化していった。1970年代以降は、石油ショックの影響もあり、省電力について目が向けられるようになったが、1990年代からは、パーソナルコンピュータの普及によって、発光する画面に直接視線を向けるという光環境変化が特徴的である。

また、20世紀後半から半世紀余りの間に、発光能力増大によって夜間の室内が明るくなっただけでなく、その分光分布の変遷によって可視光短波長成分が増大してきた。非視覚的生理作用が大きいとされる分光放射照度の短波長成分[23](440～490nm)積算値は、白熱電球と比較して昼白色蛍光

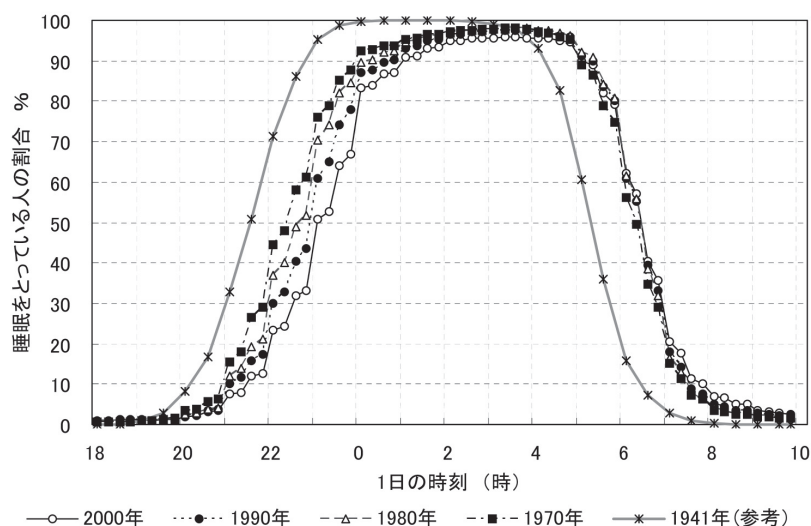


図4 時間帯別の睡眠率(国民全体、平日)[14]

国民生活時間調査結果の睡眠時間帯別分布数値[24, 25]をグラフ化した。なお、1941年については、昭和16年の国民生活時間調査[26]のデータ(10分刻み)から平均睡眠率を算出し、30分毎の値を参考値としてプロットした。

ランプで約3倍、青色LEDを励起光とする2峰性の分光分布を持つ昼白色LEDでは5倍を超えるエネルギーレベルに達することが図1の例で試算されている。したがって、これらの光源では、白熱電球利用時より低い照度レベルから覚醒度増大などの非視覚的生理作用が生じ始めると考えられる。

一方、日本人の睡眠習慣はどのように変遷していったのであろうか。国民生活時間調査(1970～2000) [24,25]によると、日本人の平均的睡眠習慣がこの30年間で激変しているという調査結果が得られている。国民全体の平日のデータ(図4) [14]から、特に就床行動の夜型化に伴う睡眠時間の減少が顕著であり、その変化の大きさは世界的にも群を抜くといわれる。国民生活時間調査は戦後1960年から5年ごとに実施されているが、1965年までと1970年以降とは調査方法が異なるため、年代間の直接的な比較は難しいといわれている。戦前では1941年に生活時間調査 [26] がなされている。これも現行の調査方法と異なることから比較に注意を要するが、その集計結果によると、俸給生活者や小売業の一部を除くと、23時頃で睡眠率が95%を超えており、国民の平均的な就寝時刻に関しては、2000年に比べて2時間程度早かったことがうかがえる。起床時刻についても、午前3時頃から起床する人の割合が増え始め、午前6時では8割程度の人が起床していて、1970年以降の起床率(約3割)を大幅に上回っている。睡眠習慣の夜型化は、戦後の混乱期を過ぎた1960年頃から起床就寝時刻ともに進行していった(1970年以降は主として就寝時刻が夜型化)のであるが、1941年の調査結果は睡眠時間帯が1960年よりもさらに早かったことを示している [27]。

千年前の睡眠習慣(推測)と比較すると、1941年調査の平均的起床時刻よりも千年前はさらに1～2時間早いことになる。したがって、就寝時刻の夜型化については、千年前から戦前までの変位と戦後から1970年頃までの約30年間の変位とがほぼ同じ大きさとなり、光環境の変遷と同期するように、少なくとも2段階の変動を示し、20世紀後半の変動が特に急激であったことを示唆している。

5. 社会生活における光環境昼夜変動と概日リズム

以上の結果をもとに、社会生活における光環境の昼夜変動状態と、睡眠-覚醒サイクルを主な指標とする概日リズムの状態との関係を、人工光の変遷とともに、日本社会の変動の節目ごとに考察する。

まず、千年前の社会については、夜間の室内は燈

火を使える比較的恵まれた境遇であっても現代よりはるかに暗く、月光と同程度の明るさであったことから、照度レベルだけをとってみると、自然の昼夜変動と同じくらいであると考えられる。そして、当時の暮らしぶりから、昼行性の動物と同様に明け方の天文薄明の頃から活動を開始できていると推測されることから、概日リズム位相後退につながるような非視覚的な生理作用が夜間に生じる可能性はなかったと考えられる。しかしながら、燈火の月光との違いは、人間の意思や生活行動によって明るさを制御できることであり、そのことによって、活動終了(就寝)のタイミングについては規則性が必ずしも維持されるとは限らない場合もあった [28] と推測される。一方、夜間だけでなく日中の室内についても現代とは比較にならないほど暗いことから、日中は屋外に近い場所で過ごさない限り、概日リズム位相調節(ノンパラメトリック同調)に必要な光を得られそうになかったと考えられる。ただ、「宮仕え」の場合はともかくとして、一般庶民の生活では、住居内に終日滞在して生計を営むことは極めて稀で、屋外あるいはそれに近い照度レベルの場所で日中過ごしていたと考えられる。

次に、白熱電球が普及し始めてから戦前までの社会では、自然の日没以降の時間帯に、少なくとも月光の数十倍の明るさを維持しようと思えばできる状態になり、一方、特に都市部では日中に屋内で過ごす人々の割合は千年前に比べると増加していると思われる。社会生活における光環境の昼夜変動は、照度レベルにおいて、既に自然環境とは乖離し、特に、日没以降の薄明状態が消失したと考えられる。千年前と比べて、起床時刻が1～2時間程度後退していることから、白熱電球の夜間点灯によって、覚醒方向の非視覚的生理作用が生じている可能性が考えられる。

戦後から1970年代にかけて、起床と就寝時刻ともにさらに1～2時間後退しているが、昼夜ともに蛍光灯ランプの普及によって照度レベルと短波長成分が増大したことが、生物時計にとっては昼に相当する光環境が延長し、概日リズム位相後退につながる非視覚的生理作用をもたらしていると考えられる。さらに、その後の社会の24時間化によって、生物時計にとっての昼間光環境はさらに延長して就寝時刻は後退し、一方で社会生活の制約から起床時刻の後退は限界に達していると思われることから、睡眠時間の減少というひずみの顕在化につながったと考えられる。

ヒトの生物時計の秩序を維持するために、光環境昼夜変動のどの部分がどのように重要なのか、24時間周期への同調のしくみという観点から考えてみる。平安時代の「宮仕え」のように、睡眠習慣の規則性が強くないだけでなく、毎日屋外に出るとは限らないような生活においても、夜明け頃から活動を開始するという概日リズムが比較的安定していたということは、パルス状の周期的明暗変化によって毎日位相調節をするというノンパラメトリック同調のしくみだけでは不十分で、薄明時間帯も含む明るさの連続的变化が生物時計の角速度を変化させるというパラメトリック同調のしくみを想定する必要があると考えられる。千年前に比べると現代社会での平均的起床時刻は数時間後退しているが、その差異を生じさせる物理的要因として、夜間の室内の明るさが増大し、かつ任意に消灯時刻を決められるようになったことから、パラメトリック同調を司る明暗変化のうち昼から夜への移行の薄明部分が消失し、生物時計にとって昼間に相当する時間が延長してしまったことがあげられる。すなわち、現代社会の光環境の問題点としては、昼間の受光量が不足することよりも、夜間の光が過剰であることが深刻であり、光によるパラメトリック同調を成立させるためには、夜の暗さをまとまった時間確保し、暗から明への移行部分の薄明漸増状態を作ることが重要と考えられる。

6. おわりに

谷崎潤一郎が「陰翳礼讃」を発表したのは昭和8～9年にかけてであったが、その時すでに、欧州に比べて日本では電燈を惜しげもなく使っていることや、月の名所といわれる寺で池の周りを電飾が取り巻いていて月見が台無しになってしまったこと[29]を嘆いている。白熱電球の時代でさえ、夜間の光は過剰になりつつあったわけで、蛍光灯や白色LEDが白熱電球に置き換わってしまうと、光の量のみならず短波長成分も相対的に大きくなることが懸念される。

このように短波長成分が相対的に多い光源（高色温度の蛍光灯やLEDなど）を室内照明やLCDディスプレイのバックライトに用いて就寝前の時間を過ぎすと、その後の睡眠状態の不安定化など好ましくない影響を及ぼす可能性が実験により示唆されている[30]。さらに、相関色温度の高い光源を夜間の照明に使用することは、特に、子ども達に大きな影響（概日時計の位相後退やメラトニン分泌抑

制）を及ぼし、一般家庭の室内照明レベルの高照度ではない条件においてもそれらの好ましくない影響が生じることが懸念されている[31]。

夜間の生活行動における安全確保のためには、電気照明を全く利用しないというわけにはいかないが、空間の照度を下げる場合には、光源の選択に注意する必要がある。黒体放射を発光原理とする白熱電球については、電力を減らして調光しても、さほど違和感を生じないが、短波長成分の多い昼白色あるいは昼光色の蛍光灯やLEDの場合には、低照度条件では寒々とした陰気な雰囲気という印象を生じる傾向があるので、非視覚的生理作用を生じることがどうかにかかわらず、その利用は望ましくない[32]。

白熱電球と同程度の相関色温度（2500～3000K）を示す電球色の蛍光灯や電球色のLEDも実用化されているが、それらについても白熱電球と全く同じ印象にはならず、低照度条件ではその差異が大きくなる傾向がある[33]。したがって、省電力のみに気を取られて白熱電球を全廃することには賛同しかねるのである。人類は少なくとも数十万年の間、黒体放射の光に馴染んできたわけで、低照度（すなわち、低電力）条件で白熱電球を利用することは、省電力の観点からも問題にはならず、違和感を生じることなく夜間の過剰な光を減らすことに役立つと考えられる。

参考文献

- 1) 本間研一、本間さと、広重力：生体リズムの研究、pp 207-221、北海道大学図書刊行会（1989）
- 2) Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK, Newsome DA, Markey SP : Science 210 : 1267-1269 (1980)
- 3) 山崎昌廣、村木里志、坂本和義、関邦博：環境生理学、pp 70-73、培風館（2000）
- 4) 本間さと：光と人間の生活ハンドブック、佐藤愛子・利島保・大石正・井深信男 編、pp 90-98、朝倉書店（1995）
- 5) 小山恵美：からだと光の事典、太陽紫外線防御研究委員会 編、pp 340-345、朝倉書店（2010）
- 6) Terman M, Schlager D, Fairhurst S, Perlman B : Biological Psychiatry 25 : 966-970 (1989)
- 7) 野口公喜、白川修一郎、駒田陽子、小山恵美、阪口敏彦：照明学会誌 85 : 315-322（2001）
- 8) 本間さと：環境生理学、本間研一・彼末一之 編著、pp 161-174、北海道大学出版会（2007）

- 9) 深津正：燈用植物；もの与人間の文化史50、pp 3-22, 134-177, 190-203, 280-281, 297-310, 376-401、法政大学出版局（1983）
- 10) 平凡社・下中直人 編：日本史モノ事典、pp 254-259、平凡社（2001）
- 11) 乾正雄：夜は暗くてはいけないか；暗さの文化論；朝日選書600、pp 75-101, 137-158, 185-212、朝日新聞社（1998）
- 12) 内田星美：遅刻の誕生；近代日本における時間意識の形成、橋本毅彦・栗山茂久 編著、pp 267-288、三元社（2001）
- 13) 小山恵美：（独）日本学術振興会 繊維・高分子機能加工第120委員会 第105回講演会資料；32-39（2005）
- 14) 小山恵美：環境生理学、本間研一・彼末一之 編著、pp 390-404、北海道大学出版会（2007）
- 15) 斉藤国治：日本・中国・朝鮮 古代の時刻制度；古天文学による検証、pp 50-84、雄山閣出版（1995）
- 16) 藤岡忠美、中野幸一、犬養廉、石井文夫 校注・訳：紫式部日記；新編日本古典文学全集26、pp 5-10, 123-222、小学館（1994）
- 17) 小山恵美：睡眠文化を学ぶ人のために、高田公理・堀忠雄・重田眞義 編、pp 122-123、世界思想社（2008）
- 18) 阿部秋生、秋山虔、今井源衛、鈴木日出男 校注・訳：古典セレクション；源氏物語①；桐壺～夕顔、小学館（1998）
- 19) 阿部秋生、秋山虔、今井源衛、鈴木日出男 校注・訳：古典セレクション；源氏物語②；若紫～花宴、小学館（1998）
- 20) 三星宗雄：光と人間の生活ハンドブック、佐藤愛子・利島保・大石正・井深信男 編、pp 188-206、朝倉書店（1995）
- 21) 松尾聰・永井和子 校注・訳：枕草子；新編日本古典文学全集18、小学館（1997）
- 22) 秋山虔、小町谷輝彦 編：源氏物語図典、pp 24-43、小学館（1997）
- 23) Brainard GC, Hanifin JP, Greeson JM, Byrne B, Glickman G, Gerner E, Rollag MD : J Neurosci 21 : 6405-6412（2001）
- 24) NHK放送文化研究所 編：1990年度国民生活時間調査全国編、日本放送出版協会（1991）
- 25) NHK放送文化研究所 編：データブック国民生活時間調査2000<全国>、日本放送出版協会（2001）
- 26) 日本放送協会 編：国民生活時間調査（昭和16年調査）一般調査報告1～4；第5～8巻、大空社（1990）
- 27) 鈴木泰：日本放送協会編国民生活時間調査（昭和16年調査）解説；第8巻付録、大空社（1990）
- 28) 千葉喜彦：からだの中の夜と昼；中公新書1315、pp26-34、中央公論社（1996）
- 29) 谷崎潤一郎：陰翳礼讃；中公文庫、pp 56-60、中央公論新社（1995改版）
- 30) Koyama E: Proceedings of the 3rd ICHES'05 in Tokyo, Japan : 145-150（2005）
- 31) 原田哲夫、竹内日登美：体内時計の科学と産業応用、柴田重信 監修、pp 204-217、シーエムシー出版（2011）
- 32) 小山恵美：照明学会誌 92 : 650-653（2008）
- 33) 山田浩嗣、岡田若奈、松原明央、小山恵美：平成22年度（第43回）照明学会全国大会講演論文集、pp 193-194（2010）

東日本大震災で研究について感じたこと

太田英伸

国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 知的障害研究部

突き上げる振動が短くあり、その後東西方向の大きな横揺れが始まった。当時自分は医局のある11階建てのビルの8階のエレベーターホールにいた。

3日前、同じ東北大学薬学研究科の守屋さんのところ（青葉山）で実験をしていたときも大きな横揺れがあったのを思い出した。

「この間のも結構大きかったな。」

とぼんやりその時のことを考えた。しばらくして、今回の地震が3日前と違うことに気が付いた。

「長い。」

そう思った瞬間、地震の揺れが更に大きくなった。横にいた小柄な実験助手の女性が体ごと揺す振られ、ようやく廊下の壁に両手をつけてしゃがみ込んだ。天井からもバラバラと10×10cmほどの大きな破片が次々に落ちてくる。一向に揺れがおさまらないばかりか、更に横揺れが激しくなった。

「この建物は駄目かもしれない。運よく生き残れるかな。」

と、人生で初めて死ぬかもしれないという恐怖を感じた。

幸い自分がいた建物は崩れ落ちることなく（後にこの建物は構造確認のため立ち入り禁止となった）、永遠に続くように感じていた横揺れも次第に弱くなって行ってくれた。すぐに自分はエレベーター横の階段を降り始め、研究室の実験助手の3人の女性達の安否の確認を急いだ。階段は既に病棟・研究室に向かう人間でごったがえしていた。

当時は毎日の病棟・研究室の応急措置・維持業務に追われ、「その日暮らし」の忙しさに心が完全に飲まれていた。あれから2カ月が経ち、そのときの状況をゆっくりと思いだす時間を無意識にもつ余裕が出てきたと思う。仕事～私生活の全てについて話

をするととても長い話になってしまうので、今回は研究に関して感じたことを簡条書きに幾つか書いていこうと思う。

1. 研究ができる機会・時間をもてることは幸せだということ

地震直後においても勤務していた東北大学病院には非常時に備え小さな発電所があるため（自家発電）停電にはならなかった。しかし動物実験棟においては、電気・水・ガスの全てが止まり、研究を物理的に継続することが困難になった。また震災直後はかなり大きな余震が頻繁にあり、継続的な実験データを取ることが事実上無理だったと思う。心情的にも研究よりも診療をしなければという気持ちは当然強くなり、研究業務は最低限に抑え、通常週1-2日の割合で行っていた診療を毎日行うことになった。私が勤務していた新生児室は、車輪付きの保育器・コット（ゆりかご）が連立している。震災後も余震が起きるたびに、保育器・コットが倒れないようにすぐにおさえる必要があり、診療という目的以外にも人手が必要だった。また研究室で一緒に働いた大学院生・実験助手の方達は、継続する余震・食糧難のために家族の安全確保・生活維持に必死であり、大学に出勤することはなかった。こんな状況の中で実験中の研究が、いつになったら再開できるかわからず不安な気持ちが続いた。

2. 自由な研究をすることへのある種の罪悪感

このような状況の中で正直、実験をすることにある種の罪悪感をもった。自分が医師という職業であったことも影響しているが、それ以上に食糧・水・電気・ガスといったものが街中で不足している中、その貴重な資源を実験データ採取・動物・培養細胞に使用することに非常に大きな抵抗感を感じた。実際、維持している動物数に関して

もすぐに大学レベルで制限が加えられた。また同僚の中には進行中だった動物実験のデータを取るため、比較的大きな電力を必要とするMRIを使用しようとした研究者もいたが、周囲の批判的な態度に接することになった（実際には実験施設はMRI使用に対して様々な理由から許可を出さなかった）。普通なら研究を当然積極的に進める大学においても、このように研究を行うことに罪悪感が生まれ、この状況からも研究を普通のレベルに戻すことが難しかった。いろいろな意味でいつ研究を再開するか、個人的に決められないのではないかと当時考えていた。

3. 実施中の研究グラントをどう継続するか？

この震災に対する研究成果への影響に敏感に反応したのは、大型研究開発費を管理している省庁だった。1週間弱でインターネットが回復し始めホッとしていると、今回の震災が研究の進捗状況にどのように影響するか、よりストレートに表現すると「研究が継続できるか」といった内容の確認メールが関係省庁から届き始めた。世の中シビアだと思った瞬間だった。一方、大型グラント応募の季節である4-5月の締切のほとんどが延期され、この措置は個人的にも、被災に遭った研究者にとっても、とても重要な決定だったと感謝している。

4. インターネットのありがたさ

携帯電話でのやりとりが非常に難しい中、インターネット・メールの使用は、大学病院・医学部がある仙台市星陵地区では、比較的早く回復した。そのため、震災状況の把握も含め、学術情報のフォローは震災前と同様に行っていた。また国内外から友人・研究者仲間から頂いたメールはとても励みになった。メールをくれたほとんどの人に「メールありがとうございます。大丈夫。元気にやっています。」の短い返事しか送れなかったが、生活・仕事で疲労がたまりつつあった自分には、メールを読み返す度にみんなからのメールを非常にありがたく感じていた（今回感謝の言葉をこの機会にお伝えすることができて良かったです）。

5. 大学施設で他の人と共同生活する

被災時幸い家族が山形に出張中だったので、そのまま飛行機で実家の旭川（北海道）に避難して

もらった。自分は食糧・電気・水が確保できる大学病院・動物実験センターに滞在生活をするようになった。結局、動物実験センター長、センター職員、飼育員の方たちと2週間ほど合宿することになり、毎晩ニュースを見つつ、今後の研究や動物管理の難しさ、そして時には研究人生について語り合うことができた。お互い街中で並んで手に入れた食糧や家に残っていた食べ物・お酒をかき集め、夕方5時頃に大学から配給される食糧を計画的に消費しながら細々とした生活を続けていた。普段ならこんな時間もお互いもてないだろうと、少しだけ「震災（けが）の功名」を感じた。特にセンター長は温かい人柄の方で、毎日共に生活してある意味楽しかった。本当にお互い助け合って当時生活していたので、つらい時期ではあったがよい思い出になっている。

6. 電気がなぜ関西から供給できないか？（ほとんど妄想に近い話ですが）

震災後まもなく東京での計画停電の話が出てきた。自分達も停電で苦勞していた最中だったので、とても人事に思えなかった。ただ自分の目には少し驚きだったのは、不足電力に対する関西からの電力供給が変圧器の問題でできないということだった。自分たちも当時女川原発・福島原発がどうなるかまだよく分からない状況だったので、今後の安定した電力供給に不安な気持ちになった。日本の技術水準をもってすれば大した問題ではないように思う。いろいろな構造的な問題があるのかもしれないが、日本のどこかが今回のように被災する可能性を考え、すぐに改善すべき問題ではないだろうか？今回被災した自分達は電力供給の重要性・ありがたさを身にしみて感じている。今後このような災害が起こった際、その当事者の方々にできるだけ早く電力供給のサポートを行えるように、この日本東西の電力供給の問題を解決できればと切に願う。

不思議な人生の巡り合わせで、4月から自分は東京の国立精神・神経医療研究センターで研究を続けている。震災前からこの話は進んでいて、現在はADHD・広汎性発達障害をテーマにする精神保健研究所 知的障害研究部で室長として勤務を始めた。一般には知られていないことだが早産児にはADHD・広汎性発達障害の疾病率が高く、今後自分の保育器・人工子宮開発の技術を活用して、胎児

期・新生児期の脳の発達プログラミングとこれらの疾患メカニズムの解明・治療法の開発を基礎・臨床研究の両面から行いたいと考えている。幸運にも隣の研究室には三島先生、そしてヴァンダービルト大学で同じく隣の研究室だった肥田さんもいて、今後知的障害研究部との共同研究も進んで行くことと思う。

人生何があるか分からない。残りどのくらい自分が研究を続けることができるか分からないが（20年あるいは30年？）、若い人材を育てながら、この武蔵野

の地で自分の目標である早産児の発達を最適化する人工子宮環境の開発を実直に進めて行こうと思う（現在、このような研究テーマに取り組みたいと考えている人材を募集中。生物学・工学・心理学・医学と幅広い分野の方を対象としています）。

また、たまたま近くに住んでいて今回この話もちかけてくれた編集長の岩崎秀雄さんに感謝いたします。お陰でその当時の気持ちを短いながら文章にまとめることができました。



・ひびの入ったビル



・食糧確保のために並ぶ人たち



・震災後の研究室



・病院の配給で一息

第18回日本時間生物学会学術大会開催のお知らせ

2011年度学術大会を下記日程で開催します。日程のご予定をお願いいたします。演題申し込みは例年のように7月頃に案内をお送りします。奮ってご参加頂きますようお願いいたします。

第18回日本時間生物学会学術大会 大会長
名古屋大学理学部 近藤孝男

会期：2011年11月24日（木）－25日（金）

会場：名古屋大学東山キャンパス 理学部大講堂／野依記念学術交流館／

プログラム

理事会での討議を踏まえ、一日目は従来の基礎系－臨床系を分けずに、すべての発表を一会場で行います。ポスター発表も一日目に充分時間をとって行います。一方、2日目は従来の様な構成で2会場に分けて行います。またポスター賞は大会に参加された評議員の投票をもとに、委員会で決定します。

24日（木）

- ・シンポジウム（S1「時間生物学の歩み」、S2「残されたフロンティア」）
- ・総会
- ・奨励賞授賞式、受賞講演
- ・ポスター討議 奇数・偶数2つのグループで討議、掲示は25日夕刻まで
- ・懇親会

25日（金）

- ・シンポジウム
基礎系（S3「リズム生態学のひろがり」、S5「植物の視点から」、S7「哺乳類の時計」、S9または口頭発表1）
臨床・社会系（S4「創薬への展開」、S6「社会学／睡眠／季節性」、S8「未定」、S10または口頭発表2）
- ・ポスター賞授賞式、閉会

ポスターのタイトルは準備委員会案で、理事会の承認を得ていますが、すべて仮題です。大会の案内をお送りするまでに、内容を決定します。未定の部分もありますので、ご提案がありましたら、学会誌の送付日から1週間以内に、準備委員会までお知らせ下さい。

なお学会終了後、名古屋大学GCOE主催の国際シンポジウム“Design of the circadian systems”が開催されます。引き続きご参加頂くようお願い致します。

Symposium: Design of the circadian systems

日程 11月25日夕刻－26日（土）（名古屋大学GCOEシステム生命科学主催）

会場：名古屋大学東山キャンパス 野依記念学術交流館

このシンポジウムは概日現象のシステムとして理解を目指したものです。

Nov 25-26, 2011, Noyori Conference Center, Nagoya University

25th (Fri) 5 pm

Symposium 1 Robustness, Multilayer regulation, System
Get together party

時間生物学 Vol.17, No.1 (2011)

26th (Sat)

Symposium 2 Protein Clocks

Symposium 3 Multi-clock integration, Photoperiodism

Symposium 4 Clock in Ecosystem

Poster Session

Party

第9回（2011年度）日本時間生物学会 学術奨励賞公募のお知らせ

【臨床・社会部門の年齢制限が変更になりました】

学術奨励賞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ものです。原則として基礎科学部門1名、臨床・社会部門1名の計2名を表彰します。自薦・他薦を問いませんので、どしどしご応募下さい。応募にあたっては下記の様式に従って書類一式を提出して下さい。なお、今回から、臨床・社会部門の応募年齢が応募時点で41歳以下となりました。基礎科学部門の年齢制限は従来通り、37歳以下です。

応募締め切り：平成23年8月20日（土）必着

応募書類あて先：〒464-0814 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

日本時間生物学会事務局 海老原史樹文

日本時間生物学会学術奨励賞選考委員長

柴田重信（早稲田大学）

日本時間生物学会学術奨励賞候補者調書

1. 希望審査部門：基礎科学部門もしくは臨床・社会部門の一方を選択
2. 氏名^{しめい}：
3. 生年月日：
4. 現職：
5. 最終学歴ならびに職歴：
6. 学会等での表彰歴：
7. 本件に関する連絡担当者名とメールアドレス：
8. 業績
 - ① 研究課題名：
 - 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：
 - ⑤ 代表的な論文の別刷（3編以内：できればそのPDFファイルも添付）：

第18回日本時間生物学会学術大会開催のお知らせ

2011年度学術大会を下記日程で開催します。日程のご予定をお願いいたします。演題申し込みは例年のように7月頃に案内をお送りします。奮ってご参加頂きますようお願いいたします。

第18回日本時間生物学会学術大会 大会長
名古屋大学理学部 近藤孝男

会期：2011年11月24日（木）－25日（金）

会場：名古屋大学東山キャンパス 理学部大講堂／野依記念学術交流館／

プログラム

理事会での討議を踏まえ、一日目は従来の基礎系－臨床系を分けずに、すべての発表を一会場で行います。ポスター発表も一日目に充分時間をとって行います。一方、2日目は従来の様な構成で2会場に分けて行います。またポスター賞は大会に参加された評議員の投票をもとに、委員会で決定します。

24日（木）

- ・シンポジウム（S1「時間生物学の歩み」、S2「残されたフロンティア」）
- ・総会
- ・奨励賞授賞式、受賞講演
- ・ポスター討議 奇数・偶数2つのグループで討議、掲示は25日夕刻まで
- ・懇親会

25日（金）

- ・シンポジウム
基礎系（S3「リズム生態学のひろがり」、S5「植物の視点から」、S7「哺乳類の時計」、S9または口頭発表1）
臨床・社会系（S4「創薬への展開」、S6「社会学／睡眠／季節性」、S8「未定」、S10または口頭発表2）
- ・ポスター賞授賞式、閉会

ポスターのタイトルは準備委員会案で、理事会の承認を得ていますが、すべて仮題です。大会の案内をお送りするまでに、内容を決定します。未定の部分もありますので、ご提案がありましたら、学会誌の送付日から1週間以内に、準備委員会までお知らせ下さい。

なお学会終了後、名古屋大学GCOE主催の国際シンポジウム“Design of the circadian systems”が開催されます。引き続きご参加頂くようお願い致します。

Symposium: Design of the circadian systems

日程 11月25日夕刻－26日（土）（名古屋大学GCOEシステム生命科学主催）

会場：名古屋大学東山キャンパス 野依記念学術交流館

このシンポジウムは概日現象のシステムとして理解を目指したものです。

Nov 25-26, 2011, Noyori Conference Center, Nagoya University

25th (Fri) 5 pm

Symposium 1 Robustness, Multilayer regulation, System
Get together party

時間生物学 Vol.17, No.1 (2011)

26th (Sat)

Symposium 2 Protein Clocks

Symposium 3 Multi-clock integration, Photoperiodism

Symposium 4 Clock in Ecosystem

Poster Session

Party

第9回（2011年度）日本時間生物学会 学術奨励賞公募のお知らせ

【臨床・社会部門の年齢制限が変更になりました】

学術奨励賞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ものです。原則として基礎科学部門1名、臨床・社会部門1名の計2名を表彰します。自薦・他薦を問いませんので、どしどしご応募下さい。応募にあたっては下記の様式に従って書類一式を提出して下さい。なお、今回から、臨床・社会部門の応募年齢が応募時点で41歳以下となりました。基礎科学部門の年齢制限は従来通り、37歳以下です。

応募締め切り：平成23年8月20日（土）必着

応募書類あて先：〒464-0814 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

日本時間生物学会事務局 海老原史樹文

日本時間生物学会学術奨励賞選考委員長

柴田重信（早稲田大学）

日本時間生物学会学術奨励賞候補者調書

1. 希望審査部門：基礎科学部門もしくは臨床・社会部門の一方を選択
2. 氏名^{しめい}：
3. 生年月日：
4. 現職：
5. 最終学歴ならびに職歴：
6. 学会等での表彰歴：
7. 本件に関する連絡担当者名とメールアドレス：
8. 業績
 - ① 研究課題名：
 - 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：
 - ⑤ 代表的な論文の別刷（3編以内：できればそのPDFファイルも添付）：

編集後記

■多くの尊い命が失われ、まだまだ復旧の目途のたない3月11日の未曾有の大震災、社会について、自然について、人間について、生命について、あらゆることを根本的に見つめなおす必要性を改めて感じました。皆様のご家族、生活・研究の場はご無事だったでしょうか。原発問題もあり、科学・技術と社会の関係性についても多くの課題が浮かび上がってきています。被災された方々、避難所生活を送られている方々、さらに昼夜を問わない過酷な復旧作業に従事されている方々の健康面を考えますと、時間生物学・睡眠医学にも直接的間接的にお役に立つ知恵が蓄積されています。実際に、何人かの会員の方々が熱心にインターネットを通じて睡眠に関する情報などを提供して下さっており、改めて感謝申し上げます。梅雨や猛暑、台風の季節を迎えつつあり、被災地の状態が大変心配ですが、一刻も早い復旧をお祈り申し上げます。

■今号は、異例の多さとなった奨励賞受賞論文3編と力作の総説2編を掲載いたしました。また、仙台で被災された太田英伸先生（当時東北大学）にご無理を申しあげ、体験記を急遽執筆していただきました。色々な教訓が込められております。それぞれに大変興味深く、また貴重な内容で、執筆者の先生方に感謝申し上げます。

■クオリティの高い今号の表紙の原画は、オーストラリアとロンドンを基盤に、医学/生物学と文化・社会を巡って意欲的な作品を発表している気鋭の現代美術家、ヘレン・パイナー Helen Pynorさんにご提供いただきました。内臓という、ともしればおどろおどろしい描画の対象になりそうな器官とそれにまつわる人間の営みや想念を巡って、静謐な詩情と理知的な分析と卓越した表現力で捉えなおし、色々考えさせられつつも視覚的にもとても妖しく美しい Biological art作品、興味深い「作者のことば」と合わせてご堪能ください。

■今年から、時間生物学会の役員が改選となり、近藤孝男理事長、海老原史樹文事務局長のもとで新体制に移行しました。今まで理事長を務めてくださった本間研一先生、事務局長を務めてくださった柴田重信先生に改めて感謝申し上げます。これに伴いまして、編集局もだいぶメンバーが入れ替わりました。6年に亘って編集委員長を務められ、本誌の質的向上に大きく貢献していただきました富岡憲治先生から、不肖私（岩崎秀雄）がバトンを引き継ぐことになりました。編集に関わる多くの改善を実行に移された大ベテランの富岡先生の後任をお引き受けするのは、まったくの若輩者の私には誠に恐れ多いことですが、ぜひ学会の顔としての学会誌のレベルを維持しつつ、よりよいものにしていけるよう精進したいと思います。と言いつつ、早速私の不手際から発刊が通常よりだいぶ遅れ、皆様の手元に届くのが遅くなってしまったことをお詫び申し上げます。会員の皆様には、今後とも一層のご協力をお願いすることになるかと思いますが、どうぞよろしく願い申し上げます。

時間生物学 Vol. 17, No. 1 (2011) 平成23年6月30日発行

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

(事務局) 〒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 海老原史樹文研究室内
Tel : 052-789-4066

(編集局) 〒162-8480 東京都新宿区若松町2-2
早稲田大学先端生命医科学研究センター
(TWIns) 1F 岩崎秀雄研究室内
Tel : 03-5369-7317 Email : hideo-iwasaki@waseda.jp

(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