

# 目次

## 巻頭言

「生物時計を思想史散歩してみよう」……………岩崎 秀雄 …… 1

## お悔み

「サージ・ダーン博士を偲んで」……………本間 研一 …… 4  
「井深信男先生を偲んで」……………海老原 史樹文 …… 6

## 総説

「睡眠覚醒サイクルの変動要因とその特徴～「春眠暁を覚えず」の疫学～」……………橋崎 将典・桑 和彦 …… 8  
「細胞レベルの概日リズム測定からわかる植物の時間秩序」……………小山 時隆 …… 16  
「シアノバクテリアの概日時計タンパク質 KaiC が 1 日を計る仕組み」……………伊藤（三輪）久美子 …… 23

## 学術奨励賞受賞者論文

「哺乳類の概日時計システムを分子レベルで理解する」……………吉種 光 …… 30  
「睡眠・生体リズム失調の生理的基盤と健康影響」……………北村 真吾 …… 35

## 特集：ノーベル賞受賞者の横顔

「Jeff Hall を讃える」……………山元 大輔 …… 40  
「Jeffrey Hall が歩んだ道」……………谷村 禎一 …… 41  
「ノーベル賞とバスケットボール」……………名越 絵美 …… 42  
「2017 年ノーベル医学生理学賞の激しい競争—MW Young 博士の粘りと成功」……………石田 直理雄 …… 43  
「A speedy version of the *double-time* story」……………Blau J, Kloss B, Rothenfluh A …… 45  
「Mike Young の「狡兎三窟」」……………松本 顕 …… 49  
「Cowboy, Hunter, Samurai, & Gentleman」……………霜田 政美 …… 52

## 活動報告

「睡眠リズム障害患者会」……………志村 哲祥・竹前 翔太郎 …… 55

## 研究室便り

「徒然独立日記 ～黎明編～」……………小島 志保子 …… 59

## リレーエッセイ

「異分野を知ることのすすめ」……………遠藤 求 …… 66

## 第 24 回日本時間生物学会学術大会関連

「第 24 回日本時間生物学会学術大会開催報告」……………沼田 英治 …… 68  
「トレーニングコース「ピッテンドリックを読む」講演報告」……………中村 渉 …… 69  
「時間生物学トレーニングコース「ピッテンドリックを読む」に参加して」……………小林 里帆 …… 70  
「時間生物学トレーニングコースに参加して」……………杉山 瑞輝・林 弦樹 …… 71  
「第 24 回 日本時間生物学会学術大会に参加して」……………阿部 泰子 …… 73

## 関連学会参加記

「Consortium of Biological Sciences 2017 参加報告」……………大塚 剛司 …… 74  
「The Biology of Time, circadian, lunar and seasonal rhythms 参加記」……………野口 貴子 …… 76

第 25 回日本時間生物学会学術大会のお知らせ……………前村 浩二 …… 77

第 16 回（2018 年度）日本時間生物学会学術奨励賞公募のお知らせ……………本間 研一 …… 79

事務局報告……………吉村 崇 …… 80

日本時間生物学会会則……………82

賛助会員リスト……………87

執筆要領……………88

## 編集後記

# 日本時間生物学会

**理事長** 深田 吉孝

**副理事長** 糸 和彦 柴田 重信 吉村 崇

<b>事務局長</b>	吉村 崇	<b>編集委員長</b>	重吉 康史
<b>国際交流委員長</b>	本間 さと	<b>広報委員長</b>	八木田 和弘
<b>将来計画委員長</b>	三島 和夫	<b>学術委員長</b>	岡村 均
<b>奨励賞選考委員長</b>	本間 研一	<b>連携委員長</b>	柴田 重信
<b>優秀ポスター賞選考委員長</b>	小山 時隆	<b>研究倫理委員長</b>	前村 浩二
<b>評議員推薦委員長</b>	糸 和彦		

**監査委員** 山篠 貴史

## 理事

上田 泰己	内山 真	岡村 均	糸 和彦	小山 時隆	重吉 康史
柴田 重信	沼田 英治	深田 吉孝	本間 研一	本間 さと	前村 浩二
三島 和夫	八木田 和弘	吉村 崇			

## 編集委員会

明石 真	飯郷 雅之	池上 啓介	伊藤 浩史	岩崎 秀雄	大川 妙子
太田 英伸*	小山 時隆*	糸 和彦	栗山 健一	黒沢 元	駒田 陽子
小柳 悟	沼野 利佳	肥田 昌子	福田 弘和	増淵 悟	吉川 朋子
吉村 崇	(*副編集委員長)				

(50音順、2018年4月現在)





もう一つ、北方ドイツの神学者ハインリヒ・ゾイゼ（1295?-1366）の『永遠の知恵の書』の写本には、牧師に説教を垂れる女性の像が描かれています。通常説教を垂れるのは牧師ですからおかしな構図です。興味深いのは、その女性の両脇に機械時計が配置されていることです。「最近では宗教界も腐敗が横行している。きちんとした知恵・知識を鍛え直して宗教界も立て直さなければならない」といったメッセージがここには込められているそうです。この女性が象徴しているのは知恵や知識を意味する「Sapientia」。そう、*Homo sapiens*の語源となったラテン語ですね。その知恵・知識の象徴として時計が描かれているというわけです。

話を戻しますが、12世紀以降に中国から機械時計がもたらされると、ヨーロッパでは非常に長い期間、時計は特権的な位置を占めました。19世紀に近代的蒸気機関が登場するまで、機械時計は工学機械とくに自動式の機械の頂点として君臨し続けたわけです。僕たちは、色々なことを考える時に、その時代の最も進んだ機械との対応関係を連想しながら論じがちです。たとえば、脳の問題をコンピュータとの関連で論じるように。しかも、時計は時を統べます。時をつかさどることは、洋の東西を問わず権力機構と必然的に関わってきます。スケジュール管理を握ることができるからです。時の権力者や教会が、競うように誇らしげに高い塔をつくり、そこに時計を掲げ続けたのは、ヨーロッパの古い街並みを一度でもご覧になった方はよくご存じでしょう。

このように、時計は単に時を測る道具というだけでなく、中世から近代にかけて、西欧の人間の日々の営みや思想や風土、物の考え方、文学に絶大な影響を与えたと考えられています。およそあらゆるものが時計に例えられ、その連想をもとに議論されました。それは身体や生命論だけでなく、国家体制、王権、社会制度、法体系にまで及びます。さらに、神学においても重要な意義を持ちました。これは随分後になってからですが、18世紀イギリスの神学者、ウィリアム・ペイリーは『自然神学』（1802）という大著の中で、とても興味深い「神の存在証明」を発表します。すごく簡単に意識すると「生命や人間を含む自然が極めて精巧な機械のようなものであることは確かだ（唯物論・機械論的な前提を受け入れる）。ところで、あらゆる機械はそれをデザインした設計者がいるのだから、自然哲学（現在でいうところの自然科学）が明らかにしていくように自然の巧妙な機械性を認めれば認めるほど、そこに設計者がいることは明らかである」というロジックです。

そこでビュニングの時計概念に話を戻しましょう。このようなペイリー流の時計解釈、あるいはそれ以外の様々な時計のメタファーの横溢する世界に、突如「身体の中の時計」という概念が科学的なものとして登場したら、当時の人々はどのようにそれを受け止めたのでしょうか？ 実は、僕が体内時計に本気で興味を持ったのは、この問いを思いついたからでした。大学2、3年の頃です。この問いを検証するには、文献学的な研究をするしかありません。1930年代の神学者たちがどのようにビュニングの概念を受け止めたか、パンフレットや日記に

記していないだろうか？みたいな研究計画が次々と頭に浮かんできます。

が、言うは易し行は難い。語学のハンディもある。とりあえずやりやすいところから調べていくうち、当初の予想とは少々異なる時代的な様相があったらしいことも知ようになりました。たとえば、ビュニングの活躍する少し前から（19世紀の後半から）、今度は「リズム」に関して大きな学問的な展開と、それと連動するかのように独特な文学的なイメージの広がり、広範に起こっていたことが分かってきたのです。先に、ビュニングが（文学性・神秘性ゆえに）「多くの論敵と対決しなければいけなくなった」と書きました。しかし、それはどうも時計のイメージに関する論争であっただけでなく、20世紀初頭まで特にドイツ語圏で花開いた「生命とリズムに関する言論・表現文化」の渦中にあったから、という可能性が高いのです。その20世紀初頭の「生命リズムブーム」とでもいうべき状況は、日本にも間接的に影響し、「大正生命主義」と呼ばれることのある大正文学の潮流にも波及したとも考えられます。さらに、1970年代に日本でも大流行し、多くの先輩時間生物学者の先生方が迷惑したと述懐しておられる、占いっぽい「バイオリズムブーム」（誕生日を起点として、23日あるいは28日の「体内リズム」が持続するという説）の萌芽も、実は20世紀初頭のドイツ語圏の精神分析の潮流から派生したものです。

こうした分析は過去のことだけでなく、現在の時間生物学の社会的な受容（さらには研究者の潜在的な認識）についても一定程度適用できることかもしれません。ということで、過去のことだけでなく、現在のことも少しは知っておかねばならないと思って、当時基礎生物学研究所におられた近藤孝男先生を訪ねたのが具体的な生物時計研究への入り口となりました。結果的に現代的な生物時計研究の魅力にも見事に感染し、ミイラ取りがミイラになって、「少しは知っておかなくては」のほうメインになり、大変有意義な研究生活に恵まれて今に至っております。

しかし一方で「初心忘れるべからず」とも思っています。いま僕たちが実際にしている研究は、どのようなイメージや文学性と結びついているのか、科学をしていること自体に、実は特定の文学性や哲学性があるのではないか、あるとすればそれはどのような背景をもっているのだろうか。なお、ここで言う文学性は、科学の外にいる方々が科学にどんな印象を持つのか、どんな連想をするのか、ということだけでなく、もっと内在的にも考えられるものです。たとえば「分子が機能を持ち、他の分子を認識し、クロストークし、情報を伝達し…」というのはごく普通の生物学的記述ですが、同時に、あるタイプの物理学者からはぎょっとされるほど擬人的な記述でもあります。では、それはただの方便に過ぎないのでしょうか？ それとも記述しなくてはならない本質的な背景があるのでしょうか？

こうした問いは、通常の科学論文の主題にはなりません。でも、こうしたことも大事だし、面白いと思うのです。それを的確に議論したり表現したりするにはどうしたらよいか、そんなことも併せながら研究生活を進めていきたい、と思う今日この頃です。

というわけで、自分の研究には、実はこんな文学性があると思うんだけど、とか思う方は是非お聞かせください。時間生物学会が、そういう話も気軽にできる場だと一層楽しいのではないかと思います。

## サージ・ダーン博士を偲んで

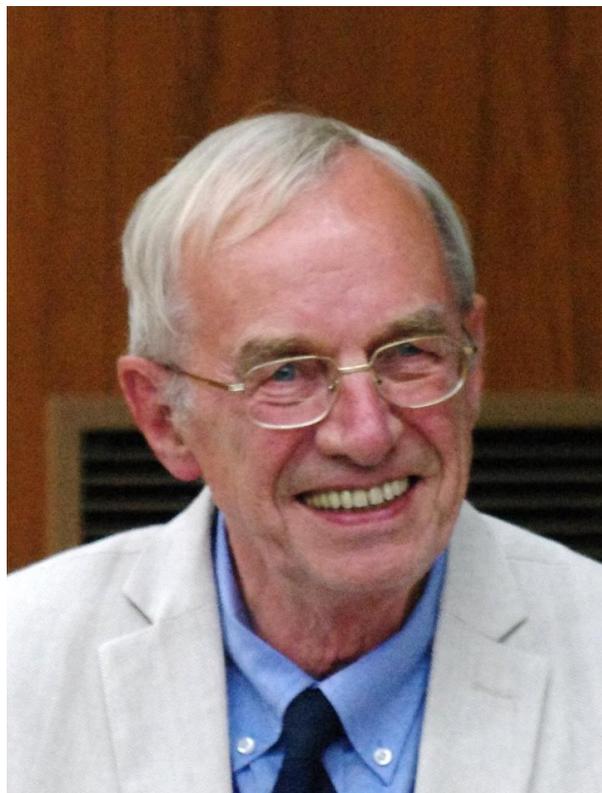
本間 研一<sup>✉</sup>

北海道大学名誉教授

去る2月9日、サージ・ダーン博士がオランダ、グローニンゲンのご自宅にて78歳の生涯を閉じられました。ここに慎んで哀悼の意を表します。ダーン博士は日本の時間生物学に大きな影響を残しました。1986年の「第2回 生物リズムに関する札幌シンポジウム」で講演されて以来、しばしば日本を訪問され、2006年には時間生物学の分野では初めての「国際生物学賞」を受賞されました。2009年には文部科学省の著明外国人研究者招聘事業で来日され、また2010年には平和中島財団の招聘により3カ月間日本に滞在し、全国の大学を訪問するとともに、日本時間生物学会で特別講演をされました。2014年の「生物リズムに関する札幌シンポジウム」での講演が日本での最後の活動となり、その後闘病生活に入られました。2016年に「アショフ・ホンマ生物リズム特別賞」を受賞されております。

ダーン博士は、1973年に「冬眠と概日リズム」に関する研究で学位を取得し、その後、生物リズム研究の泰斗であるマックスプランク研究所のユルゲン・アショフ教授とスタンフォード大学のコリン・ピッテンドリー教授に師事しました。私がアショフ教授の研究所に留学したときは、ダーン博士はすでに米国に移っておりましたが、アショフ教授の兄弟弟子として、長いことお付き合いをさせていただきました。ダーン博士がピッテンドリー教授と共同執筆した5編の論文<sup>1</sup>は今や生物リズム研究のバイブルとして、リズム研究者必読の文献となっています。私が現役だった頃は、数年に1度大学院生らを対象としてこの論文の詳読会を行いました。この論文は、内容もさることながら英文が独特で、学生には難解との印象を与えましたが、読み直すごとに新しい発見があり、私の座右の書となっています。ダーン博士の研究範囲は、鳥の生態学からヒトの睡眠に至るまで極めて広く、その姿勢は森羅万象を論理的に理解しようとすることに貫かれておりました。特に1984年、スイスのアレクサンダー・ボベリー博士らとの共著<sup>2</sup>で展開した「Two Process

Model」は、世界中の睡眠研究者に大きな示唆を与え、その理論は現在でも睡眠学の教科書に載っています。これに関しては幾つかのエピソードがあります。時間生物学ゴードンカンファレンスで彼がこの理論を初めて発表したとき、師匠のピッテンドリー教授との興味ある会話を私はそばで聞いておりました。ピッテンドリー教授は彼の説に否定的で、何度も「間違っている」と彼に言っていました。ピッテンドリー教授は動物の光周性に関して2つの自律振動子を想定する「内的符号モデル」を提唱しており、ビューニングの恒常性維持機構（砂時計）を前提とした「外的符号モデル」と対立していました。教授には、ダーン博士の砂時計型 S (sleep) プロセスが外的符号モデルと重なって



Serge Daan 1940-2018

生物リズムに関する札幌シンポジウムにて（2014. 7. 26 撮影）

<sup>✉</sup> kenhonma@med.hokudai.ac.jp

みえたのでしょう。また、アショフ教授も、ピッテンドリー教授ほど直接的には批判しませんでした。2プロセスモデルでは説明できない睡眠現象に、覚醒時間の長さや時間感覚との関係を指摘していました。隔離実験で、概日リズムと睡眠覚醒リズムが内的脱同調を起こした被験者では、時間感覚が大きく変化し、睡眠覚醒リズムの周期が延長するタイプの内的脱同調では、被験者は1日の長さを過少評価するようになります。アショフ教授は、この時間の過小評価は覚醒時間が延長した結果ではなく、覚醒時間が延長した日の起床時から始まっていることを実験結果から示唆し<sup>3</sup>、Sプロセスよりも自律振動子を想定した方が説明しやすくと述べていました。私達も、隔離実験室で強制的に内的脱同調を起こした後の再同調過程を解析して、2プロセスモデルでは説明できないことを示しています<sup>4</sup>。ダーン博士とはこの問題について何度も議論し、彼も2プロセスモデルでは説明できない睡眠現象があることは認めていました。2プロセスモデルの根幹であるSプロセスの実態が未だ明らかになっていないこと、それに対して、行動(睡眠)リズムを駆動する振動体が概日リズム振動体が存在する視交叉上核以外にもあること<sup>5</sup>などの学問的理由から、また1984年のAm J Physiolではダーン博士が第一著者でしたが、その後2プロセスモデルを最初に提唱したのはボベリー博士であると一部の睡眠研究者が唱えていることを気にしてか、晩年のダーン博士はSプロセスをあまり強調しなくなりました。これに関しては、1980年にスイスのアナ・ビルツジャスティス博士が撮影した写真があり、そこにはダーン博士が2プロセスモデルを黒板に書いている姿が写っています。

ダーン博士はアショフ教授の学問や人柄に心酔しており、最後の数年をアショフ教授の伝記の執筆に全力を傾けていました。伝記出版については、私も何度か相談を受け、初版本はドイツ語で出版するが、英語と日本語の翻訳本をアショフ・ホンマ記念財団から出して欲しいと頼まれておりました。そしてアショフ教授の伝記<sup>6</sup>は、ダーン博士が亡くなる2カ月前に出版されました。念願の伝記の完成をみて、肩の荷がおりたのでしょうか。亡くなる3週間前に、版權の件でダーン博士とメール交信したのが最後の交流でした。

ダーン博士は、自身の学問に強い信念を持ち、議論

の場で時にはむきになることもありました。しかし、最後には「好みの問題 (matter of taste)」として議論を打ち切りました。この彼の言葉を、「これ以上あなたと議論しても仕方がない」と受け止め、しらじらしく感じる研究者もいますが、事実とその解釈は異なることを知っているの発言と思われる。ダーン博士は「仮説は複雑な事実を単純な原理で説明するだけでは十分ではない。優れた仮説には検証可能な預言 (prediction) が含まれている」とよく言っていました。理論家としての面目躍如たる「言い」でした。

## 参考文献

1. Pittendrigh, C., & Daan, S. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. I. The stability and lability of spontaneous frequency. *J. Comp. Physiol. A*, **106**, 223-355 (1976).
2. Daan, S., Beersma, D. G., & Borbély, A. A. Timing of human sleep: recovery process gated by a circadian pacemaker, *Am. J. Physiol.* **246**, R161-R183 (1984).
3. Aschoff, J. On the perception of time during prolonged temporal isolation. *Hum. Neurobiol.*, **4**, 1-51 (1985).
4. Hashimoto, S., Nakamura, K., Honma, S., & Honma, K. Non-photic entrainment of human rest-activity cycle independent of circadian pacemaker. *Sleep Biol. Rhythms* **2**, 29-36 (2004).
5. Natsubori, A., Honma, K., & Honma, S. Dual regulation of clock gene *Per2* expression in discrete brain areas by the circadian pacemaker and methamphetamine-induced oscillator in rats. *Eur. J. Neurosci.* **39**, 229-240 (2014).
6. Daan, S. Die innere Uhr des Menschen: Jürgen Aschoff (1913–1998), Wissenschaftler in einem bewegten Jahrhundert. Reichert Verlag (2017).

## 井深信先生を偲んで

海老原 史樹文<sup>✉</sup>

関西学院大学 理工学部

時間生物学会名誉会員で学会理事を務められた井深信先生（享年 76 歳）が今年の 11 月にご逝去されました。時間生物学、心理学などの学会や教育行政などに対するご貢献を考えるにつけ、いささか早いご逝去の報に接し残念でなりません。

井深先生と私とは、研究面で直接的な関係があったわけではありませんが、かつて勤務されていた三菱化成生命科学研究所の故川村浩先生の研究室に私も所属していた関係で、追悼文を書かせていただきます。

井深先生は、時間生物学会の前身である生物リズム研究会（1984 年発足）や臨床時間生物学研究会（1986 年発足）の設立当初から研究会活動に携われ、我が国の時間生物学研究の発展に大きく貢献してこられました。1987 年には滋賀大学で第 4 回生物リズム研究会を主催され、また臨床時間生物学研究会の発足幹事として研究会活動を牽引されてこられました。

東京教育大学教育学部の心理学科をご卒業後、同大学大学院を経て三菱化成生命科学研究所の故川村浩先生のもとで、日本で初めて視交差上核の機能に関する研究を始められました。川村先生の視交差上核に関する一連の研究は有名ですが、その最初の実験となる視交差上核の破壊を行い、睡眠・覚醒リズムが消失することを報告されています。当時は、概日時計の実体が不明なためにリズム発現に迫る研究は全く進んでいませんでしたが、1972 年にラット視交差上核の破壊により血中コルチゾールの血中濃度と回転輪活動の概日リズムが消失することが発表され、視交差上核がにわかに注目を集めるようになった時でした。概日時計の局在を直接的に証明するためには、脳そのもののリズムを測定することが重要と考え、井深先生はラットの脳波を連続記録する実験を 1973 年にスタートされました。今日では脳波の測定や解析はデータのデジタル化により容易になってきましたが、当時は、何ヶ月も続く脳波、筋電図、眼球運動のポリグラフを連続記録して、その記録を覚醒、徐波睡眠、逆性睡眠に分類する大変な作業を要する実験でした。私が研究所

に在籍した時に、膨大な脳波記録紙が山のように積まれていたことを思い出します。今日、脳神経科学における概日リズムの重要性については広く認識されていますが、その先駆けとなる研究業績を挙げられた先生のご貢献は高く評価されると思います。実際、その結果の重要性を表すように、論文が発表されると相当な数の別刷り請求があったと聞いています。この研究は、その後、井上慎一博士による視交差上核の切り離し実験におけるマルチユニット活動のリズム、佐脇敬子博士による視交差上核の移植実験などにつながり、視交差上核に関する研究発展の礎になってきたと思います。

時間生物学研究におけるもう一つのご貢献は、季節性リズムに関する研究です。三菱化成生命科学研究所を退職され、滋賀大学教育学部に移られた後、季節性適応の視点からハムスターの冬眠と生殖機能について研究に取り組みされました。当時の我が国の時間生物学分野では季節性リズムや概年リズムを研究対象にする人はほとんどいませんでしたが、井深先生は早くからこの分野の重要性を認識され研究をスタートされました。1987 年に開催された第 2 回臨床時間生物



川村先生を偲ぶ会の時の井深信先生

学会では、「Daily Torpor の季節リズムと概日システム」というタイトルで、また、2001年の時間生物学会の会誌に「冬眠研究の最近の話題～睡眠ホメオスタシス仮説の展開～」というタイトルの総説を投稿されています。当時、私は学会誌の編集長を務めており、原稿を集めるのに一苦労していましたが、先生の積極的な投稿により、この総説が依頼原稿ではない時間生物学会誌初めての査読投稿論文となりました。また、時間生物学研究の発展動向をまとめた単行本「行動の時間生物学」を朝倉書店から出版し、その中にも季節性リズムや概年リズムなど概日リズムとは異なる様々なリズム現象についてまとめられています。

その後教育行政に力を注ぎ、滋賀大学教育学部学部長、理事、副学長を経て2008年に聖泉大学学長に就任されています。この間のご活躍については、詳しくは存じ上げませんが、先生の人となりから、大学の管理運営に大いに尽力されたことと思います。

先にも述べましたが、井深先生と私とは研究面での直接的なつながりはありませんでしたが、私の初めての学会発表（動物心理学会）に関心を持っていただいたり（多分質問をされたように記憶しています）、川村先生の門下生であったりしたことなどから、何かとつながりのある間柄でした。その関係で、長年にわたり親しくしていただいております。突然の訃報に接して残念でなりません。これまでのご好意に感謝しつつ、ご冥福をお祈りいたします。

その後教育行政に力を注ぎ、滋賀大学教育学部学部長、理事、副学長を経て2008年に聖泉大学学長に就任されています。この間のご活躍については、詳しくは存じ上げませんが、先生の人となりから、大学の管理運営に大いに尽力されたことと思います。



滋賀大学副学長として活躍されていた当時の井深先生（左端）。  
滋賀大学提供（2007年撮影）

# 睡眠覚醒サイクルの変動要因とその特徴 ～「春眠暁を覚えず」の疫学～

橋崎将典<sup>1</sup>・桑 和彦<sup>2</sup>✉

1:オムロン株式会社 技術知財本部、2:名古屋市立大学 大学院薬学研究科 神経薬理学分野

ヒトの睡眠覚醒サイクルは様々な要因によって日々、変化している。性別や年齢などの内因性要因の影響は以前からよく知られているが、気候や社会活動などの外因性要因の影響については、統制された研究室などの環境下による実験と、質問紙や簡便な睡眠計測機器の開発による実際の生活環境に近いデータを紐付けることで、近年、様々な知見が得られるようになった。現代社会では、睡眠に問題を抱えている人は数多く存在し、社会問題となっているが、その背景には、社会的な時間の制約や、自然環境の変化などの様々な要因が複雑に絡まっている。本稿ではまず、社会的な時間の制約がヒトの睡眠覚醒サイクルおよび生活に与える影響について週単位の特徴的な傾向を中心に紹介し、ついで外部の自然環境の1年を周期とする変化による季節変動について述べ、高度に情報化された現代における睡眠覚醒サイクルの変動について概括する。

## 1. はじめに

ヒトは太古の昔より、1日の中で生じる、主に昼と夜の二つの環境変化に対して、覚醒と睡眠という異なる2つの状態を行き来しながら生活をしている。この睡眠覚醒サイクルを調整する機構の基本的な機能を担っていると考えられているのが、生体の状態を一定に保とうとする生命維持のしくみ、ホメオスタシスと、約24時間の周期で変動する生理的な現象のサーカディアンリズムである。産業革命がおこる前の近代化以前の生活においては、ヒトの睡眠覚醒サイクルに影響を与える主な要因は自然環境の変化で、ヒトは日照時間や天候に自らの生活パターンを適応させてきた。

サーカディアンリズムを作り出すのは1日の時間を測る体内時計で、脳の視床下部にある視交叉上核にその司令塔が存在する。目から入った光は脳に到達して、この視交叉上核に働きかけることで体内時計を調節している。朝早い時間帯の光はヒトの体内時計を進める効果があり、それとは反対に夕方から深夜にかけての光はヒトの体内時計を遅らせる<sup>1</sup>。ヒトの深部体温もサーカディアンリズムを持っており、睡眠覚醒サイクルがこの深部体温のリズムとも関連していることが知られている。周囲の温熱環境は温熱感覚や体温調節に働きかけて睡眠に影響を与えており、就寝中の低温暴露と高温暴露はどちらも適度な温熱環境下と比較して睡眠段階に変化をもたらす<sup>2</sup>。但し、低温暴露に対しては服を着たり、寝具を重ねたりするなどの

行動的な体温調節によって、適切な温熱環境に保たれる場合が多く<sup>3</sup>、主に高温暴露に対する睡眠への影響に焦点を置いた研究がなされてきた。高温暴露はその程度にもよるが、徐波睡眠、REM (Rapid Eye Movement) 睡眠が減少し、睡眠段階1と中途覚醒の増加など睡眠段階の構造への影響がみられる<sup>4,5</sup>。これらの変化は社会が高度に情報化する前までは主に年間を通した大局的な環境の変化と太陽光の1日の変化によって生じていた。

しかし、近年の先進国に代表される高度に情報化された社会においては、ヒトの日々の生活パターンは学校や仕事などの社会的活動に大きく左右されるように変化した。更に、空調や照明機器の普及によって、自然が作り出す環境とは無関係に、ヒトにとって快適な環境を人工的に作り出すことが可能となり、このことが、ヒトの生活パターンの変化を促進した。これらの社会的かつ人工的な要因の影響によって、ヒトの睡眠覚醒サイクルは徐々に変化していき、結果としてここ30年近くで日本を初めとする多くの国々で夜型化が進み、睡眠時間は短縮する傾向にある<sup>6</sup>。このように様々な要因によって変化する睡眠覚醒サイクルであるが、本稿では、まず社会的な要因による影響が大きいと思われる、一週間を単位とする覚醒と睡眠の特徴的なパターンと、それらの生活への影響を紹介する。次に、今日のような高度に情報化された社会において、長期的な外的環境変化である季節変動が及ぼす影響

✉ kume@phar.nagoya-cu.ac.jp

に焦点を当てることで、ヒトの睡眠覚醒サイクルが短期的、長期的にどのような要因によって変化しているかについて概括する。

## 2. 睡眠の週内変動

ヒトはそれぞれクロノタイプと呼ばれる一日の活動の時間的指向性を持っており、大きく「朝型」「中間型」「夜型」のカテゴリに分けられることが多い。しかし、現在の生活においては、社会的な活動に伴う時間の制約によって、個人が思うような時間に就寝して起床する睡眠スケジュールの決め方を実現することは難しい。特に、社会的な時間の制約は主に学校や仕事によってもたらされるため、多くの人は学校や仕事のある日（主に平日：月曜日から金曜日）とない日（主に週末：土曜日と日曜日）で生活のパターンが異なる。典型的な生活パターンの変化は睡眠スケジュールに表れ、学校や仕事がない日はある日と比較して遅い時刻に就床して遅い時刻に離床する。そして、就床時刻の遅延よりも離床時刻の遅延の方が大きく、学校や仕事がある日よりも長めに睡眠に費やす時間を確保している。これは学校や仕事がある日の睡眠は自分が望みだけの睡眠の長さを確保できておらず、日々、睡眠不足が蓄積していくことを表している。ミュンヘンクロノタイプ質問紙（Munich ChronoType Questionnaire: MCTQ）という個人のクロノタイプを評価するために開発された質問紙を用いて、ヨーロッパの複数の国々を対象として、合計5万人以上から取得したデータからは、入眠時刻と起床時刻の真ん

中の時刻にあたる睡眠の中央時刻（mid-sleep time）と、入眠時刻から起床時刻までの長さである睡眠時間（sleep duration）の分布は学校や仕事がある日とない日では異なり、学校や仕事がない日では mid-sleep time は遅延し、sleep duration は延長する傾向にあることが報告されている<sup>7,8</sup>。

筆者らが、アクチグラフと同等の機能を持つ電波を利用した非接触型の睡眠計<sup>9</sup>を用いて収集したデータにおいても、週末（金曜日の晩と土曜日の晩）に平日（日曜日の晩から木曜日の晩）よりも遅く就床して、遅く離床していた。また、その週末と平日の差は年代とともに減少する傾向にあった<sup>10</sup>。床に入ってから床から出るまでの長さである総就床時間は、20歳代から40歳代では、加齢によって就床時間が早まる割合より、起床時間が早まる割合の方が大きいため、徐々に短縮する傾向があったが、その後、増加に転じた（図1）。週末と平日の差は60代で急激に減少するが、この年代は一般的に定年で退職する時期であり、自分が望みだけの睡眠の長さを確保しやすくなり、更に、平日と週末のライフスタイルの違いがなくなると想定されることから、社会的な時間制約の有無が睡眠覚醒サイクルに与える影響の大きさが推察される<sup>10</sup>。

日々の少しの睡眠不足が借金のように積み重なることで心身に悪影響を及ぼす恐れのある状態を、「睡眠負債（Sleep debt）」と呼ぶが、この睡眠負債について、近年、北村らが興味深い研究を報告した<sup>11</sup>。彼らは自覚的には睡眠不足を感じていない健康な被験者を集め、被験者に毎晩12時間就床するように指示

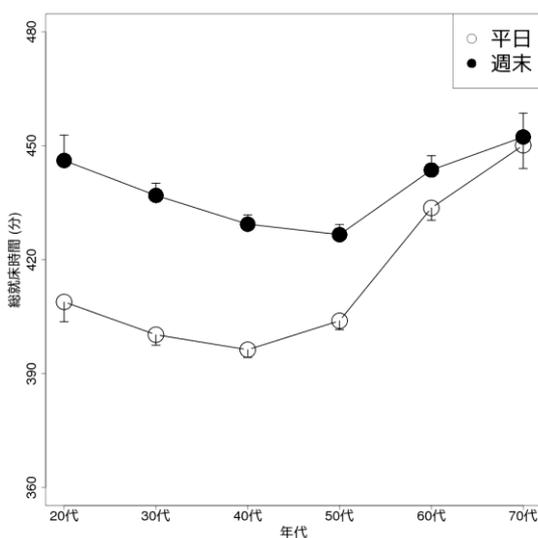


図1 平日と週末における総就床時間の年代ごとの変化。総就床時間の年代ごとの平日および週末の平均値（±標準誤差）。40代まで短くなるが、50代以降から長くなり、平日と週末の差は減少する傾向にある。

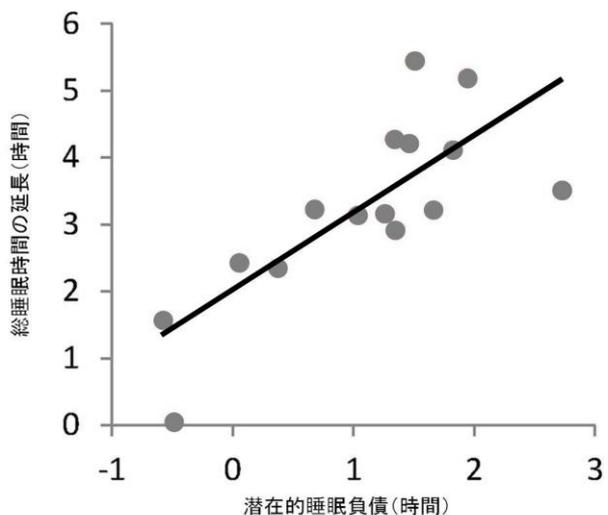


図2 潜在的睡眠負債と総睡眠時間の延長時間との相関。縦軸の総睡眠時間の延長は、習慣的な総睡眠時間と実験初日の総睡眠時間との差分を表し、横軸の潜在的睡眠負債は個人ごとの習慣的な総睡眠時間と最適な総睡眠時間との差分を表し、これら二つの指標が正の相関を示す。（参考文献11より改変して引用）

した。その結果、実験初日に被検者は平均で3時間程度、普段よりも長く眠り、その後、徐々に総睡眠時間（床にいる時間の間に睡眠と判定された時間の総和）は短くなったが、1週間後でも、普段の習慣的な平均的な総睡眠時間よりも1時間程度長く眠ることを見出し、これを「潜在的睡眠負債」とみなした。さらに、この負債の長さが、実験初日の総睡眠時間の延長と比例することを明らかにした（図2）。つまり、普段の生活における週末の睡眠覚醒サイクルの変化の大きさは、普段の睡眠不足の程度に比例すると考えられることから、若い世代ほど、睡眠不足の度合いが大きいことが推察される。

この社会的な時間制約の有無による睡眠覚醒サイクルの変化は、サーカディアンリズムやヒトの認知的な活動および行動に影響を与えること、健康状態に対するリスク因子となることが示唆されている。

週末に平日と比較して遅い睡眠スケジュールで過ごす、週末も平日と同じ睡眠スケジュールで過ごした場合と比較して、日曜日の就寝前の主観的な眠気の度合いが低く、入眠するまでに長い時間を要し、続く月曜日の認知パフォーマンスと全体的な気分の評価が低い<sup>12</sup>。更に、週末に平日と同じ時刻に就床して、離床時刻だけを遅くした場合にも、サーカディアンリズムの指標であるメラトニン分泌開始時刻（*dim light melatonin onset: DLMO*）が日曜日に遅延し、入眠に必要な時間が長くなり、続く週の日中の疲労や眠気が増加する傾向がみられた<sup>13</sup>。一方で、週末に遅い睡眠スケジュールで過ごした被検者にメラトニンを投与すると、DLMOの遅れが中和され、日曜日の日中の眠気を増加させ、入眠に必要な時間を減少させる効果があった<sup>14</sup>。日々の生活の中で容易に実施可能なサーカディアンリズムの調整方法として、午前中の光暴露は睡眠相を前進させる効果があることが知られているが、若者を対象とした場合、週末の朝に光暴露をただけでは、サーカディアンリズムを一定に保つことには効果がみられなかったとの報告もある<sup>15</sup>。これらは社会的な時間の制約の有無によって生じる1週間を単位とした睡眠覚醒サイクルの変化によって生じるサーカディアンリズムの乱れを整えることの難しさを示唆している。このように週明けは、遅れたサーカディアンリズムの状態、平日の社会的な時間を過ぎさねばならず、生活パターンの変化によってもたらされた、生体リズムと社会的時間のずれた「社会的時差ボケ（*Social jetlag*）」の状態に陥る。更に、サーカディアンリズムの乱れは、健康な青年の報酬系の脳機能や睡眠不足症候群の青年の学業成績などと

関連していることも報告されており、影響を及ぼす範囲の大きさが特徴である<sup>16,17</sup>。

睡眠覚醒サイクルの変化は学校や仕事の有無が一番典型的な要因となるため、平日と週末の差異が問題として取り上げられることが多いが、それ以外にも、出張や仕事の繁忙など、その他の様々な要因によっても睡眠スケジュールは日々変動し、それらの変動もまた同様にヒトの生活に影響を及ぼしている。平日と週末のように睡眠スケジュールに大きな変化がなくても、平日の小さな起床時刻の変動でも、主観的な睡眠の質の悪化と関係しており<sup>18</sup>、大学生から高齢者までの幅広い年齢層を通してみても、睡眠習慣を含む規則正しい生活習慣を送っている人ほど、主観的な睡眠がよいという報告もされている<sup>19-21</sup>。規則正しい生活かどうかを判定する基準については一般的に決められた閾値が存在しているわけではないが、退職後の高齢者を対象とした場合、就床時刻と起床時刻のばらつきの小さい（15分以内）群の方がばらつきの大きい（15分より大きい）群よりも、主観的な睡眠の質がよく、睡眠効率（床にいた時間に占める実際に寝ている時間の割合）もわずかに高いことが報告されている<sup>22</sup>。そして、日々の睡眠スケジュールが安定していない個人に対して、事前に取り決めた1時間の時間幅で就床、起床するように指示をすると、日中の眠気が減り、入眠に必要な時間が短縮し、睡眠効率も上がるという効果が報告されており<sup>23</sup>、規則正しい睡眠スケジュールで過ごすように支援することで、サーカディアンリズムを整え、生活の質（*quality of life: QOL*）の向上をもたらすことが期待されている。

これまでに見てきた通り、社会的な要因によって発生する睡眠スケジュールの遅延や乱れはサーカディアンリズムの乱れに繋がり、その影響が日中の眠気や活動のパフォーマンスにまで及ぶ。しかし、その影響は人々のQOLにより大きなインパクトを与える生活習慣病や重大な行動との関連性が示唆されている。近代化された社会における重要な問題の一つとして肥満率の増加が挙げられるが、学校や仕事がある日の睡眠時間で調整した後の、学校や仕事がない日のmid-sleep timeはBMI（*Body Mass Index*） $\geq 25$ の過体重および肥満群においてはBMIと相関する、つまり、社会的な時間の制約がない日に夜型の人ほどBMIが高値になる傾向がある<sup>24</sup>。また、サーカディアンリズムの乱れは睡眠の量的、質的な問題とは独立して糖尿病や炎症と<sup>25</sup>、青年期においては平日の短いsleep durationと週末の寝坊は自殺と<sup>26,27</sup>の関連性が示唆されている。一方で、社会的な時間の制約がない

日に、普段の生活で蓄積された睡眠不足の負債を解消するために長時間の睡眠を取ることは、体重の増加や高血圧のリスクを下げるという報告もされており<sup>28,29</sup>、社会的な要因によって睡眠覚醒サイクルが変化することで引き起こされるサーカディアンリズムの乱れが及ぼす影響と、普段の睡眠では満たされていない、自身が求めている睡眠量を確保することによる影響との相互の関係性については更なる追加検証が必要である。

### 3. 睡眠の季節変動

前章までで、社会的な時間の制約がヒトの睡眠覚醒サイクルおよび QOL に及ぼす影響についてみてきたが、ヒトの生活パターンはその生活を取り巻く自然がもたらす外部環境の変化からも影響を受けている。外部環境の変化は様々な時間単位で発生しているが、特に何かしらの現象の変化が1年を単位として周期的に変化する場合、これを季節変動とよぶ。ヒトのサーカディアンリズムを調整する主要な刺激は光で、これは自然界では太陽光によってもたらされる。太陽光による光刺激は日の出に始まり、日の入りで終了するが、その開始と終了の時刻は地球の緯度と経度および、1年を通して変化する地軸の傾きによって決定する。そのため、赤道直下の地域を除く、地球上のほとんどの地域は年間を通して、日の出と日の入りの時刻が変動する。また、光刺激のタイミングだけでなく、気温も年間を通して大きく変動し、これらは互いに関連し合いながらヒトの睡眠覚醒サイクルに影響を与える。これらの影響について、以前は統制された実験室の環境下で、観測したい要因を絞って、それ以外の影響を出来る限り排除することで明らかにしてきた。しかし、近年は質問紙や簡便に日々の睡眠を計測できる機器の開発が進んだことから、実際に生活している環境下の睡眠データを収集することが可能となり、外部環境の季節変動が及ぼす実生活上での睡眠覚醒サイクルへの影響が明らかになりつつある。

まずは、睡眠計測のゴールドスタンダードであるポリソムノグラフィー (Polysomnography: PSG) を使って、研究室などの環境下で異なる季節ごとに数日間のデータ収集が行われた。PSG は複数の生体情報を同時に記録して様々な睡眠に関わる指標を算出することで、主に睡眠障害の診断に用いられる検査機器である。計測の手間や費用などのコストの側面から特定の個体で長期間のデータを収集することは難しいが、睡眠段階などの詳細な情報が取得できる。PSG の計測結果では、冬は夏と比較して就床時刻と起床時刻が

共に遅延し、REM 睡眠の時間が増加、深睡眠の時間が減少した<sup>30</sup>。また、冬はサーカディアンリズムの指標である深部体温やメラトニンも夏と比較して後退していた<sup>31,32</sup>。

PSG を用いた検査の次に、質問紙を使った季節変動に対するデータ収集が行われるようになった。質問紙は対象とする個体が回答する時点から過去数週間程度を振り返って、記憶を基に記入するような形式が多い。質問紙は主観的な記憶を頼りにしている点で客観性に限界があるが、その簡便さから大規模にデータを収集することが可能で、様々な角度から睡眠の傾向を分析できる特徴がある。季節による睡眠の質の変化については、ノルウェーにおいて12月の方が6月と比較して睡眠に関する悩みが多く<sup>33</sup>、フィンランドでは夏に睡眠の質が悪くなるという結果が報告されている<sup>34</sup>。更に、4月から9月にかけて取得したデータと10月から3月にかけて取得したデータとの間で差が認められなかったとする報告なども存在し<sup>35</sup>、一致した見解は得られていない。これは、睡眠の質という、様々な要因によって日々変化するものであると同時に、定量化の難しい抽象的な概念に対して、主観的な記憶によって長期的で緩やかに進行する季節変動を抽出することの難しさを示唆しているものと考えられる。

しかし、質問紙を用いた睡眠覚醒サイクルに関する季節変動は、太陽光による光環境の変化が及ぼす影響が明らかになってきている。ヨーロッパの複数の国を対象に MCTQ を用いて大規模 (9765 人) に行った調査からは、光周期の季節による差をサマータイム適用期間と非適用期間の二つの期間に大別して比較すると、睡眠負債や年齢、性別といった要因で調整した後でも、学校や仕事のない日の *mid-sleep time* が、この二分した季節と関連していた。しかし、その影響の大きさは社会的な時間の制約によってもたらされる社会的時差ボケよりも小さいことが報告されている<sup>36</sup>。同じく MCTQ を用いてドイツ全域に渡る睡眠スケジュールを調査したデータから、ドイツ国内でも西部に住むの方が東部に住む人よりも *mid-sleep time* が遅く、またその影響は都市部よりも地方の方が大きいことから<sup>37</sup>、日の出や日の入り時刻の年間を通じた変化がもたらす影響と、その影響がライフスタイル、つまり社会的な時間の制約の大きさによって異なることが示唆されている。また、赤道付近に位置して季節による光環境の変動が小さいガーナと北欧に位置し変動が大きいノルウェーの2か国で冬(1月)と夏(8月)にそれぞれ一週間の睡眠日誌を集計して比較

したところ、1年間の光変動が大きなノルウェーでのみ就床時刻、起床時刻、睡眠効率、睡眠潜時（就床してから寝付くまでに要した時間）に季節変動が認められ、ガーナでは認められなかったことが報告されている<sup>38</sup>。

最後に、主にヒトの体の動きから簡易的に覚醒と睡眠の状態を推定するアクチグラフに代表される機器を用いたデータを紹介する。アクチグラフは手首に装着する腕時計のような機器で、多少の装着感があることと、睡眠段階の詳細な判定は難しいものの、PSGよりも長い期間、定量的な評価ができるという点で実際の生活環境下における計測に適している。アクチグラフを用いて高齢者を対象に、夏（7、8月）、秋（10月、11月）、冬（2月）の3回に渡って、月曜日から金曜日までの連続した5日間の睡眠と、その時の皮膚温や寝室温度などの計測を行ったところ、夏は秋や冬に比べて起床時刻が早く、寝つきが悪く、中途覚醒が多くなる傾向にあり、その結果として、総睡眠時間が短く、睡眠効率が低いことが示された。Okamoto-Mizunoらは夏で他の季節と比較して睡眠が阻害されるのは表皮体温の変動によるものであると考察している<sup>39</sup>。

筆者らが、非接触型の睡眠計を用いて収集したデータにおいても、起床時刻には明確な季節変動がみられ、夏に早起きして、冬に遅く起きる傾向にあった（図3）。しかし、この傾向は入眠時刻にはみられず、日没から

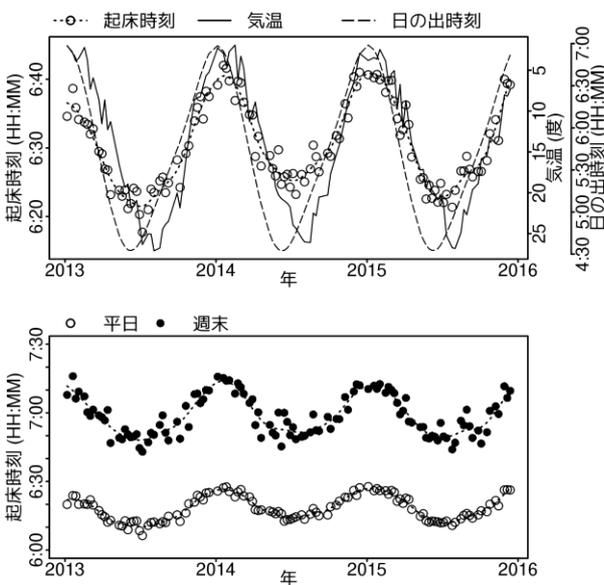


図3 起床時刻の3年間の時系列変動  
1週間ごとに平均した起床時刻（年齢調整済み）の3年分の時系列変化。上の図は起床時刻（丸）、7日分の平均で日の出時刻（点線）、気温（実線）が相関している。下の図は、一週間を平日と週末に分けて平均、平日よりも週末の方が季節変動の振幅が大きい。

就床までには数時間の差が存在することや、夜型化した現代社会における人工的な照明などの普及が影響していると想定される。また、中途覚醒は夏と冬に増加傾向にあるが、冬の増加は睡眠効率の低下が小さいことから、単に総就床時間の延長によるものと考えられ、夏は外気温の上昇によって睡眠が阻害される傾向は上述の高齢者だけでなく、幅広い年代で発生しているものと考えられる<sup>40</sup>。

これらの結果から、生活のパターンが社会的な制約を大きく受けていて、更に、人工的に光や温熱環境を操作することで、一年中快適な環境を作り出せるような現在の社会においても、体は確実に外部環境の変化を受け取って、それに応じて睡眠覚醒サイクルが年間を通して調整されていることを示している。

これらの報告では、睡眠に対する光と温度の影響を分離することはできないが、過去の統制された環境下における実験の結果からは、一般的に、光は就床や起床などの睡眠のタイミングに主に影響し、温度や湿度などの温熱環境は中途覚醒の量や睡眠段階の構造など、睡眠の量や質に主に影響すると考えられている。しかし、近年、温熱の変化も起床のタイミングに関連していることを示唆する報告がなされた。このデータでは今なお狩猟採集を行って生活をしている異なる三つの集団（タンザニアのHadza、ナミビアのSan、ボリビアのTsimane）の睡眠覚醒サイクルを、アク

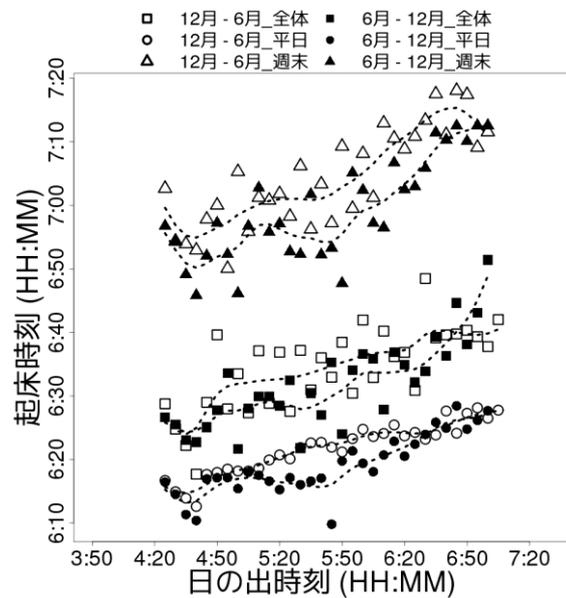


図4 夏至と冬至でデータを二分した場合の、日の出時刻ごとの起床時刻  
夏至から冬至（黒塗り：秋季）と冬至から夏至（白抜き：春季）の二つの期間にデータを分けた、日の出時刻5分ごとの平均起床時刻。平日（丸）、週末（三角）、平日と週末（四角）のどのパターンでも夏至から冬至の気温の高い期間で平均起床時刻が早い。

チグラフを用いて計測したもので、中でも、San と Tsimane は緯度が近いこと、似たような光周期の変動であるが(1日の日の長さは13時間と12.9時間)、夏期の計測において、起床時刻が約2.4時間も異なっていた。Yetishらはこれらの差は就寝中の気温変動に伴う、体温上昇タイミングの差であると考察しており、起床のタイミングに温熱環境の変動が影響していることを示唆している<sup>41</sup>。

筆者らが、非接触型の睡眠計を用いて収集したデータにおいても、夏至から冬至と冬至から夏至の二つに季節を二分した場合、同じ日の出時刻における起床時刻は季節で異なり、春よりも秋の方が早く起床することが明らかになった。これらは同様の日の出時刻であるが、外気温は異なることから、高度に情報化された社会においても光環境以外の変動が睡眠覚醒サイクルに影響を及ぼしていることを示唆している(図4)<sup>40</sup>。古来、「春眠暁を覚えず」と言われるが、実際、春の方が目覚めが遅れることが客観的なデータでも示されたことは興味深い。

#### 4. おわりに

現在、多くのヒトが生活している高度に情報化された社会においても自然環境の変化に睡眠覚醒サイクルが影響を受けていることが明らかになった。しかし、いくつものデータが、この外的な環境変化によってもたらされる睡眠の季節変動よりも、社会的な時間の制約によって生じる変化の方が大きいことを示している。遺伝にその基盤を持ち、時間の指向性を示すクロノタイプは個体の生活リズムを左右する要因の一つであるが、現代の画一的な社会のスケジュールは個体のリズムとの不調和を生み出し、様々な心身の問題を引き起こすリスクとなりうる。働き方改革による個体の生産性の向上が求められているが、夜型化・24時間化が進んでいる現代社会において、安定した睡眠覚醒サイクルを維持することの大切さと、個体の多様性を受け入れられるしよみの整備に向けて、日常生活環境下におけるヒトの睡眠覚醒サイクルとそれらのQOLへの影響に対するより深い理解が重要になってくると考える。

#### 参考文献

1. Khalsa, S. B. S., Jewett, M. E., Cajochen, C. & Czeisler, C. A. A phase response curve to single bright light pulses in human subjects. *J. Physiol.* **549**, 945–952 (2003).

2. Haskell, E. H., Palca, J. W., Walker, J. M., Berger, R. J. & Heller, H. C. The effects of high and low ambient temperatures on human sleep stages. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* **51**, 494–501 (1981).
3. Muzet, A., Libert, J. P. & Candau, V. Ambient temperature and human sleep. *Experientia* **40**, 425–429 (1984).
4. Tsuzuki, K., Okamoto-Mizuno, K. & Mizuno, K. Effects of humid heat exposure on sleep, thermoregulation, melatonin, and microclimate. *J. Therm. Biol.* **29**, 31–36 (2004).
5. Okamoto-Mizuno, K., Tsuzuki, K. & Mizuno, K. Effects of mild heat exposure on sleep stages and body temperature in older men. *Int. J. Biometeorol.* **49**, 32–36 (2004).
6. Nishitani, N., Sakakibara, H. & Akiyama, I. Short sleeping time and job stress in Japanese white-collar workers. *Open Sleep J.* **6**, 104–109 (2013).
7. Roenneberg, T., Wirz-Justice, A. & Mrosovsky, M. Life between clocks: daily temporal patterns of human chronotypes. *J. Biol. Rhythms* **18**, 80–90 (2003).
8. Roenneberg, T. *et al.* Epidemiology of the human circadian clock. *Sleep Med. Rev.* **11**, 429–438 (2007).
9. Hashizaki, M. *et al.* Accuracy validation of sleep measurements by a contactless biomotion sensor on subjects with suspected sleep apnea. *Sleep Biol. Rhythms* **12**, 106–115 (2014).
10. Hashizaki, M., Nakajima, H. & Kume, K. Monitoring of weekly sleep pattern variations at home with a contactless biomotion sensor. *Sensors (Switzerland)* **15**, 18950–18964 (2015).
11. Kitamura, S. *et al.* Estimating individual optimal sleep duration and potential sleep debt. *Sci. Rep.* **6**, 35812 (2016).
12. Yang, C. M. & Spielman, A. J. The effect of a delayed weekend sleep pattern on sleep and morning functioning. *Psychol. Health* **16**, 715–725 (2001).
13. Taylor, A., Wright, H. R. & Lack, L. C. Sleeping-in on the weekend delays circadian

- phase and increases sleepiness the following week. *Sleep Biol. Rhythms* **6**, 172–179 (2008).
14. Yang, C. M. *et al.* A single dose of melatonin prevents the phase delay associated with a delayed weekend sleep pattern. *Sleep* **24**, 272–281 (2001).
  15. Crowley, S. J. & Carskadon, M. A. Modifications to weekend recovery sleep delay circadian phase in older adolescents. *Chronobiol. Int.* **27**, 1469–1492 (2010).
  16. Hasler, B. P. *et al.* Weekend-weekday advances in sleep timing are associated with altered reward-related brain function in healthy adolescents. *Biol. Psychol.* **91**, 334–341 (2012).
  17. Lee, Y. J., Park, J., Kim, S., Cho, S. J. & Kim, S. J. Academic performance among adolescents with behaviorally induced insufficient sleep syndrome. *J. Clin. Sleep Med.* **15**, 61–68 (2014).
  18. Soehner, A. M., Kennedy, K. S. & Monk, T. H. Circadian preference and sleep-wake regularity: associations with self-report sleep parameters in daytime-working adults. *Chronobiol. Int.* **28**, 802–809 (2011).
  19. Carney, C. E., Edinger, J. D., Meyer, B., Lindman, L. & Istre, T. Daily activities and sleep quality in college students. *Chronobiol. Int.* **23**, 623–637 (2006).
  20. Monk, T. H., Reynolds, C. F., Buysse, D. J., DeGrazia, J. M. & Kupfer, D. J. The relationship between lifestyle regularity and subjective sleep quality. *Chronobiol. Int.* **20**, 97–107 (2003).
  21. Zisberg, A., Gur-Yaish, N. & Shochat, T. Contribution of routine to sleep quality in community elderly. *Sleep* **33**, 509–514 (2010).
  22. Monk, T. H. *et al.* Circadian type and bed-timing regularity in 654 retired seniors: correlations with subjective sleep measures. *Sleep* **34**, 235–239 (2011).
  23. Manber, R., Bootzin, R. R., Acebo, C. & Carskadon, M. A. The effects of regularizing sleep-wake schedules on daytime sleepiness. *Sleep* **19**, 432–441 (1996).
  24. Roenneberg, T., Allebrandt, K. V., Mero, M. & Vetter, C. Social jetlag and obesity. *Curr. Biol.* **22**, 939–943 (2012).
  25. Leproult, R., Holmbäck, U. & Van Cauter, E. Circadian misalignment augments markers of insulin resistance and inflammation, independently of sleep loss. *Diabetes* **63**, 1860–1869 (2014).
  26. Lee, Y. J., Cho, S. J., Cho, I. H. & Kim, S. J. Insufficient sleep and suicidality in adolescents. *Sleep* **35**, 455–460 (2012).
  27. Kang, S. G. *et al.* Weekend catch-up sleep is independently associated with suicide attempts and self-injury in Korean adolescents. *Compr. Psychiatry* **55**, 319–325 (2014).
  28. Kim, C. W. *et al.* Weekend catch-up sleep is associated with decreased risk of being overweight among fifth-grade students with short sleep duration. *J. Sleep Res.* **21**, 546–551 (2012).
  29. Hwangbo, Y., Kim, W. J., Chu, M. K., Yun, C. H. & Yang, K. I. Association between weekend catch-up sleep duration and hypertension in Korean adults. *Sleep Med.* **14**, 549–554 (2013).
  30. Kohsaka, M., Fukuda, N., Honma, K., Honma, S. & Morita, N. Seasonality in human sleep. *Experientia* **48**, 231–233 (1992).
  31. Honma, K., Honma, S., Kohsaka, M. & Fukuda, N. Seasonal variation in the human circadian rhythm: dissociation between sleep and temperature rhythm. *Am. J. Physiol.* **262**, R885–R891 (1992).
  32. Van Dongen, H. P., Kerkhof, G. A. & Klöppel, H. B. Seasonal covariation of the circadian phases of rectal temperature and slow wave sleep onset. *J. Sleep Res.* **6**, 19–25 (1997).
  33. Pallesen, S. *et al.* Prevalence of insomnia in the adult Norwegian population. *Sleep* **24**, 771–779 (2001).
  34. Ohayon, M. M. & Partinen, M. Insomnia and global sleep dissatisfaction in Finland. *J. Sleep Res.* **11**, 339–346 (2002).
  35. Janson, C. *et al.* Prevalence of sleep disturbances among young adults in three European countries. *Sleep* **18**, 589–97 (1995).
  36. Allebrandt, K. V. *et al.* Chronotype and sleep duration: the influence of season of

- assessment. *Chronobiol. Int.* **31**, 731–740 (2014).
37. Roenneberg, T., Kumar, C. J. & Mrosovsky, M. The human circadian clock entrains to sun time. *Curr. Biol.* **17**, R44–R45 (2007).
38. Friberg, O., Bjorvatn, B., Amponsah, B. & Pallesen, S. Associations between seasonal variations in day length (photoperiod), sleep timing, sleep quality and mood: A comparison between Ghana (5°) and Norway (69°). *J. Sleep Res.* **21**, 176–184 (2012).
39. Okamoto-Mizuno, K. & Tsuzuki, K. Effects of season on sleep and skin temperature in the elderly. *Int. J. Biometeorol.* **54**, 401–409 (2010).
40. Hashizaki, M., Nakajima, H., Shiga, T., Tsutsumi, M. & Kume, K. A longitudinal large-scale objective sleep data analysis revealed a seasonal sleep variation in the Japanese population. *Chronobiol. Int.* in Press. (2018).
41. Yetish, G. *et al.* Natural sleep and its seasonal variations in three pre-industrial societies. *Curr. Biol.* **25**, 2862–2868 (2015).

# 細胞レベルの概日リズム測定からわかる植物の時間秩序

小山時隆<sup>✉</sup>

京都大学大学院理学研究科生物科学専攻植物学系

概日時計の基本発振装置が個々の細胞に備わっていることは動物、植物、バクテリアを含め生物一般にいえることであろう。一方、動物も植物も多細胞生物であり、概日リズムの生理学的意義は個々の細胞に限らず、組織や個体レベルの日周期的な挙動の中に見出される。その関係性は、時計をもつ人々が形成する集団・社会の中で、個々人の時計の利用価値と社会そのものの時間（時計）の共有性／利用価値が不可分であることにも例えられよう。それぞれの社会や個人に必要とされる時計の精度や時計の標準時刻など、時間に関わる注目点は多数あげられる。筆者は、植物個体という細胞集団・社会に注目し、その社会を壊すことなく個々の構成員（細胞）の概日時計の挙動を観測することに成功した。本総説では、個体内における個々の細胞概日時計の挙動について、その観測手法、時間精度、同調様式など、筆者らの成果を含めて論じる。

## 1. はじめに

植物に限らず生物一般に、概日時計は個々の細胞に備わっていると考えられている。概日時計を持っている細胞だからといって、個体外部の周期的環境変動への概日時計の同調機構が全て備えられているわけでは必ずしもないが、およそ1日の周期性を生み出す基本的なメカニズムは細胞の中にある。一方で、葉の就眠運動や花の開花時間、動物の就眠など私たちが普通に観察したり感じたりすることのできる概日リズムは巨視的な現象であり、細胞の概日リズムがそれらの現象の基盤であっても、細胞概日時計の動きとして実感しにくい。単細胞性の生物が示す概日リズムについては、たとえ細胞集団のリズムとして観察されたとしても、それは個々の細胞が示す概日リズムを反映していると理解されるだろう。カサノリの光合成活性の周期性やクラミドモナスの走光性、細胞分裂の周期性といった単細胞性緑藻の概日リズムが1960年代から知られている<sup>1</sup>。緑藻は草木などの陸上植物と同じ緑色植物のグループに属することから、私たちが普段目にする植物の概日時計を考える際のモデル系とみなすことができる。なお、ユーグレナ（ミドリムシ）や渦鞭毛藻（ゴニオラックスなど）は光合成する生物として古くから概日リズムの研究対象とされてきたが、これらは緑色植物とは系統的に離れたグループに属しており、植物と同列に議論するのは難しい<sup>2</sup>。概日時計の分子機構についての近年の研究から、緑色植物全体の先祖型と考えられる緑藻や陸上植物の先祖型で

あるコケ植物において、概日時計を構成するコアな時計タンパク質は被子植物のものと同通性がみられることが分かってきた<sup>3</sup>。植物の概日時計システムは緑藻のものと比較すると複雑であるが、その原型は単細胞生物だったころに形成されたと考えられる。つまり、進化的にも植物の概日リズムは細胞自律的なシステムを基本として発展してきたと考えられる。植物でこれまでに明らかにされてきた主な時計タンパク質は転写調節因子であり、動物の概日時計同様に、その発振機構は転写・翻訳フィードバックループを基盤としている<sup>4</sup>。この点においても概日時計の細胞自律性がみてとれる。一方で、ほ乳類の概日時計システムと異なる点として、すべての細胞が光受容体を持っていることが挙げられる。明暗周期の感知も含めて概日時計システムがワンセットそろっている植物細胞の個体内での挙動はどのようなものであろうか？

## 2. 都合のいい材料と方法：ウキクサと一過的発光レポーター導入系

ウキクサは池や水田で見ることができるよう、水に浮かんで暮らす小さく扁平な植物である（図1A）。見た目は単純だが花をつける単子葉植物で、サトイモの仲間である。土壌に生え、立体的に成長する一般的な植物とは異なり、水に浮かび扁平であるという構造的特徴から、植物体の上面が常に水平を維持している。そのため、実験の観点からは、通常の栽培時でも真上

✉ oyama@cosmos.bot.kyoto-u.ac.jp

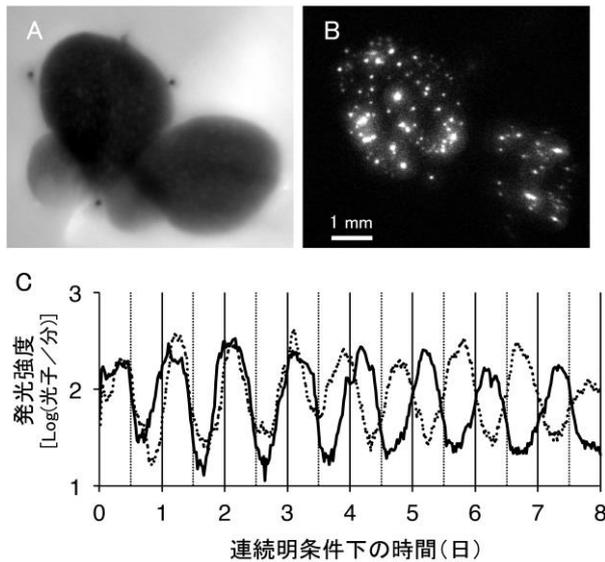


図1 ウキクサ個体内の細胞発光モニタリング。  
パーティクルボンバードメント法で発光レポーター遺伝子を導入したイボウキクサ (*Lemna gibba*) の明視野像 (A) と EM-CCDカメラで撮影した発光画像 (B)。(C) *AtCCA1::LUC*レポーターを導入した細胞発光変動例。明暗同調されたウキクサを連続明条件下で30分毎に発光画像取得した。

から同じ距離(焦点)で長期間観察することが可能な植物材料となっている。これらのウキクサの特性を生かすことで、植物個体全体の高空間解像度イメージングが容易になるだけでなく、植物の成長を伴う長期間の測定も容易になる点に筆者は注目した。また、個体中の個々の細胞の概日リズムを観測するために、パーティクルボンバードメント(パーティクルガン、ジーンガン)による発光レポーター遺伝子導入系を取り入れた。パーティクルボンバードメント法は一過的な遺伝子発現系の1つとして、古くから植物細胞への遺伝子導入法として用いられてきた。『一過的』という言葉の語感からか、概日リズムのように長期間測定のために用いるのは不適当と思われていたが、筆者らが時計遺伝子プロモーターでドライブしたホタルルシフェラーゼ遺伝子(例えば *AtCCA1::LUC*) をウキクサに導入したところ、生物発光は導入後1週間以上持続することがわかった<sup>5,6</sup>。さらに、シアノバクテリアの概日リズム観測用に、名古屋大の近藤らによって開発された光電子増倍管を利用した自動生物発光モニタリング装置を使えば、非常に簡便に植物の概日リズムを測定できることがわかった。また、『ボンバード』や『ガン』という物騒な語感から、対象材料へのダメージが心配になる。ウキクサのような水生植物は重力に逆らう必要がなく、一般的な陸生の植物より細胞壁の構造が弱い。そのため、ウキクサを材料にするとDNAを付着させた金粒子をパーティクルガンで打ち

込む際の圧力を弱く設定でき、植物体へのダメージを少なくすることが可能となる。パーティクルボンバードメント法をもちいると、植物体の表面近く(表皮細胞およびその下にある葉肉細胞)に遺伝子が導入されるが、すべての細胞に遺伝子導入されるわけではなく、ごく一部の細胞でのみ外来遺伝子が発現する。この導入特性から、発光遺伝子を発現させた植物個体に対し、カメラ/ビデオ用レンズを装着した高感度カメラで真上からイメージングを行うと、夜空の星のように個々の細胞の発光を検出することができる(図1B)。ウキクサは被子植物の中では非常に小さいサイズ(用いているウキクサは径が5mm程度)であるが、この方法で100個程度の発光スポットを1つの個体(葉状体あるいはフロンドと呼ばれる部分)上で同時に観測することは容易である。ウキクサの上面の表皮細胞は数万個あるので、発光細胞は導入可能細胞全体の1%未満であるが、それでも観測した個々の細胞の挙動から個体の細胞全体の挙動を推測することができる。図1A,Bはカメラ/ビデオ用のレンズで撮影した像であるが、顕微鏡を使って細胞発光イメージング時の空間解像度を上げることも可能である。ただし、顕微鏡を用いると、像拡大に伴う焦点深度の減少によって、個体中の発光スポットを同時に多数測定するのが困難になる。また、長時間測定においては、個体成長に伴う上下軸方向の微小な移動があるため焦点を維持し続けることも困難となる。一方、空間解像度という点ではGFPのような蛍光タンパクを用いるのがベストな選択肢であり、蛍光タンパクを利用した細胞の概日リズム測定は動物だけではなく、植物においてもなされている<sup>7</sup>。ただし、植物の細胞は光受容体を持っており、蛍光観察時に必要となる励起光の照射が概日時計そのものの挙動に影響を与えるため、適用できる条件に制限がかかる。たとえば、蛍光タンパクレポーターによる連続暗条件での細胞概日リズム観測は不可能である。また、動物組織と異なり植物はクロロフィル(葉緑素)をはじめとする様々な色素を多量に含んでおり、蛍光タンパクの定量的観測は一般的に難しい。ウキクサというユニークな植物を材料とし、通常条件下で生育した個体の中の細胞概日リズムを観測する手法についてあれこれ述べてきたが、ウキクサは概日リズム研究や光周性研究へ厳密な生理学実験が適用された植物材料の草分け的存在でもあり、時間生物学との相性がよいのも利点となっている<sup>8,9</sup>。

筆者らが開発した細胞発光測定系では、個体上の細胞概日リズムを1週間以上観測可能である<sup>10,11</sup>(図1C)。イボウキクサを用いると連続明条件下ではどの

細胞も概日リズムを示す一方で、連続暗条件下では細胞概日リズムの急激な低振幅化（あるいは周期性の消失）と長周期化がおこることが明らかとなった。連続暗条件下で概日リズムが減衰・消失する性質は属の異なるウキクサでも共通して見られることが示唆されている<sup>12</sup>。ただし、この性質は植物に一般的なものではなく、たとえばモデル植物のシロイヌナズナでは連続暗条件下でも概日リズムは安定に維持される<sup>13</sup>。次節から、ウキクサを使った筆者らの細胞概日リズムの解析でわかってきた、細胞概日時計の品質、個体内での空間的な時間制御、細胞概日時計のバラツキ、環境応答性について述べる。ただし、連続暗条件下の周期性に見られるように、植物一般的な性質である保証はないことに注意されたい。もっとも、シロイヌナズナの概日時計の性質が一般的という保証もどこにもない。

### 3. 細胞概日時計の時間精度：動物並みに悪い

私たちの生活の中で時計はなくてはならないものであるが、最近ではスマホやパソコンの画面が時計と同義になりつつあるようだ。それでも、クォーツ式時計や機械式ムーブメントを持つ腕時計などクラシカルな時計もまだまだ健在だ。時計の時間精度は高級なクォーツ式で年差10秒以内、高級な機械式で日差10秒以内程度であろう。機械式時計の改良にどれだけお金をかけて頑張っても“年”差で語れる時間精度には達しないだろう。また、温度や振動など時計を使う環境に時間精度は依存するので、これら環境変動に対する精度維持（頑健性）も時計品質の重要なファクターとなる。生物の持つ概日時計の品質を細胞単位で比較した場合、知られている範囲で最も精度がよいのはシアノバクテリアの概日時計だ。3種類の Kai 時計タンパク質を構成部品とし ATP をエネルギー源に概日発振するタンパク時計である<sup>14</sup>。時計の精度を平均周期長に対する標準偏差で表すと *Synechococcus elongatus* PCC 7942（概日リズムの研究に使われるシアノバクテリア）の場合は、平均周期長25時間程度に対して標準偏差が0.1時間程度と推定されている<sup>15</sup>。1日のずれが10分程度（平均周期に対する偏差という意味で）のシアノバクテリア時計であれば、クォーツ式時計が普及する前の世界であれば使えるレベルに達しているのではないだろうか。培養条件下でのシアノバクテリアにおいては時計の針が一周する間には細胞分裂がおこることから、細胞内環境の大きな変化を経験しても、この程度の時間のずれしか生じさせない頑健性をこの時計は保持していることが

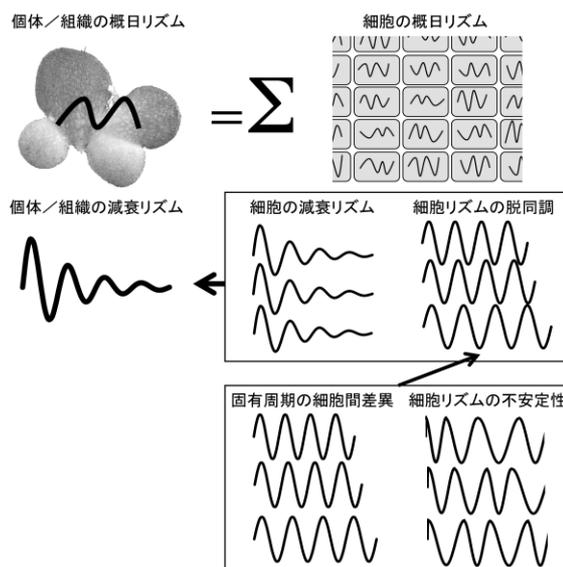


図2 個体／組織が示す概日リズムと個々の細胞概日リズムの関係性。遺伝子発現リズムなど細胞概日リズムの総和が細胞集団のリズムになる場合について、個体／組織レベルの減衰リズムの要因となる細胞概日リズムの様態を示す。

わかる。

時計の品質を決める上で個々の時計の時間精度は重要だが、同じ時計を使う集団の観点からは時計間の品質の均質性も重要なポイントとなる。マウスの SCN での時計の精度に関する報告によると、平均周期が24時間程度に対して、バラバラにして培養された SCN のニューロン間のバラツキは標準偏差で1.28時間、周期毎のバラツキは2.07時間と推定されている<sup>16,17</sup>。周期毎のバラツキと比較すると細胞間のバラツキは小さいことがわかる。また、マウスの線維芽細胞の培養下での細胞概日リズムを6週間という長期にわたって測定した結果によると、平均周期は25時間程度で細胞間のバラツキ（標準偏差）は0.77時間で、周期毎のバラツキは1.97時間と推定された<sup>18</sup>。1日に2時間もずれる時計は現代社会では使い道がなさそうだが、この時間精度の悪さと比べると、細胞概日時計間の平均的な周期のズレは小さく、細胞間の均質性という点が生物にとってより重要度が高いことが示唆される。

さて、植物個体あるいは組織レベルの概日リズムは恒常条件下で減衰する場合が多い<sup>19</sup>。個体あるいは組織レベルの減衰リズムが観測された場合、その要素となる細胞のレベルでは、2つのことが生じている可能性がある（図2）。細胞レベルのリズムも減衰している場合と、細胞間でリズムの位相がずれていく脱同調の場合である。また、脱同調を生じさせる要因としては、固有周期の細胞間の差異と個々の細胞概日リズム

の不安定性の2つが挙げられる。動物の細胞概日リズムのバラツキに関する上記の説明と対応付けると、前者が細胞間のバラツキであり、後者は周期毎のバラツキとなる。発光レポーターを利用した時計遺伝子プロモーター活性の個体レベルの概日リズムは、ウキクサにおいて連続明、連続暗どちらの条件下においても減衰するが、特に連続暗条件下で顕著な減衰を示す<sup>5</sup>。前節で述べたが、連続暗条件下では細胞概日リズムそのものが減衰する傾向が強くみられる。一方で、連続明条件下では細胞概日リズムそのものは維持されるが、細胞間の脱同調が生じる<sup>11</sup> (図1C)。連続明条件下で育て続けていたウキクサ個体内の細胞発光概日リズムを統計的に解析した結果、ほとんどの細胞の周期は21~28時間の範囲にあることが明らかとなった。その平均周期は23.5時間、細胞間のバラツキ(標準偏差)は1.11時間、周期毎のバラツキは2.45時間と推定された。これらのバラツキがウキクサ個体レベルの概日リズムの減衰を引き起こす要因となっている。植物の細胞概日リズムのバラツキは動物よりやや大きい、植物も動物も同じく、細胞間の均質性が時間精度より優っている点に興味深い。5節で詳しく述べるが、通常自然条件下では昼夜があり、その周期的環境変動に概日時計を毎日合わせればよいので、周期毎のバラツキは大した不利益を生まないのかもしれない。また、シアノバクテリアのタンパク時計は優れた時間精度を示すことから、時計発振機構の面から考えて、転写・翻訳フィードバックシステムを基盤する植物や動物の概日時計は、この発振原理のせいで時間精度を上げるのが困難なのかもしれない<sup>20</sup>。また、ほ乳類のSCNにおいては、バラバラにしたニューロンやSCNの神経伝達を阻害した状態のニューロンでは、細胞概日時計の時間精度は高くないが、通常SCNの時間精度は高く、スライスしたSCNの周期毎のバラツキ(標準偏差)は0.66時間と推定されており、臓器内での細胞間相互作用により同調状態を維持していると考えられる<sup>17,18,21</sup>。この点は、ウキクサ個体内に生じる細胞概日時計の脱同調状態とは大きく異なっているが、植物においても個体という空間内で全く無秩序に細胞概日時計が発振しているわけではないことを次節で述べる。

#### 4. 細胞概日時計の空間的秩序：フリーラン時と明暗同調時の違い

ウキクサという非常に小さな個体内ですら、連続明条件下でのフリーラン時は細胞概日時計の駄目さ加減が目立つ結果であったが、個体内の細胞間の距離と

細胞概日リズムの位相差との相関を分析した結果、細胞間の距離が0.5 mm以下であれば、細胞間の距離が近いほど平均的な位相差が小さくなる傾向がみられた<sup>11</sup>。ただし、近距離にある細胞同士が常に近い位相を示すわけではなく、お互いに近い位相を示す期間が遠距離にある細胞と比較して長くなる傾向を示していた。つまり、近接的に働く同調促進作用がウキクサの個体内で生じている可能性が考えられる。このような近接領域での概日リズム同調に関する相互作用はシロイヌナズナでも示唆されている<sup>22,23</sup>。近接領域の同調状態はみられても、恒常条件下に置かれた個体全体では、概日時計の位相が決まっていない状態で落ち着くようだ。恒常条件下で細胞概日リズムがバラバラになる状態が植物成長に与える影響については不明な点が多いが、ウキクサの場合、特に成長が悪くなったりすることは見られない。

言うまでもないが、植物がいる自然環境には昼夜変動があり、その周期的環境変動に個体全体として時計の時刻を合わせれば問題はないだろう。細胞概日リズムがバラバラな状態の植物でも明暗周期を与えることで、個々の細胞概日リズムは外部環境に速やかに同調することができる<sup>11</sup>。連続明条件下で細胞概日時計の位相がバラバラになったウキクサ個体を12時間暗期に入れると個々の細胞がそれぞれの位相に依存して時計遺伝子の発現を変化させる。暗期が終了し、明期へ移行した後は、暗期突入時の位相によらず細胞概日時計はほぼ位相が揃った状態になる。ただし、暗期導入が導入前の概日時計が示す時刻と逆相になった細胞の場合は、一度の暗期では完全に位相が揃わず、12時間後にもう一度暗期を与えることで位相を揃えることができる。『位相が揃う』と言っているが、実際は程度の問題であり、細胞間でバラツキが見られる<sup>11</sup>。明暗周期下での時計遺伝子発現ピーク時刻を細胞間で比較すると同一個体中でも2時間程度の範囲で時間差が観測される。同一個体内でも、連続明条件下での細胞概日リズムの周期にバラツキがみられることは前節で述べたが、それらの周期と位相(の遅れ)との間に弱い相関が見られた。つまり、細胞固有の周期が長いリズムは明暗周期下では位相が遅れる傾向が見られた。ただし、細胞間での2時間程度の位相差は、細胞概日時計の固有周期の違いに起因するというよりは、ウキクサ個体(フロンドと呼ぶ葉状体)の空間的な位置に大きく依存することが明らかとなった<sup>11</sup>。フロンドの中心付近の細胞概日時計の位相は辺縁部の細胞概日時計の位相より1~2時間前進していた。観測している細胞は葉肉細胞という種類がほとんど

であり、その固有周期は空間的な位置によらない。一方で、植物個体で異なる器官間で概日リズムに関する非対称的な相互作用があることがシロイヌナズナで示されており<sup>24,25</sup>、明暗周期下のウキクサにおいても器官配置などの構造的要因で位相の空間分布様式が決まっているのかもしれない。明暗条件下で中心から辺縁へと概日リズムの位相が移動していく現象の生理学的意義や形成メカニズムは不明であるが、個体レベルの概日時計システムを理解する上で重要な切り口になると期待される。

### 5. 細胞概日時計の『個性』の限度：許されるバラツキとは

これまで述べたように、恒常条件下でウキクサの葉肉組織の細胞概日リズムはそれぞれかなり自由に振舞う一方で、昼夜のある環境では空間的にも時間的にも統制のとれた振舞をしているようだ。言い換えると、同一組織／個体でも細胞単位で見ると概日時計はある程度『個性』を持っているが、明暗周期下ではその『個性』や時計自体の不確実性が減り、新規の秩序に組み込まれる。ここで『個性』と呼んだものは、同一細胞種の細胞間で長期的に生じる時計の性質の差であり、細胞間の固有周期のバラツキなどを生み出している。植物の場合、それぞれの細胞が成熟した後はその大きさは不変で、含まれる葉緑体の量もほぼ一定である。つまり、これらの細胞属性の細胞間のバラツキは長期的に固定された差であり、細胞概日時計の『個性』に反映するかもしれない。一方で、個々の細胞での時計関連遺伝子の発現レベルなど概日時計システム構成因子に生じる短期的なノイズが時間精度の低下（周期毎のバラツキ）の原因となっていると考えられる。様々な階層のバラツキを示す細胞概日時計が明暗周期下での時空間的秩序（統合性）のなかで統一的に動けるメカニズムは今後の課題であるが、明暗周期下における時間の制御に関して、光応答反応のような環境応答の影響が一義的であり、概日時計の周期の影響は小さいとの解釈も可能であろう。ただし、そのような解釈が可能なのは、概日時計の周期と環境変動周期が似ている時に限られるようだ。筆者の研究グループによって行われた、細胞概日時計の同調性に注目した T 実験[外部環境周期 (T) を 24 時間とは異なる周期長に設定した時の、生物の反応性の違いを解析する実験手法]では、24 時間より短い明暗周期に対して、細胞概日時計の周期の違いが同調性の差異をうみだせることを見出した<sup>26</sup>。T=20 時間まではどの細胞概日時計も明暗周期に同調できるが、T=16 時間になる

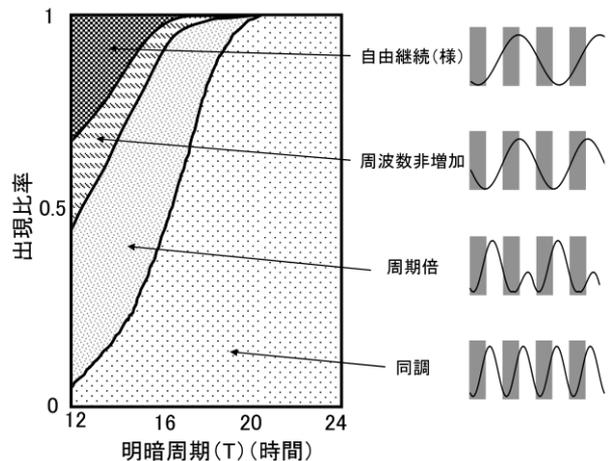


図3 ウキクサの細胞概日リズムの非 24 時間明暗周期への同調様式。イボウキクサの細胞概日リズムの T 実験(T=24, 20, 16, 12 時間)でえられた結果を元に、図中右側に示した各同調様式の細胞の出現頻度を模式的に示す<sup>26</sup>。

と 1 回の明暗には半端な同調しかできず、2 回の明暗で元の状態に戻る同調様式を示す細胞が半数程度出現する (図 3)。『周期倍』と呼ばれる現象だが、固有周期の長い細胞は T=16 時間でこの同調様式をとる傾向が強くみられた。つまり、細胞概日時計の固有周期のバラツキは、通常の昼夜環境 (24 時間周期) 下では顕在化しないが、外部環境周期が短くなると質的な違いを生じさせることがわかった。別の見方をすると、通常の 24 時間周期に合わせられる範囲であれば概日時計の固有周期は適当でよく、生物の概日時計システムはコストをかけてまで精度を上げることはしていないと解釈できる。さらに、明暗周期を 12 時間まで短くすると、細胞概日時計の同調様式が複雑化し、個々の細胞が異なる同調 (あるいは非同調) 様式を示すことがわかった (図 3)。これらの同調様式の異質性が同じ植物個体上の細胞で見られることから、少なくとも同調していない状況においては、個々の細胞が自律的に光応答していると考えられる。植物細胞において明暗周期への同調機構はある程度理解されているが<sup>4</sup>、T 実験の結果も取り入れることで、より本質的な議論が可能になると期待できる。

### 4. おわりに

本稿では、植物の細胞概日リズムの周期や明暗同調性など基本的な性質について、ウキクサ植物の結果を例として見てきた。ウキクサ以外の植物で細胞概日リズムの詳細な解析は行われておらず、その性質が植物一般にみられるかどうかは不明である。ただし、概日時計の周期がバラツキ範囲については一般性がみられるかもしれない。世界各地から集められたシロイヌ

ナズナの株について、連続明条件下における葉の就眠運動の周期が株間で比較された結果、22~28時間の範囲でバラツクことが明らかとなった<sup>27</sup>。この範囲はウキクサの細胞概日時計の周期のバラツク範囲とほぼ同じである。シロイヌナズナの株の周期と株が採取された場所の緯度との間には弱い相関(高緯度由来の株は周期が長くなる)が認められたが、株間のバラツキの程度は緯度の影響よりはるかに大きかった<sup>27</sup>。植物においては細胞、組織、種の違いは細胞概日時計の周期の違いの制約とはなっておらず、昼夜環境への同調性のみがその制約となっているのかもしれない。植物は光合成をする独立栄養生物であり、細胞レベルで見ても動物と比較して独立性が強い傾向がある。また、植物の成長は光や水利用など日周変動する環境に強く依存し、基本的な代謝経路が日周環境変動の影響を直接的に受ける。そのことと対応するように、植物においては環境応答機構と概日時計システムの結びつきが強い<sup>28</sup>。その結びつきの強さが植物の細胞概日時計の不安定性と関係あるかもしれない。例えば、植物の光応答経路は時計発振機構とは不可分であるため、時計発振が頑健過ぎると光応答反応が効率よく行えない可能性が考えられる。環境応答と概日時計の挙動を細胞レベルで同時に観測することで、それぞれのシステムの安定性まで含めた時間制御システムの理論が構築できると期待される。そのような理論を通して、周期、位相、振幅など時計発振の基本的性質について、それらの最適値、限界値、バラツキ、安全マージンなどを実証的に議論できるようになるだろう。

## 参考文献

1. Sweeney, B. M. *Rhythmic Phenomena in Plants*. (Academic Press, 1987).
2. Noordally, Z. B. & Millar, A. J. Clocks in Algae. *Biochemistry* **54**, 171-183 (2015).
3. Linde, A. M. *et al.* Early evolution of the land plant circadian clock. *New Phytol.* **17**, 569-590 (2017).
4. Harmer, S. L. The circadian system in higher plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* **60**, 357-377 (2009).
5. Miwa, K., Serikawa, M., Suzuki, S., Kondo, T. & Oyama, T. Conserved expression profiles of circadian clock-related genes in two *Lemna* species showing long-day and short-day photoperiodic flowering responses. *Plant Cell Physiol.* **47**, 601-612 (2006).
6. Serikawa, M., Miwa, K., Kondo, T. & Oyama, T. Functional conservation of clock-related genes in flowering plants: overexpression and RNA interference analyses of the circadian rhythm in the monocotyledon *Lemna gibba*. *Plant Physiol.* **146**, 1952-1963 (2008).
7. Yakir, E., Hassidim, M., Melamed-Book, N., Hilman, D., Kron, I. & Green, R. M. Cell autonomous and cell-type specific circadian rhythms in Arabidopsis. *Plant J.* **68**, 520-531 (2011).
8. Hillman, W. S. Endogenous circadian rhythms and the response of *Lemna perpusilla* to skeleton photoperiods. *Am. Nat.* **98**, 323-328 (1964).
9. Muranaka, T. & Oyama, T. Monitoring circadian rhythms of individual cells in plants. *J. Plant Res.* **131**, 15-21 (2018).
10. Muranaka, T., Kubota, S. & Oyama, T. A single-cell bioluminescence imaging system for monitoring cellular gene expression in a plant body. *Plant Cell Physiol.* **54**, 2085-2903 (2013).
11. Muranaka, T. & Oyama, T. Heterogeneity of cellular circadian clocks in intact plants and its correction under light-dark cycles. *Sci. Adv.* **2**, e1600500 (2016).
12. Muranaka, T., Okada, M., Yomo, J., Kubota, S. & Oyama, T. Characterisation of circadian rhythms of various duckweeds. *Plant Biol.* **17**, 66-74 (2014).
13. Strayer, C. *et al.* Cloning of the *Arabidopsis* clock gene *TOC1*, an autoregulatory response regulator homolog. *Science* **289**, 768-771 (2000).
14. Nakajima, M. *et al.* Reconstitution of circadian oscillation of cyanobacterial KaiC phosphorylation in vitro. *Science* **308**, 414-415 (2005).
15. Mihalcescu, I., Hsing, W. & Leibler, S. Resilient circadian oscillator revealed in individual cyanobacteria. *Nature* **430**, 81-85 (2004).
16. Herzog, E. D., Aton, S. J., Numano, R., Sakaki, Y. & Tei, H. Temporal precision in the mammalian circadian system: a reliable clock from less reliable neurons. *J. Biol. Rhythms* **19**, 35-46 (2004).

17. Welsh, D. K., Takahashi, J. S. & Kay, S. A. Suprachiasmatic nucleus: Cell autonomy and network properties. *Annu. Rev. Physiol.* **72**, 551-577 (2010).
18. Leise, T. L., Wang, C. W., Gitis, P. J. & Welsh, D. K. Persistent cell-autonomous circadian oscillations in fibroblasts revealed by six-week single-cell imaging of PER2::LUC bioluminescence. *PLOS ONE* **7**, e33334 (2012).
19. E. ビュニング著／古谷雅樹・古谷妙子訳. 生理時計. (学会出版センター, 1977).
20. Gonze, D., Halloy, J. & Goldbeter, A. Robustness of circadian rhythms with respect to molecular noise. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 673-678 (2002).
21. Yamaguchi, S., *et al.* Synchronization of cellular clocks in the suprachiasmatic nucleus. *Science* **302**, 1408-1412 (2003).
22. Fukuda, H., Nakamichi, N., Hisatsune, M., Murase, H. & Mizuno, T. Synchronization of plant circadian oscillators with a phase delay effect of the vein network. *Phys. Rev. Lett.* **99**, 98102 (2007).
23. Fukuda, H., Ukai, K. & Oyama, T. Self-arrangement of cellular circadian rhythms through phase-resetting in plant roots. *Phys. Rev. E* **86**, 41917 (2012).
24. Endo, M., *et al.* Tissue-specific clocks in *Arabidopsis* show asymmetric coupling. *Nature* **515**, 419-422 (2014).
25. Takahashi, N., Hirata, Y., Aihara, K. & Más, P. A hierarchical multi-oscillator network orchestrates the *Arabidopsis* circadian system. *Cell* **163**, 148-159 (2015).
26. Okada, M., Muranaka, T., Ito, S. & Oyama, T. Synchrony of plant cellular circadian clocks with heterogeneous properties under light/dark. *Sci. Rep.* **7**, 317 (2017).
27. Michael, T. P., *et al.* Enhanced fitness conferred by naturally occurring variation in the circadian clock. *Science* **302**, 1049-1053 (2003).
28. Greenham, K. & McClung, C. R. Integrating circadian dynamics with physiological processes in plants. *Nat. Rev. Genet.* **16**, 598-610 (2015).

# シアノバクテリアの概日時計タンパク質 KaiC が 1 日を計る仕組み

伊藤（三輪） 久美子<sup>✉</sup>

名古屋大学 大学院理学研究科 生命理学専攻 計時機構グループ

アノバクテリア (*Synechococcus elongatus* PCC 7942) の概日時計タンパク質 KaiC、KaiA、KaiB と ATP を試験管内で混ぜるだけで、そのリン酸化状態は概日リズムを示す。主役の KaiC は典型的な ATP 加水分解酵素 (ATPase) の構造をとる。KaiC の ATPase 活性は極めて低いが、単独で温度補償性を示し、概日リズムの速度 (振動数) と相関することから、ペースメーカーとして概日リズムの温度補償性と周期を規定すると考えられる。この活性を基盤とした Kai の時計システムは、これまで想定されてきた転写・翻訳や分子同士の相互作用等を必要としない、全く新規の概日時計機構の存在を示している。本稿では KaiC の ATPase 活性の解析から我々 (名古屋大学 近藤孝男研究グループ) が想定した、シアノバクテリアの概日時計システムについて解説する。

## 1. はじめに

多くの生物は概日時計を持つことによって、地球の昼夜環境に適応し、たくみに生活することができる。概日時計は時計として不可欠な 3 つの条件 (約 24 時間周期、周期の温度補償性、環境への同調性) を満たすことで地球上での生活に有利となり、長い進化の過程で広く生命の基本システムとして発展してきた<sup>1</sup>。従ってその本質を理解するためには、安定した振動のシナリオだけでは不十分で、これら 3 つの特徴を裏付けている物質的基礎を説明しなければならない。生命の進化の初期過程で水を分解する光合成とそれに伴

う酸素発生能を獲得し、さらに植物の葉緑体へ進化したとされるシアノバクテリアは、明確な概日リズムを示し、概日時計解明のための重要なモデルでもある。本稿では当研究室で展開されたシアノバクテリアの時計システムの研究、特に周期決定および温度補償性の仕組みについて解説し、タンパク質のみで構成される新たな概日時計のモデルを提案する。

## 2. シアノバクテリアの時計システム

シアノバクテリアの概日時計遺伝子 *kaiA*, *kaiB*, *kaiC* (*kai* は回の意) は、1996 年頃に生物発光を利

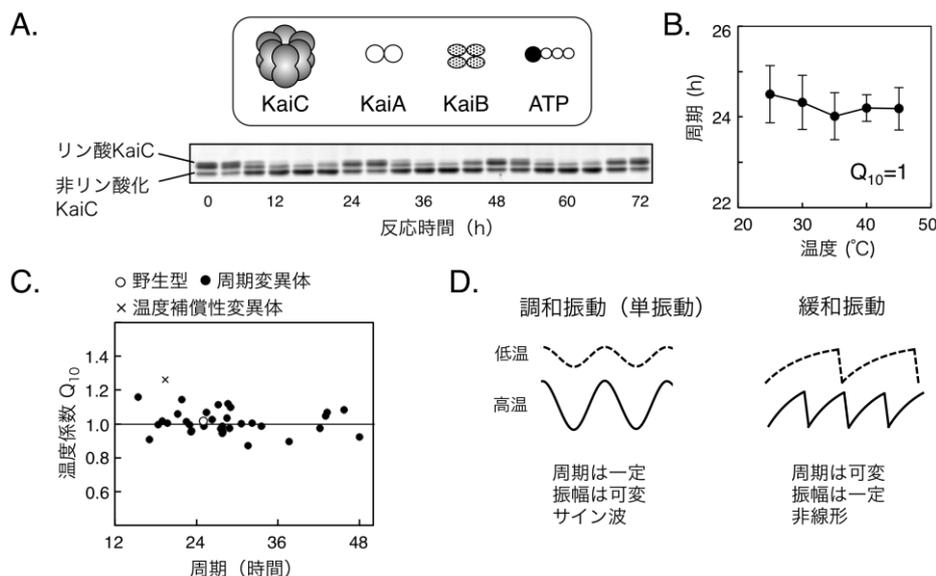


図 1 シアノバクテリアの概日振動の特性

<sup>✉</sup> miwa@bio.nagoya-u.ac.jp

用した分子遺伝学的解析によって見出された<sup>2</sup>。 *kaiC* 遺伝子の発現が自己制御されることから、当初は真核生物と同様に転写・翻訳フィードバックモデルが当てはまると考えられていた。しかし 2005 年に 3 つの精製された Kai タンパク質と ATP を試験管内で混ぜるだけで、KaiC のリン酸化状態が安定した 24 時間振動を発生すること (KaiC リン酸化リズム) が明らかになり、転写・翻訳によらない計時機構が存在することが示された (図 1A)<sup>3</sup>。この KaiC リン酸化リズムは幅広い温度で周期の温度補償性を示し、温度サイクルに同調するなど、概日時計の 3 つの条件を満たす (図 1B)<sup>3,5</sup>。我々は、わずか 3 つのタンパク質で高等生物の概日時計に匹敵する特性を示すこの単純な計時機構は、概日時計の謎を解明するために最も適したシステムであると考え、そのメカニズムの解析を進めてきた。

### 3. 周期の温度補償性からみた概日時計の特性

生体におけるほとんどの生化学反応の速度は温度に依存して変化し、温度が 10°C 上がるとその速度は 2-3 倍になる (温度係数  $Q_{10}=2-3$ 、 $Q_{10}$  は反応温度を 10°C あげたとき、反応速度が何倍になるかを表す)<sup>6</sup>。概日時計は季節変化などによる外界温度の違いがあっても、周期の温度補償性という特別な仕組みにより、一定の周期を保つ。我々は 30 種以上の *kaiC* 周期変異体の温度補償性を調べたが、幅広い周期の変異体で温度補償性は成立した (図 1C)。突然変異で周期が変わっても温度補償性は普遍的に成立するという事実は、周期の温度補償性が周期の決定機構より基本的な性質として備わっていることを示唆している。

概日時計研究のパイオニア、E. Bünning は概日リズムの特徴を検討し、概日リズムは調和振動 (単振動) と緩和振動の 2 つの性質を併せ持つことを示唆した (図 1D)<sup>7</sup>。調和振動はバネや振り子の振動に代表され、フックの法則に従う物理的振動で振動の持続にエネルギーを消費しない。振幅は振動系に与えられたエネルギーによって容易に変わるが、周期はフックの法則の物理的定数 (振り子の長さやバネの強さ) により決定され、振幅に依存しない (振り子の等時性)。一方、緩和振動は、細胞内で想定すれば、プログラムされた生化学反応のループ (反応が蓄積することで順次スイッチングが起こり、次のステップに進行する) で説明される。従って速度は生化学反応が律速となり、周期は温度によって反応速度が変われば容易に変わるが、振幅はスイッチングの閾値で決定され不変である。周期の温度補償性は概日リズムの基礎機構が調和

振動の性質を持つことを示唆する一方で、リズムの持続性は緩和振動として説明が容易である。実際に、KaiC リン酸化リズムの反応温度低下に伴う振幅の低下、さらに低温にすることによる振動の消失の観測等によって、このリズムの調和振動的な性質が示唆されている<sup>8</sup>。

ガリレオが発見したこの調和振動 (振り子) の等時性は、ホイヘンスやフックによって機械式時計のペースメーカーに組み込まれ、その精度を飛躍的に向上させた。概日時計の周期も正確で、いくつかの生物では 1 日に数分から 10 分程度の揺らぎでリズムを刻むことが知られている<sup>1,9</sup>。我々の解析でも KaiC のリン酸化リズムの周期も同程度の精度を持つことが確認された。概日時計の精度は地球の自転という極めて精度の高い周期に対応するために重要だが、調和振動を利用することでこれが可能になるのかもしれない。

### 4. KaiC の ATPase 活性と分子内フィードバック

Kai タンパク質が刻む概日リズムは、どのようにして温度の影響を受けない周期性を示すことができるのだろうか? その答えは KaiC が ATP を分解する活性 (ATPase 活性) の中に書き込まれているようだ<sup>10,11</sup>。KaiC のアミノ酸配列は RecA などの ATP 加水分解酵素 (ATPase) に類似している<sup>12</sup>。しかしその ATP 分解活性はほとんどゼロとっていいほど低く、1 分子の KaiC は 1 日あたりわずか 10 から 15 個の ATP を分解するのみ (多くの酵素活性の 1 万分の 1 以下) である<sup>10</sup>。しかし、KaiC の ATPase 活性は広い範囲の温度で安定で、温度補償性を示す (図 2A)。さらに周期変異体の KaiC タンパク質の ATPase 活性を調べると、短周期の KaiC では ATPase 活性が高く、長周期の KaiC では ATPase 活性が低くなり、ATPase 活性と振動数 (周期の逆数) との間に比例関係が見られる (図 2B)。この 2 つの結果は温度補償性と周期という概日時計のもっとも重要な特徴を KaiC の ATPase 反応が規定していることを意味しており、この反応が概日時計の最も基本的なペースメーカーであることを予期させる。

KaiC の ATPase 活性が示すこの 2 つの性質は KaiC だけで実現される。この事実は KaiC 内部に概日時計のペースメーカーとしての本質的な仕組みが内蔵されていることを意味する。一方で、KaiC だけではリン酸化リズムをはじめ、いかなる概日振動も発生しないことに注意されたい。すなわち概日周期とその温度補償性は概日振動が発生して測定されるのではなく、振動していない KaiC タンパク質の構造内に

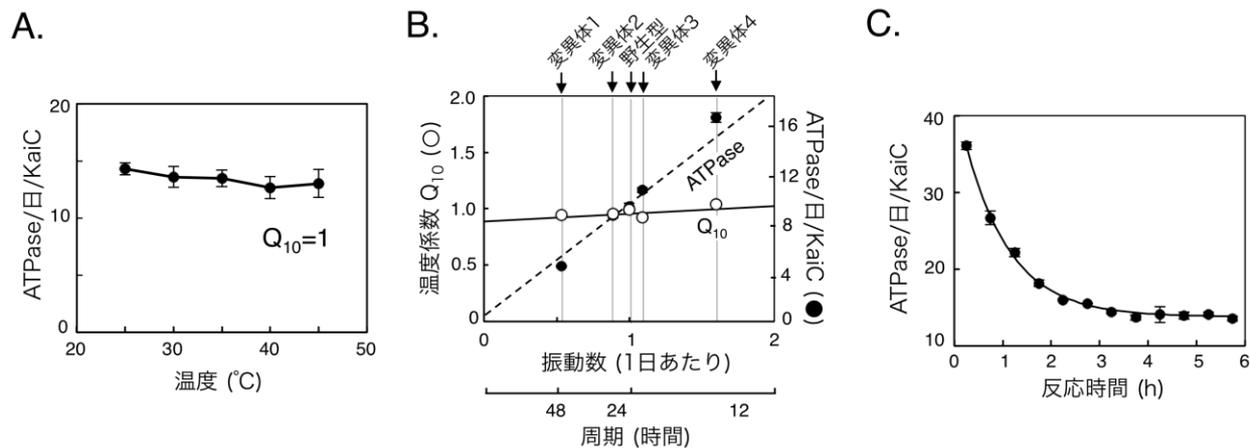


図2 KaiC ATPase 活性の特性

A. 温度補償性。野生型の KaiC の ATPase 活性を、超高速液体クロマトグラフィー (UPLC) を用いて様々な温度で測定した<sup>5,10</sup>。KaiC のみで ATPase 活性は温度補償性を示した。B. 振動数との相関。野生型と 4 つの周期変異体の ATPase 活性をその振動数 (周期の逆数) に対してプロットした。ATPase 活性 (黒丸) は振動数と相関を示した<sup>10</sup>。全ての変異体の ATPase 活性の  $Q_{10}$  (白丸) はほぼ 1 となり、温度補償性を示した (投稿準備中)。C. 温度ステップに対する応答 (投稿準備中)。野生型の KaiC を氷温から 30°C に移し、ATPase 活性の時間変動を調べた。ATPase 活性は温度ステップ直後に安定時の活性の 2 倍以上に上昇し、緩やかに減少して安定な活性を保った。

潜在的に記憶されていることになる。この一見受け入れがたい事実は、止まってしまった振り子が地上の重力のもとで調和振動を発生した時の振動周期を振り子の長さとして記憶していることと全く同じ関係になっており、KaiC は単独で振り子の性質を潜在的にもっていることを強く示唆している。

どのようにしてそのようなことが可能であろうか？我々は可能性の 1 つとして分子内フィードバックを想定している。通常の ATPase では ATP 分解により発生したエネルギーはすみやかに他の分子へ移され、様々な物理的または化学的仕事がなされるとともに次の ATP 分解が繰り返されるが、KaiC の場合にはこのエネルギーは同一の KaiC 分子内に蓄積され、タンパク質内部構造にバネの復元力のような緊張状態 (テンション) を生成し、自身の ATPase 活性を強く抑えるのではないだろうか。KaiC 分子内に蓄積したエネルギーは、時間とともに分子外へと放出される (もれる) と考えられる。そのエネルギーのもれが緊張状態に比例すると想定すれば、ATP 分解によるエネルギーの生産とエネルギーのもれが一致するところで平衡し、以後安定な緊張状態を維持できると考えられる。生命で見られる多くのフィードバックが複数のタンパク質による化学反応のループで成立するのに対し、これは単一のタンパク質の内部で起こる”分子内フィードバック”である。その実体は分子内に生じる歪みのような、KaiC の機械的特性による自動制御と想定できる。温度に大きく依存する化学反応と異なり、分子構造に由来する機械的特性は温度に影響されにくいと予想され、分子内フィードバックによる平

衡状態も温度の影響が小さいことが予想される。つまり、この KaiC 分子内でのフィードバック系で KaiC リン酸化リズムの周期の温度補償性が実現されるだろう。

KaiC の内部にこのような仕組みがあるとすれば、外部からの刺激によって緊張状態を乱せば、ATPase 活性が変化し、活性が元に戻る様子を観察できるだろう。KaiC リン酸化リズムは温度サイクルに同調することから、我々は温度変化が KaiC の緊張状態を乱す刺激になりうると考えた。そこで図 2C に示すように氷温から 30°C へ温度ステップを行なったときの KaiC の ATPase 活性を測定したところ、温度ステップ直後の活性は安定時の活性の 2 倍以上に上昇し、緩やかに減少して一定の活性を保った (図 2C)。この結果は、温度上昇で KaiC の緊張状態が一度緩み、その後平衡状態を生じさせる緊張状態に戻ったとみなすことが可能だろう。さらに周期変異体の KaiC タンパク質を用いて調べると短周期ほど速く活性が低下し、長周期ほど緩やかに活性が下がった。KaiC 変異体の周期が長くなるほどその ATP 分解活性が低いことから、KaiC 変異体間に見られる平衡状態へ移行するまでの時間の違いは、我々が想定した ATP 分解に起因する緊張状態の程度の差として表れたと解釈することが可能となる。つまり、KaiC の ATP 分解で発生したエネルギーは温度変化がもたらす活性の変動を打ち消し、安定した緊張状態で平衡する。だとすれば緊張状態としての KaiC の「バネ」の強さは概日振動の速さを規定することが可能だろう。物理的なバネの単振動ではバネが強くなれば周期が短くなるが、同

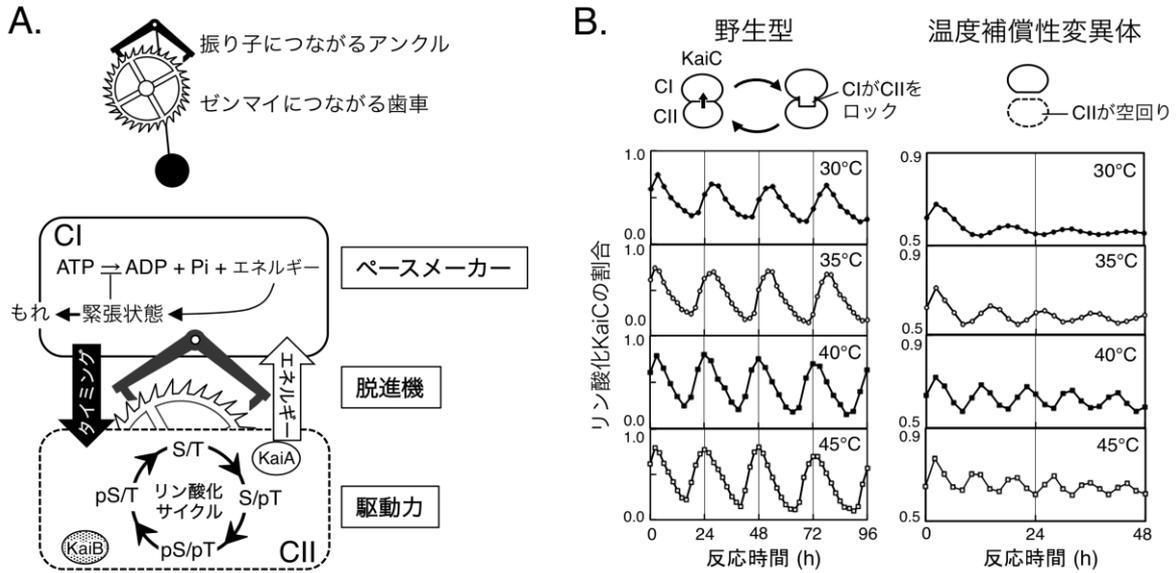


図3 KaiCの時計モデル

A. CIとCIIの相互作用モデル。CIのATPaseは調和振動の性質を持つペースメーカー、CIIのリン酸化サイクルは振動の駆動力として機能する。CIのATP分解によるエネルギーは分子内フィードバックによって緊張状態を生成する。CIの緊張状態は、CIIのリン酸化サイクルのタイミングを制御し、CIIはCIに振動を持続するエネルギーを与えることによって安定な概日時計を構成する。この仕組みは機械式振り子時計の脱進機(図4)を想定させ、CIを振り子、CIIをゼンマイと見立てることができる。B. 野生型と温度補償性変異体のリン酸化リズム(投稿準備中)。30から45°Cのリン酸化リズムを示した。野生型では全ての温度で約24時間周期を示すのに対し、温度補償性変異体は温度依存的に高温で短周期になった。野生型ではKaiCの2つのドメイン(CIとCII)が時間依存的に相互作用するが、温度補償性変異体では相互作用が異常になったためにCIIが本来持つ温度依存性性質が表れたと考えられる。

様のことがKaiCでも起こっているのではないかな。なおKaiCの緊張状態を示唆する構造変化の可能性が、結晶構造解析により報告されている<sup>11</sup>。

### 5. KaiCの2つのATPaseドメイン間の相互作用による安定した概日振動

バネや振り子の調和振動のもつエネルギーは保存量であるが、実際には摩擦などにより失われ、振動はいずれ減衰する。調和振動が安定な振幅を維持する自励振動を生成するには外力を供給する必要がある。KaiCの場合も同様で、KaiCだけでは振動は発生せず、ここにKaiAとKaiBを加えるとATPase活性とリン酸化状態が安定な概日リズムを発生する。Kaiの時計システムが安定なリズムを示すために、KaiCが2つのATPaseが重複したドメイン(CIとCII)から構成され、KaiAとKaiBの補助によって2つのドメインが互いに相互作用することが重要だと我々は考えている(図3A)。KaiCの2つのATPaseドメイン、CIとCIIのうち、CIは全体のATPase活性の半分以上を担い、調和振動の性質を持つペースメーカーとして機能し、CIIのATP活性はリン酸化サイクル(KaiCの自己リン酸化および自己脱リン酸化)を駆動する<sup>10,13</sup>。このCIIのリン酸化サイクルは複数の化学反応から構成されるループからなるため<sup>14-16</sup>、周期が温度に依

存する緩和振動の特性を持つことが考えられるが、CIがペースメーカーとしてCIIの活性(自己リン酸化および自己脱リン酸化)のタイミングを制御することによって、リン酸化サイクルの周期はCIの調和振動と同じものになり温度補償性を獲得するのかもしれない。

一方、CIの調和振動はCIIのリン酸化サイクルによって生じるCIIの「動き」から、その調和振動を持続させるエネルギーを得るのではないだろうか。CIIはCIの調和振動と同じ周期になっているので、ごく僅かなエネルギー供給でも繰り返し起こることで共鳴し、安定した振動が持続できるだろう。これまでの研究からKaiAはCIIに結合してCIIのATPase活性を上昇させることでKaiCの自己リン酸化を促進すること<sup>17-19</sup>、KaiBはCIに結合してKaiAの機能を阻害することでKaiCを自己脱リン酸化に転じさせること<sup>14,20</sup>が分かっている。調和振動(CI)と緩和振動(CII)の相反する性質をもつ2つの振動が、1つのKaiC分子内で相互作用し、安定な自励振動を生じると考えられる。こうしたデザインで安定した調和振動が可能なのは自然界にも工学の分野でも多くの例を見出すことができる(7節)。

## 6. 温度補償性変異体のスクリーニング

前節で KaiC の機能が 2 つの ATPase による機能的分業で行われることを提案した。この分業は 2 つのドメインの機械的カップリングで実現されていると考えられるが、その動きはタンパク質内部構造の微細な動きによるものと考えられ、直接示すことは容易ではない。今後の構造生物学的な解析が期待されるところだが、現時点でこの可能性を検討するため、図 1 に示した KaiC の周期変異体の温度補償性を再検討した。先にも述べたようにほとんどの場合、周期が変化しても温度補償性は維持されるが、例外的に温度補償性が弱くなった変異体 (シアノバクテリアの発光リズムが高温下で短周期になる) が見出された (図 1C)。変異体のリン酸化リズムも高温で周期が短くなり、45°C ではわずか 8 時間の超短周期になる (図 3B)。一方、変異体の ATPase 活性も温度依存的に高温で上昇したが、これは CI ではなく、CII の ATPase 活性上昇によるものであった。このことから、この変異体は CI による CII の制御が効かなくなった変異体であり、CII 本来の温度依存 (緩和振動であるため) な性質が表れたと考えられる。またこの変異体の周期 (8-10 時間) が野生型の概日周期よりはるかに短いことは重要である。CI が自身の周期より短い周期である CII の振動を制御することは、CII の反応を停止させるなどの単純な仕組みで可能であるが、周期の長い CII の反応を加速することは容易ではないことに注意されたい。

KaiC の ATPase 活性とリン酸化活性のリズムを調べると、変異体の両活性はリン酸化位相では野生型と変わらなかったが、脱リン酸化位相では野生型と比べて高かった。つまり、この変異型 KaiC における CI

による CII の制御の異常が脱リン酸化位相で顕著に生じていることが示唆される。周期の温度補償性をもたらす CI と CII の相互作用は普通の歯車のように常時かみ合っている静的でリジットな結合ではなく、時間 (位相) 限定的であり、作用にも方向性が必要なのだろう。

## 7. 機械式時計のデザインと概日時計のデザイン

3 節で述べたように、物体に平衡状態からのずれが生じたとき、ずれに比例した復元力が生じればフックの法則が成立するので、調和振動が発生する。この振動の周期は振幅が変わっても変化せず、振動エネルギーは保存される。この振動は多数の分子の統計的振る舞いに基づく化学反応ではなく、フックの法則に規定されたマクロな物体の物理的な運動であり温度の影響もほとんど受けない。したがって Bünning が指摘したように周期の温度補償性を特徴とする概日振動の基礎として重要である。なお、細胞内の運動や構造維持に関与する多くの ATPase は、力学的トルクを発生することができる。従って KaiC ATPase の高次構造内に、物理学的メカニズムに基づいた調和振動を起こすカラクリが潜んでいることは十分考えられることであろう。

一方、概日時計のもう 1 つの重要な特徴は振動が持続することである。生命現象にこの持続性を説明する仕組みを探した時、まず候補になるのは緩和振動であり、実際に細胞内の様々な周期の振動がこのモデルで説明できる。概日時計のモデルとして考えられている転写・翻訳のフィードバックモデルも緩和振動のモデルである。我々は当初シアノバクテリアでもこれが成り立つと考えたが、周期の温度補償性の説明がどうし

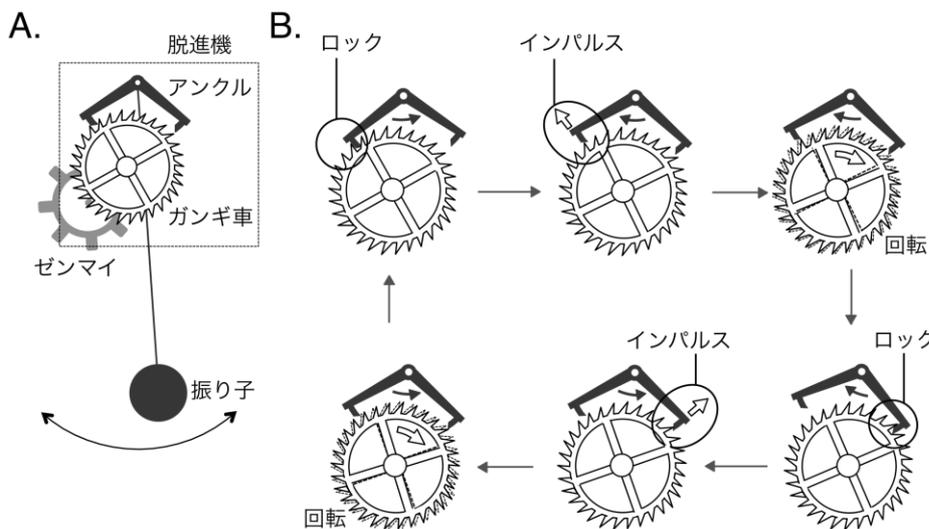


図 4 機械式振り子時計の脱進機

A. 脱進機。振り子に連動する「アンクル」と、ゼンマイによって駆動する「歯車 (ギンギ車)」とで構成される。B. 脱進機の動き。ゼンマイの動力で回転し続けようとするギンギ車の動きを、振り子の調和振動と連動するアンクルの 2 つの爪が止めたり (ロック)、外したりすることで、ギンギ車は一定の間隔で回転する。一方でギンギ車の回転は、振り子にその振動を持続するためのエネルギー (インパルス) を与える。

でも困難であった。そこで安定して持続する調和振動を考えた時、17世紀に発明された機械式の振り子時計は大変良いモデルであった。振り子時計は等時性を持つ振り子と、ゼンマイの動力による歯車の回転が、脱進機と呼ばれる装置で組み合わされる(図4)。脱進機は振り子につながったアングルと呼ばれる爪と、ゼンマイにより駆動されるガンギ車と呼ばれる特殊なかたちの歯車から構成される。ガンギ車の回転速度は振り子により制御され高い時間精度を得るとともに、歯車の形状によりゼンマイのエネルギーが振り子に一時的に与えられ(インパルス)、振り子は持続性を獲得する。脱進機は通常の歯車のように常時かみあっているのではなく、位相限定的に方向性をもった作用をするように設計され、2つの振動の長所を併せ持つ振動を可能にしている。

こうした振動は自励振動とよばれるが、時計以外にも安定した周期を必要とする多くの装置や物理現象(管楽器、弦楽器、電気的発振器など)で知られており、いずれも振動の周期を規定する調和振動(それぞれ周波数を規定する弦、管内の空気柱の弾性、コンデンサーとコイルによる時定数回路が相当する)とそれを増幅、安定化する振動体(振幅を持続させる弓、息による空気の流れ、真空管やトランジスタによる増幅器が相当する)の組み合わせで構成されている。

このデザインを KaiC 分子内に想定すると、CI の ATPase 活性を振り子、CII のリン酸化サイクルをゼンマイにあてはめることができる(図3A)。CI の ATP 分解によるエネルギーは KaiC 分子内に蓄積し、これが引き起こす分子内緊張がバネとして機能して、調和振動を発生させる潜在性を獲得し、ペースメーカーとして機能する。一方 CII のリン酸化サイクルは KaiA と KaiB の作用で回転力を獲得し、本来は温度依存的に回転する振動体として機能する。この2つの過程が KaiC 分子内に構成された脱進機でかみ合うことで、温度の影響を受けない周期と安定した振幅をもつリン酸化サイクルが生成する。以上が、我々が想定しているシアノバクテリアの計時機構の設計原理である。

## 8. おわりに

シアノバクテリアは約30億年前から地球に生息していると考えられている。昔の地球のような過酷な環境下でも安定な時を刻むために、シアノバクテリアは外部環境の乱れに対して安定な周期を保つことができる調和振動性の時計を持つようになったのかもしれない。さらに KaiC は1つのタンパク質に2つの ATPase ドメイン(CI と CII)を持ち、それぞれに

ATPase 活性とリン酸化リズムという異なる機能を分担させることで、CI の「バネ」が振動を持続することを可能にした。今後、KaiC の CI と CII それぞれの生化学的活性と原子レベルの構造を明らかにすることによって、「バネ」を実現する分子内フィードバック、駆動力を供給し細胞内を制御するリン酸化サイクル、そして「脱進機」として機能する CI と CII の分子内カップリングの仕組みを具体化することができるだろう。なお真核生物に KaiC のホモログは存在しないが、ATPase は生命の最も基本的酵素であるので、KaiC のような機能をもつ ATPase が潜んでいることを否定するのは時期早尚であろう<sup>21</sup>。KaiC タンパク質に潜む「バネ」と「脱進機」の実体は、機械式振り子時計の発明よりはるか昔に生命が獲得したからくりであることは明らかなのだから。

## 謝辞

この解説は我々が名古屋大学大学院理学研究科で、2010年ごろから行ってきた KaiC の ATPase 機能に基づく概日リズム発生機構の研究をまとめたものであり、本研究をまとめた成果は現在投稿準備中である。この研究は CREST (シアノバクテリアの概日システム、2007-2012)、科研費特別推進研究(24000016 シアノバクテリアの時計タンパク質による概日時間の生成機構、2012-2017)、基盤研究 A(KaiC 概日時計の動作プログラム: 2つの ATPase の協働の生理・生化学的解析、2017-2019)(いずれも代表近藤孝男)の支援で実施された。一連の解析で重要な貢献をされた岡野(今井)圭子博士(関西医科大学)、村山依子博士(九州大学)、高井直樹博士(横浜市立大学)、村中智明博士(京都大学)、この間研究を指導していただいた近藤孝男博士に深く感謝いたします。

## 参考文献

1. Dunlap, J. C., Loros, J. J. & DeCoursey, P. J. *Chronobiology: Biological Timekeeping*. (Sinauer Associates, Inc. Publishers, 2004).
2. Ishiura, M. *et al.* Expression of a gene cluster *kaiABC* as a circadian feedback process in cyanobacteria. *Science* **281**, 1519-1523 (1998).
3. Nakajima, M. *et al.* Reconstitution of circadian oscillation of cyanobacterial KaiC phosphorylation in vitro. *Science* **308**, 414-415 (2005).
4. Yoshida, T., Murayama, Y., Ito, H., Kageyama,

- H. & Kondo, T. Nonparametric entrainment of the in vitro circadian phosphorylation rhythm of cyanobacterial KaiC by temperature cycle. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. **106**, 1648–1653 (2009).
5. Murayama, Y. *et al.* Tracking and visualizing the circadian ticking of the cyanobacterial clock protein KaiC in solution. *EMBO J*. **30**, 68-78 (2011).
  6. Giese, A. C. *Cell physiology*. (Maruzen, 1965).
  7. Bünning, E. *The physiological clock*. (Springer-Verlag, 1967).
  8. Murayama, Y., Kori, H., Oshima, C., Kondo, T., Iwasaki, H. & Ito, H. Low temperature nullifies the circadian clock in cyanobacteria through Hopf bifurcation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. **114**, 5641–5646 (2017).
  9. Njus, D., Gooch, V. D. & Hastings, J. W. Precision of the *Gonyaulax* circadian clock. *Cell Biophys*. **3**, 223-231 (1981).
  10. Terauchi, K. *et al.* ATPase activity of KaiC determines the basic timing for circadian clock of cyanobacteria. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. **104**, 16377–16381 (2007).
  11. Abe, J. *et al.* Atomic-scale origins of slowness in the cyanobacterial circadian clock. *Science* **349**, 312-316 (2015).
  12. Leipe, D. D., Aravind, L., Grishin, N. V. & Koonin, E. V. The Bacterial replicative helicase DnaB evolved from a RecA duplication. *Genome Res*. **10**, 5-16 (2000).
  13. Nishiwaki, T. *et al.* Role of KaiC phosphorylation in the circadian clock system of *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. **101**, 13927–13932 (2004).
  14. Kitayama, Y., Iwasaki, H., Nishiwaki, T. & Kondo, T. KaiB functions as an attenuator of KaiC phosphorylation in the cyanobacterial circadian clock system. *EMBO J*. **22**, 2127–2134 (2003).
  15. Xu, Y., Mori, T. & Johnson, C. H. Cyanobacterial circadian clockwork: roles of KaiA, KaiB and the *kaiBC* promoter in regulating KaiC. *EMBO J*. **22**, 2117–2126 (2003).
  16. Nishiwaki, T. *et al.* A sequential program of dual phosphorylation of KaiC as a basis for circadian rhythm in cyanobacteria. *EMBO J*. **26**, 4029–4037 (2007).
  17. Iwasaki, H., Nishiwaki, T., Kitayama, Y., Nakajima, M. & Kondo, T. KaiA-stimulated KaiC phosphorylation in circadian timing loops in cyanobacteria. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. **99**, 15788–15793 (2002).
  18. Kim, Y. I., Dong, G., Carruthers, C. W. Jr., Golden, S. S. & LiWang, A. The day/night switch in KaiC, a central oscillator component of the circadian clock of cyanobacteria. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. **105**, 12825–12830 (2008).
  19. Nishiwaki-Ohkawa, T., Kitayama, Y., Ochiai, E. & Kondo, T. Exchange of ADP with ATP in the CII ATPase domain promotes autophosphorylation of cyanobacterial clock protein KaiC. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. **111**, 4455-4460 (2014).
  20. Tseng, R. *et al.* Structural basis of the day-night transition in a bacterial circadian clock. *Science* **355**, 1174-1180 (2017).
  21. Edgar, R. S. *et al.* Peroxiredoxins are conserved markers of circadian rhythms. *Nature* **485**, 459–464 (2012).

# 哺乳類の概日時計システムを分子レベルで理解する

吉種 光<sup>✉</sup>

東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻

## 1. 謝辞と序論

この度、第 15 回 日本時間生物学会学術奨励賞（基礎科学部門）を受賞できたことを、大変光栄に存じます。私は、修士 1 年生の時から 15 年連続で時間生物学会の学術大会に参加してきました。そして、初めて参加した第 10 回大会@札幌において学術奨励賞がスタートし、全 14 回の受賞者講演を拝聴してきました。当該分野を牽引してきた過去の受賞者の方々と名を連ねさせていただけることを大変嬉しく思うと同時に、身が引きしまる思いです。じゃじゃ馬で生意気な私を見捨てず、ここまで導いてくださった深田吉孝教授に心より感謝申し上げます。また、いつも一緒にサイエンスを追求してくれる吉種グループの全メンバーに、この場を借りて感謝の気持ちを伝えさせていただきたいと思います。私は時間生物学会が大好きで、学術大会や関連学会において著名な先生・先輩方と交流する機会に恵まれ、多くのことを学ぶことができました。時間生物学分野のますますの発展に微力ながら貢献できるよう全力を尽くしたいと思いますので、今後ともご指導ご鞭撻のほどどうぞよろしくお願い申し上げます。最後に、学生時代からずっと近くで研究をサポートしてくれた、そして夜中でも日曜日でも研究というと不満を一言も言わずラボに送り出してくれる妻と、時に沈みきった心を笑顔で癒してくれる息子たちに感謝を伝えたいと思います。いつもありがとう。

さて、本稿の執筆にあたり、過去の受賞者論文をいくつか拝見した。自分の研究成果を交えつつも、研究のスタートポイント、時間生物学との出会い、留学経験、そしていまの研究へと展開し、格言を残している例が多いようだ。このようにストーリー性の多い研究者人生を送られてきた過去の受賞者と比較して私は、非常にシンプルな経歴を持つ。物理・化学選択で大学に入学したものの、大学では生命科学を学びたいと当初から考えていた。大学で最先端の研究について学ぶうちに、疫学調査やケーススタディーと比較して、分

子生物学の研究に自分が強く惹かれることがわかり、特に 1999 年入学というタイミングもあり、睡眠という高次機能が遺伝子のフィードバックループで制御されている可能性を知り、深田研究室のある生物化学科へと進学した。その後、深田研で学部、修士、博士と過ごし、学位取得後には助教として、哺乳類の概日時計システムを分子レベルで解析してきた。これで終了、という訳にもいかないと思うので、それぞれの研究成果にその当時の思いを追加して説明していきたいと思う。

## 2. CLOCK のリン酸化リズム

希望通りに深田研究室に配属され、卒業研究では岡野講師（現 早稲田大学 教授）のご指導のもとで、時計タンパク質 CLOCK と BMAL1 を軸に生化学的な解析を行った。当初の目的は CLOCK の新規相互作用分子を同定する、というテーマであった。この当初の目的は完遂できないこととなるのだが、その過程で単クローン抗体を自作し（現在は MBL 社より販売するに至った）、マウス肝臓において CLOCK と BMAL1 が時刻依存的にリン酸化されていることを見出した。ここからが泥沼であったが、質量分析によりマウス個体におけるリン酸化部位の同定を目指した。大阪大学の質量分析装置を使用させていただいたため、生化学をしては試料を持って大阪大学に出張し、同定できずにトボトボと帰宅する、という小旅行をひたすら繰り返した。研究者としてやっているのであるかと、自信を喪失した時期でもあったが、この過程で身につけた質量分析を駆使した生化学は、最新 MS のオペレーターとなった現在、強力なパワーを発揮し、自分を色付けしてくれている。こうしてようやく至適化した条件で、CLOCK のリン酸化部位 Ser38、Ser42、Ser427 を同定した。このうち Ser38 と Ser42 はちょうど CLOCK の DNA 結合部位に位置しており、これらのリン酸化模倣変異体は、DNA 結合能が強力に抑制されており、E-box 依存的な転写

✉ stane@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

活性が消失することを見出した<sup>1</sup>。つまり、夜になると **CLOCK** はリン酸化されてその転写活性が抑制されるというフィードバックループの鍵となる 1 ステップを見つけることができた。こうして 1.1 年のオーバードクターを経て、無事に学位を取得することができたのである。

### 3. 翻訳後制御の重要性

学位取得後も特任研究員さらに助教として研究を継続した。学生時代のテーマの延長として、**CLOCK-BMAL1** 複合体をリン酸化するキナーゼを探索し、阻害剤スクリーニングから **JNK** が **BMAL1** をリン酸化することを見出した。細胞レベルでのデータも順調に取れて、個体まで展開するか悩んでいたその時、北海道大学の本間研究室から共同研究のお誘いを受けた。本間研では、神経特異的な *Jnk* アイソフォームである *Jnk3* の欠損マウスの行動リズムデータを元に、その分子基盤となるメカニズムを追求していたが、両研究室のデータを統合すると論文が完成したのである<sup>2</sup>。しかしここからの道のりも簡単ではなかった。査読者からのコメントで「露骨に両研究室のデータを融合しており、その間にギャップがある」という主張である。まるで我々の事情を知っているようなコメントであるが、ここから **SCN** での生化学という魔の領域に突入する。世界的に見ても **SCN** の単離技術が高い本間研究室で集められたタンパク質試料を東大に輸送してもらい生化学実験を行う。一回の実験で 120 匹分の **SCN** を扱う実験はミスが許されず、手が震えた。また一部の細胞レベルのデータは、査読コメントにより撤退を余儀なくされたが、このデータは次の論文の種となり、最近、大きな花を咲かせてくれた<sup>3</sup>。これはまた次の機会にでも紹介できたらと思う。さらに某雑誌のリバイズ中に、論文最終稿の相談のために本間さんと教授が東京まできてくれたのだが、空港からのモノレールの上で東日本大震災が発生した。強い余震に怯えながら大学で様子を見ていた我々だが、都内の交通網が混乱し、空港が陸の孤島となっていることを知り、深田先生の車で本間先生をお迎えに上がることとなった。いつもは 1 時間程度の道のりだが、やはり交通網の混乱はひどく、本間先生にお会いできたのは深夜で、大学近傍のホテルに到着したのは明け方であった。無事に論文採択へとたどり着いたのだが、乗り越えた荒波の数だけ、振り返ると思い出深い論文となる<sup>2</sup>。今、荒波に飲み込まれそうになっている人がいたら、前向いてまず一步を踏み出してみたい。また、この共同研究において本間先生らからご教授い

ただいた時間生理学への考え方は、かけがえのない財産となった。この場を借りてお礼申し上げたい。

深田研究室では、時計タンパク質の翻訳後制御の重要性を、翻訳後修飾部位の決定や新規修飾酵素の同定を含めて報告してきた。例えば **CRY2** は、**Ser557** が **DYRK1A** によってリン酸化されると、これを足場に **Ser553** が **GSK-3β** によって二次リン酸化され、プロテアソームによって分解される<sup>4,5</sup>。この **Ser557** を **Ala** に置換したノックインマウスは輪回し行動リズムが長周期化する<sup>6</sup>。一方、**CRY** をユビキチン化して分解に導く **E3** リガーゼ **FBXL3** が知られていたが、**FBXL21** は **CRY** をユビキチン化するにもかかわらず **CRY** を安定化する<sup>7</sup>。この **FBXL21** によって **CRY** に付加されたユビキチン鎖の意義についても、現在、興味深い知見が得られつつあるが、これも別の機会でご紹介できればと思う。

我々は、**CRY** の相互作用因子を探索し、**CRY** を安定化する 2 つの分子を同定した。筋萎縮性側索硬化症 (**ALS**) の原因遺伝子の一つである **TDP-43** は、**FBXL3** 依存的な **CRY** の分解を拮抗的に抑制し、脱ユビキチン化酵素 **USP7** は **CRY** に付加されたユビキチン鎖を除去する<sup>8</sup>。**FBXL3** と **FBXL21** の両者を失うと時計振動体は崩壊するので、分解と安定化の拮抗作用は時計振動の鍵を握ると考えられる。これに加えて、**CLOCK** リン酸化酵素 **CaMKII**<sup>9</sup>、**BMAL1** ユビキチン化酵素 **UBE3A/E6-AP**<sup>10</sup>、**PER2** リン酸化酵素 **SIK3**<sup>11</sup> など、修飾酵素の研究に共同研究者として貢献できたことは大きな経験となった。このように、哺乳類の概日時計は、転写フィードバック制御という基本骨格に対して、数多くの修飾酵素による翻訳後制御により適切なタイミングで分子の活性を巧みに調節していると考えられる。各時刻に、どの分子のどのアミノ酸残基が、どの酵素によりどんな修飾を受け、どのように活性が制御されているのか、それらが組み合わせとしてどのようにして時計振動を生み出しているのか、実体の全貌解明に向けて取り組んでいきたい。さらにこの複雑な修飾ネットワークが、発生から老化のライフステージにおいてどう変化し、また温度や光、食事によるエネルギー条件などの環境変化に対してどのような意義を持って応答するのか、興味深い問いが未解明である。

### 4. 転写リズムからの時計出力

翻訳後修飾に下支えされるフィードバック制御機構により、約半数の遺伝子はいずれかの臓器においてリズム的に発現しており<sup>12,13</sup>、各臓器の生理機能が

約 24 時間周期のリズムを刻んでいる。概日時計の破綻は睡眠障害のみならず、癌や高血圧などの発症リスクを増大させるため、概日時計と各機能リズムとを結び分子経路を明らかにすることは、新たな創薬ターゲットの発掘につながる。我々はこれまで、CLOCK のリズムックなリン酸化が DNA 結合を強力に抑制することを見出した<sup>1</sup>。つまり、CLOCK のリン酸化リズムが、CLOCK-BMAL1 複合体の DNA 結合リズムを生み出す可能性が考えられた。そこで、自作単クローン抗体を用いて定量的に CLOCK 結合 DNA 断片を単離する実験条件を確立し、ChIP-Seq 解析により 7,978 の CLOCK 結合領域を同定した<sup>14</sup>。これら結合領域では、その CLOCK の結合に昼に高く夜に低いという顕著なリズム性が観察された。実はこれは、当初の研究計画からするとネガティブな結果であった。これまでに我々は、BMAL1 と BMAL2 の嗜好性の違いから、E-box の類似配列またはその周辺配列の違いにより、誘導される転写活性化レベルが変化することを見出していた<sup>15</sup>。また、同じ E-box 制御を受ける遺伝子でも、RRE など他の DNA シスエレメントとの総和として転写リズムが決定され<sup>16</sup>、転写リズムは遺伝子近傍のヒストン修飾リズムとその位相がよく一致していることが報告されていた<sup>17</sup>。このことから、E-box の配列や位置効果による”個性”が ChIP-Seq 解析から浮かび上がる可能性に期待していたのである。しかし逆に、DNA 結合リズムが先で、これらの総和によりヒストン修飾リズムが生み出されるのであろう、ということが理解できた<sup>14</sup>。

以上の研究成果をまとめている過程で、同じく CLOCK の ChIP-Seq 解析を含む大規模な研究成果が Takahashi らのグループから発表されてしまった<sup>18</sup>。そこで少し方向転換をして本研究では、東京大学の岩崎渉准教授らと共同で、ChIP-Seq データから転写因子が認識する配列を抽出するバイオインフォマティクス技術を開発し、MOCCS (Motif Centrality Analysis of ChIP-Seq) と名付けた。これを、CLOCK-ChIP-Seq のデータに適用した結果、約 8,000 の結合部位の近傍において CACGTG がもっとも高いスコアで出現することから、この解析が先行研究の知見を再現できたことを示している。興味深いことに、1 塩基 miss match の配列の中でも CACGTT や CACGNG が選択的に CLOCK に認識されており、2 塩基 miss match の CATGCG が非典型的な E-box 配列として浮かび上った。MOCCS 解析は、時計研究に限らず、DNA に結合するさまざまなタンパク質について、実際に結合する DNA モチーフを網羅的に決

定する研究に応用されることが期待できる<sup>14</sup>。

## 5. A-to-I RNA 編集リズムの発見

我々は CLOCK の ChIP-Seq 解析と並行して、マウス肝臓の RNA から poly(A)-tailed RNA および small RNA を超並列型シーケンサーに供し、全転写産物の発現時刻プロファイルを記述した<sup>14</sup>。不規則な生活や交代勤務がもたらす体内時計の破綻は、睡眠障害のみならず多くの疾病リスクを増大させるため、遺伝子レベルでのリズムが生理機能リズムへと伝わる仕組みの解明が期待されている。例えば、この CLOCK 結合リズムの制御下では Keap1-Nrf2 シグナルが作動しており、抗酸化遺伝子の発現リズムが肺繊維化リスクの時刻依存性を生み出している<sup>19</sup>。また *Bmal1* 欠損マウスでは、軟骨細胞における *Nfatc2* の発現リズムが乱れ、変形性関節症の発症時期が顕著に早まるという早老症様の表現型を示すことが分かってきている<sup>20</sup>。約半数の遺伝子はいずれかの臓器においてリズムックに発現しており<sup>12,13</sup>、このような多岐に渡る時計出力リズムの理解には極めて多くの生命研究領域との融合が鍵を握ると考えられる。2010 年に発足した生物リズムの若手の会をはじめとする、研究者が集う「場」が重要な役割を担うであろう。どんな研究も自分とは関係ないとは思わず、耳を傾けてみると大発見のヒントが隠れているのかもしれない。

この分野融合の 1 例として最近、E-box によりリズムックに転写制御される新たな遺伝子 *Adar2* を同定した<sup>21</sup>。ADAR2 は、RNA のアデノシン (A) を脱アミノ化してイノシン (I) へと変換する酵素であり、修飾によって生じた I は C と塩基対を形成するため、遺伝情報上は A からグアノシン (G) に編集される。筆頭著者の寺嶋君は、東京大学の工学部の出身で、A-to-I RNA 編集の研究に従事していたが、マウス個体などを用いたより生理的な研究を行いたいということで、博士課程の学生として深田研究室で研究をスタートした。ちょうどこの頃、前述した CLOCK ChIP-Seq データと全 RNA の発現時刻プロファイルを持ち合わせていた我々は、*Adar2* が CLOCK による転写制御を受ける遺伝子の一つであることに気が付いた。せっかくラボを変えたにもかかわらず寺嶋君は、*Adar2* が時計の制御下で A-to-I RNA 編集リズムを生み出しているか否かを調べる、という研究をスタートした。実際にマウス時計臓器において A-to-I RNA 編集の効率は時刻依存的に変動し、この A-to-I RNA 編集リズムは *Bmal1* 欠損マウスや *Adar2* 欠損マウスでは一日を通して低い状態に保たれることを

明らかにした。この A-to-I 編集リズムは RNA-Seq 解析からも抽出されることから、これまで超並列型シーケンサーやその前処理時の技術的なエラーとして扱われてきた miss matched read の中には、生体内で編集された RNA が含まれることが判明した。つまり、数多くの転写産物において遺伝情報が A から G にリズムに書き換えられており、RNA の高次構造や翻訳されたタンパク質のアミノ酸配列が変化していると考えられる。

ここまでは珍しく筋書き通りに進んだ本研究だが、さらにここからラッキーパンチを量産することとなる。RNA 編集リズムを調べるために行った RNA-Seq 解析のデータを詳しく調べていると、*Adar2* 欠損マウスでは A-to-I 編集リズムが消失するだけでなく、数多くの転写産物においてその発現量のリズムが停止することが判明した。これまで転写リズムが重要と考えられてきた時計出力のメカニズムにおいて、転写後調整の重要性を示したということで当該分野に強いインパクトを与えることができた。さらに、この変異マウスの輪回し行動リズムを調べるとその周期が有意に短いことが判明した。時計出力リズムを研究していたつもりが、時計振動そのものの異常に気がついたこととなる。しかし、RNA-Seq データを見ても、実際に RT-PCR を行っても、時計遺伝子で RNA リズムに異常が見られる遺伝子は見つからない。そこで生化学的な解析を行うと、唯一、CRY2 タンパク質が異常蓄積していることが分かった。実際に、*Cry2* 欠損マウスと交配すると、*Adar2* 欠損による時計の短周期化は見られなくなることから、CRY2 の異常蓄積が時計の短周期化の原因であると結論づけた<sup>21</sup>。

## 6. おわりに

*Adar2* 欠損による生理機能の異常は多岐に渡る。それぞれの機能発現において ADAR2 がどの遺伝子のどの A を G に書き換えることが重要なのか、全貌の解明には多くの研究が必要になるであろう。同じように、*Bmal1* 遺伝子の欠損は様々な臓器機能の低下をもたらすが、どの遺伝子のどの E-box 配列に CLOCK-BMAL1 が結合することが重要なのか、時計出力の鍵を握る DNA シスエレメントはほとんど分かっていない。時計の転写フィードバック制御においてですら、どの遺伝子のどの DNA シスエレメントによる制御が時計振動に不可欠か、順番にメスを入れて現状の分子モデルを見つめ直すことが必要ではないだろうか。過去の知見を尊重しつつも、盲信することなく、哺乳類の概日時計システムを分子レベルで理解し

ていきたい。

## 参考文献

1. Yoshitane, H. *et al.* Roles of CLOCK phosphorylation in suppression of E-box-dependent transcription. *Mol. Cell. Biol.* **29**, 3675-3686 (2009).
2. Yoshitane, H. *et al.* JNK regulates the photic response of the mammalian circadian clock. *EMBO Rep.* **13**, 455-461 (2012).
3. Imamura, K. *et al.* ASK family kinases mediate cellular stress and redox signaling to circadian clock. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **115**, 3646-3651 (2018).
4. Harada, Y., Sakai, M., Kurabayashi, N., Hirota, T., & Fukada, Y. Ser-557-phosphorylated mCRY2 is degraded upon synergistic phosphorylation by glycogen synthase kinase-3 beta. *J. Biol. Chem.* **280**, 31714-31721 (2005).
5. Kurabayashi, N., Hirota, T., Sakai, M., Sanada, K., & Fukada, Y. DYRK1A and glycogen synthase kinase 3beta, a dual-kinase mechanism directing proteasomal degradation of CRY2 for circadian timekeeping. *Mol. Cell. Biol.* **30**, 1757-1768 (2010).
6. Hirano, A. *et al.* *In vivo* role of phosphorylation of cryptochrome 2 in the mouse circadian clock. *Mol. Cell. Biol.* **34**, 4464-4473 (2014).
7. Hirano, A. *et al.* FBXL21 regulates oscillation of the circadian clock through ubiquitination and stabilization of cryptochromes. *Cell* **152**, 1106-1118 (2013).
8. Hirano, A. *et al.* USP7 and TDP-43: Pleiotropic regulation of cryptochrome protein stability paces the oscillation of the mammalian circadian clock. *PLOS ONE* **11**, e0154263 (2016).
9. Kon, N. *et al.* CaMKII is essential for the cellular clock and coupling between morning and evening behavioral rhythms. *Genes Dev.* **28**, 1101-1110 (2014).
10. Gossan, N. C. *et al.* The E3 ubiquitin ligase UBE3A is an integral component of the

- molecular circadian clock through regulating the BMAL1 transcription factor. *Nucleic Acids Res.* **42**, 5765-5775 (2014).
11. Hayasaka, N. *et al.* Salt-inducible kinase 3 regulates the mammalian circadian clock by destabilizing PER2 protein. *Elife* **6**, e24779 (2017).
  12. Zhang, R., Lahens, N. F., Balance, H. I., Hughes, M. E., & Hogenesch, J. B. A circadian gene expression atlas in mammals: implications for biology and medicine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **111**, 16219-16224 (2014).
  13. Mure, L. S. *et al.* Diurnal transcriptome atlas of a primate across major neural and peripheral tissues. *Science* **359**, eaao0318 (2018).
  14. Yoshitane, H. *et al.* CLOCK-controlled polyphonic regulations of circadian rhythms through canonical and non-canonical E-boxes. *Mol. Cell. Biol.* **34**, 1776-1786 (2014).
  15. Sasaki, M., Yoshitane, H., Du, N. H., Okano, T., & Fukada, Y. Preferential inhibition of BMAL2-CLOCK activity by PER2 reemphasizes its negative role and a positive role of BMAL2 in the circadian transcription. *J. Biol. Chem.* **284**, 25149-25159 (2009).
  16. Ueda, H. R. *et al.* System-level identification of transcriptional circuits underlying mammalian circadian clocks. *Nat. Genet.* **37**, 187-192 (2005).
  17. Ripperger, J. A. & Schibler, U. Rhythmic CLOCK-BMAL1 binding to multiple E-box motifs drives circadian Dbp transcription and chromatin transitions. *Nat. Genet.* **38**, 369-374 (2006).
  18. Koike, N. *et al.* Transcriptional architecture and chromatin landscape of the core circadian clock in mammals. *Science*, **338**, 349-354 (2012).
  19. Pekovic-Vaughan, V. *et al.* The circadian clock regulates rhythmic activation of the NRF2/glutathione-mediated antioxidant defense pathway to modulate pulmonary fibrosis. *Genes Dev.* **28**, 548-560 (2014).
  20. Dudek, M. *et al.* The chondrocyte clock gene Bmal1 controls cartilage homeostasis and integrity. *J. Clin. Invest.* **126**, 365-376 (2016).
  21. Terajima, H. *et al.* ADARB1 catalyzes circadian A-to-I editing and regulates RNA rhythm. *Nat. Genet.* **49**, 146-151 (2017).

# 睡眠・生体リズム失調の生理的基盤と健康影響

北村 真吾<sup>✉</sup>

国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所睡眠・覚醒障害研究部

## 1. はじめに

このたびは2017年度日本時間生物学会学術奨励賞を受賞させていただき大変光栄に存じます。嬉しさを覚えることと同時に、身が引き締まる思いです。

自分が睡眠・リズム研究を本格的に開始したのは現在所属している三島先生の研究室に入ってからの9年程度ですが、非常に多岐に渡る研究に携わる機会を頂きました。その多くに共通しているテーマが、内因性の生物時計機構と物理的・社会的環境との不一致によって生じる同調関係の不調和でした。視床下部の視交叉上核(SCN)を中心とした全身的な生物時計機構によるヒトの内因性概日リズム周期( $\tau$ )は平均24.18時間(24時間11分)とされ<sup>1</sup>、1時間超の個人差を示します<sup>2</sup>。この個人ごとに異なる $\tau$ のズレを、日々、光をはじめとした同調因子によって外界の24時間周期に同調していくこととなりますが、しかし、現代社会では生物時計の個人特性や、人工照明をはじめとした社会的要因により、この同調関係が適正な関係を維持できないケースが増加しています。これまで、こうした同調関係の崩れにつながる生理的基盤と、結果として生じる種々の健康問題との関係を明らかにしてきました。本稿では、一連の研究で得られた主要な知見を紹介させていただきます。

## 2. ヒトの概日リズム特性評価の難しさ

およそどのような研究領域であっても特有の苦労はあるものですが、ヒトの概日リズム位相や周期の精密評価にもまた、さまざまな制約が存在します。その代表的なものがマスキングです。ヒトの多くの生理機能や内分泌ホルモン、認知行動機能が日内変動を示しますが、体温調節中枢である視索前野・前視床下部とメラトニン分泌の中枢である松果体はいずれもSCNからの神経投射が存在し、明瞭な概日リズムを示すことから、深部体温、メラトニンが概日リズム位相マーカーの代表的な指標になります。ただし、深部体温、メラトニンのいずれも環境光や行動、食事などの外

的・内的環境による修飾を強く受けることが知られます。これらの修飾がマスキングです。概日リズム特性の精密評価には、このマスキングをいかに抑制(デマスキング)するかが重要となります。

デマスキングとして、概日リズム位相評価ではコンスタントルーチン法、概日リズム周期評価では強制脱同調プロトコルが標準的な手法とされています。デマスキングには時間隔離実験室が必要になります。私が所属する睡眠・覚醒障害研究部(2018年4月に精神生理研究部から改称)はありがたいことに最大6名を同時に評価可能な大規模時間隔離実験室(図1)を保有しているため、デマスキングのための時間隔離実験を行うことが可能でした。

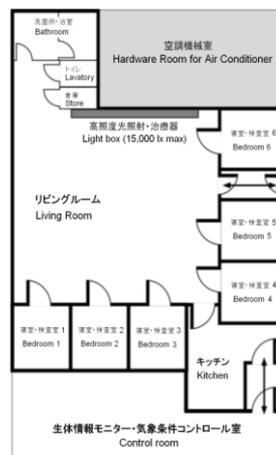


図1 精神生理研究部が保有する時間隔離実験室(左)と低照度にした様子(右)

コンスタントルーチン法では、被験者を低照度(< 15 lux)の隔離実験室に導入し、睡眠覚醒、姿勢、体運動量、カロリー摂取、照度、放熱などのマスキング要因を厳密に統制して、概日リズム指標の連続的または間欠的な測定を行い、その時点でのリズム位相を精度高く決定する方法になります。睡眠を取らせない方法が多く用いられ、その場合、24時間~40時間の持続覚醒を行います。低照度環境下で行動統制をされて

<sup>✉</sup> s-kita@ncnp.go.jp

いる被験者の覚醒を維持することはなかなか困難で、刺激しすぎない程度に覚醒を促すようさまざまな手段を講じました。実験者側は刺激の強度に制約はないので覚醒の維持は比較的容易ではありますが、強制脱同調プロトコル直後のコンスタントルーチン法となると余裕もなくなります。

強制脱同調プロトコルは文字通り強制的な脱同調を生じさせて、 $\tau$ に従ってフリーランした概日リズムを、前後の概日リズム位相の差分から推定する手法となります(図2)。被験者はコンスタントルーチン法と同様に低照度隔離実験室内で2週間以上にわたり28時間(または20時間)周期の睡眠・覚醒スケジュールに導入されます。この24時間から4時間外れた周期は、ヒトの生物時計が同調できない周期であるため、概日リズムマーカーである深部体温やメラトニン分泌リズムは同調することができずフリーランし、内的脱同調状態を惹起します。さらに、概日リズム評価の最大のマスキング要因である環境光は低照度ながら存在しますが、全位相にわたって均等分散曝露することで、この低照度光の影響さえも相殺されます。そのため、強制脱同調プロトコルはヒト概日リズム周期の厳密な測定手法とされています。強制的脱同調プロトコルではまた、時刻の知識を与えないことも重要であるため、時計を実験室に持ち込まないことだけでなく、実験者側も時刻が推測されるような言葉や態度を

示さないように振る舞う必要があります。ただ、28時間周期の睡眠・覚醒スケジュールとなると昼夜逆転を含むあらゆる不規則生活が含まれます。被験者は脱同調状態とはいえ一定時間の睡眠を取っていますが、実験者側は睡眠脳波の測定もあり同じような睡眠を取ることにもまなりません。そのため、睡眠不足で時差ボケを抱えたまま、被験者に時刻をさとられないよう元気に入室して測定を行うものの、長い隔離実験中に暇を持て余し、時間を聞き出そうとする被験者に苦労させられることもしばしばでした。

### 3. 概日リズム睡眠覚醒障害の病態生理基盤

私にとって時間隔離実験による最大の成果であり、もっとも印象的な研究は、概日リズム睡眠覚醒リズム障害(CRSWD)の病態生理研究です。CRSWDは個人の睡眠/生体リズム特性が24時間周期の昼夜サイクルに適合できない睡眠障害ですが、その一型である非24時間睡眠/覚醒リズム障害(N24SWD)は毎日1時間程度、睡眠覚醒サイクルが後退し、周期的な夜間の不眠と日中の過剰な眠気を経験する疾患です<sup>3</sup>。N24SWDは経口メラトニンや高照度光曝露といった時間療法に対して難治性であり、さらに気分障害をはじめとした精神疾患との高い併存を示しますが、その病態生理基盤については不明でした。このN24SWDは視覚障害者で高頻度にみられ、また古典的なフリーラン実験での睡眠・覚醒サイクルと近似した表現型であるため、同調の問題が指摘される一方、 $\tau$ が長いことがリスクとなることが示唆されていたことから、我々は視覚が健全なN24SWDの発症に $\tau$ の異常な長周期が関わるという仮説をもち、隔離実験室を用いた強制脱同調プロトコル及びコンスタントルーチン法による精密測定によってN24SWD患者6名の $\tau$ を健康対照者(中間型クロノタイプ9名、夜型クロノタイプ8名)と比較しました<sup>4</sup>。その結果、中間型クロノタイプの平均24.12時間(24時間7分)に対して、N24SWDでは平均24時間29分と、 $\tau$ が異常に延長していることを初めて明らかにすることができました(図3)。一方、夜型生活者の概日リズム周期とは大きな重複が認められたことから、N24SWD発症においては、 $\tau$ の延長のみならずそれ以外の要因(光感受性などの同調障害など)の多段ヒットの可能性が示唆されました。この研究では足掛け3年に渡って2週間の時間隔離実験を繰り返して完了しました。関わったスタッフも費用も膨大であり、このような大変貴重な知見を得ることができた研究に関わらせて頂いたことのありがたさを改めて感じます。

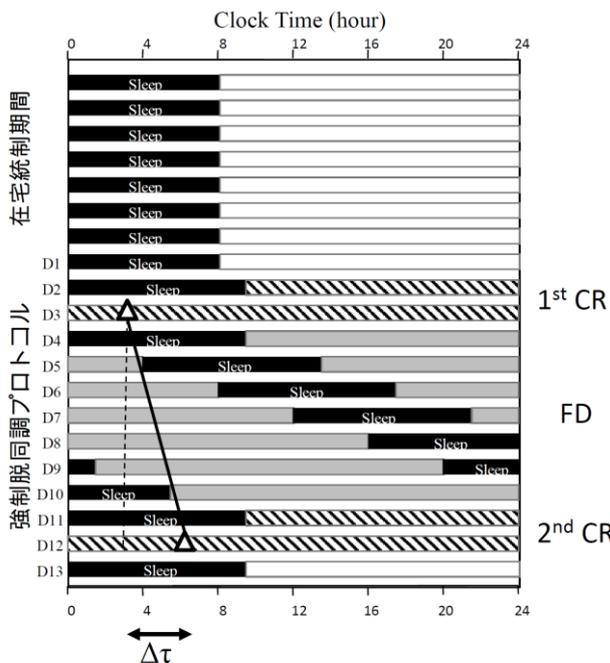


図2 概日リズム周期を精密評価する強制脱同調プロトコル。同調できない28時間の「1日」によりフリーランさせ、さらに覚醒中の低照度(<15lux)を各概日リズム位相に均等曝露し影響をキャンセルする。前後にコンスタントルーチン法(CR)による位相推定を行い、差分( $\Delta\tau$ )から概日リズム周期を算出する。

#### 4. クロノタイプの評価と抑うつ状態

クロノタイプ、いわゆる朝型夜型は一般にも広く膾炙された考えではありますが、はっきりと「朝型」「夜型」と二群に分類されるものというよりも、ゆるやかな連続性を示す表現型です。クロノタイプは個人の活動に対する時間的な指向性であり、主に質問紙で評価されますが、双生児研究や大規模 GWAS 解析でも遺伝的基盤が確認されていること、また  $\tau$  や概日リズム位相と関連がみられることから、個人の生物時計の表現型のひとつとみなされています。当然ですが、睡眠のタイミングもクロノタイプで異なります。しかし、現代社会では朝型生活を強いられるため、夜型の個人は会社や学校に間に合わせるように目覚まし時計などで強制的に覚醒します。早起きする分、寝る時間を早められれば問題ないのですが、実際には入眠のタイミングは生物時計の関わりが大きく、多くの場合、本人の概日リズム位相から大きく前進させることは困難です。そのため、遅い時間まで寝付けず早起きせざるを得ない夜型の個人は平日に睡眠の借金、睡眠負債を抱えやすい状態にあります。

クロノタイプの評価尺度として最も広く用いられているものは Horne-Östberg の朝型夜型質問紙 (Morningness-Eveningness Questionnaire: MEQ) <sup>5</sup> ですが、近年、Roenneberg らによるミュンヘンクロノタイプ質問紙 (Munich ChronoType Questionnaire: MCTQ) <sup>6</sup> の使用も増加しています。MCTQ の考え方は、社会的制約 (仕事や学校、育児など) が存在する平日の睡眠は目覚まし時計による強制覚醒などで個人の生物時計との関係が薄くなっているが、社会的制約が存在しない休日の睡眠のタイミング (睡眠中央時刻 MSF) は個人の生物時計を強く反映している、すなわちクロノタイプの指標として有用であるというものです。ただし、現代に生きる我々の

多くは平日に睡眠負債を蓄積し、休日の寝だめで解消しようとしてしまうため見かけ上、MSF は本来よりも後退してしまうので、この睡眠負債を調整したもの (MSFsc) をクロノタイプとしています。我々は原作者の Roenneberg 教授に許可を取り、バックトランスレーションを経て MCTQ の日本語版を作成し、妥当性を検証しました <sup>7</sup>。MCTQ 日本語版は原作と同様に MEQ と有意な相関がみられただけでなく、原作では検証されていない概日リズム位相 (唾液メラトニン分泌開始時刻) との有意な相関を観察し、MCTQ のクロノタイプ指標 MSFsc の生理的妥当性を確認しました。現在、MCTQ 日本語版を広く利用可能とするための Web サイトを運営しています (<https://mctq.jp/>、図 4)。こちらのサイトからは質問紙 PDF のダウンロードや、各パラメータ算出方法の参照ができるようにして普及に努めています。また、Web 版 MCTQ でクロノタイプ、睡眠負債、社会的ジェットラグを自己評価できるセルフチェックも同サイト上に実装中です。

夜型クロノタイプは近年、抑うつ状態のリスク要因として指摘されてきましたが、上記の通り、夜型に著名にみられる睡眠負債もまた抑うつ状態のリスクであることから、夜型であることそれ自体が関連するのかが、夜型に付随する睡眠負債が媒介しているのかが不明でした。我々は、一般成人 1,170 名を対象とした疫学調査により、睡眠状態や日中の眠気とは独立して、強い夜型であることそれ自体が、抑うつ状態の存在と有意な正の関連を示す (相対危険度 = 1.93) ことを明らかにしました <sup>8</sup>。この結果は横断的研究ですので夜型クロノタイプと抑うつ状態との因果関係を保証したものではありませんが、生物時計機能と気分調節との間に機能的関連が存在すること、および夜型クロノタイプが気分障害への罹患脆弱性を高める可能性を示唆しています。

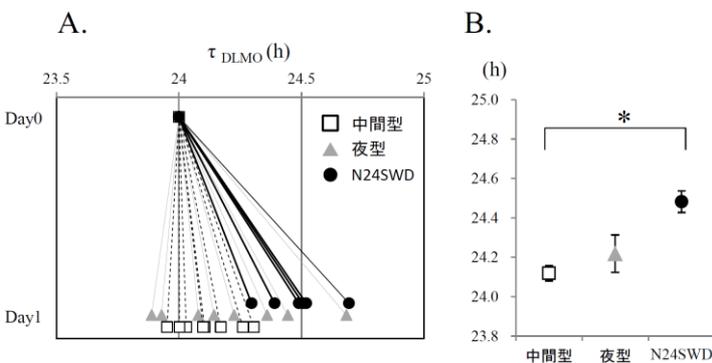


図3 強制脱同調プロトコルによる非24時間睡眠/覚醒リズム障害 (N24SWD) の概日リズム周期評価の個人値 (A) と群平均 (B)。中間型健康者と比較して有意な延長がみられたが、夜型健康者とは重複がある。



図4 ミュンヘンクロノタイプ質問紙 (MCTQ) 日本語版サイト。 (<https://mctq.jp/>)

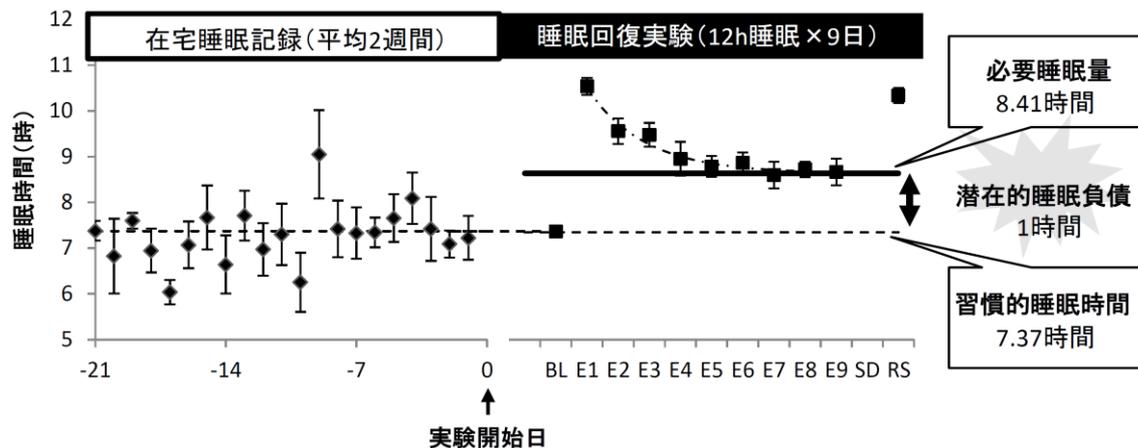


図5 睡眠延長試験によって得られた必要睡眠量と潜在的睡眠負債。15名の若年成人男性で約1時間の自覚のない睡眠負債がみられた。

### 5. 潜在的睡眠負債の推定

睡眠はタイミングだけでなく適性を確保することもまた重要です。睡眠不足は眠気やパフォーマンスの低下をはじめ、記憶・学習、代謝、免疫などの種々の精神・身体機能を阻害することが報告されています。一方、睡眠時間と種々の健康リスクの関係を調べた疫学研究の結果では、およそ7-8時間を底としたU字型の関係がみられていますが、個人差を考慮することなく睡眠の必要量を画一的に決定することは困難です。例えば米国睡眠財団(National Sleep Foundation)が推奨する睡眠時間をみると、成人(26-64歳)ではRecommendedが7-9時間、May be appropriateが6-10時間と大きな幅が示されています<sup>9</sup>。そのため、同じ短時間睡眠であったとしても、個人によって睡眠不足なのかどうか、またどの程度不足しているのかを定量的に判定することはできません。我々は、睡眠不足の個人に十分な睡眠機会を設けた時、睡眠の恒常性機能による睡眠の延長が飽和した時に個人の必要睡眠量が得られるとの仮説を持ち、睡眠に問題のない健康な成人男性15名を対象に睡眠延長試験を実施しました<sup>10</sup>。約2週間の在宅での睡眠時間記録に続いて、実験室内で9日間にわたり睡眠機会を12時間と設定し、得られた睡眠時間にフィッティングさせた指数減衰曲線の漸近線を個人の必要睡眠量とみなしました。また、この必要睡眠量と在宅での習慣的睡眠時間との差を、自覚されていない睡眠不足(潜在的睡眠負債)として算出しました。

本研究の結果、睡眠に問題のない若年成人男性の習慣的睡眠時間は平均7.37時間(7時間22分)で全国調査の同年代の睡眠時間とおおむね同じでした。しか

し、推定された必要睡眠量は平均8.41時間(8時間25分)であり、潜在的睡眠負債(必要睡眠量と実際の習慣的睡眠時間の差)は平均して約1時間で、15名中、13名は睡眠が不足している状態に陥っていました(図5)。ただし、必要睡眠量には個人差があり、15名のうち、もっとも短い人では7.29時間(7時間17分)、もっとも長い人で9.26時間(9時間15分)と、約2時間の違いがみられたことから、やはり画一的な睡眠不足の判断は慎むべきといえます。睡眠延長による睡眠不足の解消は、眠気だけでなく生活習慣病やストレスに関わる内分泌機能でも改善がみられました。睡眠不足から回復する前と比べて、十分に解消された後では、空腹時血糖値が減少し、基礎インシュリン分泌能(HOMA-β)は向上しました。また、甲状腺刺激ホルモンや遊離サイロキシシン(T4)の増加、ストレスホルモンである副腎皮質刺激ホルモンやコルチゾールの減少がみられました。

本研究の手続きは多くの人員や日数が必要であり必要睡眠量の推定を実施することは困難ですが、睡眠延長初日の延長した睡眠時間と、習慣的睡眠時間との差分である睡眠リバウンドは、潜在的睡眠負債とよく相関していました( $r=0.769$ )。この睡眠リバウンドはいわゆる「寝だめ」に相当すると考えられることから、休日での寝だめを行わないで済む睡眠時間の確保が、潜在的睡眠負債を予防するひとつの目安になると考えられます。

本成果は、必要睡眠量の個人差を考慮する必要性を指摘することに加え、深い睡眠だけでなく浅い睡眠もまた心身の健康に重要であることを示唆しています。

## 6. おわりに

振り返れば、これまでに多くの研究に携わらせていただきましたが、いずれも夜型化や睡眠負債非常に現代的なテーマであり、将来に渡ってより研究の重要性が高まるであろう課題です。その研究を進める上で求められる視座として、私自身は多様性の容認を大事に考えています。睡眠を制御可能な行動とみなす人は少なからず存在していると感じますが、実際の自由度が低いことはこれまでの研究から明らかです。個人ごとにそれぞれ適したパターンが存在するにもかかわらず、意志による可塑性を過大評価して「からだの声」に耳を傾けないことが、種々の現代的な睡眠・リズム問題を蔓延させている一因と感じています。多様性を認めることは個人のみならず共同体にとっても考えの幅を広め、新たな価値を生み出す基盤となりえます。それぞれの個人が、一般に流布している睡眠神話に惑わされず、また近視眼的な効率性やパフォーマンスを追い求めることなく、個々人の自然な睡眠・リズムに従った生活を送ることを理解することそのものが、睡眠・リズム問題の克服の要諦といえます。私自身も、時間生物学の多様性の一端を担い、領域を豊かにする一助を担えるような存在になれるよう、今後も研究に邁進していく所存です。

最後になりましたが、これまでご指導頂きました睡眠・覚醒障害研究部の三島和夫先生、肥田昌子先生、九州大学の樋口重和先生をはじめ、とても多くの方に支えられてこれまで研究を行ってことができました。この場を借りて深く感謝申し上げます。

## 参考文献

1. Czeisler, C. A. *et al.* Stability, precision, and near-24-hour period of the human circadian pacemaker. *Science* **284**, 2177-2181 (1999).
2. Duffy, J. F. *et al.* Sex difference in the near-24-hour intrinsic period of the human circadian timing system. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **108**, 15602-15608 (2011).
3. American Academy of Sleep Medicine. "International classification of sleep disorders—third edition (ICSD-3)." *Darien, IL: American Academy of Sleep Medicine* (2014).
4. Kitamura, S. *et al.* Intrinsic circadian period of sighted patients with circadian rhythm sleep disorder, free-running type. *Biol. Psychiatry* **73**, 63-69 (2013).
5. Horne, J. A., & Ostberg, O. A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int. J. Chronobiol.* **4**, 97-110 (1976).
6. Roenneberg, T., Wirz-Justice, A., & Mellow, M. Life between clocks: daily temporal patterns of human chronotypes. *J. Biol. Rhythms* **18**, 80-90 (2003).
7. Kitamura, S. *et al.* Validity of the Japanese version of the Munich ChronoType Questionnaire. *Chronobiol. Int.* **31**, 845-850 (2014).
8. Kitamura, S. *et al.* Evening preference is related to the incidence of depressive states independent of sleep-wake conditions. *Chronobiol. Int.* **27**, 1797-1812 (2010).
9. Hirshkowitz, M. *et al.* National Sleep Foundation's sleep time duration recommendations: methodology and results summary. *Sleep health* **1**, 40-43 (2015).
10. Kitamura, S. *et al.* Estimating individual optimal sleep duration and potential sleep debt. *Sci. Rep.* **6**, 35812 (2016).

## ノーベル賞受賞者の横顔

2017年のノーベル生理学・医学賞は、米ブランダイス大学のホール（Jeffrey C. Hall）博士とロスバシュ（Michael Rosbash）博士、ロックフェラー大学のヤング（Michael W. Young）博士の3氏に授与されました。概日リズムを生み出す遺伝子と生物時計の生成機構を明らかにした功績に対して与えられたものであり、多くの時間生物学研究者にとって朗報でありました。今回、人となりをお伝えいただきたいと、受賞者に近い方々に執筆をご依頼しました。時間生物学会会員以外の方にも執筆者候補を広げ、多数の方にお願いたしましたところ快くご承諾いただけました。感謝申し上げます。特集としてお届けいたします。

### Jeffrey C Hall

## Jeff Hall を讃える

山元 大輔<sup>✉</sup>

東北大学大学院生命科学研究所（～2018年3月）

未来ICT研究所（2018年4月～）

Jeffery C. Hall たち、ショウジョウバエのサーカディアンリズム研究を先導した3人のノーベル賞受賞の報に接した時、私の中で極めて情緒的な、本能的とも言える感動が弾けた。単に、いい知らせとか、めでたいとかということではない、それは「扁桃体的」な高揚であったのだ。*period* 研究については、Ron Konopka と Seyour Benzer に第1義的な功績がある、あるいは Jeff たちと Young の間で繰り広げられた熾烈な闘いの中で重大な誤謬が産み落とされた、といった批判については確かにあたっている面もある。それでも私にとっては、この3人が主導した *period* 研究の壮大なドラマの展開こそ、自身の研究を進める上での指導標であったし、乗り越えなければならぬ壁でもあった。なかでも、求愛行動の遺伝的基盤の解明という私のライフワークは、Jeff Hall の難解で膨大な総説群<sup>1</sup>との格闘から始まっているのだから、私にとって Jeff は偉大な存在である。

Jeff が *period* の研究に入っていたきっかけは、キイロショウジョウバエの雄が奏でる求愛歌のごく短周期のウルトラディアンリズムにあったというのが私の理解である<sup>2</sup>。皮肉にもこの求愛歌の周期についてはその信頼性を巡っていまだに論争が続いている<sup>3,4</sup>。その行方はともかくとして、Jeff のリズム研究の特徴は、生身のハエの行動解析に端を発していることであ

り、酵母の *splicing* を研究していた Mike Rosbash、*Notch* のクローニングにいち早く成功しハエの分子発現生物学の草分けとなった Mike Young とは、毛並みが全く違うことは重要なポイントであろう。体のどこにオシレーターがあるのか、という問題へも遺伝的モザイクを使ってアプローチした<sup>5</sup>。その原型は、かつて Jeff 自身が求愛行動の体内フォーカスの推定に使った手法にあり、今のように気の利いた分子遺伝学的ツールのない時代の、連続切片再構成による気の遠くなるような生物学である<sup>6</sup>。遺伝子のクローニングは、Jeff にとっては単に生物学的核心へと向かう一過程に過ぎなかったと見ることもできよう。

人としての Jeff の大きな特徴は、人一倍のハミ出し者ぶりと、一見、それとは対立するかに見えるストイックで真摯な姿勢が混在している点である。これは、必ずしも万人ウケする人柄とは言えない。実際、Jeff にあからさまなブーイングが巻き起こるのを学会場で目撃したこともある。だが、すぐそばで彼に接していた門下生たちは、皆口を揃えて Jeff のフェアネスを讃え、そして Jeff を心から信頼していると私は感じる。雄の求愛行動を支える屋台骨とも言える *fruitless* 遺伝子のクローニング、それに続く *fruitless* 発現ニューロン群の同定では、Jeff のグループと私たちは先陣を争ってしのぎを削ったライバルであった。

✉ daichan@m.tohoku.ac.jp

いわば「仇」のような立場にいる私を Jeff は終始、フェアに評価してくれた。Hall 研の (元) メンバーたちから、Jeff が日頃から私をどんなに尊重してくれていたかを聞いて、ただ勝つことだけを考えていた自分が恥ずかしくなったものである。

南北戦争の歴史を探ることが趣味らしく、時には研究よりもそちらに重点があるかのような暮らしぶりだったとも聞いている。Brandeis を自分の希望に反して去ることとなり、Maine に移ってからは、次第にサイエンスとの距離が広がっていったようである。私が Jeff と交わした最後のメールのチャットは 2012 年 3 月 1 日で、ちょうどその頃に当たる。しかし昨年、Maine で開かれた Gordon conference の際に Jeff を訪ねたという Ralph Greenspan によれば、Jeff は「相変わらず意気軒昂」だそうだ。リズム研究のみならず、広く行動遺伝学の羅針盤となった Jeff C. Hall は、これからも私にとって偉大な指導者であり続けるであろう。

#### 参考文献

1. Hall, J. C. Genetics of the nervous system in *Drosophila*. *Quarterly Rev. Biophys.* **15**, 223-479 (1982).
2. Hall, J. C. Courtship lite: a personal history of

- reproductive behavioral neurogenetics in *Drosophila*. *J. Neurogenet.* **16**, 135-163 (2002).
3. Stern, D. Reported *Drosophila* courtship song rhythms are artifacts of data analysis. *BMC Biol.* **12**, 38 (2014).
4. Kyriacou, C. P., Green, E. W., Piffer, A., & Dowse, H. B. Failure to reproduce *period* dependent song cycles in *Drosophila* is due to poor automated pulse-detection and low-intensity courtship. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **114**, 1970-1975 (2017).
5. Ever, J., Frisch, B., Hamblen-Coyle, M. J., Rosbash, M. & Hall, J. C. Expression of the *period* clock gene within different cell types in the brain of *Drosophila* adults and mosaic analysis of these cells' influence on circadian behavioral rhythms. *J. Neurosci.* **12**, 3321-3349 (1992).
6. Hall, J. C. Control of male reproductive behavior by the central nervous system of *Drosophila*: dissection of a courtship pathway by genetic mosaics. *Genetics* **92**, 437-457 (1979).

---

## Jeffrey Hall が歩んだ道

谷村 禎一<sup>✉</sup>

名古屋大学

今回の 3 人がノーベル賞を受賞したらというお遊びの映像が数年前に作られ、Jeff Hall が何と言うかが一部の人の間で注目されていた。実際にそれが現実となったが、彼はそのことを単純に喜ぶ人ではない。A certain Prize award を貰ったために世界各地からくる講演依頼をすべて断っているという。

Jeff Hall と初めて日本で会ったのは 1980 年だったと思う。彼は 1971 年にポスドクとして Benzer 研に入り、1974 年に Brandeis 大学で職を得た後の頃である。彼は Thomas Hunt Morgan の系列の生え抜きのショウジョウバエの遺伝学者であったが、行動遺伝学分野に入り、多くの総説を書き、〈愛すべきハエ〉の伝道者だった。その後、彼とはハワイで開催されたサーカディアンリズムの日米シンポジウムなど

の国際会議で何回か会い、Brandeis 大学と自宅を訪問したこともあった。ストックホルムでの受賞者講演が終わって 3 人が壇上に立ったが、その時 Jeff が隠れる仕草をしたのを見た時、ああ Jeff だなあと思った。彼はスポットライトがあたるようなことはあまり好きでないのである。

今回のノーベル賞は、*period* 遺伝子の発見者である Ronald Konopka (1947-2015) と Seymour Benzer (1921-2007) が受賞するのが妥当であったと私は思うが、彼らはすでにこの世を去っていた。Konopka が *per* 突然変異体を分離していた頃に、Jeff は Benzer 研にいて、その後、Michael Rosbash と協力して *per* 遺伝子をクローニングし、3 種の点突然変異を塩基上で解明した。*per* タンパク質が実際に脳の特定の細胞

---

✉ tanimura@kyudai.jp

で発現しており、その mRNA が周期的に変動し、転写のフィードバックループを作っていることを明らかにした一連の研究成果に彼の貢献があった。多くの研究者が信じなかった「たかがハエ」の時計突然変異体の研究が起爆点となって、今日のサーカディアンリズムの研究の興隆があるのである。Morgan から始まったショウジョウバエの研究がまたひとつ花開いた

のは、その系譜に連なった多くの研究者が奮闘した研究の結果であり、そこに Morgan 以来の歴史があったことを Jeff は受賞講演で話した。Jeff はショウジョウバエの優れた研究者であるばかりではない。南北戦争におけるゲティスバーグの戦いについて興味を抱き研究しており、書物を出版し Brandeis 大学で講義をしていたことを最後に付け加えておきたい。

## Michael Rosbash

### ノーベル賞とバスケットボール

名越絵美<sup>✉</sup>

Dept. of Genetics and Evolution, Sciences III, University of Geneva

2017 年のノーベル生理学・医学賞が Jeff Hall, Michael Rosbash, Mike Young の 3 博士に授与された記念に、「Rosbash 博士につきましてご執筆いただけませんか。どのような点に長所があり今回の受賞につながったのかについて非常に興味があります。またなにかお人柄をあらわすようなエピソードなどありましたらありがたいです。」という依頼を承りました。私は 2004 年から 2009 年まで米国ブランダイス大学の Michael Rosbash 博士の研究室でポストドク研究をしておりましたので、*period* 遺伝子のクローニングからは 20 年後の Michael の人物像をお伝えすることになりますが、それでもよければ、と気楽にお引き受けしました。ですが、いざ小文を書こうとすると、これがなかなか難しい。

難しいのは人柄が目立った特徴が無いからではなくて、逆に特徴がありすぎるため。彼の研究の原動力につながる特質、個性を理解するには精神分析医が何人か必要だと思われまます。

そんなことを言わないで少しは何か 為になることを書いてください、という声が聞こえそうなので、私なりに解析を試みました。Michael の研究の原動力につながる基本的性質に挙げられるのは、

- 明晰な頭脳
- ハードワーカー
- 好奇心
- 執着心
- 闘争心
- 想像力

でもこれらを兼ね備えた研究者は概ね優秀で、世の中に何百、何千人と存在するでしょう。では Michael が「普通の」優秀な研究者にとどまらずノーベル賞に値する画期的な研究を立ち上げ、継続することに成功したのは加えて何が必要だったのか。

答えは、人間関係、だったと思います。

*period* 遺伝子のクローニングに始まり、概日時計の分子機構を解き明かす数々の研究の多くは、同じブランダイス大学の Jeff との共同研究によって行われました。酵母を用いた分子生物学のエキスパートであった Michael と、ハエの行動遺伝学のエキスパートであった Jeff のそれぞれの専門知識とテクニックが共存して初めて、「行動を制御する遺伝子を同定する」という疑問を解き明かすことが可能になったのは Michael 自身も認めている幸運でした。しかし幸運は同じ大学、学部にいるという受動的な人間関係からではなく、研究とは一見無関係なところから始まった人間関係がもたらしたようです。

Michael と Jeff は他のファカルティーメンバーや近所の電話会社 (AT&T) の社員など一緒に、度々昼休みにバスケットボールをしており、プレイ後はロッカールームでいつも *period* 遺伝子のクローニングをしようかどうか、と話し合っていた。毎回同じ話ばかりするので、しびれを切らした AT&T の社員が、「もうその話は聞き飽きたから、いい加減にしてさっさとクローニング始めろ。」と。その言葉が Jeff との共同研究が実際に始まるきっかけになったとのこと。

✉ Emi.Nagoshi@unige.ch

私がブランダイス大学に在籍した頃は、Michael も Jeff も忙しく、残念ながらバスケットボールどころか普通の交流もほとんどなかったように覚えています。1980年代と比べて、近年では 独立したてのアシスタントプロフェッサーでも昼休みにバスケットボールをする時間を取れる人はあまりいないと思うので、いい時代でしたね、で片付けられる話かもしれません。でも、全国の研究者の皆さん、隣の研究室に誰

がいてどのような研究をしているのか、案外知らないことが多いのではないのでしょうか。自分の研究室のすぐ近くに、自分の知識やテクニックを補う素晴らしい共同研究者がいるかもしれません。朝から晩まで研究室に閉じこもっているより、外に出て、研究者に限らず様々な人々と交流を深めた方が、案外新しいアイデアや切り口につながるかもしれません。

## Michael Young

# 2017年ノーベル医学生理学賞の激烈な競争 —MW Young 博士の粘りと成功

石田直理雄<sup>✉</sup>

独立行政法人産業技術総合研究所

ショウジョウバエの時計変異株 *period* は、1971年に R Konopka と S Benzer により単離された<sup>1</sup>。残念ながら、2007年に Benzer 博士、2015年に Konopka 博士も他界された。2017年体内時計分野 (*Period* 遺伝子クローニングとその機能) でノーベル賞に輝いた Jeffrey Hall 博士は Konopka 博士の誠実なひととなりを追悼文で書いている。体内時計分野でノーベル賞が出る時には亡くなられた R Konopka と S Benzer 両博士は最有力候補であった。特に Benzer 博士は物理学から転身し Francis Crick, Sydney Brenner とともに第1期分子生物学の流れを作った人であり、この分野の真の創始者と言える。なぜなら、行動に関する形質は多因子で決まると考えられていた時代に「一遺伝子一行動説」を提唱した先見性は今でも輝いており、物理学から転身した第1期分子生物学者らしい大胆な仮説は見事に哺乳類まで花開いた。分子生物学黎明期の Benzer 博士は T4 フェージ系を用いて遺伝子の直線性やポイント変異の質的差異 (シストロン) を見出した。当然この時代にも Benzer 博士はノーベル賞候補に挙げられている。

その後13年の月日が流れ、1984年に J Hall 博士と MW Young 博士のグループが別々に *Period* 遺伝子のクローニングを発表した時には医学生物学研究者の間には強烈な衝撃が走った<sup>2,3,4,5</sup>。なぜならたった一個の遺伝子上の一塩基配列の違いで生物の時計が長くなったり短くなったり、時計が止まったりした

のである。短周期 (18時間)、長周期 (28時間) が一アミノ酸変異、無周期はストップコドンを持ち蛋白質が途中までしか作れない変異。それはまさしく Benzer 博士の提唱した「一遺伝子一行動説」を裏付ける結果であった。それではなぜこの遺伝子が生物の時計として機能するのが次の大問題となった。このころ2017年ノーベル賞に輝いた J Hall 博士 と MW Young 博士は、その後 *Period* 遺伝子の機能に関し全く異なる結果を発表する。二人ともまだ駆け出しの准教授クラスの研究者であった。初めて著者が二人に米国の FASEB ミーティングで会った時の印象は今でも鮮やかに蘇る。まるで性格が違っていたのが今でも強く印象に残る。MW Young 博士は長髪をなびかせ滔々と東部なまりの英語で立て板に水のような話し方、一方 J Hall 博士は牛乳瓶の底のような度の強い眼鏡をかければそばそと話す姿はまるで文学者か哲学者の風貌であった。当時 PERIOD 蛋白の配列から機能を予測された配列は Gly-Thr や Gly-Ser のリピート配列のみであった。この配列から MW Young 博士グループはプロテオグリカンではないかとの予想を立てる<sup>6</sup>。実際彼らは抗体を用いた染色実験から細胞の間隙が染まったという誤ったデータを Nature 誌 Article に報告する。この1986年に出された誤ったデータは6年後の1992年になりようやく MW Young 博士グループの准教授 L Saez 博士らにより否定され撤回される<sup>7</sup>。この間我々を含む哺乳類 *Period*

✉ n.ishida@aist.go.jp

遺伝子のクローニングを狙ったグループも大きな打撃を受ける。この論文撤回騒ぎとは対照的に、J Hall 博士らは 1990 年に Paul Hardin (現 Texas A&M) を筆頭著者に M Rosbash らと、*Period* 遺伝子の機能が転写因子としてのネガティブフィードバックである事を明確に示した実験を発表しこの時代の一つの決着が出された<sup>8</sup>。

しかしながら *Period* 遺伝子の機能に関して味噌をつけた MW Young 博士グループはこの失敗にめげず事なく粘り強く分子時計の研究を継続したのはさすがである。その後第 2 第 3 の時計遺伝子、*timeless* 遺伝子<sup>9</sup>、*double-time (dbt)* 遺伝子<sup>10</sup>で復活する。今回の受賞理由である。*Period* 遺伝子の機能が転写因子であるならば核移行が重要となるはずである。Forward Genetics から見出された第 2 の時計遺伝子産物 TIMELESS は PERIOD 蛋白の PAS ドメインを介して時間特異的核移行を起こすことで体内時計の制御を行うことを彼らは見出した。さらに MW Young 博士の業績として特筆されるのは *dbt* 遺伝子が PERIOD 蛋白をリン酸化し、これを時間特異的分解に導く大変重要な因子である事をいち早くショウジョウバエの系で示した点にある。この発見が我々を含むいくつかのグループによる Casein Kinase I $\alpha$  や Casein Kinase I $\beta$  が哺乳類の分子時計の黒幕である事の重要なヒントとなった<sup>11</sup>。このように一度の失敗でめげずに粘り強く体内時計の分子機構に向き合ってきた事が 2017 年ノーベル医学生理学賞の MW Young 博士の業績である。この辺の経緯が日本のマスコミでは全く解説されていなかったのは、現在多くの理系記者がいるにもかかわらず非常に残念である。

### 哺乳類時計遺伝子クローニングの激しい競争

哺乳類 *Period* 遺伝子の発見はショウジョウバエ *Period* 遺伝子の発見からさらに約 13 年後 1997 年から 1998 年にかけて 3 つのグループから別々に論文発表される。最も早くこの遺伝子配列を発表したのはかずさ DNA 研究所 (千葉) の長瀬らのゲノムプロジェクトグループで 1997 年の 4 月の事である<sup>12</sup>。その後 7 月に東大ゲノムプロジェクトグループ (程、榊ら)<sup>13</sup>、8 月にベイラー医科大のゲノムプロジェクトグループ (Sun, Albrecht, Lee ら)<sup>14</sup>が *RIGUI* (中国語で日時計) という別の名前まで付けて発表する。このときかずさ DNA 研がヒト *period2* を、東大とベイラー医科大はマウスの *period1* をそれぞれ独立に報告した。しかしながらベイラー医科大のグループはこの Cell 誌のイントロダクションでかずさの KIAA0347 が哺

乳類最初の *Period* 相同遺伝子である事をきちんと指摘している。1998 年には産総研の生物時計グループ (坂本、石田ら) とかずさ DNA 研究所 (長瀬ら) の共同でラットの *period2* が報告される<sup>15</sup>。この辺りの遺伝子クローニング競争も大変激烈でピアレビューで競合相手に配列を知られないために、最初の投稿ではあえて誤った塩基配列を投稿したという懐かしい逸話も存在する。雑誌の方も遺伝子クローニング競争を良く熟知しており、論文受付から受理まで一週間以内がざらにあった。歴史的に見れば哺乳類時計遺伝子の研究では我が国の貢献も大変大きかったと言える。さらには名大グループの *Kai* 遺伝子の発見が今回の受賞に入らなかったのも誠に残念である<sup>16</sup>。

今思えばこれら哺乳類 *Period* 遺伝子のクローニングはすべて独立のゲノムプロジェクトによる成果であったのはまさに時代の流れであった。この辺りから分子生物学の世の中は Forward Genetics (順遺伝学) から Reversed Genetics (逆遺伝学) の時代に入ってくる。この受賞を契機に今後我が国の科学予算が、我々時間生物学会員に少しでもトリクルダウンする事を期待して筆を擱きたい。



SRBR (フロリダ) でのテニスのひと時。左から Jeff Elliot (UCSD)、霜田政美 (農生研)、Mike Young (Rockefeller)、石田直理雄 (当時産総研)。写真は霜田氏提供。

### 参考文献

1. Konopka, R. J. & Benzer S. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **68**, 2112–2116 (1971).
2. Reddy, P. *et al.* Molecular analysis of the *period* locus in *Drosophila melanogaster* and identification of a transcript involved in biological rhythms. *Cell* **38**, 701–710 (1984).
3. Zehring, W. A. *et al.* P-element transformation with *period* locus DNA restores rhythmicity to

- mutant, arrhythmic *Drosophila melanogaster*. *Cell* **39**, 369–376 (1984).
4. Bargiello, T. A., Jackson, F. R. & Young, M. W. Restoration of circadian behavioral rhythms by gene transfer in *Drosophila*. *Nature* **312**, 752–754 (1984).
  5. Bargiello, T. A. & Young, M. W. Molecular genetics of a biological clock in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **81**, 2142–2146 (1984).
  6. Jackson, F. R., Bargiello, T. A., Yun, S. H. & Young, M. W. Product of *per* locus of *Drosophila* shares homology with proteoglycans. *Nature* **320**, 185–188 (1986).
  7. Bargiello, T. A. *et al.* The *Drosophila* clock gene *per* affects intercellular junctional communication. *Nature* **328**, 686–691 (1987).
  8. Hardin, P. E., Hall, J. C. & Rosbash, M. Feedback of the *Drosophila period* gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature* **343**, 536–540 (1990).
  9. Sehgal, A., Price, J. L., Man, B. & Young, M. W. Loss of circadian behavioral rhythms and *per* RNA oscillations in the *Drosophila* mutant timeless. *Science* **263**, 1603–1606 (1994).
  10. Price, J. L. *et al.* *double-time* is a novel *Drosophila* clock gene that regulates PERIOD protein accumulation. *Cell* **94**, 83–95 (1998).
  11. Miyazaki, K., Mezaki, M. & Ishida, N. The role of phosphorylation and degradation of hPER protein oscillation in normal human fibroblasts. In *Molecular Clocks and Light Signalling* (eds Chadwick, D. J. & Goode, J. A.) **253**, 238–249 (2003) Novartis Found. Symp.
  12. Nagase, T. *et al.* Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. VII. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which can code for large proteins *in vitro*. *DNA Res.* **4**, 141–150 (1997).
  13. Tei, H. *et al.* Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila period* gene. *Nature* **389**, 512–516 (1997).
  14. Sun, Z. S. *et al.* *RIGUI*, a putative mammalian ortholog of the *Drosophila period* gene. *Cell* **90**, 1003–1011 (1997).
  15. Sakamoto, K. *et al.* Multitissue circadian expression of rat *period* homolog (*rPer2*) mRNA is governed by the mammalian circadian clock, the suprachiasmatic nucleus in the brain. *J. Biol. Chem.* **273**, 27039–27042 (1998).
  16. Kondo, T. A cyanobacterial circadian clock based on the Kai oscillator, In *Clocks and Rhythms* (eds Stillman, B., & Stewart, D.) 47–55 (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2008).

## A speedy version of the *double-time* story

Justin Blau<sup>1✉</sup>, Brian Kloss<sup>2</sup> and Adrian Rothenfluh<sup>3</sup>

1: Department of Biology, New York University, 2: New York Structural Biology Center

3: Departments of Psychiatry, Neurobiology & Anatomy, Human Genetics, University of Utah

With the recent Nobel prize awarded to Jeff Hall, Michael Rosbash and Mike Young, we were invited to retell the story of *double-time* (*dbt*), a key component of the circadian clock that was identified in the Young lab in the 1990s<sup>1,2</sup>. Hopefully, it will become clear that Nobel-prize winning science is a mixture of bold vision, persistence and lucky breaks.

Circadian (~24hr) rhythms had been studied in the

1950s and '60s as a fascinating phenomenon. However, it was not until Seymour Benzer and his lab bravely attempted to identify clock mutants that the molecular analysis of circadian rhythms opened up, culminating in the 2017 Nobel prize. Ron Konopka, a PhD student in Benzer's lab, identified the first mutants that altered circadian behavior in a forward genetic screen<sup>3</sup>. All three mutations mapped to the same chromosomal

✉ justin.blau@nyu.edu

location and Konopka and Benzer called the affected gene *period* (abbreviated to *per*) since the mutations had such dramatic effects on the period length of fly rhythms. The *per<sup>short</sup>* (*per<sup>s</sup>*) and *per<sup>long</sup>* (*per<sup>l</sup>*) mutants changed the fly's normal 24hr rhythms to 19hr and 28hr respectively, while the *per<sup>o</sup>* null mutant abolished behavioral rhythms altogether. These mutants were also important for the field of behavioral genetics as a whole since they demonstrated that animal behavior could be profoundly affected by a single gene.

The *period* gene was cloned thirteen years later in the Hall and Rosbash labs at Brandeis University and independently in the Young lab at Rockefeller University<sup>4,5</sup>. Both groups used a new technology: *per* was cloned by transforming *per<sup>o</sup>* null mutant flies with P element transposons containing DNA that restored behavioral rhythms, making *per* the first animal gene identified in this way.

However, the sequence of *per* gave no clues for how it functioned in the fly's internal clock. It also seemed highly unlikely that *per* was working alone. So in the late 1980s, Mike Young's lab re-embraced the genetic approach to rhythms and started using P elements to screen for new clock mutants. When P elements insert into the genome, they often disrupt gene function and the P element then marks the affected gene by its position in the genome. In theory, this makes it much easier to identify the affected gene than trying to find a single base pair change caused by chemical mutagens such as EMS that Konopka and Benzer had used to isolate the original *per* mutants.

The P element screen was a success: 23 years after the *per* mutants were published, Amita Sehgal and Jeff Price, two postdocs in Mike Young's lab, described a null mutation in a new clock gene – *timeless* (*tim*) – that made flies arrhythmic just like the original *per<sup>o</sup>* null mutation<sup>6</sup>. However, in cloning the gene, Mike Myers, another Young lab postdoc, found that the P element that caused the arrhythmic phenotype was no longer inserted in the *tim* locus but had deleted 70bp of *tim* as it jumped

to its final location further along the second chromosome<sup>7</sup>. Thus, although the P element tagging approach did not work as intended, the induced mutation was sufficiently large to identify *tim*.

*per* and *tim* null mutations do not affect the viability of flies. This facilitated the experiments that led to the discovery of the negative feedback loop that is found at the heart of all circadian clocks – even though clock genes are quite different between animals, fungi and plants. In flies, *per* and *tim* are transcribed, translated and then Per and Tim proteins enter the nucleus, where they repress further transcription of *per* and *tim*<sup>8,9</sup>. Thus *per* and *tim* are components of a molecular clock that gives 24hr rhythms in the levels of *per* and *tim* RNA and proteins.

This was the state of our understanding of the clock in 1996, but two major questions remained unanswered: What activates *per* and *tim* transcription? And how does one cycle of such a simple feedback loop take 24hr to complete? Encouraged by their success in identifying *tim*, the Young lab continued to screen the second chromosome for new clock mutants. However, they reverted to using EMS as a mutagen since the P element screen had not made it particularly easy to identify *tim* and also since EMS can generate point mutations that alter period length – like the original *per<sup>s</sup>* and *per<sup>l</sup>* alleles. A new postdoc, Jeff Price, a PhD student, Adrian Rothenfluh, and two technicians, Amy Kiger and Marla Abodeely, mutagenized *cn bw* flies, made them homozygous and screened them for altered circadian behavior. Jeff soon found a new mutation with a short period of 21hr. He named the mutant *Speedy* after the cartoon character Speedy Gonzales, although Mike later renamed it *double-time<sup>Short</sup>* (*dbt<sup>S</sup>*). Mike was immediately excited by the *dbt<sup>S</sup>* phenotype, since a fast-running clock is unlikely to be caused by a non-specific defect and Jeff proceeded to map the mutation.

To everyone's surprise, *dbt<sup>S</sup>* mapped to the third

chromosome even though the screen was designed to isolate homozygous second chromosome mutations. Jeff was able to isolate homozygous *dbt<sup>S</sup>* flies, which had an even shorter period of 18hr. Jeff and a new postdoc in the lab, Brian Kloss, then homed in on the genetic locus first using deletions of the third chromosome and then using P element-containing lines in the affected region. Ultimately, they found one P element (*dbt<sup>P</sup>*), which failed to complement *dbt<sup>S</sup>* and behaved like a null allele. This time, the P element proved invaluable in identifying the gene it had inserted into. Interestingly, homozygous *dbt<sup>P</sup>* animals did not survive to adulthood, indicating that *dbt<sup>P</sup>* was a lethal mutation and that *dbt* had additional functions outside the clock <sup>2</sup>.

Meanwhile Adrian continued to screen for new mutations. Encouraged by the impressive phenotype of *dbt<sup>S</sup>* heterozygotes, Mike and Adrian decided that screening single flies in an F1 dominant screen would be a more efficient way to identify mutants. This made sense since all of the period-altering mutations identified so far were semi-dominant, meaning their phenotype could be detected even as heterozygotes. And the precision and robustness of the automated locomotor activity assay – and of the flies' internal clock – meant that it was easy to reproducibly detect a fly with less than a 5% change in its period length. Sure enough, Adrian found many new mutants including a new long-period *dbt* allele (*dbt<sup>L</sup>*) with a heterozygous period of 25hr and a homozygous period of 27hr <sup>2</sup>.

Meanwhile a new postdoc, Justin Blau, had joined the Young lab. Mike suggested that Justin study a set of genes that potentially interacted with Per protein, which had been identified in a yeast two-hybrid screen performed in Chuck Weitz's lab at Harvard <sup>10</sup>. However, it was unclear whether these genes were expressed in the same cells as Per *in vivo* or whether their *in vitro* interaction was an artifact of forcing them together in yeast. Justin started by asking where these genes were expressed in *Drosophila* embryos, which the Young lab had extensive expertise with from their studies of

*Notch* <sup>11</sup>. Justin focused on late stage embryos since that is when *per* and *tim* are expressed in embryogenesis <sup>12</sup>. However, Justin's somewhat sloppy collections of late embryos included a few animals that had already hatched into larvae. Strikingly, Justin could see *tim* RNA and protein in a few cells in the center of the larval brain. Mike immediately realized that if the molecular clock was functional in larvae – as his earlier work with Amita Sehgal and Jeff Price had suggested <sup>13</sup> – then Justin should be able to study how the clock is affected in *dbt<sup>P</sup>* homozygous larvae before they died as pupae. Justin found that *dbt<sup>P</sup>* mutants massively over-accumulate Per protein, indicating that Dbt's normal function is to destabilize Per. Furthermore, rhythms of Per and Tim proteins stopped in the pacemaker neurons in the central brain in *dbt<sup>P</sup>* larvae, allowing us to conclude that *dbt* is essential for the molecular clock to run <sup>2</sup>.

The data from *dbt<sup>P</sup>* larvae complemented the careful and painstaking time courses of *per* and *tim* RNA and proteins that Adrian performed in *dbt<sup>S</sup>* and *dbt<sup>L</sup>* adult flies. The great advantage of studying adult flies is the abundance of *per* and *tim* RNA and proteins in the fly eye, which permits biochemical assays. Adrian found that Per protein accumulation and degradation cycles were altered in *dbt<sup>S</sup>* and *dbt<sup>L</sup>* flies – and so too were Per's rhythmic phosphorylation cycles <sup>2</sup>. Alterations to Per phosphorylation made even more sense when Brian used the P element in *dbt<sup>P</sup>* to identify the affected gene and found that *dbt* encoded the fly version of Casein Kinase Iε – finally, a fly clock gene with a known function and an obvious mammalian counterpart <sup>1</sup>. Importantly, Brian identified amino acid substitutions in *dbt<sup>S</sup>* and *dbt<sup>L</sup>* mutants as well as major reductions in *dbt* expression levels in *dbt<sup>P</sup>* mutants. And Lino Saez, a long term researcher in the Young lab, demonstrated that Dbt stably associates with Per. Together, these data showed that Dbt regulates several steps in the clock and helps extend the simple negative feedback loop to last 24hr <sup>1</sup>.

Despite early difficulties in finding mammalian

orthologs of the fly *per* gene, CK1 $\epsilon$  and its close relative CK1 $\delta$  were obvious orthologs of *dbt*. Not surprisingly, Mike was very excited to learn that the *tau* mutation in Syrian hamsters that shortens their behavioral rhythms to 20hr<sup>14</sup> is a missense mutation in CK1 $\epsilon$ <sup>15</sup>. Similarly, mutations in human CK1 $\delta$  alter period length and cause familial advance sleep phase syndrome<sup>16</sup>. Indeed, CK1 $\delta$  and CK1 $\epsilon$  phosphorylate mammalian Per proteins and thus perform a similar function to Dbt in flies. Thus the bold behavioral genetic approach in *Drosophila* initiated by Konopka and Benzer<sup>3</sup>, and continued by the Hall, Rosbash and Young labs, has not only shed light on an interesting biological phenomenon in flies, but has also led to an in-depth understanding of mammalian behavior and physiology and even human dysfunction.

The late 1990s were a very exciting time to be in the Young lab as pieces of the clock started appearing ever more rapidly and were fitted together into a coherent whole. In the Young lab, we were not only driven by our own excitement but also by rumors that the Rosbash lab had also identified mutations in new clock genes on the third chromosome. In the end, the Rosbash and Hall labs focused on the *Clock* and *cycle* mutations that encoded the missing transcriptional activators of *per* and *tim*<sup>17,18</sup>. And when we met members of the Rosbash lab at conferences, we realized that the “evil empire” was in reality a friendly group of postdocs and PhD students like ourselves who were easy to get along with.

Although Jeff Hall, Michael Rosbash and Mike Young all have very different personalities, one commonality is that they all remained at the same university for their entire careers as Professors. Such loyalty and such unwavering institutional support is unusual in modern academia and meant that the three prizewinners never had to rebuild a lab from scratch and could stay focused on their research. Additionally, all three winners also had other research interests: Mike Young’s lab also studied *Notch*, conveniently located near *per* on the X chromosome; Michael Rosbash’s lab also studied

RNA processing and Jeff Hall’s lab studied *Drosophila* courtship. Perhaps this diversity of interests allowed them all to sustain their long-term excitement for circadian rhythms.

For us lab members, the Young lab was a stable and stimulating environment with an exciting biological question at its heart and with just enough competition to drive us forward. Despite this competition, Mike always gave us the freedom to explore our own ideas and he was never forceful in insisting on a particular research avenue – instead he presented his ideas in such an appealing way that it was hard to disagree! Certainly, Mike’s vision, instincts and persistence paved the way for his lab’s seminal contributions to the field. We never imagined that we might be doing Nobel prize-winning work and were just excited to figure out how the clock ticks in the tiny fruitfly brain. The same is true of Mike, who was always excited by the latest discoveries in the lab and is a genuinely humble Nobel prizewinner. This was echoed by Rick Lifton, the President of Rockefeller University, who said on the day of the Nobel prize announcement, “The universal comment in my Inbox this morning has been: *I don’t know if the Nobel prize has ever been given to a nicer person.*” To win the Nobel prize and maintain such modesty is a lesson for us all.

#### References:

1. Kloss, B. *et al.* The *Drosophila* clock gene *double-time* encodes a protein closely related to human casein kinase I epsilon. *Cell* **94**, 97-107 (1998).
2. Price, J. L. *et al.* *double-time* is a novel *Drosophila* clock gene that regulates PERIOD protein accumulation. *Cell* **94**, 83-95 (1998).
3. Konopka, R. J. & Benzer, S. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *PNAS* **68**, 2112-2116 (1971).
4. Bargiello, T. A., Jackson, F. R. & Young, M. W. Restoration of circadian behavioural rhythms by gene transfer in *Drosophila*. *Nature* **312**, 752-754 (1984).
5. Zehring, W. A. *et al.* P-element transformation with *period* locus DNA restores rhythmicity to

- mutant, arrhythmic *Drosophila melanogaster*. *Cell* **39**, 369-376 (1984).
6. Sehgal, A., Price, J. L., Man, B. & Young, M. W. Loss of circadian behavioral rhythms and *per* RNA oscillations in the *Drosophila* mutant *timeless*. *Science* **263**, 1603-1606 (1994).
  7. Myers, M. P., Wager-Smith, K., Wesley, C. S., Young, M. W. & Sehgal, A. Positional cloning and sequence analysis of the *Drosophila* clock gene, *timeless*. *Science* **270**, 805-808 (1995).
  8. Hardin, P. E., Hall, J. C. & Rosbash, M. Feedback of the *Drosophila period* gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature* **343**, 536-540 (1990).
  9. Vosshall, L. B., Price, J. L., Sehgal, A., Saez, L. & Young, M. W. Block in nuclear localization of *period* protein by a second clock mutation, *timeless*. *Science* **263**, 1606-1609 (1994).
  10. Gekakis, N. *et al.* Isolation of *timeless* by PER protein interaction: Defective interaction between *timeless* protein and long-period mutant PER<sup>L</sup>. *Science* **270**, 811-815 (1995).
  11. Kidd, S., Baylies, M. K., Gasic, G. P. & Young, M. W. Structure and distribution of the Notch protein in developing *Drosophila*. *Genes Dev.* **3**, 1113-1129 (1989).
  12. James, A. A., Ewer, J., Reddy, P., Hall, J. C. & Rosbash, M. Embryonic expression of the *period* clock gene in the central nervous system of *Drosophila melanogaster*. *EMBO J.* **5**, 2313-2320 (1986).
  13. Sehgal, A., Price, J. & Young, M. W. Ontogeny of a biological clock in *Drosophila melanogaster*. *PNAS* **89**, 1423-1427 (1992).
  14. Ralph, M. R. & Menaker, M. A mutation of the circadian system in golden hamsters. *Science* **241**, 1225-1227 (1988).
  15. Lowrey, P. L. *et al.* Positional syntenic cloning and functional characterization of the mammalian circadian mutation *tau*. *Science* **288**, 483-492 (2000).
  16. Xu, Y. *et al.* Functional consequences of a CK1 $\delta$  mutation causing familial advanced sleep phase syndrome. *Nature* **434**, 640-644 (2005).
  17. Allada, R., White, N. E., So, W. V., Hall, J. C. & Rosbash, M. A mutant *Drosophila* homolog of mammalian *Clock* disrupts circadian rhythms and transcription of *period* and *timeless*. *Cell* **93**, 791-804 (1998).
  18. Rutila, J. E. *et al.* CYCLE is a second bHLH-PAS clock protein essential for circadian rhythmicity and transcription of *Drosophila period* and *timeless*. *Cell* **93**, 805-814 (1998).

## Mike Young の「狡兔三窟」

松本顕<sup>✉</sup>

順天堂大学医学部

Mike Young の研究室（ロックフェラー大学）に留学していた縁でこの記事の執筆依頼を頂いた。まずは御依頼に従って Mike の人柄を紹介したい。

Mike は常に紳士的で普段からポーカーフェイス。自分からはあまりジョークを言ったりせず、どちらかといえば物静かな人物である。講演も淡々としており、私信のメールでさえビジネスライク。必要な時に必要な事項のみ。この点で、難解な単語が連発する Jeff Hall の長文（Jeff が論文の査読をするとすぐバレる、と評判）や、好き嫌いの感情むき出しの Michael Rosbash の手紙（ハエのリズム屋なら、査

読の批判内容でだいたい彼と判る）とは対照的といえる。脱線ついでに。私の中では、ノーベル賞の 3 氏のイメージは日本の 3 大戦国武将と重なる。革新的で好戦的な Rosbash は信長。喜怒哀楽が激しく人情家で変わり者の Jeff は秀吉。ポーカーフェイスで戦略的な Mike は家康... みなさんはどんな印象でしょうか？（受賞講演は YouTube で。3 氏ともいつもより緊張している感じですが）

そんな Mike に今回の受賞のお祝いメールを送った所、彼にしては異例な早さでの返信。いつもがいつもだし、受賞直後で忙しいだろうと、こちらは返

✉ amatsumo@juntendo.ac.jp

信など期待していなかったもので、かえって驚いた次第。”Many many thanks Akira!” 本文1行。彼らしい簡潔さだが、manyの繰り返しや、最後の感嘆符からも彼の喜びが十分に伝わってきた。

このように書くと、Mikeは非常に計算高く冷淡（確かにハエ屋の陰口ではMike the calculating）な感じに受け取られそうだが、それは誤解。人付き合いが悪い訳でもなく、大学内での人望も厚いので、真面目で慎重な性格の表れだと思う。家庭ではお嬢さんを溺愛していて、福岡に来た際には「娘にも食べさせたい」と博多の棒ラーメンを大量にスーパーマーケットで買い込んでいたのが印象的だった（レシピは英訳してあげたけれど、美味しく作れたかの情報は例によって聞けてません）。趣味の面では、骨董品に興味があるのだろうか、私が留学した際に徳利に入った焼酎をプレゼントしたら、中身よりも容器の方を絶賛していたのが記憶に残っている（でも日本人からすると単なる土産物の容器。残念ながら、鑑定眼はノーベル賞級ではない模様...）。

さて、Mikeとの心温まるエピソードは留学先の先輩である霜田政美先生が詳しく御披露されると期待して、ここからは、長らくハエのリズムに携わってきた私の立場から、書きたいことを書かせて頂こうと思う。

Mike Youngのノーベル賞受賞を語る時、どうしても避けて通れない黒歴史がある。Mikeは一度どん底の落ち目を経験し、そこから這い上がって今回のノーベル賞受賞となった。この奇跡的な起死回生の裏には、Mikeを支え続けた上席研究員4名の貢献があったことを紹介したい。リズム分野で活躍したのは、今は亡きLino Saez（2015年逝去。本学会誌Vol. 21に霜田先生やMikeによる追悼文）。しかし残りの3名を知る人は本学会には少ないはずだ。まずは時代背景から...

—

1980年代後半。Mikeによる「細胞間カップリング説」はリズム分野に留まらず、当時の科学界に広く喧伝され、Mikeのノーベル賞受賞は確実とまで噂された。この説は、ハエの*per*遺伝子に発見されたThy-Glyリピートがプロテオグリカンのコアモチーフに類似することから唱えられ、Young研からはPERタンパク質が細胞間で働いていることを裏付ける実験結果も複数発表された。しかしそれらは再現性に乏しく、最終的にはMike自身による1992年のNature誌での関連論文取り下げ記事で完全に瓦解。それまではヒーロー扱いされていたMikeの評価も

一転した。科学における「確証バイアス」の典型例とも、また大げさには、科学に付随する作為と欺瞞の象徴とも誘われ、現在の日本でなら失職も免れないほどの分野を越えた大スキャンダルになった。実際、私も数々の批判や悪口を耳にした。といっても、リズム分野においては比較的冷静な反応だったように思う。彼の説の誤りは徐々に明らかにされた挙句、1990年にはそれに代わる正しい説（フィードバックループ仮説）が発表されていたためだろう。一方で、詳細な経緯を知らぬ異分野からの批判は痛烈だった。余談ながら、私はRosbashやJeff、あるいはリズム分野の他の有名人の論文の一部にも大小様々な間違いはあると思うが、正式な論文取り下げが行われた事例は聞いたことがない。そういった意味でもMikeの勇氣ある対応には心から感服する。もちろん、そうせざるを得ない状況であったとも思う。特に異分野の研究者に対しての説明責任を考えれば。

Mike自身はかなり早い時点で自説に見切りをつけていたようだ。大騒動の渦中でもポーカークフェイスを崩さなかったのは相当な精神力で、これまた感服の至り。裏事情としては、すでに1991年にはポストクのAmita SehgalやJeffrey Priceらが*timeless*の最初の変異体(aj42。後の*tim<sup>01</sup>*)の分離に成功。研究室をあげてポジショナルクローニングに乗り出し、虎視眈々と捲土重来を狙える体制を作り上げていた。それを踏まえての論文取り下げだったともいえる。それでも世間の目は甘くなかった。特にNature誌に取り下げ記事が出た1992年以降は。

この時期のMikeの研究室を支えていたのがSimon Kidd、Tobby Lieber、Cedric Wesleyの3名の上席研究員によるショウジョウバエの発生遺伝学の研究である。*per*ともリズムとも関係のない研究が、Young研立ち上げ初期から並行して展開されており、これが結果的にはMikeを助けることとなった。まさに「狡兔三窟」(ググって下さい)。

私のYoung研への留学は西暦2000年(ロックフェラー大学のあるマンハッタンには、世界貿易センタービルがまだそびえ立っていた)。すでにMikeは*timeless*、*double-time* (CK1ε)、*vrrille*など大物時計遺伝子の相次ぐ同定でリズム分野に完全に返り咲き、ノーベル賞の下馬評も再燃していた頃である。その当時もリズム班と発生班は研究室内で仲良く共存し、上席研究員の3名は自身の興味に従って独自に研究を進めていた。Mikeがいかにか彼らを信用し、彼らの貢献に報いようとしたかが伺われる。Mikeは

巷間言われるような calculating な (だけの) 人物ではない。

上席研究員の3名による研究は、落ち目のボスを救うための窮余の策とは一線を画していた。Mike との共著だけでも、1993年 (*timeless* 発表の前年) までに、Cell 誌3報、Gene Dev 誌3報、Mol Cell Biol 誌2報、Nature 誌、Neuron 誌、PNAS 誌などに各1報という活躍。私の留学終了後しばらくして Simon と Toby はコロンビア大、Cedric はウィスコンシン大で独立したが、その時点までに、さらに Gene Dev 誌2報、Cell 誌、Science 誌...などに各1報を加えている。研究資金も途切れなかった。Mike の苦境は彼らによって救われ、Mike にもそれに足る人望と器量があつて、今回の受賞に結び付いたと言える。もしもあの時点で Mike が落ちぶれて潰れていたら、ハエの時計遺伝子の研究分野の展開は異なっていたに違いない。

実は Mike だけでなく Rosbash も Jeff も、リズム分野で1日を争う激しい先陣争いを展開するかたわら、リズム分野以外でも堂々たる業績をあげている。Rosbash は酵母の転写因子研究でも有名で、その分野の業績だけでも100報を超える。総説も含めると Cell 誌だけで21報! Nature 誌4報、Science 誌2報...。Jeff については山元大輔先生や谷村禎一先生が別稿で詳しく紹介されると思うが、ショウジョウバエの減数分裂や交尾行動、性決定の専門家の顔も併せ持ち、やはり、それらの分野だけで100報に迫る。Cell 誌、Science 誌、Nature 誌だけでも5報。繰り返しになるが、リズム分野であれほどの競争を展開しながら、別分野でもこの業績。彼らの傑出ぶりが良く判る数字だ。

そんな彼らをもってしても、時計遺伝子の謎はただちに解かれたわけではない。彼らは約40年間、常に先頭に立って時計遺伝子の研究分野を切り拓いて

きた (それもあって、今回のノーベル賞受賞には「いまさら」感も漂ってしまったが)。彼らに対する尊敬、および、本分野への貢献に対する感謝の念と共に、今回の受賞に心からの賞賛を送りたい。

—  
若い学会員の皆さん。私もさほど年寄りではないつもりだけど、私が大学院でハエの時計変異体の分離を始めた時には「時計 (専門の) 遺伝子なんてあるわけがない」とか「プロテオグリカンで解決済なのに、いまさら?」とか「メラトニンと関係してない遺伝子なんて意味がない」と学会発表のたびに言われたものです (国内では)。それが今では時計遺伝子の挙動を調べてないと、一流ではないような雰囲気 (それもどうかと思いますが)。時代と共にトレンドは変わります。自分を信じて creative な研究を続けましょう。ノーベル賞以降に分野が衰退して行く様なんて、おたがい見たくありませんよね。

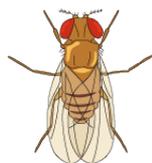
最後に小嘶。どこが実話でどこが作り話でしょうか? 全てウソかも。あるいは、全て本当かもしれませんぞ...

日本の若い研究者が、ある条件では *per<sup>0</sup>* のハエにも概日リズムが観察できると言い出した。

Young 博士: 「君のデータを信用するなら、おそらくその条件下ではナンセンス変異による stop コドンを、read through するメカニズムがあるに違いない」

Hall 博士: 「わしゃ信じんぞ! そんな荒唐無稽、奇妙奇天烈な話があるもんか! 活動記録中のハエに、ビール飲み放題の大サービスしたって、○○の××が△△でも (単語が難しすぎて理解不能)、ないモノはないんじゃ〜!」

Rosbash 博士: 「ふ〜む。いやご苦労。そのハエを送ってくれ。ここから先は君の手には負えない。私が解決してあげよう」



# Cowboy, Hunter, Samurai, & Gentleman

霜田政美<sup>✉</sup>

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門

Michael Young 博士、念願のノーベル賞の受賞、本当におめでとうございます。心からお祝い申し上げます。

(以下、親しみを込めてマイクと呼ばせていただきます。) 今回の受賞の報に接して、私の胸の内には幾つかの思いがこみ上げました。マイクが長年夢みていたノーベル賞をやっと手に入れられたことは、マイク自身にとって言葉では言い表せないほどの喜びだったと思います。この受賞は、マイクだけでなく、これまで研究に携わってきた私たちラボメンバー、特に4年前に他界したリノ (Lino Saez 博士, 1954-2014) にとっても長年の希望でした (リノの追悼記事は本誌 2015 年 Vol.21・No.1 に掲載)。ここに皆の夢が叶ったことに心から感謝します。

2000 年初頭までには、ほ乳類も含め概日時計の分子機構の骨格が明らかになり、この研究テーマがノーベル賞の対象になるならば、表彰は間近ではないかと思われました。しかしその後、ノーベル賞表彰の形で評価されるまでには長い年月を要しました。この間に、ショウジョウバエのリズム変異体研究で、(最も基礎的)重要な発見をした Seymour Benzer 博士 (1921-2007) と Ronald Konopka 博士 (1947-2015) が共に他界されています。また、マイクのラボを支えてきたリノが存命だったならば、どれほど今回の受賞を喜んだことでしょう。

一方で、当学会の中には、ノーベル賞受賞の三氏とショウジョウバエ時計遺伝子の発見を競り合った研究者、非常にオリジナリティの高い成果をあげた研究者、新進気鋭の若手研究者が揃っていて、日本は時間生物学の発展に多大な貢献をしてきました。今回の受賞は、「ショウジョウバエ研究者に与えられた」との声も聞きますが、必ずしもそうではなかったのではないかと思います。日本の研究者も関わったほ乳類の体内時計研究がなければ、ノーベル (医学生理学) 賞の対象テーマに取り上げられなかったかもしれません。(ご批判を受けることを覚悟の上で申し上げるならば、) 当学会の中には優れた才能を持ち、ケタ違いの研究資金を得てきた研究者も少なくない状況で、誰も受賞者の一角を占めることができなかったことを、誠に残念に思います。

三氏の業績に関しては、すでに多くの解説がありますので、以下、私の知る Michael Young 博士について書かせていただきます。

本稿のタイトル、Cowboy, Hunter, Samurai, & Gentleman は私が抱いたマイクの印象であり人物像です。ショウジョウバエの概日時計研究では、歴史的に幾つか大きな波があったと思います。第一波は Benzer・Konopka 両博士の period 変異体の発見から遺伝子クローニング、第二波は timeless 遺伝子発見とフィードバックループの証明、第三波は Clock, Double-time など転写・リン酸化を含めた多数の時計遺伝子の同定 (コアループの完成) ではないでしょうか。マイクの研究はこのいずれの波にも大きな貢献をしています。

Cowboy・・・私は (石田直理雄博士の仲介を機に)、第三波真っ只中の Young ラボに在籍する機会を得ました (1998~1999 年)。留学前に拝見したマイクのポートレートは、若く堂々としていて、私の目には、荒馬を乗りこなす“血気盛んな”カウボーイの姿に映りました。恐れを感じて、少し身震いする思いがしたのを覚えています。その写真とは異なりますが、1988 年当時のマイクの写真をお借りしたので、披露させてい

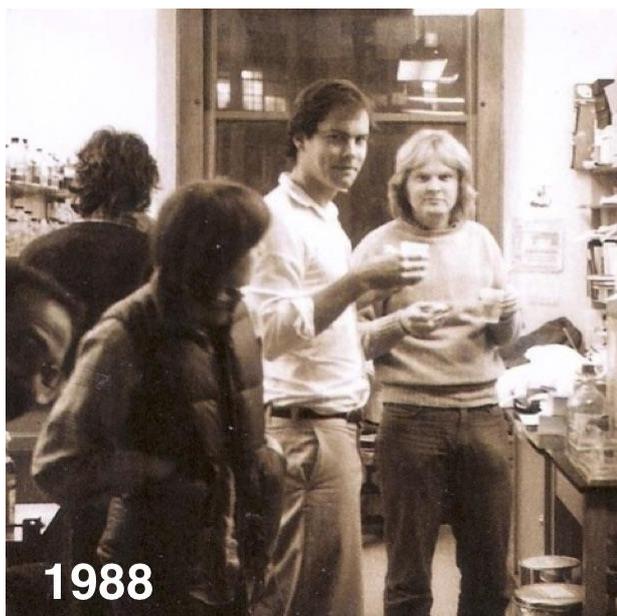


写真 1 ピリオド機能解明に邁進するヤング博士 (Vosshall 博士提供)

ただきます（写真 1）。Period 遺伝子のクローニング成功からまだ数年後で、この写真から若き日のマイクの溢れるようなエネルギーが伝わってきます。

さて、1998 年、私と妻はケネディ空港に降り立ち、真っ先にマイクに挨拶に伺いましたが、ラボで待っていたマイクはカウボーイ姿ではなく、（私の記憶では）ラボの電気の不具合を見るために実験台の上に立っていました。（教授がこんなことをするのかと思いましたが、その後、遠心機が壊れて修理の連絡をするなど、何か事あるごとに“これはマイクの仕事だな”と、ラボ回りの仕事はマイクに任せる（押しつける？）ルールであることを知りました。）マイクは私たちを優しい笑顔で出迎えてくださり「自分も最初にニューヨークに来たときは大変だったんだよ」と自分の苦労話を話してくれました。その優しい言葉に私の不安は一気に消え去りました。

1998～1999 年の 2 年間は、Double-time のほか、Shaggy, Vrille など時計遺伝子が相次いで発見された時期で、研究室には熱気が溢れていました。当時のラボの様子がわかる写真を 1 枚添えます。忙しい中、私のために開いてくれたウェルカムパーティの写真です（写真 2）。ラボでは一人一人に競争意識があつて常に緊張感が漂っていましたが、実験の間にはおしゃべりが止まず、和気あいあいとした楽しい雰囲気

でした。人数は少ないですが、Double-time の機能を示した Brian、Shaggy を発見した Sebastian、Vrille を発見した Justin など、スーパースターが集めたようなラボでした。

Hunter・・・ロックフェラー大学の中での Young ラボの名称は“Laboratory of Genetics”という極めてオーソドックスなものです。ショウジョウバエ遺伝学を基礎として研究を進めており、当然といえば当然のネーミングかもしれません。しかし、私は、ここにマイクの立ち位置というか、研究に対する信条を強く感じます。彼の研究手法は、あくまで、時計遺伝子を希求する Forward Genetics（時には Reverse）を基本としていて、その研究スタイルは 1980 年代から今もって全くブレがありません。即ち、Michael Young とは、大きな獲物（遺伝子）に狙いを定め、それを撃ち抜くために全精力と全神経を注ぎこむハンターであり、つまらぬことに浮気（寄り道）はしない研究者であると思います。

1900 年代（1904～1928 年）、野口英世もロックフェラー大学で自身の夢を追いましたが、その研究手法は光学顕微鏡による組織病理学“病原菌の同定”であり、膨大な数の病理標本と格闘したという記録があります。一心不乱にターゲットの同定をめざしたという点では、英世もハンターであり、マイクと英世には共



写真 2 1998 年のヤング研メンバー（他に Cedric, Simon, Adrian、筆者で全員）

通する研究理念を感じます。ただし、英世の場合には時代の流れの中でタイミングの悪さが不運だったようです。

**Samurai**・・・“侍”についてはいろいろな見方や解釈があるので、ここではあくまで私のイメージする侍として話をさせていただきます。侍といえば、宮本武蔵を思い浮かべますが、刀一本（二刀流! ?）で世の中を渡り歩き、剣術や兵法を極めた人物として知られています。おそらく、侍には、その時代の戦いの中で（主君のために）死ぬ覚悟と潔さが求められたであろうし、それ故、生きる上では少し不器用な面もあったのではないかと思います。最近、研究者もマスコミに数多く露出したり、本やエッセイを出版して、自分の研究を社会にアピールする人が増えています。マイクの研究業績からすれば、そういったことが数多くできたはずですが、彼はほとんどそうしませんでした。自らがめざす研究活動（本分）に専念して高みを極めようとしたことは、侍が武道を極めることと何か似ているようにも思います。刀（ハエの遺伝学）だけで戦いを挑んだ覚悟と潔さに、私は研究者として心より尊敬します。

**Gentleman**・・・これは言うまでもないことで、私が述べるのは甚だおこがましい限りですが、マイクはあらゆる場面で紳士としての振る舞いを見せてくれます。まず、ラボの中での実験手法に対する厳密さ、データ再現性を重視する姿勢、結論を導くまでの慎重さなど、研究者としての厳格さには目を見張るものがあります。これら研究に対する姿勢から、私自身、多

くを学ばせていただきました。また、研究以外でも、紳士的な態度は素晴らしいものがあります。日本に招聘した時には、忙しい中、こちらの要望に応じて1週間近くもスケジュールを割いてくださいました（この時の日光温泉珍道中は、石田さんが書いてくださると思うので割愛します）。また、一昨年、久しぶりにロックフェラー大学を訪ねた際には、ラボのメッセージボードに私が（数年前に）送った家族写真（写真3）の葉書を貼って待っていてくれました（ホロリと心にしみることを平気でやってくれます・・・）この時は、引率した学生のトラブルもあり、電話連絡もできないまま、2時間近く訪問が遅れたのですが、オフィスでひたすら待っていてくれました。「忙しい」の一言も発せずに、終始笑顔を決やさずに対応してくださった態度には、これぞ“紳士”と敬服した次第です。

最後にもう一つだけエピソードを・・・2000年にマイクを日本に招聘して各地を案内しましたが、滞在の最終日に何を食べたいかと尋ねたところ日本蕎麦を所望されました。暖かい蕎麦と一緒にすすりながら研究の話をしていたとき、マイクが私の目を見て「間違いを發表してしまったら、正直に誤りを認めて訂正すればいいんだよ」と言いました。一瞬、私は息を飲みましたが、のちにこの言葉は“（マサミ）失敗を恐れるな”という励ましの言葉だったことを理解しました。・・・私にはまだまだ精進が足りません。今回のマイクのノーベル賞受賞は、私を“もうひと仕事”がんばろうという気持ちにさせてくれました。本当にありがとう Mike & Lino



写真3 研究室のメッセージボードに貼られた絵葉書

## 睡眠リズム障害患者会

志村 哲祥<sup>1,2,3</sup> ✉ 竹前 翔太郎<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> 特定非営利活動法人 睡眠リズム障害患者会 Rhythm and Sleep (R&S)

<sup>2</sup> 東京医科大学 精神医学分野 睡眠健康研究ユニット、<sup>3</sup> 医療法人 寿鶴会 菅野病院 睡眠外来

<sup>4</sup> 目白大学 大学院心理学研究科

### 1. 概要

睡眠リズム障害患者会は、2005年から始まった、睡眠リズム障害を持つ者たちの集まりです。主に当時DSPS（睡眠相後退症候群）と診断された患者から成る交流会（飲み会とも言う）から始まり、2014年からは「患者会」として組織化し、わずかながら講演活動やロビイング活動を開始し、2018年にはNPO法人化をしました。現在は31名の正会員と、100名程度のメール会員を擁しています。

ご存知の方がほとんどかとは思いますが、睡眠リズム障害（ICSD3ではCircadian Rhythm Sleep-Wake Disorders<sup>1)</sup>は、体内での概日リズムの問題によって、社会生活上の不都合や、心身の不調をきたす疾患です。睡眠覚醒スケジュールの問題は分かりやすい症状であり、典型的には「夜眠れず、朝起きられない」睡眠相後退型、逆に早すぎる時間に寝起きしてしまう睡眠相前進型、リズムが24時間を刻めず、毎日睡眠時間帯がおよそ1時間ずつ遅れていく非24時間型などがあります。分かりやすい睡眠の症状だけではなく、本来眠っているはずの時間に活動しようとする事によって顕著な体調不良をきたす外的脱同調や、体内の各種リズムが同期せずに、目は覚めているものの消化器症状や思考力低下などの様々な不調をきたす内的脱同調も深刻な問題です。当会の患者会員は、睡眠相後退型と、非24時間型の者が主であり、視覚障害者も在籍しています。

### 2. 睡眠リズム障害患者の置かれている現状

睡眠リズム障害の中でも代表的な病像である睡眠相後退型は、多くの場合思春期に発症します。理由としてはいくつかの仮説がありますが、小児期には概日リズムと睡眠時間帯がそれほど密接に関連していない（たとえば乳児は1日中寝たり起きたりを繰り返

す）一方で、成長と共に睡眠時間が体内時計に強く規定されるようになること、さらにヒトは、20歳頃の夜型のピークに向けて生理的に概日リズムが急激に後退し<sup>2)</sup>、そもそも一般人口ですら「早寝早起き」が難しくなるところに、もともと夜型のクロノタイプを持つ者は顕著に社会的に要求される生活時間帯との乖離が生じ、困難に至るものと思われます。

この「思春期で発症する」（多くの場合中学～高校）というのが問題です。重度の場合、夜明けまで入眠ができず、そして昼過ぎまで覚醒できないことが稀ではない患者の場合（たとえば本稿を執筆している2名もこのパターンである）、受験ができなかったり（通常、受験は朝にある。筆頭著者もセンター試験に遅刻して1年浪人している）、高校・大学で午前中の授業の単位を軒並み落とし、成績不振のみならず<sup>3)</sup>、退学に追い込まれたりします。明示的に睡眠リズムの問題であるとは示されていないものの、都立高校を退学したものうち43.2%が中退理由として「自分の生活リズムと学校が合わなかった」ことを、31.9%が退学せずに済んだであろう理由として「規則正しい生活ができること」を挙げており<sup>4)</sup>、睡眠リズム障害は、非常に高いドロップアウトのリスクとなる可能性があります。

実際に当会患者会員でも、全日制高校に通学していたが、朝起きられなくなり、教師に退学を促されて通信制高校へ転学した者、大学へ入学したが午前中に全く行けなくなり単位不足で休学しその後退学した者、成績は非常に優秀であったが出席不足で高校中退に至り、風俗業に従事している者など、枚挙に暇がありません。

仮に卒業までたどりつけても、今度は就労で大きな苦勞が待っています。遅刻の多さから解雇されちゃったり、就労を続けられなくなったりすることが頻繁に生じます。

✉ info@crsd.jp

<http://www.crsd.jp>

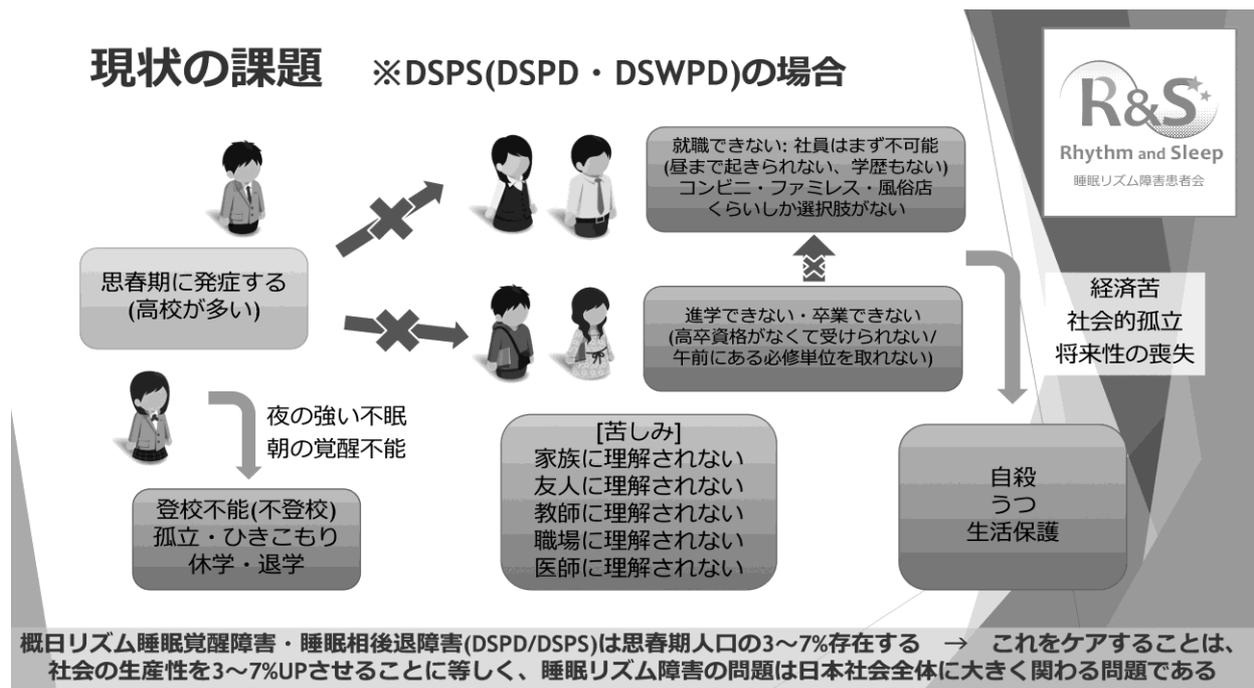


図1 睡眠リズム障害患者（特に睡眠相後退型）が置かれている状況の問題

この結果生まれるのが、「孤立」と「著しい社会的予後の悪さ」です。

学校に行けず、就ける職業も少なく、日中は社会と関わることができずに引きこもりになる。夜間は一睡もできないまま寝床の上で天井を見ているだけ。そして最悪の場合、うつや自殺に至る……。このような例は多々あります。睡眠リズム障害には発達障害<sup>5-7</sup>や双極性障害<sup>8,9</sup>などの精神疾患が合併しやすいことも、問題をさらに深刻化させています。

当会が2014年から本格的に患者会として活動するに至った契機としても、当会前身の患者飲み会の一人が（おそらく社会的孤立と経済苦が主要因となって）自殺してしまったことが大きな理由となっています。

上述のように苦境に置かれることの多い睡眠リズム障害患者ですが、その支援体制は著しく不足しています。そもそも、なかなか診断がつきません。まず、本人や周囲がこれを病気と認識しにくいことが理由に挙げられます。「以前はきちんと学校に行けていたのに、朝寝坊して学校に行けなくなった」という病像のために、本人も、そして周囲の教師や、同僚・上司、保護者なども「怠けではないか」「気合が足りない」「夜更かしのせいだ」と思い、なかなか医療につながりません。筆者自身も医学部に入った矢先に出席不良で呼び出され、将来指導教官となる某睡眠学講座教授を紹介されるまでは、医学的問題によって寝起きできていないという認識は皆無でした。次いで、仮に何か

しらの医療機関にかかれたとしても、睡眠医療認定医は500名程度しか存在せず、そのうち大半は睡眠呼吸障害を専門としており、睡眠リズム障害に対する深い知見を有する医師はさらに少数となっています（私見ですが、メラトニン系薬剤を使った時間治療をきちんと施行できる医師は日本に100人もいないのではないかと思います）。この結果、一般内科や小児科、精神科等で「怠け」「ただの不眠」「自律神経失調症」「うつ病・統合失調症」「起立性調節障害」などと誤診されたり、あるいは多剤併用に陥ってしまったりする<sup>10</sup>だけで、睡眠リズム障害としての診断・治療には至らない現状があります。（診断までの経路や、診断までの平均期間についてはいずれ調査をしたいと考えております）

### 3. 当会の活動

当会は、このような現状を早急に改善し、「(1) 孤立を防ぐための交流を図る」「(2) 幅広く睡眠リズム障害に関する情報提供を行う」「(3) 早期発見・早期ケアが可能な仕組みをつくる」ための活動を実施しています。(1)については定期的な互助会（オフ会・食事会）の開催を行っております。(2)では広報活動や講演活動を実施しています。特に、2015年からは通信制高校との連携により、養護系教員を主な対象として、定期的な講演を主に関東圏で実施しています。さらに(2)(3)に際しては、「なるべく広く網をかける」戦



図2 患者会オフ会の風景



図3 患者会会員によるパンフレット・ポスター配布作業の風景

略のため、教育機関や医療機関への睡眠リズム障害パンフレット・ポスターの配布などを実施しており、2016年にはクラウドファンディングで調達した資金をもとに、東京圏の高校・大学・精神科系病院約1500箇所へパンフレットを送付する作業を実施しました。幸いなことに、「パンフを持って患者が来た」という睡眠外来からのご連絡も受けています。また、直近では東京大学の学生ゼミにおいて、日本における高校の始業時刻を遅らせる取り組みの推進活動があり、この支援を実施しています。

#### 4. 謝辞・活動ご協力をお願い

このたびは本活動をご紹介する機会を頂き、諸先生方には篤く御礼申し上げます。また、厚かましいながらもご支援のお願いがございます。パンフレット・ポスター等の配布事業を昨年実施しましたが、郵送費の問題から配布先が限られてしまい、最も要となる、本原稿をお読みの時間生物系の先生方のお手元にまではおそらくまだ届いていないと思われます。ご連絡頂き、あるいは当会ホームページからご請求頂き、貴研究室・貴院で掲示・配布くだされば幸甚でございます。

ただ単に体内の概日リズムが現在社会的に望ましいとされている時間帯に適応しにくいというだけで、

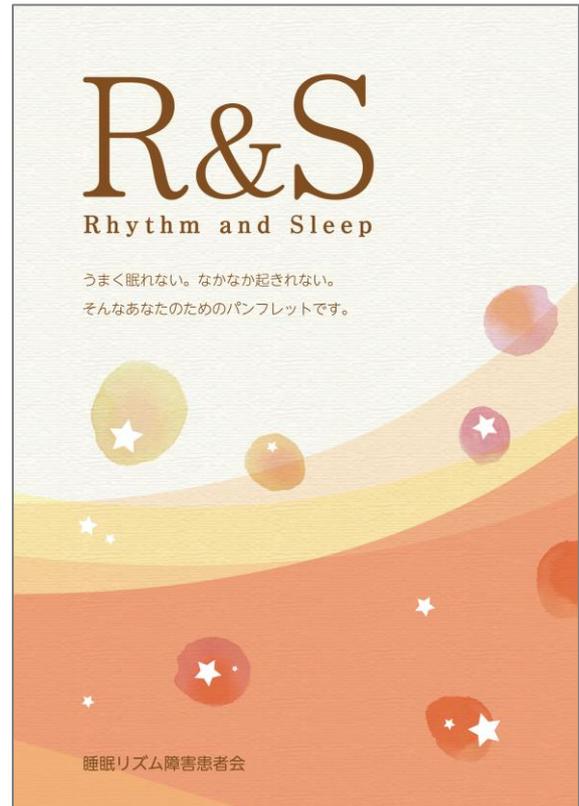


図4 睡眠リズム障害患者会パンフレット表紙

未来を閉ざされてしまう子どもを少しでも救い、減らしていくために、当会は活動を続けていきたいと思えます。

#### 参考文献

1. American Academy of Sleep Medicine. "International classification of sleep disorders—third edition (ICSD-3)." *Darien, IL: American Academy of Sleep Medicine* (2014).
2. Foster, R. G. & Roenneberg, T. Human responses to the geophysical daily, annual and lunar cycles. *Curr Biol* 18, R784-R794 (2008).
3. Wolfson, A. R. & Carskadon, M. A. Understanding adolescent's sleep patterns and school performance: a critical appraisal. *Sleep Med. Rev.* 7, 491-506 (2003).
4. 東京都教育委員会, 都立高校中途退学者等追跡調査. (2013).
5. Walters, A. S., Silvestri, R., Zucconi, M., Chandrashekariah, R. & Konofal, E. Review of the possible relationship and hypothetical links between attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) and the simple sleep related

- movement disorders, parasomnias, hypersomnias, and circadian rhythm disorders. *J. Clin. Sleep Med.* **4**, 591-600 (2008).
6. Cohen, S., Conduit, R., Lockley, S. W., Rajaratnam, S. M. & Cornish, K. M. The relationship between sleep and behavior in autism spectrum disorder (ASD): a review. *J. Neurodev. Disord.* **6**, 44.
  7. Glickman, G. Circadian rhythms and sleep in children with autism. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **34**, 755-768 (2010).
  8. Murray, G. & Harvey, A. Circadian rhythms and sleep in bipolar disorder. *Bipolar Disord.* **12**, 459-472 (2010).
  9. Harvey, A. G. Sleep and circadian rhythms in bipolar disorder: seeking synchrony, harmony, and regulation. *Am. J. Psychiatry.* **165**, 820-829 (2008).
  10. Shimura, A. *et al.* Later sleep schedule and depressive symptoms are associated with usage of multiple kinds of hypnotics. *Sleep med.* **25**, 56-62 (2016).

## 徒然独立日記 ～黎明編～

小島 志保子<sup>✉</sup>

Department of Biological Sciences, Biocomplexity Institute, Virginia Tech

## 序章

縁あって、2015年1月よりバージニア工科大学 (Virginia Tech)にて独立し、Assistant Professor 業に従事しています。ここに至る経緯やその後の経過を可能な限り詳細に、また徒然なるままにお伝えできればと考え、筆を走らせております。将来米国で同様な職を得たいと思っている方には参考として、日本の状況を熟知しておられる先生方には比較対照として、また、研究人生を歩み始めたばかりの方々には将来の夢物語としてお楽しみいただければ幸いです。

## 第一章 書類選考

米国内の医学・生物学系の独立研究職には大きく分けて二種類ある。一つは大学の医学部等を含めた医療機関への所属、もう一つは、大学の学部所属である。前者は主に学部生を対象とした講義をする必要がほとんどない代わりに、自分の給料を自身の研究費の中からある程度 (約 50-95%) 調達する必要がある。後者は講義を定期的に行い、学部生・院生の教育、研究指導をする対価として 9-10 か月分の給料が大学から支給される。さらに自分の研究費を取得すれば、そこから残りの 2-3 ヶ月分を補填することができる。米国では年度の始まりに合わせて、募集は 8 月末から 11 月末締め切りに設定されていることが多い。その後も募集自体は 4 月位まで続くが、新年をまたぐとその数は一気に減少する。

必要書類は日本と大差なく、カバー・レター、Curriculum Vitae (CV: 履歴書)、リサーチ・ステートメント、ティーチング・ステートメント、推薦書 (3 通) が一般的なリストだ。応募は全てオンラインかメール経由で、締め切りが過ぎても書類を受け付けてくれる場合がほとんどである。カバー・レターは応募の意思を伝えるのが最大の目的だが、それ以外に研究分野、過去の実績、将来の展望を手短かに伝えるという目的も果たす。一次選考ではカバー・レターと CV しかなかったり、読まれない場合も多いので、この二つの書類は信頼

できる方、できれば複数に一度見てもらうのが望ましい。

CV は日本の『履歴書』とは多少意味合いが異なり、まず特定の書式はない。さらに個人情報 (誕生日、性別、顔写真等) は含めないのが通例であり、大学以降の学歴、職歴、教育歴を最初に列記し、論文の査読経験や受賞歴、招待講演、学会発表等と続く。当然一番重要なのは、論文リストと獲得研究費リストである。リサーチ・ステートメントは 2-3 ページ、自分の過去の研究業績を、研究分野は全く異なるその道のプロ (すなわち、将来の同僚) がさっと読んで理解できる程度に「包括的かつ簡潔にしかも華々しく」記す。ティーチング・ステートメントは、自分の過去の経験 (学生としてでも教員としてでも) を元に、自身の教育方針や、担当可能な講義を記すのが手っ取り早い。

推薦書は、文字通り候補者を褒め称える文書だと考えると痛い目にあう。そうではなく、少なくとも米国では、応募者の人となりや、研究に対する姿勢、ラボに対する貢献度、将来の資質などを「具体的な例を元に定量的に評価した文書」である。例えば、「この人物を推薦します！」というだけではどのくらい推薦度が高いのかわからず、説得力に欠ける。しかし、「この人物は私が今まで雇ったポスドク 10 人の中で、2 番目に論文の質と量が高い」と記されていれば、どのくらいの推薦度なのか、どのくらい優れた人物なのか推定可能になる。当然、ありきたりの内容の薄いものや、応募者が書いた下書きそのままは不可である。中には、「私はこの人物を推薦しない」とはつきり書かれている場合もある。応募者自身は推薦をお願いする以外にできることはないが、書類選考時に推薦書の内容が大きなウェイトを占めることや、それゆえに誰に推薦を依頼するかが非常に重要なポイントであることは知っておくべきだろう。

私は公募情報に従って、可能なものには米国に限らず世界中全てに応募した。が、だいたい競争率が高い上 (約 50~400 倍)、効率が悪く、これはあまりオス

✉ skojima@vt.edu

<http://kojimalab.biol.vt.edu/><https://www.bi.vt.edu/research/kojima-research-group>

スめできる方法ではない。自身の経験から、効率を上げるために重要なのは、タイミング、コネクション、フィットの三点ではないかと考えている。

「タイミング」は、核となる論文が発表される前後約1年、もしくは新規の研究費を獲得した直後の、いわゆる「旬の売り出し中」の期間が良い。「コネクション」は、応募者が選考委員を直接知っているという狭い意味ではなく、より広く、応募先の学部内・学内の誰かが応募者と学会等で交流したことがあるといったことも含める。わずか数枚に概要が書かれた紙面上だけの人物と、身内の誰かが実際に会って会話したことがあり、かつ研究の内容を見知っている相手とでは、候補者に対する親近感の沸き方が全く違うからだ。学会に行け、臆することなく色々な人と交流しろ、というのはそういう理由があつてのことなのである。

「フィット」はおそらく一番重要で、研究分野に近い研究者が学部内、もしくは学内にいて、そのラボと技術的・学術的な交流が可能か、あるいは既存のラボが何らかの恩恵を受けられるかどうかのポイントとなる。公募情報からだけでは把握しづらい場合も多いが、募集によっては特定の技術を持った候補者、特定のモデル生物を使う候補者を探している場合もある。可能な範囲で内部事情を聴きだせ、というのが私の受けたアドバイスであった。

日本人としてこれを実行に移すためには相当な精神的バリアを乗り越える必要があるが、郷に入っては郷に従えをモットーとしている私は、全く面識もない幾人かに連絡を取った。もちろん何の返事ももらえなかった場合もある。が、やはり研究分野の近い研究者たちからは支援を受けやすく、ある方からは電話でミーティングをしよう、という連絡をいただいた。また、別な方はPubMedで私の過去の論文を調べたようで、「我々は〇〇に興味がある人物を探している。もし将来研究の方向性がそちらに向いている場合には是非応募してほしい」という返事をいただいた。結局その応募は辞退したが、アドバイスを受けなければ私にとっても相手にとっても無駄な時間を費やしていたことは間違いない。自分が選考する側になってから学んだのは、問い合わせがくることも結構あるので、遠慮する必要は全くない、ということだ。

また、超一流誌に筆頭著者として論文を発表していないと独立職を得られないと考えている人が多いが、少なくとも米国ではそうでもない。実際、私がいい例だ。発表論文リストもフィットが重要で、「この応募者がこのポストについて、将来成功する確率の高い順」に振り分けられる。一旦応募書類を送付した後は天

命を待つ以外選択肢はない。競争率が高いので、その後全く音沙汰がないというのがごく一般的な反応。次のステップへと進む良い知らせは、来るとして2~3か月ほどたってからだ。

## 第二章 面接

私の場合、2013-2014年にかけて何十通と送付した応募の中で、面接に招待されたのは6大学(イギリス、ドイツ、日本各1件、米国3件)、そのうち3大学からはまずスカイプでの面接、他の3大学は最初から現地での面接への招待だった。一般に、スカイプ面接の場合は約10名程度の候補者が審査される。面接時間は約30分、応募の動機、自身の考える応募先との「フィット度」、将来設計(ラボの規模、そのためのグラント申請プラン)、特殊な大型機器の必要の有無(設備投資がかかりすぎると、面接に呼んでも期待に応えられないという理由で断られる場合もある)等が主な会話の内容である。そこで好感触を得てもらえた場合には、現地での面接へと進む。もちろん、上述のようにスカイプ面接を経ずに直接現地へ招待されることもある。現地面接へ招待されるのは4-5名が相場だ。

現地の面接については別の機会にも触れたが

(<http://chronobiology.jp/journal/JSC2014-1-003-031.pdf>)、2-3日かけてじっくり行われる。通常、現地に向かう前に旅程が送られてくるが、冗談ではなく分刻みのスケジュールで、朝食を兼ねたミーティングから夕食まで丸一日びっしりと予定が組まれている。学科長や他の教員、ポストクや大学院生とのミーティング、採用された場合のラボやオフィスの見学、実験動物施設の見学などに加えて、一番の目玉はなんといってもジョブ・トーク(通常1時間の研究講演と質疑応答)である。

ジョブ・トークは通常のプレゼンと全く違うということをまず認識すべきだ。時折全く練習せずにぶっつけ本番で臨む方や、論文に使われた図をそっくりそのままを使う方を見かけるが、自殺行為である。せっかく高倍率をくぐり抜けて面接まで辿り着いているのだから、万全の準備で臨みたい。ポイントは「研究の価値と将来性を専門家以外にもわかるように宣伝する」ことであり、私が当時受けたアドバイスは、「スライドを見ずにしゃべって、ピッタリ45分くらいで終われるようになるまで練習しろ」というものであった。特に、非英語圏からの応募者は強いアクセントがあるので、自分で思うよりずっとゆっくりしゃべってちょうどいいくらいだと個人的には思う。

質疑応答にはいり、質問が理解できなければ、恐れ

ずにもう一度繰り返してくれるようお願いすれば良い。場合によってはジョブ・トークに加えてチョーク・トーク（通常1時間。将来の研究計画について議論する場。パワーポイント等の前準備は許されず、文字通り黒板にチョークで書くフリースタイル）が行われる場合もある。ジョブ・トークは採用のための講演として案内され、誰でも参加できることがほとんどである。講義等の日程により参加できない教員のために録画されることすらある。対してチョーク・トークは将来の方向性についてのディスカッションであり、特に競争の激しい分野では内容を公開しながらない候補者も多く、一般的に教員しか参加できない場合が多い。

ジョブ・トークもチョーク・トークも、その出来が結果に大きく影響することは間違いない。が、意外に侮れないのが個々のミーティングだ。英語でいう **inter-personal skill**（日本語では対人能力、雑談力とでも訳せばいいのだろうか）が問われる。私が受けたアドバイスは、個人面談が予定されている相手の研究内容は前もって概要を理解しておけ、可能であれば論文を読み、会話の途中で話題に事欠き両者揃って沈黙する時間を生み出さないようにせよ、というものであった。あまりに相手の数が多く個々の研究内容を覚えきれない場合には、メモを見ても構わない、とも言われた。

相手の研究内容があまりにかけ離れていてサイエンスで会話を成立させるのが難しい場合には、他の関連事項（学生の質、どうやって良い人材を確保するか、どの試業者がいいか、など）でもいいから、とにかく質問し続けることが重要らしい。心理的にヒトは自分に興味を持ってくれる相手には好感を持ちやすいからで、特に採用側の人間は全員、この先何十年と一緒に仕事をするかもしれない相手として、自分と会話をしていることを肝に銘じたい。

スカイプも含め面接まで呼ばれた場合はその後なしのつぶてということはなく、結果に関わらず連絡をもらえる場合がほとんどである。残念ながら落選の場合は、誰かがオファーにサインした後、すなわち数ヶ月かかるのが通例だ。

### 第三章 オファーと交渉

A 大学からの最初のオファーは予期せぬタイミングでいただいた。A 大学は2ポジションを募集、8名の面接を予定していたため、全員の面接が終わるまで2ヶ月ほどは結果をお知らせできない、と聞かされていた。しかし、面接後1ヶ月も経たないうちに是非と

も、という連絡をいただき、さらにオファーを受けるかどうかを2週間以内に返事をくれ、という内容であった。

さて困った。他にも面接は受けたし、結果を聞くまででいたい2ヶ月くらいあると思って悠長に構えていた。一人で悶々と考えていても仕方がないので、オファーを手に当時のボスのオフィスへと向かうと、たまたま隣のラボのボスと大ボスと一緒にお茶を飲んでいるところだった。手短かに状況を説明しオファーを見せたところ、**Congratulations**の言葉もなく、3人とも口を揃えて、「今すぐ他の大学に連絡して、オファーがあつて2週間で返事をする必要がある、と伝える！オファーの内容は絶対言うな！」とおっしゃる。要するに、私を本当に欲しいなら2週間以内により良いオファーくれないと、よその大学に行っちゃよ、と伝えるということである。

言われた通りにメールを書くと、10分と置かずとしてB大学とC大学から「明日電話でお話ししませんか？」という返信が送られてきた。翌日のB大学との電話会談で判明したのは、4人面接を受けた中で私は二番手。現在一番手の人との交渉が始まったところだが、その人が受諾する保証はない。その交渉が決裂したらすぐに連絡するので、早まった決断するのはやめてほしい、という内容だった。C大学の状況もほぼ同様であったが、こちらはさらに一步踏み込んだ内容で、交渉権を持つ学科長（連絡役の選考委員長に交渉権はない）から直接電話があり、「一番手の候補者はグズグズと返事を引き延ばしにしているだけで、交渉がまとまる気配が全くない。二番手のあなたの状況が変わったので一番手に連絡して2日以内に返事をしない場合には交渉決裂にさせる。そうならすぐにおファーをするが、2日間待てるか？」と聞かれた。特に反対する理由もないので、OKと言ってその日は電話を切った。そして2日後、2校目のオファーが私の元に舞い降りたのである。

オファーが来て、少しでも受諾する意思がある場合には、もう一度現地に向かい、今度は候補者の側が大学や研究環境、居住環境などを評価する（セカンド・ビジットと呼ばれる）。この際には家族や子供、パートナーを伴うのが普通であり、その費用も当然100%大学側が負担する。セカンド・ビジットの際は、最初のインタビューの際に時間の都合等で会えなかった人や、大学の上層部の人間、研究上の接点がありそうな部局の責任者と会うのに加えて、保育所・学校の見学や、不動産ツアー、パートナーの職探しなどが含まれる。大学側が家族にもアピールしようとするのは、

家族の不満を理由にオファーが断られることが実際によくあるからだ。

C 大学のオファーを正式に頂いた時点で、すでに A 大学へのセカンド・ビジットは終えていた。が、A 大学への返事を決めるためには、C 大学も視察する必要がある。A 大学への返答期限が翌週の金曜日に迫る中、C 大学への訪問が週明けの木曜日から土曜日と決まった。現地ではもちろん歓待だったし、今回は攻守逆転で自分が評価する立場にあるので、面接時に感じるプレッシャーはなかった。しかし、何しろ数日でこの先何十年の人生を左右するかもしれない決断を下さなければならないのである。ずっと頭の中がもやもやして、必ずしも楽しい訪問ではなかった。

A 大学への返答期限は金曜 17 時、18 時から C 大学の学科長の家で私のためのレセプションが用意されている。当然 A 大学のオファーを受けたかどうか聞かれるだろう。ホテルの部屋で究極の二択に一人唸っていた時に、助けを求めたのはもちろん当時のボスであった。「両方の長所と短所をあげてみたら？」

「A 大学はそこそこ都会にあるのでアジア系の食料や雑貨も手に入りやすいし、大都会からもそう遠くない。日本に帰るのも比較的楽かな。ただ、同僚の先生方と性格が合わないんじゃないかという気がして仕方ない。いや、いい人達なんだけどね」「C 大学は？」  
「ここはすごい田舎で、日本米すら売ってない。街も小さいし、学生とどこかでばったり出くわすのなんてしょっちゅうらしい。最寄りの空港からも 45 分離れているし、生活が不便そう。でも、みんな底抜けにいい人で、誰とでも気が合いそうな気がする」「お米なんて最近オンラインでいくらでも買えるでしょ・・・」この一言で私は A 大学を断る決意をする。

今でも何かの冗談じゃないか、パニックのあまり思考回路がおかしくなっていたんじゃないかとも思うが、大きな決断をするときは案外こう言う単純な理由の方が良いのかもしれない。17 時ギリギリに A 大学に断りの連絡を入れ、すぐさま C 大学のレセプションに向かう。学科長が自宅の玄関で迎え入れてくれるので、A 大学は断った旨を伝える。が、この時点では C 大学に着任する保証はなかった。まだ、B 大学からの連絡を待っているところだったからである。結局 1 週間ほどたって、B 大学から一番手の人がオファーを受諾したという連絡が届いた瞬間に、私の運命も決まった。のちに、日本米は東洋系の雑貨屋で簡単に手に入ることが判明する。

米国では、応募者、採用者双方が契約(=オファー)に同意しないと採用が成立しない。これは教職員に限

らず、もっと上層部の人事でも、ポスドクでも大学院生でもアカデミア以外のいかなる職でも同様である。同じ人間が複数の応募先に同時に応募するのは当然のことで、採用側は、オファーがただちに受理されることは期待していない。候補者がすでに他からオファーをもらっている場合もあるし、オファーの内容が希望に沿わない場合もある。さらに、カウンター・オファー(退職を申し出たときに行なわれる引き留め交渉)を狙っているだけで本当にオファーを受けるつもりか怪しい場合など、いろいろな可能性が考えられるからである。従って、他の場所にも応募していることや面接を受けていることを隠す必要は全くない。逆に、他からも面接やオファーを受けているという情報は自分の商品価値を高められるのに役立つ。私は他にも面接の予定があると伝えたと、「よかったー、やっぱり良い人材なんだ～」と面と向かって言われて驚いた覚えがある。

交渉自体はスムーズだった。通常オファーをする用意が出来た時点で、大学側から必要な機器のリストの提出を求められ、その資料を元にスタートアップのオファー額が決定される。オファーにはスタートアップに加えて、給与、ラボとオフィスのスペース、講義がある場合にはその担当単位数、健康保険や退職金に関する内容などが含まれる。オファーを受けたらその条件が受け入れ可能かどうかを吟味し、すべて問題なければそのままサインして終わりだ。が、通常 2-3 往復し、詳細を詰めていくことが多い。

候補者としてどうしても譲れない条件がある場合、改定を求めることができる。その要求が採用側の条件の範囲内であるか、または範囲外であっても譲歩する価値があると判断されればオファーの内容が改定され、再度提示を受ける。改訂版に納得すればサインをすればいいし、納得できなければもう一度交渉することになる。ただし、あまりに非常識な要求をすると、オファーそのものを採用側が取り下げることもあるので適度なバランス感覚が必要とされる。

私は一次面接の時点で、アドバイスに従い、おおよそのスタートアップ額の上下限を聞いていた。実際のオファーはそのちょうど中間点だったので、どうしても購入の必要がある機器があることを理由に、もう少し上限に近い数字にしてくれないかと交渉した。言う時は少し緊張したが、結果、なんの躊躇もなく上げてくれた。給料に関しては一切交渉しなかった。ほとんど交渉の余地がないと聞いていたからである。が、改訂版には給料も多少上乘せされていた。自身の署名と日付を添え、フェデックスで送り返して、交渉は無事

終了となった。

#### 第四章 出帆

バージニア工科大学(Virginia Tech)のメイン・キャンパスは、米国の首都ワシントン DC から車で4時間ほど離れたバージニア州南西部、ブラックスバーグという街に存在する。周囲をアパラチア山脈に囲まれ、世界的に有名なアパラチアトレイル(米国東部ジョージア州からメイン州にかけた全14州、約3,500kmに及ぶ世界最長の自然歩道)にもほど近く、ハイキング、カヌー、カヤック、ラフティング、チュービング(浮き輪による川下り)、スキーなど、様々なアウトドア活動が楽しめる。1872年にバージニア農工大学として創立以来、現在では学生数約3万人(学部・院生含)、9学部72学科を擁する総合大学へと成長を遂げた。

大学の学生・職員・卒業生は『HOKIES(ホーキーズ)』と総称され、ブラックスバーグはホーキー・ネイション、大学のIDは正式にはホーキー・パスポート、大学の建物の壁にはホーキー・ストーン(地元

で採掘される“ドロマイト”と呼ばれる石灰岩)が使われる、といった具合にホーキーイズムが徹底されている。プロスポーツのフランチャイズが身近に存在しない代わりに、大学のクラブチーム(これもホーキーズ)がその役割を担っており、アメフトやサッカー、バスケットボールや野球の試合が一年を通じて観戦可能だ。ホーキー・バードと呼ばれる七面鳥のマスコットが応援団長としてホームゲームに駆けつけ、地元の子供たちと一緒に選手を元気づけている。ただし、2007年に起こった銃乱射事件で32人の命が失われた記憶は誰の頭にもまだ鮮明に残っており、事件が起こった教室や建物には未だに入れないという教員・スタッフも多い。

私の所属する生物学科は、教員59人を擁す巨大学科で、研究内容は生態学、進化学、動物行動学、細菌学、免疫学、分子細胞生物学からシステム生物学に至るまで多岐に及ぶ。教員は、講義のみを専門的に行う者と、ラボを持ち、研究と講義の両方を担当する者に大別される。ラボを持つ教員は肩書きに関わらず全員



図1 バージニア工科大学。(左上) ビュラス・ホール。大学の中心に位置し、卒業式など公式な行事に使われる。(右上) トーゲソン・ブリッジ。大学の玄関で、中は図書館、外壁はホーキー・ストーンで覆われている。(左下) レーン・スタジアム。学生を含めて街の人口は42000人なのにも関わらず、67000人を収容可能なアメフト用のスタジアム。(右下) ホーキー・バード。

が独立しており（いわゆる Principle Investigator: PI）、日本のように教授、准教授、助教が同じ研究室の中で混在することはない。世襲制もなく、先代の教授のラボ、機器、学生をそのまま引き継ぐということも一切ない。

私の職務は、60%研究、30%教育、10%サービス（学内の各種委員会や、社会奉仕活動等）と定められており、通常6年目に行われるテニユア審査（通れば、Associate Professor に昇格すると同時に、終身在職権を得る。米国に定年という概念はない）の際に、職務を全うしているか、研究資金の獲得や論文発表の目標が達成されているか、それぞれの研究分野における貢献が周囲に認識されているか等が評価される。この達成目標は大学・学部によって大きく異なり、テニユアの取得率も30-90%と幅がある。

文字通り自分一人でオフィスもラボも空っぽの状態から始めて、5年後に目標を達成させるのは容易ではない。出産・育児や親の介護、病気などの理由で期限内に目標達成が難しそうな場合、我々の大学には「ストップ・ザ・クロック」という制度が存在し、テニユアの審査時期を遅らせることができる。我々の学科は教員の男女比がLGBTQを含めほぼ50:50だが、多くのAssistant Professorは出産適齢期でもあるため、私の同僚は男性も女性もこの制度を利用し、ためらうことなく出産・育児にいそんでいる。

また、私のような迷える子羊を救うべく、所属学科では新人一人一人に「メンター」と呼ばれるお世話係がつき、何か困ったことがある場合にはメンターに助け舟を求められるようなシステムが確立されている。もちろん、友人やメンター以外の人に助けを求めても全く問題ないし、むしろ困ったことがあればすぐ相談



図2 メンター（左）Prof. Daniela Cimini.イタリア出身。専門は有糸分裂と染色体異常性。（右）Prof. Carla V. Finkelstein.アルゼンチン出身。専門は細胞周期と概日リズム。2人とも二児の母で、母とPIという二足の草鞋を上手に履きこなしている。

することが推奨されている。新人用のハウツー本も何冊か存在し、むさぼり読んだことを覚えている。

日本のラボ運営と一番違うのは人の集め方とその費用ではないだろうか。一般的に人件費は全てラボの負担となる。日本の大学では卒業研究の制度をとりいられているところが多いが、米国の学部生は基本的に研究室には所属しない。将来の進路先によってどうしても研究室での経験が必要だという学生のみが、授業の合間に自発的にやってくる。当然、学位論文など書かないし、自発的にきていた学部生がそのまま残って同じラボの大学院に進学することもほとんどない。

大学院生は基本的に有給で、大学院生1人を雇うには、2018年現在\$1=110円換算で、年間500万円程度必要となる（給与310万、健康保険・社会保障40万、学費150万円）。ただし、ラボに十分な資金がない場合は、学部学生の授業を担当することによって給与が支給される場合もある。なので、研究あるいは教育のいずれかにおいて即戦力であると判断されないと、米国で大学院に進学するのは難しい。学部から直接大学院に進学する人もいるが、テクニシャンとして働いたり、企業で2-3年の経験を積んでから大学院に進学する人もかなりの数存在する。

大学院生は最初の1-2年は授業を受け、単位を取りつつ研究する。最初の半年から1年間は、複数のラボを4-12週間ごとに体験入学し（ローテーションと呼ばれる）、その間研究テーマへの興味、研究室で主に使われている技術への興味、ラボの雰囲気、他のメンバーとの相性、ボスの指導方針等、自分がこの先4-5年過ごすかもしれない環境を肌で感じることができる。指導教官にとっても同じことで、人としての相性、学生の研究の進め方、困難に陥った時の対処方法などを観察し、この先数年間にわたって、研究の発展が期待できるか吟味する。卒業年数は個人の研究の進捗具合によって異なり、早い人で4年程度、遅い人は10年近くかかる場合もある。米国の医学・生物学系の場合、博士課程で入るのが一般的で、何らかの理由で研究を続けることができない状況に陥った場合、修士過程で卒業となる場合もある。

すべてのローテーションを終えた後、どのラボに行きたいのか希望を出し、それが受け入れられれば晴れて自分の大学院の研究室と研究テーマが決定する。受け入れ先が見つからない場合、他のアドバイザーを探す期間が設けられるが、最悪そのまま退学になる場合もある。その後は、学位審査委員（自分の指導教官を含めて4-5人）を選定し、半年から1年に一度、進捗状況を報告する場を設け、学位取得への道を歩み始

める。

制度の違いがあるとはいえ、実験や研究をどうすればいいかは万国共通で、なんとなくわかる。最大の不安は講義であった。大学院に至るまで全ての教育を日本で受けており、米国の教育・大学のシステムにまったく馴染みがなかったためだ。にもかかわらず、どの講義を担当するか一度相談した後はまったくの放任で、教科書、シラバス、試験日程、宿題の有無、評価方法など、全部自分で決めなくてはならなかった。講義に関するすべての情報はオンラインで管理されていることも知らず、メンターに教わるまで自分が何曜何時どこの教室に行けばいいのかすら知らなかった。学生がどの程度の知識レベルなのかもわからないし、どういったことに興味があるのかもわからない。

米国では大学での成績が就職や大学院進学に直結するため、学生は、いかに楽して良い成績をとるか、日本の学生以上に熱心だ。一度の失敗で成績が落ちるのを嫌うため頻繁にテストをするのを好み(ほぼ一ヶ月に一度のペース)、平均点が80-85点になるように作問し、何を評価されるのか習得目標をはっきりさせなければ、学生の文句は半端でない。試験前、授業時間外におさらいセッションを設けたり、重要ポイントをまとめたスタディー・ガイドを配布することも奨励される。

もちろんこれらは経験とともに学んだことであって、はじめの二年間、学生からの評価は予想通り散々であった。が、テニユアを取得するためには、教育でもある程度の評価を得られなければいけない。そのために、2年目と4年目が評価年とされており、評価担当の先輩教員が授業を見学に来る。ちゃっかりとその先生を勝手に講義メンターに指名し、アドバイスを受けるようになって、評価は幸いなことに上向いた。

2005年に米国で研究を始めた時には、学部生の英語

はほぼ理解不能で、10年後に彼らを相手に授業を行うことになるなど想像もできなかった。隔世の感がある。

この原稿を書いている時点で、独立から約3年、その間学部生11人、院生1人、ポスドク2人、テクニシャン2人、高校生2人、短期留学生2人との出会いがあり、大小含めて書いたグラントの総数は19(ただし、うち獲得したのは1)。どうやって魅力的な研究プログラムを構築できるか、まだまだ模索中だ。とにかく心に留めているのはたくさんの“thank you”を言うこと。

思い返してみれば、どうして独立職に応募しようと思ったのか、よく思い出せない。ポスドクも結構長いことやったし、そろそろ次のステージに、くらいの軽い感覚だったような気がする。しかし、よくあんな心構えで現職にありつけたなあ、というのが、現在の率直な感想である。特に、自身が選考する側の立場になってからは、ますますその思いが強くなっている。

以上は、もちろん私の個人的な体験談であり、分野や国、大学や学部によって状況が全く異なることをご理解いただきたい。

## 終章

どのような立場の方にも楽しんでいただけるような内容にした代わりに、それぞれについての個別の情報をあまり詳細に記すことができませんでした。さらに詳細な情報をお求めの方は、遠慮なく [skojima@vt.edu](mailto:skojima@vt.edu) までご連絡ください。その程度で遠慮していたら、米国での独立などできません。内容によってはすぐに返信することは難しいかもしれませんが、必ずお返事差し上げます。また、続編を書く機会をいただけたら、その後の状況も随時報告できるのではないかと楽しみにしています。



図3 日本より遠路ご訪問頂いた先生方。(左) 上田泰己先生。2017 International Conference on Systems Biology に出席の際にお立ち寄りいただいた。(右) 沼野利佳先生と豊橋技術科学大学から短期留学中の上田さんと戸田さん。

## 異分野を知ることのすすめ

遠藤 求<sup>✉</sup>

京都大学 大学院生命科学研究所

この度、平野さんよりバトンを受け取りました、京都大学・大学院生命科学研究所の遠藤です。平野さんはずっと時間生物学をやってこられてきたのに対して、私はせいぜいPDからですので新米もいいところです。しかし、そんな私でも何とか自分の研究をやっていける間口の広さと、分野としての奥深さ\*が時間生物学の魅力なのではないかと感じています。また、異なる生物種の研究者や理論系の人たちともリズムという共通言語で語れること、何にでも関わる概日リズムを介して色々な分野に挑戦できるのも魅力ではないかと思えます。

さて、今回は「異分野を知ることのすすめ」としましたが、これは主に10年前の私に向けての言葉です。私は時間生物学を始める前は植物の光受容体を研究していました。しかし、当時の私は植物の光受容体の分野に閉塞感を感じており、学位取得後に心機一転、時間生物学に飛び込みました。たしかに時間生物学は既に述べたように様々な魅力にあふれる学問分野だったわけですが、その後、オプトジェネティクスが流行し、植物の光受容体は次々と動物細胞に入れて光スイッチとして使われました。私も含め植物の研究者には当時こうした発想は全くなく、ただただ指をくわえて見ていただけでした。このように、ある分野でありふれていると考えられている現象でも、他の分野からはお宝であることはしばしば起こり得ます。植物ホルモンであるオーキシンを使ったタンパク質の分解系も植物のものが動物で使われた例です。その一方で、動物のものを植物研究者がいち早く取り入れた例は、色々と考えましたが残念ながら思いつきませんでした。もちろん、研究者人口の差や分野としての競争の熾烈さなど様々な要因があるのでしょうか。。。

研究分野が細分化し分野内のフォローで精一杯で異分野交流もそれほど多くは無い現代においてこそ、異分野との積極的な交流を通じて様々なことを知り、それを活かすことは研究上の強みになり得ます。また、

起源も仕組みも異なる概日時計ですが本質はかなり似ていると皆さんも感じていることと思います。「収斂進化」は主に身体的特徴を指すようですが、分子の機能やシグナル伝達経路にも、ある目的を達成するために都合の良い形があるはずであり、その良い例がフィードバックループによる時計システムなのだと思います。そうした観点からすると、一見多様であるが本質的には類似しており、さらに使う技術には多様性があるって相互補完が可能であるという異分野交流にうってつけの状況なのではないかと感じています。様々なバックグラウンドをもった研究者たちが集まる「生物リズム若手研究者の集い」も、こうした異分野を知ることができる絶好の機会だと思いますので、今後も続いていくと良いなと思います。私自身も、貪欲に知識を吸収し、オリジナリティのある研究ができるよう頑張りたいと思います\*\*。

\* 私が世話役を勤めさせていただいた時間生物学トレーニングコースも無事に終わりました。閉古鳥だったらどうしようという恐怖が常にありましたが、参加者85名という大盛況ぶりで、ホッとしております。また、まだまだ勉強すべきことがあるということがよくわかり分野の奥深さを思い知りました。

アンケートの結果がまとまりましたので、この場を借りて紹介させていただきます。

\*\* この原稿執筆を引き受けた後、奈良先端科学技術大学院大学で独立することが決まりました。ワクワクするような研究を展開し、時間生物学の発展に貢献できればと思います。今後ともよろしく願いいたします。

参加人数 85名+講師3名

アンケート回答 71名（無回答、重複回答あったので数字の合計は一致しません）

Q1 参加者の属性：教員 13, PD5, 博士 16, 修士 19, 学部 14

Q2 企画は：良かった 61, 普通 8, 悪かった 0

Q3 理解は：かなり深まった 13, まあ深まった 34, 少しは理解できた 19, 難しかった 6

Q4 講演時間(3h)は：かなり長い 3, 少し長い 13, 適切 46, 少し短い 7, かなり短い 2

Q5 次回以降の企画提案：

- ・引き続き"ピッテンドリ"で 12
- ・リズム研究の解析手法（メジャーなものからマイナーなものまで）
- ・生物の概日リズムにはどのようなものがあり、それは種ごとにどう違うのか
- ・色々な振動モデルを考える会
- ・タンパク質の修飾と時計
- ・研究する上でぶつかった困難とそれを解決した方法
- ・PDによる若手に向けてのアドバイス
- ・理論と実験の共同研究のコツ
- ・研究費獲得戦略・研究計画の建て方・ラボマネージメント
- ・ビュニングを読む、ウィンフリーを読む等分野の歴史を知る機会があれば
- ・モデリング

まとめとしては、

- ・教員の参加率が高かった
- ・企画は概ね講評だった
- ・博士課程以上の理解度（自己申告）は高かった一方、修士過程・学部生は難しく感じているようだった
- ・3時間の講演時間は適切だった
- ・もう少し深くピッテンドリを理解したいと考えている人が一定数いた（分野の祖としてシリーズ化も？）
- ・もう一つの方向性としては、実際困っていることに関して答えを探している感じの企画提案が散見された。

どの層に向けての講演かを明確にし、レベルを調整する必要があるのかもしれないと感じました。

## 第 24 回日本時間生物学会学術大会開催報告

沼田 英治<sup>✉</sup>

京都大学 大学院理学研究科

第 24 回日本時間生物学会学術大会を 2017 年 10 月 28 日（土）～29 日（日）の 2 日間、京都大学百周年時計台記念館および理学研究科において開催いたしました。今回の大会は、京都大学野生動物研究センターとの共催により、「多様性と共鳴」を大会テーマとしました。

特別講演では、京都大学総長の山極壽一さん、グラスゴー大学のバーバラ・ヘルムさん、京都大学野生動物研究センターの幸島司郎さんにお話しいただきました。これまでの大会での講演は、ヒト以外はほとんど実験条件下に置かれた生物を対象としていましたが、今回の特別講演は野生動物の時間について考えるよい機会になったのではないかと思います。

ポスター講演に先立つ「多様性と共鳴のデータブリッツ」では、30 秒という短い時間の中で、演者の方にはポスターの骨子を上手に紹介していただきました。そして、6 つのシンポジウムでは「多様性と共鳴」に着目した構成で時間生物学のさまざまな側面について議論をしていただきました。また、大会前日には関連集会として「温故知新 ピッテンドリックを読む」

というトレーニングコースが開催され、こちらも盛況でした。さらに、2017 年のノーベル生理学・医学賞が時間生物学分野に授与されたことを受けて、総会の直前に本学会理事長の深田吉孝さんがお祝いの言葉を述べられました。受賞された 3 名の方の背景に過去の偉大な時間生物学者たちが存在することを指摘されたのが印象に残っています。

台風が近づいてお天気には恵まれませんでした。特別講演 3、シンポジウム講演 32、ポスター講演 140 と多くの発表が行われ、参加者も 358 名と、多数の方々にご参加いただけたことをうれしく思っています。

最後になりましたが、本大会を共催いただいた京都大学野生動物研究センター、寄付・広告・展示でご協賛いただいた企業および団体のみなさま、さらには大会の準備と運営に携わっていただいたプログラム委員、組織委員とアルバイト学生のみなさまに深く感謝いたします。本年、10 月に長崎で開催される第 25 回大会の盛会を祈念して、大会開催報告とさせていただきます。

✉ numata@ethol.zool.kyoto-u.ac.jp

## トレーニングコース「ピッテンドリックを読む」講演報告

中村 渉<sup>✉</sup>

長崎大学 医歯薬学総合研究科 加齢口腔生理学分野

「荷が重い…」

学術大会準備委員の京都大学・遠藤求博士から「温故知新 ピッテンドリックを読む」の講演依頼をいただいた際、気が重かった。その一方で「読む」と銘打ったこのトレーニングコースの狙いは大変魅力的で、結局、自分でお役に立てるならばと気持ちを奮い立たせてお引き受けした。その後の打ち合わせを重ね、中村が導入を担当し、富岡憲治先生がショウジョウバエの、本間研一先生がげっ歯類の Pittendrigh から各々御二方の研究にどのように発展させていかれたかについて講演することとなった。

Colin S. Pittendrigh 博士は Jürgen Aschoff 博士と双璧をなす、現代時間生物学の祖と呼ばれる存在である。私自身は大学院生時代、北海道大学第一生理学講座の輪読会で “A Functional Analysis of Circadian Pacemakers in Nocturnal Rodents”<sup>1</sup> に取り組み、初めて「ピッテンドリックを読む」だ。この輪読会については時間生物学誌でもたびたび紹介されているように、学生が単独で読むにはハードルが高く「初読の際は、みんなで読む」という輪読会の利点をいやがうえにも認識させられる。自分で読んで納得するだけでなく、声に出すことで一緒に読む相手に説明するという、「読むというのはこういうことか」と能動的な学びの醍醐味を味わうことができる。もっとも学生当時はそのような意識をもっていたわけではない。しかし研究室を主宰するようになってみると、半ば強制的に研究室でピッテンドリック輪読会を開講するに至り認識した次第である。

口演にあたり、限られた時間の中でいかに概略を解説しても理解してもらおうというのはなかなか困難であると感じていた。そこであくまで導入の役割を意識して、最初のスライドでは、Annu Rev Physiol 誌の総説<sup>2</sup> から、いかにも教授然とした肖像写真と直筆サインを紹介させていただいた。さらに、「Colin Pittendrigh」を Youtube で検索してみると、1992 年バージニア大学での学部生向け講義がヒットする。やはり、百聞は一見に如かず、「An Historical Overview of Circadian

Biology」と題した 80 分間におよぶ講義動画を最初の数分間だけ紹介させていただいた。このように研究者の顔が見える、ましてや声が聞こえるということは論文を「読む」ためのとっかかりとして大変重要だと感じている。内容も、「これぞ時間生物学の講義」となっており、是非一度通しでの視聴をお勧めします。

今回のトレーニングコースにおける構成内容にも反映されていますが、Pittendrigh 博士の研究対象はショウジョウバエ<sup>3</sup> からげっ歯類へと変遷がみられる。このことは、2000 年にショウジョウバエの研究で Seymour Benzer 博士が、2006 年にはげっ歯類の研究で Serge Daan 博士が、日本で選定される「国際生物学賞」を受賞されていることに関連しています。さらには、2017 年、ショウジョウバエを主対象とする三名の時間生物学者にノーベル医学生理学賞の栄誉が授与されたことにも多大な影響を及ぼしている。「ピッテンドリックを読む」ことは時間生物学界において共通言語を身に付けることであるといっても過言ではないだろう。今回の企画で「ピッテンドリック、そのすべてを解説する」というようなテーマであれば、とても自分の出る幕ではなかった。一連のトレーニングコースを通じ、「読む」ことに少しでも魅力を感じていただき、ピッテンドリックを手にとるきっかけになれば幸いです。

## 参考文献

1. Pittendrigh, C. S., & Daan, S. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. I. The stability and lability of spontaneous frequency. *J. Comp. Physiol. A* **106**, 223-355 (1976).
2. Pittendrigh, C. S. Temporal organization: reflections of a Darwinian clock-watcher. *Annu. Rev. Physiol.* **55**, 17-54 (1993).
3. Pittendrigh, C. S. On temperature independence in the clock system controlling emergence time in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **40**, 1018-29 (1954).

✉ wataru\_nakamura@nagasaki-u.ac.jp

## 時間生物学トレーニングコース 「ピッテンドリックを読む」に参加して

小林 里帆<sup>✉</sup>

名古屋市立大学 薬学部

2017 年 10 月 27 日、日本時間生物学会学術大会前日に京都大学理学研究科セミナーハウスで、時間生物学トレーニングコース「温故知新 ピッテンドリックを読む」に参加した。到着時には会場はすでに超満員。長崎大学の中村渉先生、岡山大学の富岡憲治先生、北海道大学の本間研一先生による豪華なトレーニングコースを受講する事ができた。

中村先生には「ピッテンドリックを読む前に」というテーマで、彼の研究功績と教育に対する熱い姿勢について、ご講演頂いた。その研究の偉大さは、彼の晩年・没後に行われた他の研究者による数々の研究で示された論文内容の妥当性とレベルの高さであると感じた。奇しくも、2017 年 10 月 1 日に概日リズム分野に対してノーベル生理学医学賞授与が決定していたことも重なり、概日リズムの祖といっても過言ではないピッテンドリック入門を盛り上げて頂いた。

次に富岡先生には「ショウジョウバエの時計機構を中心に」というテーマでピッテンドリックとサージ・ダーンの 5 本の共著論文から、ショウジョウバエの時計機構を形成する 2 振動モデルについて、ご講演頂いた。彼らが提唱した概日リズムの 2 振動モデルは、現在もなお、多くの研究が行われている分野だ。ショウジョウバエには、光と温度に駆動される 2 つの振動体に呼応する神経集団があるというデータと、彼らの主張とを照らし合せながら紹介して頂いたことで、彼らの論文に見られる先見の明に魅了された。

最後に本間先生には「ピッテンドリック 偉大なる預言者」というテーマで、哺乳類の概日リズム形成機構について、ご講演頂いた。ここでは、先の 2 振動モデルが哺乳類でも概日リズムにおいて機能し、昼夜変化や季節応答に対応できるようなメカニズムを形成していること、また概日リズムの階層性について末梢

時計と概日リズム中枢である SCN とのつながりについて学ぶことができた。

私は時間生物学会も初参加で、時間生物の勉強も半年前から始めたばかりだったが、先生方による熱い講義は初心者にもとても分かりやすく、また、無脊椎動物・脊椎動物とそれぞれの時計機構についての内容を学ぶことができて実りある時間となった。

ピッテンドリックの頭の中では、一体、どんな世界が見えていたのだろうか。概日リズムを勉強していると、リズムの強靱性に圧倒され、すべての生命活動はリズムの支配下に置かれているのではないかと感じる。今回のトレーニングコース後、彼の論文を拝読したが、essay と表記してある通り、彼の頭の中の概日リズムの機構に対するイメージは難解で複雑なものにある美しさのように読み取れた。話はずれるが、自身の教授に、「昔は、論文の図はすべて手書きだった。今は綺麗な図を作るソフトがあるからいいよね。」と言われたことがある。ピッテンドリック本人が描いたか分からないが、プロットの規則正しさ・美しさで、図を描くのも楽しかったろう。

今回のテーマである「温故知新」という言葉は、「古いものをたずね求めて、新しい道理や知識を見出し、自分のものとする(広辞苑)」とある。将来の研究者を志す我々学部生にとって、日頃から最新の論文のチェックは当然だが、古典の論文を読んで気づくことも多いと実感し直す良い機会となった。また参加した聴講生の層の広さを思い返せば、彼の残した論文は、すべての研究者の指標となっていることを実感した。

最後に、このような機会を与えて下さった講師の先生方と企画者である京都大学の遠藤求先生に厚く感謝致します。

## 時間生物学トレーニングコースに参加して

杉山 瑞輝・林 弦樹<sup>✉</sup>

明治大学 農学部 動物生理学研究室

私たちは2017年10月27日（金）から29日（日）まで、京都大学で開催された第24回日本時間生物学会学術大会およびその前日に開催された「時間生物学トレーニングコース」に参加しました。本稿ではトレーニングコースについて報告させていただきます。

「時間生物学トレーニングコース」は、京都大学吉田キャンパス内にある理学研究科セミナーハウスで行われました。私たちはコース開始の15分前に会場に到着しましたが、その時にはもうすでに多くの参加者が来場しており、空席は残りわずかでした。

本コースでは、「温故知新 ピットンドリックを読む」というテーマで中村渉先生、富岡憲治先生、本間研一先生の順に講演がありました。私たちは普段マウスの回転輪リズムの解析など、哺乳類の概日リズムに関する研究活動をしているため、今回はそれに関連した中村先生と本間先生のお二人の講演についての感想を記します。

まず初めに中村先生が「ピットンドリックを読む前に」という題名でお話してくださいました。その題名の通り、ピットンドリック先生の論文を読む前に、私たちが知っておきたい背景やピットンドリック先生の人物像について解説していただきました。その中でもとても印象に残ったのは、ピットンドリック先生の講義の動画です。本などで、「ピットンドリック」という名前は知っていましたが、私たちのイメージではもっと大昔の人であり、Virginia大学で講義をしている動画には驚きました。ピットンドリック先生の講義は開始の5分で聞いている人を笑わせ、聞き手の心をキャッチしていました。難しい話や研究発表をする時などは、このように最初に聞き手の心をほぐしてから発表すると良いのだと勉強になりました。また、中村先生はいくつかの参考図書を紹介してくださいました。その中でも『生物時計はなぜリズムを刻むのか（ラッセル・フォスター、レオン・クライツマン著）』について触れられていました。その本を以前読んだことが

あったのですが、その時は文字を読んでいるだけで内容が頭に入ってこない部分が多々ありました。しかし、中村先生はその本の一部を噛み砕きながら説明してくれたため、情景が想像でき、改めて面白いと感じました。これを機にもう一度読み直そうと思います。また、『時間、愛、記憶の遺伝子を求めて（ジョナサン・ワイナー著）』の中に登場する「ショウジョウバエ学者」とはピットンドリック先生のことだということを教えてくださいました。中村先生は、このように抽象的に書かれている文章を具体的な人物や物事に置き換えて話してくれたため、自分たちが持っている乏しい知識とリンクし、知識を深められたと思っています。その他にも紹介された本は私たちの研究室にもあるので、時間を見つけて読んで、時間生物学に関する知識をさらに増やしたいと思います。

本間先生は「Colin S. Pittendrigh 偉大なる予言者」という題名でお話してくださいました。ピットンドリック先生との思い出話や、ピットンドリック先生の予言（実験結果）と本間先生のグループが行った実験結果の相違点について、わかりやすく解説していただきました。その講義の中で印象に残ったのは、私たちの実験と関係深い“回転輪”と“Dim red light”の使用についてです。これまでの概日リズム研究の多くはマウスの行動リズムを測定するために回転輪を使用しています。しかし、回転輪の使用はフィードバック効果があることが知られているため、回転輪の回転数＝マウスの行動量という解釈が今後変わってくる可能性があるということを本間先生はおっしゃっていました。私たちの研究室でもマウスの行動リズムを測定するために回転輪を使用しています。そのため今後は、赤外線センサーなどによる行動量の測定を並行して行わなければならないと感じました。また、恒常暗条件での給餌や給水時に Dim red light を用いている研究室も多いですが、実は Red light にも光効果があるということをおっしゃっていました。私たちの研究室

では、動物を恒常暗で飼育している場合は、飼育室全体を暗黒にして、暗視スコープを用いて給水瓶の確認などを行っています。本間先生のお話を聞いて、Dim red light を用いてはいけない理由が明確になり、新しく入室する後輩にその理由を教えようと思いました。

今回のコースはトレーニングコースということもあり、参加前は初学者向けのセミナーなのかなと思っていました。しかし実際に先生方のお話を聴いてみると、中級者あるいは上級者向けの講演だと感じる部分が多くありました。私たちは学部3年生で、2017年（平成29年）4月から研究室に所属し、指導教員である中村孝博先生や先輩たちのご指導の下、時間生物学の基礎を学んできており、ある程度の知識は持って

いるつもりでいました。実際に講演の中で出てくる専門用語、例えばE・M振動体などは教科書レベルの理解はしており、その他にも理解できる項目も多かったです。しかし、それにも増して新しく知る事が多くあり、全体を通してみると自分たちの知識は中途半端で、断片的なものであったと痛感しました。それと同時に「もっと勉強したい!」という気持ちになり、研究に対するモチベーションが高まり、トレーニングコースに参加することが出来て本当に良かったと思いました。次回、同様のコースが行われるまでには、中級者くらいになれるように日々研究に精進していこうと決意しました。



<写真1>コース開始前の満員の会場



<写真2>雨の清水寺に残念がる筆者（杉山）



<写真3>研究室にて、ピットンドリック先生の論文集が収められているCD-ROMを手にして喜ぶ杉山（左）と学会要旨集を持つ林（右）

## 第24回 日本時間生物学会学術大会に参加して

阿部 泰子<sup>✉</sup>

東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻

2017年10月28日から10月29日にかけて、京都にて開催された第24回日本時間生物学会学術大会に参加しました。この度、学会参加記のお話をいただきましたので、ご期待にそえるかどうかはわかりませんが、お付き合いいただければ幸いです。

今回の時間生物学会は、「多様性と共鳴」がテーマとなっていました。特別講演やシンポジウムなど、様々な場面でこのテーマの意味を実感することができました。時間生物学会に初参加した私にとっては、何もかも初めてのことばかりでしたが、「時間」というキーワードだけで、ゴリラから氷河の小さな昆虫、シアノバクテリアからヒトの臨床研究に至るまで、多岐にわたる研究にふれることができるとても新鮮でした。自身の研究とは違った分野の研究テーマに対して、これまではどこか離れたところから眺めるように接していましたが、考え方や問題解決方法の共通点など、自分の研究にも生かせるヒントが隠れているように感じ、講演やシンポジウムを聴く姿勢が変わってきたように思います。このように、「多様性」を認めて互いの研究内容に興味を持つだけではなく、一見離れたテーマであっても互いの研究を結びつけてみるという「共鳴」が、これからの時間生物学研究を切り開いていくのだと感じました。異なるバックグラウンドで、異なる分野の研究をしている人どうしが出会い、「時間」や「リズム」という共通点のみであっても互いの研究を純粋に面白いという学会の雰囲気がとても心地よかったです。

また、よく考えると当たり前ではあるのですが、学会に参加するなかで、論文でしか名前を知らなかった偉い先生にたくさん会えることに感動しました。トレーニングコース後に連れて行っていただいた飲み会で、隣に座られた方に、「もしかして Koike et al., 2012の小池さんですか?」と聞いたら笑われました。自身のポスターを説明する時にも、大御所の先生相手に「哺乳類の概日時計ではCLOCKとBMAL1の複合体が…」などと偉そうに説明してしまったらどうしようかと、常にネームプレートをチラ見していました。顔

と名前を一致させようと精一杯努力していますので、皆さんきちんと表向きでネームプレートをかけていただけると大変嬉しく思います。

大会に参加する前には、夏休みの宿題はためるタイプで計画性のかけられない私は、ギリギリまで要旨がまとまらなかったり、なかなかポスターが完成しなかったりと、多くの方にご迷惑をおかけしました。(この学会参加記も締め切り間近の執筆となってしまう、申し訳ありません…) 研究室から複数のポスターをまとめて持つて行くことになったときにも、「阿部さんは信用ならないから帰り担当」と言われて悲しかったのですが、結局私は帰りに全員分のポスターをホテルに忘れてくることとなり、皆さんの不安は的中しました。(※無事に回収済みです。) 手のかかる学生で申し訳なく思います。まだまだ自分の研究もきちんと形にできていない状況ではありますが、こうして時間生物学会に参加する機会をいただき、さらに(一風変わったデータブリッツのおかげで?) 優秀ポスター賞も受賞することができたのは、ひとえに研究室の皆さんのおかげです。また、学会への参加を通じて多くの先生方の研究に触れたことで、研究に対するモチベーションもかなり上がりましたし、これまでよりも広い視野で長期的に自分のテーマを考えることの大切さを再認識することができました。多様性と共鳴が、これからの時間生物学を切り開いていくキーワードとなり、ゆくゆくは私もその一翼を担うことができるよう、今後も邁進していきたいと思っております。

最後になりましたが、本大会を企画し運営してくださった、沼田先生をはじめとする関係者の皆さまに感謝を申し上げます。ありがとうございました。



## Consortium of Biological Sciences 2017 参加報告

大塚 剛司<sup>✉</sup>

和歌山県立医科大学 医学部 生理学第二講座 (現 岐阜大学 応用生物科学部 動物生産管理学研究室)

冬の寒さがまた一段と深まる中、神戸ポートアイランドは研究者たちの熱気に包まれていました。2017年12月6日から9日にかけて神戸で行われた Consortium of Biological Science (ConBio) 2017 に参加してまいりましたので、報告をさせていただきます。

本大会は日本分子生物学会と日本生化学会の合同年次大会になりますが、37学会/団体の参画により、1万人を越える(約10,200名)参加人数を誇る大きな大会でした。日本時間生物学会もこの大会に参画しており、オーガナイザーとして深田吉孝先生、八木田和弘先生がシンポジウムを企画されておりました(残念ながら私の発表と同じ時間に開催されていたため、拝聴することはできませんでしたが・・・)。そして国内外から様々な分野の著名な研究者の方々が多く参加されており、普段なかなか拝聴する機会のない研究内容にも触れることができました。特に、PD-1研究の本庶佑先生やiPS細胞の山中伸弥先生、オートファジーの大隅良典先生といった、日本のトップ研究者やノーベル賞受賞者の方々のプレナリーレクチャーは、若手研究者の研究に対するモチベーションを強く刺激する内容で大変素晴らしいものでした。また、一般口頭発表及びポスター発表に加えて、33のシンポジウムや129のワークショップ、大会中毎日開催された企業ランチョンセミナーもあり、大会の規模と内容の充実さに驚嘆いたしました。このようにかなりの数の企画が用意されていたことから、発表を聴くことができなかつた方々のために、ConBio 2017のホームページでは、幾つかの企画について数ヶ月間オンデマンドで配信されておりました。これは基礎系の学会では珍しく、企画の多い今回の様な規模の大会においては非常に有効な試みではないかと感じました。

今回のConBio 2017では、私も研究内容を発表する機会をいただき、大会3日目にポスター発表、4日目に口頭発表を行いました。私は時計遺伝子の機能異常による情動行動障害に関する研究を発表し、多くの

方々から貴重な意見やアドバイス、また積極的なディスカッションを行うことができました。特に、たまたま隣のポスターで発表をされていたOISTの留学生とのディスカッションでは、自分の英語力の無さを実感しながらも、お互いの研究についての意見交換を英語で行うことができ、自分にとってかなり有意義な時間になりました。口頭発表に関しましては、大会最終日後半に行われたセッションの発表であったため人数も少なく、さらに私はセッション最後の発表でしたので、お聞きいただけたのは十数名の方だけでした・・・。しかし、ポスター発表で質問された方も居られ、自分の研究に耳を傾けてくださったことは、これからの研究の励みになりました。

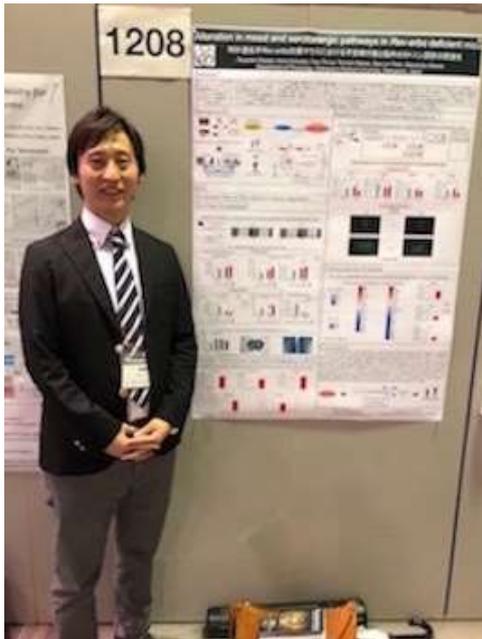
ここで少し神戸について紹介させていただきます。ConBio 2017が開催された神戸の街は「世界で最も住みやすい都市」トップ10にランクインしたことがあるほど、世界的にも暮らしやすい街です。また、有名な神戸牛や中華街を始めB級グルメも豊富で、美味しいものが数多く存在することに加えて観光スポットも多く、生田神社や六甲山、異人館など、とても数日では回り切れないほどです。その中でも、期間限定の特別な催し物がConBio 2017中に開催されておりました。それは「神戸ルミナリエ」です。1995年に起こった阪神・淡路大震災の犠牲者の方々への鎮魂の意と復興への期待を込めて、神戸ルミナリエは毎年12月に開催されている光の芸術作品展示です。今回、私は残念ながら観賞することは叶わなかったのですが、毎年変わる光の作品はどれも幻想的で、まるで夢の中にでもいる様な気持ちになります。光と密接に関わる体内時計の研究に携わる私にとって、今後も神戸ルミナリエは続けていって欲しいですし、この様な取り組みが震災の記憶を後世に伝えるとともに、我々に素晴らしい光の作品を届けてくれることを願います。

ConBio 2017は大盛況の中幕を閉じましたが、本大会は様々な分野の学会/団体の研究者が一堂に会して、

✉ t\_otsuka@gifu-u.ac.jp

多角的な視点から議論を行うことが出来た点で非常に有意義であると感じました。こうした異分野間での議論が、今後の革新的な研究の発展に繋がるのではないかと思います。個人的には、普段私が参加させていただいている日本時間生物学会や、その他の学会とは異なる雰囲気を楽しむことができ、今後の研究活動の

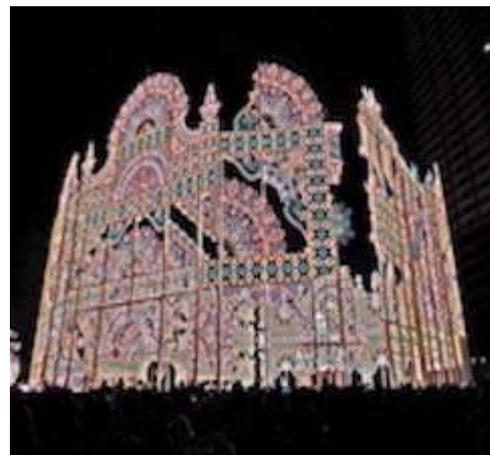
励みになりました。最後になりますが、ConBio 2017の参加を勧めてくださった筆者の所属研究室の向阪彰先生、ならびに本大会参加記の執筆機会を与えてくださった編集委員の池上啓介先生に心より感謝を申し上げます。



ポスター発表をする筆者



日本時間生物学会員の皆様と  
(左から吉種さん、田丸さん、筆者)



神戸ルミナリエの作品 (2015年のもの)

## The Biology of Time, circadian, lunar and seasonal rhythms 参加記

野口 貴子

カリフォルニア大学 サンディエゴ校

日本時間生物学会の皆様お久しぶりです。2009年 からポストクを経てプロジェクトサイエンティスト として、カリフォルニア大学サンディエゴ校で研究を 続けている野口貴子と申します。今回は、地元サンディエゴで 2018 年 1 月 22-24 日に開催された時間生物学をテーマとしたシンポジウム、The Biology of Time への参加報告をさせていただきます。

このシンポジウムはソーク研究所で IPSEN 財団の協賛によって 12 年前から開催されているもので、テーマは毎年変わりますが、今年は生物時計がテーマとして選ばれました。天候は相変わらずの暖かいサンディエゴ晴れのもと行われ、参加者は 20 世紀半ばの近代建築代表作として知られるソーク研究所 (Louis Kahn 設計) から太平洋を望む景色を楽しむことができました。

プログラムは Satchin Panda、Ron Evans、Susan Golden、Katja Lamia 博士などサンディエゴを拠点とする時間生物学者たちによって計画され、米国内外から招待された優れた研究者の最新の研究結果を聞くことができる内容となっていました。シンポジウムは、ソーク研究所所長 Elizabeth Blackburn 博士 (テロメア発見により 2009 年ノーベル賞受賞) の挨拶に続き、Michael Rosbash 博士 (時計遺伝子の発見により 2017 年ノーベル賞受賞) のキーノート講演と華々しく始まりました。Rosbash 博士は最近のショウジョウバエにおける睡眠研究 (Guo, Nature, 2016; Guo, PNAS, 2017) の結果を発表されました。日本からは、深田吉孝、吉村崇、廣田毅博士が招待され、たいへん興味深い発表をされました。大まかな研究の傾向としては、Andrew Miller、Paolo Sassone-Corsi、Joseph Bass 博士の発表に見られたように transcriptome や proteomics がより一般的な手法として取り入れられているのが良く分かりました。こうしたオミクス解析から得られた膨大な情報は、他の研究者にも共有され、多くの研究者の労力を省き新たな研究の原動力となる一方、情報量に圧倒され目

的としていた現象の原因を発見できなかったり、新しいアイデアを提唱できないケースも複数あり、オミクス後の情報解析と活用の難しさも明らかになったように思います。最新技術を駆使した研究発表が多い中、Stacy Harmer 博士のヒマワリの光屈性 (太陽に向かった旋回運動) の解明 (Atamian, Science, 2016)、Steven Reppert 博士のオオカバマダラ (Monarch) 蝶の渡り研究にみられるような非モデル生物を用いた基礎生物学研究からも、純粋に面白く有意義な結果を学ぶことができました。日米共に、こうした基礎生物学研究が軽んじられ、基礎医学的な応用研究に研究費が向けられる傾向にありますが、こうした傾向には危機感を覚えざるを得ません。米国ではシンポジウムなどを計画する際、発表者の性別、人種などがなるべく多様になるように配慮する傾向がありますが、今回のシンポジウムの発表者の約 4 割が女性であったことは、一女性研究者としてたいへん頼もしく思いました。全体として 2016 年から 2017 年にかけて発表された主要な研究結果を総括でき、とても有意義なシンポジウムでした。

シンポジウムの初日と最終日には夕食が提供され、Rosbash 博士と Michael Menaker 博士がそれぞれ気軽なお話をされました。Rosbash 博士はノーベル賞の賞金は、お酒と車と女性、その他どうしてもよい物に浪費すると言って、笑いを取っていました。今回のシンポジウム発表者の多くは今年の SRBR (学会にも参加される事と思いますので興味のある方は、ぜひ参加して下さい。



ソーク研究所からの夕日

## 第 25 回日本時間生物学会学術大会のお知らせ

第 25 回日本時間生物学会学術大会を 2018 年 10 月 20 日から 21 日の 2 日間、長崎大学医学部記念講堂・良純会館・ポンペ会館で開催いたします。2017 年度ノーベル医学生理学賞が「概日時計の分子機構の解明」に対して授与されたことは学会にとって大きな喜びであり、今後我々がいかに時間生物学を発展させていくか広く注目が集まっています。そこで本大会は、「From the Discovery to Innovations」というテーマを設定いたしました。

学術大会では、自治医科大学・永井良三学長にライフサイエンスの将来を示す特別講演を、大阪大学・仲野徹教授には新しい生命像をえがくエピジェネティクスの教育講演をお願いしています。また、多様なテーマのシンポジウム 6 セッションと共にポスター発表には全員が参加するデータブリッツを企画しています。

前日の 10 月 19 日（金）には、「20 Years since Discovery of Mammalian Clock Genes」と題した国際シンポジウムを開催いたします。Plenary Lecture としてカリフォルニア大学ロサンゼルス校 Gene Block 学長に元アメリカ科学財団生体リズムセンター統括の立場から御講演頂きます。さらに若手研究者のプロジェクト参加を待望する国内外 PI によります「PI Global Session」、Landmark Lecture として「Mammalian Clock Genes Cloned in Japan」を企画しております。

また 10 月 20 日（土）にはグラバー園を貸し切って懇親会を予定しております。長崎は、グラバー園や端島（軍艦島）などが、『明治日本の産業革命遺産』として世界遺産に指定され、教会群も世界遺産の候補となっています。また日本の医学史を学ぶ上で欠かすことのできない、鳴滝塾跡のシーボルト記念館など見所がいっぱいです。是非この機会に長崎の街も楽しんでいただければ幸いです。

それでは、西洋医学発祥の地、異国情緒あふれる長崎で皆様にお目にかかれるのを楽しみにしております。

第 25 回日本時間生物学会学術大会  
大会長 前村浩二  
(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)

### 【大会概要】

会期： 2018 年 10 月 19 日 JSC 国際シンポジウム  
2018 年 10 月 20 日～21 日 第 25 回日本時間生物学会学術大会  
会場： 長崎大学 医学部記念講堂・良純会館・ポンペ会館（長崎市坂本）  
大会ホームページ： <http://www.c-linkage.co.jp/25jsc/>  
参加登録・演題申し込み： 5 月中旬よりホームページで登録受付開始予定

### 【プログラム】

2018 年 10 月 19 日（金）

**International Symposium on Biological Rhythms**

**“20 Years since Discovery of mammalian Clock Genes”**

**Plenary Lecture:** Gene Block (University of California Los Angeles)

“11 years in NSF Center for Biological Timings”

**PI Global Session:**

Alec Davidson (Morehouse), Emi Nagoshi (Geneva), Tsuyosi Hirota (Nagoya), Shihoko Kojima (Virginia Tech), Shin Yamazaki (UT Southwestern Medical Center)

**Landmark Lectures:** “Mammalian Clock Genes Cloned in Japan”

Hajime Tei (Kanazawa), Masaaki Ikeda (Saitama Med), Takeshi Todo (Osaka)

2018年10月20日(土)～21日(日)

第25回日本時間生物学会学術大会

特別講演

永井良三(自治医科大学)「日本におけるライフサイエンスの将来」(仮題)

教育講演

仲野徹(大阪大学)「エピジェネティクスとはなにか？」

シンポジウム **Medicine** 「ヒトへの応用に向けた時間医学研究の新動向」

オーガナイザー: 前村浩二(長崎大学)、小柳悟(九州大学)

シンポジウム **Society** 「個人、組織、社会の時刻合わせー最大多数の最大幸福は善かー」

オーガナイザー: 三島和夫(国立精神神経センター)、樋口重和(九州大学)

シンポジウム **Diversity** 「生物時計の多様性と普遍性」

オーガナイザー: 吉村崇(名古屋大学)、中道範人(名古屋大学)

シンポジウム **Physiology** 「個体に表出する時間生理学」

オーガナイザー: 三枝理博(金沢大学)、増淵悟(愛知医科大学)

シンポジウム **Origin** 「Origin of Circadian Rhythms」

オーガナイザー: 八木田和弘(京都府立医科大学)、大出晃士(東京大学)

シンポジウム **Discovery** 「Epoch-making Discoveries in Chronobiology」

オーガナイザー: 桑和彦(名古屋市立大学)、岩崎秀雄(早稲田大学)

ポスター発表データブリッツ

ポスター発表

優秀発表授賞式

総会・奨励賞授賞式・受賞講演

懇親会 (グラバー園)

# 第16回（2018年度）日本時間生物学会学術奨励賞公募のお知らせ

日本時間生物学会学術奨励賞選考委員長 本間研一

学術奨励賞は、時間生物学の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に与えられます。原則として、基礎科学部門1名、臨床・社会部門1名の計2名を受賞者として選出します。自薦、他薦を問いませんので、奮ってご応募下さい。応募にあたっては下記の要領に従って下さい。なお、受賞者は本年10月20-21日に長崎大学で行なわれる学術大会で受賞講演をしていただきます。

## 応募資格

1. 日本時間生物学会の会員であること

2. 年齢および研究歴

応募者は応募締め切り時点で41歳以下であること。博士号取得者は取得後11年以内、修士号取得者および6年制学士号（医学部、歯学部、獣医学部、薬学部）取得者は取得後13年以内であること。なお、博士号、修士号、6年制学士号を取得していない者でも、41歳以下なら応募資格があります。

応募締切日：平成30年（2018年）7月31日（火）必着

応募方法：応募書類を学会事務局あてに、E-mail（PDFファイル）で送付すると同時に、プリントアウトしたものを郵送してください。

宛先：〒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

動物機能制御学研究分野内

日本時間生物学会事務局 吉村 崇

E-mail: takashiy@agr.nagoya-u.ac.jp

応募書類：書類には下記の内容を記載して下さい。

1. 希望審査部門（基礎科学部門、臨床・社会部門）
2. 氏名（ふりがな）
3. 生年月日
4. 現職
5. 最終学歴（学位取得年月）および職歴
6. 日本時間生物学会の会員歴、ならびに活動歴（学会発表、学会誌への寄稿、学会、学術大会等の運営、その他）
7. 時間生物学会あるいは他学会等での表彰歴
8. 本件に関する連絡担当者名とメールアドレス
9. 業績
  - (1) 研究課題名
  - (2) 研究の内容（字数に制限はありません）
  - (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入すること）
  - (4) 論文リスト
  - (5) 推薦状（自薦の場合は必要ありません）

以上です。

# 日本時間生物学会会則

制定 2001 年 1 月 1 日  
改正 2017 年 10 月 27 日

## 1章 名称

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

## 2章 目的と事業

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

## 3章 組織と運営

### （会員）

1. 本会の会員は正会員、名誉会員、賛助会員、臨時会員よりなる。
2. 正会員は、本会の目的に賛同し、所定の手続きを経て、年会費を納めた者とする。正会員の入会及び退会は別に定める規則による。
3. 名誉会員は本会に功労のあった 70 歳以上の会員または元会員で、理事会が推薦し総会の承認を得た者とする。
4. 賛助会員は本会の目的に賛同し、本会の事業に財政的援助を行なう者で、理事会の承認を得た者とする。
5. 臨時会員は、正会員の紹介により、学術集会の参加費を納めた者とする。

### （評議員）

1. 評議員は推薦基準に従って正会員を評議員として推薦し、これを理事会が決定する。任期は 6 年で再任を妨げない。
2. 評議員は学会の活動を積極的に行ない、理事を選出する。

### （役員）

1. 本会には次の役員を置く。  
理事長 1 名、副理事長 3 名、事務局長 1 名（副理事長が兼務）、理事若干名、監査委員 1 名  
役員は正会員でなければならない。役員の任期は 3 年とする。
2. 評議員の選挙で評議員の中から理事 10 名を選出し、総会において決定する。  
理事の任期は連続 2 期までとする。ただし、理事長推薦による理事としての任期は含めない。
3. 理事は理事会を組織し、本会の事業を行う。
4. 理事長は理事の互選で選ばれ、本会を代表し、会務を司り、総会および理事会を召集する。
5. 理事長を除く理事選挙上位 2 名と、理事の中から理事長の推薦する 1 名を副理事長とし、副理事長の中から理事長が事務局長を選任し、会の総務、財務を担当させる。
6. 理事会は本会の事業を行うために、必要に応じて専門委員会を設置することができる。専門委員会は評議員から構成され、委員長は理事をあてる。これらの委員の任期は理事の改選までとする。
7. 理事会は評議員の中から監査委員を選出する。理事がこれを兼務することはできない。
8. 理事会は学術大会会長を選出し、総会でこれを決定する。学術大会会長は理事でない場合はオブザーバーとして理事会に参加するように努める。

9. 理事長は理事会の承認を得て、学会の運営に対する助言を行う顧問をおくことができる。顧問は65歳以上の正会員とし、任期は理事会の任期終了までとする。

#### (総会)

1. 本会の事業および組織・運営に関する最終の決定は、総会の議決による。
2. 総会は、正会員より構成される。定期総会は原則として毎年1回開催され、理事長がこれを招集する。
3. 定期総会の議長は、大会会長がこれにあたる。
4. 理事長が必要と認めた場合、あるいは正会員の4分の1以上 または理事の2分の1以上の要請があった場合には、理事長は臨時総会を招集する。
5. 総会の議決は、出席者の過半数の賛成を必要とする。

#### (学術大会)

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

#### (設立年月日・所在地)

1. 本会の設立年月日は、平成7年(1995年)1月1日とする。
2. 本会の所在地は事務局長を兼任する副理事長の所属施設の住所とする。

### 4章 会計

1. 本会の年度会費は、別に定める細則により納入するものとする。
2. 本会の会計年度は、毎年1月1日に始まり、12月31日に終わる。
3. 本会の会計責任者は事務局長を兼任する副理事長とする。

### 5章 会則の変更

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

#### 付則

1. 本改正会則は、2016年1月1日から施行する。
2. 本改正にともなう副理事長の選任は、次回(2016年)の理事選挙から開始する
3. 本改正にともなう理事の連続三選制限は、次々回(2019年)の理事選挙から導入する。ただし、移行措置として次回(2016年)の理事選挙の上位5名は、次々回(2019年)の理事選挙で三選制限の例外とする。

#### 会則施行内規

1. 入会、退会及び休会手続き  
正会員の入会及び休会は、所定の様式により、事務局長まで届け出、理事会の承認を得なければならない。また退会しようとする者は、事務局長まで書面をもって届け出なければならない。
2. 会費納入
  - 1) 正会員の年会費は、5,000円とする。ただし大学院学生等は3,000円とする。
  - 2) 名誉会員は会費及び学術大会参加費を免除する。
  - 3) 賛助会員の年会費は、1口、20,000円とする。
  - 4) 年会費の改訂は総会の議決を必要とする。
  - 5) 会費未納2年以上経過した会員には、学会誌の発送を停止し、会費納入の督促を行う。
  - 6) 長期にわたり年会費を滞納した者は、理事会の承認を得て、除名することができる。
3. 評議員の推薦基準
  - 1) 評議員の推薦基準は、原則として本会に所属し3年以上の活発な活動を行い、本会の目的とする研究分野および関連分野での十分な研究歴と業績をもつ(筆頭著者としての原著論文2報以上)

ものとする。

- 2) 会員歴が3年未満でも、以下の条件を満たす会員は、理事の推薦と理事会の承認があれば、評議員として推薦できる。
    - 本会の目的とする研究分野と関連する分野で5年以上の研究歴を持っていること。
    - 本会の目的とする研究分野に関連する学会に3年以上所属し活発な活動を行っていること。
    - 上記の研究分野および関連分野で筆頭著者としての原著論文が2報以上あること。
    - 年齢が35歳以上であること。
  - 3) 学会の活動を積極的に行うため、大会に直近の3年間に少なくとも1回は学術大会に参加することを再任の基準とする。
4. 理事の選出
    - 1) 投票は無記名で5名以内の連記とする。
    - 2) 理事長は分野を勘案し、5名の理事を評議員の中から追加して任命することが出来る。
  5. 専門委員会  
以下の専門委員会をおく。
    - 編集委員会
    - 国際交流委員会
    - 評議委員推薦委員会
    - 広報委員会
    - 将来計画委員会
    - 選挙管理委員会
    - 奨励賞選考委員会
    - 学術委員会
    - その他、理事会が必要と認めたもの。
  6. 日本時間生物学会学術奨励賞の選考基準
    - 1) 日本時間生物学会会員として、時間生物学領域で顕著な業績をあげ、今後の活躍が期待される若手研究者を表彰する。
    - 2) 本賞受賞者の年齢制限は、応募締め切り時点で、博士学位の取得後11年以内、または、修士学位・6年制課程学士学位（医学部、歯学部、獣医学部、薬学部など）の取得後13年以内であること、かつ、41歳以下とする。
    - 3) 上記の目的で理事の中から委員長1名、委員4名より成る選考委員会を設け、公募により募集した候補者の中から本章受賞者を原則として毎年基礎科学部門1、臨床・社会部門1の計2名選定し、賞金を贈呈する。
    - 4) 委員会は毎年設置し、委員長及び委員を理事会が理事の中から選出し、選考委員の任期は理事の期間とする。
  7. 賛助会員に関する取り決め
    - 1) 賛助会員の定義
      - 賛助会員は本会の目的に賛同し、本会の事業に財政的援助を行う者で、理事会の承認を得た者とする。
    - 2) 会費
      - 賛助会員の年会費は、一口（20,000円）以上とする。
    - 3) 賛助会員の特典
      - 一口につき1名の大会参加費を事務局が負担する。
      - 日本時間生物学会会誌に賛助会員リストを掲載し、謝意を表す。
      - 日本時間生物学会会誌、又は日本時間生物学会ホームページに広告記事を掲載できるものとする。学会誌、又はホームページへの広告記事の掲載は1年間（会費の有効期間）とする。学会誌への掲載ページの場所と大きさは口数に応じて事務局で判断する。

- 日本時間生物学会の大会での展示などをする場合は優遇する。
- 4) 賛助会員の会費の取り扱い
- 賛助会員の会費を学術大会の運営費に充当する場合は、6割を超えてはならない。
8. 学術大会の発表に関する取り決め
- 学術大会の「一般演題」発表の発表者（登壇者）は会員とする。ただし、大会長もしくは理事会が認めた場合はこの限りではない。
9. 時間生物学会優秀ポスター賞の制定
- 1) 賞の名称および目的：賞の名称は日本時間生物学会学術大会優秀ポスター賞とし、若手研究者の育成を目的とする。
  - 2) 対象者：受賞対象者は日本時間生物学会学術大会において優秀なポスター発表をした者とする。
  - 3) 人数：受賞者の人数はおおむね発表者の5～10%とし、柔軟に対応する。
  - 4) 選考：選考は選考委員会によって下記のように行う。
    - 理事会において、理事1名および若手研究者3～4名からなる選考委員会のメンバーを選出する。選考委員の任期は理事の任期に準ずる。
    - 選考委員会の委員長は理事が務める。
    - 審査員は学術大会に参加した評議員が務める。
    - 審査員は優秀なポスター発表を選び投票する。投票の方法は別に定める。（附則1）
    - 投票結果に基づき、選考委員会で受賞者を決定する。（附則2）
  - 5) 発表：学術大会期間中に受賞者を発表して表彰する。
  - 6) 賞品：賞状に加え、学会参加費及び懇親会参加費に相当する金額の賞金を贈呈する。これに学術大会会長の選定した賞品を追加することは妨げない。
- ※付則1 審査員は、優秀ポスターを3題選び記名投票する。
- ※付則2 原則として得票数に基づいて選考するが、受賞歴、基礎科学部門及び臨床・社会部門、ならびに研究分野の発表演題数に応じた受賞者数なども考慮する。
10. この内規の改定は理事会の議決を必要とする。

2005年 2月 2日一部変更	内規 6.	学会事務局設置に関する取り決めに追加
2005年 4月 23日一部変更	内規 5.	学術委員会を追加
	内規 7.	学術奨励賞選考基準を追加
2005年 7月 8日一部変更	内規 8.	賛助会員に関する取り決めに追加
2006年 4月 22日一部変更	内規 2.	5) 学会誌発送停止基準を追加
2006年 8月 4日一部変更	内規 9.	一般演題登壇者の取り決めに追加
2009年 11月 20日一部変更	内規 10.	優秀ポスター賞制定を追加
2011年 4月 16日一部変更	内規 7.	2) 学術奨励賞年齢制限を変更
2011年 4月 28日一部変更	内規 10.	4) ポスター賞審査員を変更
2011年 10月 31日一部変更	内規 10.	3) ポスター賞人数の内容変更
	内規 10.	4) ポスター賞選考方法の変更
	付則 1	内容変更
	付則 2	内容変更
2012年 4月 16日一部変更	内規 10.	3) ポスター賞人数の文言一部削除
	付則 2	文言追加
	内規 7.	1) 学術奨励賞の選考基準に文言を追加
	内規 8.	3) 賛助会員の特典に文言を追加
2014年 11月 7日一部変更	会則 3章 (会員) 3	名誉会員推薦年齢の変更
	内規 1.	休会事項を追加

2015 年 5 月23日一部変更	内規 6. を改定して学会所在地を明記 内規 11. 学会設立年月日を追加
2015 年 6 月17日一部変更	内規 12. 11 の追加に伴い 11 を 12 に変更 内規 7. 2) 奨励賞の年齢制限改定。両部門共通化。 学位取得後年数に統一。
2015 年 11月21日一部変更	会則 3章 組織と運営 (役員) 1. 副理事長を追加。再任を妨げないを削除。 2. 理事の任期 (連続 2 期) を制定。 5. 副理事長、事務局長の選任規定を追加 (設立年月日・所在地) の項目を追加 会則 4章 会計 3. 会計責任者の項目を追加 付則：今回改正前の付則を削除し、以下を追加 1. 本改正の施行日 2. 副理事長の選任時期 3. 理事再選制限についての移行措置 内規 6. 11. は会則に移動するため削除 それに伴い 7.以後の番号の変更 改正履歴の書式を統一。
2017 年 10 月 27 日一部変更	内規 8. 学術大会の発表に関する取り決めに文言を追加

## 賛助会員リスト (50音順)

以下の団体（代表者、敬称略）から賛助会員として学会運営にご協力いただいております。お名前を掲載し感謝いたします。

ブライトライト専門店	(向井嘉一)
一般財団法人 アショフ・ホマ記念財団	(本間研一)
Crimson Interactive Pvt. Ltd.	(松本悠香)
三協ラボ サービス(株)	(椎橋明広)
(有)メルクエスト	(山本敏幸)
(株)杏林書院	(佐藤直樹)
株式会社電制 プラント事業部	(田上 寛)

時間生物学会事務局

# 執筆要領

2017年5月改定

## 原稿について

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

原稿は、ワードプロセッサまたはコンピュータソフトを用いて作成してください。原稿のファイルを図表のファイルとともに、編集局へメールの添付書類にてお送りください（送り先：shigey@med.kindai.ac.jp）。メールで送信できない場合には、プリントアウトした原稿1部（図表を含む）とそれらのファイルを保存したCDROMなどを編集局へ送付して下さい（氏名を記載のこと）。ワープロソフトは一般に使われているものなら何でも結構ですが、使用したOSとソフトをお知らせください。図版等は、tif、jpg、pdf形式での投稿を推奨しますが、それ以外につきましては、編集担当者までご相談ください。カラー印刷も対応可能ですので、お問い合わせ下さい。なお、非会員で総説または技術ノートを執筆いただいた場合、会費免除で1年間本学会会員になることができます。

総説、技術ノート、論文、海外レポートについては、2011年第1号より、発刊時に日本時間生物学会のホームページ上の学会誌コーナーにpdfファイルで閲覧することになりました。予めご了承ください。また、別刷は配布いたしません。公開に伴うメールアドレスの公開を見合わせたい方はご連絡ください。

## 1. 総説と技術ノート

- 1) 原稿の長さは、図、表、文献を含め刷り上がりで4～5ページ程度（1頁は約2100字と考えて下さい：横1行23文字で1頁46×2=92行）とする。
- 2) 第1頁に表題、著者名、所属及びその所在地、電話番号、FAX番号、E-mailアドレス及び脚注（必要がある場合）を記す。
- 3) 第2頁に400字程度のアブストラクトを記入する。
- 4) 本文に節を設ける場合、1.、2.、3.、・・・とする。
- 5) 参考文献の数は特に制限しないが、50編以内が望ましい。参考文献は、引用順に通し番号を付けて文末にまとめて掲げる。本文中の引用箇所には、通し番号を上付きで示す。  
(例) ～による<sup>1</sup>、...である<sup>2,4</sup>。
- 6) 文末の参考文献の記載は、次のようにする。著者が6名以上の場合は、筆頭著者名のみを記載し、以下は「*et al.*」と省略する。

[雑誌] 通し番号. 著者名 題名. 誌名, 巻数, ページ (発行年)

[書籍] 通し番号. 著者名 題名. 書名 (編者), ページ, 発行所 (発行年)

- (例) 1. Ikegami, K. *et al.* Tissue-specific posttranslational modification allows functional targeting of thyrotropin. *Cell Rep.* **9**, 801-809 (2014).
2. van den Pol, A. in *Suprachiasmatic nucleus* (eds Klein DC, Moore RY, & Reppert SM) Ch. 2, 17-50 (Oxford University Press, 1991).
3. Yoshikawa, T., Yamazaki, S. & Menaker, M. Effects of preparation time on phase of cultured tissues reveal complexity of circadian organization. *J. Biol. Rhythms* **20**, 500-512, (2005).
4. 重吉康史, 長野護 & 筋野貢. 体内時計中枢に内在する同期機構. *生体の科学* **67**, 527-531, (2016).

- 7) 表は原則として3～5程度とするが、必要に応じて増やすことができる。簡潔な標題と必要な説明をつけて、本文とは別の用紙に作成する。

- 8) 図は原則として3～5程度とするが必要に応じて増やすことができる。図には簡単な標題を付ける。図の標題と説明は別紙にまとめる。
- 9) 図及び表は、図1、図2、・・・、表1、表2、・・・の通し番号で表示する。
- 10) 図及び表を文献から引用した場合、引用を明記するとともに、引用の許可が必要な場合には、著者の責任で許可をとっておく。

## 2. 研究グループ紹介

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

## 3. 海外レポート

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

## 4. 関連集会報告

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

**【倫理】** ヒトを対象とした研究においては、厚生労働省による「臨床研究に関する倫理指針」、厚生労働省・文部科学省による「疫学研究に関する倫理指針」、文部科学省・厚生労働省・経済産業省による「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に則り、倫理委員会の審査・許可を経た上で行ったものであることを前提とします。また、動物を対象とする研究においては、所属機関の動物実験委員会等の規定に従い、十分な配慮の上で行った研究であることを前提とします。したがって、以上の指針・規定に沿っていない研究については掲載することが出来ませんので、ご注意ください。

**【利益相反】** 研究データの公正かつ適切な判断のため、研究に関連する可能性のある利益相反（Conflict of Interest: COI）が存在する場合は、本文中に必ず記述してください。所属機関等の第三者がCOIを管理していない場合も、できる限り研究に関与した研究者にCOIが存在することが明らかな場合は記述してください。

## 編集後記

■今号、執筆者、編集委員が渾身の力をこめてお送りいたします。大渦の中心に引き込まれるように原稿が集まってくるものがあるんだと。その光景の壮麗さに驚きながら、一方で、エリート編集委員、吉川さん、池上さん（今回も仕事丸投げ）にせかされて編集後記をもそもと書いております。しかし編集者冥利であります。皆さんの熱気で溶けそうですよ。汗出てくる。眼からも。

■原稿のいずれもが生きている。執筆者の文面に浮かび上がる心の丈。切れ味鋭い文章たち。どれも滑稽で、真剣で、愚鈍で、とんでもなく聡明です。”好きなことをやってなんとか生きのびていく”ことへの執念。そびえ立つ高峰へのやるせない憧憬。荒い息づかいで、熱に浮かされている。それでいてそれを表には出さず、ぎりぎりのところで諧謔をもちいて、男前をよそおっている。いやいや、それでは女性陣に失礼。佳人がしたためるところのしなやかさとしたたかさよ。泣いて笑ってじっくりお楽しみください。いつ読むの？今でしょ。

■ノーベル賞特集いかがでしたでしょうか。執筆者は受賞者と濃密なお付き合いのあった方ばかりです。本来は Konopka 氏と Benzer 氏がもらうべきであったとの谷村氏の痛烈な一文。しかし両者ともお亡くなりになってしまった。Hall, Rosbash 両氏の出会いが今回の受賞につながったとの名越氏の指摘。出会いの偶然と必然を再認識させられます。研究テーマと出会い人と出会う絶妙。そして、1 度はプロテオグリカン説の陥穽にはまり一歩後退した Young 氏の逆転劇。受賞者の生き様や息づかいまでわかるような皆様の原稿に感謝です。そして日本語の雑誌ですのに、二つ返事で引き受けていただいた Justin ありがとうございます。お会いしたことないけれどももう親友ですよ、これは！日本に来たらいつでもうまいもの食べさせるぜ、吉野家で。

■Daan 氏、井深氏とは永遠のお別れとなってしまいました。Daan 氏は平成 18 年第 22 回国際生物学賞受賞者です。日本の時間生物学研究者にとってなじみ深い方でありました。お会いするたびに励ましていただいた。数理を駆使した研究は私の目標でありました。井深氏は、脳波の概日リズムを明らかにされたこと、季節性リズム、概年リズム研究のフロントランナーとして活躍されたことで名高い研究者です。両氏のご冥福をお祈りいたします。

■志村氏、竹前氏には睡眠リズム障害患者会の活動報告をご寄稿いただきました。私も睡眠体内時計外来で、朝、起きること

ができず学校へ行くことができなくなってしまった子供さんの診療に携わっております。よって切実さがありありとわかります。行きたいのに行けない子供たちが数多く存在します。子ども親も大変です。“絶対にナマケモノとは呼ばせない。”

■小島氏、米国に暮らして、研究室を主催。研究室をもつまでのプロセスを詳細に記述いただきました。偉業であります。途方もない明るさ、前向きな思考を持った方でいともやすやすと現在のポジションを得たように見える。そんなことない。米国で PI になるのは大変。あとに続くものはどうすればよいのか。この力作を読み。ノウハウてんこもりの現在進行形体験記です。今号は第一章～黎明編～でした。次章～異形世界苦闘編～に続きます（編集長案）。”Applaud the spirit!”。

■総説を誇ります。内容のレベルの高さよ。査読も形ばかりのものではなく、しっかりと熟読玩味の上で批評いただきました。執筆者の皆様、査読者の皆様に深甚なる敬意を表します。ありがとうございました。奨励賞受賞のみならず、おめでとうございました。さすがの研究レベルであります。また、リレーエッセイ、学術大会関連報告、学会参加記の執筆ありがとうございます。若い方が書かれた文章にはあこがれと照れと背伸びがある。そして柔軟。いいなあ。萌え。

■岩崎氏には巻頭言と表紙お願いしました。巻頭言というよりエッセイとのこと。芸術と科学の狭間にたゆたいながらどちらの領域においても大きな業績をあげてきた傑出人です。幽玄の歴史が科学に交わった瞬間に現れたはかない結晶を文章と絵で表現されたように感じました。表紙まだみていませんが、歴史の暗部に関わる重厚なものとのこと（私信）。怖い。

■で、今号、分厚くなりまして経費が相当かかること必定。予算オーバー、わかっているって、今は存分に泣かせてくれて。辞表はいつでも出すからよ。穴埋めはさ、なんとかすっからよ。カネはあるんだよ、カネは。たぶん。。今日のところはなんとでもなると思わせてくれや。また汗流せばいいんだからよ。うんめえ酒もってこさせるぜ。今夜はとことん飲んでくれや。おいらは飲めねえんだけどよ。あんたがうまそうに飲んでる顔を見たいんだよ。

■文章から発せられる放射熱にあたって饒舌になってしまいました。明日からはまじめに生きようと思います。

(重吉)

時間生物学 Vol.24, No. 1 (2018) 平成 30 年 5 月 15 日発行

発行：日本時間生物学会 (<http://chronobiology.jp/>)

(事務局) 〒464-8601 名古屋市千種区不老町  
名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所  
吉村崇研究室内

TEL/FAX : 052-789-4069

Email : [chronobiology.jp@gmail.com](mailto:chronobiology.jp@gmail.com)

(編集局) 〒589-8511 大阪府大阪狭山市大野東 377-2

近畿大学医学部解剖学

重吉康史研究室内

TEL : 072-368-1031

Email : [shigey@med.kindai.ac.jp](mailto:shigey@med.kindai.ac.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