

# 目次

## 巻頭言

「徒然に思うこと」	三枝 理博	1
-----------	-------	---

## 総説

「ヒトの体内時計 (1)」	本間 研一	2
「哺乳類 Period の真の機能とは何か」	明石 真	10
「イネが光周性花芽形成の「モデル」って本当ですか? - 「リファレンス」という概念の薦めー」	井澤 毅	18
「魚類の産卵周期にみられる月を利用した時刻あわせ」	竹村 明洋・福永 耕大・宇田川 伸吾・武方 宏樹・竹内 悠	29

## 古典を訪ねて

「石森國臣論文現代語訳 ～睡眠物質研究の原典～」	小林 里帆・桑 和彦	36
--------------------------	------------	----

## 受賞論文

「時間生物学の実験と理論のはざま」	伊藤 浩史	42
「気分障害に対する時間生物学的治療の有効性と治療反応予測因子の開発」	鈴木 正泰	47

## 研究室便り

「シアノバクテリアの概日時計で時を刻みつつ」	寺内一姫	52
------------------------	------	----

## リレーエッセイ

「若手の会」	吉種 光	55
--------	------	----

## 留学体験記

「ミラノ滞在記」	吉池 卓也	57
----------	-------	----

## 第 25 回日本時間生物学会学術大会関連

「第 25 回 日本時間生物学会学術大会開催報告」	中村 渉・前村 浩二	63
「第 25 回 日本時間生物学会に参加して」	沖村 光祐	65
「日本時間生物学会 第 25 回定期学術大会参加記」	鳥井 孝太郎	67
「International Symposium on Biological Rhythms: A Bridge to a New Era of Circadian Biology」	佐藤 章悟	68

## 関連学会参加記

「ESRS に参加して」	駒田 陽子	70
「日本学術会議 緊急公開シンポジウム 「生活時間と健康 健康科学からみたサマータイムの問題点」に参加して」	王 幸慈	72

第 26 回日本時間生物学会学術大会のお知らせ	三枝 理博	73
-------------------------	-------	----

第 17 回 (2019 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	75
---------------------------------------	-------	----

CoFF2019/ISNFF2019/ICPH2019 開催告知		76
----------------------------------	--	----

事務局報告	吉村 崇	77
-------	------	----

賛助会員リスト		81
---------	--	----

執筆要領		82
------	--	----

## 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>国際交流副委員長</b>	上田 泰己
<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	小山 時隆	糸 和彦	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、2019年4月現在)



# ヒトの体内時計（1）

本間研一<sup>1,2</sup>✉

1: 北海道大学名誉教授

2: アショフ・ホンマ記念財団

ヒト体内時計の内因性周期は測定法によって若干異なるが、いわゆる「脱同調プロトコル」で測定された極めて 24 時間に近い周期は、測定方法に内在する性質により、光位相反応や振動体相互作用のバイアスを受けている可能性がある。また、これまで長いこと支持されてきた睡眠覚醒リズムの「2 プロセスモデル」が提唱者自身の手で改定され、我々が主張してきた 2 振動体モデルとの差異はほとんどなくなった。2 振動体モデルで想定されている睡眠覚醒リズムを駆動する振動体は、独自の動物実験から示唆された非視交叉上核振動体群の集団からなり、覚醒系と結びついて強い振動力を示し、時には視交叉上核の概日時計にフィードバックする。睡眠覚醒リズムの背後にある振動体は光同調因子には概日振動体を介して同調するが、非光同調因子には独自に同調する。睡眠覚醒リズム振動体は、ヒトでは個体発生の過程で形成されている可能性がある。

## 0. 序

この度、日本時間生物学会機関紙「時間生物学」の編集委員長より、ヒト体内時計に関する総説の執筆を依頼された。この学問分野は、故 J. Aschoff の時間隔離実験（以下、隔離実験）を用いた一連の研究によって他の生物と同等の科学レベルにまで引き上げられ、確立された。その後各国で類似の研究が行われたが、ここ二十数年間は C. Czeisler を中心とする研究集団の独壇場である。私も 1980 年代に Aschoff の影響を受けてヒト体内時計の研究を始め、高照度光によるヒト体内時計の同調<sup>1</sup>や位相反応曲線の作成<sup>2</sup>に力を入れてきた。この頃、ヒト体内時計の研究は睡眠研究と結びついて、1984 年に S. Daan と A. Borbély による「2 プロセスモデル」が発表されると<sup>3</sup>、モデルは「セントラルドグマ」として 30 年以上にわたり、主として睡眠研究者たちに信奉されてきた。「2 プロセスモデル」が世に出る前には、Aschoff の共同研究者である R. Wever による「2 振動体モデル」<sup>4</sup>があった。2016 年、Borbély ら自身の手で「2 プロセスモデル」が大幅に変更されたが<sup>5</sup>、その要因の 1 つとして我々のメタンフェタミンを用いた動物実験<sup>6</sup>とヒトの内的脱同調実験<sup>7</sup>が挙げられた。この機会に、あらためてヒト体内時計に関する研究の流れを確認し、いまだ解明されていない問題について、私見を述べてみたい。なお、文章の中で特に動物種を示さない記述はすべて

ヒトを対象としたものである。また、執筆してみるとかなりの分量になってしまったので、2 回に分けて掲載することを許して頂いた。

## 1. ヒト体内時計の特徴

### (1) 内因性周期

- 1) フリーラン法と脱同調プロトコル
- 2) 光位相反応

### (2) 生体リズムの内因性要素と外因性要素

- 1) フリーラン法
- 2) コンスタント・ルーチン
- 3) 強制的脱同調プロトコル

## 2. 体内時計の構造と機能

### (1) 内的脱同調

- 1) 長周期脱同調
- 2) 短周期脱同調

### (2) 脱同調下の概日リズムと睡眠覚醒リズムの相互作用

### (3) 環境周期への同調

- 1) 光同調
- 2) 非光同調

## 3. 体内時計の進化

- (1) 階層的多振動体構造
- (2) 視交叉上核外振動体の再結合

## 4. 結論

✉ kenhonma@med.hokudai.ac.jp

## 1. ヒト体内時計の特徴

### (1) 内因性周期

体内時計が内因性の振動体に起因する証拠として、同調因子の無い条件下で24時間とは異なる周期で長期間にわたってフリーランすることが挙げられる<sup>8</sup>。フリーラン周期が生物種、個体、性により異なることも内因性であることの重要な証拠で、24時間とは異なる外界の周期(あると仮定して)に同調したものではないことを示す。内因性周期が24時間など環境周期と一致することを同調というが、同調の生理的意義は周期の一致よりも、同時に達成される環境周期性との安定した位相関係の確立である<sup>9</sup>。例えば、日の出直前に鳴き始める鳥の行動は、体内時計の環境周期への同調の結果であり、個体によっては日の出直後に鳴き出す鳥もいるが、それは24時間とは異なる内因性周期や体内時計の光感受性の差異による。内因性周期が24時間と異なることに意義があり、なぜ地球上で24時間以外の周期をもつ体内時計が進化したかを理解する手がかりとなる。

### 1) フリーラン法と脱同調プロトコール

動物では行動リズムを指標として概日リズムの周期(フリーラン周期)が測定されるが、ヒトの場合は深部体温リズムの最低値位相が指標とされ、最近ではメラトニンリズムの頂値位相が用いられる。それは、行動リズム(睡眠覚醒リズム)がしばしば深部体温リズムやメラトニンリズムから乖離(内的脱同調)して24時間から大きく隔たった周期を示し、概日リズム

とは異なる振動機構に支配されていると考えられるからである。ちなみに、メラトニンの頂値位相は深部体温の最低値位相よりも1.5時間ほど先行している<sup>10</sup>。

隔離実験室を用いたAschoffとWeverのフリーラン実験では、大多数の被験者が24時間より長い内因性周期を示し、24時間より短い周期を示したのは400人を超える被験者の中でわずか数人しかおらず、しかも再現性がなかった<sup>4</sup>。深部体温リズムの平均フリーラン周期は25.0時間であるが、性差があり女性より男性で有意に長い<sup>11</sup>。年齢や覚醒期間中の運動負荷は周期に影響しないが、集団的隔離や隔離中の行動、昼寝の有無、電磁波暴露、照明方法の違いで周期に有意な差異が認められた。照度に関しては、視覚障害者や完全暗黒下の周期(24.5時間)はその他の照度下の周期よりも有意に短い。連続照明法でも照度と周期に有意な相関関係はなかった<sup>4</sup>。

一方、Czeislerらは「強制的脱同調プロトコール(forced desynchrony protocol)」と呼ばれる独自の方法で内因性周期を測定している<sup>12</sup>。概日振動体の指標とした深部体温リズムが睡眠や覚醒の「マスキング効果」を懸念して、睡眠相や覚醒相が体温リズムに関して均等に分布するように、睡眠や覚醒を強制的に22時間周期、あるいは28時間周期で連続的に移動させて周期を測定した(図1)。「マスキング効果」とは内外の環境因子が体内時計を介さないで、時計の表現型である生体リズムに影響する効果をいう<sup>13</sup>。また、体温の最低値位相を「正確」に測定するために、J. Millsらが開発したコンスタント・ルーチン<sup>14</sup>を用い

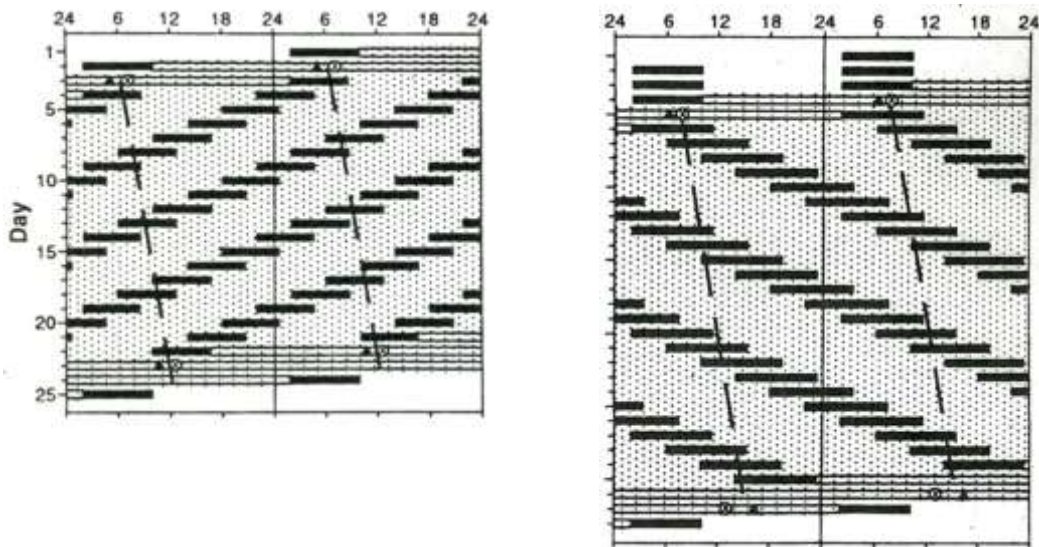


図1 強制的脱同調プロトコール

22時間(左)と28時間(右)の強制的脱同調プロトコール。黒横バーは強制的睡眠時間帯を表す。プロトコール開始の2日間、終了の2日半はコンスタント・ルーチンである。コンスタント・ルーチンの枠に示された◎は深部体温リズムのナディア(余弦曲線に当てはめた最低値位相)、▲は血中メラトニンリズムのゼニス(余弦曲線に当てはめた最高値位相)である。図はダブル・プロットされている。文献14より引用。

ている。この方法は、深部体温にマスクング作用を与える周期的な環境因子を一切排除する方法であるが、これについては次に詳しく述べる。強制的脱同調プロトコールとコンスタント・ルーチンを用いて測定した深部体温リズム<sup>15</sup>やメラトニンリズム<sup>16</sup>の周期は24時間に極めて近い。

フリーラン法と脱同調プロトコールで得られる周期が異なる原因はどこにあるのだろうか。その差はそれほど大きくはないが、背景に体内時計の構造と機能に対する理解の相違があり、科学的に興味のある問題である。

その前に、脱同調プロトコールのアイデアの源となった体内時計の自発的脱同調現象とその意義について確認しておきたい。フリーラン実験ではしばしば内的脱同調 (internal desynchronization) と呼ばれる、深部体温リズムと睡眠覚醒リズムの自発的な乖離がみられる<sup>17</sup>。Wever らの実験<sup>4</sup>では約四分の一の被験者で出現しており、より長期間の洞窟実験ではほぼすべての被験者で報告されている。内的脱同調には睡眠覚醒リズムの周期が33時間にも延長する長周期脱同調と18時間に短縮する短周期脱同調がある。いずれの場合でも、深部体温リズムの周期は平均24.9時間であった。生体リズムの内的脱同調と部分同調から、Wever のモデルを参考にして、著者らは深部体温リズムを駆動する振動体と睡眠覚醒リズムを駆動する振動体は異なるとの仮説 (2振動体仮説) を提唱した<sup>18</sup>。内的脱同調が生じて2つの振動体は完全に独立しているのではなく、相互に影響してリズム周期やその形を変えている。内的脱同調が生じると、深部体温リズムも睡眠覚醒リズムも内因性周期が「周期的」に変わる。

Czeisler らは、フリーラン法で測定した内因性周期が相対的に長くなる理由として、覚醒期間中の照明の作用をあげている。後で詳述するが、一般的に光位相反応曲線は主観的夕方 (脚注1) に位相後退部分、主観的朝方 (脚注1) に位相前進部分がある。ヒトでは、睡眠中は網膜を介する光の強さが数千分の1にまで下がるので、光位相反応は生じない。フリーランでは、体温リズムの位相が睡眠覚醒リズムの位相よりも相対的に前進し、それまで睡眠の後半にあった体温最低値が睡眠の前半に移動する。その結果、位相反応曲線における位相後退部が覚醒期に暴露され、逆に位相前

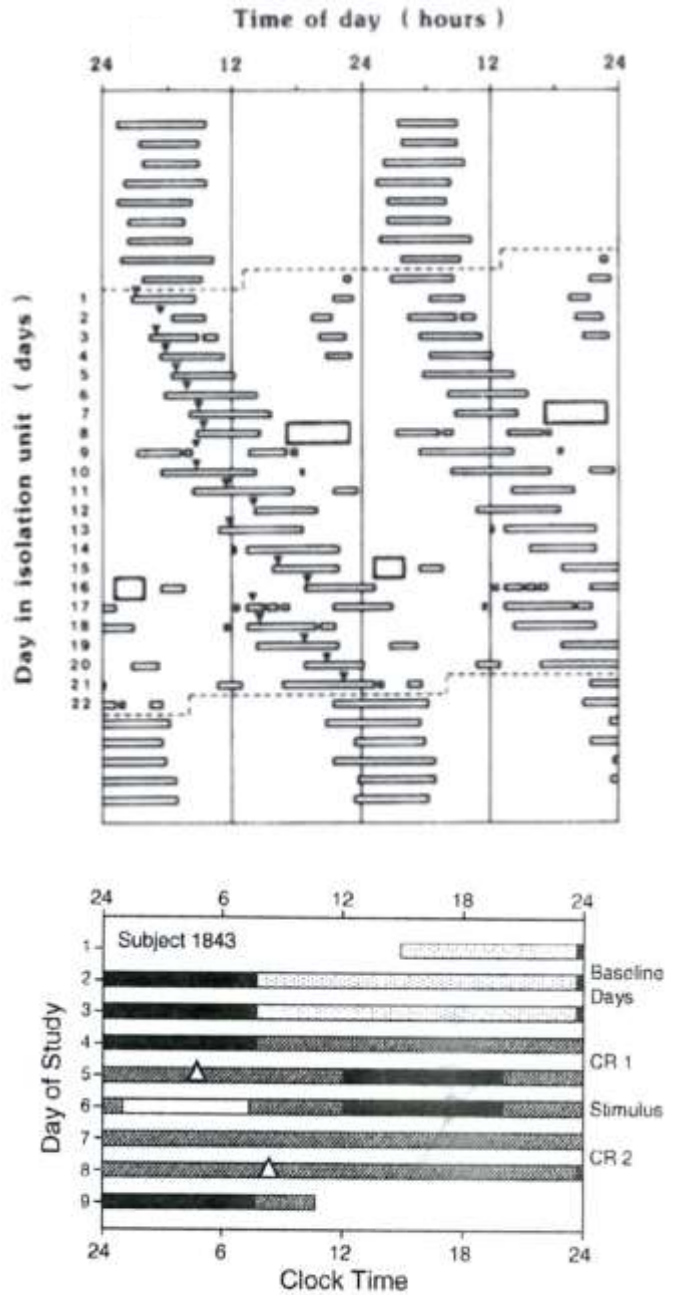


図2 光位相反応の測定  
フリーラン法 (上) と脱同調法 (下) による光位相反応の測定。フリーラン法では、白横バーがフリーランリズムの睡眠相、▼が深部体温リズムの最低値位相を示す。図中の口枠は高照度光照射時間帯 (1回目6時間、2回目3時間) を示す。図はダブル・プロットされている。脱同調法では、通常の睡眠時間帯 (黒枠) に睡眠を3夜取らせた後、36時のコンスタント・ルーチン (斜線枠) を行い、引き続き睡眠時間を12時~20時に移動させ、1時~7時まで1万ルクスの光を照射する。コンスタント・ルーチンで、生体リズムの位相 (△) を測定する。コンスタント・ルーチン及び光照射しない時間帯の照度は15ルクス以下である。文献1と22より引用。

1. 主観的夕方 (subjective evening) 及び主観的朝方 (subjective morning) は体内時計上の昼夜表示であり、地方の昼夜とは異なる。体内時計の昼夜は深部体温リズムやメラトニンリズムの位相を基準としており、メラトニンリズムの上昇期や深部体温リズムの下降期の大部分が主観的夕方、前者の下降期や後者の上昇期の大部分が主観的朝方となる。つまり、睡眠覚醒リズムからみた夕方や朝方とは必ずしも一致しない。

進部が睡眠相に覆い隠される(脚注2)。つまり、覚醒中に暴露される光により位相後退反応が相対的に強く生じるため、これが本来の周期に付加されてフリーラン周期が長くなると説明する。体温リズムの最低値位相の移動に伴って位相反応曲線が移動することは証明されていないが、起こりうることである。ちなみに、体温リズムの最低値位相の移動は睡眠覚醒リズムとの内的脱同調の初期段階で現われ、そのまま脱同調に進む例が知られている<sup>4</sup>。

## 2) 光位相反応

Aschoffによれば光位相反応の測定法には6つほどある<sup>19</sup>。通常は、恒常暗の条件下でフリーランしている概日リズムの特定位相に、数分から数時間の光パルスを与え、その後のフリーランリズムに現れる位相変化から作成している(図2上、フリーラン法)<sup>20</sup>。この方法はヒトでも使われたが、ヒトの場合は数千ルクス以上の高照度光を天井から照射し、また1回の光パルスの長さは数時間である<sup>21,22</sup>。ヒトの実験で、比較的長い高照度光パルスが用いられたのは、ヒト体内時計の光感受性が他の動物に比べ低いと考えられたからである<sup>4</sup>。フリーラン法では、睡眠中の被験者が目を覚ますか否かで光パルスの効果が変わり、また

天井からの照射では網膜に入る光の量を正確に調節することが難しい。一方、Czeislerらは位相反応をフリーラン法ではなく、被験者の睡眠時間を強制的に8時間以上シフトさせ、睡眠相に隠れていた光感受性の高い位相に高照度光を当てている。これを便宜的に脱同調法と呼ぶ(図2下)。最初、彼らは連続して3夜被験者の睡眠相をシフトさせて光を照射し、タイプ0の位相反応曲線を報告したが<sup>23</sup>、この方法が批判されたため(脚注3)、後に1回の光照射法に変えた<sup>24</sup>。そこで得られた位相反応曲線はフリーラン法で得られた反応曲線と類似しているが細部で異なっている。フリーラン法で得られた位相反応曲線は変曲点(crossover point)を境に左右対称ではなく、位相前進部が後退部に比べ比較的大きく、また位相反応が生じないいわゆるdead zoneがあるのに対し<sup>21,22</sup>、脱同調法で得られた位相反応曲線は前進部と後退部がほぼ対称的で、dead zoneがない<sup>24</sup>。2つの光位相反応曲線を図3に示す。議論のポイントは、脱同調法では位相反応を測定するため通常の睡眠相を数日間8時間ほど移動させているが、これは人為的な脱同調状態である。対照群として、光照射のない実験を用いているが、脱同調と位相反応の相乗効果は検討していない。理論的には、内的に脱同調している振動系の位相反応は大き

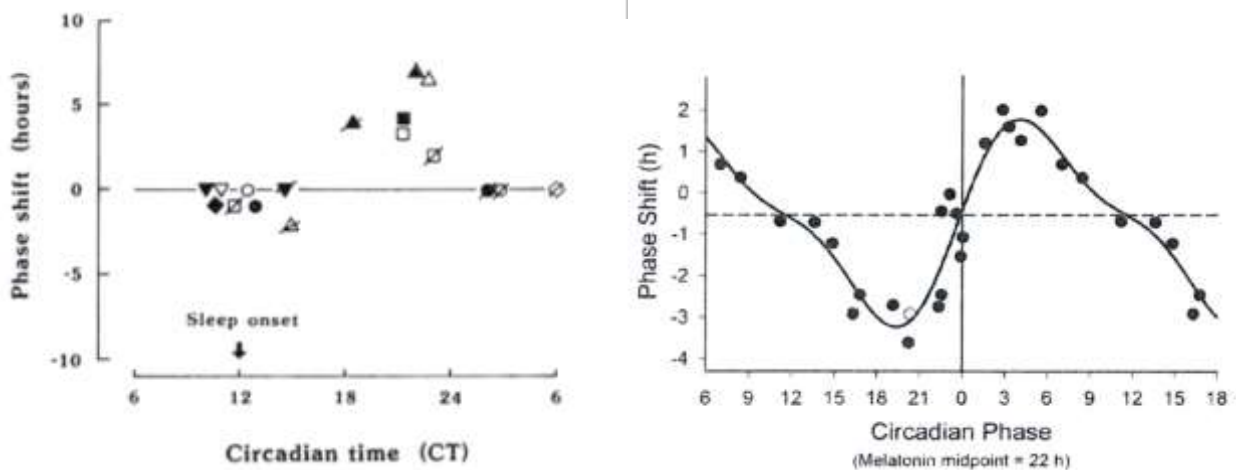


図3 光位相反応曲線

フリーラン法(左)と脱同調法(右)で得られた位相反応曲線。フリーラン法では深部体温リズム、脱同調法では血中メラトニンリズムを指標としている。フリーラン法の位相反応曲線の中で、異なるマークは異なる被験者からの反応で、白塗り印は3時間パルス、黒塗り印は6時間パルスを示す。文献2と22より引用。

2. 光位相反応曲線は体内時計の性質であることから、体内時計の位相を反映するメラトニンリズムや深部体温リズムの位相を基準としており、睡眠覚醒リズムの位相とは本来無関係である。したがって、内的脱同調などで深部体温リズムの位相と睡眠覚醒リズムの位相が乖離するときは、光位相反応曲線は深部体温リズムやメラトニンリズムの位相に対応する。その場合、睡眠は位相反応曲線のある部分を覆い隠し、覚醒はそのある部分を露出させる。つまり、体内時計の光反応性は睡眠覚醒リズムによって修飾される。

3. 体内時計の光位相反応は瞬時に起こると考えられるので、1度目の光パルスにより体内時計の位相はすでに変位しており、2回目の光パルスが1回目と同じ地方時刻に与えられても、実際に体内時計のどの位相に当たったか判らない。3回目もしかりである。つまり、3連続光パルスの位相反応は体内時計の異なる位相に1回ずつ光を当てた時の反応の総和と考えられ、したがって作成された位相反応曲線に生物学的意味はない。

い<sup>25</sup>。また、光照射前後の位相判定にコンスタント・ルーチンを用いているが、コンスタント・ルーチンにより既に位相が後退しており、またこの方法が光位相反応に与える影響は不明である。なお、彼らの実験では150~300ルクスの照明でも位相反応が生じるが<sup>26</sup>、睡眠位相を変化させない方法では夜間メラトニン分泌を抑制する500ルクスの光でも有意な位相反応は生じない<sup>10</sup>。

内因性周期に戻ろう。フリーラン法で周期が長くなるのは、300ルクス程度の低照度光でも位相後退反応が起きて、フリーラン周期が延長したと解釈されたが、覚醒中の照明による付加的効果のない視覚障害者や完全暗黒下での内因性周期が24.5時間と、脱同調プロトコールで得られた周期よりも長いことはこの仮説では説明はつかない。また自発的な内的脱同調では、長周期脱同調でも短周期脱同調でも深部体温リズムの周期は24.9時間に収束している。この自発的な脱同調と強制的な脱同調（脱同調プロトコール）から得られた周期の相違は、部分同調にあると思われる。つまり、強制的脱同調プロトコールでは睡眠覚醒リズムを非生理的な生活スケジュール（非光同調因子）に同調させているため、振動体間の自発的な相互作用に影響を与えている可能性がある。

## （2）生体リズムの内因性要素と外因性要素

### 1）コンスタント・ルーチン

コンスタント・ルーチンは、周期的な環境因子のマスクング作用を除く目的で、測定期間中（24から36時間）被験者を安楽椅子に座らせ、姿勢を一定に維持させるとともに、排便排尿以外の動作を禁止しするだけでなく睡眠を取らせない。また、1日3回の食事の代わりに、24~36時間通して30分ごとに同一カロリーの食事（総量は通常の1日量）を取らせる。もちろん、室温、湿度、照明、背景雑音は一定に維持する。ここでは、睡眠や活動、消化吸收も体温リズムのマスクング因子であり、「真」の深部体温リズムの形を歪めているとの前提がある。短時間の睡眠、覚醒、運動などはその通りで、マスクング因子として作用する。しかし、24時間以上一定の姿勢、覚醒の強要、30分ごとの食事はそれ自体がマスクング因子として働く可能性がある。

生体リズムを表出する要素には、概日振動体に起因する内因性要素と周期的な環境因子のマスクング作用による外因性要素がある<sup>13</sup>。深部体温リズムは同調条件下では日中（覚醒中）に高く、夜（睡眠中）に低い。このリズムは、後に述べる内的脱同調からも判る

ように、睡眠・覚醒（休息・活動）リズムの結果ではなく、交感神経系と副交感神経の概日リズムによっている。温熱生理学によれば、深部体温は熱産生と熱放散のバランスで決まっており、中性温度域における体温調節は主として四肢末梢血管の開閉によって行われる。室温一定、安静状態のとき、日中は末梢血管が収縮して熱放散が抑制され、その結果深部体温が上昇する。一方、夜は末梢血管が拡張して熱放散が促進し、その結果深部体温が低下する。熱産生も日中に上昇し夜間に低下するが、その程度は熱放散に比べ小さい。Aschoffらの計算によると<sup>27</sup>、深部体温リズムの振幅における熱放散リズムの貢献は約70%、熱産生リズムの貢献は約30%である。室温を上昇させた条件では、深部体温リズムの振幅が小さくなり、ついには平坦になる。これは夜間の熱放散が十分に行われないので、睡眠中の体温が上昇するからである。また、逆に室温を低下させた条件では、特定の室温までは振幅が増大するが、室温を下げ過ぎるとむしろ振幅が小さくなる。これは寒さのため末梢血管が収縮し、熱放散が妨げられるからである。また、運動や食事は一時的に体温を変化させるが、その効果は時間帯によって異なる<sup>28</sup>。

睡眠と深部体温の低下はほぼ平行して見られる現象である。しかし、同じ4時間の睡眠でも、一日のどの時間帯で睡眠を取るかで深部体温に与える効果が異なる<sup>14</sup>。もともと末梢血管が収縮している昼の睡眠では、深部体温はそれほど低下しない。このことから、夜間睡眠中の深部体温の低下は、睡眠のマスクング効果だけでないことが理解される。逆にコンスタント・ルーチンによる睡眠期の強制覚醒は末梢血管を収縮させてマスクング効果を与えているとも言える。食事摂取も同様で、胃腸管運動や消化吸收機能にも概日リズムがあり<sup>29</sup>、同一量の糖分でも摂取する時刻により血中インスリンの分泌量が異なる<sup>30</sup>。30分ごとに食事をとらせると、むしろこれらのリズムを崩してしまう可能性がある。24時間経腸栄養を続けると血中のコルチゾールリズムが消失する<sup>31</sup>。つまり生体反応性にも概日リズムがあり、コンスタント・ルーチンはこの概日リズムを考慮しておらず、概日リズムに駆動された生体リズム（内因性要素）に一定のバイアスをかけている可能性が高い。

### 2）強制的脱同調プロトコール

強制的脱同調プロトコールは、深部体温や血中メラトニンに対する睡眠や覚醒のマスクング効果、光の作用を平準化する目的で考案された。覚醒期間の照度は



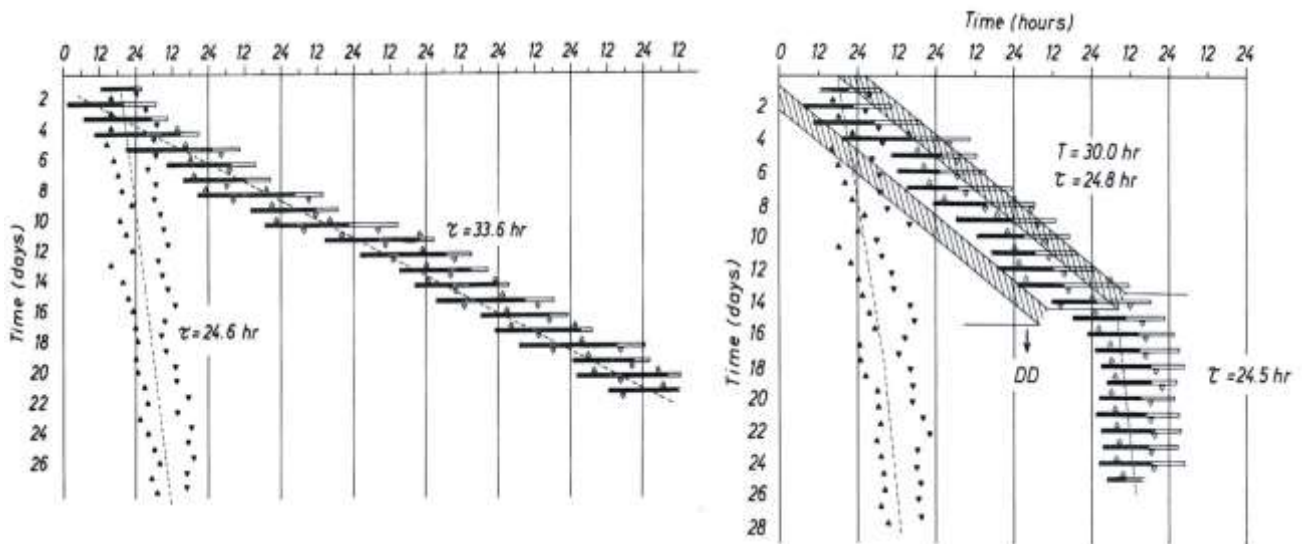


図4 深部体温リズムのスキヤロップ

フリーラン実験で、自発的内的脱同調（左）と強い同調因子による部分同調（partial entrainment）（右）で見られた深部体温リズムのスキヤロップ。深部体温リズムの最高位相（▲）と最低位相（▼）が突然位相前進した後、徐々に位相後退し、また突然位相前進している。同調因子が除かれ脱同調が消失すると、スキヤロップも明瞭でなくなる。文献4より引用。

15 ルックス以下である。その結果、従来のフリーラン法よりも短い周期(24.1~24.2 時間)が算出された。Czeisler は、フリーラン実験で長い周期が得られるのは被験者が照明のタイミングを調整（自己調節）できると、覚醒時の照度（約 300 ルックス）が位相反応を促進した結果としている<sup>32</sup>。確かに、フリーラン実験で照明の自己調節が可能な場合とそうでない場合（連続照明）では、周期は自己調節で有意に長い（ $25.24 \pm 0.41$  h vs.  $24.91 \pm 0.76$  h）<sup>4</sup>。ただし、その機序は不明である。Wever らの実験では、視覚障害者（ $24.50 \pm 0.50$  h）や完全暗黒下での周期（ $24.48 \pm 0.08$  h）と連続照明下の周期（ $24.91 \pm 0.76$  h）には有意差があるが、連続照明の 5 ルックスから 1,000 ルックス間の照度変化で、周期に有意な違いはなかった<sup>4</sup>。完全暗黒下と低照度下での内因性周期が非連続的に変化している理由は不明である。興味深いのは、Czeisler の共同研究者である E. Klerman らが非光同調因子を示唆した論文<sup>33</sup>で、社会生活を送る 15 名の視覚障害者の深部体温リズムを測定し、9 名は 24 時間と区別できなかったが、6 名は 24 時間より長い周期でフリーランしたと報告している。6 名のフリーラン周期は  $24.30 \pm 0.15$  時間であった。24 時間に同調した被験者は非光同調因子の作用を受けていたと想定されるが、当然ながらフリーランしていた被験者にも非同調因子の作用があったと考えられ、真の内因性周期は 24.3 h より長かった可能性が高い。

2つの異なる方法で得られた内因性周期の相違は照度にあるのではなく、光に対する位相反応性の形にあると思われる。フリーラン法で作成した位相反応曲

線は回帰点に対し、必ずしも左右対称ではなく位相前進反応が大きい。もしこの位相反応曲線が正しいとすると、内外環境が平準化された強制的脱同調プロトコールでは光がすべての反応位相に当たるので、位相前進反応が位相後退反応よりも大きく表れ、その差がたとえわずかでも繰り返されると周期は短縮する。脱同調法で作成した彼らの位相反応曲線はほぼ左右対称であるが、その問題点についてはすでに述べた。ヒト体内時計の位相反応曲線が左右対称であるか否かは、内的脱同調下で示される深部体温リズムのスキヤロップを解析することでも推測できる<sup>19</sup>。スキヤロップとはホタテ貝の殻に見られる波形のへのことで、体温リズムや睡眠覚醒リズムが数日の間隔で数時間前進、あるいは後退することをいう。図4は、フリーラン実験<sup>4</sup>で得られた深部体温リズムのスキヤロップであるが、この2例ではいずれも大きな位相前進に続いてよりゆっくりとした速度の位相後退が起きている。また睡眠覚醒リズムの相対的協調により、24 時間を超える覚醒期には体内時計の全光反応部分が露出されるが、その場合も深部体温リズムには位相前進が起きている。原データが入手できないで統計的解析が困難だが、この深部体温リズムの動きから、ヒトの位相反応曲線は位相前進部分が大きい左右非対称型である可能性が高い。

体温リズムのスキヤロップと似た現象は睡眠覚醒リズムにも認められる。典型的なのは内的脱同調下の相対的協調と呼ばれる現象で<sup>34</sup>、1 サイクルごとに睡眠や覚醒の長さが変化する。特に脱同調の程度が大きくなると、覚醒時間が延長する（図5）。睡眠や覚醒

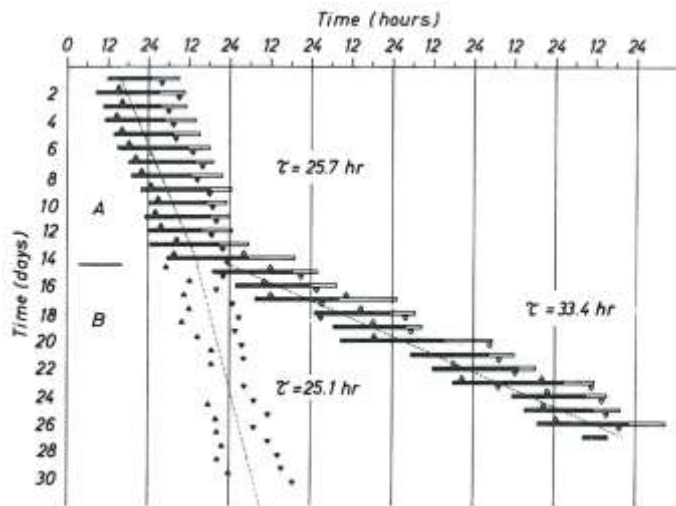


図5 睡眠覚醒リズムの相対的協調  
フリーラン実験で見られた自発的内的脱同調時の睡眠覚醒リズム（黒と白の横バー）の相対的協調。脱同調が生じてから、睡眠や覚醒の長さがサイクルごとに変化し、約3日周期で繰り返している。深部体温リズムの最高値位相（▲）と最低値位相（▼）もそれに対応して位相を変えている。文献4より引用。

の長さは、体温リズムを駆動する概日振動体と睡眠覚醒リズムを駆動する振動体の位相関係によって決まり、振動体間の相互作用と考えられる<sup>35,36</sup>。強制的脱同調プロトコルでは睡眠覚醒が許される時間の長さは一定なのでこの現象は見えにくい、自発的な内的脱同調や部分同調ではよくみられる。これについて

は、内的脱同調のところで詳しく述べる。

以上の考察から、強制的脱同調プロトコルで測定した体温リズムやメラトニンリズムの周期が概日振動体の真の周期を反映しているかどうかは不明であり、光位相反応や振動体間の相互作用のバイアスが関わっている可能性が高い。

#### 参考文献

- Honma, K. *et al.* Entrainment of human circadian rhythms by artificial bright light cycles. *Experientia* **43**, 572-574 (1987).
- Honma, K. & Honma, S. Human phase-response curve for bright light pulses. *Jpn. J. Psychiat. Neurol.* **42**, 167-168 (1988).
- Daan, S. *et al.* Timing of human sleep: recovery process gated by circadian pacemaker. *Am. J. Physiol.* **246**, R161-R178 (1984).
- Wever, R.A. The circadian system of man. Results of experiments under temporal isolation. Springer Science & Business Media (1979).
- Borbely, A. *et al.* The two-process model of sleep regulation: a reappraisal. *J. Sleep Res.* **25**, 131-143 (2016).
- Natsubori, A. *et al.* 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).
- Hashimoto, S. *et al.* Non-photoc entrainment of human rest-activity cycle independent of circadian pacemaker. *Sleep and Biological Rhythms* **2**, 29-36 (2004).
- Aschoff, J. & Wever, R.A. Spontanperiodik des menschenby ausschluss aller zeitgeber. *Naturwissenschaften* **15**, 337-342 (1962).
- Pittendrigh, C. & Daan, S. A functional analysis of circadian pacemaker in nocturnal rodents. IV. Entrainment: pacemaker as a clock. *J. Comp. Physiol.* **106**, 291-331 (1976).
- Hashimoto, S. *et al.* Melatonin rhythm is not shifted by lights that suppress nocturnal melatonin in humans under entrainment. *Am. J. Physiol.* **270** (Regulatory Integrative Comp Physiol. 39), R1073-R1077 (1996).
- Wever, R.A. Properties of human sleep-wake cycles: parameters of internally synchronized free-running rhythms. *Sleep* **7**, 27-51 (1984).
- Klerman, E.B. *et al.* Simulations of light effects on the human circadian pacemaker: implications for assessment of intrinsic period. *Am. J. Physiol.* **270** (Regulatory Integrative Comp Physiol. 39), R271-R282 (1996).
- Aschoff, J. Exogenous and endogenous components in circadian rhythms. *Cold Spring Harbor Symposium. Quant. Biol.* **25**, 11-26 (1960).

14. Mills J.N., Minors D.S., & Waterhouse J.M. Adaptation to abrupt time shifts of the oscillator(s) controlling human circadian rhythms. *J. Physiol.*, **285**, 455–470 (1978).
15. Czeisler, C.A. *et al.* Stability, precision, and near-24-hour period of the human circadian pacemaker. *Science* **384**, 2177-2181 (1999).
16. Gronfier, C. *et al.* Entrainment of the human circadian pacemaker to longer-than-24-h days. *Proc Nat Acad Sci. USA* **104**, 9081-9086 (2007).
17. Aschoff, J. Circadian rhythms in man – A self-sustained oscillator with an inherent frequency underlies 24-hour periodicity. *Science* **148**, 1427-1432 (1965).
18. Honma, K. *et al.* Internal desynchronization of the human circadian system In: *Circadian Clocks and Entrainment* (eds Honma, K. & Honma, S.) Hokakido University Press, Sapporo, 101-113 (1998).
19. Aschoff, J. Response curves in circadian periodicity. In: *Circadian Clocks* (ed Aschoff, J.) North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 95-111 (1965).
20. Honma, K., Honma, S. & Wada, T. Phase-dependent shift of free-running human circadian rhythms in response to a single bright light pulse. *Experientia* **43**, 1205-1207 (1987).
21. Honma, K. & Honma, S. Human phase-response curve for bright light pulses. *Jpn. J. Psychiat. Neurol.* **42**, 167-168 (1988).
22. Minor, D.S. *et al.* A human phase-response curve to light. *Neurosci Lett* **133**, 36-40 (1991).
23. Czeisler, C.A. *et al.* Bright light induction of strong (Type 0) resetting of the human circadian pacemaker. *Science* **244**, 1328-1333 (1989).
24. Khalsa, S.B. *et al.* A phase response curve to single bright light pulses in human subjects. *J. Physiol.* **15**, 945-52 (2003).
25. Oda, G.A., Menaker, M. & Friesen, O. Modeling the dual pacemaker system of tau mutant hamster. *J. Biol. Rhythm.* **25**, 246-264 (2000).
26. Zeitzer, J.M. *et al.* Sensitivity of the human circadian pacemaker to nocturnal light: melatonin phase resetting and suppression. *J. Physiol.* **526**, 695-702 (2000).
27. Aschoff, J. & Heise, A. Thermal conductance in man: its dependency on time of day and on ambient temperature. In: *Advance in Climatic Physiology* (eds Itoh, S., Ogata, K., Yoshimura, H.) Springer Verlag, New York, 334-348 (1972).
28. Miyazaki, T. *et al.* Phase-advance shifts of human circadian pacemaker are accelerated by daytime physical exercise. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* **281**, R197-R205 (2001).
29. More, J.G. Chronobiology of the gastrointestinal system. In: *Biological Rhythms in Clinic and Laboratory Medicine* (eds Touitou, Y. & Haus, E.) Springer-Verlag, Berlin, 410-417 (1992).
30. Jarrett, R.J. Rhythms in insulin and glucose. In: *Endocrine Rhythms* (ed Krieger, D.T.) Raven Press, 247-258 (1979).
31. Kato, H. *et al.* Effects of cyclic and continuous total enteral nutrition on circadian cortisol rhythm. *J. Clin. Biochem. Nutr.* **2**, 83-89 (1987).
32. Czeisler, C., Buxton, O.M. & Khalsa, S.B.S. The human circadian timing system and sleep-wake regulation. In: *Principles and Practice of Sleep Medicine* (eds Kryger, M.H., Roth, T., & Dement, W.C.) Elsevier Saunders, 375-394, (2005).
33. Klerman, E.B. *et al.* Nonphotic entrainment of the human circadian pacemaker. *Am. J. Physiol.* **274**, R991-R996 (1998).
34. Aschoff, J. Freerunning and entrained circadian rhythms. In: *Handbook of Behavioral Neurobiology Vol.4. Biological Rhythms* (ed Aschoff, J.) Plenum Press, New York and London, 81-93 (1981).
35. Czeisler, C. *et al.* Human sleep: its duration and organization depend on its circadian phase. *Science* **210**, 1264-1267 (1980).
36. Zulley, J., Wever, R. & Aschoff, J. The dependency of onset and duration of sleep on the circadian rhythm of rectal temperature. *Pflugers Arch.* **391**, 314-318 (1981).

# 哺乳類 *Period* の真の機能とは何か

明石 真<sup>✉</sup>

山口大学 時間学研究所 時間生物学研究室

2017年10月、最初の時計遺伝子としてショウジョウバエの *Period* (*Per*) をクローニングした米国の3名の研究者へノーベル賞が贈られたことは記憶に新しい。この研究成果から十数年を経て、1997年によろしく、ショウジョウバエ *Per* のホモログが哺乳類でクローニングされた。その後、そのコードするタンパク質である *Period* (*PER*) の機能解析が急速に進められ、1999年には、その機能は *BMAL1-CLOCK* 転写因子複合体の抑制であると早くも結論づけられ、現在もこれが *PER* の機能だと広く受け入れられている。しかしながら、従来モデルにおいて示される *PER* の機能では説明できない多くの矛盾が存在している。したがって、クローニングされてから20年以上経過した今でも *PER* の真の機能は不明だと言わざるを得ないが、最近になって新たな機能的側面が分子レベルでわかってきた。すなわち、哺乳類の *PER* は *CRY* による転写抑制において緩衝因子として働く側面を持つということが明らかになってきたのである。本稿では、この機能的側面について私たちの研究成果を交えて概説するとともに、この機能の意義についても考察したい。

## 1. はじめに

1971年、ショウジョウバエにおいて概日リズムの突然変異体が単離され、概日時計が遺伝子による制御を受けていることが示唆された<sup>1</sup>。それから13年後の1984年にはその原因遺伝子 *Per* が同定され、いよいよ概日時計の分子生物学が花開くこととなった<sup>2,3</sup>。多くの場合、ショウジョウバエの遺伝子がクローニングされれば、速やかに哺乳類のオルソログが発見されることが多い。すなわち、種間で保存された生理機能を司る遺伝子ならば、遺伝子構造の保存性が高い場合が多いため、例えば、核酸のハイブリダイゼーションのような物理的相互作用の性質を利用して単離できる。概日時計は種に関わらずほとんどの生物が共通にもつ普遍的生理機能であることから、当時の研究者はほどなくして哺乳類の *Per* が単離されると心待ちにしたのではないだろうか。

ところが、哺乳類の最初の *Per* が同定されるまで、さらに13年後の1997年まで待つこととなったのである<sup>4</sup>。意外なことに、ショウジョウバエの *dPer* と哺乳類の *Per1* の構造的類似性は低かった。最もアミノ酸配列の類似性が高かった *PAS* ドメインにおいても、哺乳類の *PER1* (本稿ではタンパク質を大文字で、核酸は小文字斜体で示すことで区別する) と *dPER* の配列は41%しか一致しなかったのである。核酸レベルにおける両者の一致率はずっと低いと想定される。

これに対し、例えば、*MAP* キナーゼ (*ERK*) のアミノ酸配列を哺乳類とショウジョウバエで比較した場合、全長にわたるアミノ酸の同一性が80%にも及ぶことから考えて、*PER* の低い同一性は想定外ではないだろうか。このように、配列の類似性が低かったために、従来のクローニング方法では哺乳類の *Per* の単離は成功しなかったが、東京大学のグループが開発した *PCR* 法によってようやく同定に至った。簡単に説明すると、*dPER* の *PAS* ドメインに対応するヒトゲノム中の塩基配列を *Degenerate* プライマーによって増幅することで *Per* に相当する *DNA* 断片を得る方法である。

## 2. 従来モデルにおける *PER* の機能

*Per1* 遺伝子がクローニングされるとすぐに、これがコードする時計タンパク質である *PER1* の機能解析がスタートした。既にショウジョウバエの研究において、*dPER* の過剰発現が内在性の *dPer* の発現を抑制することが示唆されており、遺伝子産物が自己の転写を抑制するという「ネガティブフィードバックループ」こそが概日時計の分子メカニズムであると考えられていた<sup>5</sup>。したがって、哺乳類の *PER1* についても、同様な機能が期待されるのは当然の流れであろう。まず、時計転写因子である *BMAL1* と *CLOCK* のヘテロダイマーが認識するエンハンサー配列である *E-*

✉ akashima@yamaguchi-u.ac.jp

box が、*Per1* の転写開始点上流において種間で保存されて存在していることが判明した<sup>6</sup>。さらに、BMAL1 と CLOCK の過剰発現によって E-box を介した *Per1* の転写活性化が確認された。あとは、PER1 が、dPER と同様に、*Per1* の転写を抑制することが示されれば、哺乳類の概日時計においてもネガティブフィードバックモデルが証明される。

しかしながら、実際にレポーターアッセイを試みた研究者は数多くいると思うが、PER1 を過剰に発現させても *Per1* の転写抑制が明確には検出できないのである。私たち自身の実験によると、発現ベクターの量を可能な限り増やして PER1 を細胞内に大量に発現させても、*Per1* の転写抑制は 50% にも至らなかった。これでは、PER1 が転写抑制因子と結論づけるのは難しいのではないか。それにも関わらず、少なくとも部分的には転写を抑制する機能が示されていることから、PER (以下、PER の表記は PER1 に加え、後にクローニングされる PER2 および PER3 を含む) は BMAL1 と CLOCK に対する抑制因子であるとみなされるようになり、この考え方は今も広く受け入れられている。

### 3. 明らかとなった矛盾

しかし、その後の多くの報告で、PER が単なる転写抑制因子であるというモデルは徐々に疑わしいものになる。まず、PER に続いて CRY1 および CRY2 が BMAL1 と CLOCK の転写因子活性を抑制する因子であることが報告され、その抑制作用は PER とは比べものにならないほど強かった。例えば、先ほどのレポーターアッセイの例では、微量の CRY 発現ベクターを細胞に導入するだけで、BMAL1 と CLOCK による *Per1* の転写活性化は完全に抑制されることがわかった<sup>7</sup>。これでは転写抑制因子としての PER の存在意義が霞んでしまう。問題はこれだけではない。PER が転写抑制因子であれば、その機能欠損によって E-box を介した転写が活性化して *Per* の mRNA 量は上昇するはずであるが、実際には *Per2* の機能欠損マウスにおいて *Per1* や *Per2* の mRNA 量が顕著に減少することが示された<sup>8</sup>。CRY1 および CRY2 については、そのダブル機能欠損マウスにおいて *Per1* および *Per2* の mRNA 量が恒常的に高く維持されていることが確認されており、転写抑制因子であることは *in vivo* においても明確である<sup>9</sup>。さらに、一部の遺伝子プロモーターを用いたレポーターアッセイにおいて、PER の過剰発現はむしろ転写量を上昇させることが報告された<sup>10</sup>。

*Per1* の機能欠損マウスでは、後にクローニングされた *Per2* の機能欠損マウスと同様、概日リズムの機能不全が確認されている<sup>11,12</sup>。さらに *Per1* と *Per2* のダブル機能欠損マウスでは概日リズムはほとんど失われる結果となったことから、PER1 や PER2 が概日時計において必須の因子であることは間違いないはずである。しかし、上述の理由から、PER1 や PER2 が BMAL1 と CLOCK の抑制因子と結論付けることは困難ではないだろうか。

### 4. 転写抑制の緩衝因子としての PER

私たちは、PER1 や PER2 の過剰発現は *Per1* に対してはわずかな転写抑制効果を示すが、*Per2* に対してはむしろ転写を促進することに注目して研究を進めた<sup>13</sup>。この際、細胞に導入する PER1 や PER2 の発現ベクター量が少なくても転写活性化が起こり、比較的少量のベクターでこの活性化は上限に達したことから、なんらかの内因性の因子を介して間接的に転写を活性化していると考えた。つまり、過剰な外因性の PER1 や PER2 は内因性の CRY (以下、CRY の表記は CRY1 および CRY2 の両方を含むものとする) を抑制したと考えたのである。そこで、私たちは、CRY1 および CRY2 のダブル欠損マウスの胚性線維芽細胞を用いてレポーターアッセイを行い、PER2 による *Per2* の転写活性化が起こらなくなることを確認した (図 1)。

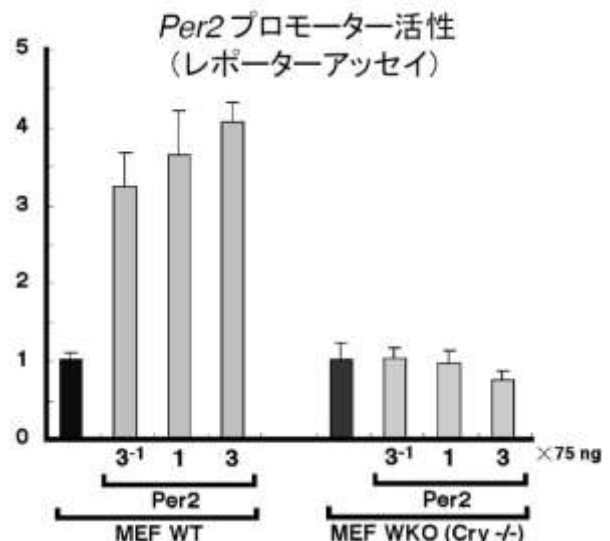


図 1 PER2 は CRY 依存的に *Per2* 発現を活性化する胚性線維芽細胞を用いたレポーターアッセイの結果を示す。野生型の細胞では PER2 の過剰発現は転写を活性化するのに対して (左側のグラフ)、*Cry* ノックアウトマウスの線維芽細胞、すなわち内因性の CRY の非存在下では PER2 による転写活性化が全く起こらない (右側のグラフ)。

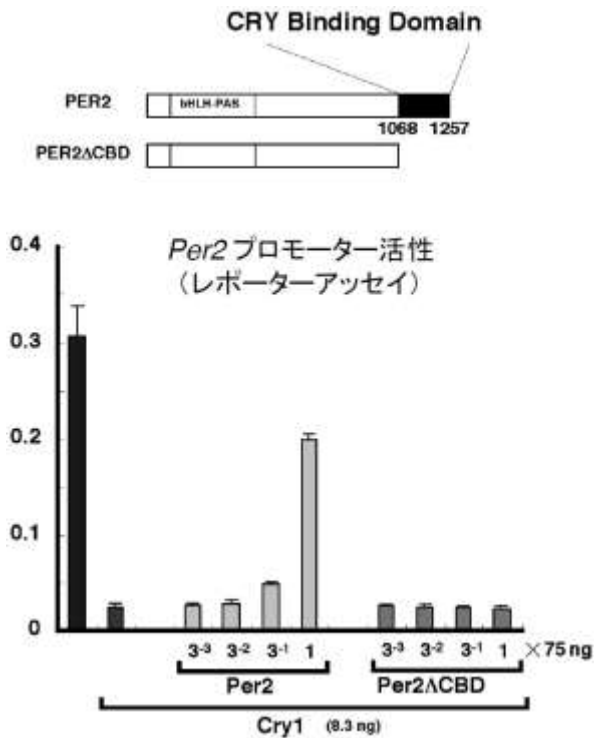


図2 PER2はCRYとの直接結合によってCRYを抑制している

(上) CRY結合ドメインを欠失したPER2の模式図を示す。  
 (下) NIH3T3細胞を用いたレポーターアッセイの結果を示す。CRYの過剰発現による転写抑制はPER2の発現によって緩衝されるのに対して(薄いグレーのグラフ)、CRY結合ドメインを欠いたPER2ではこれが全く起こらない(濃いグレーのグラフ)。

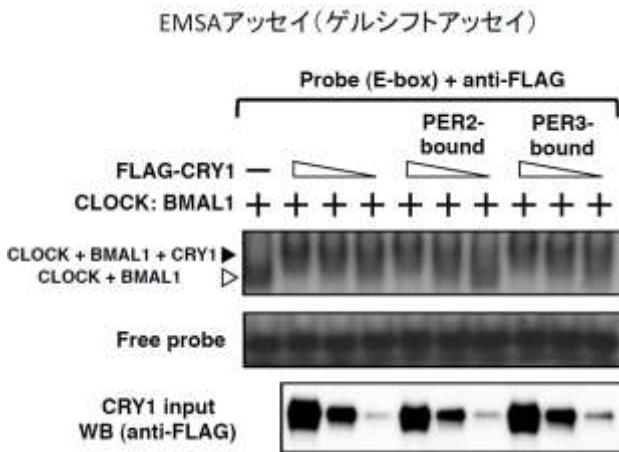


図3 PERと結合したCRYはBMAL1-CLOCK-E-box複合体に結合できない

精製タンパク質を用いたEMSAアッセイの結果を示している。(レーン2から4)CRYの同複合体への結合が、FLAG抗体によるスーパーシフトで確認できる。(レーン5から7)あらかじめPER2と結合させたCRYでは、複合体への結合が低下している。(レーン8から10)PER3と結合させたCRYでは、この結合低下は起こらない。

次に、NIH3T3細胞(マウス胚性線維芽細胞)によって以下の実験を行った。まず、既知の通りCRYの過剰発現でPer2の転写は強力に抑制されるが、PER2をCRYと同時に過剰発現するとCRYが安定化することにもかかわらず、CRYによる転写抑制が緩和されることがわかった(図2)。PER2によってCRYの細胞内局在が変化したために転写抑制が低下した可能性も考えられたが、この緩衝効果はPER2の核内外局在に依存しないことを、核内外移行シグナル配列を利用した実験で確認している。さらに、CRYとの結合領域(PER2のC末端の約200アミノ酸)を欠失するとPER2はCRYを抑制できなくなり、逆に、このPER2のC末端のみを発現させると全長のPER2よりも強力にCRYを抑制できることもわかった。このことは、全長のPER2においてはC末端が立体的にマスクされており、翻訳後修飾等によってC末端が露出すると、CRYへの抑制機能が上昇することを示唆している。ところで、内在性のCRYの核内移行はPER1やPER2とのダイマー形成に完全に依存することが示されていることから<sup>14</sup>、核内における両者の分子数は同等であると想定されるが、この量比を考慮した実験条件においてもPER2はCRYを抑制できることを確認した。

## 5. PERがCRYを抑制するメカニズム

PER1やPER2がCRYを抑制するメカニズムを完全に明らかにするのは難しい。なぜならば、CRYがBMAL1とCLOCKを抑制するメカニズムも未だ良くわからないからである。現時点では、BMAL1の転写活性化ドメインにコアクチベーターが結合するのをCRYが同じ部位へ排他的に結合することで阻害している、という報告が有力な証拠を示しているかもしれない<sup>15</sup>。私たちは、HEK293細胞(ヒト胎児腎細胞)で時計タンパク質を人工合成させ、これを精製してEMSA(タンパク質のDNAへの結合を電気泳動の移動度で検討するアッセイ)を行ってみたところ、CRY1はBMAL1-CLOCK複合体とともに3量体としてE-boxに結合することが示された(図3)。次に、CRY1とPER2を複合体として精製して実験に利用したところ、BMAL1-CLOCK複合体にCRY1が取り込まれにくくなることがわかった。また、C末端だけのPER2を用いた場合は、全長のPER2よりもずっと強力にCRY1のリクルートを抑制した。やはり全長のPER2ではC末端が立体的にマスクされているのかもしれない。これらのEMSAの実験結果から言えることは、PER2はCRY1がBMAL1-CLOCKに

アクセスするのを阻止することで、CRY1 による転写抑制を緩衝しているということである。

上記の結果を私たちは論文にまとめてあるジャーナルに投稿したのだが、査読者たちは私たちのデータに興味を示しながらも判断は慎重なものだった。残念ながら、一度完成したモデルに物申すには、相当なデータ量で証明しないと受け入れられないということであろう。ただ、私たちは、これらの現象が *in vitro* におけるアーティファクトではなく、PER の真の機能の側面を示唆していると感じていた。その根拠を以下に記す。

## 6. *in vivo* データとの整合性

PER2 の機能欠損マウスにおいて *Per1* や *Per2* の転写量が減少することが示されていることから、PER2 が転写に対して正に働くことは *in vivo* において既に示唆されていたと言える。私たちはさらに *in vivo* との相関を明らかにするために、PER3 に注目して実験を行った。PER3 は、PER1 や PER2 とは異なり、その機能欠損はマウスの概日時計振動に対して大きな影響を及ぼさないことが示されていた<sup>16</sup>。しかしながら、従来モデルで示されてきた転写の抑制因子としての機能においては、PER1 や PER2 と同様に PER3 も同等の弱い転写抑制活性を示すことがわかっており<sup>7</sup>、PER3 が他の PER と異なっていることを示す機能的理由は何も見つかっていなかった。私たちが *in vitro* で見つけた現象が真実ならば、PER3 において他の PER との違いが見出されるはずである。実際、私たちのデータは、興味深いことに、PER1 や PER2 で見られた CRY を抑制する機能は、PER3 では存在しないか微弱であることを明確に示した (図 4)。したがって、PER3 の機能欠損が及ぼす概日時計本体への影響が小さいのは、PER3 には CRY を抑制する機能がほとんど無いからである、と解釈できる。さらに、上記の EMSA アッセイで検出された、CRY と BMAL1-CLOCK の物理的相互作用の抑制においても、PER3 はほとんど作用を示さなかったのである (図 3)。

もうひとつ、*in vivo* との相関を示すデータが得られた。これまで、PER2 の部位欠損変異体である PER2<sup>brdm1</sup> がなぜ loss of function であるのか、分子メカニズムについては何もわかっていなかった<sup>8</sup>。PAS ドメインの一部を含む 87 アミノ残基が欠失していることから、BMAL1 や CLOCK との相互作用において異常があることが理由であると予想されたが、実験的な証明は何も為されていなかった。そこで、*Per1*

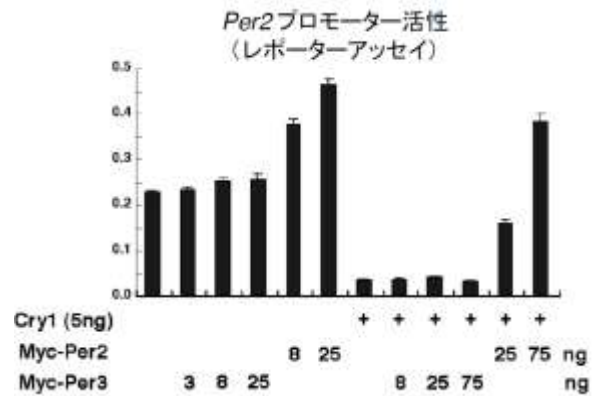


図 4 PER3 は CRY を抑制できない  
NIH3T3 細胞を用いたレポーターアッセイの結果を示す。(レーン 2 から 6) PER2 とは異なり、PER3 は Per2 プロモーターを活性化できない。(レーン 7 から 12) PER2 とは異なり、PER3 は CRY による転写抑制を緩衝できない。

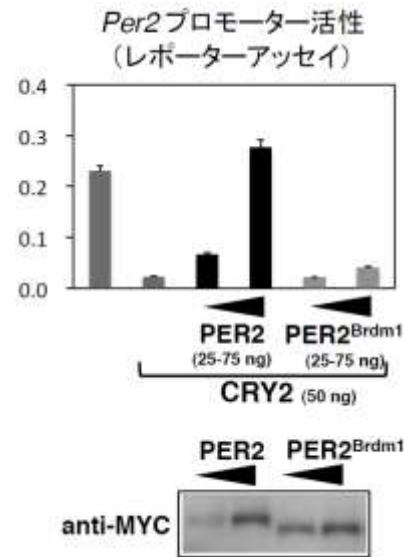


図 5 PER2<sup>Brdm1</sup> は CRY2 を抑制できない  
NIH3T3 細胞を用いたレポーターアッセイの結果を示す。野生型の PER2 が CRY2 による転写抑制を顕著に緩衝するのに対して、変異 PER2 (PER2<sup>Brdm1</sup>) はほとんど緩衝できない。

のプロモーターに対する転写抑制機能を比較したところ、PER2 の野生型も変異体も同様に微弱な転写抑制を示した。ところが、興味深いことに、私たちは、この PER2 変異体が CRY2 に対する阻害機能を顕著に失っていることを明らかにした (図 5)。このことは、PER2 による CRY2 の抑制機能が、*in vivo* の現象を良く裏付けていることを示唆している。しかし、なぜこの変異体 PER2 は CRY1 に対しては依然として抑制効果を示すのか、そして、なぜ PAS ドメイン近傍領域の欠失でこのような表現系が現れるのか、現状では説明ができない。

## 7. PER と CRY による CLOCK のリン酸化制御

PER1 や PER2 による CRY の機能抑制のメカニズムは、CRY が BMAL1-CLOCK と物理的に結合するのを阻害していることが理由であると説明してきた。これに加えて、私たちはその後の研究によって、BMAL1 の存在下で起こる CLOCK のリン酸化もこのメカニズムに関与することを示唆するデータを得た<sup>17</sup>。まず、私たちはこの CLOCK のリン酸化の役割を知るために、キナーゼ阻害剤ライブラリーを用いた CLOCK リン酸化阻害剤のスクリーニングを実施し、チロシンキナーゼ阻害剤である Erbstatin analog を見出した。この阻害剤を用いると、BMAL1 の共発現によって起こる CLOCK のリン酸化が部分的に抑制された。この阻害剤の特異性が低いためにキナーゼを特定することは断念したが、約 80 種類の阻害剤の中で唯一明確に CLOCK のリン酸化を抑制したことから、同リン酸化の意義を知るために有力なツールである。

予想通り、この阻害剤で NIH3T3 細胞を処理すると、E-box を介した遺伝子発現が抑制された。すなわち、BMAL1 との共存によって起こる CLOCK のリン酸化は、E-box を介した転写活性化に必要であることが示唆された。一方、この CLOCK のリン酸化は CRY の過剰発現によって顕著に抑制されることから、CRY による転写抑制のメカニズムは CLOCK のリン酸化の抑制にあることが示唆された。これを支持するように、フラビン結合に必須なアミノ酸に点変異を導入することで転写抑制活性を失った CRY では、CLOCK のリン酸化抑制は起こらなかった。興味深いことに、この CRY による CLOCK のリン酸化レベルの低下は、PER1 や PER2 の過剰発現によって保護できることがわかった (図 6)。そして、やはり PER3 はこの作用を示さなかった。このように、PER1 や PER2 による CRY の抑制には、CLOCK のリン酸化制御が関与しているかもしれない。しかしながら、いくつかの報告によると CLOCK のリン酸化サイトは多数存在することが示唆されており、その部位によって役割が全く異なる可能性がある。今後、CLOCK の活性化に関わるリン酸化サイトを突き詰めることで、この仮説の正しさを証明する必要があるだろう。

## 8. PER の新機能を支持する続報

私たちが PER1 や PER2 による転写抑制緩衝機能について発表した約 3 週間後、PER2 の CRY 結合ドメインと CRY1 の photolyase homology region (PHR) の複合体を結晶化して構造解析した報告が発表され

CLOCK のリン酸化解析 (ウエスタンブロット)

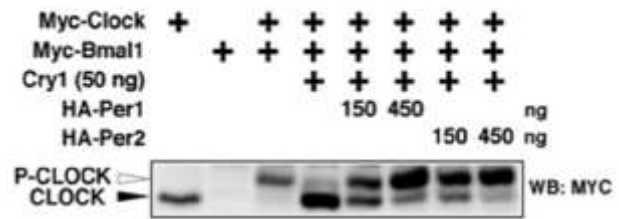


図 6 PER は CLOCK のリン酸化を保護する  
NIH3T3 細胞へ過剰発現させた時計タンパク質をウエスタンブロットにより解析した。(レーン 3) BMAL1 の共発現により CLOCK のリン酸化が起こる。(レーン 4) CRY を発現させると、このリン酸化は強力に抑制される。(レーン 5 から 8) PER1 または PER2 の発現によって、CLOCK のリン酸化は CRY から保護される。なお、PER3 ではこの保護作用は全く確認できない。

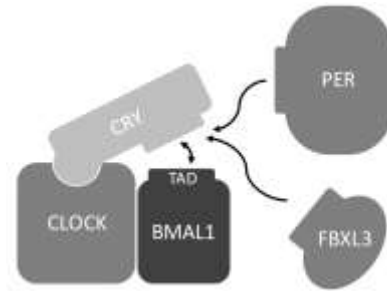


図 7 立体構造解析から明らかになった時計タンパク質複合体の状態

CRY と BMAL1 の結合面は、CRY と PER および CRY と FBXL3 の結合面とオーバーラップしており、3 者の結合は排他的関係にある。TAD とは BMAL1 と転写コアクチベーターの結合ドメインを意味する。CRY は TAD をマスクすることで転写を抑制すると考えられるが、PER が CRY に結合しているとこれが起きなくなる。また、CLOCK には CRY との結合ポケットが存在する。

た<sup>18</sup>。この論文の目玉は、PER2 と CRY1 の結合面には亜鉛結合部位が存在しており、亜鉛の存在量が *in vivo* における両者の結合強度に影響を与える点である。また、CRY1 の分解に関わるユビキチンリガーゼである FBXL3 とは排他的に PER2 は CRY1 と結合するという知見は、PER による CRY の安定化のメカニズムを明確に示しておりとても興味深い。さらに、これらに加えて明らかにされたことは、CRY と PER の結合面は、CRY と BMAL1 の結合面とオーバーラップしているという点である (図 7)。これはすなわち、PER が CRY に結合すると CRY は BMAL1 に結合できないことを示唆しており、私たちが示した PER1 や PER2 が持つ転写抑制の緩衝機能が構造面



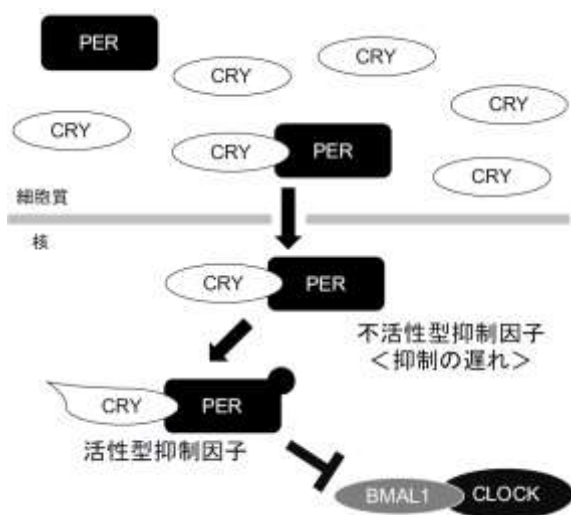


図8 PERの機能における新たな側面  
 内在性のCRYは単独では核内移行できない。PERがCRYと結合すると、CRYはFBXL3による分解から保護され、さらに核内へ移行する。しかし、PERによってCRYとBMAL1の結合面がマスクされているために、ただちに転写抑制は起きないと想定される。この転写抑制の「遅れ」は、概日リズムのような長周期振動を生み出すには不可欠であろう。PER-CRY複合体はリン酸化などの翻訳後修飾によって、BMAL1-CLOCKを抑制できるようになると考えられる。

から証明されたと言えるのではないだろうか。そして、これらの構造的特徴は、同じ年に報告された、PER2とCRY2における同様のタンパク質領域を使用した複合体の立体構造解析によっても明らかにされている<sup>19</sup>。実は、BMAL1とPERがCRYとの結合部位で競合することはずっと以前に生化学的に示唆されていたのだが<sup>20</sup>、上述の構造解析の研究成果によってこの関係性がさらに明確にされたと言える。

PER2がCRYによる転写抑制を緩衝することは、4-hydroxytamoxifen (4-OHT)によってPER2が核移行する細胞実験系を用いた研究でも報告されている<sup>21</sup>。この実験系においては、PER2-ER (PER2とエストロゲン受容体のリガンド結合部位との融合タンパク質)を発現する培養細胞に4-OHTを添加すると、PER2-ERが直ちに細胞質から核内へ移行する。E-boxを介して転写調節される遺伝子は、従来モデル通り、4-OHTを添加するとただちに転写抑制される。しかしながら、遺伝子の種類によっては、むしろ転写が促進することが示されたのである。そしてこの転写促進はCRYの存在に依存していることから、PER2はCRYによる転写抑制を緩衝することで転写を促進したと想定されるのである。上述の私たちのEMSAの実験では、PER2の存在下ではBMAL1とCLOCKの複合体にCRY1が結合できない結果となっており上述の立体構造の報告と整合性があるが、この報告に

おいてはPER1/2-CRY1/2-BMAL1-CLOCKの4量体として丸ごとE-boxから引き離されると主張されている。CRYはBMAL1との結合面のみならずCLOCKの結合ポケットにも結合することが結晶構造解析の報告で示唆されており<sup>22</sup>、PER1やPER2によって結合面がマスクされてCRYがBMAL1と結合できなくても、CRYとCLOCKとの結合によって4量体は維持されるのだと考えることができる。私たちのEMSA実験におけるバッファー環境や電気泳動条件では、CRY-CLOCK間の結合が外れたのかもしれない。それにしても、時計タンパク質群とE-boxの複合体形成状態については、全ての研究報告に対して整合性のあるモデルを考えるのが難しい。実験手法や材料によって様々な報告がある。例えば、PER1/2、CRY1/2、BMAL1およびCLOCKが複合体としてE-box上に存在することが、ChIPアッセイによって示唆されている<sup>23</sup>。

PER2が転写促進に働くことは、Per2のUTR解析の結果からも明確に示唆されている<sup>24</sup>。この報告によると、マウスPer2の3'UTR領域をノックインによって欠失させると、microRNAによる標的部位が失われることで翻訳が促進され、内在性のPER2タンパク質量が増加する結果となる。興味深いことに、PER2の機能欠損マウスにおいてPer2の転写量が減少するという過去の報告に矛盾せず、このマウスにおいてはPER2の増加によってPer2の転写が促進された。まさに、上述の私たちの実験結果がin vivoの条件下において再現されたのである。そして、おそらくはPER2の増加が起こしたCRYによる転写抑制の遅れによって、このマウスの行動リズムの周期長は延長を示した。

## 9. おわりに

以上のように、PERの機能において従来とは異なる側面がわかってきた。すなわち、転写抑制因子CRYの緩衝因子としての役割である。これにより、従来の転写抑制因子としての機能では矛盾していた現象が説明できるようになる。例えば、PER2の欠失によってPer1やPer2の転写量が減少するのは、CRYによる転写抑制に歯止めが利かなくなるためであろう。このPER1やPER2によるCRYの緩衝作用は、概日時計の振動を安定に保つために意味があると考えられる(図8)。すなわち、BMAL1とCLOCKによって発現した強力な転写抑制因子であるCRYが、即座にBMAL1とCLOCKによる転写を抑制してしまうと、長周期の遺伝子発現リズムを形成することが難しく

なるため、PER1 や PER2 による緩衝効果が重要な意味を持つと考えられる。

しかし、ここで大きな疑問が二つ残る。一つには、PER1/2-CRY1/2 転写抑制複合体は一時的に不活化した状態から活性化する必要があるのだが、このメカニズムが全く不明である。おそらく、CKIε や δ によるリン酸化など、PER1/2 や CRY1/2 の翻訳後修飾によって転写抑制複合体として活性化すると推察するが、現時点では私たちは明確な証拠を持っていない。もう一つ、PER1 や PER2 はどのようにして遺伝子特異的に役割を変えているのか、やはり現時点ではメカニズムが全く不明である。E-box の外側にある転写調節領域の関与を考える必要があり、この証明は簡単ではないだろう。

このように、PER の真の機能が明らかになるにはまだまだ時間を要する。

#### 参考文献

1. Konopka, R. J. & Benzer, S. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **68**, 2112-2116 (1971).
2. Bargiello, T. A., Jackson, F. R. & Young, M. W. Restoration of circadian behavioural rhythms by gene transfer in *Drosophila*. *Nature* **312**, 752-754 (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. Tei, H. *et al.* Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila period* gene. *Nature* **389**, 512-516 (1997).
5. Darlington, T. K. *et al.* Closing the circadian loop: CLOCK-induced transcription of its own inhibitors *per* and *tim*. *Science* **280**, 1599-1603 (1998).
6. Gekakis, N. *et al.* Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science* **280**, 1564-1569 (1998).
7. Kume, K. *et al.* mCRY1 and mCRY2 are essential components of the negative limb of the circadian clock feedback loop. *Cell* **98**, 193-205 (1999).
8. Zheng, B. *et al.* The mPer2 gene encodes a functional component of the mammalian circadian clock. *Nature* **400**, 169-173, doi:10.1038/22118 (1999).
9. Okamura, H. *et al.* Photic induction of *mPer1* and *mPer2* in *Cry*-deficient mice lacking a biological clock. *Science* **286**, 2531-2534 (1999).
10. Kaasik, K. & Lee, C. C. Reciprocal regulation of haem biosynthesis and the circadian clock in mammals. *Nature* **430**, 467-471 (2004).
11. Bae, K. *et al.* Differential functions of *mPer1*, *mPer2*, and *mPer3* in the SCN circadian clock. *Neuron* **30**, 525-536 (2001).
12. Zheng, B. *et al.* Nonredundant roles of the *mPer1* and *mPer2* genes in the mammalian circadian clock. *Cell* **105**, 683-694 (2001).
13. Akashi, M. *et al.* A positive role for PERIOD in mammalian circadian gene expression. *Cell Rep* **7**, 1056-1064 (2014).
14. Lee, C., Etchegaray, J. P., Cagampang, F. R., Loudon, A. S. & Reppert, S. M. Posttranslational mechanisms regulate the mammalian circadian clock. *Cell* **107**, 855-867 (2001).
15. Xu, H. *et al.* Cryptochrome 1 regulates the circadian clock through dynamic interactions with the BMAL1 C terminus. *Nat Struct Mol Biol* **22**, 476-484 (2015).
16. Shearman, L. P., Jin, X., Lee, C., Reppert, S. M. & Weaver, D. R. Targeted disruption of the *mPer3* gene: subtle effects on circadian clock function. *Mol Cell Biol* **20**, 6269-6275 (2000).
17. Matsumura, R. *et al.* The mammalian circadian clock protein period counteracts cryptochrome in phosphorylation dynamics of circadian locomotor output cycles kaput (CLOCK). *J Biol Chem* **289**, 32064-32072 (2014).
18. Schmalen, I. *et al.* Interaction of circadian clock proteins CRY1 and PER2 is modulated by zinc binding and disulfide bond formation. *Cell* **157**, 1203-1215 (2014).
19. Nangle, S. N. *et al.* Molecular assembly of the period-cryptochrome circadian transcriptional repressor complex. *Elife* **3**, e03674 (2014).
20. Chaves, I. *et al.* Functional evolution of the photolyase/cryptochrome protein family: importance of the C terminus of mammalian

- CRY1 for circadian core oscillator performance. *Mol Cell Biol* **26**, 1743-1753 (2006).
21. Chiou, Y. Y. *et al.* Mammalian Period represses and de-represses transcription by displacing CLOCK-BMAL1 from promoters in a Cryptochrome-dependent manner. *Proc Natl Acad Sci U S A* **113**, e6072-e6079 (2016).
22. Michael, A. K. *et al.* Formation of a repressive complex in the mammalian circadian clock is mediated by the secondary pocket of CRY1. *Proc Natl Acad Sci U S A* **114**, 1560-1565 (2017).
23. Koike, N. *et al.* Transcriptional architecture and chromatin landscape of the core circadian clock in mammals. *Science* **338**, 349-354 (2012).
24. Yoo, S. H. *et al.* Period2 3'-UTR and microRNA-24 regulate circadian rhythms by repressing PERIOD2 protein accumulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **114**, e8855-e8864 (2017).

# イネが光周性花芽形成の「モデル」って本当ですか？ －「リファレンス」という概念の薦め－

井澤 毅<sup>✉</sup>

東京大学 大学院 農学生命科学研究科 育種学研究室

日本人の主食であるコメを実らせるイネ (*Oryza sativa*) という作物は、短日植物であり、日長（一日の日の長さ）を精確に認識し、花が咲くタイミングを決めることができる。これまでに、30 分の日長の差を認識して花芽形成ホルモン（フロリゲン）遺伝子の葉での転写を ON/OFF する（mRNA 量で数十倍の差となる）分子機構を持っていることが明らかとなっていて、短日植物の「モデル」として、分子遺伝学的な解析が盛んにおこなわれている。作物としてのイネは、約 1 万年前に、古代人により栽培化を受け、現存する野生イネ (*Oryza rufipogon*) と進化的に分かれたと考えられているが、現在の野生イネの自生域の北限が、中国南部の珠江周辺・東郷近郊（北緯 25 度付近）であり、日本には野生イネが自生した事実がないことから、イネの栽培化・育種は北進の歴史だったともいえる。近年、この栽培イネの北進に、光周性花芽形成関連遺伝子に起こった自然変異の集積が大きな貢献をしたことが明らかとなってきている。本稿では、イネの光周性花芽形成に関する最新の知見を紹介しつつ、これを契機に、分子遺伝学における「モデル」の意義を再考した上で、「リファレンス」という概念を提唱する。

## 1. はじめに

編集委員の先生方から、「井澤さんの好きに書いてみてください。自由形式で。」とお墨付きをもらったので、できる限り散文的に書いてみたいと考えた。1960 年代の論文や総説を読んでいると、著者の執筆当時の研究室の状況や研究に対する思い入れみたいなものがにじみ出ている著作に出会うことがあり、総説であれ、原著論文であれ、今よりも自由な表現媒体であったのではと想像力をたくましくしてのことである。堅い文章を顔をしかめながら読み込んでいると気持ちがつかれることがある。誰もが気楽に読める総説があってもいいのではと思ったのである。お付き合いしていただくと幸甚である。

さて、私がイネを材料に光周性花芽形成（光周性花成）の研究を始めて二十数年になるが、最初に、なぜイネを材料に光周性花成を研究しているのかと聞かれたらどう答えるだろうかと考えてみた。農学関連の雑誌で総説を依頼されたのであれば、もしくは、科研費の申請書を書くのであれば、「イネは世界の 3 大穀物のひとつで、日本の主要作物である。国内におけるコメの生産量は、世界の生産量の約 5% に過ぎないが、それでも、その国内市場規模は、一兆六千億円に達する。国内の稲作従事者の高齢化に伴い、このままの生

産効率では・・・」というような枕詞を書くのであろうが、本稿は、「時間生物学」である。そこで、もう少し理学的に書かせてもらうことにすると、実は、大きく二つの理由がある。一つ目は、私自身が光周性という現象に興味を持った理由でもあるが、植物ごとき、脳神経系を持たぬ存在が、我々人間にできない精確な日長認識能を持っていることが非常に不思議だったからである。この不思議に答えを出すには、植物の進化や自生域・栽培域の変化を意識しながらの生態学的な解析も必要となるであろう。国立遺伝研には多くの野生イネが保存されているが、それらを使った生理学実験で、多くの野生イネ系統が非常にはっきりとした日長の閾値（限界日長）を持っていることが明らかとなっている<sup>1</sup>。しかしながら、我々が普段食べているコメを作る品種は、それほど強い光周性を示さないし、もし、強い光周性を示すと、日本では栽培できなくなってしまうのである。というのは、花成に短い日長条件を要求されれば、当然、冬期の開花になってしまい、仮に穂が形成し開花できたとしても、寒すぎて、コメは結実しないのである。作物として成立しないし、自生もできない。事実、野生イネが日本列島に自生した事実はない。それが今や、マツコ・デラックスさんの TV の CM で有名な「ゆめぴりか」<sup>2</sup>ではないが、北

✉ a-izawa@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

海道が美味しいおコメの産地として知られるようになってきた。この変化の裏には、イネ育種の北進の歴史がある<sup>3</sup>。北海道での稲作の歴史は、17世紀後半から始まったようであるが、安定的な生産が可能になったのは、「白髭」と「赤毛」と呼ばれる、津軽地方や南部地方の品種が北海道に導入されたことが契機となっている<sup>4</sup>。分子遺伝学的な解析が進んだ今、これらの品種は、後述する *Ghd7* 遺伝子<sup>5</sup> に変異を持ち、光周性を失い、早生になることで、北海道の短い夏に適応できたのである<sup>6</sup>。つまり、イネの栽培化や育種課程の詳細を解析すれば、最初の不思議に答えが出せる可能性があるわけである。(その後、耐寒性を増す育種や食味を向上させる育種が進んだのである<sup>3</sup>。)

そして、二つ目の不思議は、どんな分子メカニズムで精確な日長認識が成り立っているのかの不思議である。イネは 30 分の日長の差を認識できる<sup>7</sup> のであるが、30 分という時間は、一日の長さに対して、48 分の 1 の差である。この時間差を認識するには、単に体内時計が正確だけでは説明できない。なぜなら、概日時計が正確に一日 (24 時間) に同調されている前提でも、日の出時刻と日の入り時刻といった複数の時刻情報を得て、その差分を計算して初めて日長が認識できるからである。光周性の分子機構には、概日時計機構に加えて、光信号伝達機構と差分計算機構が必要である。(ちなみに、イネの野外における概日時計の計時精度は 20 分以下であることが分かっている<sup>8</sup>。) 植物は、いつ (成長ステージや時刻)、どこで (どの細胞で)、どのようなしくみで、この複雑な処理をしているのか、それが不思議なのである。植物の光周性花成は、葉におけるフロリゲン遺伝子 (後述) の転写が日長認識によって起こると考えられているが、前述のように<sup>7</sup>、イネの日長認識は、約 30 分の日長の違いが数十倍の転写活性 (mRNA 量) の違いにつながるくらい ON/OFF が明確である。つまり、イネの葉の細胞で起こっている転写制御を丁寧に見ていけば、上述の不思議に答えが出せるのである。ということで、いまでもイネの研究を続けているのは、この二つの不思議に答えを出すのにイネが最適な材料だからだといえる。本稿では、この二つの不思議を中心において、これまでの分子遺伝学解析からの知見を紹介しながら、思いのまま書き綴りたいと思う。

## 2. 過去を振りかえってみると

時に、過去を振り返ってみるのもいいものである。イネを材料に光周性花成を研究しようと思いついたのはもう 20 年以上前のことだが、当時は、イネから

分子遺伝学的になんらかの形質を支配している遺伝子が単離された報告はまだほとんどなく、漸く、ゲノム配列解析が始まりつつある状況であった。その上、開花期制御 (花成制御) という形質は、量的形質と認識されており、知り合いの先生から難しいテーマだから手を出さないほうがいいと強く止められたことを今でも覚えている。その当時、自分の頭の中にあっただのは、非常に安易な発想だけであった。それは、「世界を見回しても、短日植物の分子遺伝学に誰もまじめに取り組んでいない。そして、イネは短日植物だ。」という“思い付き”である。イネという材料に強い思い入れを持っていたのは、当時のボスの強い方針だったということに加えて、自分がイネの形質転換系の開発チームにいたという自負からであろう。90 年代前半に、花芽形態形成の ABC モデルが提唱され、シロイヌナズナの分子遺伝学研究に、優秀な若手研究者の関心が集中している時代であった。そして、シロイヌナズナは長日植物であった。1995 年、G. Coupland 博士のグループにより、*CONSTANS (CO)* 遺伝子が単離され<sup>9</sup>、この仕事が、高等植物の光周性花芽形成の分子遺伝学研究の契機になった。*CO* は Zn Finger タイプの転写因子であったのだが、短日植物のイネから *CO* のような重要遺伝子を単離できれば、きっとある程度は評価されるに違いないと考えたのである。自分が失敗するとは思っていないのだから、若い時は怖いもの知らずである。その後、シロイヌナズナからは、次々と開花期制御遺伝子が単離され、1999 年には *FT* 遺伝子が、京大の荒木崇博士のグループとドイツの D. Weigel 博士のグループから独立に単離された<sup>10, 11</sup>。この遺伝子は、2007 年に、前述の G. Coupland 博士のグループにより、花成ホルモン (フロリゲン) をコードする遺伝子であることが明らかとなった<sup>12</sup>。フロリゲンは、1937 年の提唱<sup>13</sup> 以来、その分子実体が不明であったので、それなりにマスコミで取り上げられた。そのことを記憶されている読者もいらっしゃるだろう。*FT* 遺伝子は、葉の維管束周辺の細胞で転写・翻訳を受け、維管束内を移動して、茎の先端の分裂組織 (茎頂分裂組織) に到達することで、茎頂で、花序形成・花芽形態形成を起こすのである。

遅ればせながら、イネにおいても、2000 年に、我々のグループにより、突然変異体の生理学解析に基づく候補遺伝子単離法により、植物の光受容体であるフィトクロムの光信号伝達系に必須な *Photosensitivity 5 (Se5)* という遺伝子が単離され<sup>14</sup>、同時期に、農水省の農業生物資源研 (生物研) の矢野博士のグループにより、*Heading date 1 (Hd1)* 遺伝子が単離された<sup>15</sup>。

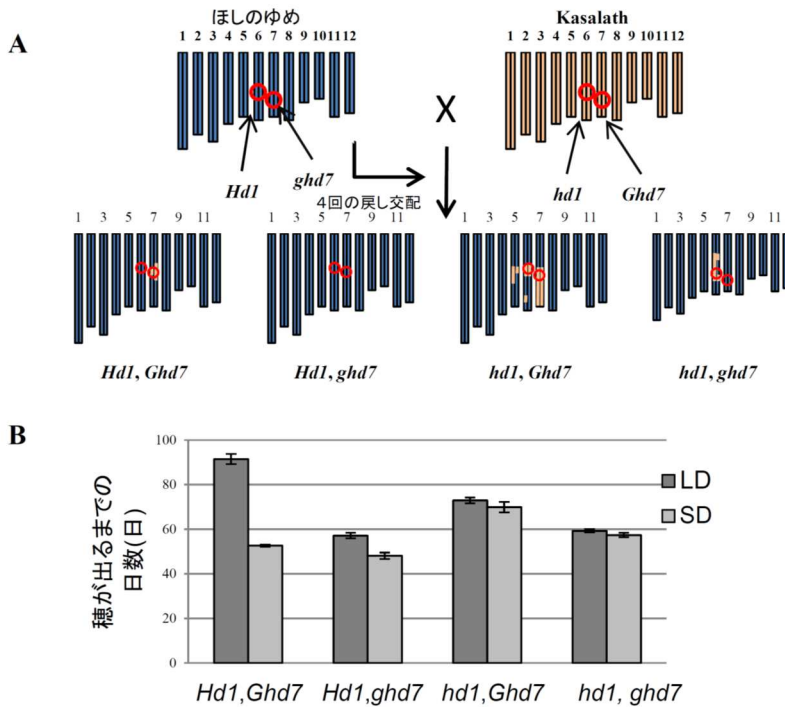


図1 イネの光周性花芽形成を決めている遺伝子  
 A 北海道のイネ品種「ほしのゆめ」に アウス型イネ品種 Kasalath からイントログレッション(交配による遺伝子移入)で、准同質置換系統を作成。イネは染色体が12本。  
 B SD(10時間日長)とLD(14.5時間日長)で開花日を調査。Nemoto et al. (2016) をもとに改変。

*Se5* 遺伝子の単離は、それまで、数多くの生理学的研究で盛んに光周性花成への関与を指摘されていたフィトクロム光受容体が分子遺伝学的にも必須であることを示した最初の論文であった。また、*Hd1* 遺伝子は、自然変異、つまり、QTL (Quantitative Trait Locus; 量的形質遺伝子座) として作物から単離された、非常に初期の遺伝子で、驚くべきことに、シロイヌナズナの *CO* のオーソログ(進化的に起源を一緒にする遺伝子)であった。加えて、*CO* が長日条件下で、花成を促進するのに対し、*Hd1* は、長日条件下で花成を抑制し、かつ、短日条件下で花成を促進するという、日長環境に応じて、機能の逆転現象を示したのである(図1)。そして、矢野博士らは、続けて、*Heading date 3a (Hd3a)* 遺伝子を単離し<sup>16</sup>、これが、*FT* 遺伝子のオーソログであることがわかったのである。2007年には、上述の G.Coupland 博士らの論文と同時に、*Hd3a* 遺伝子産物がフロリゲンとして茎頂に移動することを示した論文が、奈良先端科学技術大学院大学の島本功博士(故人)らにより報告された<sup>17</sup>。(島本博士は、私が *Se5* を単離した当時の上司で、前述のボスである。)

ここまでの研究の推移を振り返ると、シロイヌナズナは、まさに、高等植物の光周性花成のモデルであり、進化的に保存された分子メカニズムを備えていて、短日植物や長日植物といった違いは、同じシステムのアレンジで説明できると想定できたのである。シロイヌナズナでは、*CO* の上流で、概日時計が働いていると

考えられており、概日時計の作用を *CO* の転写に伝える遺伝子として、*GIGANTEA (GI)* という概日時計遺伝子が知られていた<sup>18</sup>。*gi* 変異体で *FT* の mRNA 量が大きく減少するので、*GI-CO-FT* という遺伝子カスケードが存在するのである。そして、イネにも、*GI* のオーソログである *OsGI* 遺伝子が存在し、その過剰発現系統で、*Hd1* の mRNA パターンが変化することから、*OsGI-Hd1-Hd3a* が、高等植物で進化的に保存された開花期制御経路であり、短日植物と長日植物では、*CO* や *Hd1* の位置にある転写因子の機能に多様性が存在するという非常にシンプルで一般の人にもわかりやすい「モデル」ができたのである<sup>19</sup>。数年前の時間生物学会の年会直前の国際シンポジウムの中で、シロイヌナズナの花成研究で成果を上げている若手研究者も、短日植物と長日植物の差に触れ、このモデルを紹介していた。正直に書けば、その講演を聞いて、少し残念に思ったのを記憶している。というのは、このモデルは不十分なモデルであるからである。確かに、一般大衆は、単純なモデルでの説明を好むし、*GI-CO-FT* 経路が進化的に保存されている「王道」であることは間違いない。しかしながら、イネの研究者たちは、10年以上前から、イネ科植物特有の開花期制御経路が存在し、その経路の作用で、非常に精確な日長認識をしていることを明らかにしてきたのである。進化で保存された「王道」の経路の比較だけでは、その部分がどうしても抜けてしまうのである。そして、先の国際学会での講演は、まさに、その部分に全く触れ

られていない講演だったのである。「王道」だけでは不十分であることを示す最初の知見は、イネの *OsGI* 遺伝子の変異体の開花期の表現型と、*Hd1* 遺伝子の変異体の表現型が一致しないとの結果であった<sup>20</sup>。もし、上述の *GI-CO-FT* (*OsGI-Hd1-Hd3a*) の経路が正しいのであれば、矛盾する結果である。また、フロリゲン mRNA の葉での日長応答を調べたところ、イネは、明確な閾値(限界日長)をもって、フロリゲンである *Hd3a* の転写が ON/OFF の質的制御を受けるのに対し<sup>7</sup>、シロイヌナズナの *FT* は日長変化に対し緩やかな変化を示すことが明らかとなってきた<sup>21</sup>。このことは、短日植物の多くは厳格な限界日長を持つが、長日植物の多くは緩やかな応答をするという1960年代に行われた多くの生理学実験からの知見ともあっている。そして、この精確な日長認識を担保している遺伝子がイネから単離されるにつれて、*GI-CO-FT* 経路ではない、イネ科植物特有の遺伝子制御システムが関与していることが明らかとなってきたのである。さて、このイネ科特有の経路であるが、それらの遺伝子の発現制御もまた概日時計と光信号伝達系の相互作用により成り立っている。イネ科植物に特有な遺伝子の制御の一例として、B type-レスポンスレギュレーターをコードする *Early heading date1* (*Ehd1*) 遺伝子<sup>22</sup> が *Hd3a* 遺伝子の上流の転写促進因子として存在し、概日時計によるゲート効果で、朝の青色光により転写誘導を受けることが明らかとなっている。この *Ehd1* の誘導は、日長によらず、朝の青色光による誘導を明確に受けるが、野外の水田で育っているイネの葉の解析では、概日時計による予期効果を受けて、朝にピークを持つただらかな日周リズムを

形成している(井澤ら、未発表データ)。また、別のイネ科植物に特有な花芽形成抑制因子として、*Grain number and heading date 7* (*Ghd7*) が存在する<sup>5</sup>。この遺伝子は CCT ドメインを持つ転写抑制遺伝子であるが、イネ科植物に特有のクレード(分岐群)に属している。トウモロコシでは、そのオーソログが栽培化の初期に変異を起こし、トウモロコシが中日性の作物になった主要原因遺伝子のひとつと考えられている<sup>23</sup>。また、ソルガムでは、F1 育種で重要な雑種強勢を起こす主要遺伝子のひとつと考えられており、開花期制御とバイオマスや収量性の密接な関与を示す例となっている<sup>24</sup>。さらに、オーソログではないが、同じクレードに属する遺伝子に、コムギの春化処理に関わる主要遺伝子 *VRN2* が存在しており<sup>25</sup>、このクレードの遺伝子がイネ科の開花期の決定に重要な役割をしていることは明らかである。分子遺伝学的な解析から、*Ghd7* 遺伝子は、*Ehd1* 遺伝子の転写を抑制することで、*Hd3a* の転写を間接的に抑制していることが明らかとなっている<sup>7</sup>。*Ehd1* 遺伝子同様に、*Ghd7* も概日時計による光応答がゲート効果を受ける遺伝子であるが、青色光により誘導を受ける *Ehd1* とは異なり、光受容体フィトクロム(*Phy*)を介した赤色光の信号を受けて転写誘導を受け、かつ、日長によりゲートが開く時間帯が異なるという特殊な制御を受ける<sup>7</sup>。そして、長日条件下での発現のピークの mRNA 量が、短日条件のそれより数倍高いことが明らかとなっている。野外での葉での発現解析から、*Ghd7* は、概日時計による予期発現を示さず、顕著な光誘導型遺伝子としての発現動態を示す(井澤ら、未発表データ)。つまり、イネは、同じ太陽光の異なる波長成分の作用

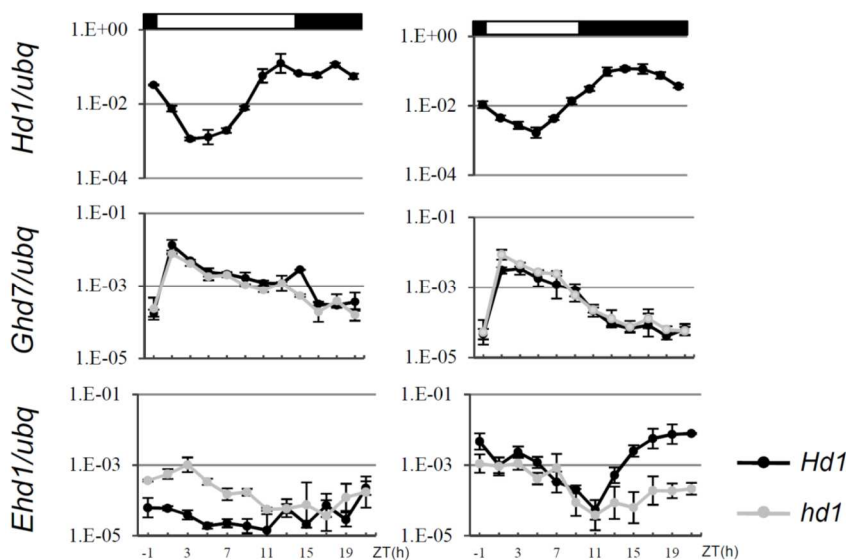


図2 日長によって逆転する *Hd1* 遺伝子の効果  
*Hd1* mRNA は、長日条件(左)でも短日条件(右)でも、概日時計により明確な日周変動を示す(上)。縦軸は対数軸。ひと目盛りで100倍(もしくは1/100)の転写量の変化。*Hd1* に変異が入ると複合体を形成するパートナー *Ghd7* の転写には影響を与えないが(中)、下流の花成促進因子 *Ehd1* の転写には大きな影響を与える(下)。長日条件の昼間には強力に抑制し、一方、短日条件の夜間には強力に促進する。Nemoto et al. (2016) をもとに改変。

を、違う種類の光受容体を介して認識し、その認識がゲート効果を示すことで、日長の正確な認識をしているのである<sup>7</sup>。これが、前述の差分計算機構に相当するようだ。しかしながら、このゲート効果による転写制御だけでは、30分の日長の違いを認識することは難しい。事実、これらの遺伝子の mRNA の日周変動を詳細に調べても、精確な日長認識を説明できない(図2)<sup>26</sup>。そこで、関連転写因子の遺伝子産物の挙動をモニターしていく必要がある。*Ghd7* のコード領域を *Ghd7-LUC* レポーター融合遺伝子と交換したジーンターゲティングシステムを用いた結果からは、長日条件下で、*Ghd7-LUC* の蓄積(翻訳か分解かは不明)が亢進することを示す予備的な結果を得ている(木村、井澤ら、未発表データ)。つまり、イネには、① *OsGI-Hd1-Hd3a* という概日時計を主とした開花期制御系に加えて、② 赤色光-*Phy-Ghd7-Ehd1-Hd3a* という抑制経路(*Ghd7* は *Ehd1* の転写を抑制)と ③ 青色光-青色光受容体(クリプトクローム、*Cry?*)-*Ehd1-Hd3a* という促進経路があることが見えてきたのである。さらに、*Ehd1* の青色光による誘導で、概日時計因子が信号伝達系の一部となっていることを示唆する結果もあり、*OsGI* 遺伝子のイネの開花期制御での役割は、この青色光の光信号伝達系(ゲート効果)における *Ehd1* の転写制御での貢献が大きく、そのせいで、*Hd1* 変異体との表現型の違いが生まれていたことが明らかとなっている<sup>20</sup>。さらに、話を複雑にするようで申し訳ないが、最近の解析から、①の経路の *Hd1* 遺伝子の遺伝子産物と②の経路の *Ghd7* 遺伝子産物が、生体内で複合体を構成し、*Ehd1* 遺伝子のシス領域に結合することで、*Ehd1* 遺伝子の転写を長日条件下で強く抑制していることが明らかとなってきた<sup>26</sup>。進化的に古くから存在している概日時計

*Hd3a* という抑制経路(*Ghd7* は *Ehd1* の転写を抑制)と ③ 青色光-青色光受容体(クリプトクローム、*Cry?*)-*Ehd1-Hd3a* という促進経路があることが見えてきたのである。さらに、*Ehd1* の青色光による誘導で、概日時計因子が信号伝達系の一部となっていることを示唆する結果もあり、*OsGI* 遺伝子のイネの開花期制御での役割は、この青色光の光信号伝達系(ゲート効果)における *Ehd1* の転写制御での貢献が大きく、そのせいで、*Hd1* 変異体との表現型の違いが生まれていたことが明らかとなっている<sup>20</sup>。さらに、話を複雑にするようで申し訳ないが、最近の解析から、①の経路の *Hd1* 遺伝子の遺伝子産物と②の経路の *Ghd7* 遺伝子産物が、生体内で複合体を構成し、*Ehd1* 遺伝子のシス領域に結合することで、*Ehd1* 遺伝子の転写を長日条件下で強く抑制していることが明らかとなってきた<sup>26</sup>。進化的に古くから存在している概日時計

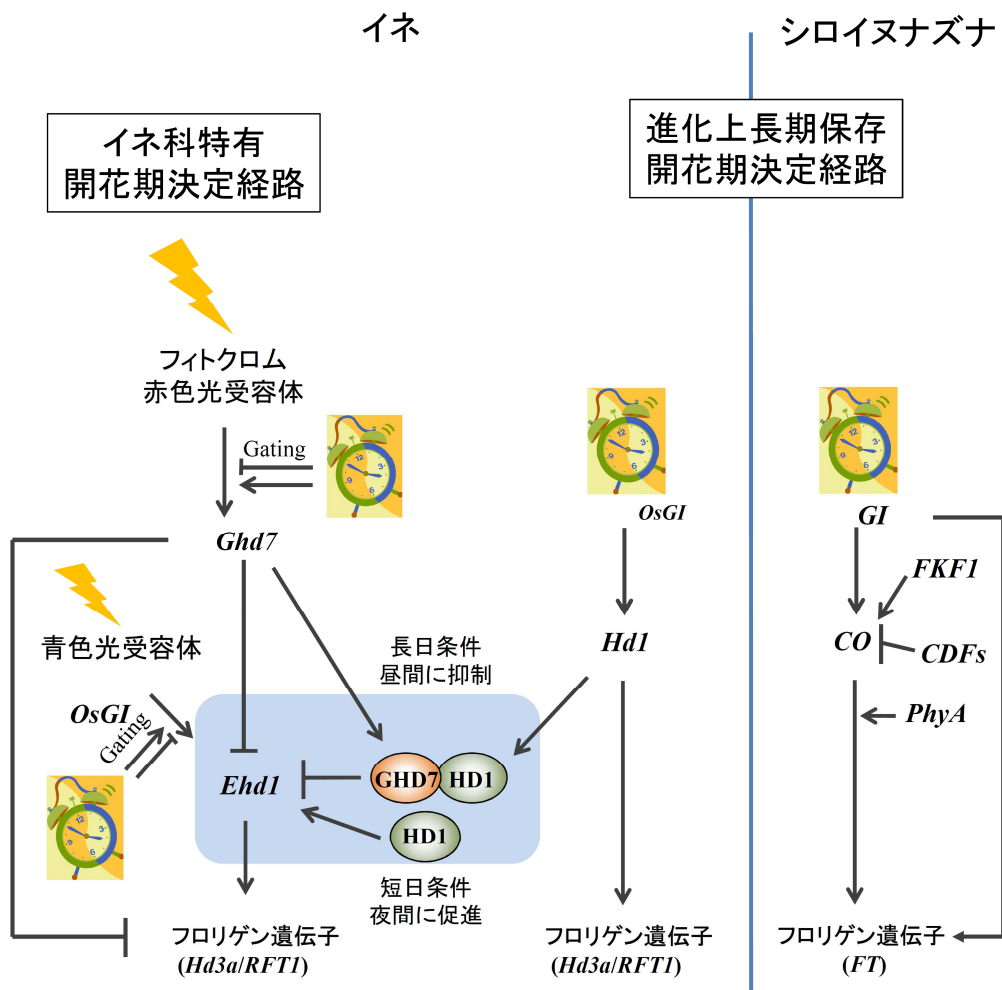


図3 イネの開花期制御遺伝子ネットワーク  
右に示した概日時計による制御系と、左に示したイネ科特有の光信号と概日時計の相互作用で形成されるネットワークが存在し、例えば、*Ghd7* と *Hd1* のように、タンパク質レベルの相互作用を持つ形で進化している。右は、シロイヌナズナの光周性転写制御ネットワークをまとめた図。Nemoto et al. (2016) をもとに改変。



計経路 (①) とイネ科特有の経路 (②と③) が統合されているのである (図 3)。興味深いのは、*Hd1* 遺伝子がない状態でも、*Ghd7* 遺伝子は *Ehd1* の抑制因子として機能することが可能で、その逆はないことから、*Ghd7* 経路が、あとで加わったという単純なことではなさそうである。また、前述の *Hd1* による花成促進は、*Ghd7* 遺伝子の有無にかかわらず、短日条件の夜の期間に、*Ehd1* を転写誘導することで起こり、*Hd1* による抑制は、長日条件下の日中に起こっていることが明らかとなっている (図 3)。このような複雑な遺伝子ネットワークの作用を受けて、イネは葉での精確な日長認識をしているのである。

一方、シロイヌナズナの光周性の分子メカニズムは、*FLAVIN-BINDING, KELCH REPEAT, F-BOX1 (FKF1)* と呼ばれる青色光受容体が概日時計の作用で、夕方位相で発現し、その位相での太陽光の有無で、長日条件の下でのみ、*CO* の転写や翻訳が亢進され、*FT* mRNA が夕方にピークを持つ発現を示すということで説明がされてきた。この詳細は総説が多く存在するので、興味のある方はそれらを参考にしてほしい。しかしながら、最近の報告によると、野外での *FT* の発現は、朝方にピークを持つことが一般的で、それは、*PhyA* 赤色光・近赤外光受容体を介した光信号伝達系が貢献していることが明らかとなった<sup>27,28</sup>。これは、実験室でシロイヌナズナを栽培する際に相対的に近赤外光が弱い人工光源を使つての栽培が一般的だったことで起こった現象らしいが、自然界で起こっていることを知ることが生物学の基本にあるとすれば、室内に閉じこもつての生物学に対する警鐘と受け取ることもできなくはない。なお、イネの *Hd3a* 遺伝子も野外で朝型に発現するが、*PhyA* を要求しないことが明らかになっているので、表現型が似ているから分子機構も似ていると考えるのは安易すぎるようである。さて、こういった研究の推移を改めて振りかえつてみたらうで、ここで、改めて、我々、分子生物学者が置かれている現在の状況について考えてみたい。この数年で、どんな生物でも、ゲノム情報が比較的安価で手に入り、ゲノム編集技術を利用することで突然変異体を高効率で迅速に作成できるようになった。この状況を鑑みると、分子生物学における「モデル」を使った研究が中心にある分子生物学の状況が終わりつつあるのではと思えてくる。そして、むしろ、終わらせた方がいいのではと思うのは私だけであろうか？ 小規模なスペースで、短い期間で、比較的簡単に、非常に深いところまで解析ができ、かつ、遺伝学的な解析で再現性の高い研究が推進できたということで、モデル

系を中心にした分子遺伝学研究が進んできたわけだが、今や、面白い生物学的現象は、モデル系以外で探すのが効率的であり、また、往々にして、世の中のためになりそうな生物材料も、モデルでない材料にありがちである。そこで、一つの提案であるが、シロイヌナズナも、イネも、「モデル」ではなく、「リファレンス」と呼ぶのはどうであろうか？ ゲノム編集という技術を手にした我々は、新しい材料に果敢にチャレンジしていくべき時期に来ていると思えるが、一方で、イネやシロイヌナズナからの知見は、「リファレンス」として、適切に評価されていくべきなのではと思うのである。もちろん、私自身は、イネの研究から足を洗うつもりもなく、光周性花成の研究をやめる気も毛頭ないし、なぜ、こんなに精確なのかという質問に答えが出たと思えるまで研究を続けたいと考えている。ただ、若い研究者が、例えば、植物に興味を持ってくれたとしても、その全員が、シロイヌナズナやイネを材料とした安易な道、そして、「モデル系の理解は重要」という誤解に基づく道を選ぶ必要はないと思うのである。事実、前述したように、私がイネを材料に光周性花成の研究を始めた時は、誰もイネを「モデル」とは呼んではいなかったし、当時、総説を書いて、イネを単子葉植物の「モデル」にしようと呼びかけた時、反応はかなり冷たいものであった<sup>29</sup>。それは、二つに大別できて、「自分はシロイヌナズナで頑張る！」か、「イネはモデルではない、作物である。」であったのだ。我々の提案に消極的な反応が多かったわけである<sup>29</sup>。つまり、モデル系の理解が重要だというのは後付けの概念なのである。話を光周性花成にだけ戻しても、我々が置かれた状況は基本一緒である。植物のゲノムや形態の進化分類から考えると、短日性と長日性の獲得は、進化の中で、色々な種に独立に起こったと考えられている。つまり、シロイヌナズナとイネで、すべてが明らかになるわけではないのである。最近の研究成果から、トマトが栽培化を受けた時に、*FT* 様遺伝子が増えることで、中日性を獲得するに至ったことが分子遺伝学的に証明されているし<sup>30</sup>、雑種強勢を示すトマトの F1 育種で、F1 品種内で、スーパードミナントな遺伝子 (ヘテロな状態でのみ収量性を向上する表現型が現れる遺伝子) として同定された遺伝子も *SINGLE FLOWER TRUSS (SFT)* と呼ばれる *FT* 様遺伝子であった<sup>31</sup>。このケースでは、*SFT* 遺伝子は、トマトの開花期を制御するだけでなく、花序形態にも大きな影響を与えるので、開花期遅延によるバイオマス増大と花序の変化による収量減のバランスを取る

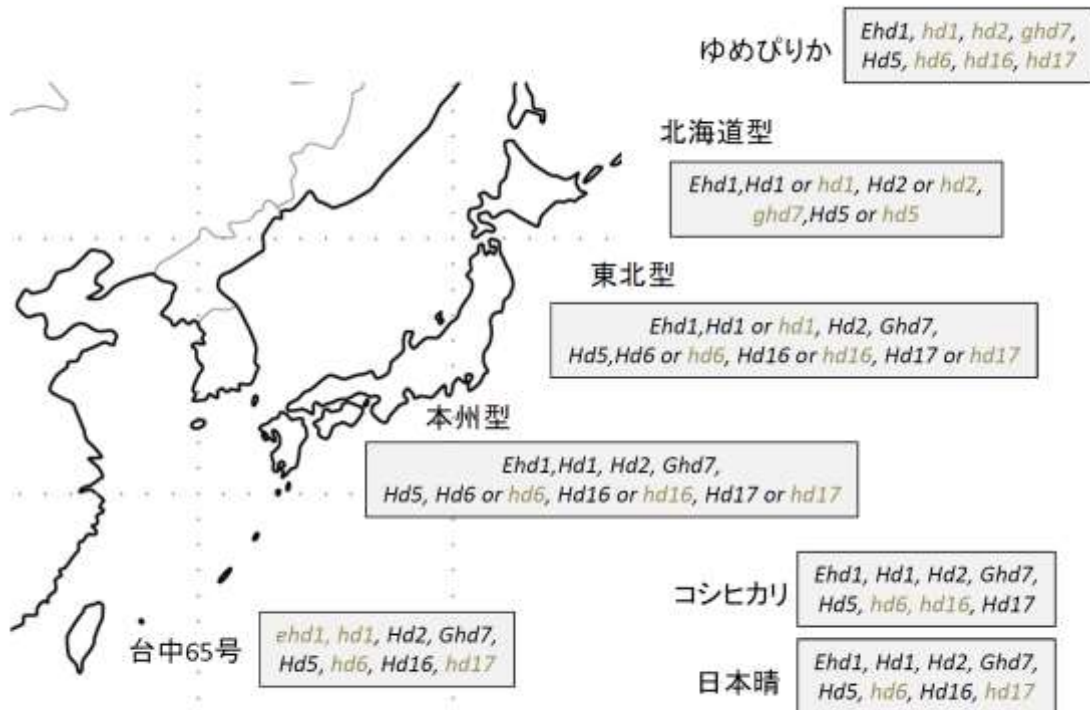


図4 日本のイネ品種に見られる開花期遺伝子の変異

ゆめぴりかといった北海道のイネ品種は、*ghd7* 変異が欠損型で、その変異に加えて、*Hd1* か *Hd2* か *Hd5* 遺伝子のどれかの変異が同時に起こっている。台湾の品種は、台湾の在来種から、*hd1* と *ehd1* 変異をイントログレションで取り込んでいる。東北や本州の品種は、*Hd6* と *Hd16* と *Hd17* 遺伝子の変異がいろいろな組み合わせで存在しているが、これらの遺伝子の相互作用の詳細はまだわかっていない。

仕組みで、*SFT* 遺伝子がスーパードミナントに働いていることが明らかになったのである。もう、モデル系を理解することを目的にするのではなく、面白い現象を、最新の技術を駆使して明らかにし尽くしていく、そういった時代に、分子生物学・分子遺伝学は突入したといえるのではないだろうか？

### 3. 光周性花芽形成とイネの栽培地域の深い関係

日本にイネという作物が伝わったのは縄文時代にさかのぼるとい説もあるが、水田跡の遺跡等を指標に考えると、弥生時代早期前半、今から、2500年くらい前に、北九州に水田稲作文化が伝わったと考えられている<sup>32</sup>。今から、7500年くらい前には、長江下流域で大規模に水田稲作が始まっていたと考えられるので、日本に伝わるまでかなりの時間を要したことになる<sup>33</sup>。この北九州に入ってきたときのイネ品種は、現在の日本のイネ品種の主流を形成する温帯ジャポニカ亜種であったと考えられる。この20年間の間にイネの開花期（イネ科作物では、出穂を開花期の指標にすることが多く、出穂期と呼ぶこともある）に影響を与える QTL が多く同定され、その多くは、温帯ジャポニカ亜種のイネ品種内でも機能が変化している QTL 遺伝子である<sup>34</sup>。*Hd1*, *Hd2/OsPRR37*, *Hd3a*,

*RFT1*, *Hd5/DTH8*, *Ghd7*, *Ehd1*, *Hd6*, *Hd16*, *Hd17*, そして、*Hd18*, これらの QTL 解析で同定された開花期遺伝子は、機能変化を起こす DNA 変異が塩基配列レベルで同定されて、栽培地域や作期の違いに応じて、多様な組み合わせを示す（図4）。イネには、フロリゲンとして機能するかもしれない *FT* 様遺伝子が、ゲノムに10個近く存在するが、その中で、QTL として品種間・系統間で開花期を変える遺伝的作用が見出されているのが、ここにあげた *Hd3a* と、ゲノム上、その隣にある *Rice Flowering Locus T 1 (RFT1)* である。そして、この二つの遺伝子の機能を抑えるとイネが開花（出穂）しなくなることが既に報告されている<sup>35</sup>。また、*Hd3a* は長日条件下の抑制が強く、日本におけるイネの開花期の決定により大きく寄与しているのは *RFT1* の方であることが明らかになっている<sup>36,37</sup>。日本を代表する品種であるコシヒカリを関東で栽培すると、8月の初めには開花するのだが、そのためには、夏至後1週間程度である7月の初旬には花芽形成が始まっている必要がある。つまり、日本でイネが作物として成立するためには、長日条件でも発現を始めるフロリゲン遺伝子が必要であり、*RFT1* 遺伝子のように挙動するのである。事実、*RFT1* が壊れた系統を関東で栽培すると開花（出穂）がかなり遅くなり、

作物として成立しない<sup>36</sup>。温帯ジャポニカ品種で顕著に起こったイネ品種の開花特性の多様性や北進現象は、ここに示した QTL 変異が複雑に組み合わさることで、起こった結果と考えることができる。この中で、*Hd2*<sup>38</sup>と*Hd17*<sup>39</sup>は、シロイヌナズナでは概日時計遺伝子として報告のある遺伝子のオーソログであり、*Hd6*と*Hd16*はカゼインカイネースをコードし、限界日長の変化を起こすことが報告されている<sup>40</sup>。それ以外は、*Hd3a*や*RFT1*フロリゲン遺伝子の転写を正に負に制御する DNA 結合ドメインを持つ転写因子である。これらの中で、北海道といった寒帯でのイネの商業栽培を可能にしたのが、*Ghd7*遺伝子の変異<sup>5</sup>で、前述の赤毛や白髭といった東北で栽培されていた品種に存在していた変異である。最近の研究成果から、光周性をほぼなくした品種を作るには、*Ghd7*遺伝子の変異だけでは不十分で、*Hd1*、*Hd2*、*Hd5*のうち、一つか二つの変異が組み合わせることで、開花期が日長変化の影響をほぼ受けない系統を育成できることが明らかとなってきた(図4)<sup>6,41</sup>。このように、イネ品種の北進は、10個強の QTL 遺伝子の複雑な組み合わせにより、南北に長い日本列島の南から北までに適応できるイネ品種群が形成されたのである。コシヒカリはブランド品種であり、それが理由で、広域栽培されているともいえるが、コシヒカリの光周性がマイルドであることが広域栽培に適するための大切な特徴である。加えて、一般的にイネで光周性を弱くする変異は、温暖な南地域での極早生化を引き起こすので、単純に完全に光周性をなくせばいいというわけではない。上述したように、イネの育種の歴史は北進の歴史であるが、実は、かつて、明確に南下したことが一度だけ知られている。それは、台湾での食用イネ品種の育種においてである。日本が台湾を統治していた時代、近代化による人口の増加により自国生産だけでは賄いきれなくなったため、日本の政府は、台湾でのコメ生産を考えたが、日本の在来種を台湾で栽培すると、植物体が小さいままで開花し品種として成立しなかったのである。そこで、約20年をかけて開発したイネ品種が、蓬莱米と呼ばれるもので、その代表が、台中65号と呼ばれる品種である。栄養成長期が長いという性質を持ち、一年のほとんどが短日条件になる台湾での栽培でも、良食味で(当時の基準で)、収量性のいい品種が生まれたのである。この品種の来歴を見ると、神力と亀治という二つの在来日本イネ品種の交配後代から選抜されたことになっているが、最近の報告によると、実は収量性が低かった台湾のイネ在来種が持っていた *Hd1* 遺伝子と *Ehd1* 遺伝子の変異

アシルがイントログレション(交配による遺伝子移入)により取り込まれたことで(図4)、短日条件が長く続く亜熱帯の栽培地域でも、栄養生長期を長く確保できる、多収性の新しいタイプの品種が育成できたのである<sup>42</sup>。このケースでは、これまで信じられていた品種の来歴が間違っていた可能性が高く、ゲノム解析が実は怖い解析であることを如実に示す一例となっている。

このように様々なイネ品種の栽培適地と光周性花芽形成の関係は非常に深いものがあり、歴史がそれを証明してくれている。しかしながら、南方の古い品種に光周性が非常に強い品種が存在する生物学的意義はまだ明らかになっていない。一斉開花といった生態学的な要素も視野に研究する必要があるのかもしれない。

本稿の後半で、イネという種の中の開花期を決めている多様性が品種の栽培域の大きな違いとして表れているケースをいくつか紹介したが、この種内多様性を考えても、汎用性の高い、基礎・規範となる知識を提供する「モデル」という概念の不十分さを感じることができる。シロイヌナズナでは、「Col(コロンビア)」と呼ばれるアクセション系統が、よく「モデル」として使われるし、キイロショウジョウバエでは、「Canton-S」といった純系系統が使われるわけだが、その系統の理解だけに拘れば、シロイヌナズナやキイロショウジョウバエの種内多様性を無視してしまうことになることを我々は覚えておく必要がある。生物学において、すべては、「リファレンス」なのではと思うのは極端であろうか?もちろん、すべては、「ヒトを知るために」という考えを否定はしないが、植物の研究をしなくていいという人はさすがにいないであろうし、植物の中に、哺乳類に似た分子機構が存在することがニュースになったりすることはむしろ滑稽と扱うべきなのではと考えてしまう。多様であるからこそ、生物学は面白いのである。

#### 4. おわりに

執筆を開始したときは、この総説の中で、野外で育つ植物・作物の分子遺伝学に関しても書きたいと考えていた<sup>43</sup>が、スペースがなくなってしまった。またの機会を待つことにする。シロイヌナズナの *PhyA* 光受容体のケースにあるように、実験室重視の「モデル植物」解析には問題がありそうである。特に、農学研究に限っては、実験室内だけで通用する知見で終わっては意味がない(植物工場は別かもしれない)。

今の大学に異動して3年になるが、今の組織は、こ

れまで自分が所属したすべての研究組織の中で、一番、インパクトファクター(IF)を気にしない(もしくは、気にしないふりをする)研究組織である。農学部の研究分野は多岐にわたり、また、国内でのみ重要視される研究もあるわけで、考えてみれば当然なことなのであるが、あからさまに無視するのも極端であり、「モデル」と「リファレンス」の関係がここでも存在するように感じている。IFを無視すれば、当然、論文の数での勝負になるわけであるが、それだけでは問題ありである。

先の時間生物学会で、修士課程で指導して頂いた堀田凱樹先生の講演を拝聴する機会があった。数十年ぶりだったのでは思う。その中で、堀田先生が、恩師である江橋節郎先生(トロポニンとCa<sup>2+</sup>の研究で著名)との共著がないと話されていて驚いた。昔は、誰が著者になるかも、しっかりと貢献度に応じて関係者各自で決められていて、責任を持ってない仕事には指導教員でも名前を載せないということがしっかりと機能していたんだと感慨深かった。これが当たり前であれば、ねつ造や不正は減るはずである。最近、”はじめに修士修了ありき”の発想なのだろうか、助教か、ポストドクか、誰が手を動かした結果なのかを疑ってみたくなる修士論文を審査することになったことがあり、日本の基礎研究の在り方を考え直さなければいけない時期に来ていることを思わずにはいられなかった。個人の貢献を正當に評価して論文発表しないのであれば、「第一著者」や「論文数」による個人評価は意味をなくすわけである。

今回、基礎研究に関わりたいと思う若い学生に、単純に、前向きなモチベーションを与えられるような、専門知識を前提としない、つまり、大衆受け(?)する科学総説が増えるといいなあと考え、本稿を執筆してみたが、さて、成功したであろうか?

## 参考文献

1. Katayama, T. Photoperiodism in the Genus *Oryza* IV. Combinations of plant age, day length and unnumber of treatment. *Proc. Crop. Soc. Japan* **43**, 224-236 (1974).
2. <https://www.yume-pirika.jp/>
3. Fujino, K., Nishimura, T., Kiuchi, H., Hirayama, Y., & Sato, T. Phenotypic changes during 100-year rice breeding programs in Hokkaido. *Breed. Sci.* **67**, 528-534 (2017).
4. 李海訓 近代東北アジアにおける寒冷地稲作と優良品種の普及 *社会経済史学* **79**, 69-89 (2013).
5. Xue, W. *et al.* Natural variation in *Ghd7* is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nat. Genet.* **40**, 761-767 (2008).
6. Fujino, K., Obara, M., Ikegaya, T., & Tamura, K. Genetic shift in local rice populations during rice breeding programs in the northern limit of rice cultivation in the world. *Theor. Appl. Genet.* **128**, 1739-1746 (2015).
7. Itoh, H., Nonoue, Y., Yano, M., & Izawa, T. A pair of floral regulators sets critical day length for *Hd3a* florigen expression in rice. *Nat. Genet.* **42**, 635-638 (2010).
8. Matsuzaki, J., Kawahara, Y., & Izawa, T. Punctual transcriptional regulation by the rice circadian clock under fluctuating field conditions. *Plant Cell* **27**, 633-648 (2015).
9. Putterill, J., Robson, F., Lee, K., Simon, R., & Coupland, G. The *CONSTANS* gene of *Arabidopsis* promotes flowering and encodes a protein showing similarities to zinc finger transcription factors. *Cell* **80**, 847-857 (1995).
10. Kobayashi, Y., Kaya, H., Goto, K., Iwabuchi, M., & Araki, T. A pair of related genes with antagonistic roles in mediating flowering signals. *Science* **286**, 1960-1962 (1999).
11. Kardailsky, I. *et al.* Activation tagging of the floral inducer *FT*. *Science* **286**, 1962-1965 (1999).
12. Corbesier, L. *et al.* FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*. *Science* **316**, 1030-1033 (2007).
13. Chailakhyan, M.K. Concerning the hormonal nature of plant development processes. *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **16**, 227-230 (1937).
14. Izawa, T., Oikawa, T., Tokutomi, S., Okuno, K., & Shimamoto, K. Phytochromes confer the photoperiodic control of flowering in rice (a short-day plant). *Plant J.* **22**, 391-399 (2000).
15. Yano, M. *et al.* *Hd1*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the *Arabidopsis* flowering time gene *CONSTANS*. *Plant Cell* **12**, 2473-2484 (2000).

16. Kojima, S. *et al.* *Hd3a*, a rice ortholog of the Arabidopsis *FT* gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under short-day conditions. *Plant Cell Physiol.* **43**, 1096-1105 (2002).
17. Tamaki, S., Matsuo, S., Wong, H.L., Yokoi, S., & Shimamoto, K. Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice. *Science* **316**, 1033-1036 (2007).
18. Izawa, T., Takahashi, Y., & Yano, M. Comparative biology comes into bloom: genomic and genetic comparison of flowering pathways in rice and Arabidopsis. *Curr. Opin. Plant Biol.* **6**, 113-120 (2003).
19. Hayama, R., Yokoi, S., Tamaki, S., Yano, M., Shimamoto, K. Adaptation of photoperiodic control pathways produces short-day flowering in rice. *Nature* **422**, 719-722 (2003).
20. Izawa, T. *et al.* *Os-GIGANTEA* confers robust diurnal rhythms on the global transcriptome of rice in the field. *Plant Cell* **23**, 1741-1755 (2011).
21. Salazar, J.D. *et al.* Prediction of photoperiodic regulators from quantitative gene circuit models. *Cell* **139**, 1170-1179 (2009).
22. Doi, K. *et al.* *Ehd1*, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls *FT-like* gene expression independently of *Hd1*. *Genes Dev.* **18**, 926-936 (2004).
23. Hung, H.Y. *et al.* *ZmCCT* and the genetic basis of day-length adaptation underlying the postdomestication spread of maize. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* **109**, E1913-1921 (2012).
24. Ordonio, R., Ito, Y., Morinaka, Y., Sazuka, T., Matsuoka, M. Molecular Breeding of Sorghum bicolor, A Novel Energy Crop. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* **321**, 221-257 (2016).
25. Yan L *et al.* The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science* **303**, 1640-1644 (2004).
26. Nemoto, Y., Nonoue, Y., Yano, M., & Izawa, T. *Hd1*, a CONSTANS ortholog in rice, functions as an Ehd1 repressor through interaction with monocot-specific CCT-domain protein Ghd7. *Plant J.* **86**, 221-233 (2016).
27. Seaton, D.D. *et al.* Dawn and photoperiod sensing by phytochrome A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **11**, 10523-10528 (2018).
28. Song, Y.H. *et al.* Molecular basis of flowering under natural long-day conditions in Arabidopsis. *Nat. Plants.* **4**, 824-835 (2018).
29. Izawa, T., & Shimamoto, K. Becoming a model plant: the importance of rice to plant science *Trends in Plant Sci.* **1**, 95-99 (1996).
30. Soyk, S. *et al.* Variation in the flowering gene *SELF PRUNING 5G* promotes day-neutrality and early yield in tomato. *Nat. Genet.* **49**, 162-168 (2017).
31. Park, S.J. *et al.* Optimization of crop productivity in tomato using induced mutations in the florigen pathway. *Nat. Genet.* **46**, 1337-1342 (2014).
32. 石川日出志 農耕社会の成立 岩波新書 (2010).
33. 佐藤洋一郎 イネが語る日本と中国 農文協 (2003).
34. Itoh, H. *et al.* Genomic adaptation of flowering-time genes during the expansion of rice cultivation area. *Plant J.* **94**, 895-909 (2018).
35. Komiya, R., Ikegami, A., Tamaki, S., Yokoi, S., & Shimamoto, K. *Hd3a* and *RFT1* are essential for flowering in rice. *Development* **135**, 767-774 (2008).
36. Ogiso-Tanaka, E. *et al.* Natural variation of the *RICE FLOWERING LOCUS T 1* contributes to flowering time divergence in rice. *PLoS One* **8**, e75959 (2013).
37. Komiya, R., Yokoi, S., & Shimamoto, K. A gene network for long-day flowering activates *RFT1* encoding a mobile flowering signal in rice. *Development* **36**, 3443-3450 (2009).
38. Murakami, M., Matsushika, A., Ashikari, M., Yamashino, T., & Mizuno, T. Circadian-associated rice pseudo response regulators (OsPRRs): insight into the control of flowering time. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **69**, 410-414 (2005).
39. Matsubara, K. *et al.* Natural variation in Hd17, a homolog of Arabidopsis ELF3 that is involved in rice photoperiodic flowering. *Plant Cell Physiol.* **53**, 709-716 (2012).

40. Nemoto, Y., Hori, K., & Izawa, T. Fine-tuning of the setting of critical day length by two casein kinases in rice photoperiodic flowering. *J. Exp. Bot.* **69**, 553-565 (2018).
41. Li, X. *et al.* Combinations of *Hd2* and *Hd4* genes determine rice adaptability to Heilongjiang Province, northern limit of China. *J. Integr. Plant Biol.* **57**, 698-707 (2015).
42. Fu-Jin, W. *et al.* Both *Hd1* and *Ehd1* are important for artificial selection of flowering time in cultivated rice *Plant Science* **242**, 187-194 (2016).
43. Nagano, A.J. *et al.* Deciphering and prediction of transcriptome dynamics under fluctuating field conditions. *Cell* **151**, 1358-1369 (2012).



# 魚類の産卵周期にみられる月を利用した時刻あわせ

竹村 明洋<sup>1✉</sup>・福永 耕大<sup>2</sup>・宇田川 伸吾<sup>2</sup>・武方 宏樹<sup>3</sup>・竹内 悠記<sup>1</sup>

1: 琉球大学 理学部 海洋自然科学科

2: 琉球大学 理工学研究科 海洋環境学専攻

3: 琉球大学 研究推進機構 戦略的研究プロジェクトセンター

熱帯・亜熱帯域の沿岸域に広がるサンゴ礁に生息する魚類の多くは、繁殖活動や摂餌活動などの時刻あわせに月から得られる環境周期を利用する場合がある。特定の月相にあわせて産卵（月周性産卵）したり、満潮時刻付近にあわせて産卵（潮汐性産卵）したりすることで、成熟した雌雄が出会う機会を増やしたり、捕食者からの捕食圧を減らしたりすることにメリットがあると考えられている。これまでの研究によって、月周性産卵や潮汐性産卵の時刻あわせには、それぞれ月光の量的変化や水圧の変化が体内情報へと変換され、生殖内分泌軸が周期的に活性化することがわかってきた。この総説では、魚類（アイゴ類、ハタ類、ベラ類）に見られる月周性産卵と潮汐性産卵の例を紹介しつつ、月を利用した魚類の産卵時刻あわせに関わる最近の研究の一端を紹介する。

## 1. はじめに

日本人は古来より「月を愛でる」習慣を持つ。我々は、「八月一五夜（旧暦8月15日）」に見える月を中秋の名月と呼び、秋の実りや収穫に感謝して月を眺められる場所に置いた月見台にお供え物を飾る。明治時代以前の日本では、月の満ち欠けの繰り返しを基本とした太陰暦に太陽暦の要素を組み入れた太陰太陽暦を使っていたことから、月の周期性は生活の中心にあった。月食や日食などの天体ショーはいまでもニュースになることから、今日でも月は魅力的な存在であるが、人工照明の下で生活していると月が地球に及ぼす様々な影響や重要性は忘れ去られているようである。

自然の中で暮らす生物には、月が地球に及ぼす様々な環境変化を、成長、摂餌、回遊、さらには繁殖の時刻あわせに利用しているものがあり、彼らにとって月は個の生存と種の繁栄にとって欠かすことのできないものとなっている場合がある。中でも、熱帯域に起源をもつ生物には月を利用した時刻あわせを行っているものが多い。これは、この地域の日長や温度の変動が、温帯域から極域のそれらに比べて大きくなく、結果として月から得られる規則正しい変化が相対的に大きくなるために、熱帯域に生息中心をもつ生物にとって利用価値の高い情報源となっているためと説明されている<sup>1,2</sup>。

月が地球に及ぼす環境周期は基本的には日周期から独立している（図1）。これは地球の太陽に対する自転周期が24時間であるのに対し、月に対する自転周期は月が公転する分やや長くなり、約24.8時間となることに起因する。月が関連する環境変化として、月の満ち欠けや潮の満ち引きがあげられる。潮の満ち引きは主に地球と月の重心からの遠心力によって生み出される。便宜上、他の要因をすべて無視すると、月側とその反対側の潮が引き上げられることで満潮となり、地球上では約12.4時間周期で潮汐が起こる。また、遠心力は太陽と地球の重心にも発生しているため、地球と太陽と月が直線上に並ぶときに潮汐の変動が大きい大潮となるが、太陽と月が直角になるときにその変動の小さい小潮となる。月と太陽の位置関係は主に月の公転によって変化するため、大潮と小潮は月の公転周期の半分の約14.8日周期で繰り返される。潮に関連する周期は、地形や気候、緯度の影響を大きく受け、地域によっては潮汐周期が約24.8時間であったり、小潮の時は潮汐が起こらなかつたりする場合がある<sup>3</sup>。

生き物が示す、特定の月相にあわせて約29.5日間隔で繰り返される周期性を月周リズム（lunar rhythm）、大潮や小潮などにあわせて約14.8日間隔で繰り返される周期性を半月周リズム（semi-lunar rhythm）、そして満潮や干潮にあわせて約12.4時間

✉ takemura@sci.u-ryukyu.ac.jp

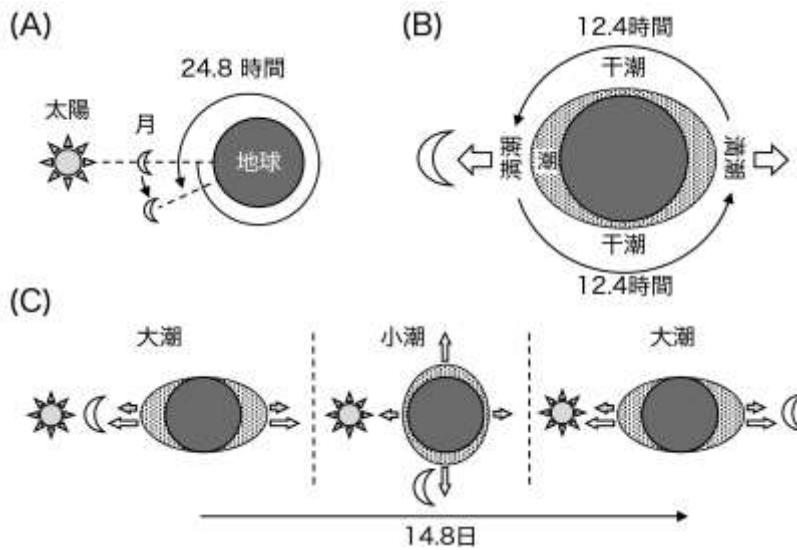


図1 月と潮汐の関係性。  
 (A) 月が公転しているため、地球の月に対する自転周期は約24.8時間周期となる。  
 (B) 潮汐は主に月と地球の重心からの遠心力によって生み出されるため、12.4時間周期で繰り返される。  
 (C) 太陽と月の位置関係によって潮汐の大きさが変化し、大潮と小潮が約14.8日周期で繰り返される。

間隔で繰り返される周期性を潮汐リズム (tidal rhythm) と呼ぶ。これらの周期性が恒常条件下で繰り返された場合、それぞれ概月リズム (circalunar rhythm)、概半月リズム (circasemilunar rhythm)、そして概潮汐リズム (circatidal rhythm) と呼ぶ<sup>2</sup>。これまでのところ、月に関係する生物時計を駆動する特定の遺伝子群は脊椎動物では同定されていない。一方、造礁サンゴのハイマツミドリイシや複数の魚類において、概日時計の構成遺伝子群の月周期性産卵への関与が疑われている<sup>4</sup>。月に関わる生物の周期性は時間生物学的な視点から興味もたれるが、概日時計の分子基盤の解明に比して非常に遅れているのが現状である。

2005年に筆者らは本誌にサンゴ礁魚類の産卵同調現象にみられる月周リズムと半月周リズムについて紹介した。この総説では主に生理機構を中心に、サンゴ礁魚類の月周性産卵リズムと潮汐性産卵リズムにかかわる我々の研究成果を織り交ぜつつ、魚類における月を利用した時刻あわせについて概説する。

## 2. 月周性産卵リズム

魚類の産卵に月周リズムがみられるかどうかを判断するには生殖腺 (卵巣) の組織学的観察は有効である。月相にあわせて毎週採集した魚の卵巣内の卵母細胞の有無と排卵後濾胞の存在を調べると、ハタ科魚類のカンモンハタ (*Epinephelus merra*) の卵巣では、新月から満月に向けて卵黄形成途上の卵母細胞が確認できるのに対し、下弦の月では未熟な卵母細胞と排卵後濾胞のみ確認できる。この卵発達と産卵の周期が産卵期間中繰り返されるため、カンモンハタは満月付近で産卵する月周リズムを有することが分かる<sup>5</sup>。同

様の手法でアイゴ科魚類の卵発達の変化を調べると、アマアイゴ (*Siganus spinus*) やシモフリアイゴ (*S. fuscescens*) では新月付近に<sup>6,7</sup>、ハナアイゴ (*S. argenteus*) では下弦の月付近 (満月から7日目付近) に<sup>8</sup>、そしてゴマアイゴ (*S. guttatus*) では上弦の月付近 (新月から7日目付近) に<sup>9</sup>、それぞれ産卵を繰り返すことが判明した。近縁種で産卵月相が異なっているのは、同所的に生息する種の生殖に時間的隔離が起こっていると考えられている<sup>1,2</sup>。

月周性産卵リズムを示す魚類の視床下部—脳下垂体—生殖腺軸 (HPG軸) から分泌されるホルモン類も月周変動している。すなわち、ゴマアイゴの卵巣片をヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) 存在下で生体外培養し、培養液中に分泌されるステロイドホルモンを測定した結果、新月付近では estradiol-17 $\beta$  (E2) の産生が、そして上弦の月付近では 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP) の産生がそれぞれ高まっていることが判明した<sup>10</sup>。この結果は、脳下垂体から分泌される生殖腺刺激ホルモンの影響で、新月付近では E2 が肝臓における卵黄蛋白前駆物質 (ビテロジェニン) の合成を活性化して卵母細胞での卵黄の蓄積が進行すると考えられる。また上弦の月付近では DHP が誘導する卵母細胞の最終成熟が進行していることが考えられる。カンモンハタを用いて間脳で発現する生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH1) 遺伝子と脳下垂体で発現する生殖腺刺激ホルモンの $\beta$ サブユニット (FSH $\beta$ と LH $\beta$ ) 遺伝子を測定した結果、いずれの発現も月周リズムを示した<sup>11</sup>。以上の結果は、月周性産卵リズムは、HPG軸よりも上流のカスケードが月相の情報を処理し、ホルモン産生を周期的に刺激することで生み出されていることを示している<sup>11</sup>。



月周リズムを示す魚たちは月から得られるどのような環境刺激を時刻あわせに利用しているのだろうか。ゴマアイゴを人工月光（新月や満月）条件で飼育したところ、恒常新月条件と同満月条件で産卵月相の4週間前から飼育した場合には産卵が起こらなかった<sup>12</sup>。一方、これらの条件で2週間前から飼育した場合、恒常新月条件でのみ産卵が確認できた。これらの結果は、夜間の光量の変化が月周リズムに影響を与えている可能性を示す<sup>13</sup>。また、多くの脊椎動物と同じく、ゴマアイゴの血中メラトニン量は、昼間に低く夜間に高くなる明確な日周リズムを示す<sup>12</sup>。興味深いことに、暗黒状態で飼育したゴマアイゴを深夜に満月光に曝露すると、血中メラトニン量は減少した<sup>12</sup>。同様に、生体外培養した松果体を満月光に曝露した場合にも、培養液中に分泌されるメラトニン量が減少した<sup>13</sup>。さらに、月光曝露したゴマアイゴの松果体内のメラトニン受容体発現量も減少した<sup>14</sup>。メラトニンが多くの魚類の生殖に関与することをふまえると<sup>15</sup>、ゴマアイゴの松果体が月光の情報から月相を読み取り、メラトニンを介して産卵の月周リズムに変換している可能性が考えられる。松果体がメラトニン分泌量を調節することで、HPG軸のホルモン合成や分泌を制御しているのかもしれない。

#### 自然条件

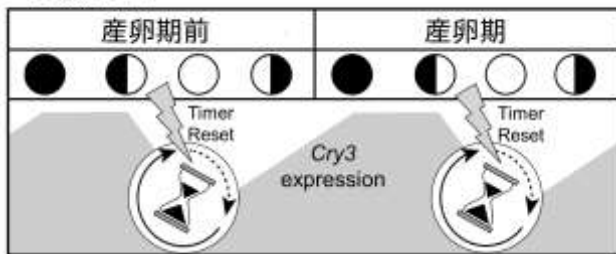


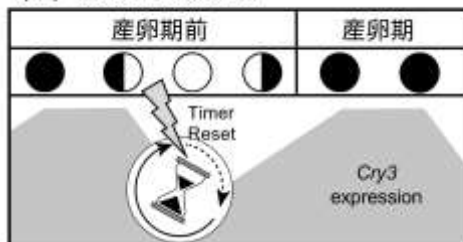
図2 ゴマアイゴの月周性産卵の時刻合わせに関する砂時計型タイマー仮説。自然光条件では産卵期前の月光の量的変化によって砂時計型タイマーが駆動すると考えられる。Cry3は砂時計型タイマーの状態変数もしくはそのアウトプットとして機能していると考えられる。

夜間の光（月光）の受容が月周性の発動に関連することから、時計遺伝子が月周リズムに関与するかを調べてみた。ゴマアイゴの脳で発現している時計遺伝子として2種の *Bmal*、2種の *Clock*、4種の *Per*、および4種の *Cry* が確認されている<sup>16</sup>。これらのうち、*Per*と *Cry*の一部の発現が、自然条件で飼育しているゴマアイゴの間脳において月周リズムを示すことが明らかとなっている。とりわけ、*Cry3*は明確な日周リズムは示さないものの、その発現が新月付近で高く満月付近で低くなる明瞭な月周リズムを示す（図2）<sup>16,17,18</sup>。この *Cry3*の月周リズムは、新月から2週間、月光の無い恒常新月条件においても維持されるが<sup>17</sup>、2カ月間、恒常新月条件で飼育すると消失する。前述の飼育実験において、ゴマアイゴが2週間を超える恒常新月条件では産卵しないことも考慮すると、ゴマアイゴの月周性産卵リズムは砂時計型のタイマーによって生み出されており、*Cry3*がその状態変数かアウトプットとして組み込まれていると考えられる（図3）。また、*Cry3*の発現が、1晩のみ人工月光を与えても影響しないことから<sup>16</sup>、この砂時計型タイマーは一定期間の連続した月夜によって駆動するのだろう。

### 3. 潮汐性産卵リズム

沖縄周辺の潮汐周期は約12.4時間なので、潮の干満は毎日50分ずつ遅れてくることになる。そのため、魚の採集を数日おきに同時刻におこなうと、干潮、上げ潮、満潮、そして下げ潮の時刻の魚の生殖腺の状態を把握することができる。沖縄のサンゴ礁における普通種であるミツボシキウセン (*Halichoeres trimaculatus*) の雌を数日おきに午前9時に採集し、卵巣の発達を組織学的に観察した結果、干潮付近では卵黄形成盛期にまで発達した卵母細胞と成熟を開始した卵母細胞（核移動期）が確認できた<sup>19</sup>。上げ潮付近でも成熟期の卵母細胞が観察できたが、満潮付近では排卵後濾胞と卵黄形成初期の未成熟の卵母細胞のみが認められるだけであった。次いで、採集する潮を

#### (A) 短期月光遮断



#### (B) 長期月光遮断

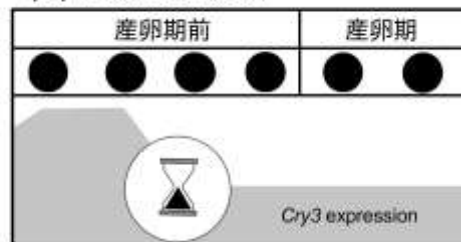


図3 短期月光遮断 (A) を行った場合と長期月光遮断 (B) における *Cry3*の変動。産卵期における *Cry3*の変動は、産卵期前における長期の月光操作によって影響をうける。

満潮に固定し、様々な時刻に魚を採集した結果、卵巣発達は午前中の満潮時刻（9：00）にピークを示すことが判明した。この結果は、ミツボシキウセンはほぼ毎日産卵するが、午前中の満潮時刻にあわせて産卵していることを示している<sup>19</sup>。多くの熱帯性のベラ類は潜砂行動を伴う明確な日周活動を行うことが知られており、日の出時刻にあわせて砂から出てきて摂餌や生殖を活発に行うが、日の入り時刻が近づくと砂に潜ってしまう<sup>20,21</sup>。ハワイで多く見られるベラ科魚類（*Thalassoma duperrey*）でも満潮時刻にあわせた毎日産卵が見られるが、この種の産卵時刻は満潮時刻にあわせて毎日ほぼ50分ずつ遅れてくる。潜砂時刻が迫ってくる夕方には満潮でも産卵せず、翌朝の満潮付近に砂から出てきて産卵することが報告されている<sup>22,23</sup>。このようなことから、ベラ類の産卵にみられる潮汐リズムは潜砂等の活動にみられる日周リズムと密接に関連している可能性がある<sup>2</sup>。

ミツボシキウセンの時計遺伝子（*wPer1* と *wPer2*）をクローニングし、脳と胸鰭における両時計遺伝子の発現変動と日周活動との関連を調べた。明暗条件（LD=12:12）で飼育したミツボシキウセンの *wPer1* は明期開始前に、そして *wPer2* は明期開始後にそれぞれピークを示した。恒暗（DD）条件下で飼育したミツボシキウセンでは、*wPer1* の発現は概日変動を示したのに対し、*wPer2* の発現は変動しなくなった。ミツボシキウセンの活動を DD 条件下で観察すると、潜砂を含む日周性の活動リズムを示すが、砂から出てくる時間は毎日少しずつ遅れてくる。それに合わせて *wPer1* の発現ピークも毎日遅れた。一方、*wPer2* の発現は DD 条件下では抑制されたが、LD 条件に戻すと、明期開始後にその発現が上昇した<sup>24</sup>。このように、*wPer1* と *wPer2* は本種の日周リズム

に重要な働きを持つことが考えられるが、これらの遺伝子が潮汐性の産卵リズムに関わっているのかについては現在不明である。

ドーパミンは魚類において生殖腺刺激ホルモン放出抑制因子として働き、脳下垂体からの生殖腺刺激ホルモンの分泌を抑制する場合がある。ボラ（*Mugil cephalus*）では、Domperidone（ドーパミンの拮抗剤）の単独投与もしくは生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンアナログとの併用投与することで、卵形成や産卵が促進されることが報告されている<sup>25</sup>。また、ルリスズメダイ（*Chrysiptera cyanea*）では、1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine（MPTP）で処理すると、脳内ドーパミンやドーパミン代謝物（3,4-dihydroxyphenylacetic acid；DOPAC）の量、ならびにドーパミン代謝率（DA/DOPAC）が減少すると共に、人為的に退縮させた生殖腺が再発達した<sup>26</sup>。ミツボシキウセンに水深3mの水圧を3時間もしくは6時間付加し、脳内のドーパミン量及びDOPAC量を測定した結果、水圧を付加した魚のドーパミン代謝率が減少した<sup>26</sup>。さらに、水圧を付加した魚の卵巣片をhCGの存在下で培養した結果、成熟誘起ステロイドホルモン（DHP や 17 $\alpha$ , 20 $\beta$ , 21-trihydroxy-4-pregnen-3-one）の産生量が増加した<sup>28</sup>。水圧はドーパミン代謝率の変動を介してHPG軸からのホルモン分泌を調節している可能性がある。

脳内ドーパミン量とDOPAC量の日内変動を測定した結果、ドーパミン代謝率が明期に高く暗期に低くなった<sup>27</sup>。さらに、メラトニンを投与することにより、ドーパミン代謝率は減少した<sup>27</sup>。以上の結果から、脳内ドーパミン代謝率は水圧の影響にある潮汐周期とメラトニンの影響にある日周期の両方に応じて変化を繰り返すと考えられる（図4）。

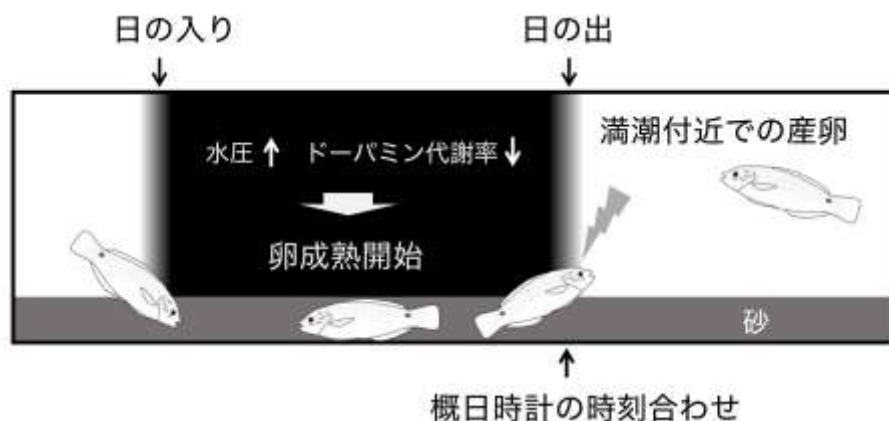


図4 ミツボシキウセンの日周活動と潮汐性産卵の関係性。日の入り前に潜砂し、砂中で定位している時に水圧変化を受けた場合には脳内ドーパミン代謝率が変化し、生殖内分泌軸が活性化されることで卵母細胞の成熟が開始して排卵に至る。日の出時刻にあわせて砂から出てきて、満潮付近で産卵を行う。

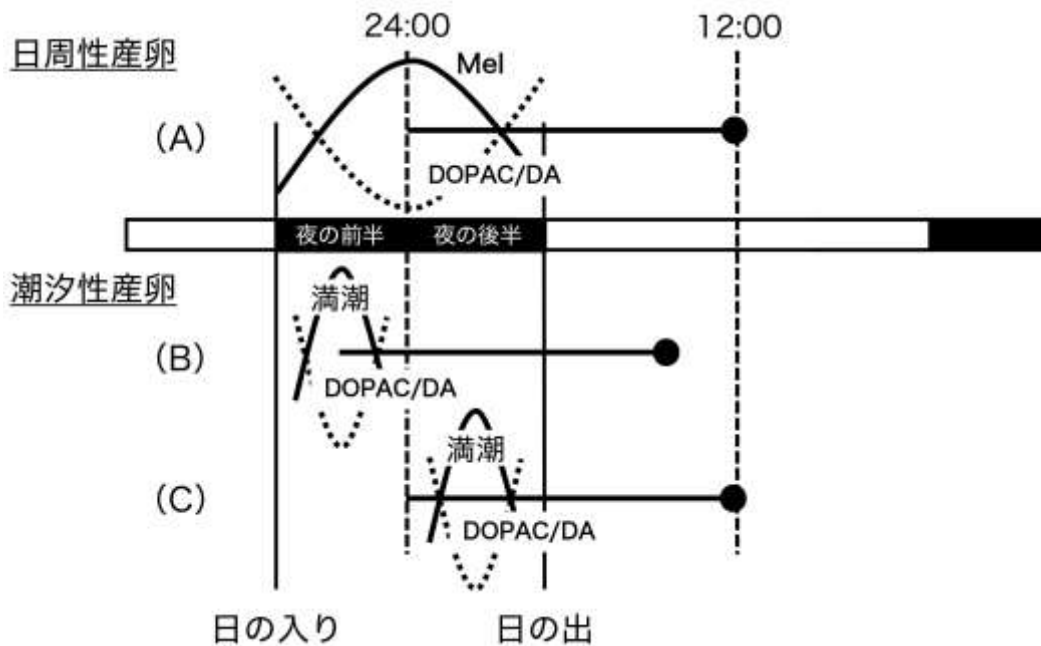


図5 ミツボシキュウセンの潮汐性産卵の制御機構の仮説。産卵のタイミングを(●)で示す。

(A) 潮汐刺激が無い場合：メラトニン (Mel) の増加に伴い、脳内ドーパミン代謝率 (DOPAC/DA) が低下し、生殖内分泌軸が活性化される。そのため毎日決まった時間に産卵する。

(B) 夜の前半に満潮が来る場合：水圧変化によって脳内ドーパミン代謝率が低下し、生殖内分泌軸が活性化される。そのため、潮汐性の産卵が行われる。

(C) 夜の後半に満潮が来る場合：日周性の脳内ドーパミン代謝率が優先されるため、潮汐性の産卵を示さず、毎日決まった時間に産卵する。

ミツボシキュウセンの潮汐性産卵リズムの時刻あわせに関しては、以下の様な説明ができると思われる(図5)。

- ① ミツボシキュウセンは日没前に潜砂する。
- ② 潜砂開始とともに血中メラトニン量は増加し始める。メラトニンの影響により日周期に対応して脳内ドーパミン代謝率が変化する。
- ③ 潜砂中には潮汐変動にともなう水圧変化をうけ、潮汐周期に対応して脳内ドーパミン代謝率が変化する。
- ④ 満潮が夜の前半に来る場合、潮汐性の水圧の影響が日周性のメラトニンの影響より先に起こる。そのため潮汐性の脳内ドーパミン代謝率の低下によって HPG 軸が刺激され、卵黄形成以降の卵成熟過程を開始し、半日ほどかけて卵成熟を完了する。その結果、産卵が午前中の満潮付近に行われる。
- ⑤ 満潮が夜の後半に来る場合、日周性のメラトニンが潮汐性の水圧より先に影響する。そのため日周性の脳内ドーパミン代謝率の低下によって HPG 軸が刺激され、卵成熟が開始し、半日ほどかけて卵成熟を完了する。その結果、正午頃には産卵を終えるため、産卵に潮汐性が反映されない。

以上の仮説に基づくと、熱帯性のベラ類にみられる潮汐性の産卵リズムは、魚が潜砂した場所の環境条件(水温や深さ)や潮汐条件(小潮や大潮などの水圧条件)の影響を大きく受けることが予想される。

#### 4. おわりに

我々は、沖縄のサンゴ礁海域に生息するゴマアイゴ、カンモンハタ、さらにはミツボシキュウセンを実験対象種として用い、熱帯性魚類の生殖現象にみられる月周期リズムや潮汐リズムの時刻あわせの解明を試みている。これまでの研究は、月周期リズムの時刻あわせに夜間光の量的変動が関与した時計遺伝子の発現変化が重要であること、また潮汐リズムの時刻あわせは概日時計の制御下にある行動と潜砂環境との相互関係が重要であることを明らかにしている。

近年、月に関連した生物リズムの生理機構研究が無脊椎動物において盛んになりつつある。歩行活動に明瞭な概潮汐リズムを示すマングローブスズ (*Apteronemobius asahinai*) では、時計遺伝子の RNAi や概日時計を司る脳領域である視葉の除去が概潮汐リズムに影響しないことから、これらが概潮汐リズムに重要でないことが示されている<sup>29</sup>。また、甲殻類のスナホリムシの一種 (*Eurydice pulchra*) においても、時計遺伝子の RNAi が概潮汐リズムに影響し

ないことが確認されている<sup>30</sup>。生殖行動に明瞭な概月リズムを示すイソツルヒゲゴカイ (*Platynereis dumerilii*) では、時計遺伝子が概月リズムには関与しない可能性が示されている<sup>31</sup>。イソツルヒゲゴカイでは、ゲノム編集の手法も確立されており<sup>32</sup>、概月リズムを生み出す時計の実体に迫る研究成果が期待される。また、羽化に概半月周リズムを示すウミユスリカ的一种 (*Clunio marinus*) では、羽化の日周リズムに関して、量的形質遺伝子座解析から羽化時刻の地域系統間の違いの原因となる遺伝子の候補が明らかになっている<sup>33</sup>。同様の手法で概半月周リズムに関与する遺伝子を探索することも不可能ではないだろう。月が関係する環境周期に対し概日時計のように普遍的な生理機構が存在するのか、今後、比較研究によって明らかにされることが期待される。

### 参考文献

1. Takemura, A., Rahman, M.S., Nakamura, S., Park, Y.J. & Takano K. Lunar cycles and reproductive activity in reef fishes with particular attention to rabbitfishes. *Fish. Fish.* **5**: 317-328 (2004).
2. Takemura, A., Rahman, M.S. & Park, Y.J. External and internal controls of lunar-related reproductive rhythms in fishes. *J. Fish Biol.* **76**, 7-26 (2010).
3. Pugh, D.T. (Ed) Tides, surges and mean sea-level. John Wiley & Sons (1987).
4. Levy, O. *et al.* Light-responsive cryptochromes from a simple multicellular animal, the coral *Acropora millepora*. *Science* **318**, 467-470 (2007).
5. Lee, Y.D., Park, S.H., Takemura, A. & Takano, K. Histological observations of seasonal reproductive and lunar-related spawning cycles in the female honeycomb grouper *Epinephelus merra* in Okinawan waters. *Fisheries Sci.* **68**, 872-877 (2002).
6. Hoque, M.M., Takemura, A., Matsuyama, M., Matsuura, S. & Takano, K. Lunar spawning in *Siganus canaliculatus*. *J. Fish Biol.* **55**, 1213-1222 (1999).
7. Harahap, A.P., Takemura, A., Nakamura, S., Rahman, M.S. & Takano, K. Histological evidence of lunar-synchronized ovarian development and spawning in the spiny rabbitfish *Siganus spinus* (Linnaeus) around the Ryukyus. *Fisheries Sci.* **67**, 888-893 (2001).
8. Rahman, M.S., Takemura, A., Park, Y.J. & Takano, K. Lunar cycle in the reproductive activity in the forktail rabbitfish. *Fish Physiol. Biochem.* **28**, 443-444 (2003).
9. Rahman, M.S., Takemura, A. & Takano, K. Correlation between plasma steroid hormones and vitellogenin profiles and lunar periodicity in the female golden rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch). *Comp. Biochem. Physiol. B* **127**, 113-122 (2000).
10. Rahman, M.S., Takemura, A. & Takano, K. Lunar synchronization of *in vitro* steroidogenesis in ovaries of the golden rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch). *Gen. Comp. Endocrinol.* **125**, 1-8 (2002).
11. 福永耕大 月周性産卵魚カンモンハタの脳内における生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン遺伝子と時計遺伝子 *Cryptochrome* の月周性変動. 琉球大学大学院理工学研究科修士論文 (2018).
12. Takemura, A., Sri Susilo, E., Rahman, M.S. & Morita, M. Perception and possible utilization of moonlight intensity for reproductive activities in a lunar-synchronized spawner, the golden rabbitfish. *J. Exp. Zool.* **301A**, 844-851 (2004).
13. Takemura, A., Ueda, S., Hiyakawa, N. & Nikaido, Y. A direct influence of moonlight intensity on changes in melatonin production by cultured pineal glands of the golden rabbitfish, *Siganus guttatus*. *J. Pineal Res.* **40**, 236-241 (2006).
14. Park, Y.J. *et al.* Influence of moonlight on mRNA expression patterns of melatonin receptor subtypes in the pineal organ of a tropical fish. *Mar. Genom.* **14**, 67-70 (2014).
15. Maitra, S.K., Chattoraj, A., Mukherjee, S. & Moniruzzaman, M. Melatonin: A potent candidate in the regulation of fish oocyte growth and maturation. *Gen. Comp. Endocrinol.* **181**, 215-222 (2013).
16. Takeuchi, Y. *et al.* Moonlight controls lunar-phase-dependency and regular oscillation of clock gene expressions in a lunar-synchronized spawner fish, Goldlined spinefoot. *Sci. Rep.* **8**, 6208 (2018).

17. Toda, R. *et al.* Hypothalamic expression and moonlight-independent changes of *Cry3* and *Per4* implicate their roles in lunar clock oscillators of the lunar-responsive goldlined spinefoot. *PLoS One* **9**, e109119 (2014).
18. Fukushiro, M. *et al.* Lunar phase-dependent expression of cryptochrome and a photoperiodic mechanism for lunar phase-recognition in a reef fish, goldlined spinefoot. *PLoS One* **6**, e28643 (2011).
19. Takemura, A. *et al.* Role of the tidal cycle in the gonadal development and spawning of the tropical wrasse *Halichoeres trimaculatus*. *Zool. Sci.* **25**, 572-579 (2008).
20. Nishi, G. Locomotor activity rhythm in two wrasses, *Halichoeres tenuispinnis* and *Pteragogus flagellifera*, under various light conditions. *Jap. J. Ichthyol.* **36**, 350-356 (1989).
21. Gekema, M.P. *et al.* Photic entrainment of circadian activity patterns in the tropical labrid fish *Halichoeres chrysus*. *Chronobiol. Int.* **17**, 613-622 (2000).
22. Ross, R.M. Annual, semilunar, and diel reproductive rhythms in the Hawaiian labrid *Thalassoma duperrey*. *Mar. Biol.* **72**, 311-318 (1983).
23. Hoffman, K.S. & Grau, E.G. Daytime changes in oocyte development with relation to the tide for the Hawaiian saddleback wrasse, *Thalassoma duperrey*. *J. Fish Biol.* **34**, 529-546 (1989).
24. Ito-Takeuchi, H. *et al.* Importance of sandy bottoms in coral reefs to the oscillation of daily rhythms in the tropical wrasse *Halichoeres trimaculatus*. *Chronobiol. Int.* **34**, 1014-1025 (2017).
25. Aizen, J., Meiri, I., Tzchori, I., Levavi-Sivan, B. & Rosenfeld, H. Enhancing spawning in the grey mullet (*Mugil cephalus*) by removal of dopaminergic inhibition. *Gen. Comp. Endocrinol.* **142**, 212-221 (2005).
26. Badruzzaman, M., Imamura, S., Takeuchi, Y., Ikegami, T. & Takemura, A. Effects of neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) treatment on ovarian development of the sapphire devil, *Chrysiptera cyanea*. *Fish Physiol. Biochem.* **41**, 61-71 (2015).
27. Takemura, A., Uchimura, M. & Shibata, Y. Dopaminergic activity in the brain of a tropical wrasse in response to changes in light and hydrostatic pressure. *Gen. Comp. Endocrinol.* **166**, 513-519 (2010).
28. Takemura, A. *et al.* Effects of hydrostatic pressure on monoaminergic activity in the brain of a tropical wrasse, *Halichoeres trimaculatus*: Possible implication for controlling tidal-related reproductive activity. *Gen. Comp. Endocrinol.* **175**, 173-179 (2012).
29. Goto, S.G. & Takekata, H. Circatidal rhythm and the veiled clockwork. *Curr. Opin. Insect Sci.* **7**, 92-97 (2015).
30. Zhang, L. *et al.* Dissociation of circadian and circatidal timekeeping in the marine crustacean *Eurydice pulchra*. *Curr. Biol.* **23**, 1863-1873 (2013).
31. Zantke, J. *et al.* Circadian and circalunar clock interactions in a marine annelid. *Cell Rep.* **5**, 99-113 (2013).
32. Zantke, J., Bannister, S., Rajan, V.B.V., Raible, F. & Tessmar-Raible, K. Genetic and genomic tools for the marine annelid *Platynereis dumerilii*. *Genetics* **197**, 19-31 (2014).
33. Kaiser, T.S. *et al.* The genomic basis of circadian and circalunar timing adaptations in a midge. *Nature* **540**, 69-73 (2016).

## 石森國臣論文現代語訳 ～睡眠物質研究の原典～

小林 里帆・桑 和彦<sup>✉</sup>

名古屋市立大学 薬学部・大学院薬学研究科

睡眠物質が覚醒中に増加することで睡眠が生じ、睡眠中に減少するという睡眠物質による睡眠制御の考え方は、現在の睡眠研究においても基盤となっている。これを実験的に証明しようとした研究が、100年以上前に日本の愛知県立医学専門学校（現在の名古屋大学医学部）の石森國臣らによって行われた。この研究は、日本語のみで発表されたため、その後、同様の研究を1913年に行ったフランスの Pieron らが世界でも最初と考えられていたが、このことに気づいた久保田競により、石森らの研究は英訳され、さらに石森の研究者としてのプロフィールとともに英文で発表された<sup>1)</sup>。

この英語訳は素晴らしいものだが、石森の業績を身近にするためには、日本語で簡単に読めることが好ましい。しかし、原文は明治時代の古文で、現代の私たちには簡単に読むことが難しい。そこで、今回、石森論文を現代語に訳して紹介することとした。実験結果そのものは、今の科学の水準から考えれば稚拙で、動物実験もサンプル数が少なく、統計的有意差があるか疑問をいただく部分もある。しかし、導入部では、今から100年前というDNAの構造も解明されておらず、脳波計測もなかった時代に、生理学者や生化学者が、睡眠という現象をどうとらえていたか、また、石森が、いかに科学的発想から、この実験を行ったかがわかり、非常に興味深く、現在でも読む価値が充分にあると考えられる。また、断眠犬と正常犬の脳内物質を比較した実験ではその液性（pH）が異なり断眠で酸性になることを指摘しており、これは100年以上経った2016年になって Nedergaard らのグループにより、覚醒中には脳脊髄液のpHが下がり、さらにイオン組成が変化することも証明された<sup>2)</sup>。

なお、紙幅の都合で、本誌上では、論文の現代語訳の本文の一部のみとして、残りを省略するが、全文と、さらに原文を、インターネット上のPDFファイルで提供するので、是非、ご覧頂きたい。

1. Kubota, K. Kuniomi Ishimori and the first discovery of sleep-inducing substances in the brain. *Neurosci. Res.* **6**, 497–518 (1989).
2. Ding, F. *et al.* Changes in the composition of brain interstitial ions control the sleep-wake cycle. *Science* **352**, 550–5 (2016).

以下、現代語訳。<>内は、現代語訳者による註。

東京医学会雑誌第23号第8号 429–457  
(1909年、明治42年)

不眠動物の脳質中に証明した催眠性物質（睡眠の真因）  
愛知県立医学専門学校生理医化学教室 石森 國臣

睡眠の原因は、脳髓<中枢神経>とりわけ大脳の疲労にあることは、万人の共通認識である。しかし、疲労がどのように睡眠を引き起こすのかつまり「睡眠の直接の原因は何か」という疑問に関し、古くから現在まで、医者は、自分が日々出くわす難治性の不眠症の生理的根拠に基づいた確実な治療法を発見するために、また、哲学者は、精神とは何かを深く究めるためには睡眠の成因の知識が必要と考えるため、あらゆる手段を使って研究を重ねてきたが、誰もが様々な説を唱えるも、その傾向をまとめれば全て想像説<推測>であり、確固たる実験に基づいた定説は存在しない。

睡眠の原因に対して、現在、我々が把握している多数の説の中で、最も推測から遠く、かつ有望なものは、化学的根拠に基づいたもので、さらに、次の2つに分けられる。

#### 1. 脳質内の酸素欠乏に、<睡眠の>原因を求めるもの

既に Alex v. Humbolt (1) によって提唱されて、Job. E. v. Purkinje (2) もこの説を支持し、「睡眠状態は血

<sup>✉</sup> kume@phar.nagoya-cu.ac.jp

液中の酸素が減少する現象」としている。E. Pflüger (3) はこの説を押し広げて、次のように説明している。元来、人間の脳質を組成する物質は絶えず化学的に分解され、炭酸を生み出している。これはとても急速で、爆発的な反応を生じ、それらが諸方に波状の振動を起こすことで、波に触媒された物質がさらなる分解反応を起こす。この現象は脳質への多くの感覚刺激により増加するため、覚醒時にピーク状態となる。しかし、これらが続くと、次第に脳質内の酸素量が欠乏していくため、炭酸生成反応、つまり、反応を誘導する波状振動が弱まると考えられる。意識を次第に弱め、睡眠状態を誘起することで、各種感覚器官の外部からの感覚刺激を断絶し、酸素量の回復を待つことを目的として、睡眠に至る。睡眠中に、脳質の酸素量を増加すれば再び、炭酸の分解反応が開始され覚醒状態へと移行する。E. Pflüger 氏はこの説の証明のためにカエルを用いて実験を行った。その結果、酸素を断絶した場合、カエルに傾眠症状を引き起こし、瀕死状態となったが、酸素を供給し続けると、何の変化も見られないということがわかった。

## 2. 覚醒中に脳質・体内で作られた物質が脳に対して催眠作用を示す

この説は Obersteiner (4) によって初めて提唱され、次のように説明している。

筋肉の収縮時には乳酸クレアチンの様な疲労物質が生じ、筋質に作用することが疲労の原因となることと同じ原理で、脳では覚醒時の様々な感覚刺激により疲労物質を生じ、それらが催眠作用を示す。また、筋肉が安静にすることで蓄積した疲労物質を血行により排泄し、正常状態への回復を計ると同じく、睡眠時も覚醒時に蓄積した睡眠物質を血行により排泄することで、覚醒状態への移行を促進する。Obersteiner 氏はこれらの化学的根拠として興奮状態での神経線維が酸性の反応を表し、中枢神経系の最も主要部位と言われている灰白質も同様に酸性を示すことを挙げている。Obersteiner 氏のこの仮説を実際に試みたのが、Preyer (5) 氏である。氏の実験報告によると、乳酸ナトリウム飽和溶液を人間、動物にそれぞれ皮下注射、もしくは胃内で大量摂取させたところ、常に疲労性の催眠状態を起こし、ついには睡眠状態と何ら差異のない状態になった。また、直接乳酸を与えるだけではなく、腸内に飽和砂糖水を与え酸性物質を体内で増加させても同様の結果が起こった。しかし、Preyer 氏の実験は当時多くの研究者によって再現実験が行わ

れたが、結果はそれぞれ異なるものであり、その真実を証明するものではなかった。

同じくこの説を推奨し、しかしこの現象を他のもので説明しようと試みたのが、J. Hensel (7)、Lahusen (8) らである。Hensel 氏は覚醒時に生成される複数の不燃性の灰分が神経末に蓄積して機械的な影響を及ぼし、レシチン燃焼度を減弱させ、睡眠状態を引き起こす、と証明した。睡眠の本質は(1)レシチン燃焼が弱まり、(2)炭酸や水、その他の燃焼産物を排除し、(3)レシチン新生が再び起こるという 3 段階で引き起こされるというものである。Lahusen 氏によると、我々が覚醒している時、すなわち神経中枢器官の興奮時には、一種の有毒素を生じ、これが神経中枢器官に麻酔的に作用して同時に一種の退行変性物を産生し、これが睡眠を引き起こす。Lahusen 氏以外の Errera (9)、Dubois (10)、Berger u. Loeweg (11)、Bugnion (12)、D. Querton (13) 氏らもまた、覚醒時の酸性物質の一種が中毒性を示すという結論に至ってはいるそうだが、これらの原著を読んではいないので、彼らの主張を説明することはできない。

以上の説は、皆すでに卓越した論拠を所有するといえども、多少の思弁的性質を離れることのできないものばかりであるが、実験上の確証を得ようとする私はこれに対して批評を試みることを省いて、下記実験を持ってして、これらの説明の是非にできる限り応えようとする。

私は、物質の本質がわからない時は、まずその物質そのものに対しての研究を行う必要があるのと同様に、器官（効果器のほう分かりやすい？）に発生する現象の原因・本質の研究にはその器官そのものに対して何か物質や現象を与えるという実験は欠かせないと考える。私の興味である睡眠という現象に関してもまた同じであるべきである。睡眠を誘発している器官は脳質である。それならば睡眠発現の原因を、まず脳に求めるべきである。しかし今までの睡眠研究の中で直接脳に対して実験を行うものはなかった。これまでは自己の想像に求めるか、そうでなければ、他の器官に起こった現象と重ねて脳でもそうであると説明をしてきたが、真実に怪しむことである。脳質のような器官は理化学的構造についても、またその機能においても奥深く奇妙であり、特に睡眠のような未だその性質が詳しく明らかではない現象に対する原因を求めることは、到底なし得ることのできないというような先入観は、多くの人の考えの中心になっているが、これこそが実証を躊躇わせるものである。

本来、生物化学上の理論によれば、体を構成する各種器官に現れる幾つかの生理現象は、その器官の内部で起きた科学現象と相伴うものであり、各器官に生じる現象が変化した場合はその内部での化学現象の変化が相伴う。つまり、ある変化を生じた器官の変化前後の化学構造を比較すれば、必ず変化がある。もしその差を証明し、またその差を生む物質の性状について知れば、これをもって現象の変化に由来する動因を追跡できる。

今話題を戻して、我々の睡眠状態について考えると、睡眠は、覚醒に対応する生活現象であり、その両者が、ともに中枢器官で発生する。

そこで、睡眠状態と覚醒状態の脳質を比較してその間に一定の化学的な差を認め、睡眠発因に対して正当な一定の推測を下し、また更に、その差を引き起こす物質の性状を調べ、これを動物に与えて睡眠様状態を誘起することが可能であれば、睡眠状態に対する原因の研究はもはや到達したと言える。

私は長い間、この方針に従って実験を行うことを最も肝心なこととして捉えてきた。

しかし、その一方で、現在のような不完全な脳科学の知識をもってその理想を貫きとおすのは極めて困難であり、万が一幸いなことに睡眠及び覚醒状態における大脳の化学的な差を証明することが出来たとしても、その差が果たしてどんな物質によるものなのかを研究することは、1日の仕事では到底達成しえないことであると恐れている。また、私がこの研究を施行するにあたり、精細な方向性は全く定まっておらず、この研究を遂行することを躊躇していたが、3年前明治40年の初夏、幸いなことに多数の同志を得、彼らに多大に助けをもらい、ついに、次に述べる実験を行うこととなった。今ここに同志諸君の名前を紹介し、長期におよぶ研究に対する感謝を表したいと思う。

(ここに共同研究者27名前の記載があるが、省略する)

### 【実験方法】

生後同じ年月を経た、同種の動物の同種の器官の化学的構造においても、やはり個体面での差を避けることは出来ず、同種動物の同種器官が互いに異なる時(睡眠・覚醒時)に証明できる構造上の差を断定することが求められる。これより、この研究は、同一動物から、構造の差を示す器官を、色々な機能時に分けて採取し、比較試験を行うのが最も確証を得たる処置と

言うことができる。しかし、我々の知りたいと思っている覚醒時ならびに睡眠時における脳質構造の差を、同一動物の同一中枢器官において究めようとするのは、とても困難であるため、他の順当な方法を選ぶ必要があり、私はこの不可避な問題を補いたいと、様々な苦慮の結果、ついに同じ親、同じ生年月日で、また、生後年数がさほど経っていない動物 とりわけ犬を実験に用いることを決定した。このような場合の動物においては、その親や生年月日が異なっている点を考慮する必要がなく、また老熟しているものを使用した時に比べれば、その個体間に存在する差は極めて少ないものであると考えている。

また、さらに考える必要があることは、睡眠ならびに覚醒状態において試験動物から、その脳質を摘出するタイミングである。人間のような両状態の発現が常に一定であるものにおいては随意にタイミングの良い時を得られるが、睡眠覚醒に定まりのない動物においては、到底このタイミングの選択は望んだものではない。私は、まずこの問題を解決するために、随意に睡眠ならびに覚醒状態である犬の脳質を、睡眠状態における、催眠性の要因を有さないものとし、また、数日間不眠状態においた犬の脳質を覚醒状態における、催眠性要因を有するものとし、両種の脳質を全く同じ方法の元で処置し、これらの化学的成分の差を検証することとした。

★これ以後の実験手法は、省略する

### 【実験成績】

私の実験は二部構成であり、一部は、浸出成分の比較検査、ならびに浸出物質による動物試験を行い、二部では主に、浸出物質による動物試験ならびに催眠物質の分離を試みた。

第一部の実験は、明治40年7月に開始し、実験動物として5対10頭の幼犬を用い、各対のうち半分、つまり(イ)から(ホ)の5頭は随意に睡眠を取り、他の半分、つまり(い)から(ほ)の5頭は不眠状態に置き、その脳質を検査し、次に列挙する結果を得た。

ただしそれぞれのカタカナの幼犬はひらがなの幼犬と対になっており同生年月日同腹から誕生した幼犬である。



	(イ)	(い)
誕生日	明治 40 年 3 月上旬	(イ)と同一日
体重	2830g	2860g(実験開始時) 2810g(死亡直前)
不眠時間数		112 時間 7 月 16 日午後 5 時 ～7 月 21 日午前 9 時
死亡日	明治 40 年 7 月 16 日	明治 40 年 7 月 21 日午前 9 時
脳重	52.5g	57g
脳質反応	極弱酸性	弱酸性
検査用脳質	18.6373g	18.982g
アルコール浸出物		
エーテル可溶分	1.2510g	1.2030g
エーテル不溶分	0.0845g	0.1358g
エーテル浸出物	0.6294g	0.6588g
熱アルコール浸出物	0.1760g	0.1923g
熱水浸出物	0.1555g	0.0628g
不溶物	1.6210g	1.8080g
百分改算数		
水分	78.9272g	78.6129g
固形分	21.0728g	21.3871g
内		
アルコール浸出物	0.4534g	0.7154g
エーテル浸出	10.1433g	9.8030g
熱アルコール浸出物	0.9444g	1.0131g
熱水浸出物	0.8344g	0.3308g
不溶物	8.6973g	9.5248g

★以下、(ロ)(ハ)(ニ)(ホ) と (ろ)(は)(に)(ほ) の組み合わせの結果は省略する。

以上、列挙した各脳質成分の量を睡眠時ならびに不眠時に分けて類表した(百分数)

睡眠時脳質	(イ)	(ロ)	(ハ)	(ニ)	(ホ)
水分	78.9272g	79.1942g	79.9023g	81.8587g	83.1225g
固形分	21.0728g	20.8054g	20.0977g	18.1413g	16.8775g
アルコール浸出物	0.4534g	1.1749g	0.7174g	0.7905g	1.4362g
エーテル浸出	10.1433g	9.3805g	9.0724g	7.1342g	6.3789g
熱アルコール浸出物	0.9444g	0.6886g	0.8925g	0.2295g	0.2981g
熱水浸出物	0.8344g	1.0511g	0.9959g	2.7439g	1.0715g
不溶物	8.6973g	8.5103g	8.4195g	7.2432g	7.2928g

不眠時脳質	(い)	(ろ)	(は)	(に)	(ほ)
水分	78.6129g	78.6893g	79.6016g	83.2170g	
固形分	21.3871g	21.3107g	20.3984g	16.7830g	
アルコール浸出物	0.7154g	0.5814g	0.6141g	0.7748g	0.6936g
エーテル浸出	9.8030g	9.7476g	9.2977g	7.1007g	7.3188g
熱アルコール浸出物	1.0131g	0.9339g	1.1368g	0.3329g	0.3307g
熱水浸出物	0.3308g	0.3491g	1.1898g	0.8680g	0.8806g
不溶物	9.5248g	9.6987g	8.1600g	7.7066g	

(表の一部を省略)

今この表より、水分の量は、(イ)(ロ)(ハ)は、各相対相手の(イ)(ロ)(ハ)に劣るも、(ニ)は(二)に勝り、固形分の量は同じだった。水分量と反対に、アルコール浸出物の量は、(イ)は(イ)に勝るも(ロ)(ハ)(ニ)(ホ)は、(ロ)(ハ)(二)(ホ)に劣り、エーテル浸出物の量は、(イ)(ニ)は(イ)(二)に劣るも、(ロ)(ハ)(ホ)は(ロ)(ハ)(ホ)に勝り、熱水浸出物の量は、(イ)(ロ)(ニ)(ホ)は(イ)(ロ)(二)(ホ)に劣るも、(ハ)は(ハ)に勝り、又不溶物の量は、(イ)(ロ)(ニ)は(イ)(ロ)(二)より多いも、(ハ)は(ハ)より少なく、どちらにおいても全対を通して、同意義上の差を認めることができるものは、熱アルコール浸出物である。すでに、表、この浸出物は、(イ)は(イ)よりも 0.0687 g、(ロ)は(ロ)よりも 0.2453 g、(ハ)は(ハ)よりも 0.2443 g、(ニ)は(二)よりも 0.1034 g、(ホ)は(ホ)よりも 0.0326 g 増加しており、熱アルコール浸出物の量は、全対を通して、もっぱら不眠状態の脳質においてわずかに増加していた。

睡眠覚醒の両脳質間で成分量に一定の差を表すことは本研究で、何よりもまず証明しておかなければならない極めて必要な事項であり、上記の検査より、今や私の暗黒な研究方路に対して、一大な導光を得たものと言っても過言ではない。上記の成績は比較的少数の実験により示したものであり、仮説動物の選択やその他の事柄(方法等)において、評価する人たちがいるとは言っても、直接的にこれを採取して必発の成績とし、これが睡眠発言に対して一定の因果関係を有するものであるということは、未だ断言することは出来ない。これらを断定するために、同種の実験を反復するか、あるいは上記の実験により得た浸出物を動物実験に投与する必要がある。

私はこの事項を確定するために、簡単ではあるが最も確実に行うことのできる後者の方法を選んだ。先立って両種の脳質の熱アルコール浸出物より、温水溶液を作成し、犬の皮下に注射し、その反応を検証した。

### 第一試験(明治 41 年 4 月 1 日施行)

幼犬＝体重 2120g

生後約 3 か月余を経、よく吠えよく声に反応し、とても元気である。

正午、(ハ)の熱アルコール浸出物 0.15 g から得た、温水溶液を腹部の皮下に注射した。

30 分後からしきりに涙を流し、涎を垂らして、時々全身に戦いを起こし、体が明らかに不活発となり、歩行を避けて一箇所に居座り、呼んでも応ずる気配がなく、食を与えても摂食意欲がない様子で、強制的に歩

かせようとする歩調はよろめき、部屋の隅や机の下に逃げ、また放した状態ではすぐに目を閉じて頭を垂れて、しまいに床の上に崩れ睡眠状態に陥った。体勢も、すべて人が睡眠状態と確信する状態となり、これらの様々な特徴は、時間とともに強まり、1 時間あまりを経た時には、無理に(起き上がらせて)床の上に立たせようとしても、目は閉じ絶えず体を揺らして、頭は起き上がれず、鼻を床の上につけ、全身のバランスを失って、前方もしくは側方に倒れ、倒れても再び起き上がろうとする気配もなく、そのまま睡眠状態を維持した。また、片側の足や耳を引っ張りあげて異常な体の位置をとってみても、これに反抗する様子もなく、逆にその体制のまま目を閉じて睡眠をとり、耳の前で騒音を立てる、体を比較的強く打撲しても、完全な覚醒状態とはならず、そのまま放置すると午後 2 時に熟睡より目を醒まし、多尿を漏らして、大量の餌を食べ、しばらく室内を走り、その後再び部屋の隅で深い睡眠状態になった。翌朝この犬を観察してみると、体勢は(実験中と比べて)正常に戻り、前日の試験による影響のようなものは、跡形も認められなかった。

### 第二試験(明治 41 年 4 月 2 日)

幼犬＝第一試験に使用したもの

午前 10 時、(ハ)の熱アルコール浸出物 0.15g より得た、温水溶液を腹部に皮下注射した。

20 分後より、涙や涎を流すも、着眼すべき他の異常を示さず、絶えず室内を歩いて食を求め、睡眠をとることもあったが、軽い音など環境の影響によって容易に覚醒した。

★以下、第三試験から第六試験は、不眠犬と通常犬の抽出物を接種した同様の実験で、省略する。

以上、私が助手たちの観察の下、行った試験は、実に顕著なる成績を表し、不眠状態の脳質に現れた熱アルコール浸出物を注射した時において、明確に分かり得る貪睡眠もしくは熟睡の状態を必ず表し、睡眠状態の脳質に得た熱アルコール浸出物注射時には、仮定した量が前者に対する相当量を超える場合といても、特に睡眠をもってこれに反応するものはなかった。特に試験中に顕著な成績を与えたものは、第一試験であり、外界の影響(刺激)に感覚反応を示さず、どんな異常な位置(体勢)をとっても熟睡し、昏睡状態ととらえられた。また第三試験においては、比較的年のと

った犬を使ったのでその成績に顕著な傾向は見られなかったが、明らかに貪睡眠の状態を示した。

また私が明確にした実験結果は、不眠動物の脳質で得た熱アルコール抽出物中には、睡眠動物の脳質には存在せず、作用が顕著である催眠性物質を含むものであることを証明した。また同時に不眠時の脳質中には、熱アルコールに溶解する物質を増加させ、この増加は催眠作用を有する新生物質によるものであること、ならびに、我々の睡眠は、主にこの物質の影響によって発現するものであることを判定できる運びとなった。

私が熱アルコール浸出物として、睡眠不眠両種の脳質から得た物質は、湿潤状態においては、褐色樹脂のような軟らかい塊で、すこし辛い味であり、比較的顕著な酸性反応を示した。これを乾燥状態にすると、粉々な褐色無定形の硬い塊となった。これを水もしくは温水に溶解させると酸性に反応する淡褐色溶液となり、この中には私が証明した催眠性物質が含まれる、と考えられる。

-熱アルコール浸出物に含まれていると考えられる成分は、主に、加熱によって生じたルプロタゴン (Protagon) の分解産物、特にセレフロデ (Cerebrocide)、レチシン (Lecithin) より生じたコリン (Cholin) グリセリン酸 (Glycerinphosphorsäure) 脂肪酸、コレステリン (Cholesterin)、F. Baumstark (15) が脳質分析中熱アルコール浸出物として得た含有物質、ならびにその他の不明物質であり、不眠脳質中にはこのほかに、私が証明した催眠性物質も含まれ

る。ただし、催眠物質の性状に関しては、後に特に述べるため、ここでは省略する。

★以下、第七試験は省略する

## 結論

上述の多くの実験により証明した、不眠動物の脳質中には、睡眠動物の脳質中には発見できない強力な催眠作用を持つ物質を含むという事実は、われわれ人間における、日常の睡眠現象の原因を解明するものであった。覚醒と名前のついた状態は主に外界からくる諸種の刺激による、間断ない脳質成分の化学的作用を意味し、この作用の結果、常にその中に熱アルコールによって浸出されるある物質、おそらくは、ある種のロイコメインを生じ、これが大脳の神経細胞に対して中毒性作用を及ぼし、その機能を減弱させ、いわゆる貪睡眠状態を引き起こす。この時に同時に外界刺激への減弱または断絶が起り、ついに真性の睡眠に陥るに至る。しかし、睡眠をとれば、脳質中に蓄積した催眠性物質は、随時血行により排泄され、外界からの刺激を待って、再び覚醒の状態に戻る。(完) (明治 42 年 1 月 14 日稿)

(引用文献、引用書籍は省略：原著を参照)

## 時間生物学の実験と理論のはざま

伊藤 浩史<sup>✉</sup>

九州大学 芸術工学研究院

受賞者論文に何を書くべきだろうか。論文と言うからにはわたしがこれまでやってきたシアノバクテリア時計研究のレビューを書くべきだろう。しかし最近の時間生物学会誌にシアノの時計の本質にせまったレビューがある<sup>1,2</sup>。私の行ったささやかな研究をこれらに追加することはあまり気が進まない。

今回「温度と概日リズムに関する理論的研究」というタイトルで賞をいただいた。理論と実験の双方に関心があるわたしがいかにしてできあがったのか、について書く方が昼夜サンプリングに忙しい時間生物学者の息抜きになり、間接的に時間生物学に貢献するかもしれない。以下時間生物学を学び始める少し前から今にいたるまで局所的なエピソードを思い当たるまま書くことにする。過去の研究の話は必要最小限に留めて、参考文献を見て頂くことにする。学会員のみなさまの寛大なお許しを請いたい。

\*

生まれは静岡で、高校までのんびりと育った。ベーシックマガジンのプログラムを親のおさがりのPC98機に書き写して遊ぶことが趣味だった。大学受験に必要な無い生物学の勉強が一番好きだった。

\*

東工大の電気情報系に入学した。インターネットというものが面白いらしいということにみなが気づき始めた頃である。これからは計算機の時代だ、と田舎の少年は思っていたし、子供の頃から計算機に触れてきた、という自負もあったからだ。でも入学して周りを見まわしたら、自分の知識の浅さを思い知らされた。そこには真のオタクたちがいた。彼らはインターネットに以前から親しんでおり、ソフトウェア・ハードウェア双方の知識をもっていて、ある人はアセンブラを書いてマイコンを自在にあやつり、ある人はプログラミングコンテストに出場して腕を磨いていた。今から思えば、他人と比較している時点でだめなのだが、入学直後に本物のオタクを見たショックで田舎の少年

は急速に自信を無くした。環八そばのアパートに向かってとぼとぼ歩きながら、生物系に鞍替えすることを考えた。幸い2年生から学科所属だったので、そういう方向転換もまだ可能だったのである。

\*

1年生の生物学の授業は木曜1限で本川達夫先生だった。本川先生は生物学を歌で教えることでも有名である<sup>3</sup>。ある時「生き物は円柱形」という歌をいきなり歌われた。もちろん学生達はぼかんとしている。先生は手拍子がない、これだから東工大生はノリが悪い、と私たちを叱った。歌詞の内容は要するに、どんな生き物の形も円柱でできているということである。叱られたことに反発する気持ちに加えて、なんてナイーブな歌なんだ、と思った。そんなことは子供でもわかるし、大学で時間をかけて学ぶようなことではない、と。評判の本川先生の著書「ぞうの時間、ねずみの時間<sup>4</sup>」も読んでみたけれど、ピンと来なかった。

木曜2限は力学だった。ビリヤードでは手玉の上側をつくと前回転(押し玉)し、下側をつくと後ろ回転(引き玉)する。ではどの高さでつくと前回転も後ろ回転もせず床を滑るのか、という話題だった。面白いことに、これは玉がビー玉なのかバレーボールなのか、玉や床の材質が何でできているのか、そこが地球上なのか月面なのか、ということと全く無関係で、玉の直径の7割の高さの地点をつけば良い、と剛体の運動方程式からわかる<sup>5</sup>。これは直感ではとても答えにたどり着かない、鉛筆を走らせて初めてわかる普遍的な事実である。力学の美しさは、生物に行こうと思っていた私を思いのほか感動させた。一人暮らしの大学生にありがちな睡眠相後退症候群の気もあった私は、木曜は2限から行くことにした。

\*

制御工学という分野を2年生から学ぶことにした。これは一言で言えばロボットを動かすための数学を学ぶ学問である。システムのモデル化、線形安定性解

✉ hito@design.kyushu-u.ac.jp

析、フィードバック、なんて単語を学んだ。

制御理論は面白かったが、ちょうどそのころホンダからASIMOというロボットが発表された<sup>6</sup>。ASIMOがきびきびと歩く映像をみて、大学のロボット研究は何をやっているのか、と思った。大学で学んだ倒立振り子とASIMOにはギャップがあるように思うし、その最先端のASIMOだって人のように走ったり跳ねたりできないではないか。驚くべきは(とても高度な数学を使っていると思えない)生物が自在に動いていることの方ではないか。理論は面白いけれど、いまいち金属のかたまりをどう動かすかということには興味を持ってない、などと友人と議論したりしていた。

あるとき制御工学から進学できる研究室リストの中に生物っぽいことをやっている山村雅幸先生(現：東工大情報理工学院)の名前を見つけた。当時山村研はDNAコンピュータを起点として、情報と生物学を組み合わせた研究をやっていた。ロボットから抜け出すチャンスだと思って、修士課程で山村研に入れて頂いた。山村先生の教育方針は「放牧」すなわちテーマを自分で見つけてくる必要があった。ある時神保町の本屋で北野宏明さんのシステムバイオロジーの本<sup>7</sup>を見つけた。そこには制御工学と分子生物学の話が書かれていて、びっくりした。あなたもこれから生物学はじめてもいいんだよ、と背中を押されている気がした。

その本を読む限りはリズムがおもしろそうだった。山村先生に相談したら、生物のリズムと言えば、体内時計と細胞周期がある、あなたはどちらにしますか？と私に聞かれた。生物時計と書かれている教科書<sup>8</sup>を買って読んでみると、フィードバックなどと書いてある。制御工学で親しんだ言葉が載っているこっちの方がよいか、と思った。これは人生最良の選択だった。

\*

修論のテーマは概日リズムの分子ネットワークの推定にすることにした。結果をそろそろまとめようかという頃になると、物足りなさを感じるようになった。この研究は誰のためにやっているのか、ということである。まわり概日リズムの研究者の知り合いがないので、これが本当に役に立つのかはよくわからない。そもそも私は誰かの為に研究をするよりは、何か真理を探りたいのだ、と気づいた(こういう営みにサイエンスという名前がつけられていることは工学育ちの私には気づけなかった)。博士号をちゃんと取るためには、修論の結果をまず早めに論文としてまとめることだと思うが、気力がわかかなかった。修論提出が間近にせまった大みそかの夕方、ラボから理研の上田泰己先生(現：東大)にメールを送った。

上田さんはすぐインタビューをしてくださったが、数理系の研究者はその時必要とはされていないようだった。落ちこんで帰京した私を気にかけてくださった上田さんは、私の携帯に電話をかけて名大理学部近藤孝男先生という方がいるよ、と紹介してくださった。そこにいる岩崎秀雄(現：早稲田大)さんがマイクロアレイの解析を始めているし、計算機が使えるような人は必要とされるはず、と。

\*

東京から転がりこんできた正体不明の学生をありがたく近藤先生は受け入れてくださり、博士課程学生として名大理学部に移った。正確には入試には間に合わなかったので身分は外研究生だった。近藤研ではあたりまえだが上から下までみな概日リズムの研究をしていた。それにスタッフ・ポスドク・博士課程学生がたくさんだった。尊敬できるプロの研究者に囲まれた生活は初めてでありがたく、本当の研究生活が始まった！と嬉しかった。しかし、ゼミはちんぷんかんぷんだった。「*trc*で弱く *kaiBC*を誘導した際の発光リズムと *KaiC* リン酸化リズムの関係を調べています」と聞いても、意図も意味も不明だった。あこがれの概日リズム研究者に囲まれた生活ではあるが、ただ席が近いだけで、遠い存在に思えた。時を同じくして近藤研に来た同級生の高井直樹君(現：横浜市大)は着々と実験を進めて、わずか数ヶ月で時計がなくなる変異体を見つけられたらしかった。私はといえば、岩崎さんらラボメンバーに習い続ける毎日だった。日付も変わろうかという時刻にクリーンベンチで当時修士課程の村山依子さんの指導を受けていた私は申し訳ない気持ちでいっぱいになった。正真正銘学部生以下の無力なD1だった。気軽に名古屋に来たが、闇夜へのジャンプだったのだと気づいた。

\*

ある時背中合わせに座っていたポスドクの中嶋正人(現：近畿大)さんと話をした。研究内容を聞くと *KaiC*のリン酸化反応というものを調べているらしい。同時に中嶋さんに借りた生化学の速度反応論の教科書を読んでみると微分方程式のオンパレードで、実験とモデルの整合性が取れている進んだ分野であることを知った。練習問題として *KaiC*のリン酸化反応のモデルを考えはじめてみたり、中嶋さんから実験を教わったりした。

あるとき速度反応論の教科書で学んだBZ反応という振動する化学反応の話をしていた中嶋さんと私は *KaiA*, *KaiB*, *KaiC*の混合でリズムが出せないかという話になった。というのも、富田淳さん(現：名市大)

が転写翻訳のない暗条件でも KaiC のリン酸化リズムが見られる<sup>9</sup>と研究室内のプロGRESSで発表していたからである。北山陽子さんが少し前に発表した結果<sup>10</sup>をみるとリズムがおきそうな気配もある。しかしたかが3因子といえど濃度を  $n$  種類振ったら組み合わせは  $n^3$  のオーダーで爆発する。同時期にリン酸化リズムに興味を持っていた西脇妙子さん(現: 名大農学部)、今井圭子さん(現: 関西医大)と相談して覚悟して実験を始めたらあっさりリズムが見つかってしまった。

かくして私の publication list は Science<sup>11</sup> からスタートする。これが宝くじを1枚買ったそれが1等だったような幸運だということは、インパクトファクターも時間生物学もよく知らない当時の私にはわからなかった。

\*

岩崎さんとのマイクロアレイの仕事は脇においやり、私はこの KaiC リン酸化リズムの虜になった(ちなみに岩崎さんとの仕事は、だいぶ後になって出版された<sup>12</sup>。研究そのものよりも科学のことも芸術のことも話すのに多くの時間を使った)。席が隣かつ同じ夜型の小山時隆さん(現: 京大)には、KaiC リン酸化リズムの同期現象の論文<sup>13</sup>を書き上げる過程で、論文の書き方から良い生物学のあり方まで大事なことを学んだ。近くでラボを構えていらした八木田和弘先生(現: 京都府立医大)からはのろのろと研究している私をみかねて大学そばの焼き鳥屋で論文書かなあかんと叱咤激励いただいた。近藤先生は、私が数理の話に夢中になると、ひとしきり静かに聞かれた後に、伊藤君まあそれはいいけど実験ですよ、とにこにこ私をたしなめた。先生が言われていた「機械は止めるな」というお叱りの言葉は私のお気に入り、無許可で自分で書いて居室に貼ってある。おりおり先生が発せられる時計研究の昔話を聞くのが何よりためになった。私は門前の小僧として時間生物学を学んでいった。

\*

時間が今よりあったあのころ、お気に入りだった時間生物学の本。

○時間生物学ハンドブック<sup>14</sup>

昆虫・軟体動物・魚類・鳥類・哺乳類の時計の生理学的解析が平等のページ数を割かれて書かれている。数理解析、ヒトへの臨床応用、導入されはじめたばかりの分子生物学も盛り込まれており、時計研究の勃興期の興奮を伝えてくれる本。時計がなにものかはつきりとわからない時代にどのようにアプローチしていったのか、まるで物語を読んでいるような気分になった。

○生物時計 Arthur T. Winfree<sup>15</sup>

位相特異点現象を、数式なしで説明しようという挑戦的な本。リズムの数学的な構造に興味を持っている研究者がそれほど昔からいたことに驚いた。

\*

博士号の元手になる論文<sup>13</sup>が出版されほっとしたころ、北海道で開かれたとあるリズムの理論の研究会に参加した。というのも、当時温度サイクルによる KaiC リン酸化リズムの同期現象に興味をもっていたためだ。位相応答を使って同期を説明するモデルを考え、そのモデルが定量的にも実験によくフィットすることがわかった<sup>16</sup>。しかし近藤先生は私の仕事を見るなり、位相応答を使った同期のモデルは半世紀前に Colin Pittendrigh の作ったモデルであってノンパラメトリックモデルと名前がついていますよ、と指摘された。私は車輪の再発明をしたようだった。さらに調べてみれば、Pittendrigh の学生だった Winfree が位相モデルという名前で数理の分野として花開かせ、その精神を受け継いで理論物理の分野で大量かつ精密な仕事をしたのが蔵本由紀先生(京大名誉教授)らしい。

その研究会はその蔵本研に近い関係者が集まってリズムや同期の研究の話をしていて、同じリズム研究なのに紙と鉛筆(コンピュータも使っていないようにみえた)で研究をしている人達がいること、どうやらやるべきことはまだたくさんあるらしいこと、に衝撃を受けた。それから時間生物学の実験研究者はサンプリングと解析で毎日よれよれでくたびれているのに、彼らは何てさわやかなのだろう、と思えた(これは隣の芝生を見たことによる誤りで、理論研究者もしばしばくたびれているのはすぐ後に知る)。

この研究会の中でずいぶんと概日リズムに詳しい方がいらした。当時北大でポスドクをされていた郡宏さんだった。

\*

運良く採用された学振 PD はお茶大に開設された郡研で受け入れて頂いた。郡研や近隣のラボのメンバーは紙と鉛筆で仕事をしてきたプロの理論物理学者たちである。私は再度 B4 以下の状況に戻ってしまうことに気づいた。普通の概日リズム研究者よりは数理の知識はあると思っていたが、彼らの積み上げてきた知識と比較したら無視できる微小量である。ラボメンバーが何を言っているかがわからなかったのも、議論を盗み聞いて、調べるということを続けた。例の門前の小僧方式である。位相モデルは奥深く美しい理論だった。何しろ時間生物学者が日夜格闘しているリズムを  $\theta = \omega$  という1つの式であらわしてしまうのだから、

身も蓋もない。位相というバーチャルな量を使っているのに強い説得力があり、まるで抽象絵画のようだと思った。ただし、実験は調べれば何が得られるのか比較的すぐわかるのに対して(もちろんわかって実験ができるようにはならない)、物理の単語は勉強を始めると芋づる式に多数のことを学ぶ羽目になるということだった。数式飛び交うラボミーティングに青息吐息の時は近くの早稲田に駆け込み岩崎さんやそこに集うアーティストとのおしゃべりを楽しんだ。

\*

ある時間生物学会の大会で同世代の研究者である北大本間研の西出真也さん(現：北海道医療大学)東大深田研の吉種光さんと立ち話をした。スター研究者の輝かしい話を学会で聞くのもよいが、もっとリズムの話若者同士でしたいですね、と。この雑談が今でも続く生物リズム若手研究者の集いとなった<sup>17</sup>。第一回に前述の蔵本先生をお呼びした。素晴らしい講演を終えて帰られる蔵本先生の背中越しに「概日リズムの実験研究者にリズムの理論は役に立つのでしょうか」と理論の大家に無遠慮なことを聞いた。蔵本先生はくるっと振り返るや「理論は実験のガイドになると思います。」とだけおっしゃり「では」と去られた。私のその後の経験と照らし合わせてもバランスの取れたまことに正しい指摘に思える。時間生物の実験家の理論に対する態度はしばしば過大評価もしくは過小評価のどちらかに偏りがちな気がする。

\*

よくある時間生物学若手の悩み：リズム研究を続けたいけれどポストが無い。リズムをやりたいければ国外も含めて探すしかないのかなと思っていた頃に、縁もゆかりもない現職の九大の芸術工学というところで助教のポストを得た。ここには人生で出会ったことのない文系の先生方が多数おられた。また文系文化ではスタッフが複数いる研究室はなく、助教から教授まで大学スタッフは常に一人で研究をやるものらしい。この原則はサイエンス育ちの私にも適用された。つまり意図せずいきなりPIになってしまった。スペース、設備、資金、人材、あらゆる面で日本最弱の時間生物学研究室がこっそり福岡に誕生した。

ともあれリズム研究をあきらめずにすんだことは幸運だった。幸い人材の面では一緒にラボで研究して下さるプロの時間生物学者(村山依子さん、関元秀さん)や学生さんが少しずつ増えてきて心強い。論文も少しずつ始まって<sup>18</sup>ようやく理論と実験のはざまに自分の時間生物学を見いだしつつある。また九州山口沖縄リズム研究会というのをここ数年九大農学部の

安尾しのぶさんと企画している<sup>17</sup>。参加者の研究内容もモチベーションもバラバラなのに、刺激をいつも受けている。

\*

最近フランス・Universite Grenoble AlpesのIrina Mihalcescuさんの研究室に断続的に8ヶ月ほど滞在した。彼女は2004年に世界で初めてシングルセルレベルで概日リズムを見た物理学者である<sup>19</sup>。期せずしてPIになってしまった私が青春を取り戻すための遅い留学だった。時間生物学の会議で見かけない彼女のところに行ったのは、時計+物理+ピアノというきわめて稀な組み合わせで研究をしていて馬が合ったこと、人生の中でヨーロッパに、それもごはんの美味しい地域に、住んでみたいという理由だった。実際研究生生活は苦手な英語で四苦八苦し、フランス語の単語も少しは覚えておかねば素敵なレストランであっても食べ物が選べない。でも、この気分は思い当たる節があった。近藤研・郡研にいったときと同じだった。あれは留学だったと考えれば、言葉で苦労したこと耳学問を通してゆっくりその文化になじんでいったこともうなずける。フランス語を学ぶには私の能力も滞在時間も足りなかったが、少しの研究成果と物理と生物のはざままで私同様にもがいている何人かのフランス人研究者の知己を得たこと、紅茶派のわたしが仕事前のコーヒーのおいしさに目覚めたことが収穫だった。

\*

いくつかのラボに”留学”し、そのたびに落ちこぼれ、九州に漂着した私は、学問的に無国籍になっていったようだ。その証拠に、しばしば理論研究者には実験の人ですね、実験研究者には理論の人ですね、なんて言われて寂しい思いをしている。しかし私の考えでは、時間生物学の巨人たちは、例外なく実験理論両方に関心があった。いま自分の向かう方向はサイエンスとして意味があるのか、と自問する時に、似た疑問を巨人たちの論文の一節に見いだして勇気づけられた経験はいくたびもある。そういう意味で時間生物学は寄り添ない私が頼りにする安息の場所である。

今回そんな難民である私に賞を与えて下さった事は大きな励みでした。今回の受賞に関して、選考委員会の先生方のご尽力に感謝申し上げます。私をここまで導いて下さった指導教員の先生方・山村雅幸先生、近藤孝男先生、郡宏さんに感謝申し上げます。本文中に名前を出せなかった方にも多数お世話になっている。特にこれまでのラボメンバーに感謝申し上げます。時間生物学という大変楽しい研究分野を作ってく下さった過去の時間生物学者たち、そして学会として今なお

支えてくださっている理事会ならびに会員の皆様に感謝申し上げます。

時計なんてもうほとんどわかっちゃったでしょう、なんて意地の悪く分野外の人に言われることもある。いいえ生物学—不思議なことがありますよ、と間髪入れず言い返すことにしているのは、私なりの分野への恩返しである。それにこれまでの時間生物学会での観察によれば、このような気分は決して私だけの特殊事情ではなさそう。時間生物学はヒトの情熱をかきたてる、と思う。

\*

最近大阪への出張の際に博多駅の本屋で「ゾウの時間ネズミの時間」の新装版を見つけた。新幹線の中で読み始めたら、20年前とは違い染み入るように本川先生の気持ちがわかった。この本は要するに有象無象の生命現象の中にひそむ普遍的規則を見つけようという試みなのである。それはナイーブどころか、私の現在の研究方針そのものだった。胸を熱くして窓の外をみたら、新幹線はちょうど新大阪駅を出発し京都へ向って動きはじめたところだった。

#### 参考文献

1. 伊藤 (三輪) 久美子. 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. *時間生物学会誌「時間生物学」* **24**, 23-29 (2018)
2. 秋山修二, 古池美彦, 向山淳. 変化し続ける概日時計研究のかたち. *時間生物学会誌「時間生物学」* **24**, 92-99 (2018).
3. 本川達夫. *歌う生物学 必修編 阪急コミュニケーションズ* (2002).
4. 本川達夫. *ゾウの時間 ネズミの時間* 中央公論社 (1992).
5. 戸田 盛和 *力学 (物理入門コース1)* 岩波書店 (1982).
6. Sakagami, Y., R. Watanabe, C., Aoyama, S., Matsunaga, N. Higaki, and Fujimura K., Proc. IEEE/RSJ Int. Conf. on Intelligent Robots and Systems (IROS'02), 2478–2483 (2002).
7. 北野宏明 *システムバイオロジー—生命をシステムとして理解する* 秀潤社 (2001).
8. 石田直理雄 *生物時計のはなし—サーカディアンリズムと時計遺伝子* 羊土社 (2000).
9. Tomita, J., Nakajima, M., Kondo, T., & Iwasaki, H. No transcription-translation feedback in circadian rhythm of KaiC phosphorylation. *Science* **307**, 251–254 (2005).
10. 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).
11. Nakajima, M. et al. Reconstitution of circadian oscillation of cyanobacterial KaiC phosphorylation in vitro. *Science* **308**, 414–415 (2005).
12. Ito, H. et al. Cyanobacterial daily life with Kai-based circadian and diurnal genome-wide transcriptional control in *Synechococcus elongatus*. *PNAS* **106**, 14168–14173 (2009).
13. Ito, H. et al. Autonomous synchronization of the circadian KaiC phosphorylation rhythm. Autonomous synchronization of the circadian KaiC phosphorylation rhythm. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **14**, 1084–1088 (2007).
14. *時間生物学ハンドブック* (千葉喜彦 & 高橋清久 編). 朝倉書店 (1991).
15. Winfree, AT. *生物時計 (SAライブラリー)* (鈴木善次, 鈴木良次訳) 東京化学同人 (1992).
16. Yoshida, T\*, Murayama, Y\*, Ito, H\*.(共同第一著者), Kageyama, H., & Kondo, T. Nonparametric entrainment of the in vitro circadian phosphorylation rhythm of cyanobacterial KaiC by temperature cycle. *PNAS* **106**, 1648–1653 (2009).
17. 西出真也, 伊藤浩史, 小川雪乃, 小野ひろ子, 中道範人, 吉種 光. 生物リズム夏の学校世話人より お礼と報告. *時間生物学会誌「時間生物学」* **16**, 14-16 (2010).
18. 伊藤浩史, 安尾しのぶ. 九州山口リズム研究会 第二回開催報告. *時間生物学会誌「時間生物学」* **19**, 53-56 (2013).
19. Mihalcescu, I., Hsing, W. & Leibler, S. Resilient circadian oscillator revealed in individual cyanobacteria. *Nature* **430**, 81–85 (2004).



# 気分障害に対する時間生物学的治療の有効性と 治療反応予測因子の開発

鈴木 正泰<sup>✉</sup>

日本大学 医学部 精神医学系 精神医学分野

## 1. はじめに

この度は、第 16 回日本時間生物学会奨励賞（臨床・社会部門）を賜りまして誠に有難うございます。大変名誉ある賞を受賞でき光栄であるとともに、身の引き締まる思いです。

これまで私は、うつ病や双極性障害（躁うつ病）などの気分障害に対する時間生物学的治療の研究に従事してきました。本稿では、私がこの領域の臨床研究に従事するに至った経緯とともに、一連の研究で得られた成果についてご紹介させていただきます。

## 2. 研究活動の原点

私は、2002 年に医師となり、直ちに精神科を専攻しました。2 年間の臨床研修ではあらゆる精神疾患の症例を経験しましたが、その中で最も興味を惹かれたのは双極性障害でした。私が研修をしていた 2000 年代初頭は、双極性障害患者の気質（temperament）に関する研究が 1 つのブームになっており、その特徴として創造性の高さに注目する研究者がいました。学生時代、音楽や美術が好きで、創造性と精神病理との関連に興味をもったことから精神医学を志したこともあり、私はすぐにこの疾患に心を惹かれました。

その後、多くの双極性障害患者の臨床に携わる中で、疾患の周期性にも関心を持つようになりました。双極性障害では、気分が高揚し活動的となる躁状態と理由もなく塞ぎ込む抑うつ状態が繰り返し出現します。季節性を伴う患者も多く、躁状態は夏に出現しやすく、抑うつ状態は冬に出現しやすいことが知られています。また、双極性障害の女性では、同じく周期性に症状が出現する月経前不快気分障害の合併率が高いことも報告されています。このようなことから、リズムに関連した何らかの問題がこの疾患の病態のコアな部分にはあるのではないかと漠然と考えるようになりました。

## 3. 双極性障害治療の課題と新世代断眠療法との出会い

双極性障害の急性期治療の中心は薬物療法です。躁状態は比較的薬物療法に反応しやすいのですが、抑うつ状態は薬物に反応しにくく、治療に難渋することが少なくありません。重症例については、脳を電氣的に刺激しけいれん発作を誘発する電気けいれん療法（近年は筋弛緩薬を投与し脳波上のみでけいれん波を誘発する修正型電気けいれん療法が主流）の有効性が確立しており広く普及しています。しかし、中等症以下の症例については確立した治療法はなく、現在も種々の薬物を組み合わせたり、精神療法を強化するなどして手探りで治療が行われています。抑うつ状態の遷延によって休職期間が長期化する患者も珍しくなく、何か良い治療法はないかと考えていたところ、2011 年に転機が訪れました。

京都で世界睡眠学会が開催され、そこで気分障害の時間生物学的治療の第一人者である Francesco Benedetti 先生の講演を聴く機会がありました。以前より、夜間を眠らないで過ごすことにより抑うつ症状を改善する断眠療法については興味をもっていましたが、実施方法の詳細が分からず実践したことはありませんでした。講演の中で Benedetti 先生は、断眠療法の弱点であった効果の持続性の問題を克服するために、高照度光療法と炭酸リチウムを併用する新しい治療プロトコルを紹介され、断眠療法は日常臨床で使用可能なレベルまで来たことを強調されていました。

断眠と高照度光を用いた生体リズム操作による治療は、双極性障害の病態に何かしらのリズムの異常を想定していた私には大変魅力的に映りました。講演後、内山真先生に Benedetti 先生を紹介して頂き、実際の治療を見せて欲しいと早速お願いしました。

✉ suzuki.masahiro94@nihon-u.ac.jp

#### 4. 時間生物学的治療の実践と課題

翌年の2012年、私はミラノにある San Raffaele 大学に1ヶ月滞在し、断眠療法の実施法について学びました。患者さんの多くは英語を話さないため、診察の見学の際には英語が堪能な若手医師が通訳をしてくれました。同大学が開発した1週間の治療プロトコルでは、断眠の抗うつ効果を強化するために、1日おきに3回全断眠（夜間を全く眠らないで過ごす）を行います（図1）。また、初回断眠時より抗うつ効果維持のために高照度光療法を毎朝30分を行います（図2）。私も患者さんと同じプロトコルで1週間を過ごしてみようと思いましたが、初回断眠夜の午前3時頃には耐えがたい眠気に襲われギブアップしてしまいました。不眠が高率に生じる病態でこそ実施可能な治療であることを実感するとともに、自分の睡眠・覚醒リズムが極めて安定していることを強く認識した瞬間でした。

その後、日本で彼らの治療プロトコルを自分の担当している薬剤治療抵抗性の双極性および単極性のうつ病患者に実施したところ、6割以上で反応を認め、

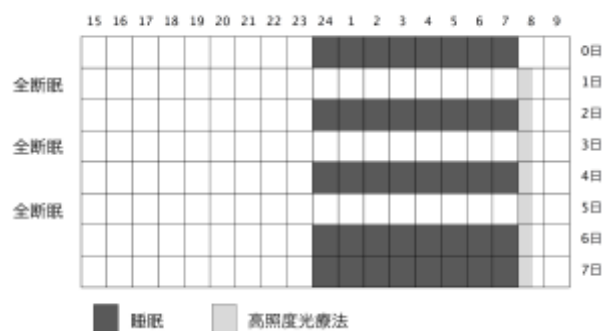


図1 新世代の断眠療法プロトコル。1日おきに計3回全断眠を行い、初回断眠時から高照度光療法（10,000ルクス）を7日間行う。



図2 San Raffaele 大学病院の光療法室（左）。日本大学ではより確実に十分な光量を網膜に照射できるウェアラブル型照射器を現在は使用している（右）。

新世代の断眠療法は気分障害の新たな治療選択肢になるのではないかと期待に大きく胸が膨らみました。しかし、実際に自分で実施してみたことで課題も見えてきました。断眠は極めてシンプルな介入ですが、患者、治療者双方にそれなりの負担がかかります。断眠中、患者は読書やDVD鑑賞などをして過ごしますが、時折スタッフが様子を見に行き、眠気の訴えがある場合には積極的に声かけをしたり、ストレッチを促したりします。元々服用していた睡眠関連の処方薬を中止することで、大部分の患者は覚醒を維持することができますが、あらい難い眠気を訴える患者も時折います。そのような患者については、スタッフが付き添い、院内の散歩に連れ出したりします。反応率6割というのは、精神科の治療法の中ではかなり高い数字ですが、このような手間と負担がかかる以上、好適症例を的確に選択できることが臨床応用の上では必要と感じました。

#### 5. 治療効果の検証

日本で断眠療法の症例をコツコツと集積し、有効性と課題が掘りだしてきた2015年、幸運にも大学の海外派遣研究員として再び San Raffaele 大学へ行く機会を得ることができました。2012年に訪問した際は研修生という立場でしたが、今回は1年間ということで、客員研究員として研究室のメンバーに加わることができます。妻と当時小学2年生の息子を置いての単身留学でしたが、気分障害の時間生物学的治療を牽引する世界的機関で研究活動ができることに心を躍らせました。

渡伊後、始めに行ったのが前述の断眠療法プロトコルの有効性を改めて多数例で検証することでした。留学生生活を開始した翌日には、2002年～2015年の間に

同治療を受けた 200 名以上の膨大なデータを手渡されましたが、データシートの項目は全てイタリア語で記載されています。不足している情報もあり、診療録を当てる必要がありましたが、当然それらもイタリア語で書かれています。手の空いていそうな研究室のメンバー（多くは心理学の PhD student）を見つけては、これはどういう意味かと尋ね、少しずつ必要なデータを収集していきました。嫌な顔一つせずいつも丁寧に教えてくれたメンバーには大変感謝しています。日本語で行なった場合の倍くらいの時間を費やしましたが、ようやくデータシートが完成し解析の準備が整った時の達成感は、日本では味わえないものでした。

データの解析は数日で完了しました。前述の断眠療法プロトコルで治療された 220 名の薬剤治療抵抗性双極性うつ病のうち、67.7%が治療終了時点で反応（50%以上の改善）を示し、54.4%が寛解（ほぼ症状がない状態）に至っていました<sup>1</sup>。通常、抗うつ薬治療では効果発現まで数週間を要しますが、この治療プロトコルでは治療開始から 1 週間で上記の反応・寛解率が得られます。新世代の断眠療法は、即効性の面でも極めて優れていることが改めて明らかになりました（図 3）。

これまで断眠の双極性障害への施行については、躁転（うつ状態から躁状態への移行）のリスクが指摘されてきました。そのため、この治療プロトコルでは、その予防および断眠の抗うつ効果の維持のために気分安定薬である炭酸リチウムを全例で投与します。こうすることにより、躁転率も 1.4%まで下げられることが明らかとなりました<sup>1</sup>。

## 6. 治療反応予測因子の開発

先にも述べた通り、患者にも治療スタッフにもそれなりの負担がかかる断眠療法を広めるためには、事前に好適症例を選択できる必要があると強く感じていました。そのため、留学中には治療反応予測因子に関する研究も行いました。

うつ状態においては客観的重症度と主観的重症度との間にしばしば乖離が生じることが知られています。自身の病状の過小評価は生物学的要因の強いうつ病（内因性うつ病）で生じやすく、過大評価は性格的要因の強いうつ病（神経症性うつ病）で生じやすいと考えられています。現在、気分障害の分類は横断面の症候に基づいて行われるため、内因性、神経症性といった病因論的分類はあまり用いられなくなりましたが、断眠療法研究が開始された当初の 70 年代はまだこのような分類が用いられていました。この頃の文献

を当たると、断眠への反応は神経症性よりも内因性うつ病で高いことが記されており<sup>2</sup>、重症度の主観・客観の乖離から内因性の特徴を定量化する指標を開発することができれば、治療反応を予測できるのではないかと考えました。

この指標の開発にあたっては、日常診療での活用を意識し、実臨床で広く用いられている客観的評価尺度（ハミルトンうつ病評価尺度：HDRS）と主観的評価

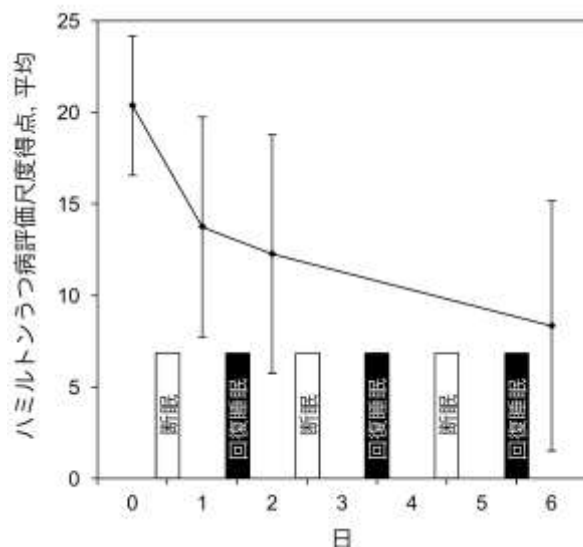


図 3 新世代の断眠療法プロトコルにて治療された 220 名の双極性うつ病患者の抑うつ症状の変化。治療終了時（6 日目）には抑うつ症状の得点が治療開始時の半分以下になる。

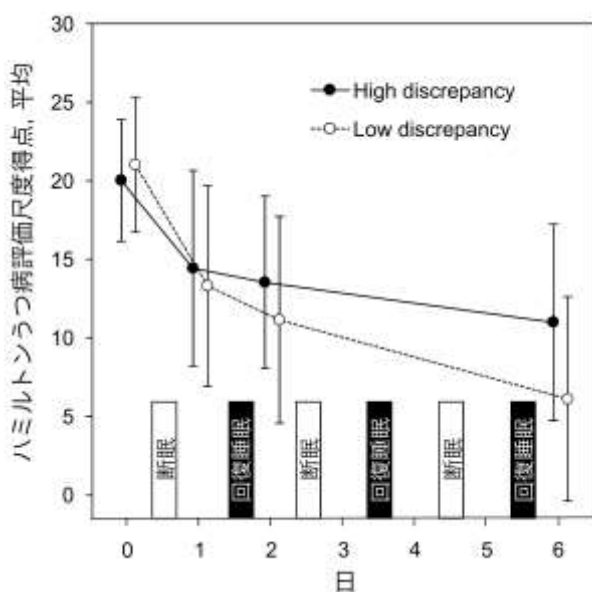


図 4 重症度に関する主観-客観の乖離スコア（HDRS-BDI discrepancy score）を二分した際のそれぞれの群の断眠療法への反応。自身の病状を一定以上に過大評価する神経症性うつ病の特徴を有する患者（high discrepancy 群）はそうでない患者（low discrepancy 群）に比べ、4 倍治療に反応しにくかった。

尺度（ベックうつ病調査票：BDI）を利用しました。これらの重み付けを同等にする補正を加え、両者の差分から重症度の主観・客観の乖離を点数化する HDRS-BDI discrepancy score を考案し、臨床効果との関連を 149 名の双極性うつ病で検討しました。その結果、自身の病状を一定以上に過大評価する神経症性うつ病の特徴を有する患者はそうでない患者に比べ、4 倍治療に反応しにくいことが明らかとなりました（図 4）<sup>3</sup>。HDRS-BDI discrepancy score は簡便かつ非侵襲的に評価できることから、実臨床の場で好適症例を選択するのに有用な指標になると考えられました。

### 7. 重症度の主観・客観の乖離とクロノタイプ との関連

うつ状態における重症度の主観・客観の乖離については、これまで心理学的側面から説明が試みられてきましたが、生物学的背景についてはほとんど検討されなかったことがありませんでした。私は、この乖離が朝方・夜型時間特性、いわゆるクロノタイプに関連する遺伝子多型の影響を受けている可能性があると考え、その検討も行いました。

近年、クロノタイプは、精神的特性にも影響することが示されています。健常者においては夜型指向性が強いほど抑うつ状態を来しやすいことが知られています<sup>4</sup>。また、うつ病患者においても夜型の患者の方が、朝方の患者よりも物事を悲観的に捉えやすいことが報告されています<sup>5</sup>。重症度の主観・客観の乖離も自身の病状をどのように捉えるかという認知の問題によって生じていると考えていたことから、夜型・朝方時間特性に関連する遺伝子多型がこの乖離に関連

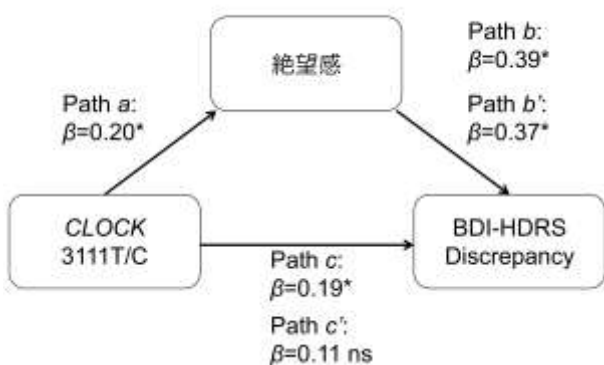


図 5 CLOCK 3111T/C 多型と HDRS-BDI discrepancy score との関係にどのような認知（物事の捉え方）が介在しているかを媒介分析（bootstrap 法）にて検討した。夜型指向性を示す C キャリアの双極性うつ病患者は、そうでない患者に比べ、絶望感が生じやすく、それによって自身の病状を過剰に評価することが明らかになった。

している可能性があると考えました。そこで、夜型のクロノタイプに関連する遺伝子多型（*CLOCK* 3111T/C）<sup>6</sup>と HDRS-BDI discrepancy score との関連を検討したところ、夜型指向性を示す C キャリアの双極性うつ病患者は、そうでない患者に比べ、絶望感が生じやすく、それによって自身の病状を過剰に評価することが明らかとなりました（図 5）<sup>7</sup>。

この結果は、睡眠・覚醒の概日リズム特性に関連する分子機構が、気分障害における絶望感や主観の重症感という精神的特性にも影響することを意味し、精神疾患研究における時間生物学の重要性を示すものと考えられます。

### 8. 臨床経過の検討とそこから得られた作用機序仮説

1 日おきの 3 回の全断眠に高照度光療法を組み合わせた断眠療法プロトコルでは、初回断眠後直ちに寛解に至る患者がいる一方、断眠の施行ごとに段階的に回復する患者もおり経過は多様です。抗うつ薬治療においては、早期の治療反応性は良好な転帰を予測することが知られていますが、同様のことがこの治療プロトコルにおいても言えるかについては明らかにされていませんでした。そこで、先の 220 名のデータベースを用いて、初回断眠への反応性と最終転帰との関連について調査したところ、初回断眠への良好な反応は最終的な寛解を予測し、とくに断眠翌日の回復睡眠後に症状が改善することが治療の成否の上で重要であることが明らかとなりました<sup>1</sup>。この結果から、本治療の主たる抗うつ効果は回復睡眠によってもたらされている可能性が示唆されました。

うつ病では皮質機能の回復に関連した徐波睡眠が減少していることが知られており、本治療の抗うつ効果は断眠による睡眠圧の上昇と、それに続く回復睡眠時の徐波睡眠量の増加によってもたらされている可能性が考えられます。この研究で得られた知見は、恒常性維持機構の賦活を介した皮質機能の回復という新しいうつ病治療の可能性を示すものであり、創薬研究にも寄与する可能性があると考えられました。現在、簡易型睡眠脳波計を用いて、実際に徐波睡眠量と治療反応との間に直接的な関連が見出せるか検証しています。

### 9. 今後の課題と展望

これまでの一連の研究から、複数回断眠に高照度光療法を併用した新世代の断眠療法は、薬物治療抵抗性の双極性うつ病に対して安全かつ有効な治療法であることが明らかになりました。さらに、好適症例を選択

するための治療反応予測因子も開発できたことから、今後新たな治療選択肢として広く活用されることが望めます。しかし、断眠療法に限らず、気分障害に対する時間生物学的治療は臨床精神医学の領域ではまだまだマイナーな治療法であり、80年代に確立した季節性感情障害（冬季うつ病）に対する高照度光療法でさえ、日常診療で用いている施設は世界的にも多くありません。これまでに、学会発表や総説論文の執筆等を通して、その有用性や正しい知識の普及に国内外の研究者とともに努めてきましたが<sup>8,9</sup>、今後さらに広くアピールできればと考えています。

また、断眠療法については未だ不明な点が多く、その解明も重要な課題です。特に作用機序に関しては、これまでに様々な所見が報告されているものの、極めて迅速に発現する抗うつ作用の本質には未だ迫ることができていません。新世代の断眠療法の作用機序の解明は、気分障害の新たな病態生理の解明にもつながるものであり、今後その実態を明らかにできればと考えています。

## 10. おわりに

本稿で紹介した一連の研究成果は、多くの方々のご支援があって得られたものです。気分障害の病態について生体リズムの視点を与えて下さり、時間生物学の基礎からご指導頂きました内山真先生、イタリア留学中多大なるご指導を賜りました Francesco Benedetti 先生には厚く御礼申し上げます。また、これまで私の研究活動を支えて下さった日本大学医学部精神医学系の諸先生方、San Raffaele 大学のメンバーには深く感謝致します。

精神医学において時間生物学的治療を専門とする研究者は決して多くありませんが、今後この分野の研究がさらに活性化するよう、これまで以上に研究活動に邁進するとともに、今後も精神疾患研究における時間生物学の重要性を積極的に発信していく所存であります。

## 参考文献

1. Suzuki, M. *et al.* Does early response predict

subsequent remission in bipolar depression treated with repeated sleep deprivation combined with light therapy and lithium? *J. Affect. Disord.* **229**, 371-376 (2018).

2. Vogel, G. W., Thurmond, A., Gibbons, P., Sloan, K. & Walker, M. REM sleep reduction effects on depression syndromes. *Arch. Gen. Psychiatry* **32**, 765-777 (1975).
3. Suzuki, M. *et al.* Discrepancy between subjective and objective severity as a predictor of response to chronotherapeutics in bipolar depression. *J. Affect. Disord.* **204**, 48-53 (2016).
4. Hirata, F. C. *et al.* Depression in medical school: the influence of morningness-eveningness. *Chronobiol. Int.* **24**, 939-946 (2007).
5. Muller, M. J., Olschinski, C., Kundermann, B. & Cabanel, N. Patterns of self-reported depressive symptoms in relation to morningness-eveningness in inpatients with a depressive disorder. *Psychiatry Res.* **239**, 163-168 (2016).
6. Benedetti, F. *et al.* Actimetric evidence that CLOCK 3111 T/C SNP influences sleep and activity patterns in patients affected by bipolar depression. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* **144B**, 631-635 (2007).
7. Suzuki, M. *et al.* CLOCK gene variants associated with the discrepancy between subjective and objective severity in bipolar depression. *J. Affect. Disord.* **210**, 14-18 (2017).
8. Dallaspezia, S., Suzuki, M. & Benedetti, F. Chronobiological Therapy for Mood Disorders. *Curr. Psychiatry Rep.* **17**, 95 (2015).
9. Benedetti, F. *et al.* Evidence for the Efficacy of Bright Light Therapy for Bipolar Depression. *Am. J. Psychiatry* **175**, 905-906, (2018).

## シアノバクテリアの概日時計で時を刻みつつ

寺内 一姫<sup>✉</sup>

立命館大学 生命科学部

立命館大学にお世話になり、この春でちょうど 10 年になりました。そんなタイミングで「研究室便り」の執筆の依頼をいただきました。思い返せばあつという間の 10 年でした。これを機会に、自分の現状を見つめ直し、また私立大学での研究室の様子をお伝えすることで時間生物学会の会員の方々に少しでもお役にたてばうれしく思います。

私は、大学院生の頃からシアノバクテリアを材料とした研究に携わっており、近藤孝男先生、石浦正寛先生による時計遺伝子の発見というすばらしいご研究にずっと興味をもっておりました。博士課程 1 年生の時、近藤先生が東大でセミナーをされると聞き、研究室がある駒場キャンパスから本郷キャンパスに足を運び、講演を拝聴しました。講演後、「時計の研究に、なぜ *Synechococcus elongatus* PCC 7942 を用いたのですか」と質問したことを今でも鮮明に覚えています。

そのような経緯があり、名古屋で仕事を探すことになった時、迷いなく名古屋大学理学部の近藤研究室の門をたたき、シアノバクテリアの概日時計の研究に携わることができました。2002 年のことです。そして、その 2 年後、Kai タンパク質による概日時計再構成の成功という、大発見の瞬間に立ち会う機会に恵まれました。その後、近藤研をあげてこの *in vitro* 再構成系を駆使した生物時計の生化学的研究に取り組むことになりましたが、この時期の近藤研に籍を置くことができ、研究者としてかけがえのない経験を積むことができたと感じています。この頃、実験をするたびに新しい発見が続き、とにかく「楽しかった」ですが、このようなタンパク質の解析の事例はこれまでになく多くの苦労もありました。折しも、ポストドク問題がクローズアップされ始め、テニユアのポジションを得るのが大変難しくなってきた頃でもありました。年齢や研究者としての経歴を考えると、近藤研から出てテニユアの職を得ることが必須と考え、多数の公募に応募しました。しかし、女性教員を増やそうという追い



風が吹く少し前のタイミングでもあり、厳しい状況が続き、自分はアカデミアで生き残ることができるのだろうかと思悩むことも多かったです。幸いにも、縁あって、立命館大学の生命科学部に着任する機会を得ました。

立命館大学は、京都の大学というイメージがあるようですが、私が所属する生命科学部は京都ではなく滋賀県草津市のキャンパス (Biwako-Kusatsu Campus, BKC) にあります。草津？温泉？と思われ、草津温泉がある群馬県草津町と間違われる方も多ようです。BKC のある滋賀県草津市は、琵琶湖の南東部に位置し、東海道と中山道の分岐・合流の地という交通の要衝であり、東から上洛する権力者たちの歴史舞台となり、現在も JR 東海道本線、新幹線、名神高速道路、国道 1 号線と関東と関西をつなぐ主要幹線が市域を通っています。人口 14 万の草津市は、滋賀県庁のある大津市に隣接しており、立命館大学最寄り駅の JR

✉ [terauchi@fc.ritsumeai.ac.jp](mailto:terauchi@fc.ritsumeai.ac.jp)

南草津駅は京都駅まで新快速で約 20 分程度という利便のおかげで、本学の周辺の人口は増加傾向にあり、特に若い世代の人口が増えています。また、BKC 周辺は、龍谷大学、滋賀医大、京大生態学研究センターがある文教地区となっています。

私が立命館大学に准教授として赴任したのは 2009 年 4 月、生命科学部が開設され 2 年目になるタイミングでした。生命科学部は、「融合型ライフサイエンス教育・研究」を理念とし、化学と生物系の 4 学科で構成されています。学部開設初期に着任したこともあり、まだ多くのことが過渡期にありましたが、元気な学生も多く、彼らと接することで私自身が元気づけられたことも多かったです。

生命科学部では、准教授は教授と同じように PI として独立しており、自分の裁量で何でもできる一方で、すべて独力で行わなければならないという状況は、楽しくもありましたが、研究室の立ち上げはなかなか思うようには進みませんでした。7 年間過ごした近藤研の充実した研究環境とのギャップはことさら大きく感じられ、自分のしていることはまるで研究室の“おままごと”だと自嘲の念にかられることもありました。しかし、一つの研究室を独立して運営する責任の重さを自分に言い聞かせながら今日に至っています。

私の研究室の状況を具体的に紹介したいと思います。PI は自分のオフィスとなる個室と 100 平米程度の実験室 1 室を自由に使うことができます。これらに加えて、遠心機や測定装置など共通設備が設置された共通の実験室、冷蔵室、学生がデスクスペースとして使う部屋が別にあります。少人数の研究室であれば十分なスペースかもしれませんが、当研究室には卒研の学生が毎年 8~10 名程度配属され、大学院生が 6~7 名在籍していますので、スペースはなかなか充分とはいえません。

私が所属する生命情報学科では、PI は助教とペアで研究室を運営できます。着任当時は、学科助手の先生にサポートしていただき、2013 年から助教として浅井智広さんが共同で学生の指導に携わっていただきました。また、今年度からは新たに助教となられた尾上靖宏さんが一緒に時計の研究を始めてくださっています。

研究費は、学生数に応じて学部から配分されます。また、個人研究費や学内競争的資金もあり、これらす

べてを合わせると、仮に外部資金がなくても、なんとかやりくりして研究を継続することができます。現在、国立大学では運営交付金の継続的な減額で厳しい状況が続いていることを思うと少しは恵まれているかもしれません。とは言っても、HPLC や発光測定器など研究に必要な設備を整えるための大型の研究費はなく、研究室内の設備整備には数年を要しました。

現在の寺内研究室（生体ネットワーク研究室）のメンバーは、教授 1 名、助教 1 名、研究補助員 1 名、大学院生 5 名、卒研 9 名です。これまでに、卒研 74 名、修士が 24 名、博士 1 名が当研究室を巣立ち社会で活躍しています。本学部で博士課程に進学する学生は少ないのですが、卒研から在籍した大山克明さんが昨年博士学位を取得したことは寺内研として一つの節目となりました。また、卒研生のうち 12 名が他大学の大学院に進学し、うち 3 名が博士課程に進学しすでに 1 名は学位を取得したと聞いています。少ないながらも研究の道に進む卒業生がいることをうれしく思っています。

このような研究環境で、多くの学生たちと一緒に、シアノバクテリアの概日時計を中心に研究に取り組んでいます。関連する学問分野としては、生化学、生理学、分子生物学、生物物理学と幅広く、多くの共同研究者に助けをもらいながら研究を続けています。

私立大学の教員は、教員当たりの学生数が多い上に教員数も決して多くないため、授業負担が重く、また運営管理など学内の様々な業務量も多く、自分が実験をする時間はほとんどありません。しかし、この原稿が皆様の目に触れる頃、私は名古屋大学の近藤研でピペットマンを握って実験しているはずですが、本学では、学外研究制度いわゆるサバティカル制度があり、それを利用し、近藤先生にお世話になっています。日本ではサバティカル制度がある大学は少ないようですが、本学では、専任教員および助教はこの学外研究制度を利用することができます。サバティカル中は、授業などの学務業務がすべて免除され、久しぶりに研究のみに使える貴重な時間をもつことができ、これから新たに研究展開を図るために充電中です。

今後も、多くの学生たちと、最先端の研究を続けられるよう努力し、人材の育成を通じて社会に貢献できるよう研鑽していきたいと考えています。





## 若手の会

吉種 光<sup>✉</sup>

東京大学 大学院理学系研究科

若手研究者によるリレーエッセイということで、伊藤（浩）さん→伊藤（照）さん→池上さん→平野さん→遠藤さん→榎木さんをつないで、私の手元にバトンが届いた。執筆依頼のメールを見ても、過去のリレーエッセイを読んでも、本当に自由に好きなことを書いて良いようなので、若手の会についてこの約 10 年を振り返りつつ持論を述べたいと思う。

私が生物リズム研究をスタートしたのは、2002 年に卒業研究の配属生として深田研究室の門を叩いた時である。1997 年から 1998 年にかけて哺乳類の時計遺伝子が次々と発見され、転写翻訳を介したフィードバック制御の重要性が記述された。1999 年に大学に入学した私は、研究者としてどのような研究分野に進もうかと考え、人でも直感的に感じることができるよう高次機能に対して分子生物学的にアプローチしたいと漠然と考えるようになっていた。その時に出会ったのが時計遺伝子である。ホットなタイミングに導かれるように、深田研究室のある生物化学科に進学し、卒業研究生として配属されることとなった。その後の研究内容に関しては、昨年の学術奨励賞受賞者論文に詳しく記載したのでそちらを参照していただければ幸いだが、修士課程と博士課程を深田研究室で過ごし、2009 年に助教としてリズム研究を継続することとなった。研究者としての独立を意識して、今後どのようなキャリアパスを展開しようか、目の前の自分の研究や、研究室の学生指導、その他雑用と戦いながら、物思いにふける日々を過ごした。そのような悩みを抱えて参加した 2009 年の日本時間生物学会の年会において、同世代の伊藤浩史さんや西出真也さんに思いをぶつけると、みんなそれぞれ、少しずつ違う環境において、似たような悩みを抱えており、今の気持ちを誰かにぶつけないかという気持ちは共通していることがわかった。そして、今後のリズム研究について議論を重ね、同じ生物リズムを研究している若手の間で議論を交わす機会が定期的に必要だ、という結論になった。

年会が終わった後にも 3 人でメールを重ね、若手主催の研究会開催の可能性について構想を練り上げていった。その過程で時間生物学会のメーリングリストで有志を募り、初代世話人の 6 名（上記 3 名に加えて、中道範人さん、小川雪乃さん、小野ひろ子さん）が集結した。その後、幸運な事に日本時間生物学会の後援を頂き、2010 年の夏に千葉県の見見川にある東京大学の施設にて「生物リズム夏の学校」と名付けた合宿形式の研究会を開催する運びとなった。初めての大規模な研究会の主催ということで、本当に人が集まるのだろうか、予算の収支は大丈夫だろうか、など色々な心配もあったが、最終的には約 100 名の参加者が集まり、手弁当で参加していただいた素晴らしい講師陣にも恵まれ、とても良い研究会になった（図 1）。この時に、世話人として個人的にこだわったのが合宿形式である。日本版ゴードン会議を目指して、食事やお風呂、宿泊部屋においても、ずっとリズム研究の話をする。これは、学会の年会参加ではなかなか得られないレベルの仲間意識が芽生えるきっかけとなり得ると考えている。合宿形式を維持することは世話人にとってかなりな負担となるのだが、ぜひ、継続して欲しいと思う。また、若手の会の一つの特徴となっているのがグループディスカッションである。少人数のグループに分かれて短い時間で全員が研究発表を行い、互い



図 1 第一回 若手の会@見見川の集合写真

✉ stane@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

に質問や相談をする。形式的な質問ではなく、時には本当のダメ出しのようなコメントまで出る。研究室のセミナーのようなスタイルで日本のリズム業界が一体となる場になれば良いと思っている。

個人的には大満足であった生物リズム夏の学校だったが、多方面からも良い評判が耳に届き、また継続して研究会を開いて欲しいという要望もあり、2011年の夏には「生物リズム若手研究者の集い2011」を開催した。夏の学校、という単語が、リズム初心者のためのレクチャーのような印象になってしまうため、もう少し上のステージの研究者を対象に、将来の生物リズム研究について議論する場になれば良いという思いを込めた改名であった。研究のブレイクスルーには異分野の融合、いや人と人との出会いが重要だと思う。一人の研究者が特定の領域のスペシャリストになり、その領域をさらに押し広げようと思った場合、時に、研究の大きなブレイクスルーは研究室の外で生まれる。異分野のスペシャリストとの雑談の中で、または少し離れた分野の論文に出会うことが大きなきっかけとなる。生物リズム、たったこれだけのキーワードで集まった多方面の研究者が互いの研究成果について議論し合い、将来ビジョンを見つける場になってくれることを祈っている。この第2回の若手会において実は一番深く印象に残っているのが合宿所の下見である。第2回の若手会は岡山県で開催したが、その現場確認のために世話人6名（吉種、伊藤、西出の3名に加えて、池上啓介さん、藤原すみれさん、瀧側太郎さん）が合宿所に集結した。ほぼ初対面のメンバーもいたため、自己紹介と現場検証も兼ねて、実際の会場で6名の世話人による講演会を開催した。質疑込みで一人30分程度の予定に対して、みんなの質問ラッシュが止まらず大延長。ほぼ2倍の時間をかけても最後

まで終わらない、とても白熱した現場検証となった。本当はいつも気になっていた本音の質問を同世代でぶつけ合うとても有意義な時間であり、ここでまた、出会いの場の重要性を再認識した。未来の世話人たちにはぜひ、この現場検証を推奨する。若手の会当日のより細やかな対応が可能となることに加えて、世話人の一体感とお互いへのリスペクトが生まれるだろう。

私は2年間の世話人で引退したが、その後、小野大輔さん、中畑泰和さん、村山依子さん、大出晃士さん、池上太郎さん、伊藤照悟さん、土谷佳樹さん、久保田茜さん、畠山哲央さん、武方宏樹さん、楠瀬直喜さん、小林久美子さん、小田昌幸さん、板木大知さん、遠藤求さん、村中智明さん、佐藤美穂さん、吉田雄介さん、石川聖人さん、升本宏平さん、新田梢さん、平野有沙さん、中根右介さん、関元秀さん、と世話人のバトンをつないで、2018年の冬には第9回となる若手の会が日本睡眠学会冬の学校との合同という形式で開催された。次回は記念すべき第10回大会となる。また、2010年の夏からカウントすると2020年の夏で10周年を迎える。何かアニバーサリー企画ができないかと考えているのだが、もはや10年経って、同世代の悩みはラボ運営や研究費獲得などステージが一つ上がり、世話人経験者も豪華な顔ぶれになってきたのではないだろうか。若手の会は10年前の我々と悩みを共有する世代に託し、生物リズム「ミドル」の会を設立する時期が来たのかもしれない。例えば、若手の会の世話人や講師を経験した人だけが限定で参加できる、岡山の現場検証のような研究会が開催できないだろうか。吉種、伊藤、西出の3名に遠藤さんを加えた4名で、現在、ミドルの会の構想中である。これぞというアイデアをお持ちの方はぜひ、お声掛けいただきたい。

## ミラノ滞在記

吉池 卓也<sup>✉</sup>

Psychiatry and Clinical Psychobiology, Division of Neuroscience,  
Scientific Institute and University Vita-Salute San Raffaele, Milan, Italy  
滋賀医科大学 精神医学講座

## 1. イタリアの科学的インパクトと研究環境の不均衡

2017年4月から2年間、San Raffaele Scientific Instituteの精神医学部門に留学する機会に恵まれた。ミラノはイタリア北部ロンバルディア州の州都であり、人口約135万人を擁する。滞在を始めしばらくした頃に、この部門を主宰する Francesco Benedetti 博士が、イタリアは国家研究費が少ないうえ研究者が流出する国なのだと言交じりに嘆いたことがある。

ある国際比較によると、イタリア人研究者のうち約15%が国外に拠点を置いており、主な移民先は、米国、英国、独国、仏国である<sup>1</sup>。しかし、他の欧州諸国も同程度に国外研究者を擁す。ちなみに、日本と米国は移民研究者が最も少ない国に属する (The global diaspora: <https://www.nature.com/news/global-mobility-science-on-the-move-1.11602>)。別の国際比較では、その国の開放性と科学的インパクトの相関が示されている<sup>2</sup>。開放性は、研究者の流入、流出、出入り、国際共著の数から算出されている。これによると、他の欧州諸国と比較しイタリアの開放性は低い。にもかかわらず、イタリアは米国、英国、独国と同水準の高いインパクトをもつ (Open countries have impact: [https://www.nature.com/polopoly\\_fs/1.22754!/menu/main/topColumns/topLeftColumn/pdf/550032a1.pdf](https://www.nature.com/polopoly_fs/1.22754!/menu/main/topColumns/topLeftColumn/pdf/550032a1.pdf))。

イタリアの国家研究開発費は、2008年以降に財政危機に一致し低下した<sup>3</sup>。100億ユーロから一時は2割近くの落ち込みがあった。ところが、この状況と不釣り合いにイタリアの科学的インパクトは過去10年にわたり上昇傾向を保ち、遂には米国、独国に次ぐ高水準に達している (Efficient science: <https://www.nature.com/articles/d41586-018-02223-7>)。2018年3月のイタリア総選挙を控え、政権交代に伴う研究環境の悪化が不安視される中で、この記事はイ

タリアのハイインパクトを happy paradox とし、科学基盤の行く末を悲観的に報じている。

イタリアの研究基盤の危うさはこのラボにも影を落としているようだった。Francescoによると、彼がディレクターに就任した2009年に研究所から与えられたのは、文字通りスペースだけだった。他方、診療(病院)と教育(大学)において十分な責務を負っていた。イタリアのインターンシップは、心理学修士や医学部卒業生の働きに対し無償を常としており、ラボの生産性を支える研修生の研究環境は過酷である。国内には博士課程の募集枠は限られ、私の滞在中にも何人かが他国でこれを獲得し、ラボを離れた。それ故に、このラボのパフォーマンスは強い印象を与える (<http://research.hsr.it/en/divisions/neuroscience/psychiatry-and-clinical-psychobiology/index.html>)。国内外から共同研究者が訪れ、ラボは活気づいていた。

## 2. 時間生物学的治療法の精神医学における到達点 : Antidepressant Chronotherapeutics

2018年5月にミュンヘン大学で The Role of Circadian Biology in Preventing and Treating Pathology が開催された。Anna Wirz-Justice 先生による基調講演があり、各分野のリーダーが一堂に会し、それぞれ10分間の口演を次々と行うという濃密なプログラムであったが、その意図は基礎と臨床の融合であった。チェアを務められた本間研一先生が精神科臨床を通じ概日メカニズムを解く必要性をいち早く見出されたことを知り、チューリッヒ大学 Steven Brown 先生の下で研鑽を積む佐藤美穂先生にお会いすることもできた。この会議で、Benedetti 医師の口演は聴衆に強い印象を与えたようだった。しばらく拍手が鳴り止まなかった。時間生物学の臨床応用の一つが antidepressant chronotherapeutics に結実したこ

✉ yoshiike@belle.shiga-med.ac.jp

とを物語っていた。

**Chronotherapeutics** は、生物リズムに影響する環境刺激への曝露を制御することにより精神障害を治療する介入技法と定義される<sup>4</sup>。1950年代に気分障害患者において確認された、急性断眠がもたらす即時抗うつ効果<sup>5</sup>は、リチウム、セロトニン系抗うつ薬、高照度光照射の併用、もしくは断眠に続く睡眠相前進操作により増強・維持されることが、1980年代以降に明らかにされた<sup>6-9</sup>。これら一連の発見が **antidepressant chronotherapeutics** の臨床的実用性の確立につながった。**Benedetti** 医師はそのプロトコル最適化<sup>10-11</sup> 及び治療反応メカニズムの解明<sup>12-15</sup> に多大な貢献を果たした人物と位置付けられる。

さらに歴史をひも解くと、18世紀末にはすでに **chronotherapeutics** に通じる臨床的推奨が、精神障害の人道的治疗を開拓したことで知られるフローレンス出身の医師、**Vincenzo Chiarugi** によりなされていた。彼はうつ状態や躁状態にある患者のケアにおいて光曝露・遮断を実践していたのだ<sup>16-17</sup> (図1)。精神障害患者を鎖から解放したとして広く知られる **Philippe Pinel** が、パリで精神医療に人道的手法を導入したのが1793年である。まさに同時代に隣接する二つの国で精神医療の近代化が遂行されたのだが、時間生物学的治療法はイタリアにおけるこの改革の流れの中で生まれていた。精神障害は、これを患う個人の体験とその病態が相互に強く影響することが避けられないという性質を持つ。障害の本態を知るうえで不要な心理的反応を制御することは極めて重要な意味を持つ。

### 3. Chronotherapeutics の展開

イタリア滞在中に、光が網膜から視交叉上核を経ず情動に影響する経路が相次いで明らかにされ<sup>18-19</sup>、光と情動の関連は新たな局面を迎えている。光療法の抗うつ効果は1980年代に季節性うつ病において見出された<sup>20</sup>。朝の光照射による概日位相変位は、最も明確な抗うつ効果指標であり<sup>21</sup>、これは視交叉上核に依存的と考えられてきた。しかし、うつ病の多くを占める非季節性うつ病における作用機序を包括的に説明することは困難であった。他方、光が睡眠構造や時計遺伝子発現への影響と独立に、海馬依存的学習やうつ様行動に影響することがげっ歯類で明らかにされていた<sup>22</sup>。

2014年11月、**chronotherapeutics** の現場を一目見たいと思い、私は初めて **Benedetti** ラボを訪ねた。正午付近の高照度光照射がヒトの情動記憶に影響するという前臨床的知見<sup>23</sup> を日本時間生物学会学術大会で発表し、日本を発った。ミラノに到着した夜に、思いがけずポスター賞の知らせを頂戴した。この滞在中に彼に受賞を伝えたところ、急遽同大学神経科学系ジャーナルクラブで発表の機会を頂き、臨床応用へ向けた共同作業が始まった。この流れは留学の後押しとなった。この留学では、予備的な臨床試験のデザインを彼のスーパーバイズの下に行い、恐怖条件づけを精神病理学的特徴とする精神障害において、安全性の再学習を促す手段として光療法の臨床的有用性を検討することとなった。留学を終える頃、**Christian Cajochen** 先生のご厚意により、**Centre for Chronobiology, Psychiatric Hospital of the University of Basel** を訪ね、このテーマで口演をさせて頂いた。

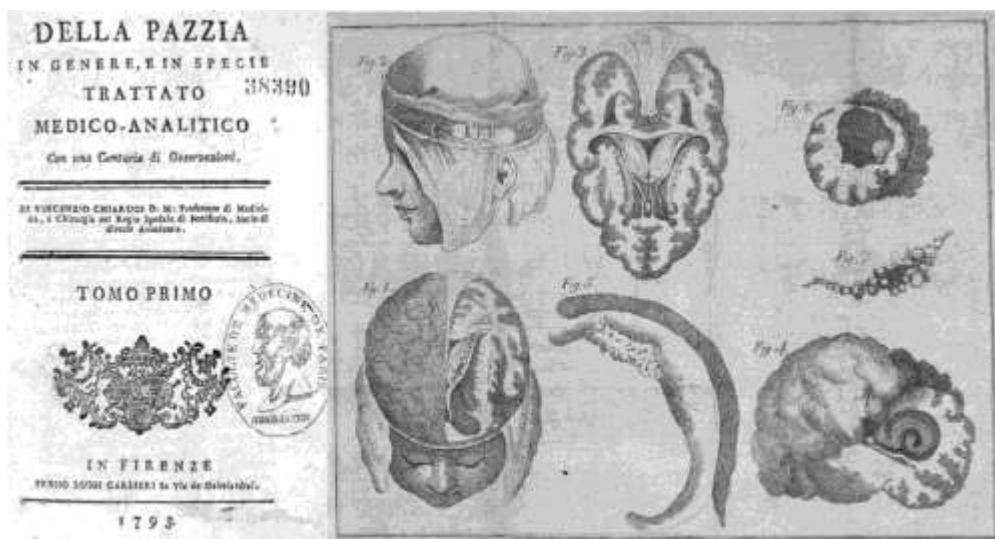


図1. Chiarugi の先駆性を示す3巻にわたる著書『Della Pazzia in genere e in specie (On Insanity and Its Classification)』は1793~1794年にフローレンスで出版された。彼は精神障害の病因を脳に求めた。



図2 美術教師及び芸術家であり双極性障害を患う Elisabetta Ferrario が主治医 Benedetti へ贈った陶芸作品。左は創造的な脳、右は創造性が低下した脳。



写真1 ラボのクリスマスディナー。左から3番目が Benedetti 博士。



写真2 マッジョーレ湖畔、ベルジラーテで同僚のヨットレース観戦。湖水の透明度に驚嘆した。

もう一つ知りたいことがあった。先述の antidepressant chronotherapeutics のうち、覚醒療法（反復性断眠）に光療法・リチウムを併用するプロトコルは、最もよく検討されており、双極性障害抑うつエピソードの第一選択療法として San Raffaele 病院に定着している。ケタミン（NMDA 受容体拮抗薬）に次ぐ即効性がその特徴である。概日振動変化が双極性障害の病態及び治療の鍵になるのであれば、初回断眠中に重要な概日変化が生じるだろうと考えた。概日指標として短時間知覚<sup>24</sup>を用い、治療に伴い生じる時間知覚の概日変動を追った。初回断眠を含む治療初期 24 時間で内的時間が加速するほど治療転帰は良好であった。

#### 4. イタリアと日本の距離：精神障害の普遍性と地域性

留学の終盤、精神医学領域で影響力のある学術誌にイタリアの精神医療が取り上げられた<sup>25</sup>。2018年はイタリアの精神医療にパラダイムシフトをもたらした法律の制定40周年に当たる年だった。これを機に、臨床家としての役割を重んじるBenedetti医師(図2)が、イタリアの財産としてこの歴史を大切にしていることを知った。

まず、比較的近年の国際比較によると、何らかの精神障害の生涯有病率は、イタリア26%、日本24%と似通っており、精神障害の普遍性が窺える<sup>26</sup>。おそらくこの改革が精神障害の予防に役割を持つわけではない。次に、この改革の主導者Franco Basagliaが精神障害を脳の疾患と想定しなかったことは誤りであると言わなければならない。しかし、この40年間にイタリアの精神医療現場で起きた事柄は、精神障害もしくはヒトの認知・行動の可変性を明確に示唆する<sup>27</sup> (<https://www.who.int/bulletin/volumes/96/11/18-216002/en/>)。

入院ケアから在宅ケアへの移行に伴い、精神病床数が減少したのは周知の通りである(図3)。印象的なのは、自殺率は国際的に低い水準を維持したまま、強制入院が半数以下に減少していることである。さらに近年、新たな法律の下で在宅ケアコミュニティを受け皿として組織し、司法精神病院を閉鎖するという、やはり国際的にユニークな改革が遂行された<sup>28</sup>。イタ

リアは入院ケア自体を否定しているのではなく、ここでは総合病院精神科(もしくは刑務所内精神科)にその機能を局在化していることが特徴といえる。こうしたリハビリテーションのあり方を問うイタリアの姿勢は、受刑者と社会の接点においても表現されていることが、映画『塙の中のジュリアス・シーザー Cesare deve morire』から読み取れる。

#### 5. イタリアに垣間見る日本

芸術文化に対する日本の影響は身近なところで感じられた。同僚の多くは私より一回り以上若かった。イタリアではタトゥーが自己表現以外の意味を持つことは基本的にないという。ラボのある研修生は宮崎駿作品の熱烈なファンであり、『トトロ』のキャラクターのタトゥーを入れていた。彼は自分の気質について、仲間から「おたく」と呼ばれていると説明してくれた。別の同僚の友人は、映画『リング』に心酔し、長い黒髪で顔を覆う、メインキャラクターの真似が得意だった。抹茶と中国茶が趣味の同僚もいた。抹茶キットを持ち込んだ私に、逆にお茶を点ててくれた。ラボには村上春樹の小説が何冊も置かれていた。

Francescoはホンダ車に乗り、シチズンの時計を身に着けていた。日本製品の正確性や安定性が有難いのだという。ある休み明けに芥川龍之介の小説が素晴らしかったと話してくれた。彼は同大学で教鞭を執り、精神医学や心理学の講義を広く担当している。それは

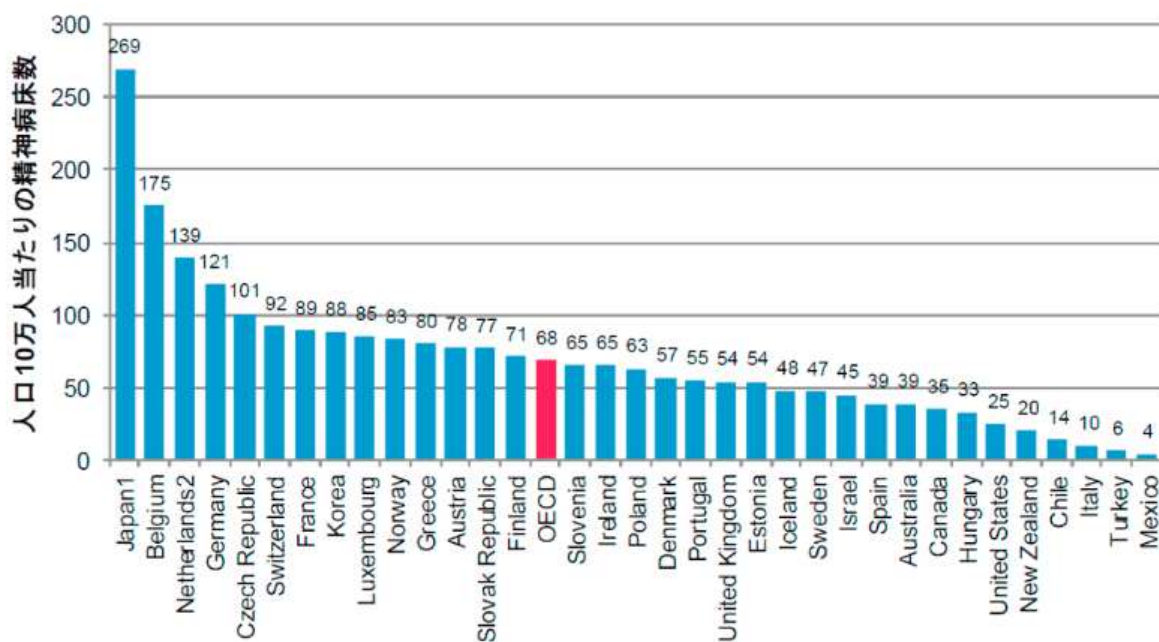


図3 OECDによる精神病床数の国際比較(2011年または至近年)。イタリアは精神病床数が最も少ないグループに属し、日本は最も多い。イタリアには病院と形態が異なる地域住宅施設に46床(10万人当たり)が用意されている。これを考慮しても日本の約5分の1にとどまる。

精神障害の最も深刻な転帰の一つである自殺に関する講義に始まる。そこではイスラム過激派の行動原理などと共に、武士の精神性や行動指針を記した『葉隠』という書物が大战中に特別攻撃隊の心理教育に誤用された経緯が紹介される。「花は桜木、人は武士」と彼が空で言うので驚いた。この書物から七息思案という心得を学んだと言っていた。意思決定の速やかさに関する考え方だが、これはむしろ彼に元来備わる性質のようだった。

一年が経過した頃に、自宅に同僚を招いた。ビザ取得は彼女の働きなしには困難であったし、日々細やかなサポートをしてくれた別の同僚にも感謝していた。といっても、彼女たちが主菜（ビステッカ）とデザート（ティラミス）をふるまってくれ、どちらも素晴らしかった。その後、ビステッカを再現してみたが、本場フローレンス出身の彼女の焼き加減には近づけなかった。文化交流ということで、私は前菜と主菜の一皿目に鯛の昆布締めと鯛めしを用意した。実は初作の昆布締めを歓迎してくれ、米を日常的に食す彼女たちもお焦げが好きなことを知り、親近感を抱いたのを憶えている。

## 6. ビザ取得

イタリアでは法改正が頻繁に行われるらしく、今後とも状況が変わる可能性がある。それでも、もし情報が必要な方がいらしたら、何かしらお伝えできることがあると思う。必要な手続きが明文化されておらず、少なくとも近年は取得可能な場合でも長期間を要すると聞く。留学研究者も変化し続ける移民政策の影響を免れない。かつては必ずしも必要なかった研究施設との雇用契約が、現在ではビザ取得の前提となった。志望する研究施設が当該自治体に対し研究許可（Nulla Osta）を申請できるかは予め決まっている。申請要件を満たすが、事務職員に経験がなく、先の見えないやり取りを余儀なくされる場合もある。

私の場合、新法律下で初の案件と説明された。秘書を持たない Francesco がこの件で奔走してくれた末、「誰もやり方を知らない。法律が新しいからだ。」と驚いていた。冗談のような本当の話であった。同大学を含めイタリア各地で活躍する日本人留学研究者が形成するコミュニティと接点が得られ、実質的な助言を頂き最終段階を通過することができた。感謝に堪えない。指南書が乏しい中『The ヨーロッパ医学留学』は有用であった。

## 7. おわりに

振り返ると2年前、ミラノに到着するや盗難に遭い商売道具（PC）をあっさりと奪われた。彼らはハンティングが上手い。狼狽えた私の被害届を、大家の息子は進んで手伝うと言ってくれた。翌日、彼があまりに時間通りにやって来たので驚いた。シャイでワーカホリックなイタリア人にも少なからず会ったし、陽気とはいえ同僚はそれぞれにストレスを抱えていた。滞在中に、留学経験のある日本の友人が観光がてらラボを訪ねてくれた。ボスの居室が他の部屋とボーダーレスであることに驚いていた。ラボでは縦横に頻繁にコミュニケーションが図られていたことは印象的である（写真1）。同僚は勿論、日本からイタリアに移住した友人たちもイタリアの自然の美しさを称賛しており、観光下手な私もわずかな経験からこれに賛同したい（写真2）。イタリアの良さを知り、日本の良さを再認識する時間となった。

Benedetti博士が私からのダイレクトメールにオープンマインドで応じて下さったのが事の始まりである。滋賀医科大学の山田尚登先生、栗山健一先生には長期の留学を容認して頂いた。私は3人目の日本人としてこのラボに滞在した。前任の鈴木正泰先生には数々の助言を頂いた。北島剛司先生には研究内容に関する示唆を頂いた。駒田陽子先生、吉川朋子先生には貴重な執筆の機会を与えて頂いた。皆様に深く感謝を申し上げ、ミラノ滞在の報告とさせて頂きたい。

## 参考文献

1. Van Noorden, R. Global mobility: Science on the move. *Nature* **490**, 326-329 (2012).
2. Wagner, C.S. & Jonkers, K. Open countries have strong science. *Nature*. **550**, 32-33 (2017).
3. Abbott, A. Italian election leaves science out in the cold. *Nature*. **554**, 411-412 (2018).
4. Benedetti, F. & Colombo, C. Sleep deprivation in mood disorders. *Neuropsychobiology* **64**, 141-151 (2011).
5. Schulte, W. Sequelae of sleep deprivation. *Medizinische Klinik (Munich)* **54**, 969-973 (1959).
6. Baxter, L.R. Jr. *et al.* Prolongation of the antidepressant response to partial sleep deprivation by lithium. *Psychiatry Res.* **19**, 17-23 (1986).
7. Wu, J.C. & Bunney, W.E. The biological basis of an antidepressant response to sleep

- deprivation and relapse: Review and hypothesis. *Am. J. Psychiatry* **147**, 14-21 (1990).
8. Neumeister, A. *et al.* Kasper, S. Bright light therapy stabilizes the antidepressant effect of partial sleep deprivation. *Biol. Psychiatry* **39**, 16-21 (1996).
  9. Benedetti, F., Colombo, C., Barbini, B., Campori, E. & Smeraldi, E. Ongoing lithium treatment prevents relapse after total sleep deprivation. *J. Clin. Psychopharmacol.* **19**, 240-245 (1999).
  10. Benedetti, F. *et al.* Combined total sleep deprivation and light therapy in the treatment of drug-resistant bipolar depression: Acute response and long-term remission rates. *J. Clin. Psychiatry* **66**, 1535-1540 (2005).
  11. Benedetti, F. *et al.* Rapid treatment response of suicidal symptoms to lithium, sleep deprivation, and light therapy (chronotherapeutics) in drug-resistant bipolar depression. *J. Clin. Psychiatry* **75**, 133-140 (2014).
  12. Benedetti, F. *et al.* Influence of a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene on the effects of total sleep deprivation in bipolar depression. *Am. J. Psychiatry.* **156**, 1450-1452 (1999).
  13. Benedetti, F. *et al.* Antidepressant effects of light therapy combined with sleep deprivation are influenced by a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene. *Biol. Psychiatry* **54**, 687-692 (2003).
  14. Benedetti, F. *et al.* Neural and genetic correlates of antidepressant response to sleep deprivation. *Arch. Gen. Psychiatry* **64**, 179-187 (2007).
  15. Benedetti, F. *et al.* Higher baseline proinflammatory cytokines mark poor antidepressant response in bipolar disorder. *J. Clin. Psychiatry* **78**, e986-e993 (2015).
  16. Chiarugi, V. *Della Pazzia in genere e in specie.* Florence (1793-1794).
  17. Benedetti, F., Barbini, B., Colombo, C., & Smeraldi, E. Chronotherapeutics in a psychiatric ward. *Sleep Med. Rev.* **11**, 509-522 (2007).
  18. Fernandez, D.C. *et al.* Light affects mood and learning through distinct retina-brain pathways. *Cell* **175**, 71-84 (2018).
  19. Huang, L. *et al.* A visual circuit related to habenula underlies the antidepressive effects of light therapy. *Neuron* (2019). doi: 10.1016/j.neuron.2019.01.037.
  20. Lewy, A.J., Kern, H.A., Rosenthal N.E. & Wehr, T.A. Bright artificial light treatment of a manic-depressive patient with a seasonal mood cycle. *Am. J. Psychiatry* **139**, 1496-1498 (1982).
  21. Lewy, A.J., Sack, R.L., Miller, L.S. & Hoban, T.M. Antidepressant and circadian phase-shifting effects of light. *Science* **235**, 352-354 (1987).
  22. LeGates, T.A. *et al.* Aberrant light directly impairs mood and learning through melanopsin-expressing neurons. *Nature* **491**, 594-595 (2013).
  23. Yoshiike, T., Honma M., Yamada N., Kim Y. & Kuriyama K. Effects of bright light exposure on human fear conditioning, extinction, and associated prefrontal activation. *Physiol. Behav.* **194**, 268-276 (2018).
  24. Aschoff, J. Human perception of short and long time intervals: Its correlation with body temperature and the duration of wake time. *J. Biol. Rhythms* **13**, 437-442 (1998).
  25. Burns, T. Franco Basaglia: A revolutionary reformer ignored in Anglophone psychiatry. *The Lancet Psychiatry.* **6**, 19-21 (2018).
  26. Kessler, R.C. *et al.* Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of mental disorders in the World Health Organization's World Mental Health Survey Initiative. *World Psychiatry* **6**, 168-176 (2007).
  27. Barbui, C., Papola D. & Saraceno B. The Italian mental health-care reform: public health lessons. *Bull. World Health Organ.* **96**, 731-731A (2018).
  28. Di Lorito, C. *et al.* The closing of forensic psychiatric hospitals in Italy: Determinants, current status and future perspectives. A scoping review. *Int. J. Law Psychiatry* **55**, 54-63 (2017).



## 第 25 回 日本時間生物学会学術大会開催報告

中村 渉<sup>1</sup>、前村 浩二<sup>2</sup>✉

長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 1: 加齢口腔生理学・2: 循環器内科学

去る 2018 年 10 月 20 日 (土)・21 日 (日) の両日、長崎大学医学部にて第 25 回日本時間生物学会学術大会を開催いたしました。今回の大会は、「From the Discovery to Innovations」をテーマに、長崎大学共催で医学部記念講堂・良順会館・ポンペ会館の大学施設にて開催しました。また、本年度は日本時間生物学会における国際化への取り組み年 (隔年) にあたっておりますので、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併催しました。

国際シンポジウムには、国内外から 176 名に御参加いただきました。また、41 演題のポスターが集まり講演セッションの前後に活発な議論が繰り広げられました。講演は国内外 4 名の若手 PI (Principal Investigator) による「PI Global Session」に始まり、Shin Yamazaki 博士による Keynote Presentation から、国際シンポジウム共催の長崎大学・河野茂学長による御祝辞、Gene D. Block 博士による Plenary Lectureへと続きました。Block 博士は 2018 年度 SRBR ミーティング (5 月・フロリダ) でのノーベル賞受賞祝賀会において“Directors' Award for Mentoring”として顕彰されており、これまで時間生物学分野が継続してきた国際性・学際性を表した御講演をいただきました。最終セッションは「Landmark Lectures: Mammalian Clock Genes Cloned in Japan」と題し、哺乳類のコア時計遺伝子をクローニングされた 3 名の先生方に御登壇いただきました。講演セッションは、当初ご案内しておりました医学部記念講堂がプロジェクターのトラブルのため使用できず、急遽、良順会館ボードインホールでの開催となりました。混乱を生じご迷惑をおかけいたしました。参加者の皆様には緊密な会場の中、熱の入った討論でシンポジウムを盛り上げていただき感謝を申し上げます。

学術大会は、国内外から 294 名に御参加いただきました。106 演題のポスター発表は「データブリッツ」

での紹介と共に、2 日間にわたり活発なポスター討論が展開されました。シンポジウムセッションでは、シンポジウムオーガナイザーの先生方に「Society・Physiology・Medicine・Diversity・Discovery・Origin」のキーワードからそれぞれに魅力的な 6 セッション (25 演題) を編成していただきました。また、大会企画として柳沢正史先生による共催セミナー、仲野徹先生による教育講演、永井良三先生による特別講演をいただき、時間生物学の今後更なる発展に向けて様々な指針を与えていただいたことと存じます。更に、堀田凱樹先生には The discovery の源流たる Seymour Benzer 研究室での行動遺伝学について特別講演をいただき、本間研一先生には 2018 年 2 月に御逝去された Serge Daan 博士を偲び、メモリアルレクチャーをいただきました。先人たちが積み上げてきた研究の背景やその解釈を通し、改めて新たな発想が生まれてくることを感じました。

国際シンポジウムから 3 日間を通して、晴天にも恵まれたたくさんの方々に御参加いただけたことを大変うれしく思っています。例年のことではありますが、皆様が寸暇を惜しんで大会に参加し、参加者主導で盛り上がるという学術集会が本来あるべき姿を目の当たりにいたしました。また世界遺産グラバー園での懇親会 (参加者: 171 名) にも多くの方々が御参加下さり、会員相互の親交を温めることができたかと思いません。なお学会開催にあたり長崎国際観光コンベンション協会の助成をいただきました。また、国際シンポジウム開催にあたり、長崎大学医師会から開催助成をいただき、Block 博士の招聘には内藤記念海外学者招聘助成を、Kojima・Nagoshi 両博士招聘には中山人間科学振興財団より国際交流助成をいただいております。学術大会には寄付、広告、企業展示、共催セミナー等で企業および団体の皆様に御協賛いただきました。大会の準備に携わっていただいたプログラム委員、大会準備委員、循環器内科医局員、明治大学・長崎大学学生の皆様に、この場をお借りして深く感謝い

✉ maemura@nagasaki-u.ac.jp

たします。第 26 回金沢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。



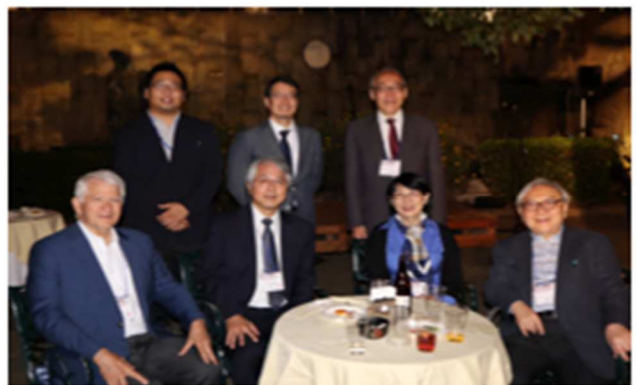
奨励賞受賞式



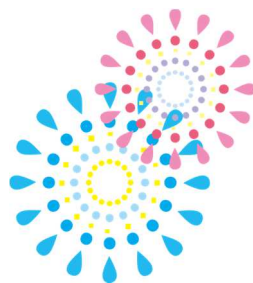
優秀ポスター賞表彰式



ポスター会場での熱い討論



懇親会にて Gene Block 先生を囲んで



## 第25回 日本時間生物学会に参加して

沖村 光祐<sup>✉</sup>

名古屋大学 大学院生命農学研究科 動物統合生理学研究室

私の学会参加記は前日譚から始めます。10月19日、私は名古屋から長崎に向かう飛行機に搭乗しました。最後列に着席し、ポスター発表について考えながら離陸を待っていたのですが、そこへお揃いのスーツを着た大勢の男性が搭乗してきました。初めは、ただ眺めていたのですが、その中に知った顔があり驚きました。なんと、サッカー元日本代表の大久保嘉人選手がいたのです。スーツ姿の彼らはJリーグのジュビロ磐田の選手団でした。機内全体が興奮しているように感じました。サッカーに詳しくない私でさえも大久保選手の登場には血圧が上昇しました。

長崎空港へ到着し、最後列に座っていた私は焦れる気持ちを抑えながら最後に飛行機を降り、急いでロビーに向かいました。ロビーでは、先に降りていた他の乗客達がジュビロ磐田の選手団を遠巻きに見ているところでした。これはチャンスだ！緊張しながらも私は大久保選手の元へ駆け寄り、一緒に写真を撮ってもらうことに成功しました。大会前日に起きた、この成功体験のお陰で、私の中のチャレンジ精神に燃料が満たされていきました。

さて、翌10月20日、120%燃料が補給されたチャレンジ精神をもち、大会当日を迎えました。長崎大学医学部坂本キャンパスで開催された本大会も魅力的な演題が多く、細胞、組織、個体、種そして集団・社会など様々なレベルに着目して取り組まれている先進の時間生物学研究に触れることができました。私の身の回りの多くに時間生物学の概念が浸透し、生物時計が重要な役割を果たしているのだと改めて実感しました。

周期的に変化する環境に対して巧妙に適応する生理現象に興味をもち、当研究室に所属して時間生物学研究を始めて以来、本学術大会へ毎年参加してきました。大会に参加されている学会員の方々とは面識が次第に増えていき、お話をさせていただく機会もあったのですが、シンポジウムや講演では緊張や恥ずかしさから質問できずにおり、悔しい思いをすることが多々あ

りました。ですが、今回は大久保選手から（勝手に）もらったチャレンジ精神が満ち満ちていました。かなり緊張しましたが、シンポジウム内で初めて質問することができました。ただ聞くだけでなく、自分が議論に参加することで理解を一層深めることができた満足しています。

また、堀田凱樹先生や本間研一先生の講演から時間生物学の黎明を担った研究を勉強させていただきました。時間生物学には、まだまだ私が知らないところが沢山あると痛感しました。しかし、一方で、やはり時間生物学は面白い、という思いを強く持つことができました。

ポスター演題では、自身が行っている、「哺乳類における眼の季節応答に関する研究」について発表しました。多くの方々からご意見、ご質問をいただき、その後の研究の参考になりました。さらに、幸運なことに、優秀ポスター賞に選んでいただきました。現時点の私にとっては身にあまる賞であります。しかし、今後研究を鋭意進め、必ずや本大会の優秀ポスター賞に見合う成果を報告したいと強く心に決めております。私のポスター発表に訪れていただいた方々、並びに平素より私の研究にアドバイスをいただいている方々に御礼申し上げます。

天候に恵まれ無事グラバー園で開催された懇親会では、美味しい食事やお酒を囲み、（借景でしたが）季節外れの綺麗な打ち上げ花火を見ながら同年代の学生と交流を深めることができました。中には、博士課程への進学を目指している学生も多くいることに気がつきました。今年から博士課程に進学して、普段周りに博士課程の学生が少なく心細くなっていた私にとっては励みになりました。今後は、彼らとともに時間生物学会を盛り上げていけたら…と妄想しています。

今回、本大会テーマ「From the Discovery to Innovations」とあるように、先人たちが築き上げてきた時間生物学の歴史の上に、幅広い時間生物学の展

✉ okimura.kousuke@c.mbox.nagoya-u.ac.jp

開があるのだという、当たり前のこと気づかされました。温故知新を意識し、時間生物学についてさらに勉強して知識を深めるとともに、「チャレンジ精神」に常に燃料を満たし、新しいことへ挑戦し研究をどんどん進めていきます。

余談ですが、名古屋へ向かう帰りの飛行機でもジュ

ピロ磐田の選手団と乗り合わせるようになりました。

最後となりましたが、このような素晴らしい学術大会を運営していただきました前村浩二大会長をはじめ関係者の皆様に、厚く感謝申し上げます。誠にありがとうございました。



優秀ポスター賞授賞式の様子（右から3人目が筆者）

## 日本時間生物学会 第25回定期学術大会参加記

鳥井 孝太郎<sup>✉</sup>

京都大学 生命科学研究所 統合生命科学専攻

2018年10月20日から21日に長崎で開催された第25回日本時間生物学会学術大会に参加しました。初めて参加した2014年の大会では遠藤求先生のグループの学生は私1人でしたが、今回は遠藤研の6人の学生が参加し、賑やかな学会となりました。ただ、長崎到着後、会場まで向かう道中では坂道が堪え、話すこともままならず一人無口によく孤独な時間もありました。

多様性に富んだ時間生物学会は何度参加しても、驚きと興味の尽きない場であり、今回も多くの発表に感銘を受けました。アブラムシの姉世代、妹世代を継代し続けることで、季節タイマーが世代数ではなく日数による制御を受けることを示された、沼田英治先生の話は特に記憶に残っています。また、生まれた直後のアブラムシの体内にすでに子がおり、その子の中にさらに子がいるとお聞きした時には、生物の奥深さとその奥深さを学問として扱える時間生物学の懐の深さに感動しました。また、マグマ活動による redox 勾配が原始生物における代謝ネットワークの駆動力である、とのお話には圧倒的な新鮮さを感じました。質疑応答の際に『生物の起源はマグマなので』と言い切った中村龍平先生のお姿は今でも思い返すことがあります。

ポスター発表もまた毎回様々な議題があり、回り続けても飽きることがありません。カニの話聞いたから次は魚行くか、とまるで居酒屋にいるような気分です。その多様性を楽しみました。また、時間生物学会には多様性だけでなくテーマ間での親和性もあり、同様の



会場にて（筆者は前列右から3番目）

現象に対して様々なアプローチがなされている点もこの学会の特徴だと思います。今回もシアノバクテリア概日時計についての多面的な解析と発表間でつながりのあるストーリーを楽しむことができました。ポスター発表の前にあるデータブリッツでは工夫を凝らした発表もあり、参考になりました。私はデータブリッツが得意ではなく、短さにかまけた手抜きスライドになっていたことに終わってから気づきました。やはり、ポスター発表の場では「君のデータブリッツはさっぱり分からなかった」と酷評をいただき、次はしっかりしたものを作ろうと自戒の機会となりました。そんな、ポスター発表でしたが、運よくポスター賞をいただきました。賞状をいただいた経験が今までなかったのも、壇上では賞状を受け取る際の距離感がつかめず、終始前後にぶれ続け、自分らしい授与式となりました。式後、賞金として懇親会費を参加した方のみ頂けることを知りましたが、お金をケチり懇親会に参加しなかったことが今でも心残りです。

今大会も多くのことを学ばせていただきました。今大会を主催していただいた先生方、関係者の皆様にご場をお借りしてお礼申し上げます。稚拙な文章ですが、お読みいただきありがとうございます。



懇親会でふるまわれたというお寿司。逃した魚は大きかったようです。

✉ torii.kotaro.47s@st.kyoto-u.ac.jp

## International Symposium on Biological Rhythms: A Bridge to a New Era of Circadian Biology

佐藤 章悟<sup>✉</sup>

カリフォルニア大学 アーバイン校

愛知医科大学の増渕悟先生、池上啓介先生から2018年10月に行われた International Symposium on Biological Rhythms の参加記の執筆の依頼（若手代表として）を受けました佐藤章悟と申します（自己紹介は学会誌；Vol. 24, No. 2, 2018 を参照）。私のような若輩者が本シンポジウムの総括をさせていただくのは、心苦しい限りではありますが、日本時間生物学会学術大会に初参加した私にしか感じられないところもあるだろうと思ひ、執筆を引き受けた次第です。私事ながら、米国滞在用ビザの切り替えのための3年ぶりの日本への一時帰国のおかげで、本シンポジウムへの参加を果たせたことはラッキーこの上ないことだと思っています。長距離移動の疲労や時差ボケなどなんのその、刺激的・魅惑的なご発表が著者を刮目させ続けたことは言うまでもありません。

日本国内外でご活躍されている若手 PI (Principal investigator) によって、シンポジウムの火蓋は切られました。現役バリバリの第一線で活躍されている先生方のご発表からは、up to date な時間生物学研究を拝聴することができました。海外での独立ポジション獲得も見据えている著者としましては、あこがれの先輩方の姿が大変励みになりました。若くして独立し、世界レベルで戦いを挑み続ける crazy な mentality、ラボを切り盛りし、第一線の研究を進展させる extraordinary な activity に感銘を受けました。

次のセッションでは、UT Southwestern の Shin Yamazaki 先生が、これまでの研究成果について、CBT (The Center for Biological Timing) での体験談も交えながら、熱く語られました。学術的な内容以外にも、主に大学院生を対象に海外留学のすゝめを熱心に説かれました。すでにアメリカに5年を超えて滞在している著者も Yamazaki 先生のご主張に賛同です。言語の障壁は（生涯）立ちほだかるでしょう。それでも、海外の研究環境に身を置き、世界中から集まる研究者と切磋琢磨することは、今後の研究者人生の歩み

方を確立する上で、重要なアドバンテージになると肌身で感じています。

長崎大学の学長の河野茂先生の祝辞を頂いた後に、UCLA の学長を務められる Prof. Gene D. Block の Plenary Lecture を拝聴しました。ご存知の通り、CBT なくして概日リズムの概念の確立、分子時計システムの解明は成しえなかったことだと思います。そんな CBT をまとめ上げてきた Gene の講演を帰国前から楽しみにしていました。時間生物学分野の世界的リーダーとして一時代を築き上げた Gene の講演は、CBT とそこに携わった多くの研究者たちの血の滲むような努力を感じさせるとともに、時間生物学研究の今後のさらなる発展を期待させるものでした。

本シンポジウムの最後には、日本を代表する時間生物学分野のパイオニアにあたる程肇先生（金沢大）、池田正明先生（埼玉医科大）、藤堂剛先生（大阪大）のご講演を拝聴しました。先生方のご尽力により時計遺伝子が同定されてからの20年の間に、時間生物学分野は目覚ましい発展を遂げました。時間生物学研究分野の Key Pieces と呼べる先生方のご研究成果を拝聴し、我々若手研究者は、パズルの完成という責務を果たすべく、今後も研究に邁進していかなければならないと叱咤激励を受けた気分でした。

このように、本シンポジウムは様々な立場、年代の先生方のご講演によって構成され、バラエティに富むものでありました。特に、滅多に拝聴することができない国内外の大御所の先生方のご講演を拝聴できたこと、それから日本国内外でまさにご自身のラボを立ち上げて、時間生物学分野に新たな風を吹き込んでいられる若手 PI の最新の研究内容について議論できたことは、非常に意義のある経験でした。一方で、あまりお行儀の良い評価だけを求められているわけではないかと思うので、今後のこういったシンポジウムの改善のために、著者なりに感じた疑問点を記そうと思ひます。いったい参加者（特に大学院生や若手研究者）は何名くらいのスピーカーと関わりを持つことができ

✉ satos1@uci.edu

たのでしょう。残念ながら著者はほんの数名です。話したい先生方はたくさんいたにも関わらず、それを許してくれる時間が限定的だったと感じました。国内に限らず、国外からも多くの著名なスピーカーを招待した貴重な機会だからこそ、余計に残念に感じてなりませんでした。学会とは、研究の情報交換をする場であるだけでなく、新たな研究者ネットワークを構築できる場、あるいは就職活動の最高のチャンスでもあると思うので、願わくば、スピーカーとのディスカッション・雑談のための時間がプログラムに組み込まれていると良かったと思います。例えば、セッションの間にコーヒーブレイクを挟むとか、スピーカーの先生方との少人数のランチトークを設けるとか、そういったアイデアが検討されることを強く期待しています。

さて、再来年にはいよいよ東京オリンピックですね（著者はおそらく遠方から声援を送ります・・・）。サマータイムの導入案を考えると、我々時間生物学者はお気楽にしてばかりはいられませんが、それでも日本人アスリートが多くの種目で表彰台に立つ姿を今から夢見てしまいます。学問は、順位を競うものではありませんが、時間生物学研究は、これまで日本人研究者が表彰台に登ってきた、そしてこれからも登り続

けなくてはならない、日本のお家芸の一つだということ、本国際シンポジウムを通じて改めて強く感じました。ご承知の通り、時間生物学的研究は、多くの場合、「Time」という4次元の変数を扱う必要があります。したがって、解を導くためには、より高水準な精密さや几帳面さ、しぶとさが求められるかと思います。海外で研究をしている著者から見れば、おそらく日本人のアイデンティティは、これらの種目の金メダリストであると確信しています。それ故に、本シンポジウムでご講演いただいた先生方に限らず、多くの日本人の先生方の研究成果が、数十年という時間生物学研究分野の歴史上の **World Record** として残り続けているのだと著者は考えます。我々の十八番である時間生物学研究において、日本人研究者が表彰台に登り続けることこそが、今後の日本時間生物学会の使命であると思います。本シンポジウムは、ノーベル医学生理学賞の受賞にもハイライトされるような時間生物学研究史におけるこれまでの功績および特に日本人研究者が残してきた足跡と、今後の時間生物学研究のますますの発展という輝かしい未来とを結ぶ栄光の架け橋として重要な役割を担ったと評価できるものでありました。

## ESRS に参加して

駒田 陽子<sup>✉</sup>

明治薬科大学 リベラルアーツ

2018年9月25–28日にスイス・バーゼルで開かれた第24回ヨーロッパ睡眠学会 (the European Sleep Research Society: ESRS) に参加しました。時間生物学学会の皆さまは睡眠学会に参加されることは多くないかもしれませんが、ご興味を持って頂ければ! と思い、報告記を書かせて頂くことにしました。

ヨーロッパ睡眠学会は2年に一度開催されており、近年ではイタリア・ボローニャ、エストニア・タリン、フランス・パリで行われ、今回は2020年9月にスペイン・セビリアで開かれます。例年、1日目にトレーニングコースがあり、夜にオープニング・セッション、ネットワーキングパーティー、2日目以降シンポジウムや教育セッション、ポスター発表が設定されています。夜は、フットボールの試合 (North チーム vs South チーム) やバンケットが開かれますが、開催時間が遅い上に (だいたい20時頃からスタート)、ヨーロッパ時間に適応していないので、夜の部にはなかなか参加できません。

今年のオープニング・セッションでは、これまでのヨーロッパでの睡眠研究の歴史が紹介され、第1回ESRSは1974年にバーゼルで開催されたこと、44年の歳月を経て再びこの地で集まることができたというお話と、音楽の演奏がありました。若手研究者のプレゼンのあと、ホワイエに移動してネットワーキングパーティー。おいしいキッシュと飲み物を受け取って、広い会場を見まわしていると何人か知り合いに会うことができました。ヨーロッパ内で所属を移動している人が多い印象でした。3年前はストックホルムにいたけど、今はチューリヒにいるよ、デンマークからラトビアに移動した、などなど、国を超えて活動しているのだなあと感じました。学会は、職探しの絶好のチャンスなのでしょうね。

以前、共著で論文を作成した Dr. Stephany Fulda にも会うことができました。彼女が開発したパラソムニア・スクリーニング・スケール (Munich

Parasomnia Screening) の日本語版を作成した関係で、現在ドイツ睡眠学会のサイトにドイツ語版、英語版と並んで日本語版も掲載してもらっています (パラソムニア研究の際にはどうぞお使いください!)<sup>1-3</sup>。彼女もまた、ドイツのマックスプランク研究所から籍を移し、今はスイスのルガーノにある睡眠センターで研究をしているとのことでした。バーゼルはドイツ語圏ですが、ルガーノはイタリア語圏で、同じスイスでも文化や習慣、祝祭日が異なるそうです。

さて学会でのシンポジウム、ラウンドテーブル、オーラルセッション、ケースディスカッションは、6会場で同時進行でした。臨床研究、基礎研究、実験、疫学がバランスよく組み立てられていました。臨床研究は、ナルコレプシー、不眠症、睡眠時無呼吸障害、パラソムニア、リズム障害それぞれのシンポジウムやケースディスカッションがありました。また、対象別の課題として、子どもや青年期、女性にフォーカスしたシンポジウムも盛んに行われていました。疫学研究では、ウェアラブルデバイスやネットへのログイン情報などのビッグデータを用いて、実社会での睡眠を検討しようと試みる研究が散見されました。バーゼル大学で、光環境と睡眠に関して多くの実験が行われていることから、光と生体リズムに関するシンポジウムもいくつかありました。私は「Sleep in real life」のセッションで報告しました。自分の前後の発表は、南極観測隊の睡眠、遠洋漁業の大型船での疲労感や認知機能に関する研究で、実社会というよりは特殊な環境といった方が適切なような気がしました。シンポジウムの各ホールは都市の名前がつけられており、サンフランシスコ、モントリオール、シンガポール、シドニーetcでしたが、「Sleep in real life」はホール Osaka での開催でした。バーゼルまで来たのに、大阪ホール・・・と心の中で突っ込みました (写真 1)。発表のためのスライドは当日2時間前までにスピーカーズサービスセンターで登録だったのですが、USB で持参したパ

✉ komay@my-pharm.ac.jp



ワポのファイルが設置された PC では開けませんでした。じゃあ、ファイルをメールで送れと言われて、その場で送るもダメ。結局、自分の PC を発表時に接続するということになりました。ESRS ではほとんどの方が自分の PC を使わず、ファイルを事前に登録する形ですが、USB 読み込めない (逆に持ち込み PC が使えない) などを想定して、準備しておくで安心だと感じました。

ポスターは 750 演題あり、3 日間に分けてポスターセッションが行われました。ポスター会場はゆったりしており、閲覧や質問がしやすかったです。

バーゼルには、1460 年創立のスイスで最も古いバーゼル大学があり (写真 2)、落ち着いた美しい街並みでした。旅行者には全員、トラムとバスに乗れる無料パスが配られます。気が向くとトラムを降りて、ライン川にかかる橋を歩いて会場に向かうなど、散策も楽しめました。バーゼル市立美術館にも立ち寄ることができました。原田マハ「楽園のカンヴァス」で、“表

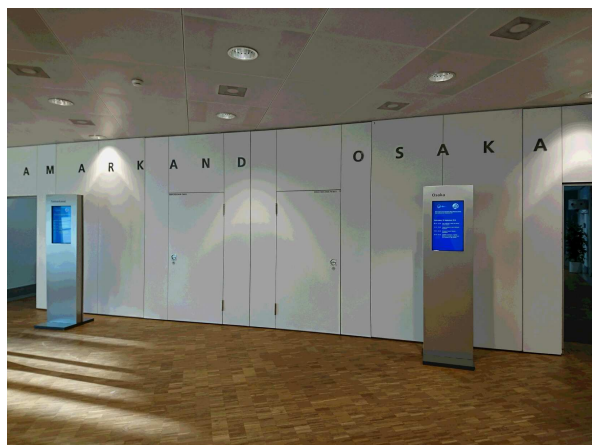


写真 1 バーゼル国際会議場の OSAKA ホール



写真 2 歴史あるバーゼル大学

通りから中庭を通ったところに美術館の入り口があり、中庭をぐるりと囲んで回遊できる設計になっている。17 世紀には美術館として公開されており、長い歴史が落ち着いた雰囲気を醸し出している”と描写されているとおり、すてきな美術館でした。

写真 3 は、街中あちらこちらに立てられていたポスターです。「22~7 時までは nighttime なので静かにしなさい、騒ぐと罰金 100 フラン (約 1 万円)。by バーゼルポリス」というものです。ポスターをじっと見ていたら、犬を散歩していた人が、「100 フランは現金で支払わないといけない」と説明してくれました (そこが問題?)。今もまだなお、日本は反対の方向にいこうとしている気がします (地下鉄の終夜運行など経済活性第一主義)、夜は、静かで暗く、眠りやすい環境にしていくこと、その意識を社会で育てていくことが大切だと感じました。



写真 3 市内で見かけたポスター

## 参考文献

1. Fulda, S., Hornyak, M., Muller, K., *et al.* Development and validation of the Munich Parasomnia Screening (MUPS). *Somnologie*. **12**, 56-65 (2008).
2. Komada, Y., Breugelmanns, R., Fulda, S., *et al.* Japanese version of the Munich Parasomnia Screening: translation and linguistic validation of a screening instrument for parasomnias and nocturnal behaviors. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **11**, 2953-8 (2005).
3. [https://www.dgsm.de/fachinformationen\\_fragebogen\\_mups.php](https://www.dgsm.de/fachinformationen_fragebogen_mups.php) (2018/12/20 アクセス)

## 日本学術会議 緊急公開シンポジウム 「生活時間と健康 健康科学からみたサマータイムの問題点」 に参加して

王 幸慈<sup>✉</sup>

東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻

私は2017年の秋から深田研究室にて哺乳類の概日リズムの研究を行っている王 幸慈（ワン シンツウ）です（修士課程2年）。昨年末（12月13日）、日本学術会議の講堂で開催された「生活と時間 健康科学からみたサマータイムの問題点」に参加しましたので、そのご報告をさせていただきます。

今回のシンポジウムは、一般市民でも理解しやすく解説されているものの、内容はとても高度なものであり、私も大変に勉強になりました。まず、近藤孝男先生（名古屋大学）は生物全般に関する概日リズムのご紹介をされました。その後、深田吉孝先生（東京大学）はセントラルドグマや転写フィードバックループの仕組みに加えて、動物や植物における概日リズムや時間生物学用語を分かりやすく解説されました。そして、本間研一先生（北海道大学）は、札幌の年間の日照時間や気温のお話をもとに、サマータイム制度による時差症状や睡眠障害、代謝等への悪影響の可能性を示されました。生物リズムに関するお話だけでなく、堀越哲美先生（愛知産業大学）は都市部のヒートマップや住居における一日の温度変化に関して説明されました。本シンポジウムの中で、私が特に興味を持ったお話は、三島和夫先生（秋田大学）の睡眠に関するお話です。私たちは、休日には自身の生体リズムに則して生活することができますが、平日は社会のリズムに合わせるため、睡眠習慣を操作しています。現代人は平日と休日で睡眠中央値（寝る時間と起きる時間の中央値）に平均2時間のズレがあります。特に学生や働いている人において、ズレが大きいようです。このズレはソーシャル・ジェットラグと呼ばれ、発癌などのリスクが増大するだけでなく、精神疾患や不登校問題に深く関わっているようです。日本は先進国の中で最も睡眠時間が短い国の一つに挙げられ、このようなソーシャル・ジェットラグが生活に及ぼす影響は大きいと考えられます。私の周りの日本人（主に深田研の人々）を見てみても、故郷の台湾に比べて睡眠時間が短いように思われます。また、「睡眠習慣にも個性が

あり、サマータイム制度は、時代遅れの政策です。」という三島先生の言葉が印象的でした。

台湾では、同性婚や原子力発電所の建設といった重要な決定をする際に国民投票を行います。しかし、国民は専門的な知識が無いまま、投票することが多いように思われます。私はこういった政府の提案に対する日本学術会議主催シンポジウムへの参加は初めてでしたが、多くの人々にとって生体リズムと日常生活の関係を勉強できるとも良い機会であると思いました。現代人はしばしばネットで政府に対して自分の意見を述べますが、感情的であったり、よく考えず他人の意見に流されている場合も多いように思います。今回の学術会議では、先生方は明確な出典のエビデンスを基に、科学者として謹厳な態度で自分の主張を説明されていました。科学者は自分の研究だけに没頭するイメージがありますが、本講演の先生方は自分の専門性を活かして、政策に対する自分の意見を人々のために発信していました。まさに学んで実際に役立てるといことです。このような先生方の姿勢は、私にも大きな励みとなりました。今後も自分の興味だけでなく、それが社会の人々にとってどのような価値を提供できるのか考えながら、研究を続けたいと思います。



✉ wang\_hsintzu@yahoo.co.jp

## 第 26 回日本時間生物学会学術大会のお知らせ

第 26 回日本時間生物学会学術大会を 2019 年 10 月 12 日（土）、13 日（日）の 2 日間、金沢市文化ホール会議棟で開催いたします。

本大会では「時間生物学の新潮流 Neo-chronobiology」と題し、数理から分子、個体、医療、社会環境、産業応用まで多岐にわたる分野の最先端研究を発表・討論していただきます。特別講演には、ヒトマイクロバイオーーム（常在菌）のご研究で世界的に著名な早稲田大学・服部正平教授と、体内時計研究の第一人者で SRBR の president でもあるワシントン大学・Erik Herzog 教授をお招きしています。また、体内時計の分子機構から個体の生理、時間医学、産業応用まで、意欲的かつ魅力的なシンポジウム 6 セッション、ポスター発表者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 11 日（金）には関連集会として、「概日時計の数理：基礎となる考え方とその展開型（仮）」と題した時間生物学トレーニングコース（企画：瓜生耕一郎）を開催します。

加賀藩の時代から学問の盛んな金沢より、時間生物学のさらなる可能性・発展の方向性を発信できたらと思っています。皆様のご参加を心よりお待ちしております。

第 26 回日本時間生物学会学術大会  
大会長 三枝 理博  
(金沢大学医薬保健研究域医学系)

### 【大会概要】

会期：2019 年 10 月 12 日（土）～13 日（日）

会場：金沢市文化ホール会議棟

大会ホームページ：<http://neurophysiol.w3.kanazawa-u.ac.jp/26jsc>

参加登録・演題申込：5 月初旬よりホームページで登録受付開始予定

### 【プログラム】

特別講演

服部正平（早稲田大学）

Erik Herzog（Washington University）

シンポジウム

「生物時計の発振と同調機構にみられる共通性と多様性」

オーガナイザー：程肇（金沢大学）、平山順（公立小松大学）

「細胞・組織・個体に表出されるリズムの自律性と非自律性の分界」

オーガナイザー：土居雅夫（京都大学）、上田泰己（東京大学）

「体内時計研究の産業応用や社会実装」

オーガナイザー：柴田重信（早稲田大学）、福田弘和（大阪府立大学）

「体内時計・睡眠とメンタルヘルス」

オーガナイザー：内山真（日本大学）、栗山健一（国立精神・神経医療研究センター）

「時間医学 from bench to population」

オーガナイザー：安藤仁（金沢大学）、藤秀人（富山大学）

「生物の多様な集団発振現象」

オーガナイザー：榎木亮介（北海道大学）、郡宏（東京大学）

新学術領域「オシロロジー」共催

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（金沢ニューグランドホテル）

### 【関連集会】

時間生物学トレーニングコース

「概日時計の数理：基礎となる考え方とその展開型（仮）」

日 時：2019年10月11日（金）午後

会 場：金沢市文化ホール会議棟 大会議室

企 画：瓜生耕一郎（金沢大学）

参加資格：時間生物学会会員または入会予定者（検討中を含む）

参加費：無料



2019 10.12日・13日  
第26回 学術大会  
日本時間生物学会  
時間生物学の新潮流 Neo-chronobiology

# 第17回（2019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12-13日に金沢市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31年（2019年）7月31日（水）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 トランスフォーマティブ生命分子研究所内  
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。

## お詫びと訂正

2018年24巻2号116ページにおける先生のお名前に誤りがありました。

誤：Ben Collins 先生

正：Steven A. Brown 先生

Steven A. Brown 先生、Ben Collins 先生、本間先生、関係者の皆様ならびに読者の皆様にご迷惑をおかけしましたことを深くお詫び申し上げます。

# CoFF2019/ISNFF2019/ICPH2019 開催告知

**会議の名称** 第7回国際フードファクター会議(ICoFF2019)  
 第9回ポリフェノールと健康国際会議(ICPH2019)  
 第12回国際機能性食品学会(ISNFF2019)

**主催** ICoFF2019/ICPH2019/ISNFF2019 合同開催組織委員会

**共催** 日本フードファクター学会 (JSoFF)

**会期** ICPH2019 2019年11月28日(木)～12月1日(日)  
 ICoFF2019/ISNFF2019 2019年12月1日(日)～12月5日(木)

**開催場所** 神戸国際会議場 神戸国際展示場 神戸ポートピアホテル

## 日程表

	日程	午前	昼	午後	夜
ICPH2019	11/28 (木)	-	-	開会式 (ICPH) オープニングレクチャー	ウェルカムレセプション (ICPH)
	11/29 (金)	基調講演、 シンポジウム	-	シンポジウム ポスターセッション	-
	11/30 (土)	基調講演、 シンポジウム	-	シンポジウム ポスターセッション	バンケット (ICPH)
	12/1 (日)	基調講演、 シンポジウム	閉会式 (ICPH)	キーノートセッション 開会式 (ICoFF/ISNFF)	ウェルカムレセプション (ICoFF/ISNFF)
ICoFF2019/ISNFF2019	12/2 (月)	基調講演、 シンポジウム	ランチョン セミナー	シンポジウム ポスターセッション	-
	12/3 (火)	基調講演、 シンポジウム	ランチョン セミナー	シンポジウム ポスターセッション	Kobe Night (招待講演者交流会)
	12/4 (水)	基調講演、 シンポジウム	ランチョン セミナー	シンポジウム ポスターセッション	バンケット (ICoFF/ISNFF)
	12/5 (木)	基調講演、 シンポジウム	閉会式 (ICoFF/ISNFF)	-	-

**公式サイト** ICoFF2019/ISNFF2019 <http://icoff2019.umin.jp/>  
 ICPH2019 <http://icph2019.umin.jp/>

**主なテーマ**  
**ICoFF/ISNFF**  
 全体テーマ：食品因子の科学～分子から臨床まで～

**ICPH**  
 全体テーマ：基礎研究と臨床研究～ポリフェノール研究の目指すもの～

### <Important Dates>

参加登録/演題登録開始  
 2019年3月1日  
 早期参加登録締切  
 2019年8月1日  
 演題登録締切  
 2019年6月30日  
 参加登録締切  
 2019年10月31日

### <Conference Fees>

**ICPH (11月28日～12月1日)**  
 参加登録 (早期) 一般 45,000円  
 参加登録 一般 55,000円  
 参加登録 (早期) 学生 25,000円  
 参加登録 学生 30,000円

**ICoFF/ISNFF (12月1日～12月5日)**  
 参加登録 (早期) 一般 55,000円  
 参加登録 一般 65,000円  
 参加登録 (早期) 学生 30,000円  
 参加登録 学生 35,000円

**ICPH/ICoFF/ISNFF (11月28日～12月5日)**  
 参加登録 (早期) 一般 80,000円  
 参加登録 (早期) 学生 40,000円

※早期参加登録締切 2019年8月1日

## 賛助会員リスト

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・ホンマ記念財団	(本間研一)
Crimson Interactive Pvt. Ltd.	(松本悠香)
三協ラボサービス 株式会社	(椎橋明広)
有限会社 メルクエスト	(山本敏幸)
株式会社 杏林書院	(佐藤直樹)
株式会社 電制	(田上 寛)

時間生物学会事務局



# 執筆要領

## 原稿について

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

原稿は、ワードプロセッサまたはコンピュータソフトを用いて作成してください。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>24</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. 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。

2017年5月改定

## 編集後記

■北大医学部が時間生物学研究の一大拠点であり続けることはみなさまもご存知の通りです。生理学講座から時間医学講座へと引き継がれたその歴史が 2019 年 3 月末をもって一区切りを迎えることになりました。先日、本間研一教授・本間さと教授が「北大時間医学実験室お別れの会」を主催され、時間医学講座が 2006 年に開講されてから今日までに教員、大学院生、実験補助員として在籍した面々が一同に会する機会がありました。かく言う私も時間医学講座にお世話になった一人です。朝一番に、冷凍庫が 1 台残っただけの誰もいないガラとした実験室を見て、何とも寂しい気持ちになりました。しかし全国各地から総勢 23 名が集い、あっという間ににぎやかになった実験室で、思い出話や近況報告で盛り上がりました。北大医学部の実験室はなくなるもの本間両教授は、論文投稿に本の執筆と、まだまだサイエンスの世界に関わり続けていかれるとのこと。そして本間イズム（勝手に作った造語です）は、色々な形で私たちの間に受け継がれていくと思われま。平成の終わり時間医学講座の一区切り、図らずも一緒にやってきました。終わりは、次の始まり。新元号「令和」とともにやってくる新しい時代が、みなさまにとって、時間生物学会にとって、素晴らしいものでありますように！（吉川）

■総説はこの度パラエティーに富んだ 5 編が参集しました。今号の目玉の一つ、石森先生の論文の現代訳。糸先生の持ち込み企画でした。石森先生の明治時代の論文を現代翻訳していただいた小林さん、今まだ学生とのこと…。その根気と情熱素晴らしいです。糸先生の秘蔵っ子(?) うらやましい。また、内容の非常にサイエンティフィックなことに驚愕です。竹村先生の概月・概潮汐リズムの内容は学会誌では 10 年ぶりの登場となります。井澤先生の自由な表現、内容以上に記憶に残ってしまいそうです。明石先生の PER の様々な機能の総説はこれまでの研究内容を考えさせられる非常に Suggestive な内容となっております。

学術大会や関連集会参加記では、多くの若い研究者の方

に執筆していただきました。佐藤さん、留学先からわざわざ学会に参加していただきありがとうございます。前号の留学体験記に引き続き、国際シンポの参加記をお願いしていました。今年は WCC や EBRIS など非常に多くのリズム関連の学会があります。編集委員から皆さまに参加記の依頼があるかと思いますがご協力お願いいたします。（池上）

■チーム”やけども”による編集の最終作業がおわり皆様にお届けできることができますことを喜んでます。執筆、査読者、編集委員の皆様には感謝、感謝であります。また官能的な表紙をいつもお願いしている早稲田大学岩崎先生、御世話になりました。

時間生物学会誌平成最後の号となりました。昭和 63 年大学卒業の私、平成の 30 年間仕事があり、ずっと働かせていただいた。さて元号が変わる間際になり 30 年を振り返ろうとしてみたのですが、エメンタルチーズ（トムとジェリーのあれ）のように穴だらけの記憶しかない。やるせない思いや懐かしさすらわき出てこないでありますよ。30 年間私は何をしていたのでしょうか。

今回、本間研一先生にヒト概日リズムについての原稿をお願いいたしました。快く引き受けていただきましたことに感謝もうしあげます。依頼した経緯は以下の様なものです。昨年の時間生物学会で本間先生の同テーマの講演があり私が座長を務めました。講演を拝聴したのち、データに対する判断が自分の中で錯綜して言葉が出ず質問も受け付けずに終了してしまいました。それがずっと喉につかえたようになっておりました。今回、原稿をいただき学会での心残りが少しはれたように思います。それにしてもヒト研究は難しい。ヒトの自由継続リズムは 25 時間に近いのか、24 時間に近いのか、位相反応曲線にデッドゾーンはあるのか、これらの問いに対してはまだ決定的な解答が得られていないようです。

本間先生には次号に後編を執筆いただきます。お楽しみに。（重吉）

時間生物学 Vol.25, No. 1 (2019)

平成 31 年 4 月 20 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