

目次

巻頭言

「精神疾患と概日リズム研究の動向」 池田 正明 1

お悔やみ

「敬愛する近藤孝男先生ご夫妻を偲ぶ」 岩崎 秀雄 3

「近藤孝男先生と近藤研の思い出」 寺内 一姫, 伊藤 (三輪) 久美子 6

「近藤孝男さんを偲ぶ」 本間 研一 8

「Takao Kondo を偲ぶ」 Carl Hirschie Johnson 9

「佐々木三男先生の思い出」 高橋 敏治, 伊藤 洋 11

総説

「昆虫の光周性と概日時計」 沼田 英治 13

「ショウジョウバエを用いた睡眠研究」 戸田 浩史 22

「時計仕掛けの微生物の世界：水圏生態系における有機物を介した日周サイクルの伝播」 吉田 天士 28

「視交叉上核の領域的周期差が位相波、朝夕時計、時差ボケ非対称を生み出す」 重吉 康史 35

受賞論文

「“狭間にいるから、みえるものがある”」 武方 宏樹 43

「植物の概日時計における同期の研究」 村中 智明 46

「予想外の結果に翻弄される」 森岡 絵里 51

「概日時計によるアレルギー疾患治療を目指して」 中村 勇規 55

時間生物学メモリアルインタビュー

「海老原史樹文先生に聞く」 聞き手：吉川 朋子・池上 啓介、司会：飯郷雅之 59

研究室だより

「時間生物学・睡眠学の学際的研究をめざして」 駒田 陽子 68

「共創的な生体リズム研究拠点を目指して」 安尾 しのぶ 69

リレーエッセイ

「院生時代の体験をふり返って」 池上 太郎 72

「時間生物学の怪」 畠山 哲央 75

留学体験記

「アメリカでのポストドク生活」 梅崎 勇次郎 77

第30回日本時間生物学会学術大会関連

「第30回日本時間生物学会学術大会開催報告」 桑 和彦 83

「第30回日本時間生物学会学術大会に参加して」 高峰 詩由 85

「第30回日本時間生物学会学術大会に参加して」 池田 ひかり 87

「第30回日本時間生物学会学術大会 参加記」 村上 温美 88

「日本睡眠学会第45回定期学術集会・第30回日本時間生物学会学術大会合同大会に参加して」 齋藤祐希・89

「生物リズム若手研究者の集い2023参加録」 梶 穂高 91

関連学会参加記

「国際時間学会 第18回トリエナーレ大会」 松村 律子 93

「SfN2023と寄り道NYCの追憶」 宮崎 翔太 96

第31回日本時間生物学会学術大会開催概要 池田 真行 99

第22回(2024年度)日本時間生物学会学術奨励賞公募のお知らせ 岩崎 秀雄 100

生物リズムに関する札幌シンポジウム2024 101

アジア時間生物学フォーラム2024 102

事務局報告 小山 時隆 103

賛助会員リスト 108

執筆要領 109

編集後記

日本時間生物学会

理事長 重吉 康史

副理事長 岩崎 秀雄 小山 時隆 駒田 陽子

事務局長 小山 時隆 **監査委員** 中村 渉

理事

飯郷 雅之 岩崎 秀雄 遠藤 求 岡村 均 小山 時隆 小島 志保子
駒田 陽子 佐竹 暁子 志賀 向子 重吉 康史 柴田 重信 土居 雅夫
樋口 重和 本間 研一 三枝 理博 安尾 しのぶ 吉川 朋子 吉種 光

編集委員会：吉川 朋子 (委員長)

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 黒澤 元 駒田 陽子* 小柳 悟 高江洲 義和
富田 淳 中村 渉* 沼野 利佳 福田 弘和 山口 賀章 山仲 勇二郎

国際交流委員会：本間 研一 (委員長)

上田 泰己 小島 志保子* 平野 有紗 吉村 崇

広報委員会：吉種 光 (委員長)

伊藤 浩史 遠藤 求* 大出 晃士 平野 有紗 村中 智明

将来計画委員会：土居 雅夫 (委員長)

飯郷 雅之 小島 志保子 佐竹 暁子 志賀 向子* 樋口 重和 三枝 理博
安尾 しのぶ 吉種 光

ダイバーシティ推進委員会：安尾 しのぶ (委員長)

青山 晋也 岩崎 秀雄* 岡島 義 糸 和彦 小島 志保子* 関 元秀
本間 あや 吉川 朋子

評議員推薦委員会：遠藤 求 (委員長)

選挙管理委員会：飯郷 雅之 (委員長)、佐竹 暁子*

奨励賞選考委員会：岩崎 秀雄 (委員長)、三枝 理博*

学術委員会：柴田 重信 (委員長)、安尾 しのぶ*

連携委員会：岩崎 秀雄 (委員長)、飯郷 雅之*

研究倫理委員会：樋口 重和 (委員長)

ポスター賞選考委員会：駒田 陽子 (委員長)、土居 雅夫*

*副委員長、50音順、2024年4月現在

開していた短い EST(expressed sequence tag)のデータベースから新規の bHLH-PAS ファクター cDNA の全長を同定し、視交叉上核で明暗・恒暗条件下でリズム発現する遺伝子として 1998 年 5 月にフロリダ州のアメリアアイランドで開催された SRBR で報告したのが *Bmal1* である。同じシンポジウムで Joseph Takahashi 博士が、CLOCK が BMAL1 とヘテロ二量体を形成して *Per* プロモーターに結合しその転写を活性化し、生成された PER が BMAL1:CLOCK による転写を抑制するという、時計遺伝子からなる転写・翻訳のフィードバックモデルを提唱した。

時計遺伝子の発見後、時計遺伝子がうつ病（大うつ病：major depressive disorder）や双極性障害(bipolar disorder)、睡眠リズム障害に関連するとする多くの報告があるが、特に私が注目したのは 2013 年にウイリアム・バニー博士らのグループが報告したうつ病死後脳の研究である²⁾。大うつ病の死後脳でうつ病との関連が指摘されている背外側前頭前野（DLPFC: dorsolateral prefrontal cortex）を含む 6 部位での RNA 発現を、死亡時刻をパラメータにとってマイクロアレイで解析した結果、*Bmal1* や *Per1* などコア時計遺伝子が対照群では概日リズム性発現するが、大うつ病の脳では、これらの遺伝子のリズム性発現が消失し、特定の位相での発現が失われたか、あるいは振幅が低下してリズムが検出されなくなったという可能性が示唆された。大うつ病の脳でコア時計遺伝子のリズム性発現の消失がみられることが、うつ病の病因に直接関連するのかわ不明であるが、大うつ病で多くの脳部位で概日リズムシステムが崩壊していることは、今後、疾患の病因や治療法を探索する上で大きな意味がある。

うつ病の治療と概日リズムに関する知見も注目したい。断眠療法（覚醒療法）と低用量ケタミン療法はうつ病の症状を短時間で改善し数日間治療効果が持続するとする報告がある。SSRI などの中枢神経系で神経伝達物質を増強する従来の治療法は、効果が出現するまで少なくとも 2 週間程度の期間を要し、自殺予防の観点などからも即効性のある治療方法の開発が必要とされてきており、ヨーロッパを中心にして断眠療法を第一選択として実施する施設が増加している。断眠療法とケタミン療法を動物モデルで行った研究があり、中枢神経系での概日リズムシステムの共通変化が報告されている。それは前帯状皮質（ACC:Anterior cingulate cortex）において *Ciart* (*Chrono*), *Per2*, *Npas4*, *Dbp*, *Rorb* を含む時計遺伝子の重複するダウンレギュレーションや BMAL1:CLOCK を介した CCG (clock-controlled genes) の転写発現の低下を誘発した結果として *Dusp1*, *Notch2*, *Homer1* などが低下するとする報告である³⁾。また、断眠療法とケタミン投与が概日リズムの位相の変化や振幅の変動を惹起することに加えて、シナプス伝達や MAP キナーゼ系などの細胞内シグナル因子増強によって神経発達を誘発している可能性を示唆する結果も含まれている。

今後、大うつ病に限らず、双極性障害、リズム・睡眠障害を併発することが多い神経発達症など、精神疾患と概日リズムの関係が明らかになることを通じて、これらの疾患の病因の解明や概日リズムとの関係に焦点をあてた新規の治療法が開発されることを期待してやまない。

参考文献

1. 高坂睦年：生体リズムの発現機構：体内時計の医療への応用。川上正澄，高坂睦年（編集），pp18-31，理工学社（1984）
2. Li, JZ. *et al.* Circadian patterns of gene expression in the human brain and disruption in major depressive disorder. *Proc Natl Acad Sci USA*. **110**. 9950-9955 (2013)
3. Orozco-Solis, R. *et al.* A Circadian Genomic Signature Common to Ketamine and Sleep Deprivation in the Anterior Cingulate Cortex. *Biol Psychiatry*. **82**. 351-360 (2017)

敬愛する近藤孝男先生ご夫妻を偲ぶ

岩崎 秀雄[✉]

早稲田大学 理工学術院

近藤孝男先生が、昨年（2023年）11月16日にお亡くなりになりました。近藤先生は一貫して時間生物学の根本的な問いに向き合い、多岐に亘る巨大な足跡を遺されました。初期には、ウキクサの花成とイオン吸収リズムの解析に始まり、緑藻や渦鞭毛藻の走光性リズムに関する生理学的解析を手掛けました。その蓄積の上に、シアノバクテリアを生物時計の基本原理を読み解くための非常に優れた実験系に仕立て上げ、従来の生物時計に関する通説をことごとく覆し、新たな地平を切り拓きました。中でも、転写翻訳フィードバックループ・モデルを反証し、時計タンパク質 KaiA, KaiB, KaiC を ATP とともにインキュベートするだけで酵素反応の概日リズム（KaiC のリン酸化リズムや ATPase 活性のリズム）を試験管内再構成できるという発見¹は、時間生物学の研究をまったく新たな次元に導き、死の直前までその研究を発展させ続けました。これらの成果に対し、アショフ・本間賞、中日文化賞、朝日賞、紫綬褒章、学士院賞、SRBR Director's Award など多くの賞を授与され、文化功労者、瑞宝重光章なども受けられました。また、日本時間生物学会では、事務局長や理事長を歴任され、名古屋大学でも理学部長や高等研究院長などの要職を務められ、学会

運営や大学運営にも手腕を発揮されました。

私は、1995年に修士課程の学生として近藤研究室に合流しました。ちょうど岡崎の国立基礎生物学研究所から、名古屋大学に移る時で、最初の半年は岡崎、それ以降は名古屋でした。その頃は、大学院生が3人、テクニシャンが二人、准教授の石浦正寛先生と近藤先生という、こじんまりしたラボで、実験補助員のお一人は近藤先生のご伴侶の尚代（ひさよ）さんでした。その後2005年まで、シアノバクテリアの時計遺伝子のクローニングから概日リズムの試験管内再構成系の確立までの10年間、近藤先生のすぐ傍で、掛け替えのない研究の日々を送らせていただき、その後も折に触れてご指導を仰いできました。

近藤先生には偉ぶるところが殆どなく、その柔和な笑顔と朴訥とした飾らぬ語り口、気さくなユーモアは、私たち弟子だけでなく、内外を問わず多くの人々を魅了しました。若者との議論も大好きで、私たち若造にもいつも耳を傾けてくださいました。実は、近藤グループの重要な研究成果の中には、研究着手した当初の先生のアイデアが実験をしているうちに反証され、大きく方向転換した形で論文にまとめたものが少なくありません。私にとって最も思い出深い転写翻訳



✉ hideo-iwasaki@waseda.jp



フィードバックループの反証^{2,3}は、その最たる例です。その過程では、若気の至りで私たちが率直な（失礼な）発言をしたことも数知れません。先生なら大丈夫という安心感と信頼があったからこそで、大いに甘えさせていただいていたと反省しつつ、その包容力に感謝しきれません。同時に、先生にはかなり頑固な面もありました。そんな場合でも長時間かけて人の意見をじっくり聞いたうえで判断しておられました。たまに見せる決然とした厳しい表情には迫力があり、そういう時は大変説得力がありました。敵に回したら、かなり厄介だったと思います。

近藤先生は、常に生物時計に関する本質的な課題を掲げ、最適な実験系を選び続けました。Kondotronの愛称（近藤先生自身はそう呼んだことはないですが）で知られる多チャンネルの生物発光測定装置など、数々の測定器やプログラムの多くを自作しました。そして、常々「重要なのは、やることに色々手を伸ばすことではなく、なにをやらないか（本質的な研究に集中すべき）だ」と述べ、体現しておられたと思います。私がすごいと思ったことは、必要に応じて研究室の主軸の手法を劇的（抜本的）に転換させることを厭わなかった点です。これは、なかなかできることではないと思います。先生の凄みは節目節目で発揮されましたが、それを最も感じたのは、時計の試験管内再構成系という金字塔を成し遂げる過程ではなく、むしろそのあとでした。そのことは、寺内さんが詳しく書いてくださっていますが、試験管内での時間生物学という新たな地平を、驚くほどの集中力で切り拓き、その

探究は亡くなる直前まで衰えるどころか加速し続けたと言ってよいでしょう。その過程で、強靱な思考に基づく、他の追随を許さない深度の独創的な発振仮説（デュアルカップリング型調和振動子仮説）を練り上げていきました。先生はその意義を、亡くなる直前まで周囲の者に熱く語り続け、それをまとめた論文の完成を目指されました。その執念はすさまじく、年を追うごとに鬼気迫るものとなっていました。その一端は、晩年に書かれた回想⁴からも読み取れますが、それでも論文の完成を見届けることができなかつたことは無念だったでしょう。でも、こんなにも多くの不朽の成果と宿題を遺していただきました。ひとの何倍も充実した豊かな研究人生を全うされたと思います。

しかし、亡くなってみると、偉大な研究者としての近藤先生という以前に、何よりチャーミングで柔和な先生のお人柄がとめどなく思い出されます。たとえば、ある時点まで彼はコーラ中毒でした。オフィスには常にコーラの缶が山積みになっていて、そして決まっていたところで飲みかけの缶を出しっぱなしにしていました。缶を開けた時だけがうまいからそうしたのか、あるいはぬるくなって多少炭酸ガスが抜けたコーラを愛していたのかどっちだったか忘れましたが、周囲の人たちにしょっちゅう和やかなダメ出しをされて頭を搔いておられました。コーヒーをマドラーでかき混ぜることをこよなく愛したことも忘れられません。どう考えてもコーヒーとミルクは十分混ぜているはずだけど、それでもひたすら混ぜ続けていないと気が済まないらしいのです。



学会への出張中、飛行機や長期のドライブの際に、隣の席で長時間話し込んだことも懐かしく思い出されます。私は美術作家としても活動しているのですが、近藤先生も古典派からロマン派のクラシック音楽の熱心な愛好家で、たまに芸術に関する話をすると、彼は決まってオスカー・ワイルドの「自然が芸術を模倣する」という言葉を出してきました。その言葉を字義どおり信じていたわけではなさそうでしたが、心に深く刺さるものがあったらしいのです。亡くなったあと、先生のご自宅を訪れると、多くの蔵書の中に、オスカー・ワイルド全集があり、込み上げてくるものがありました。ああ、もっと色々なこととお話ししたかった、と。ちなみに、アートの語源アルスは本来技芸、技術を指す言葉です。先生自身が精巧な機械やプログラムをデザインしながら、驚くほど巧妙な生物時計のからくりを解こうと最後まで挑み続けたこと、さらに世界で初めて時計の再構成を成し遂げたにもかかわらずそれに満足せずにそのからくりを探究し続けたことを想うと、先生がワイルドの言葉に自分の営みをどのように重ねていたのか、改めて訊いてみたかったです。ただただ残念でなりません。同時に、さぞ辛かったであろう闘病から解放されたことに少しほっとしています。先生、お疲れさまでした。本当にお世話になりました。ありがとうございました。どうぞ安らかにお休みください。

先生が亡くなって間もなく、すい臓がんで闘病していたご伴侶の尚代さんも、2024年1月27日、後を追うように亡くなってしまいました。近藤研究室の一貫したメンバーとして、近藤先生とともに最も長きにわたって貢献した方でした。「研究室のお母さん」として、その屈託のない笑顔とユーモア、確かな技術で周

囲の方々に常に暖かく支え続けてくださいました。近藤先生は晩年多く様々な賞を受け取られ、その都度同窓生でお祝いをしました。最後に近藤先生が何か挨拶をするのですが、さらにそのあと決まって周囲に促されて尚代さんがコメントをすると、至極控えめな口調ながらもウィットに富んだトークは常に主役の座を奪うもので、聴衆を爆笑に叩き込みこんだものです。私たちにとって、ラボの Closing remark は、尚代さんしかありえませんでした。尚代さんにもこの機会に、心からの感謝とご冥福を申し上げます。また、ほぼ同時にご両親、祖父母を亡くされたご遺族に、心からお悔やみを申し上げます。

参考文献

1. Nakajima, M. et al. Reconstitution of circadian oscillation of cyanobacterial KaiC phosphorylation in vitro. *Science* **308**, 414-415 (2005).
2. Tomita, J., Nakajima, M., Kondo, T., Iwasaki, H. No transcription-translation feedback in circadian rhythm of KaiC phosphorylation. *Science* **307**, 251-254 (2005).
3. Iwasaki, H. A retrospective: on disproving the transcription-translation feedback loop model in cyanobacteria. In: *Circadian Rhythms in Bacteria and Microbiomes* (eds Johnson, C.H. and Rust, M.) pp. 53-65 (Springer, 2021).
4. Kondo, T. Around the circadian clock: review and preview. In: *Circadian Rhythms in Bacteria and Microbiomes* (eds Johnson, C.H. and Rust, M.) pp., pp. 21-52 (Springer, 2021).

近藤孝男先生と近藤研の思い出

寺内 一姫¹、伊藤 (三輪) 久美子²

1 立命館大学 生命科学部、2 名古屋大学 大学院理学研究科・高等研究院

2023年11月16日未明、近藤孝男先生が肺炎のためお亡くなりになりました。ここに謹んで哀悼の意を表します。近藤先生のご経歴や輝かしいご功績は、すでに皆さんをご存知の通りです。私たちは、先生の長い研究人生の最後の時期と一緒に研究させていただいたものとして感謝とともに追悼の小文を記します。

近藤先生は概日時計のメカニズムを追求することに生涯をかけて取り組まれました。2005年にScience誌に掲載された「KaiCによる概日時計の試験管内再構成」¹という常識を覆す発見後、ますます研究を加速され、2007年のKaiCのATPase活性の発見²以降は、KaiCタンパク質の中に時計の性質すべてが組み込まれているということを最も重視し研究に取り組まれました。機械式の振り子時計のような仕組みがKaiCの中にあるという時計モデルを提唱され³、私たちはこの時計モデルを実験的に検証することを目標に研究を進めていました。KaiCを理解するために、機械式の時計の仕組みについての講義をしていただいたり、振り子時計を撮影したり、先生が集めた動画を見たりと、貴重な体験をさせていただきました。10年にわたる長い議論の上に構築された先生の時計モデルは、2022年の名古屋大学レクチャーでお話されており、YouTubeで見ることができます⁴。

長く続けてきた先生と私たちの議論は半年ほど中断していましたが、昨年8月に(お亡くなりになる3ヶ月ほど前)、いよいよ時計モデルの論文を投稿すると話され、議論を再開しました。先生と寺内、三輪の3人で週に1回のペースでZoomを利用して論文内容について議論していました。ミーティングでは、先生のお話ぶりからこの論文を世に出すことの熱意がひしひしと感じられました。論文の議論の合間には、先生も世間話などされ、11月に開かれる秋の園遊会に招待され、皇居で陛下にお目にかかることを楽しみにされているご様子などをお聞きし、私たちも大変うれしく思ったものでした。最後になった10月10日のミーティングは、名古屋大学病院に緊急入院される



3日前でした。実は、その際、私たちは先生のお声に異変を感じました。しかし先生はいつも通り論文の議論をされ、最後には、ではまた続きは来週に、とミーティングを終えられました。

ご入院後、ICUから一般病棟に移られた先生をお見舞いに、私たちは名大病院にお伺いしました。帰り際に、次の面会には最新の実験データと原稿をお持ちすること、そして最優先でこの論文を作成することをお約束しました。先生のお声は聞き取れませんでした。口の動きと表情から、頼んだよと言われたかのようでした。そして、その5日後に、急に先生は旅立たれました。この時計モデルの論文を世に出す前にお亡くなりになり、先生はどれほど心残りであったことでしょうか。本当に残念でなりません。先生のご遺志を引き継いで近藤時計モデルを形にすることが私たちの役目だと思っています。

先生から教わったことはたくさんありますが、一番大切な教えは、本質に真正面から向かうということでした。常に本質をみることで、これが科学者として最も重要なことであり、それ以外のことをする時間はない、

1 ① terauchi@fc.ritsumeai.ac.jp

2 ② ito.kumiko.u7@f.mail.nagoya-u.ac.jp



と教わりました。また、高分解能で再現性が高い結果を出すことをとても大切にされていました。そのために創意工夫をする、その結果得られたデータには説得力がある、とよくお話しになりました。

近藤先生は、文化功労者としてのご功績から名古屋大学の特別教授として生涯にわたり研究室を維持できるお立場にあり、お亡くなりになるまで研究室が継続されていました。そこは、先生の元からアカデミアに独立して巣立った OBOG の実家のような場所であり、近藤先生がいつもにこやかに迎えてくださり、議論していただける大切な場でした。2018 年から CyanoClock というシアノバクテリアの概日時計の研究会が立ちあがり、多くの OBOG が名古屋大学に集まり先生も交えて議論をすることを先生はとても喜んでおられました。

先生が現役の教授であった頃は、近藤研には多いときには総勢 30 名ほどのメンバーがいて、自由な雰囲気、研究費は潤沢であり、大変恵まれた研究環境で楽しく研究させていただきました。理系としては珍しく女性が多い研究室で、多くの女性が近藤研で活躍されました。出産育児を経て私たちが研究を続けることができたのも、早くからワークライフバランスにご理解を示された近藤先生の研究室にいたからだと感謝しています。近藤先生の奥様の尚代さんは、テクニシャンとして近藤研に長年にわたって貢献されました。お話がお上手で優しい尚代さんを、研究室のだれもが信頼していました。尚代さんが、先生の後を追うように 2 ヶ月後に旅立たれたのは、近藤研 OBOG にとって度重なる悲しみとなりました。

近藤先生は、ラボメンバー全員が研究以外のことも集まる機会をたびたび作ってくださり、年末に先生のご自宅に集まってクリスマス会をするのが毎年恒例でした。この会では研究室メンバーのみならずその



家族も迎えてくださり、先生お手製のお料理、尚代さん扮するサンタクロースからのプレゼント、それらは近藤研 OBOG にとって忘れられない楽しい思い出です。

近藤研がなくなってしまうことは OBOG にとって実家を失うような寂しさを感じます。私たちが先生の時計研究にかける熱意を受け継ぎ、新たな研究へと発展させていくことを、先生は奥様と一緒に天国から眺めておられるのだと思います。教えていただいたことを心に、挑戦を続けていきたいと思えます。心から感謝を申し上げます。ありがとうございました。

参考文献

1. Nakajima, M. et al. Reconstitution of circadian oscillation of cyanobacterial KaiC phosphorylation in vitro. *Science* **308**, 414-415 (2005).
2. Terauchi, K. et al. ATPase activity of KaiC determines the basic timing for circadian clock of cyanobacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 16377-16381 (2007).
3. Ito-Miwa, K., Terauchi, K., Kondo, T. Mechanism of the cyanobacterial circadian clock protein KaiC to measure 24 hours. in *Circadian Rhythms in Bacteria and Microbiomes* (eds Johnson CH & Rust M) pp.79-91 (Springer, 2021).
4. 名古屋大学レクチャー「24 時間を計るシアノバクテリアの時計タンパク質～概日時計を巡って 50 年」 <https://youtu.be/Kv8UM8u5Qgo>

近藤孝男さんを偲ぶ

本間 研一[✉]

北海道大学 名誉教授

近藤孝男さんと最初にお会いしたのがいつだったか、はっきりと思い出せない。近藤さんは、1984年の第1回生物リズムに関する札幌シンポジウムに参加されているので、その時が最初と思われる。近藤さんは名大の理学部生物学科の出身で植物の生物時計を専門とし、私は北大医学部出身でラットなどの小動物やヒトを研究対象にしていたので、それ以前にはお会いできる接点は無かった。異なる分野の研究者の出会い、それが札幌シンポジウムの魅力でもあった。その後、岡崎の基礎生物学研究所に近藤さんを訪ねて行った記憶があり、またゴードン・リサーチ・カンファレンスでも何度か一緒になった。

近藤さんは、1990年代前半、シアノバクテリアの概日リズムを、発光レポータを用いて観察し、第一報をPNASに掲載した。その後、名古屋大学理学部に移られてからのご活躍ぶりは周知の事実であり、繰り返し述べる必要はないであろう。近藤さんはラジオ少年だったようで、しかもコンピュータープログラムが得意で、実験器具などを簡単に作ってしまった。コンドロー・トロンと呼ばれている生物発光用の連続測定装置もその一例である。近藤さん達が用いたレポータ技術は画期的で、私の研究室でも是非導入したいと考えていた。当時哺乳類では、概日時計の指標として測定していたのは、行動リズムの他は、松果体のメラトニンやその合成酵素活性、血中ホルモンや脳内神経伝達物質などで、測定の自動化はなされていなかった。私たちは、近藤さんの助言と協力を得て、発光レポータによる遺伝子発現リズムの測定に取り掛かった。

近藤さんは若いころから山登りが好きで、山男であった。そういう訳で、北海道にもしばしば来ていたようだ。ヒマラヤに挑戦したこともあるという。山中に別荘を作ったというから、熱の入れようは半端ではない。私が大学を退職し、アショフ・ホンマ記念財団を設立したとき、近藤さんに評議員になってもらった。近藤さんは年1回の会議に欠かさず出席してくれた。



1995年の札幌シンポジウムにて。
近藤さん(右)と筆者(左)

また、近藤さん自身が受賞者でもあるアショフ・ホンマ生物リズム賞の選考委員長も務めて頂いた。2023年5月の財団評議員会には、決して万全の体調ではないにも関わらず出席して戴き、会食にも参加してもらった。北海道の自然をみつらえた創作イタリア料理は、近藤さんも気に入ってくれたようだ。その後6月に、治療法の相談に北大病院を訪れたときにお会いし、一段落ついてホテルにお送りするとき、明日は家内と2人でドライブに行くと言っていた。近藤さんの気力、活力は充分であった。

近藤さんが亡くなって1月ほど経ってから、奥様にお悔やみのお手紙を書いた。「近藤先生の思い出は数多くありますが、なかでも生物時計の発振機構に関し、1990年代の初頭に提出されたフィードバックモデルについて、お互い生理学の立場から、「あんな単純なものではないだろう」と意気投合したことを思い出します。その後、近藤先生は分子振動モデルを提唱され、ノーベル賞受賞者達の心胆を寒からしめたことは記憶に新しいことです」。

Takao Kondo を偲ぶ

Carl Hirschie Johnson[✉]

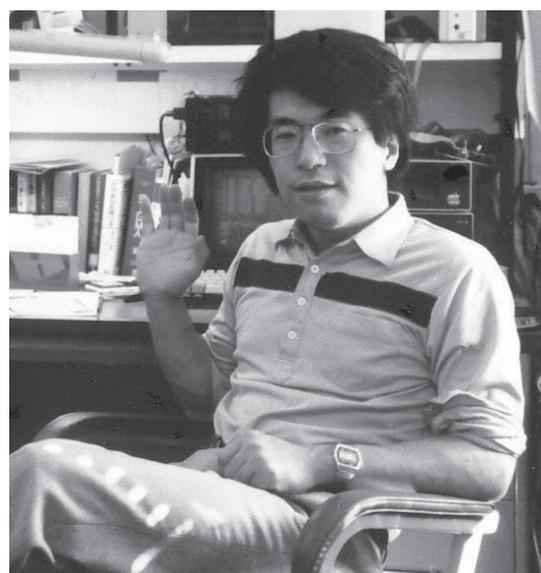
Vanderbilt 大学

Takao Kondo は特別な人物でした。最初はひっそりと目立たない始まり出だしたけれど、やがて生物時計を探究する視点に多大な影響を与えることになりました。

私が初めて Takao に会ったとき、彼は岡崎の基礎生物学研究所の村田紀夫教授のグループの研究者(助手)でした(写真は、1986年に基生研で撮ったものです。後ろにアップルコンピュータが映ってますね)。村田博士は膜の流動性と温度効果というテーマでは「やり手」であり、Takao に気ままに概日リズムの研究を継続させる一方で、村田さんの研究プロジェクトにもかなりの労力を割くことを要求していました(が、Takao はそれに従順だったわけではありません)。しかし、幸いなことに、世の中には正義があります。最終的に Takao は、時計とは何かを再評価させる根本的な貢献を成し遂げたことで、広く認められることになり、その研究の深淵において、恩師や村田さんを凌駕することになりました。

私は、Takao が科学者としての修業を始めたとき、自分のキャリアが、彼が実際に成し遂げた高みに到達すると考えてはいなかったと思います。実際には、様々な栄誉にも浴しました。たとえば朝日賞は、芸術や学問の分野で顕著な業績を挙げ、その発展に大きく貢献した人に贈られる、日本人として最も権威のある賞のひとつですね。さらに名誉なことに、概日リズムの試験管内再構成の意義を、天皇に直接説明する栄誉も与えられています(試験管内 KaiABC リズムの発見については、文献¹に楽しく書かれています)。

ノーベル賞受賞者のセント・ジェルジは「研究とは、誰もが見たことのあるものを見て、誰もが考えなかったものを考えることだ」という名言を遺しています。Takao は、見かけと異なり、根本的には異端者、変わり者でした。日本人には珍しく辛い食べ物が好きだったし、日本の科学者の多くが NEC のコンピュータを使っていた頃、彼は一早く Apple/Mac のコンピュータを採用していました(写真参照)。また、車もトヨ



1986年 基生研にて

タ、ホンダ、マツダ、三菱、日産などではなく、当時は全輪駆動のスバルを乗り回していました。さらに日本アルプスだけでなく、ヒマラヤにも登っていました。これらはすべて、彼が見かけと違って迎合主義者ではないことを示しています。彼の成功のもうひとつの鍵は、装置を設計し、データ収集と分析のためのコンピュータープログラムを書く才能でした。こうした特性が、彼の独創的な科学的アプローチを可能にしたわけです。Takao は自伝的な回想[2]で次のようにつぶやいています。

「他の科学者たちと競争するほど混みあっておらず、本当に面白い研究分野はないだろうかと思った。多くの生物に見られる現象を、それが役に立つかどうか、例えば医学的に適用できるかどうかにかかわらずに研究したかった。(中略) 当時、私はよく、皆がしていた流行りの分子生物学や生化学をやらないと、キャリアに悪影響があると忠告された。そこで、密かに尊敬していた生化学者と分子遺伝学者を訪ねたところ、二人とも、皆がやっていることをやるべきだとい

✉ carl.h.johnson@vanderbilt.edu

う考え方は捨てたほうが良いと言ってくれた」²。これは、すべての若い研究者たちに聴いてもらいたい有益な助言だと思います。

さて、私たちの共同研究は、1985年に真核緑藻クラミドモナスの時計に関する研究から始まり、やがて Susan Golden 博士と石浦正寛博士を加えた4者によるシアノバクテリアを用いた共同研究へと花開きました^{3,4}。最終的に、この共同研究は「協力的な競争」へと発展しましたが、多くの同僚は、私たちの共同研究がこれほど長い間生産的に続いたことに驚いていました。それは、友情と経験の共有にしっかりと根ざしていたからだと思います。ただ、やがて私たちの研究室では、学生や研究員のために独立して研究することが要求されるようになり、Takao たちとの協調関係に不協和音が生じるようにもなりました。それは私にとっても悲しいことで、友情が一時中断してしまったこともありました。C'est la vie. 日本人は「これが人生だ」と言うかもしれないですね。

私は Takao の代弁をすることはできませんが、彼は、試験管内の KaiABC 振動子の研究で得られる概日機構の洞察は、他のシステムにも一般化できると信じていたと思います。彼は自伝的な回想[2]でこれらの概念を説明しようと努めていました。

Takao Kondo は私の人生を変えました。仕事でも私生活でも、私はある道を歩んでいましたが、彼との付き合いと友情によって、別の(より良い)道を歩むことになったのです。ありがとう、Takao!

参考文献

1. Iwasaki H (2021) A Retrospective: On Disproving the Transcription-Translation Feedback Loop Model in Cyanobacteria. In: Circadian Rhythms in Bacteria and Microbiomes, C.H. Johnson and M. Rust, eds. (Springer), pp. 53-65.
2. Kondo TK (2021) Around the Circadian Clock: Review and Preview. In: Circadian Rhythms in Bacteria and Microbiomes, C.H. Johnson and M. Rust, eds. (Springer), pp. 21-52.
3. Johnson CH and Xu Y (2009) The Decade of Discovery: How *Synechococcus elongatus* became a model circadian system 1990–2000. Chapter 4 in: Bacterial Circadian Programs, J.L. Ditty, S.R. Mackey, C.H. Johnson, eds. (Springer), pp. 63-86.
4. Johnson CH (2021) To Takao Kondo on the Occasion of His Retirement. In: Circadian Rhythms in Bacteria and Microbiomes, C.H. Johnson and M. Rust, eds. (Springer), pp. vii-xvii.

(和訳: 岩崎。原文は、Journal of Biological Rhythms にも掲載される予定です)



佐々木三男先生の思い出

高橋 敏治¹✉, 伊藤 洋²

1 法政大学 文学部心理学科、

2 東京慈恵会医科大学葛飾医療センター名誉院長・日本睡眠学会元理事長

佐々木三男先生が生まれ故郷の青森県弘前市で2023年12月6日に永眠されました。息子さんが理事長を勤める病院でご家族に看取られながらの穏やかな最後でした。時差研究の第一人者として慈恵医科大学、日本航空健康管理室などで活躍されました。この稿では佐々木先生が長年親しまれてきた時差ぼけですすめます。特に研究を通しての人との出会いのこゝろを取り上げたいと思います。

第一の出会い、同じ慈恵医科大学の先輩にあたる遠藤四郎先生との出会いになると思います。遠藤先生は、いち早く睡眠研究の重要性を取り上げられ、厳しい指導で有名な先生でした。佐々木先生も遠藤先生のことを語られる際には、いつも枕言葉のようにその厳しさを述べられていました。佐々木先生は日本航空の乗員健康室に関与されながら、時差ぼけ研究を精力的に進められましたが、最初のころは、日本では「そんなパイロットのぜいたく病を研究して何になるの？」と学会での発表も冷やかな反応が多く、悔しい思いをされていたことをお酒の席で漏らされていました。

しかし、Stanford大学の故Dement先生が佐々木先生の論文に着目され、声掛けをされたのが第二の出会いになると思います。そのDement先生を中心に世界の4大航空会社（日本の日本航空、米国のパンナム、英国の英国航空、ドイツのルフトハンザ航空）が参加した国際時差ぼけ共同研究が実施されました。現役でフライトしている50名以上のパイロットを参加者にして、日本、米国、英国、ドイツで関係する大学や研究所の協力を得ながら実施されました。この研究では、夜間の睡眠ポリグラフによる睡眠脳波の変化はもちろん、さらにMSLT (Multiple Sleep Latency Test) による客観的眠気の測定、一部ですが24時間の直腸温リズムを測定したことが新たな研究展開になりました。佐々木先生が少数例を積み重ねて検討した、西行

きに比べ東行きフライト時に睡眠障害が強いこと、東行きフライト時の滞在ではREM睡眠の出現が多いことが再確認されました。MSLTでは東行きフライトではスコアが短縮し眠気が極端に強くなり、朝型のタイプでその傾向が強いことが示されました。佐々木先生が国際共同研究の最終的な打ち合わせで自分のそれまでに示してきた結果と違いないことをStanford大学での報告会でお聞きになり、心から安堵された姿は忘れられません。この研究後、MSLTの眠気分野での重要性を日本の学会に広められた功績も大きいと思います。この国際共同研究の前には、客観的な眠気の測定法は、行動指標から測定するフリッカーテストしかなかったのですが、初めてMSLTで客観的な眠気を測定できたときの佐々木先生の喜びに満ちたお顔が忘れられません。一連の時差研究を通して、他人が何と言おうと自分の確信した研究ターゲットを持続していく意志力の強さを学ばせて頂きました。また、MSLTは1つの例にすぎませんが、いろいろな文献や場所、人とのつながりに、感度の良いアンテナを張って、最新の重要な情報を得ていくことも身をもって示していただきました。この国際共同研究と前後して、臨床場面では、睡眠相後退症候群などの睡眠覚醒リズムが問題になっていましたが、時差ぼけはその格好のモデルであり、睡眠覚醒と生体リズムの両方に重なるクロスオーバー的な新たな領域であることが示されました。睡眠研究者であった佐々木先生にとっても、生体リズムの概念を正確に取り入れ、研究に生かすことは容易な問題ではなかったと思います。

その生体リズム関係のブレークスルー的な第三の出会いが、ドイツの留学から帰国されたばかりの本間研一先生になると思います。本間先生との隔離実験を通していろいろな生体リズム研究の手法を私たちにも体得させて頂きました。佐々木先

生と本間先生がお会いする時にはいつも最後は東京で、あるいは札幌での愉快なお酒の席になりました。

佐々木先生の周りにはいつも多くの人が集い、切磋琢磨する集団として育っていきました。研究班のまとめ役に最も腐心された伊藤洋（日本睡眠学会元理事長、東京慈恵会医科大学葛飾医療センター名誉院長）をはじめとして、山寺亘（東京慈恵医大教授、葛飾医療センター部長）、小曾根基裕（久留米大学精神医学講座教授）、千葉伸太郎（日本睡眠学会第48回定期学術集会大会会長、太田睡眠科学

センター所長）、松永直樹（日本航空健康管理部主席産業医）、そして開業して臨床の場で活躍している先生方など、数えだすとときがありません。

弘前に戻られてからはお会いする機会も少なくなってしまう、新型コロナ禍が始まる前、弘前にお訪ねして鍛冶町（弘前が一番の飲食街）でお会いしたのが最後になってしまいました。もっともお会いしたかった。そして、一緒に肩を組んで十八番だった「憧れのハワイ航路」を歌いたかった。ここからご冥福をお祈りします。合掌。



国際時差ぼけ共同研究の集合写真
(最前列右から2番目が佐々木先生、後ろから2列目一番左が Dement 先生)



ロサンゼルスでの時差実験の1コマ
(メラトニン採血)



ロサンゼルスでの時差実験の自由時間の1コマ
(中央右側が佐々木三男先生)

昆虫の光周性と概日時計

沼田 英治[✉]

京都大学 学術研究展開センター

昆虫の光周性に概日時計が関わることは広く受け入れられている。この概日時計が、活動リズムを調節する概日時計や時計遺伝子の負のフィードバックによって駆動する概日時計と同じものなのかについて行われた研究を紹介する。*period*など既知の時計遺伝子の RNA 干渉法による発現抑制やゲノム編集によるノックアウトを行った結果は、これらの遺伝子が光周性に関わっていることを示している。多様な昆虫のさまざまな現象を支配する光周性に時計遺伝子が関わっていること、そして、ホソヘリカメムシにおいては概日時計の負のフィードバックにおける正の調節因子の発現抑制と負の調節因子の発現抑制が逆の結果をもたらすことから、時計遺伝子の時計以外の機能が結果として光周性に影響しているのではなく、時計遺伝子によって駆動する概日時計そのものが光周性に関わっている可能性が高い。

1. 光周性に使われる光受容器

筆者は京都大学の大学院在籍中の 1980 年に、昆虫の光周性における光受容器の再検証を行うことにした。その当時、昆虫の光周性に使われている光受容器は、複眼や単眼など光受容専用の器官ではなく脳が直接光を受けているとされていた。1964 年に Carroll Williams と Perry Adkisson が、サクサン *Antheraea pernyi* という大型のガの蛹において体の前半と後半に異なる光周期を与え、体の前半部の光周期に反応すること、さらに脳を腹部に移植すると光周期に対する感受性も腹部に移動することを示した。同じ 1964 年に、Anthony Lees はアブラムシの一種 *Megoura viciae* (日本のソラマメヒゲナガアブラムシ *Megoura crassicauda* は本種の亜種とされていたこともあるくらい近縁) の成虫において、細いライトガイドを使って体の一部に他よりも長い日長を与え、複眼ではなく脳に与えた光周期に反応することを示した。この 2 つの実験は、設定がきわめて巧妙であった上に、脳が光受容器であるという結果が明瞭であった^{1,2}。この時代に、多様な昆虫のさまざまな現象を制御する光周性についての結果がそろっていたわけではなかったが、これらの見事な実験結果を受けて、昆虫の光周性では脳が直接光を受けていることが一般に受け入れられていた。しかし、筆者の指導者であった日高敏隆は、光周性における光受容器の問題は解決していないと考えて、この課題を提案した。相談の結果、複眼と単眼があって明瞭な光周性を示すホソヘリカメムシ

Riptortus pedestris の成虫でこの課題に挑むことにした (図 1)。

ゴキブリの概日時計とそれを入力する光受容器の研究経験のある宇尾淳子に相談して外科的な手術も行ったが、最終的に蓄光性の夜光塗料を複眼に塗ることによって複眼を体の他の部位よりも長い日長さらすと長日効果をもったことを根拠に、この虫の成虫は複眼を光周性のための光受容器としているという結論に達した³。大阪市立大学に就職した後に、志賀向子や大学院生たちの協力を得ながら、さまざまな昆虫で光周性の光受容器の研究を行った結果、脳を使っているものもいるが、複眼を使っているものも珍しくないことが明らかになった。2010 年に光周性の光受容器が明らかになっていたカメムシ目、バッタ目、チョウ目、コウチュウ目、ハエ目の 19 種について表にし

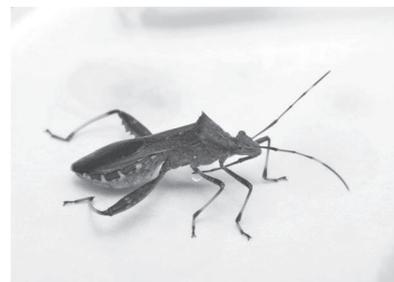


図 1 ホソヘリカメムシの雌成虫。マメ類の害虫として知られ、短日の下で生殖機能を抑制した成虫休眠に入る。体長 14–17 mm。

[✉] numata.hideharu.8r@kyoto-u.jp

た結果、チョウ目昆虫で脳を使っているものが多く、それ以外は複眼を使っているものが多いという傾向は見られたが、系統と光受容器の間に明確な法則はなかった⁴。

2. 光周性のモデルと概日時計

1936年に、Erwin Bünningは、「短い光パルスを長い暗期の中に与えると、明るい時間の長さを合計しても長日に相当する長さにならないにもかかわらず長日と出力する」という暗期の光中断実験の結果を説明するために、内因性のリズムの関与を想定した⁵。この内因性のリズムは、今日では概日リズムと呼ばれるものであり、概日リズムをもたらし時計を概日時計と呼ぶ。Bünningが提示したこの考えは、後にBünningの仮説と呼ばれるようになり⁶、今日でもその名で知られている。この仮説は、概日時計の主観的夜に該当する時間帯（親暗相）のどこかに光が当たると長日と出力するというきわめて単純なモデルであり、そのままで説明できる反応を示す生物はいないが、「光周性における日長測定に内因性のリズムが関わる」ことを初めて提唱した点で今日でもその意義は薄れない。

しかし実際には、概日時計の主観的夜の中でも、光が当たると長日と出力する位相もあればそうでない位相もある。そこで、Bünningの仮説をより実態にあった形にしてColin PittendrighとDorothea Minisが提唱したのが外的符合モデルである⁷。このモデルでは、光が当たると長日と判定される概日時計の位相を光誘導相と呼ぶ。また、Pittendrighは、これとは別に2つの概日時計の位相関係によって光周性を示す内的符合モデルが理論的にあり得ることを指摘した⁶。これら2つのモデルはいずれも光周性における日長測定に概日時計が関与することを前提としているが、大きな違いは、外的符合モデルでは光は概日時計の同調と光誘導相における光の有無を判定する2種類の使われ方をするのに対して、内的符合モデルでは光は複数の概日時計の同調にのみ使われることである。そして、David Saundersは、昆虫の種によって、ニクバエの一種*Sarcophaga argyrostoma*のように外的符合モデルがよくあてはまるものやキョウソヤドリコバチ*Nasonia vitripennis*のように内的符合モデルがよくあてはまるものがあることを示した⁸。

このようにして、光周性における日長測定に概日時計が関わるという考えが受け入れられるようになっていったが、それに真っ向から反論したのがLeesであり、それを支えたのが*M. viciae*の単為生殖と両性生殖の切り替えを制御する光周性の実験結果であっ

た。他の虫で概日時計の関与を示したような様々な実験プロトコールを採用しても、この虫は暗期の長さが一定時間以上になれば短日と読み取るという単純な結果を示し、それに基づいて提案されたのが砂時計モデルである⁹。

1984年にハンブルクで開催された国際昆虫学会議で「ホソヘリカメムシの光周性には複眼が関与する」と、自分では驚くべき結果だと思って発表したところ、それを聞いたある人は「Leesのアブラムシのものは砂時計であり、君のカメムシのものは概日時計が関係するだろうから、光受容器が違っても驚くに値しない」と言った。1984年の時点でも昆虫には概日時計の関与する光周性機構と砂時計の2通りが存在すると信じられていたのだ。Saundersは、概日時計の減衰する速さには種ごとに違いがあり、極端に減衰の速い場合が砂時計のような結果を出すという考えを長年にわたって主張し続けた⁸。後に、*M. viciae*においても、実験プロトコールを工夫することで概日時計が関与することが示された¹⁰。筆者もSaunders同様、昆虫の光周性機構には概日時計の関与するものとしなもの（砂時計）の2種類が存在するのではなく、連続的な変異の端に砂時計のようにふるまうものがあると考えてきた。

3. 光周性と時計遺伝子：ホソヘリカメムシの場合

1983年時点で昆虫の光周性に複眼が使われているという実験結果は少なかったが、昆虫の概日時計の光同調に複眼が使われているものはむしろ珍しくなかった。最初の明瞭な結果は、宇尾とPittendrighがマデイラゴキブリ*Rhyarobia maderae*の成虫の歩行活動リズムにおいて1968年に示しており、さらに、このリズムを制御する概日時計が視葉（脳の一部で複眼につながる）にあることも明らかにしていた^{11, 12}。そこで、当時の筆者は以下のように考えた。光周性には概日時計が関与することが受け入れられつつある。ゴキブリの歩行活動を司る概日時計への光情報は複眼から入る。そして、ホソヘリカメムシの光周性の光情報も同様に複眼から入ることを考えると、このカメムシでは光周性と活動リズムを司る共通の概日時計が存在するのではないか。

そうであれば、宇尾とPittendrighがゴキブリで行ったのと同じ実験をホソヘリカメムシで行えば、ゴールはすぐそこにあるように思えた。しかし、ホソヘリカメムシは実験室でゴキブリのようなきれいな歩行活動リズムを示さず、どのようにアプローチしていいのかわからないうちに年月が経過していった。こうして年月が過ぎていく間に、概日時計の遺伝子レベルの

研究はどんどん進んでいった。1990年にはキイロシヨウジョウバエで時計遺伝子の負のフィードバックによって概日時計が駆動していることが示された¹³。そうすると、このしくみで駆動する概日時計が光周性に関係しているだろうかというのは、誰もが思いつく疑問である。さらに、2000年ごろにはRNA干渉法（RNAi）による遺伝子の発現抑制が一般に使われるようになった。したがって、この方法を使えば、ホソヘリカメムシで時計遺伝子が光周性に果たす役割を調べることができそうに思えた。

2005年に筆者が勤めていた大阪市立大学理学研究科は、教員個人の外部評価を受けることにし、国際的な評価を受けるために評価委員には外国人も加えた。筆者が所属していた講座の外国人評価委員は、鳥類の行動生態学者であるAnders Møllerであった。Møllerによる筆者へのコメントは「なぜ光周性における時計遺伝子の役割を研究しないのか」であった。筆者自身もそのことには気づいており、これから始めようと思っていた時期である。そのため、「わが意を得たり」という気持ちもあったが、むしろ宿題を始めようと思った時に親から「宿題やりなさい」と言われた子どものような気持ちであった。鳥の人と言われる前に自分で始めたかと思うと同時に、分野が違ってもの確かな助言をできるMøllerを改めて尊敬した。

翌2006年に池野知子が4回生として研究室に入り、後藤慎介の協力のもとで、ホソヘリカメムシの時計遺伝子の研究を始めた。ホソヘリカメムシにもキイロシヨウジョウバエ *Drosophila melanogaster* で見つかったものと同じ *period* (*per*) や *cycle* (*cyc*、哺乳類の *Bmal1* に相当)、*cryptochrome* (*cry*) などの時計遺伝子が存在していた¹⁴。この *cry* は、キイロシヨウジョウバエで知られている概日時計の光受容に関わるものよりも、脊椎動物やオオカバマダラ *Danaus plexippus* など概日時計の負のフィードバックそのものに関わるものに配列が近かったため、哺乳類型 (*mammalian-type*、*cry-m*) とした。そこでまず、*per* および *cyc* の RNAi による発現抑制を行ったところ、*per* の発現抑制を行うと、休眠に入るはずの短日

でも成虫が卵巣を発達させ、*cyc* の発現抑制を行うと、卵巣を発達させるはずの長日でも休眠と同じように卵巣は未発達だった。すなわち、*per* の発現抑制を行うと短日でも長日であるかのように、*cyc* の発現抑制を行うと長日でも短日であるかのように反応した(表1)¹⁵。したがって、*per* と *cyc* という時計遺伝子は、ホソヘリカメムシの光周性において重要な役割を果たしていることがわかった。

しかし、キイロシヨウジョウバエで *per* と *cyc* が概日時計の負のフィードバックの一員であるからと言って、ホソヘリカメムシでも同じとは限らない。これらの遺伝子が実際に概日時計に関わっていることを示さなければならない。しかし、ホソヘリカメムシは実験室で明瞭な歩行活動リズムを示さないため、歩行活動を指標にすることはできない。その代わりに、クチクラ形成の概日リズムを調べることにした。ホソヘリカメムシの歩行活動リズムを調べることに奮闘していた1990年に、大学院生の田中真一とともに、ホソヘリカメムシ成虫のクチクラ形成に概日リズムが関わっている結果を得ていたからである。

多くの昆虫において、成虫になった後も内クチクラの形成が層状に進むことは知られている。しかも、この層のキチン繊維の配向性に2通りあって、1日に2種類の層が作られる。ホソヘリカメムシの後脚脛節を薄く輪切りにして、90度方向をずらした偏光板に挟んで光学顕微鏡で観察すると、2種類の層の違いを見ることができる(図2)。成虫になった後、明るい層と暗い層が交互に作られ、毎日1層ずつ増加する。恒常条件でもこの明暗の層が交互に作られ、温度を一定にした場合、その温度が異なっても層の数は変わらないが、温度サイクルを与えるとその周期によって層の数が変わった。したがって、この明暗の層の形成リズムは、(1) 恒常条件下で自由継続リズムを示しその周期はおよそ24時間である、(2) 自由継続周期には温度補償性がある、(3) 環境サイクルに同調できる、という概日リズムの代表的な性質をすべて有しており、概日時計の支配下にあることがわかった。そこでこれをさらに詳細に調べて、クチクラ形成リズムに対する

表1 ホソヘリカメムシのクチクラ形成の概日リズムおよび成虫休眠誘導の光周性に及ぼす時計遺伝子の発現抑制の効果

抑制した遺伝子	クチクラ層	長日	短日	文献
対照	明暗交互	生殖	休眠	
<i>per</i>	暗層のみ	生殖	生殖	15, 18
<i>cry-m</i>	暗層のみ	生殖	生殖	19, 21
<i>cyc</i>	明層のみ	休眠	休眠	15, 18
<i>Glk</i>	明層のみ	休眠	休眠	20

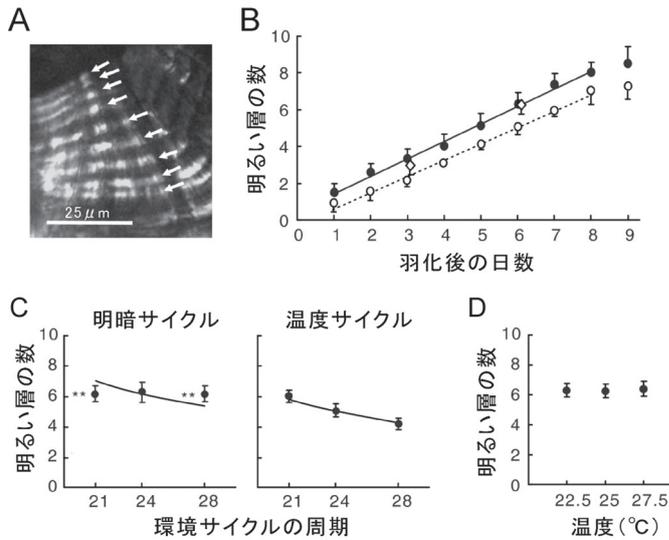


図2 ホソヘリカメムシのクチクラ形成リズム¹⁵。(A)羽化後20日の後脚脛節の断面図。明るい層(矢印)と暗い層が交互に形成されている。(B)25°C明暗サイクル(●)、温度サイクル全暗(○)、25°C全暗(◇)での明るい層の数(平均値±標準偏差、 $n = 9-16$)。明暗サイクル下と全暗で有意差はないが(羽化後3日と6日、 t 検定、 $p > 0.05$)、温度サイクル下の増加はこれより少ない。(C)25°C明暗サイクル(左)および温度サイクル全暗(右)での羽化後6日(144時間)の明るい層の数($n = 11-16$)。リズムが環境サイクルに完全に同調すると実線に重なる。*はそれから有意差があることを示す(t 検定、 $p < 0.01$)。(D)全暗の異なる温度での羽化後6日の明るい層の数($n = 11-13$)。温度間で有意差はない(ANOVA、 $p > 0.05$)。

per および *cyc* の発現抑制の効果を検証した。*per* と *cyc* の発現抑制を行ってもクチクラ層自体は日を追って厚くなっていったが、*per* の発現抑制を行うと暗い層だけが作られ、*cyc* の発現抑制を行うと明るい層だけが作られた(表1)¹⁵。

キイロシヨウジョウバエの概日時計の負のフィードバックにおいて負の調節因子である *per* と正の調節因子である *cyc* の発現抑制が、ホソヘリカメムシのクチクラ形成の概日リズムを、おそらく異なる位相で停止させ、光周性においても正反対の結果で光周性を見られなくしたことから、*per* と *cyc* という2つの時計遺伝子の関係する概日時計がホソヘリカメムシの光周性において重要な役割を果たしているとは結論した¹⁵。この論文を発表したのは、筆者が大阪市立大学から京都大学に異動した後の2010年のことであった。また、これに先立って、2009年に坂本智昭らはタンポコオロギ *Modicogryllus siamensis* において *per* 遺伝子の RNAi を行い、幼虫の発育速度を制御する光周性を消失させることに成功して論文を発表していた¹⁶。Bünning の仮説の提唱から70年以上が経過していたが、これらの研究によって、ようやく昆虫において Bünning が想定した光周性に関わっている概日時計の分子機構に踏み込めたと思った。

しかし、この解釈に対する批判もあった。筆者らの論文が掲載された同じ雑誌の同じ号に、William Bradshaw と Christina Holzapfel は、この結果は時計遺伝子の多面発現で説明できるという批判を掲載している¹⁷。多面発現というのは、単一の遺伝子が複数の機能を発現することであり、例えばこの場合、概日時計の機能とは別に *per* は休眠中の卵巣発達の抑制に、*cyc* は逆に卵巣発達に必要な役割を果たしてい

るとしたら、これら遺伝子の関係する概日時計が光周性に関わらなくても同じ結果が得られるという指摘である。

多面発現の効果を否定する実験は難しかったが、卵巣発達とは無関係なホソヘリカメムシの雄の光周性において *per* と *cyc* の RNAi 実験を行って同じ結果を得た¹⁸。さらに、雌において別の時計遺伝子 *cry-m* と *Clock(Clk)* の RNAi 実験も行って、それぞれ *per*、*cyc* と同じ結果を得た(表1)^{19, 20}。すなわち、概日時計の負のフィードバックにおいて負の調節因子である *per* と *cry-m* の発現抑制は長日でも短日でも生殖をもたらし、正の調節因子である *cyc* と *Clk* の発現抑制は長日でも短日でも休眠をもたらすことで、いずれも光周性を消失させた。この結果を、これらの遺伝子が別々に多面発現の効果で卵巣発達と雄の生殖に影響していると考えたよりも、これら4つの遺伝子を含む概日時計が光周性に関与すると考える方が、自然な解釈であろう。

なお、光周性に時計遺伝子に関わることがわかると、脳内のどの時計細胞が光周性に関わるのかに興味を持たれるが、これについては志賀によるまとめを参照されたい²²。

4. 光周性と時計遺伝子：カイコガの場合

筆者らがこれらの一連の論文を発表した後に発表された総説(Bradshaw と Holzapfel を著者に含む)においても、概日時計そのものが光周性に関わるという考えと時計遺伝子が光周性に関わるのは多面発現によるという考えが並列して示されていた²³。タンポコオロギの光周性は幼虫の成長に関するもので、ホソヘリカメムシの生殖を抑制する成虫休眠とは異なる

現象である^{15,16}。しかし、いずれも光周性を示す個体の体内で働く幼若ホルモンなどが関係するので、ホルモン分泌の調節機構やホルモンが分泌されてからの作用機構のどこかに転写因子である時計遺伝子が関

わる可能性を否定することは難しい。

そこで、注目したのはカイコガ *Bombyx mori* の光周性である。カイコガは母親の経験した環境条件によって、体内で休眠ホルモンが分泌され、次世代の胚発

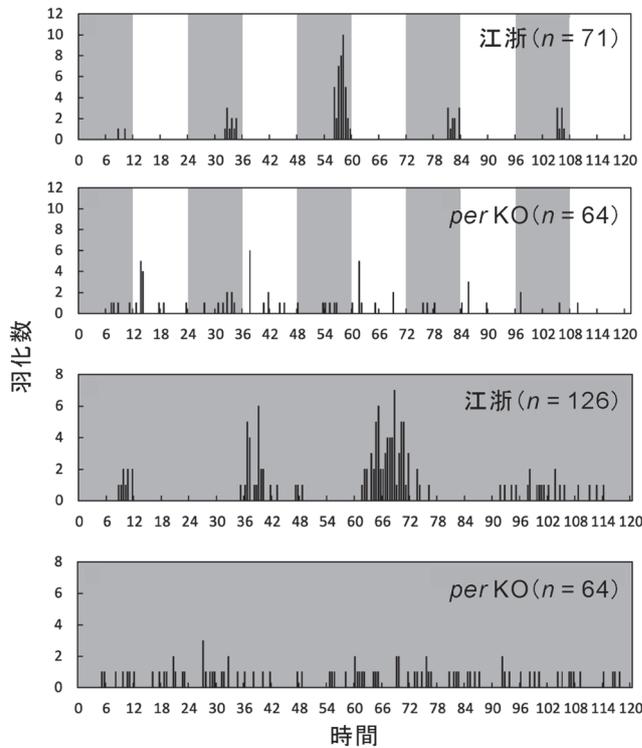


図3 カイコガの江浙系統およびそれから作成した *per* 遺伝子ノックアウト (*per* KO) 系統における羽化リズム²⁴。白い部分が明条件を、グレーの部分が暗条件を示す。江浙系統は全暗で自由継続リズムを示すのに対して、*per* 遺伝子ノックアウト系統は無リズムになっている。

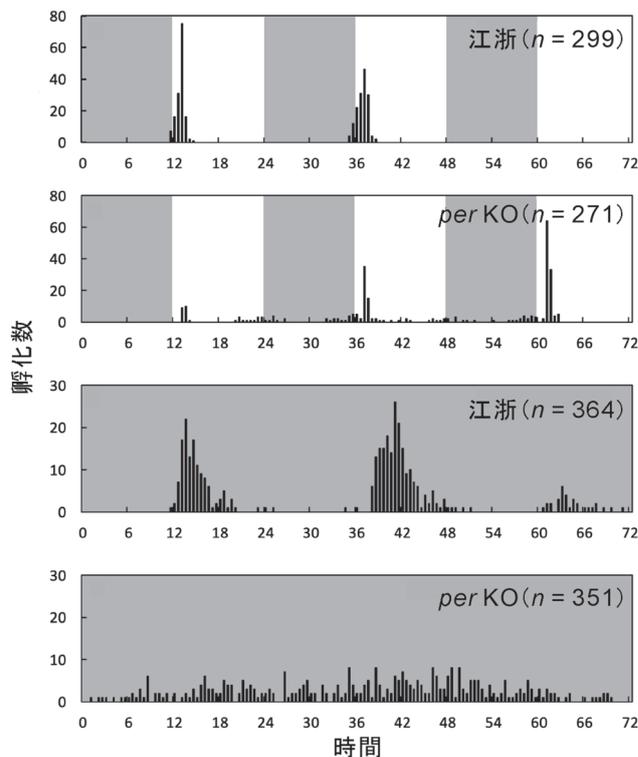


図4 カイコガの江浙系統およびそれから作成した *per* 遺伝子ノックアウト (*per* KO) 系統における孵化リズム²⁴。白い部分が明条件を、グレーの部分が暗条件を示す。江浙系統は全暗で自由継続リズムを示すのに対して、*per* 遺伝子ノックアウト系統は無リズムになっている。

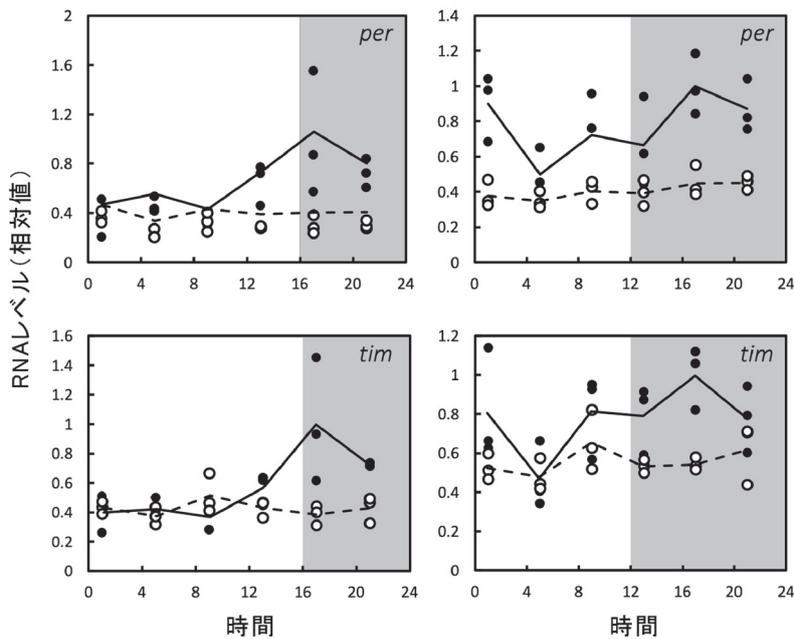


図5 カイコガの江浙系統 (●) およびそれから作成した *per* 遺伝子ノックアウト系統 (○) における *per* および *tim* 遺伝子の時間的発現パターン²⁴。リアルタイム定量PCRで測定した。白い部分が明期を、グレーの部分が暗期を示す。いずれの遺伝子についても、江浙系統は長日でも短日でも日周変動を示すのに対して、*per* 遺伝子ノックアウト系統は変動を示さない。

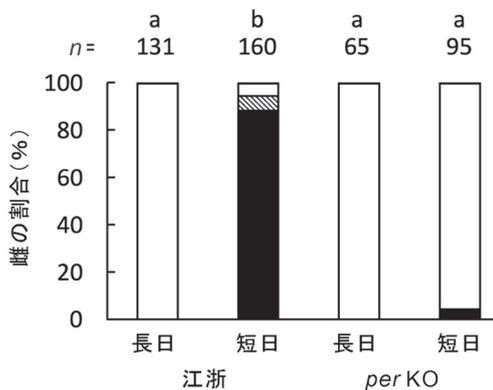


図6 カイコガの江浙系統およびそれから作成した *per* 遺伝子ノックアウト (*per* KO) 系統における、親世代の光周期が胚休眠の誘導に及ぼす効果²⁴。親世代は胚期 20°C 全明条件に置き、幼虫は 20°C で 12 時間明 12 時間暗の短日または 16 時間明 8 時間暗の長日の下で飼育した。黒いカラムはすべて休眠卵を産んだ母親、白抜きはすべて休眠卵を産んだ母親、斜線は休眠卵と非休眠卵の両方を産んだ母親の割合を示す。アルファベットが同じものは Tukey-type multiple comparison for proportion において有意差がないことを示す ($p > 0.05$)。 *per* 遺伝子ノックアウト系統は、江浙系統では休眠が誘導される短日においてもほとんどが非休眠卵のみを産んだ。

生が停止して休眠に入る。光周性機構が働く段階と休眠が起こる段階は完全に分離しているという点で、ホソヘリカメムシの休眠とは異なる系である。しかし、コオロギやカメムシで有効であった RNAi はカイコガには容易には適用できなかった。そこでカイコガのゲノム編集で実績のある大門高明、カイコガの休眠を長年研究してきた塩見邦博の協力を得て、京都大学の大学院生池田健人が中心になって、時計遺伝子が機能欠損した系統を作成して光周性を調べることにした。

カイコガでは、一般に胚期の高温と幼虫期の短日が次世代の胚休眠を誘導する。今回は江浙系統を使ったが、この系統も胚期の高温は次世代に休眠を誘導する。しかし、胚期を 20°C の全明に保ち、幼虫を 25°C で飼育すると幼虫期に短日を経験した雌の産んだ卵が休眠に入り、長日を経験した雌の産んだ卵は非休眠となる。TALEN (部位特異的ヌクレアーゼを利用して標

的遺伝子を改変するゲノム編集技術) によって、カイコガの *per* に変異を入れ、途中で終始コドンが挿入された系統を得た。この系統では正常な江浙で見られる羽化と孵化の概日リズムはなくなっており、*per* および *tim* の日周変動も失われていた (図 3~5)²⁴。すなわちこの系統では時計遺伝子としての *per* の機能は失われているので、*per* ノックアウト系統と呼ぶ。もとの江浙は、幼虫期に短日で飼育されるとほとんどのものが休眠卵を産んだが、*per* ノックアウト系統は、幼虫期に短日で飼育されてもほとんどのものは非休眠卵を産み、ごく一部のみ休眠卵を産むものが現れた。すなわち、*per* ノックアウト系統では光周性は失われていた (図 6)²⁴。

少数でも休眠卵を産むということは、休眠自体に *per* が必須ではないことが示唆された。すなわち *per* が概日時計とは独立に休眠誘導に必要である可能性

は低いと考えられたが、この考えをより確実にするために、*per* ノックアウト系統の幼虫を、休眠を誘導しやすい 20°C 短日で飼育した。すると、ほとんどの雌が未受精卵を産んだが、受精卵の得られた 14 匹の雌のうち 4 匹が休眠卵だけを産み、7 匹が休眠卵と非休眠卵の両方を産んだ²⁵。したがって、*per* ノックアウト系統でも休眠に入ることはできそうだったが、低温で育った *per* ノックアウト系統はうまく受精できなかったため、これ以上確かめることを断念した。

ここまで筆者自身の関係した光周性と時計遺伝子に関する研究結果を紹介したが、時計遺伝子の RNAi による発現抑制が光周性を失わせた結果は、2010 年代以降続々と発表された²⁶。その中で、向井歩と後藤がキョウソヤドリコバチで行った研究は興味深い²⁷。このハチは、母親世代の光周期によって子世代の幼虫が休眠に入る。RNAi による *per* の発現抑制は短日を経験した母親の子世代が休眠に入ることを妨げるが、母親を低温にさらすことによって子世代は休眠に入った。すなわち *per* の発現抑制は子世代の休眠を誘導する過程に影響したのではなく、光周期を認識するところに影響したのである。

5. その後の展開と今後の課題光

これで「昆虫の光周性と概日時計」についての研究が完結したわけではないが、大学院生の時に光周性に行動を制御する概日時計が関係しているのではないかと思ったことに始まり、カイコガの研究である程度結論に達したと思った。筆者は、何か一つのテーマに一貫して挑んできたという自覚はないが、最初に研究しようと思った「昆虫の光周性と概日時計」の課題で研究生活を終えられ、満足した気持ちで 3 年前に定年退職した。

筆者らがカイコガで作成したのは *per* ノックアウト系統だけであったが、その後、飛田永と木内隆史は、p50T (大造) 系統をもとに、*per*、*tim*、*Clk*、*cyc* のノックアウト系統を作成し、すべてのノックアウト系統で光周性が失われていることを報告した²⁸。この場合はホソヘリカメムシとは異なり、負の調節因子である *per* と *tim*、正の調節因子である *cyc* と *Clk* のどれをノックアウトしても休眠に入らなかったが、概日時計の負のフィードバックに関わる時計遺伝子が光周性に必須であるという点では共通する。

カイコガの江浙系統は胚期に高温にさらすと次世代に胚休眠が誘導される。本間哲らは、この高温による休眠誘導が、*per*、*tim*、*Clk*、*cyc* のいずれのノックアウト系統でも阻止されることを示した²⁹。しかし、休眠を誘導する休眠ホルモンや、その分泌をもたらす

神経伝達物質 GABA を注射すると、これらの系統にも休眠が誘導されたことから、時計遺伝子は休眠を誘導することを決定する、より上流部分で働いていることになる。

時計遺伝子が光周性による休眠誘導に必須であることから、これらの遺伝子によって構成される概日時計が日長測定に関わると筆者はずっと考えてきたが、日長測定とは関係のない温度による休眠誘導機構にも必須となると、考え直す必要があるかもしれない。実際、時計遺伝子の関与を調べる研究が始まる前から、光周性に概日時計が必要であることは広く受け入れられていたが、外的符合モデルや内的符合モデルが示すように日長測定そのものに概日時計が使われているとは限らない。Lees が砂時計モデルを主張した *M. vicinae* でも概日時計の関与が示されたが¹⁰、暗期の長さは砂時計で測っているのかもしれない。同様にヨトウガ *Mamestra brassicae* でも、概日時計は光周性に関わるが日長自体は砂時計のようなしくみで測られているという主張が木村勇司と正木進三によってなされている³⁰。

池田の学位論文には別の課題も残されていた。胚休眠を支配する光周性が失われている *per* ノックアウト系統の幼虫発育に光周期の影響が見られたのである。元となった江浙系統でも *per* ノックアウト系統でも、短日の方が幼虫期間が長く、それに伴って蛹の重量が重かった (図 7)²⁵。この短日による幼虫期間の延長はタンポコオロギのように著しいものではなかったが、やはり光周性である。*per* ノックアウトによって完全に長日と短日の区別がつかないなら、このような結果は得られない。長日と短日に設定した恒温器の温度が微妙に違うのではないかなど詳しく調べたがそのようなことはなかった。可能性として、*per* の関わらない概日時計が光周性に影響するのか、あるいは概日時計の関わらない光周性機構が存在するのかであるが、この点を明確にすることはできなかった。

最近、長谷部政治らによって、同じ *per* ノックアウト系統を使って異なる結果が報告された³¹。やはり *per* ノックアウト系統は短日で飼育されても非休眠卵を産んだという点は共通しているものの、幼虫期間は逆に長日で長くなっていった。なぜそのような違いが見られたのかは謎であるが、*per* の機能が失われても光周性が見られたという点では共通している。振り返ってみると、1989 年に Saunders らは、それまで光周性があるとは考えられていなかったキイロショウジョウバエに光周性によって支配された卵巣発達の抑制があることを発見したばかりではなく、*per* の機能不全突然変異体 *per⁰* も光周性を示すことを報告し

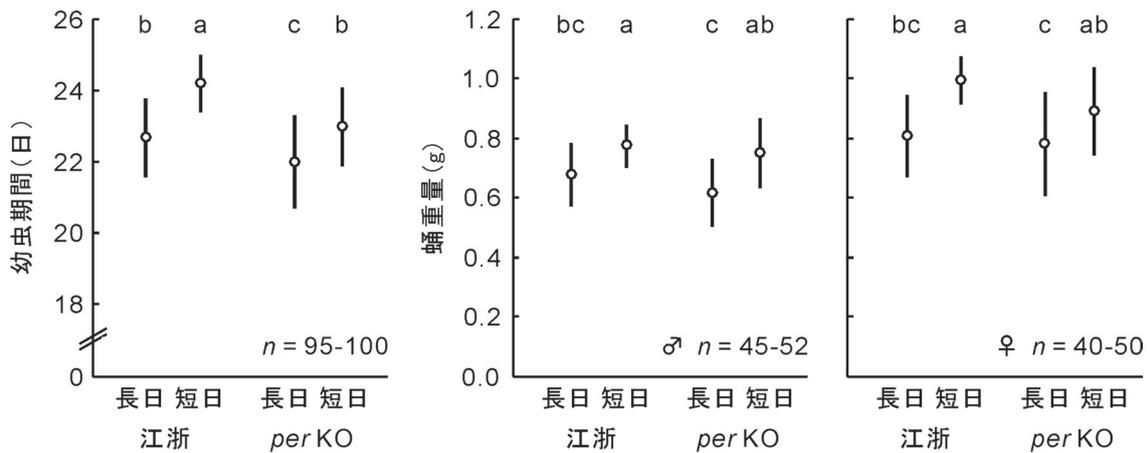


図7 カイコガの江浙系統およびそれから作成した *per* 遺伝子ノックアウト (*per* KO) 系統における、幼虫期間と蛹重量に及ぼす光周期の効果。平均値と標準偏差で示す。25°Cの12時間明12時間暗の短日または16時間明8時間暗の長日の下で飼育した。ここに示す幼虫期間は孵化から終齢幼虫が糸を吐き始めるまでの期間。同一グラフ内でアルファベットが同じものはTukey-Kramer検定において有意差がないことを示す ($p > 0.05$)。どちらの系統においても短日の下で幼虫期間が有意に長く、蛹が有意に重かった。池田健人の学位論文²⁵のデータから作図。

ている³²。この卵巣発達の抑制は、発育限界温度に近い低温だけで見られるものである。筆者は、2000年に大阪市立大学の大学院生池田行一とともに、この結果を追試した。しかし、Saundersらが使ったのと同じCanton-S系統を使い、温度を同じにしたにもかかわらず、短日と長日の卵巣発達の速度に明瞭な違いは見られなかった(未発表)。元は同じCanton-Sであっても長年にわたって別の実験室で飼育されているうちに、性質が違っていたのかもしれない。しかし、Saundersらの結果は明らかに *per* なしで見られる光周性を示している。

筆者は、*per* などの時計遺伝子が構成する概日時計が光周性における日長測定に関わっていると考えてきたが、概日時計が日長測定とは違う部分に関わっているのかもしれないし、*per* の関係しない光周性もありそうだ。光周性ひとつをとっても生物の多様性は奥が深い。自分の考えが覆されていくことも含めて、この分野の発展を見守り続けたい。

参考文献

- Williams, C.M. & Adkisson, P.L. Physiology of insect diapause. XIV. An endocrine mechanism for the photoperiodic control of pupal diapause in the oak silkworm, *Antheraea pernyi*. *Biol. Bull.* **127**, 511-525 (1964).
- Lees, A.D. The location of the photoperiodic receptors in the aphid *Megoura viciae*

- Buckton. *J. Exp. Biol.* **41**, 119-133 (1964).
- Numata, H. & Hidaka, T. Compound eyes as the photoperiodic receptors in the bean bug. *Experientia* **39**, 868-869 (1983).
- Goto, S.G., Shiga, S. & Numata, H. in *Photoperiodism: The Biological Calendar* (eds Nelson, R.J., Denlinger, D.L. & Somers, D. E.), Ch. 11, 258-286 (Oxford University Press, 2010).
- Bünning, E. Die endogene Tagesrhythmik als Grundlage der Photoperiodischen Reaktion. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* **54**, 590-607 (1936).
- Pittendrigh, C.S. Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* **25**, 159-184 (1960).
- Pittendrigh, C.S. & Minis, D.H. The entrainment of circadian oscillations by light and their role as photoperiodic clocks. *Am. Nat.* **98**:261-294 (1964).
- Sanders, D.S. Unity and diversity in the Insect photoperiodic mechanism. *Entomol. Sci.* **14**, 235-244 (2011).
- Lees, A.D. Photoperiodic time measurement in the aphid *Megoura viciae*. *J. Insect Physiol.* **19**, 2279-2316 (1973).
- Vaz Nunes, M. & Hardie, J. Circadian rhythmicity is involved in photoperiodic time measurement in the aphid *Megoura viciae*. *Experientia* **49**, 711-713 (1993).
- Nishiitsutsuji-Uwo, J. & Pittendrigh, C.S. Central nervous system control of circadian rhythmicity in the cockroach II. The pathway

- of light signals that entrain the rhythm. *Z. Vergl. Physiol.* **58**, 1-13 (1968).
12. Nishiitsutsuji-Uwo, J. & Pittendrigh, C.S. Central nervous system control of circadian rhythmicity in the cockroach III. The optic lobes, locus of the driving oscillation? *Z. Vergl. Physiol.* **58**, 14-46 (1968).
 13. Hardin, P.E., Hall, J.C. & Rosbash, M. Feedback if the *Drosophila period* gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature* **343**, 536-540 (1990).
 14. Ikeno, T., Numata, H. & Goto, S.G. Molecular characterization of the circadian clock genes in the bean bug, *Riptortus pedestris* and their expression patterns under long- and short-day conditions. *Gene* **419**, 56-61 (2008).
 15. Ikeno, T., Tanaka, S. I., Numata, H. & Goto, S.G. Photoperiodic diapause under control of circadian clock genes in an insect. *BMC Biol.* **8**, 116 (2010).
 16. Sakamoto, T., Uryu, O. & Tomioka, K. The clock gene *period* plays an essential role in photoperiodic control of nymphal development in the cricket *Modicogryllus siamensis*. *J. Biol. Rhythms* **24**, 379-390 (2009).
 17. Bradshaw, W.E., & Holzapfel, C.M. Circadian clock genes, ovarian development and diapause. *BMC Biol.* **8**, 115 (2010).
 18. Ikeno, T., Numata, H. & Goto, S.G. Circadian clock genes *period* and *cycle* regulate photoperiodic diapause in the bean bug *Riptortus pedestris* males. *J. Insect Physiol.* **57**, 935-938 (2011).
 19. Ikeno, T., Numata, H. & Goto, S.G. Photoperiodic response requires *mammalian-type cryptochrome* in the bean bug *Riptortus pedestris*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **410**, 394-397 (2011).
 20. Ikeno, T., Ishikawa, K., Numata, H. & Goto, S.G. Circadian clock gene *Clock* regulates the photoperiodic response in the bean bug, *Riptortus pedestris*. *Physiol. Entomol.* **38**, 157-162 (2013).
 21. Ikeno, T., Numata, H., Katagiri, C. & Goto, S.G. Causal involvement of *mammalian-type cryptochrome* in the circadian cuticle deposition rhythm in the bean bug *Riptortus pedestris*. *Insect Mol. Biol.* **20**, 409-415 (2011).
 22. Shiga, S. in: *Insect Chronobiology* (eds Numata, H. & Tomioka, K.) Ch. 14, 293-320 (Springer 2023).
 23. Denlinger, D.L., Hahn, D.A., Merlin, C., Holzapfel, C.M., & Bradshaw, W.E. Keeping time without a spine: what can the insect clock teach us about seasonal adaptation? *Phil. Trans. R. Soc. B* **372**, 20160257 (2017).
 24. Ikeda, K., Daimon, T., Shiomi, K., Udaka, H. & Numata, H. Involvement of the clock gene period in the photoperiodism of the silkworm *Bombyx mori*. *Zool. Sci.* **38**, 523-530 (2021).
 25. Ikeda, K. Role of the clock gene *period* in the circadian rhythm and photoperiodism of the silkworm *Bombyx mori*. Doctoral dissertation, Kyoto University (2021). DOI: 10.14989/doctor.k23364
 26. Goto, S.G. in *Insect Chronobiology* (eds Numata, H. & Tomioka, K.), Ch. 13, 271-291 (Springer, 2023).
 27. Mukai, A. & Goto, S.G. The clock gene *period* is essential for the photoperiodic response in the jewel wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Appl. Entomol. Zool.* **51**, 185-194 (2016).
 28. Tobita, H. & Kiuchi, T. Knockouts of positive and negative elements of the circadian clock disrupt photoperiodic diapause induction in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **149**, 103842 (2022).
 29. Homma, S. *et al.* Circadian clock genes regulate temperature-dependent diapause induction in silkworms *Bombyx mori*. *Front. Physiol.* **13**, 863380 (2022).
 30. Kimura, Y. & Masaki, S. Hourglass and oscillator expressions of photoperiodic diapause response in the cabbage moth *Mamestra brassicae*. *Physiol. Entomol.* **18**, 240-246 (1993).
 31. Hasebe, M. *et al.* Significance of the clock gene *period* in photoperiodism in larval development and production of diapause eggs in the silkworm *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* **153**, 104615 (2024).
 32. Saunders, D.S., Henrich, V.C. & Gilbert, L.I. Induction of diapause in *Drosophila melanogaster*: Photoperiodic regulation and the impact of arrhythmic clock mutations on time measurement. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, 3748-3752 (1989).

ショウジョウバエを用いた睡眠研究

戸田 浩史[✉]

筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構

キイロショウジョウバエは、遺伝学、発生学、免疫学、神経行動学に渡る様々な分野で用いられてきたモデル生物であり、生命科学に携わる多くの研究者がその恩恵を受けている。最初にキイロショウジョウバエを行動学に本格的に用いたのは、カリフォルニア工科大学のシーモア・ベンザー博士と彼の研究室の大学院生だったロン・コノプカ博士である。博士たちは様々な変異体系統から、行動スクリーニングをおこない、ハエのリズム異常をきたす *period* 変異体を発見した¹。この研究を皮切りに、世界中の研究者たちが、体内時計を含め様々なショウジョウバエの行動（記憶学習や求愛など）の分子・神経メカニズムを、次々と解き明かしていった²³。そして、100年以上の歴史を持つこのモデル生物は、西暦2000年に米国の2つの研究室からショウジョウバエが睡眠様の行動をとるということを示す論文が発表されて以来、睡眠研究のモデル生物として適用され、その威力を発揮し続けている。本総説では、ショウジョウバエが用いられる前の睡眠研究を簡単に概要した後、過去20年のショウジョウバエ睡眠研究で明らかになった一部をご紹介します、今後の展望も含めて議論する。

1. 睡眠

睡眠はあらゆる動物に保存されている高次の生理現象である。睡眠は、ただ単に体を休ませているという受動的な状態ではなく、あえて意識を消失させることで、重要な「何か」を細胞・組織・個体レベルでおこなっている能動的な現象である。睡眠中は意識を消失するため、外界から敵に捕食されてしまうという危機的な状況に陥る可能性が高まるにもかかわらず、自然選択圧を乗り越えてあらゆる動物に保存されている非常に不思議な生命現象である。しかし、「何のために睡眠をしているのか」という本質的な答えは、未だ明らかになっていない。

睡眠をはく奪する操作（断眠）を長期間にわたって行うと、死に至ることから、睡眠は生命維持に必須の役割を担っていることがうかがえる。さらに、睡眠は、記憶の定着、免疫機能、代謝、など様々な生命現象と密接に関わっていることも知られている⁴。歴史的に、筋電位や脳波を記録しやすく、さらに生化学的な実験のし易さから、比較的大型の哺乳動物が睡眠研究に用いられてきた。脳波や筋電図から得られた情報を元に、睡眠の深さや長さを明らかにすることで、動物がただ静止しているだけなのか、実際に睡眠をとっているのかを判別できるという特徴・利点がある。昨今では

様々な神経・分子を操作するツールが充実しているマウスを用いての睡眠研究が盛んであり、実際に、睡眠・覚醒を切り替えるのに重要な因子・神経回路が同定されてきた。しかし、大型の哺乳動物を用いて、睡眠制御に重要な新規の因子を同定する行動スクリーニングをおこない、遺伝学的解析をするのは、費用や時間的な拘束を考えると、必ずしも適しているとは言えない。遺伝学的な解析ツールが豊富なモデル生物を用いて睡眠学に切り込む必要があった。

2. モデル生物としてのショウジョウバエ

キイロショウジョウバエは、トーマス・ハント・モーガン博士がコロンビア大学で最初に用いて以来、遺伝学的な解析をするのにうってつけのモデル生物で、生命科学研究に広く用いられてきた。キイロショウジョウバエは、卵—幼虫—蛹—成虫までの1世代がわずか10日、寿命が約30日、成虫の体長が3 mmほどの微生物である。キイロショウジョウバエは、研究室での飼育・扱いが簡便で、良く繁殖すること、また、維持費用が安く、手間もかからないことなどが、その優れた特徴として上げられる。また、様々な分子遺伝学的なツールが揃っており、変異体、組換え遺伝子系統、RNAi 系統やゲノムのシーケンス情報などが

✉ toda.hirofumi.gu@u.tsukuba.ac.jp

web上で統合されており、世界中のどこにいても簡単に無料もしくは安価に取得できるのが大きな特徴である。昨今、ゲノム編集技術である CRISPR/Cas9 によるノックアウト・ノックイン技術が流行しているが、キイロショウジョウバエにおいてもその例外ではなく、早く・簡便に、狙ったゲノム上の特定の DNA 配列を狙うことが可能である。こうした利点から、キイロショウジョウバエを使った研究は、「旨い」、「早い」、そして、大量に安価にスクリーニングができる「安い」という三拍子が揃った優れたモデル生物⁵であり、現在でもその優位性は揺らいでいない。

3. ショウジョウバエの睡眠様行動の発見

こうしたキイロショウジョウバエの利点を生かし、概日リズムが遺伝的に制御されているという考えのもと、様々な変異体の行動スクリーニングから、体内時計を決定する遺伝子が発見された¹。体内時計の研究を進める中で、ショウジョウバエの行動リズムを自動的にカウントする *Drosophila Activity Monitoring Systems (DAMS)* という市販されているモニターがよく用いられる。これを用いて、何日間にもわたり、ショウジョウバエの活動を記録することが可能である。具体的には、ショウジョウバエ一匹を細長いガラスチューブにいれ、片側を餌、もう片側をコットンなどでふさぐ。そして、ハエが入ったガラスチューブを DAMS に装着する、という非常にシンプルなシステムだ。1つの DAMS には最大 32 チャンネルあるので、32 匹を同時に行動計測することが可能である。それぞれのチャンネルには赤外線が走っており、私たちの目にはもちろん、ショウジョウバエにも赤外線は見えない。ガラスチューブの中のハエが赤外線を横切ったときに DAMS につながった PC のプログラムに何時何分に何回赤外線を横切ったという記録が毎分されるという仕組みだ。

では、夜間、じっとして動いていない期間（活動が 0 と記録される間）は、ただ単にハエが活動を「休止」している状態なのか、あるいはヒトなどの哺乳類と同様に「睡眠」をしているのか？ということである。ヒトなどの哺乳類は、電極装置を頭部に装着することで、脳活動電位や筋電図を取得することが可能であり、この電位を解析することで、ただ単に休息・休止しているだけなのか、睡眠をしているのかを判別することが可能である。しかし、キイロショウジョウバエのような微小生物に電極を装着するのは技術的に非常に困難である。そこで行動を元に、ただ単に休んでいるだけなのか、寝ているのかを判別する以下 5 つの指標が

存在する。1. 覚醒時と比較して、睡眠時は外からの感覚刺激（匂いや音など）に対する反応が低下する。2. 覚醒・睡眠の可逆性がある。3. 睡眠時の典型的な姿勢をとる。4. 断眠し続けると、最終的に死に至る。5. 断眠を促すと、本来、覚醒している時間に睡眠をとる。特に、最後の項目 5 が睡眠研究においては重要と考えられる概念で、これを「睡眠の恒常性」という。つまり、睡眠がはく奪され失われた分を取り戻そうとする、何らかのメカニズムが存在するのだ。この神経・分子メカニズムに関しては、特に理解が進んでいない。では、果たしてキイロショウジョウバエにもこの睡眠とよべる行動が存在するのだろうか？米国の 2 つの研究室がほぼ同時期にその答えを出した。ハエが活動を止めて活動が 0 とカウントされている期間が 5 分かそれ以上るとき、ショウジョウバエは「睡眠」様の行動をしている、というのである⁶⁷。この 2 つの論文が西暦 2000 年に発表されたのを皮切りに、ショウジョウバエの睡眠遺伝学が開花した。その波及はショウジョウバエのみならず、線虫⁸やゼブラフィッシュ⁹などにも及んだ。先に述べたようにキイロショウジョウバエは様々な遺伝学的ツールが有用で、それに加えてスクリーニングをするのに適しているため、睡眠を計測するアッセイ系が打ち立てられると、ゲノムに変異を入れた多くの系統を樹立し、その中から睡眠を維持できない（睡眠量が減少する）変異体のスクリーニングが日欧米の複数の研究室を中心におこなわれた。その結果、*Shaker*¹⁰や *sleepless*¹¹、などの多くの変異体が睡眠の責任遺伝子として同定された。今回の総説では紙面の都合上、様々な責任遺伝子については詳述せず、筆者が重要と考えるショウジョウバエを用いて発見された睡眠制御メカニズムの一部に関して述べたい。

4. 睡眠を制御する神経

キイロショウジョウバエにおける睡眠制御には時計遺伝子を発現する *clock neuron* 群やそれ以外にも複数の脳構造が関わっていることが明らかになっている。その中でも、今回は特に睡眠に重要と考えられている 2 つの構造体（キノコ体と背側扇状体）に絞ってご紹介したい。

-Mushroom body (キノコ体)

睡眠制御因子の探索と並行して、睡眠を制御する神経回路の探索研究がキイロショウジョウバエを用いておこなわれた。様々な神経細胞を標識する Gal4 系統を用いて、掛け合わせにより特異的な神経細胞を活性化・不活化することで、睡眠への影響を見たのである。

例えば、キイロショウジョウバエの睡眠はプロテインキナーゼ (PKA) の活性によって制御されていることが知られていたことから¹²、PKA 活性がどの神経細胞を経て睡眠を調節しているのかを明らかにするため、活性化型 PKA をハエの神経細胞の様々な箇所に発現する神経スクリーニングをおこなわれた。その結果、嗅覚の記憶中枢としてよく知られているキノコ体と呼ばれる構造が、睡眠に重要であることが明らかになった¹³。キノコ体を形成するケニオン細胞は約 2500 細胞からなっており、複数の区画に分かれた複雑な層構造を形成している。興味深いことに、一部のケニオン細胞は覚醒を促し、別の神経細胞では睡眠を促すことも明らかになったのだ^{14,15}。これは記憶学習と睡眠が神経細胞レベルで密接にリンクしていることを暗示する結果であると考えられる。実際に、キノコ体における学習と睡眠の関係が示された¹⁵。キノコ体が睡眠制御に重要であることが示された後、ケニオン細胞から出力される神経細胞群 (キノコ体出力神経細胞) がタイプ別に 21 に網羅的に分類、同定された¹⁶。さらに、このキノコ体出力神経の中のアセチルコリンを放出する $\gamma 2\alpha'$ 1 出力神経と GABA 陽性の $\gamma 3$ 及び $\gamma 3\beta'$ 1 出力神経は睡眠を誘引し、グルタミン陽性の 5 つのキノコ体出力神経は睡眠を抑制することも明らかになった。¹⁷

睡眠中は意識レベルが下がり、外界からの入力情報に対する反応が下がる。しかし、感覚神経系は睡眠中も活動しており、外界からの情報を脳で処理しているのである。もちろん、大音量や非常に明るい光に対しては覚醒を促すが、強い刺激でなくとも、本人の名前や乳児の発声は他の種類の外界からの刺激と比較して、非常によく反応する傾向がある。つまり、我々は睡眠中でも感覚神経から入った情報を、脳内でより分けているのである。驚くことに、この現象はキイロショウジョウバエでも保存されていることが判明した¹⁸。キイロショウジョウバエは、果物が発酵した酢 (vinegar) の匂いを好むため vinegar fly とも呼ばれている程、酢の匂いには敏感である。睡眠中のハエに様々な匂いをかがせたところ、酢の匂いをかがせたとき、特に覚醒を促しやすいことが判明した。さらに、ハエに餌をやらす餓えさせた状態にしておくと、睡眠中の酢の匂いに対する覚醒閾値が低減した。このことから、酢の匂いに特化して睡眠を抑制する神経システムが存在することがうかがえる。様々な遺伝・神経ツールを使って、どのような神経網が関わっているのかを明らかにしたところ、酢の匂いを検知する感覚神経から、それを受け渡す二次神経細胞、さらにはキノコ

体の一部に投射しているドーパミン神経、及び、扇状体に投射するキノコ体出力神経細胞など脳の奥深くにある神経が関与しており、睡眠中の脳は個体にとって関連性のある刺激をより分けて処理することが、キイロショウジョウバエのような微小生物でも可能なのである。

-dorsal fan-shaped body (dFSB: 背側扇状体)

広い範囲の神経細胞を標識している Gal4 系統を用いて神経発火をおこない、睡眠を長く誘引する系統を同定したところ、C5-Gal4 や 104Y-Gal4 系統が同定された。両方の系統は背側扇状体 (dFSB) 神経を共通して標識していた¹⁹。また、Rho GTPase をコードする *crossveinless-c* (*cv-c*) 遺伝子座の近傍に C5-Gal4 遺伝子が挿入されていたことから、*cv-c* 変異体を調べると睡眠が減少していることが判明した。さらに、C5-Gal4, 104Y-Gal4 そして、23E10-Gal4 などの dFSB 神経を標識するいずれの Gal4 系統を用いて *cv-c* 遺伝子を RNAi ノックダウンすると睡眠が減少することも見出した。このことから、*cv-c* 遺伝子が dFSB 神経細胞で機能することが睡眠に重要であることが示された²⁰。更に、電気生理学的手法を用いて、dFSB 神経細胞をパッチクランプし、電気活動を測ることで、Dop1R2 を介したドーパミン系や K⁺チャネルの Shaker が dFSB 神経の発火に重要な役割を果たしている事も示された²¹。また、覚醒を促すドーパミン系の神経細胞の一部が dFSB 領域に投射していることも示された^{22,23}。これは覚醒系のドーパミン神経入力が増加すると睡眠を促す dFSB 神経の発火を調節して覚醒・睡眠を制御していると考えられるように思える。

しかし、最近、dFSB 神経が睡眠を誘引する事への疑念が沸き上がってきている^{24,25}。23E10-Gal4 系統は、脳内の dFSB 神経細胞だけでなく腹側神経索 (脊椎動物の脊髄と機能が同等) も標識しており、その影響がでているというのだ。つまり、睡眠を誘引しているのではなく、歩行が麻痺をしているにすぎないという主張である。しかし、dFSB だけでなく、腹側扇状体神経 (vFSB) も睡眠を促しているという研究もあり²⁶、FSB 構造が睡眠に対して重要な役割をしていることや睡眠に重要なキノコ体との接続も FSB 構造は繋がりがあることから、FSB 構造が睡眠に重要な役割を果たしていることは、おそらく間違いない、と筆者は考えている。

5. 腸が睡眠に及ぼす役割

断眠が長時間に及ぶと最終的にその個体は死に至

る。歴史的に、ウサギやイヌ、ラットが長期間の断眠実験に用いられた。断眠することで、最終的には免疫系が機能しなくなり死に至ると考えられている。キイロショウジョウバエも断眠を続けると最終的には死に至るという点において、これらの哺乳動物と同様である。しかし、断眠が死を引き起こすまでのプロセスに関して不明な点が多い。そこで、ショウジョウバエを用いて断眠をおこない、断眠後に体中の細胞でダメージを受けやすく死にゆく細胞があるかが調べられた。その結果、断眠をすると腸の細胞が死ぬ事が明らかになった²⁷。様々なマーカーで染色をして調べた結果、断眠後の腸の細胞死は酸化ストレスによるものであることが判明した。驚くことに、抗酸化剤を食べさせることで断眠後の腸の細胞死が抑制され、さらにはショウジョウバエの死も抑制されることが判明した。これはマウスでも同様であった。つまり、断眠後にマウスの腸で細胞死が誘発され、酸化抑制剤を食べさせると細胞死が抑えられるという結果であった。この知見は、睡眠が腸の細胞の正常な状態を保つのに必須であることを示す非常に重要な研究である。また、腸から放出されるペプチド CCHamide が脳内の神経細胞で発現している CCHamide レセプターを介して睡眠の深さを調節していることも同じグループによって示された²⁸。睡眠を制御するのが脳神経細胞だけではなく、末梢の細胞までが睡眠をコントロールしているという驚きの結果である。

6. ストレス・病気と睡眠

マウスでは社会的ストレスによって睡眠が減少することが報告されている²⁹。ハエでも個体を孤立した状態に長く晒すと空腹が助長され、睡眠が減少することが報告された。この研究において、P2 神経という扇状体に投射する神経がこの現象に重要であること、P2 神経は dFSB 神経と接続していることも示唆された³⁰。

逆に、熱ショックや細菌感染は睡眠を非常に強く惹起することが報告されており、ヒトが風邪をひくと本来寝るはずではない時間に睡眠をとることと現象論的に非常に似ているといえる。線虫を用いた研究から、FLP-13 という FMRF amide の神経ペプチドのホモログが線虫においてもストレス誘因睡眠に重要な役割を果たしていることが明らかにされ³¹、キイロショウジョウバエにおいても同じ遺伝子が保存されていることが判明した³²。このように細菌感染や熱ショックによるストレス誘因性の睡眠は、線虫やショウジョウバエなどのモデル生物を用いて詳細に調べられつ

つあり、睡眠とストレスの重要な関連性が分子レベルで明らかになってきている。また、免疫系で中心的な役割を担っている NF κ B シグナルが断眠後に上昇することも確かめられていることから、睡眠と免疫系は密接に関連していることがうかがえる。筆者が独自におこなった行動スクリーニングから睡眠を強く誘引する新規遺伝子「*nemuri*」を同定することに成功した³³。驚くことに、*nemuri* は抗菌ペプチドをコードしており、細菌感染などのストレスによって発現が促されることが判明した。キイロショウジョウバエもヒトと同様、細菌感染によって睡眠が誘引されるが、*nemuri* 変異体では細菌感染によって誘引される睡眠がほぼ消失することからも、生体防御と睡眠が遺伝子レベルで密接に結びついていることがうかがえる。

7. ビデオ撮影を用いた個体の微細な動き

キイロショウジョウバエを用いた睡眠中の行動に関して、キイロショウジョウバエが睡眠様の行動をとることが示された初期は、餌の近くで睡眠をとること、頭が下がっていること、羽が下がっていること、などが示唆されてきた⁷。ハエの活動が 5 分間、検知されなければ、一様に睡眠とみなす定義は、あまりにおおざっぱであり、睡眠中特有の微細な行動を見逃しているのではないかと、という考えから、最近では、いくつかの研究室によって、ショウジョウバエの微細なビデオ追跡によって睡眠中の行動を詳細に追跡する研究がおこなわれている。その結果、睡眠中のハエは吻(食物を取り込む器官、脊椎動物の口に相当)を伸ばしていることがわかってきた³⁴。深い睡眠中にこの吻を伸ばしている行動(吻伸)が多いようで、吻を通して体内の老廃物を排出しているようである。吻伸は明暗サイクルの夜が始まって 2 時間後付近におこる睡眠中に多く、夜が明ける前では減る傾向にある。ハエの血液脳関門の浸透性は夜間が始まった直後付近が一番多いこと、またエンドサイトーシスも夜間 2 時間後付近が多いことなどから、睡眠中に老廃物を洗い流すことを促進することと血液脳関門の浸透性がうまくタイミングを合わせているのかもしれない。哺乳類の睡眠中に脳内老廃物を洗い流していることが現象論的に知られていることから、これは哺乳類と昆虫では違う脳の進化を遂げながら、睡眠が及ぼす神経生理学的機能を保持してきたということを示唆するのではないだろうか。また、他にも、触覚が垂れ下がったり、ハルティアという器官(後翅が退化してできた小さなこぶ状の器官で飛行運動の角速度を検出する感覚器と考えられている)が睡眠中に動くことが、ディーブ

ラーニングを用いたビデオトラッキングからも明らかになってきた³⁵。しかし、これらの動きにどのような生理学的な意義があるのかは明らかではない。哺乳動物と同様に、ハエの睡眠にも複数の階層が存在し、睡眠の機能も異なっていると考えるのが自然と筆者は考える。

8. まとめと今後の展望

トーマス・ハント・モーガンがキイロショウジョウバエを用い始めて100年が経ち、この微小生物が睡眠という高次生理現象への理解にまでその勢いを伸ばしてきた。ショウジョウバエは今もなお順遺伝学的スクリーニングをおこなうのに最も適したモデル生物の一つであり、様々な遺伝学的ツールを取り入れながら、生命研究へ用いられ続けている。多くの脳神経細胞を標識・操作するツールが次々と開発されてきており、多光子顕微鏡を用いた神経細胞の活動イメージングや特定の細胞を標識し電気活動を取ることが単一細胞レベルで可能になってきていることを考えると、睡眠の謎を解き明かそうとする試みは、まさに今、大きく花開こうとしている素晴らしい時期にあると確信している。

本総説では、体内時計をつかさどる神経細胞・回路については、紙面のスペースの都合上、省いた³⁶。これまで述べたように、異なる脳構造体が睡眠制御に関わっていることが示されており、昨今のショウジョウバエの神経コネクトーム解析と合わせて、今後、神経回路と睡眠制御に関しては多くの発見が期待できる。今後は、高精度のビデオトラッキングを用いてショウジョウバエの行動を高解像度で捉えられながら、脳神経細胞イメージングをおこなうという組み合わせで、睡眠中の脳神経細胞の解析が進むことが大いに期待される。これまではどういった因子が、どの神経細胞でどのように機能しているかという観点から睡眠の制御メカニズムに関する研究が進んできたが、睡眠の本質的な機能にまで迫る研究が一段と加速するだろう。制御メカニズムの理解とその機能に対する理解は、いわばコインの両面のようなものであり、制御メカニズムを明らかにすることができれば、自ずと、その機能も明らかになるのではないかと筆者は秘かに期待しているからである。

老化に伴う睡眠の断片化のメカニズム、断眠後に起きる睡眠恒常性の仕組みは未だ大きなブラックボックスで未知の部分が多い。電気生理学・イメージング・細胞学、生化学、行動学などの異分野を跨いだ学際的なアプローチが、これらの問題を解く上で重要になっ

てくるであろう。

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. Davis, R. L. Learning and memory using *Drosophila melanogaster*: A focus on advances made in the fifth decade of research. *Genetics* **224**, 1-22 (2023).
3. Yamamoto, D. & Koganezawa, M. Genes and circuits of courtship behaviour in drosophila males. *Nat. Rev. Neurosci.* **14**, 681-692 (2013).
4. Sehgal, A. & Mignot, E. Genetics of sleep and sleep disorders. *Cell* **146**, 194-207 (2011).
5. Hales, K. G., Korey, C. A., Larracuenta, A. M. & Roberts, D. M. Genetics on the fly: A primer on the drosophila model system. *Genetics* **201**, 815-842 (2015).
6. Tononi, G. Correlates of sleep and waking in *Drosophila melanogaster*. *Science* **287**, 1834-1837 (2000).
7. Hendricks, J. C. *et al.* Rest in *Drosophila* is a sleep-like state. *Neuron* **25**, 129-138 (2000)
8. Raizen, D. M. *et al.* Lethargus is a *Caenorhabditis elegans* sleep-like state. *Nature* **451**, 569-572 (2008)
9. Zhdanova, I. V., Wang, S. Y., Leclair, O. U. & Danilova, N. P. Melatonin promotes sleep-like state in zebrafish. *Brain Res.* **903**, 263-268 (2001).
10. Cirelli, C. *et al.* Reduced sleep in *Drosophila* Shaker mutants. *Nature* **434**, 1087-92 (2005).
11. Koh, K. *et al.* Identification of SLEEPLESS, a sleep-promoting factor. *Science* **321**, 372-376. (2008).
12. Hendricks, J. C. *et al.* A non-circadian role for cAMP signaling and CREB activity in *Drosophila* rest homeostasis. *Nat. Neurosci.* **4**, 1108-1115 (2001).
13. Joiner, W. J., Crocker, A., White, B. H. & Sehgal, A. Sleep in *Drosophila* is regulated by adult mushroom bodies. *Nature* **441**, 757-760 (2006)
14. Pitman, J. L., McGill, J. J., Keegan, K. P. &

- Allada, R. A dynamic role for the mushroom bodies in promoting sleep in *Drosophila*. *Nature* **441**, 753–756 (2006).
15. Chouhan, N. S., Griffith, L. C., Haynes, P., Sehgal, A. Availability of food determines the need for sleep in memory consolidation. *Nature* **589**, 582–585 (2021).
 16. Aso, Y. *et al.* The neuronal architecture of the mushroom body provides a logic for associative learning. *Elife* **3**, e04577 (2014).
 17. Aso, Y. *et al.* Mushroom body output neurons encode valence and guide memory-based action selection in *Drosophila*. *Elife* (2014).
 18. French, A. S., Geissmann, Q., Beckwith, E. J. & Gilestro, G. F. Sensory processing during sleep in *Drosophila melanogaster*. *Nature* **598**, 479–482 (2021).
 19. Donlea, J. M., Thimgan, M. S., Suzuki, Y., Gottschalk, L. & Shaw, P. J. Inducing sleep by remote control facilitates memory consolidation in *Drosophila*. *Science* **332**, 1571–1576. (2011).
 20. Donlea, J. M., Pimentel, D. & Miesenböck, G. Neuronal machinery of sleep homeostasis in *Drosophila*. *Neuron* **81**, 860–872 (2014).
 21. Pimentel, D. *et al.* Operation of a homeostatic sleep switch. *Nature* **536**, 333–337 (2016).
 22. Liu, Q., Liu, S., Kodama, L., Driscoll, M. R. & Wu, M. N. Two dopaminergic neurons signal to the dorsal fan-shaped body to promote wakefulness in *Drosophila*. *Curr. Biol.* **22**, 2114–2123 (2012).
 23. Ueno, T. *et al.* Identification of a dopamine pathway that regulates sleep and arousal in *Drosophila*. *Nat. Neurosci.* **15**, 1516–1523 (2012).
 24. Jones, J. D. *et al.* Regulation of sleep by cholinergic neurons located outside the central brain in *Drosophila*. *PLoS Biol.* **21**, 1–29 (2023).
 25. De, J., Wu, M., Lambatan, V., Hua, Y. & Joiner, W. J. Re-examining the role of the dorsal fan-shaped body in promoting sleep in *Drosophila*. *Curr. Biol.* **33**, 3660–3668.e4 (2023).
 26. Dag, U. *et al.* Neuronal reactivation during post-learning sleep consolidates long-term memory in *drosophila*. *Elife* **8**, 1–23 (2019).
 27. Vaccaro, A. *et al.* Sleep Loss Can Cause Death through Accumulation of Reactive Oxygen Species in the Gut. *Cell* **181**, 1307–1328.e15 (2020).
 28. Titos, I. *et al.* A gut-secreted peptide suppresses arousability from sleep. *Cell* **186**, 1382–1397.e21 (2023).
 29. Smith, J. *et al.* Article Regulation of stress-induced sleep fragmentation by preoptic glutamatergic neurons II II Article Regulation of stress-induced sleep fragmentation by preoptic glutamatergic neurons. *Curr. Biol.* **34**, 12–23.e5 (2024).
 30. Li, W. *et al.* Chronic social isolation signals starvation and reduces sleep in *Drosophila*. *Nature* **597**, 239–244 (2021).
 31. Nelson, M. D. *et al.* FMRFamide-like FLP-13 Neuropeptides Promote Quiescence following Heat Stress in *Caenorhabditis elegans*. *Curr. Biol.* **24**, 2406–2410 (2014).
 32. Lenz, O., Xiong, J., Nelson, M. D., Raizen, D. M. & Williams, J. A. FMRFamide signaling promotes stress-induced sleep in *Drosophila*. *Brain. Behav. Immun.* **47**, 141–148 (2015).
 33. Toda, H., Williams, J. A., Gulledge, M. & Sehgal, A. A sleep-inducing gene, *nemuri*, links sleep and immune function in *Drosophila*. *Science* **363**, 509–515. (2019).
 34. Van Alphen, B., Semenza, E. R., Yap, M., Van Swinderen, B. & Allada, R. A deep sleep stage in *Drosophila* with a functional role in waste clearance. *Sci. Adv.* **7**, 1–11 (2021).
 35. Keles, M. F. *et al.* Deep Phenotyping of Sleep in *Drosophila*. *bioRxiv* (2023).
 36. Shafer, O. T. & Keene, A. C. The Regulation of *Drosophila* Sleep. *Curr. Biol.* **31**, R38–R49 (2021).

時計仕掛けの微生物の世界： 水圏生態系における有機物を介した日周サイクルの伝播

森本大地¹・吉田 天士²✉

1: 高知大学 理工学部門

2: 京都大学 大学院農学研究科

水圏生態系の有光層では、異なる代謝を持つ微生物とそのウイルスが複雑な相互作用と食物網を形成している。これらの相互作用の中で、真核微細藻類やシアノバクテリアなどの光合成微生物は太陽光に応答し、それによって概日リズムが生まれる。もともと光合成微生物で発生した日周サイクルは、放出された光合成産物を利用可能な従属栄養微生物の応答を促すことで、直接的に伝播する。さらに、一次生産者の特異的な捕食やウイルス感染を通じて、海洋低次生態系に供給された有機物は、一次生産者と直接相互作用しない微生物の日周サイクルを間接的に創出することに寄与している。このように、光合成微生物は、エネルギーと炭素を供給するだけでなく、低次生態系全体に及ぶ日周サイクルの創出に直接的・間接的に関与している。

1. はじめに

地球表面の70%を占める海洋では、原核および真核微生物が海洋表層における食物網の主要構成種としてバイオマスの約60%を占める¹。有光層では、シアノバクテリアや真核微細藻類等の植物プランクトンが主な一次生産者として、地球一次生産の約50%にあたる量の炭酸固定を行っている²。海洋固定炭素の少なくとも50%程度は、溶存有機物(DOM)として植物プランクトンから放出されると見積もられており、放出されたDOMは従属栄養原核生物により分解・資化される³。利用された炭素は、さらに繊毛虫や従属栄養性渦鞭毛藻によるこれら原核生物の捕食を通じて古典的な食物網へと戻される⁴。この過程は「微生物ループ」と呼ばれ、海洋炭素循環の主要経路の1つと考えられている⁴(図1)。

水圏生態系には、微生物をはるかに上回る数のウイルスが存在する^{5,6}。これらのウイルスの宿主の大半が微生物であるため、ウイルスは宿主細胞の溶菌を介してDOMプールへの細胞成分の放出に大きく寄与すると考えられている(「ウイルス・シャント」)^{5,6}(図1)。さらに、ウイルスは、元々は宿主ゲノムから伝播した補助代謝遺伝子(Auxiliary Metabolic Gene: AMG)と呼ばれるウイルス遺伝子の発現を通じて宿主代謝系を改変する⁷。例えば海洋シアノバクテリアウイルスは、しばしば光化学系IIの構成タンパク質D1をコードする*psbA*遺伝子等をAMGsとして有す

る⁸。シアノウイルス*psbA*の発現量はシアノバクテリア*psbA*の発現量に匹敵し⁹、海洋における光合成と酸素生産へのウイルスの寄与の大きさも浮き彫りとなった⁹。

ウイルスを含むこれらの海洋低次生態系は、環境要因に応答して複数の時間スケールで変化する¹⁰。例えば、太陽高度の変化は気温や日長等の様々な季節変化をもたらす、微生物の群集組成に影響を及ぼす。実際、原核微生物群集の変動パターンは強い季節性と再現性を示し^{10,11}、同様の現象が真核微生物群集やウイルス群集でも観測されている^{12,13}。また、春の藻類ブルーム等に起因する有機物(あるいは無機物)の量的に強烈な海洋への排出が利用基質となって特定の微生物集団の応答を引き起こし、i) 数日以内にその存在量が急増すること、ii) 代謝による基質の変化に応じて微生物集団がダイナミックに遷移することがわかってきた¹⁴⁻¹⁹。さらに、より短時間での微生物の応答として、概日リズムに関する研究が一部の植物プランクトンを用いて行われてきた。これは生理的な温度範囲内で、外部からの信号が無くても約24時間リズムが持続する自己調節システムである^{20,21}。本稿では、この概日リズムを含むより広範な日周応答に焦点を当て、水圏環境で生じた一次生産者の概日リズムが低次生態系内の複雑な相互作用を通じて群集の日周サイクルをどのように形成しているのかを紹介する。

✉ yoshida.takashi.7a@kyoto-u.ac.jp

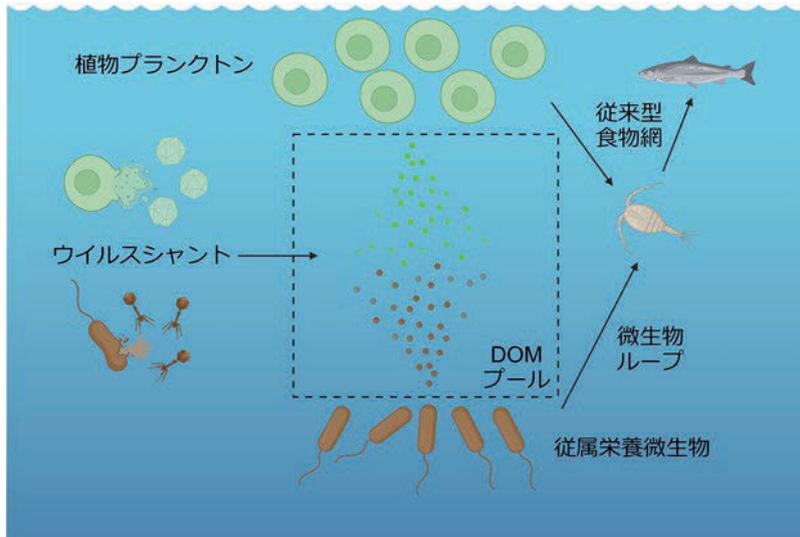


図 1. 海洋における炭素循環過程。
植物プランクトンが光合成で固定した炭素は、溶存有機物として放出され、従属栄養原核生物に利用される。利用された炭素は、それらの原核生物が捕食されることで、古典的な食物網に戻される（微生物ループ）。さらに、ウイルスはこれらの微生物への感染・溶菌を介して細胞成分を環境へと放出し、炭素循環に寄与する（ウイルスシャント）。

2. 各栄養段階のモデル微生物における日周サイクルの観測

微生物の日周サイクルは歴史的に遺伝的・生理的反応に焦点を当てて研究されてきた。まず、各栄養段階のモデル生物種で得られた日周サイクルに関する知見を概説する。

2-1. 光合成微生物

光合成微生物の概日リズムは光への直接的な応答により形成される。研究の初期段階から、真核微細藻類やシアノバクテリアで細胞分裂やゲノム複製等の日周性が観測されてきた。概日時計は環境からの光刺激を信号として受け取り、リズム制御を出力する経路に時間情報を伝達する²²。微生物の概日時計の分子メカニズムは、シアノバクテリアである *Synechococcus* の概日時計変異体の遺伝子解析により初めて明らか

になった²³。シアノバクテリアの概日時計は *kaiA*、*kaiB*、*kaiC* の3つの遺伝子で構成されるが、その本体は KaiA、KaiB、KaiC を構成要素とする、KaiC タンパク質の ATP 分解およびリン酸化/脱リン酸化の周期的反応系であることが明らかとなっている²⁴。

一方、真核微生物の概日時計については、渦鞭毛藻 *Lingulodinium polyedra* と緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* を中心に研究が行われているものの、分子機構に関する知見はきわめて限定的である。前者では、シアノバクテリアの概日時計と異なり、翻訳や翻訳後制御の段階で概日リズムを制御している可能性が示唆されている^{25,26}。一方、後者では、概日時計関連遺伝子の転写制御に関与する2つの遺伝子^{27,28}とその周期を制御する時計モジュレーター遺伝子²⁹が特定されており、シロイヌナズナとのホモログと必須ドメインを共有していることがわかっている。

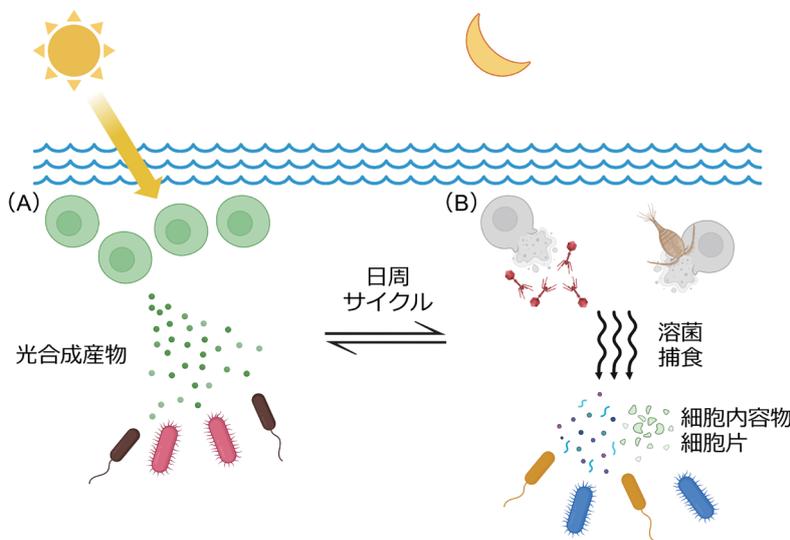


図 2. 海洋における日周サイクルの伝播のモデル。

一次生産者の光への応答で生じた概日リズムは、直接的・間接的に海洋低次生態系の日周サイクルを創出する。
(A) 細胞から放出される光合成産物は、それを直接利用可能な微生物の応答を促し、日周サイクルを直に創出する。(B) 夜間特異的に起こるウイルス感染・捕食は、群集に新たな有機物を供給し、応答した微生物の日周サイクルを間接的に生み出し得る。

2-2. 従属栄養/混合栄養微生物

光合成微生物に比べ、従属栄養微生物の日周性に関する研究は限定的である。環境では植物プランクトンの活動後、いくらか遅れて生物量や代謝活動がピークに達する例が知られるが^{30,31}、両者を結びつけるメカニズムは十分には解明されていない。

従属栄養微生物において、光依存的な日周性を創出しようとするメカニズムはロドプシンである。ロドプシンは、光駆動イオンポンプを介して ATP 合成³²や基質の取り組み³³、低栄養条件下での生存³⁴といった様々な細胞機能に寄与する。微生物ロドプシンは、水圏表層生態系に棲息する3つの生命ドメイン全てに広く分布しており³⁵、光合成に匹敵する主要なエネルギー伝達機構であると示唆されている^{36,37}。従属栄養微生物群集の日周性とロドプシンの関連は明らかではないが、光条件への群集の応答からそのエネルギー的重要性は推測できる。また、ロドプシンを持たないフラボバクテリアでも可視光に依存した代謝変化を示すことが知られており³⁸、従属栄養微生物の光条件への応答の重要性が示唆されている。

さらに、光合成能と捕食能を併せ持つ混合栄養性の一部の渦鞭毛藻では、明条件下で暗条件下よりも高い摂餌率を示すことが知られる^{39,40}。この光依存的な捕食促進は、光合成による炭素固定のための主要な栄養塩の補給⁴¹、あるいは葉緑体の破壊で発生する活性酸素（光毒性）を利用して、餌である植物プランクトンを効率的に消化するためと考えられている⁴²。このような光依存的な捕食促進は繊毛虫でも観察されており⁴³、光条件下で食作用による捕食は減少するものの、消化が促進され⁴⁴、クロロフィル消化時の光毒性の低減に寄与することが示唆されている⁴⁴。クロロフィル由来の光毒性を回避する戦略的メカニズムはほとんどの真核微生物スーパーグループで報告されている⁴⁵。このように従属栄養性/混合栄養性微生物は光合成微生物の摂餌を介した太陽光への間接的な応答によって、周囲の棲息環境に日周リズムを伝播している可能性がある。

2-3. ウイルス

海洋において、ウイルスは最も豊富に存在し、宿主微生物の代謝系に依存して増殖する生物学的因子である⁵。その日周性は、*Synechococcus* や *Prochlorococcus* に感染する海洋シアノウイルスで主に研究されてきた。海洋シアノウイルスは一般的に宿主シアノバクテリアに由来する複数の AMGs を持ち⁴⁶⁻⁴⁸、光化学系 II の反応中心や光合成の電子輸送に関連する遺伝子をコードすることが多い⁴⁶⁻⁴⁸。

これらの AMGs は感染過程で宿主の代謝系が停止した後も、光合成活性を維持してウイルスの増殖に必要なエネルギーを確保する重要な役割を担っている⁴⁸⁻⁵⁰。さらに、シアノウイルスはゲノム複製に必要な ATP と NADPH を供給するため、AMG を利用してカルビン回路からペントースリン酸経路へと炭素循環を切り替える^{47,51}。こうして複製されたウイルスゲノムは夜間にウイルス殻へと収納され、細胞外へと放出される^{52,53}。さらに、シアノウイルスは光依存的な細胞吸着により、日の出と共に感染が開始する⁵⁴。このようにシアノウイルスの感染周期は光を利用するシアノバクテリアと連動した日周サイクルを形成している。

3. 生物間の複雑な相互作用を介して創出される群集の日周サイクル

ここまで各栄養段階のモデル微生物系における日周サイクルに関する知見を概説してきた。本節では、光合成微生物が太陽光に反応することで形成した概日リズムが、複雑な生物間相互作用を介して、周囲の微生物群集に伝播し、それにより群集の日周サイクルが創出される仕組みを見ていく。

3-1. 光合成微生物との直接的な相互作用によって創出される微生物群集の日周サイクル

海洋での一次生産過程は、メタトランスクリプトーム解析や種々のデータを統合した数理モデルを通じて理解が進んできた^{55,56}。真核微細藻類やシアノバクテリアの光合成系の一部をコードする遺伝子は日の出前に転写され、光が利用可能になるとすぐに細胞がエネルギー生成の準備を整える⁵⁵。続いて、エネルギー貯蔵や増殖、DNA 複製・修復に関わる遺伝子が日中に上方制御される⁵⁷。このように光合成微生物の遺伝子の多くが日周サイクルを伴った発現パターンを示す。

この過程で合成された生成物の一部は、光合成微生物の細胞から排出され、直接他の従属栄養性/混合栄養性微生物によって積極的に同化される⁵⁸。この光合成を起源とする有機物の排出は、それを利用する微生物の有機物の化学変換と取り込みに関する遺伝子や分類群に特異的な遺伝子、および代謝経路を刺激し、転写量を増加させる^{59,60} (図 2A)。同様に、排出された光合成産物は、運動性や細胞表面への付着に関する細菌遺伝子の発現も促進する^{61,62} (図 2A)。このような直接的な生物間相互作用は、従属栄養微生物の動態に影響を与え、日周性を伴った遺伝子発現パターンを部分的に創出する。

一方、従属栄養細菌を光合成微生物と共培養すると、光合成微生物の日周性を示す遺伝子の発現量が増加することが知られている⁶³。これは、細菌の増殖に伴う環境変化が一次生産者の微量金属の利用を直接促進し、炭素固定や窒素固定の効率が向上するためと考えられている⁶⁴。さらに、光合成微生物のDNAやタンパク質代謝を刺激するリガンドや補酵素の放出に関する細菌遺伝子の発現量も増加することがわかっている⁶⁵。したがって、影響力の大きさは未解明であるが、従属栄養微生物が光合成微生物の日周サイクル形成に部分的にはあるが直接寄与している可能性も指摘されている。このように光合成微生物に由来する有機物・無機物を介した、特定の分類群との直接的相互作用は、従属栄養微生物に日周サイクルを伝播・創出する主要なメカニズムの1つと考えられる(図2A)。

3-2. 光合成微生物との間接的な相互作用によって創出される微生物群集の日周サイクル

光合成微生物の概日リズムは、微生物ループ内の生物間相互作用を通じて、自由生活をする従属栄養微生物群集へと間接的に伝播し、日周サイクルを創出する^{66,67}(図2B)。例えば、海洋で優占する *Prochlorococcus* は昼間に増殖し、夜間に死滅し、一定数が保たれることが知られている⁶⁸。この夜間に起こる細胞死は、捕食あるいはウイルス感染が原因と予測されていた。日周レベルでのメタトランスクリプトーム解析により、ウイルス感染によるシアノバクテリアの溶藻が夜間に起こることが明らかとなってきた^{52,53,69}。このようなウイルス感染による夜間特異的な有機物の放出は、周囲の従属栄養微生物の応答を促し、それらの日周サイクルを創出すると予測される(図2B)。また、ウイルスは自己複製に際して宿主代謝系の改変を行うため、一次生産者の細胞から放出されるDOMの多様性を増加させ、間接的に従属栄養微生物の群集組成の遷移を促す⁷⁰。同様に、ウイルス感染による従属栄養微生物の細胞死も、放出された有機物が異なる種の応答を促すことで、それらの種の日周サイクルの創出に寄与している可能性がある。

一方、原生動物による光合成微生物の捕食も間接的に従属栄養微生物の日周サイクルを創出する要因と考えられる^{66,71}(図2B)。例えば、原生動物は、シアノバクテリア *Crocospaera* を暗期に大気中の窒素固定を行うようになってから優先的に捕食する⁷¹。これは、原生動物の栄養性を満たすための適応であり⁷¹、光合成微生物を摂食する際の光合成酸化ストレスの軽減との関連が示唆されている⁴⁴。このような夜間の

摂食は、さらなるDOMの供給を介した光合成微生物および従属栄養微生物群集の間接的な応答を誘発し⁷²、日周サイクルの創出に繋がる(図2B)。このようなウイルス感染ならびに原生動物による捕食で発生する有機物は、光合成産物を直接利用できない微生物にとって極めて重要で、低次生態系全体に及ぶ日周サイクルを間接的に創出する主要なメカニズムとなり得る(図2B)。

4. おわりに

水圏生態系の有光層では、さまざまな代謝能を持つ微生物とそのウイルスが複雑に相互作用しながら食物網を形成している。真核微細藻類やシアノバクテリアなどの光合成微生物は、太陽光に反応し、それにより概日リズムが生まれる。これらの一次生産者から放出される光合成産物は、エネルギーと炭素を伝達するだけでなく、それを利用可能な従属栄養微生物の日周サイクルを創出する。また、微生物ループ内で起こる夜間特異的な捕食やウイルス感染は、微生物群集に新たに有機物を供給し、応答した微生物の日周サイクルを間接的に生み出す可能性がある。このように、従来の一次生産者としての役割だけでなく、海洋低次生態系全体に及ぶ日周サイクル創出の起点としての光合成微生物の役割が明らかになることが望まれる。

参考文献

1. Bar-On, Y. M., Phillips, R. & Milo, R. The biomass distribution on Earth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **115**, 6506–6511 (2018).
2. Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T. & Falkowski, P. Primary production of the biosphere: Integrating terrestrial and oceanic components. *Science* **281**, 237–240 (1998).
3. Whitman, W. B., Coleman, D. C. & Wiebe, W. J. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **95**, 6578–6583 (1998).
4. Azam, F. *et al.* The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **10**, 257–263 (1983).
5. Suttle, C. A. Viruses in the sea. *Nature* **437**, 356–361 (2005).
6. Suttle, C. A. Marine viruses - major players in the global ecosystem. *Nat. Rev. Microbiol.* **5**, 801–812 (2007).
7. Breitbart, M., Thompson, L., Suttle, C. & Sullivan, M. Exploring the vast diversity of marine viruses. *Oceanography* **20**, 135–139

- (2007).
8. Mann, N. H. *et al.* The genome of S-PM2, a 'photosynthetic' T4-type bacteriophage that infects marine *Synechococcus* strains. *J. Bacteriol.* **187**, 3188–3200 (2005).
 9. Sieradzki, E.T., Ignacio-Espinoza, J.C., Needham, D.M., Fichot, E.B. & Fuhrman, J.A. Dynamic marine viral infections and major contribution to photosynthetic processes shown by spatiotemporal picoplankton metatranscriptomes. *Nat. Commun.* **10**, (2019).
 10. Fuhrman, J. A., Cram, J. A. & Needham, D. M. Marine microbial community dynamics and their ecological interpretation. *Nat. Rev. Microbiol.* **13**, 133–146 (2015).
 11. Cram, J. A. *et al.* Seasonal and interannual variability of the marine bacterioplankton community throughout the water column over ten years. *ISME J.* **9**, 563–580 (2015).
 12. Kento, T. *et al.* Prevalence of Viral Frequency-Dependent Infection in Coastal Marine Prokaryotes Revealed Using Monthly Time Series Virome Analysis. *mSystems* **8**, e00931-22 (2023).
 13. Proding, F. *et al.* Year-round dynamics of amplicon sequence variant communities differ among eukaryotes, Imitervirales and prokaryotes in a coastal ecosystem. *FEMS Microbiol. Ecol.* **97**, fiab167 (2021).
 14. Alonso-Sáez, L., Díaz-Pérez, L. & Morán, X.A.G. The hidden seasonality of the rare biosphere in coastal marine bacterioplankton. *Environ. Microbiol.* **17**, 3766–3780 (2015).
 15. Lindh, M. V *et al.* Disentangling seasonal bacterioplankton population dynamics by high-frequency sampling. *Environ. Microbiol.* **17**, 2459–2476 (2015).
 16. Needham, D. M. *et al.* Short-term observations of marine bacterial and viral communities: Patterns, connections and resilience. *ISME J.* **7**, 1274–1285 (2013).
 17. Needham, D. M. & Fuhrman, J. A. Pronounced daily succession of phytoplankton, archaea and bacteria following a spring bloom. *Nat. Microbiol.* **1**, 16005 (2016).
 18. Teeling, H. *et al.* Substrate-controlled succession of marine bacterioplankton populations induced by a phytoplankton bloom. *Science.* **336**, 608–611 (2012).
 19. Teeling, H. *et al.* Recurring patterns in bacterioplankton dynamics during coastal spring algae blooms. *Elife* **5**, 1–31 (2016).
 20. Vitaterna, M.H., Takahashi, J.S. & Turek, F.W. Overview of circadian rhythms. *Alcohol Res. Health* **25**, 85–93 (2001).
 21. Bodenstern, C., Heiland, I. & Schuster, S. Temperature compensation and entrainment in circadian rhythms. *Phys. Biol.* **9**, 36011 (2012).
 22. Bell-Pedersen, D. *et al.* Circadian rhythms from multiple oscillators: lessons from diverse organisms. *Nat. Rev. Drug Discov.* **6**, 544–556 (2005).
 23. Ishiura, M. *et al.* Expression of a gene cluster kaiABC as a circadian feedback process in cyanobacteria. *Science.* **281**, 1519–1523 (1998).
 24. Nakajima, M. *et al.* Reconstitution of circadian oscillation of cyanobacterial KaiC phosphorylation in vitro. *Science.* **308**, 414–415 (2005).
 25. Noordally, Z. B. & Millar, A. J. Clocks in algae. *Biochemistry.* **54**, 171–183 (2015).
 26. Roy, S. *et al.* The *Lingulodinium* circadian system lacks rhythmic changes in transcript abundance. *BMC Biol.* **12**, 1–8 (2014).
 27. Dathe, H., Prager, K. & Mittag, M. Novel interaction of two clock-relevant RNA-binding proteins C3 and XRN1 in *Chlamydomonas reinhardtii*. *FEBS Lett.* **586**, 3969–3973 (2012).
 28. Matsuo, T. *et al.* A systematic forward genetic analysis identified components of the *Chlamydomonas* circadian system. *Genes Dev.* **22**, 918–930 (2008).
 29. Iliev, D. *et al.* A heteromeric RNA-binding protein is involved in maintaining acrophase and period of the circadian clock. *Plant Physiol.* **142**, 797–806 (2006).
 30. Burney, C. M., Davis, P. G., Johnson, K. M. & Sieburth, J. M. N. Diel relationships of microbial trophic groups and in situ dissolved carbohydrate dynamics in the caribbean sea. *Mar. Biol.* **67**, 311–322 (1982).
 31. Johnson, K. M., Davis, P. G. & Sieburth, J. M. N. Diel variation of TCO₂ in the upper layer of

- oceanic waters reflects microbial composition, variation and possibly methane cycling. *Mar. Biol.* **77**, 1–10 (1983).
32. Steindler, L., Schwabach, M. S., Smith, D. P., Chan, F. & Giovannoni, S. J. Energy starved candidatus pelagibacter ubique substitutes light-mediated ATP production for endogenous carbon respiration. *PLoS One* **6**, 1–10 (2011).
 33. Gómez-Consarnau, L. *et al.* Proteorhodopsin light-enhanced growth linked to vitamin-B 1 acquisition in marine Flavobacteria. *ISME J.* **10**, 1102–1112 (2016).
 34. Gómez-Consarnau, L. *et al.* Proteorhodopsin phototrophy promotes survival of marine bacteria during starvation. *PLoS Biol.* **8**, 2–11 (2010).
 35. Oesterhelt, D. & Stoekenius, W. Functions of a new photoreceptor membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **70**, 2853–2857 (1973).
 36. Gómez-Consarnau, L. *et al.* Microbial rhodopsins are major contributors to the solar energy captured in the sea. *Sci. Adv.* **5**, 1–7 (2019).
 37. Olson, D. K., Yoshizawa, S., Boeuf, D., Iwasaki, W. & Delong, E. F. Proteorhodopsin variability and distribution in the North Pacific Subtropical Gyre. *ISME J.* **12**, 1047–1060 (2018).
 38. Hameed, A. *et al.* Differential visible spectral influence on carbon metabolism in heterotrophic marine flavobacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* **96**, 1–11 (2020).
 39. Hansen, P. J. & Nielsen, T. G. Mixotrophic feeding of *Fragilidium subglobosum* (dinophyceae) on three species of *Ceratium*: Effects of prey concentration, prey species and light intensity. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **147**, 187–196 (1997).
 40. Jakobsen, H. H., Hansen, P. J. & Larsen, J. Growth and grazing responses of two chloroplast-retaining dinoflagellates: Effect of irradiance and prey species. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **201**, 121–128 (2000).
 41. Li, A., Stoecker, D. K. & Coats, D. W. Mixotrophy in *Gyrodinium galatheanum* (Dinophyceae): Grazing responses to light intensity and inorganic nutrients. *J. Phycol.* **36**, 33–45 (2000).
 42. Strom, S. L. Light-aided digestion, grazing and growth in herbivorous protists. *Aquat. Microb. Ecol.* **23**, 253–261 (2001).
 43. Tarangkoon, W. & Hansen, P. J. Prey selection, ingestion and growth responses of the common marine ciliate *Mesodinium pulex* in the light and in the dark. *Aquat. Microb. Ecol.* **62**, 25–38 (2011).
 44. Uzuka, A. *et al.* Responses of unicellular predators to cope with the phototoxicity of photosynthetic prey. *Nat. Commun.* **10**, 1–17 (2019).
 45. Kashiyama, Y. *et al.* Taming chlorophylls by early eukaryotes underpinned algal interactions and the diversification of the eukaryotes on the oxygenated Earth. *ISME J.* **13**, 1899–1910 (2019).
 46. Ignacio-Espinoza, J. C. & Sullivan, M. B. Phylogenomics of T4 cyanophages: Lateral gene transfer in the ‘core’ and origins of host genes. *Environ. Microbiol.* **14**, 2113–2126 (2012).
 47. Thompson, L. R. *et al.* Phage auxiliary metabolic genes and the redirection of cyanobacterial host carbon metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **108**, E757–E764 (2011).
 48. Mann, N. H. *et al.* Bacterial photosynthesis genes in a virus. *Nature* **424**, 741–742 (2003).
 49. Clokie, M. R. J. *et al.* Transcription of a ‘photosynthetic’ T4-type phage during infection of a marine cyanobacterium. *Environ. Microbiol.* **8**, 827–835 (2006).
 50. Lindell, D., Jaffe, J. D., Johnson, Z. I., Church, G. M. & Chisholm, S. W. Photosynthesis genes in marine viruses yield proteins during host infection. *Nature* **438**, 86–89 (2005).
 51. Thompson, L. R., Zeng, Q. & Chisholm, S. W. Gene expression patterns during light and dark infection of *Prochlorococcus* by cyanophage. *PLoS One* **11**, e0165375 (2016).
 52. Yoshida, T. *et al.* Locality and diel cycling of viral production revealed by a 24 h time course cross-omics analysis in a coastal region of Japan. *ISME J.* **12**, 1287–1295 (2018).
 53. Aylward, F. O. *et al.* Diel cycling and long-term persistence of viruses in the ocean’s euphotic

- zone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **114**, 11446–11451 (2017).
54. Jia, Y., Shan, J., Millard, A., Clokie, M. R. J. & Mann, N. H. Light-dependent adsorption of photosynthetic cyanophages to *Synechococcus* sp. WH7803. *FEMS Microbiol. Lett.* **310**, 120–126 (2010).
 55. Hellweger, F. L., Jabbur, M. L., Johnson, C. H., van Sebille, E. & Sasaki, H. Circadian clock helps cyanobacteria manage energy in coastal and high latitude ocean. *ISME J.* **14**, 560–568 (2020).
 56. Ottesen, E. A. *et al.* Multispecies diel transcriptional oscillations in open ocean heterotrophic bacterial assemblages. *Science*. **345**, 207–212 (2014).
 57. Ottesen, E. A. *et al.* Pattern and synchrony of gene expression among sympatric marine microbial populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **110**, E488–97 (2013).
 58. Seymour, J. R., Amin, S. A., Raina, J. B. & Stocker, R. Zooming in on the phycosphere: The ecological interface for phytoplankton-bacteria relationships. *Nat. Microbiol.* **2**, 17065 (2017).
 59. Straub, C., Quillardet, P., Vergalli, J., de Marsac, N. T. & Humbert, J. F. A day in the life of *Microcystis aeruginosa* strain PCC 7806 as revealed by a transcriptomic analysis. *PLoS One* **6**, e16208 (2011).
 60. McCarren, J. *et al.* Microbial community transcriptomes reveal microbes and metabolic pathways associated with dissolved organic matter turnover in the sea. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **107**, 16420–16427 (2010).
 61. Azam, F. & Malfatti, F. Microbial structuring of marine ecosystems. *Nat. Rev. Microbiol.* **5**, 782–791 (2007).
 62. Geng, H. & Belas, R. Molecular mechanisms underlying roseobacter-phytoplankton symbioses. *Curr. Opin. Biotechnol.* **21**, 332–338 (2010).
 63. Biller, S.J., Coe, A., Roggensack, S.E. & Chisholm, S.W. Heterotroph Interactions Alter *Prochlorococcus* Transcriptome Dynamics during Extended Periods of Darkness. *mSystems* **3**, 1–18 (2018).
 64. Basu, S., Gledhill, M., de Beer, D., Prabhu Matondkar, S. G. & Shaked, Y. Colonies of marine cyanobacteria *Trichodesmium* interact with associated bacteria to acquire iron from dust. *Commun. Biol.* **2**, 1–8 (2019).
 65. Seyedsayamdost, M. R., Case, R. J., Kolter, R. & Clardy, J. The Jekyll-and-Hyde chemistry of *phaeobacter gallaeciensis*. *Nat. Chem.* **3**, 331–335 (2011).
 66. Hu, S. K., Connell, P. E., Mesrop, L. Y. & Caron, D. A. A Hard Day's night: Diel shifts in microbial eukaryotic activity in the North Pacific Subtropical Gyre. *Front. Mar. Sci.* **5**, 1–17 (2018).
 67. Fang, X. *et al.* Transcriptomic responses of the marine cyanobacterium *Prochlorococcus* to viral lysis products. *Environ. Microbiol.* **21**, 2015–2028 (2019).
 68. Ribalet, F. *et al.* Light-driven synchrony of *Prochlorococcus* growth and mortality in the subtropical Pacific gyre. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **112**, 8008–8012 (2015).
 69. Morimoto, D. *et al.* Cooccurrence of broad- and narrow-host-range viruses infecting the bloom-forming toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* **85**, e01170-19 (2019).
 70. Zhao, Z. *et al.* Microbial transformation of virus-induced dissolved organic matter from picocyanobacteria: coupling of bacterial diversity and DOM chemodiversity. *ISME J.* **13**, 2551–2565 (2019).
 71. Deng, L., Cheung, S. & Liu, H. Protistal Grazers Increase Grazing on Unicellular Cyanobacteria Diazotroph at Night. *Front. Mar. Sci.* **7**, 1–10 (2020).
 72. Kelly, L. W. *et al.* Diel population and functional synchrony of microbial communities on coral reefs. *Nat. Commun.* **10**, (2019).

視交叉上核の領域的周期差が位相波、朝夕時計、時差ボケ非対称を生み出す

重吉 康史[✉]・南 陽一・武下 愛

近畿大学 医学部 解剖学

哺乳類の体内時計中枢である視交叉上核 (SCN) で、時計遺伝子である *Per1* や *Per2* の発現を時系列で追いかけると位相波とよばれる現象を観察することができます。位相波は同期状態にある多数の振動子が一定の位相勾配を保って同期することで、ある特定の位相を示す振動子を追いかけていくと波が伝わっていくように見える現象です。この SCN における位相波がどのようなシステムで形成されるかについては明らかになっていませんでした。我々は SCN の内部に領域的な周期差があることを明らかにし、位相波を数理的モデルを用いて再現することに成功しました。さらにこの位相波が示唆する振動子間の位相勾配の存在によって、朝振動子 (M0)、夕振動子 (E0)、時差ボケ現象が説明できることを明らかにしました。もちろんモデルは一つの仮説ですので、それが正しいかどうかを検証していく必要があります。現状、実験結果をうまく説明できそうです (なおこの総説は文献1で扱った内容に加筆したものです)。

1. 視交叉上核内部の位相波の発見

視交叉上核 (SCN) 内部では位相波が存在します^{2,3}。一日一回、SCNの尾側から吻側に流れていく同期現象がつくりだす位相差が波のようにみえるのがSCNの位相波です。この位相波は、時計遺伝子の発見と発光測定技術の進歩によって発見されました。時計遺伝子の多くはその発現が明瞭な概日リズムを示します。概日リズムを明瞭に示す時計遺伝子の発現調節領域にルシフェラーゼ遺伝子をくっつけてゲノムに埋め込みます。その遺伝子改変動物から採取された組織をルシフェラーゼの基質であるルシフェリンを含む液にて培養し、それを高感度のカメラで撮影することによって、一細胞ごとの概日リズムを発光で捉えることができます。この観察によって視交叉上核内の位相波は発見されました。視交叉上核の冠状断で見える内から外へ流れていく波は最近では見慣れたものになってしまいましたが、初めて見たときは概日リズムの神秘的な側面を表象しているように思えました。この位相波はどうしてできるのか、長年積み重ねられてきた哺乳類概日リズム研究とどのように結びつくのかを我々は、追いかけてきました。

2. 視交叉上核内の小領域とその名称について

体内時計中枢であるSCNは機能的にも、発現する分子においても多様な細胞で構成されています。その異なる性質をもつ細胞が領域を形成しています。ラッ

トではSCN冠状断の断面において網膜からの直接の投射がある腹外側部と直接の投射のない背内側部と呼ばれる領域が存在します。マウスでは同様の機能領域がコア (Core) とシェル (Shell) と呼ばれています。SCN水平断切片では背内側部と腹外側部という領域を定義することができません。しかし、水平断切片でもコア、シェルという領域分けは可能です。よってSCNの水平断切片にも触れるこの稿ではコア、シェルという用語を用います。コアにはVIPを発現するニューロン、GRPを発現するニューロンが密に存在します。一方、シェルにはAVPを強く発現するニューロンが密に局在します。

3. 視交叉上核における周期の異なる小領域

我々は *Per2::dluc* ラットのSCN冠状断の組織培養切片のCCDカメラを用いた位置細胞観察において、発振細胞間の同期がForskolin (FK) 慢性投与によつてはずれることを発見しました⁴。そして脱同期の結果として、SPRシェル領域内側の小領域に短周期の細胞が集まる領域 (short period region; SPR) と外側に24時間より長い周期の細胞が密に集まる領域 (short period region; LPR) を同定しました (図1)。FKを入れる前に観察される位相波は常にこの短周期の領域から長周期の領域に向かって進んでいました。さらに我々は *Per2::dluc* ラットSCNの水平断スライス培養においても、SPRがシェル領域の尾内側領域に

✉ shigey@med.kindai.ac.jp

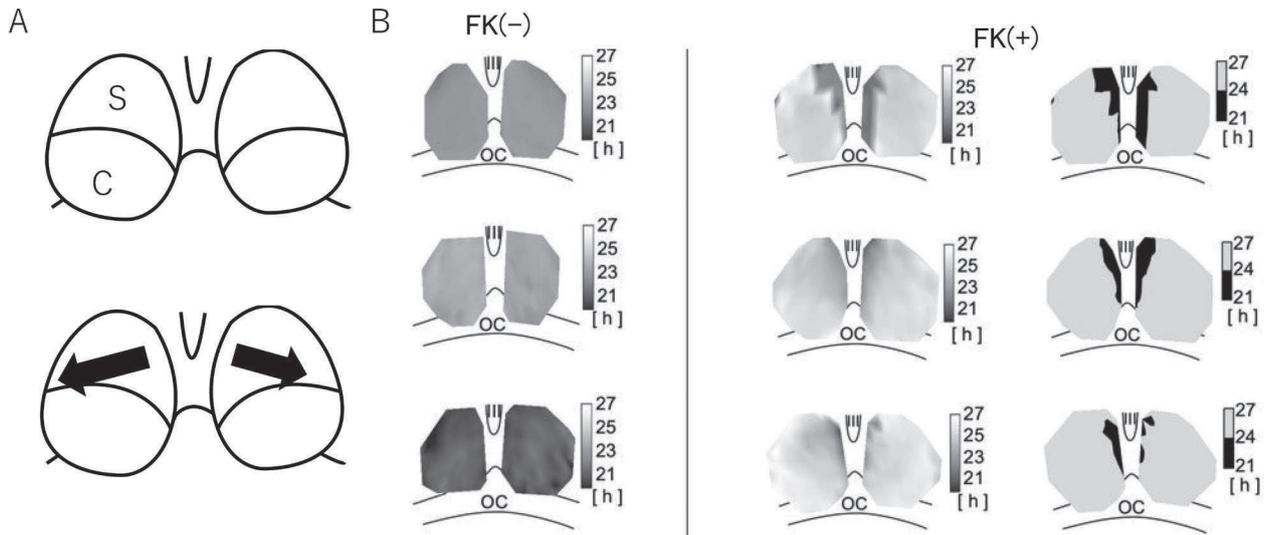


図1. ラット視交叉上核(SCN)の小領域と位相波の進行、短周期領域と長周期領域

A. 上の図はPer2-dluc ウィスターラット SCNの前額断切片におけるシェルとコアの局在を示す。下の図の矢印は位相波の進行方向を示している。B. 各グリッドにおける概日リズムの周期を示すマップ。グリッドごとに周期を求めている。FKを加えていない場合(左列、n=3)では、すべてのグリッドがほぼ同じ周期を示した。一方、FKを加えた場合(中央と右の列(n=3)、中央はグラデーションで周期を示し、右は二値化してSPRを際立たせている)。右側のバーは、各グリッドから発生した発光の概日周期を示す。前額断ではSPRはシェルの内側の小領域に局在することに注意。この断面ではSPRはシェルの内側の小領域に局在する⁴。

存在し、やはり位相波はSPRからLPRに向かって進行することを発見しました(参考：<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0276372.s004>)⁵(図2)。

FKが発振細胞間を非同期にする理由については次のように考えています。cAMPがSCNが発振細胞間の同期を保つことに必須であると以前から報告されています^{6,7}。発振細胞間で同期を達成するためにはcAMPが周期的に作用し位相情報を周辺の発振細胞に伝えることが必要です。cAMPの濃度を上昇させるFKの慢性投与は同期を達成するシグナルであるcAMPのリズムを喪失させる。そのために発振細胞間の同期が停止する。一般的に同期をはずすためにMDLとかTTXを用いることが多いようですが、この2つの薬剤はラットSCNでは、発光が振動を捉えることができないほど減弱し目的を果たすことができませんでした。

FK添加の結果だけでは、FKの影響で周期が領域的に変わった可能性が排除できないのでSCNを断片化しておおのの周期を測定しました。冠状断では、内側と外側に分割、水平断切片で吻側と尾側の間で切断しました。すると内側の切片が外側の切片よりも短い周期を示しました。また水平断切片のナイフカットでは、常に尾側のSCN断片が吻側の断片よりも短い周期を示しました^{4,5}。すなわちいずれの場合もSPRを含む断片が最も短い周期を示しました。これらはFK投与で見出したSPR、LPRの存在を支持する所見です。

SPR、LPRについては何回も我々はそれを確認して

いるのですが、他施設からコンファームしたとの報告がない。どうしてなのでしょう。ラットSCNを使用して実験しているのが我々のみであるからかもしれません。周期の領域性について、頻用されるマウスにおいて観察されていない。我々がマウスの水平断を作成して、同期の有無を切片にグリッドを当てはめておのおののグリッドにおける発光周期を検討すると水平断ではすでに同期が外れてしまっていることが多い。ラットに比べるとスライス培養下で振動子の同期を得ることが難しい。冠状断では、マウスは短周期領域が小さく、SPRを含む断面を得ることが難しい。きれいに位相波が見えている切片は冠状断でもたまにあるのですが、数がなかなか集まらない。きちんと切片が切れたときには、シェル内での位相波が見えます。内側から外側に、そしてコア領域に位相波が達する。このような位相波が見えていて、SCNで同期が保たれていればSPRとLPRは見つかるはずなのですが、なかなか当たりの断面がでてこない。それに比べるとラットの冠状断は金太郎飴に近い。構造がわかりやすい。ラットのSCNで実験をやって正解でした。

4. SPRとLPRを含む数理モデルの作成

SPRとLPRの存在は、数理研究者にとっては扱いやすいものになります。周期の短い振動子がSPRに集まって、LPRに周期の長い振動子が集まっているという設定でモデルを考えることになります。浅川博士は、SPRとLPRの発見をもとに、SCNの他振動

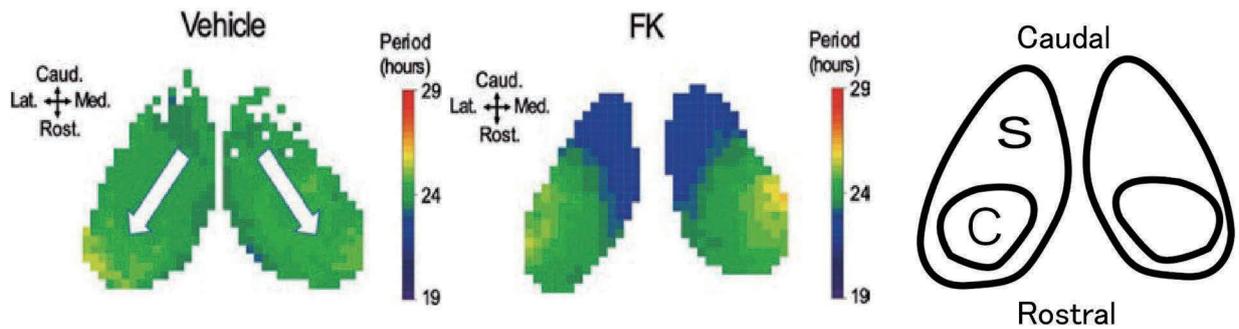


図 2. Per2-dluc ウィスターラット視交叉上核の水平断スライス上での概日リズム周期のマッピング。Vehicle のみではほぼ全面で同期を達成している（矢印は位相波の方向をしめす）。Forskolin (FK) を加えることによって同期がはずれることがわかる (FK)。短い周期を示す領域 (SPR) が尾内側領域に存在する。上方が尾側 (Caudal)、下方が吻側 (Rostral) である。右の図はコア (C) とシェル (S) の局在を示す。SPR はシェル領域の一部をなしている⁵。

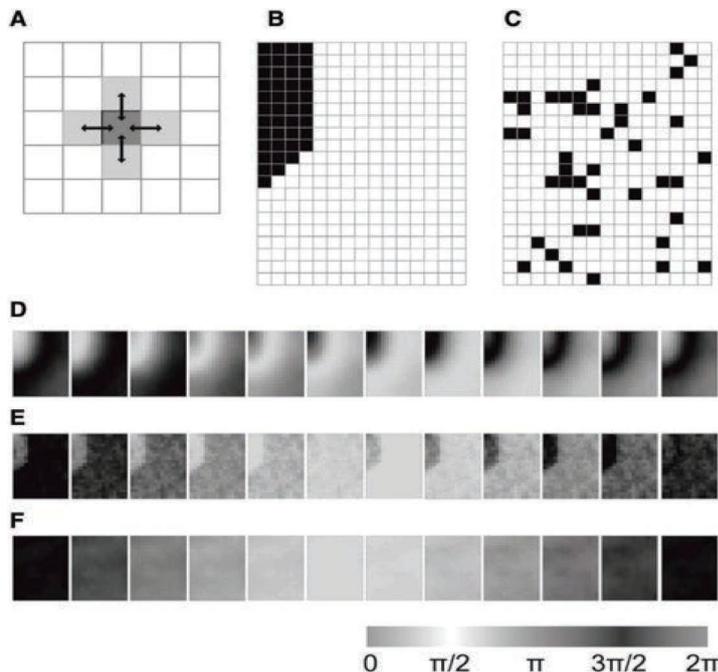


図 3. 位相パターンの数値シミュレーション

(A) 中央と周囲のグリッド要素間の相互作用を示す模式図。(A) このモデルでは、相互作用は隣接する振動子に限定されている。(B) リミットサイクル振動子を表すグリッドの配置を示す模式図。SPO (22 時間 $\tau < 24$ 時間) は内側の小さな領域 (色のついた格子要素) に配置され、一方、長周期振動子 (24 時間 $\tau < 26$ 時間、空白の格子要素) はより外側の大きな領域に配置された。(C) SPO (22 時間 $\tau < 24$ 時間、着色されたグリッド) は格子の上にランダムに分布した。(D) SPR から LPR へ位相波が伝播した ($g = 0.15$)。(E) 2 つのクラスターが弱い結合定数 ($g = 0.015$) で出現した。(F) SPO をランダムに分布させた場合、振動子は同期したが、位相波は発生しなかった。下のバーは位相を示す⁴。

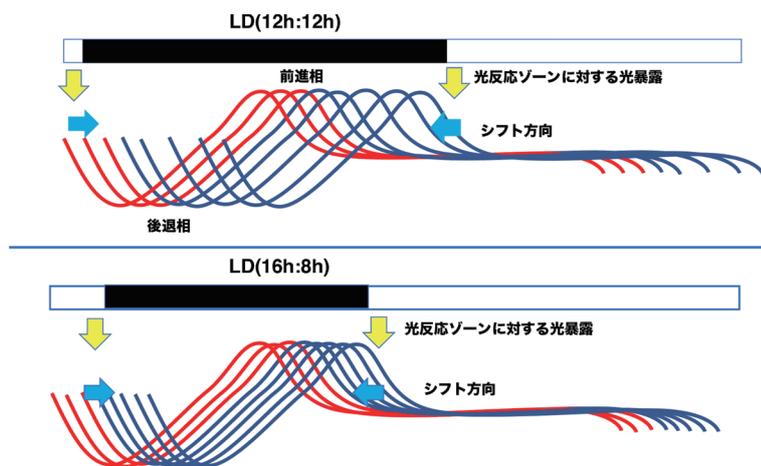


図 4. SCN 内発振細胞概日リズムの PRC の整列

SCN における位相波の発生から想定されるように、各振動子は他の振動子との位相差を保っている。PRC の形状は本間ら (4) が報告したウィスターラットの PRC に基づいている。縦矢印は光感受性ゾーンへの光入力、横矢印はシフトの方向を示す。朝の光と夕方の光は、PRC 間の位相差を圧縮する働きをする。長日条件 (16h:8h) では、LD (12h:12h) よりも圧縮が顕著である (文献 3 の図を改変)。

子の同期のモデルとなるモデルを作りました^{4,8}。蔵本博士が考案された位相方程式⁹に従って、リミットサイクルを位相のみの記述、つまり三角関数のみで表現しました。多数の格子を作り、そこに位相振動子をは

めこみ、実際の SCN での局在に似せて 24 時間より短い周期のものを格子の端の小領域に集めます (図 3)。格子の残りは、24 時間より長い周期の振動子で埋め尽くします。同期を表現するには SCN の振動子

間に微分方程式で同期を達成できる相互作用を設定します。浅川博士考案のシミュレーションでは振動子の概日リズムは以下の微分方程式にしたがいます。この式では振動子間の位相差に応じて位相が近づくよ

$$\frac{d\theta_i}{dt} = \omega_i + g \sum_k \sin(\theta_k - \theta_i)$$

うに振動子の角速度が変化するようにになっています。固有の角速度 ω_i をもつ振動子の位相の時間変化 $d\theta_i/dt$ は隣接する4つの振動子との位相差 $(\theta_k - \theta_i)$ の総和に結合定数 g をかけたものの和で決定します。隣接する振動子間に位相差がある場合、それを縮めるよう振動子の角速度が変化します。すべての振動子の角速度 $(d\theta/dt)$ が同じ値になった時、SCN 全体の同期が達成されたこととなります。

位相の再現には、結合定数 g を適切に設定する必要があります。 g が適切な値になると、SPR から LPR へ位相波が現れます (図 3)。 g が大きすぎると個々の振動子の位相に差がなくなり、位相波が出なくなります。逆に小さすぎると同期がとれなくなります。位相波を形成するためには g は適切な値の範囲内であることが必要です。進化の過程で結合定数を適切に保つために選択圧が働いた可能性があります。

位相波の伝搬が遅いのはなぜか? 筆者 (重吉) は当初、SPR から LPR への刺激の順次伝達により、この位相波が実現すると考えていました。しかし、たった $600\mu\text{m}$ (SCN 内部の距離) の伝播に 6 時間以上を費やしてゆっくりと進行する波です。このような遅い波を実現することは、一方向のシグナル伝達では難しい。拡散にしても神経伝達にしてもそんなに遅くはない。この位相波は、振動子の同期の一形態であると理解してください。位相波は波という漢字が入っているので、どうもその実態がわかりにくいかもしれません。英語の Phase wave もあまりよいことばではないかもしれませんが、英語では phase propagation という名称もあります。日本語では位相伝播、こちらのほうがわかりやすい。

この格子モデルでは、隣接する振動子のみが相互作用して位相を揃えようとします。振動子は、上下左右すべての振動子の位相の影響を受けるが、それ以外の離れた振動子の位相の影響を受けることはありません。この限定的な結合は生体内でのパラクラインによる情報伝達様式に似ています。パラクラインはある細胞がごく近傍の細胞のみに影響をおよぼす情報伝達システムです。あるリガンドを分泌する周辺の細胞に

受容体が存在すればパラクラインによる情報伝達が行われます。モデルでうまく結合定数 g の値を決めると、周囲の振動子と位相情報を交換し、最終的にすべての振動子が同期して SPR から LPR へ向けて位相波が発生する。位相波は進行しますが振動子の位置は変わりません。以上のように浅川氏の格子モデルを用いれば SCN に存在する位相波のゆっくりした進行を説明できます。一方向性シグナル伝達ではなく、パラクラインでの“同期”を観察していたのです。

5. 同期状態を得るのに時間がかかる理由

サーカディアンリズムが関与する現象には、24 時間にとどまらず、長い期間にわたって変化し続けるものが多くあります。例えば、時差ぼけや履歴現象などです。この格子モデルは、このようなゆっくりとした SCN の振動子の脱同期および再同期のプロセスを説明できる可能性を持っています。なぜ遅い? それは、振動子間に適切な位相差を見出すのに長い時間がかかるためです。ルービックキューブで、一つの面を揃えると別の面が崩れてしまうのと似ています。この格子モデルにおいても、一度位相がランダムになると、数百サイクル以上同期がとれなくなることがあるようです (浅川剛博士談)。一度同期がはずれると、安定した位相関係を回復するのは容易ではないわけです。これ人間関係にも似ているのかもしれない。

6. 位相応答曲線が整列しているモデル

ラットの SCN の *Per1*, *Per2* 遺伝子は SCN の内側から発現し、徐々に外側へ広がっていきます。また水平断では尾側から吻側に発現していきます。このような位相勾配をもつ振動子群の位相応答曲線 (PRC) を時間軸上に並べてみます。すると図 4 のように、SCN の SPR から LPR に向かって振動子群の PRC が時間軸上に整列します。SPR の PRC が先行し、LPR の PRC が続きます (この PRC の形状はラットの PRC を参考に作成しました¹⁰)。この PRC の並びが朝時計、夕時計を作ります。

7. 朝時計と夕時計の SCN における局在について

夜行性げっ歯類の行動観察から、自発行動の始まりと終わりを制御する異なる2つの振動子が存在することが提唱されていました¹¹。この2つの振動子は、それぞれ朝振動子 (MO) と夕振動子 (EO)、あるいは朝時計と夕時計と呼ばれています。光環境の変化は、概日行動リズムの活動帯域の開始と終了を制御する2つの概日振動子の脱同期を招くことがあり、そのとき MO と EO が露わになります。MO は環境

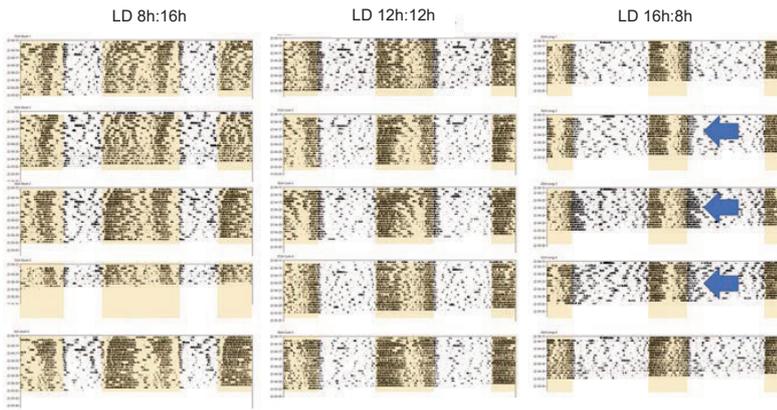


図 5 いくつかの異なる光条件下での C57BL/6 マウスのアクトグラム

短日条件 (8h : 16h) では、自発行動のオンセットとオフセットが圧縮されずに見える。運動活動のオンセットとオフセットの差は 16 時間より短く、12 時間より長い。このパターンは、光による圧縮がない場合の振動子の状態を示している。LD (16h : 8h) のような長日条件では、活動期は主に暗期に含まれるが、一部は明期にはみ出る。はみ出た個体を横向きの矢印で示した³。

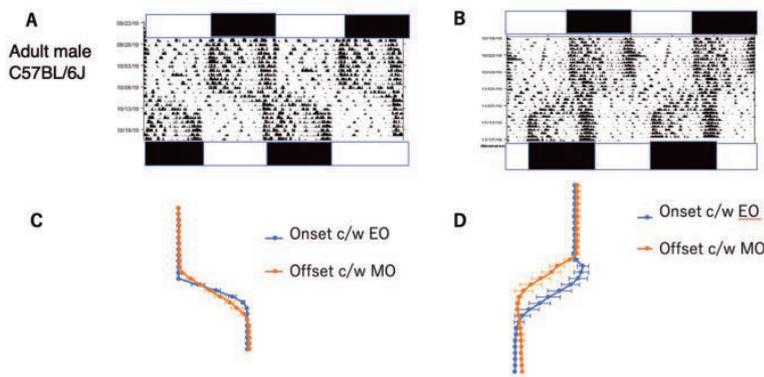


図 6 C57BL/6 マウスの LD サイクルシフト後のアクトグラム

A, B. LD サイクル (12h : 12h) の 10 時間後退 (A)、8 時間前進 (B) を行った前後の自発運動を示すアクトグラム。(C, D) 再同期過程の違いを比較するために自発行動のオンセットとオフセットを重ねた。LD サイクルを進めた場合 (D) は、オンセットとオフセットの乖離が広がり、LD サイクルを遅らせた場合 (C) よりも、定常的な自発運動を回復するのに多くの日数を要する (文献 3 の図を改変)。

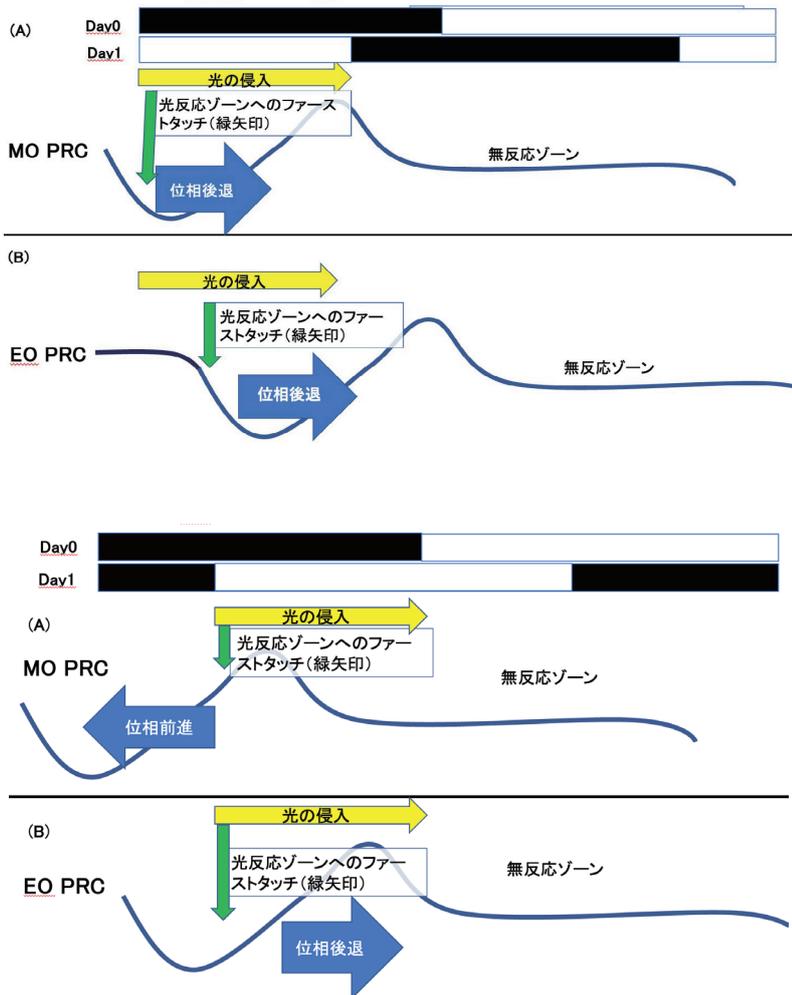


図 7 MO と EO の代表的な PRC と、LD 周期を急激に後退させた後のシフト方向
LD 周期の急激な後退後 (1 日目)、PRC の光応答領域への最初の光侵入 (ファーストタッチ) は、MO (A) および EO (B) とともに PRC の位相後退ゾーンにある。したがって、EO と MO の概日リズムの位相差は、シフト前と比較して大きく変化しない (文献 3 の図を改変)。

図 8 MO と EO の代表的な PRC と、LD 周期を急激に前進させた後のシフト方向
LD 周期が急激に進んだ後 (1 日目)、PRC の光応答領域への最初の光侵入 (ファーストタッチ) は、MO PRC の位相前進領域 (A) と EO PRC の位相後退領域 (B) にある。したがって、EO と MO における概日リズムの位相差は、LD サイクルのシフト前よりも拡大して顕著な非同期が現れる (文献 3 の図を改変)。

の明期から暗期への変化、すなわち夕をとらえます。

MOとEOがSCNのどこに存在するかについてはいくつかの報告があります。SCNの組織スライスを用いた研究では、位相の異なる2つの電気活動リズムのピークが冠状断では認められず、水平断にのみ認められることから、MO, EOはSCNの前後軸に配置されていることが予想されていました¹²。吉川博士ら¹³は、*Per1::Luc*マウスと*PER2::Luc*ノックインマウスのSCNの水平スライスを培養し、短日条件と長日条件における小領域での概日リズムの位相シフトの変化を観察してMOは尾側内側部、EOは吻側部に位置することを明らかにしました。この観察と我々のSPR, LPRの局在と重ね合わせると、MOはSPR領域にあり、EOはLPR領域にあることとなります。この配置は我々が作成したモデルが予想する位置と合致します。

8. PRCの並びにMOとEOが現れる

図4の整列したPRC群は興味深い視点を提供します。この同期した振動子のPRC集団をLD条件下で安定する位相に収めるとそこにMO, EOを見つけることができるのです。すなわちこのPRCの集団は明期から暗期、暗期から明期への変遷を認識しています。位相が進んでいるPRC群の後退ゾーンは明から暗の変遷を認識しています。よってこのPRCを提供している振動子群がEOです。また位相が遅れている振動子PRCの前進ゾーンが暗から明を認識していますのでMOです。そして図にあるような位相にPRC群があるときに位相が安定します。図4に示すようにそれぞれの振動子のPRCの光応答ゾーンのほとんどが暗期にはまり込むことで安定となります(どうして安定するのかについては文献14⁴を参照してください)。この状態では朝の光でわずかに位相前進し、夕方の光でわずかに位相後退することになります。位相前進と位相後退が差し引き0となる位相で安定します。

9. MO, EOはDからLおよびLからDへの移行を認識する

このPRC集団が安定した位相に落ち込んでいる状態から、光条件を仮想的に変えてみます。明期が長くなると(長日条件)、それまで暗期にはまりこんでいたPRC群の位相前進ゾーンと位相後退ゾーンにも光がはいってくる。すると圧縮が起こって振動子の位相がそろってくる。位相差が小さくなって、それに伴い行動のオンセットからオフセットまでが短くなります(図5)。Zeitgeberが入らない条件である恒暗条件

で自由継続周期を示している状態では振動子間の位相差はある一定の値を取ります。それが光入力で両脇から圧をかけられて縮む。バネに似ています。LD(12h:12h)とすると少し圧縮されている。明期が16hになるとさらに圧縮されて振動子間の位相差が小さくなるわけですが、自発行動を暗期に押し込むことができなくて、明期に行動がはみ出る個体が出てくる(図5矢印)。まるでバネを縮めすぎたときのようなです。一方、明期が短くなると(短日条件)、自発行動のオンセットとオフセットの間は長くなります(図5)。明期が8hの短日条件の場合にはバネはほぼ圧縮されることがなくなって伸び切った状態に近くなっています。図5のアクトグラム左列を見てください。活動が暗期全体には広がらず暗期の終わり頃で活動が途絶えています(図5)。すなわちMOは暗期の終わりを認識できなくなっているようです。

ここでMO, EOの生成機序をまとめます。SCN内でSPR, LPRの存在によって概日リズムで位相勾配を示す振動子群(SCN内部の発振細胞)が現れます。その振動子群は位相勾配をもつので、個々の振動子のPRCが時間軸上に整列します。この多数のPRCの並びは、この振動子群が暗から明、明から暗への移行を捉えることができることを示しています。PRCの前進ゾーンを用いて暗から明の移行を捉えている振動子がMO, PRCの後退ゾーンを利用して明から暗を捉えている振動子群がEOとなります。

10. LDサイクル後退と前進で生じる時差ボケは対称ではない

MOとEOの存在は、時差ぼけ実験でも確認できます。すなわちLDサイクル(12h:12h)の急激なシフト後に自発行動を観察するとMOとEOの存在が、自発行動のオンセットとオフセットの乖離として表現されます。例えばLDサイクルを10時間後退させた場合、自発行動の開始は速やかに位相シフトして新しいLDサイクルに同期します。一方、オフセットは数日余計にかかります(図6)。オンセットとオフセットのシフトパターンの解離はLDサイクルを前進した場合により顕著です(図6)。このLDサイクルの後退と前進で起きる時差ボケ現象の違い、すなわちMOとEOの脱同期から同期への回復過程の様式が異なることも我々のPRC配列モデルで説明できます。LDサイクルのシフト直後、明期が最初に主観的暗期への侵入する位相が重要です。これを明期のファーストタッチと呼ぶことにします。このファーストタッチはその後、あとに続く光暴露とは効果が大きく異なります。Comasらは、夜間の光照射の最初期が最も大

きな効果を持ち、光暴露を継続しても1~2時間後にはその効果はかなり減少すると報告しています¹⁵。すなわちLDサイクルの急激なシフト後、主観的夜への光侵入のファーストタッチが最大の効果をもたらす。

LDサイクルの後退においては光侵入は常にSCN内のすべての振動子においてPRCの後退ゾーンから始まります(図7)。よって、振動子間の脱同期の程度は比較的小さやかです。一方、LDサイクルの位相が前進する場合はどうでしょうか。LDサイクル(12h:12h)の急激な8時間の前進では、光が突然、シフト前には暗期であったpZT16 (projected ZTはもとのLDサイクルが続いていると想定した場合の時刻)に侵入します。ここで、PRCから位相がどちらに進むかを読み取ります。すると位相が進んでいるMOの概日リズムは、光のファーストタッチで位相前進し、一方、EOはファーストタッチで後退することがわかります。よってより大きな脱同期が生み出されます(図8)。その結果、MOとEOの再同期により多くの日数を要するわけです。日本からヨーロッパへのフライトは、LDサイクルが後退しますので時差ボケが軽い。一方、米国とくに西海岸へのフライトはLDサイクル前進にあたるので時差ボケが長く続くことになるわけです。ただし現地では時差ボケを直してしまうと帰国後はヨーロッパから帰る場合の方が時差ボケがひどくなります。

我々は以前に、LDサイクルの急激なシフト後、シエルの概日リズムのシフトが遅延するためジェットラグが発生することを明らかにしています¹⁶。さらに、LDサイクル前進の方が後退と比較して時差ボケの解消により多くの日数を要することも報告しています。整列PRCモデルで予想される、視交叉上核内部の脱同期の様態はシエルにおけるゆっくりした位相シフト、さらにLDサイクル前進時の時差ボケが後退時よりも長引くことが説明できます。

シエルの振動子間に位相差が存在するという仮定で、ジェットラグ、すなわちシエルにおける概日リズムシフトの遅延、を説明できることは既に郡博士らが数理モデルを用いて報告しています。郡博士らはシエル内に定数 α の位相差を持つ2つの振動子を想定しました。その上で仮想的に時差ボケ実験を行いました¹⁷。これらの振動子間には位相差があるため、外乱が入った際、位相のシフト量やシフト方向が異なります。よって2つの振動子は非同期となります。再び同期するまでに時間がかかるため、シエルはゆっくりとしたシフトを示すことになります。郡博士らは位相差が振動子間の相互作用によってできるものとしていましたが、浅川博士が考案した格子モデルではSPRと

LPRを想定することで振動子間の位相差を再現しています。

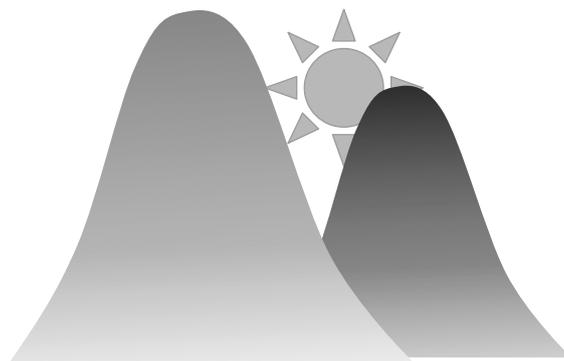
11. まとめ

以上、SCNにおけるSPRとLPRの局在を示しました。SCNの振動子が、ごく近傍の振動子のみと結合する、すなわちバラクライン作用によって同期していると仮定しました。その結果、数理モデルシミュレーションによって位相波を再現することができました。このSCNに認められる位相波を形成する概日振動子の位相勾配からPRCが整列するモデルが想定できます。そしてPRCの並びによってMOやEOを説明できます。時差ボケを生み出すLDサイクルのシフトにおいて、急激な前進はMOとEOの著明な脱同期を作り出すので、LDサイクルが後退した場合と比較すると、再同期して安定した状態となるまでにかなりの日数を要することになります。

参考文献

1. Shigeyoshi, Y., Minami, Y. & Takeshita, A. in *Circadian Clock* (eds Honma K & Honma S) 375-386 (Ashoff and Honma Memorial Foundation, 2023).
2. Hong, J.H., Jeong, B., Min, C.H. & Lee, K.J. Circadian waves of cytosolic calcium concentration and long-range network connections in rat suprachiasmatic nucleus. *Eur J Neurosci.* **35**, 1417-1425 (2012).
3. Fukuda, H., Tokuda, I., Hashimoto, S. & Hayasaka, N. Quantitative analysis of phase wave of gene expression in the mammalian central circadian clock network. *PLoS ONE.* **6**, e23568 (2011).
4. Koinuma, S. et al. Regional circadian period difference in the suprachiasmatic nucleus of the mammalian circadian center. *Eur J Neurosci.* **38**, 2832-2841 (2013).
5. Morimoto, T., Yoshikawa, T., Nagano, M. & Shigeyoshi, Y. Regionality of short and long period oscillators in the suprachiasmatic nucleus and their manner of synchronization. *PLoS ONE.* **17**, e0276372 (2022).
6. O'Neill, J. S., Maywood, E. S. & Hastings, M. H. Cellular mechanisms of circadian pacemaking: beyond transcriptional loops. *Handb Exp Pharmacol.* 67-103 (2013).

7. Hastings, M.H., Brancaccio, M. & Maywood, E.S. Circadian pacemaking in cells and circuits of the suprachiasmatic nucleus. *J Neuroendocrinol.* **26**, 2-10 (2014).
8. Sujino, M. et al. CLOCK Δ 19 mutation modifies the manner of synchrony among oscillation neurons in the suprachiasmatic nucleus. *Sci Rep.* **8**, 854 (2018).
9. Kuramoto, Y. Chemical Oscillations, Waves, and Turbulence. (Dover publication, New York, 2003).
10. Honma, K. & Hiroshige, T. Simultaneous determination of circadian rhythms of locomotor activity and body temperature in the rat. *Jpn J Physiol.* **28**, 159-169 (1978).
11. Pittendrigh, C.S. & Daan, S. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. *J Comp Physiol.* **106**, 333-355 (1976).
12. Jagota, A., de la Iglesia, H.O. & Schwartz, W. J. Morning and evening circadian oscillations in the suprachiasmatic nucleus in vitro. *Nat Neurosci.* **3**, 372-376 (2000).
13. Yoshikawa, T. et al. Localization of photo-period responsive circadian oscillators in the mouse suprachiasmatic nucleus. *Sci Rep.* **7**, 8210 (2017).
14. 重吉康史. 視交叉上核-あゝころ. *時間生物学* **29**, 3-9 (2023).
15. Comas, M., Beersma, D.G., Spoelstra, K. & Daan, S. Phase and period responses of the circadian system of mice (*Mus musculus*) to light stimuli of different duration. *J Biol Rhythms.* **21**, 362-372 (2006).
16. Nagano, M. et al. An abrupt shift in the day/night cycle causes desynchrony in the mammalian circadian center. *J Neurosci.* **23**, 6141-6151 (2003).
17. Kori, H., Yamaguchi, Y. & Okamura, H. Accelerating recovery from jet lag: prediction from a multi-oscillator model and its experimental confirmation in model animals. *Sci Rep.* **7**, 46702 (2017).



“狭間にいるから、みえるものがある”

武方 宏樹[✉]

琉球大学 研究推進機構

1. はじめに

この度、第21回（2023年度）日本時間生物学会学術奨励賞（基礎科学部門）を受賞できましたことを、大変光栄に思います。過去の実賞者の方々と名前を連ねさせていただけることに、身が引き締まるのを通り越して、身が縮こまる思いです。今回の受賞はこれまで私の研究活動を支えてくださった、諸先生方や諸先輩方、学生の皆さんのおかげです。特に、学生時代から変わらないご指導とご助言をいただいている沼田英治先生、志賀向子先生、後藤慎介先生、ウィーンへの留学中にお世話になった Kristin Tessmar-Raible 先生と Florian Raible 先生、琉球大学でのPIである竹村明洋先生、そして各研究室のメンバーと関係者の皆様には大変お世話になりました。この場を借りてお礼申し上げます。

執筆にあたり、過去の受賞論文を読み直してみたのですが、それぞれ個性的で面白い内容で、“時間”をキーワードに多様な研究者が集まっている本学会の特徴をよく反映しているように感じました。本稿が面白くなっている自信は無いのですが、せめて個性的なものとなっていれば幸いです。

2. 時間生物学と出会うまで

幼少期は愛媛県東予市（現 西条市）という海と山に囲まれた環境で過ごしました。子供のころから生物が好きで、カニやら昆虫やら、色々な生き物を捕まえてきては家で飼育していました。今思うと、この経験があったので、研究対象にさまざまな生物を用いることにあまり抵抗が無いのかもしれません。高校でも理科は生物を選択したのですが、これには数学のベクトルやら行列やらが苦手で物理の授業についていけない気がなかったという別の理由もあります。

3. 時間生物学との出会い

大学進学までの間は、特に将来の夢はありませんで

した。生物は好きなのですが、職業にするほどのことではないと感じていたので、進路希望では何となく安定していそうな公務員と答えていたと記憶しています。そんな私が研究者を目指したきっかけは、沼田先生が開講していた「時間生物学」という講義を受けたことでした。時間生物学という分野が学術的にも面白かったというのがあるのですが、講義中に沼田先生が、解明されていない事象について、はっきり「わかりません」と述べていたことがとても印象的でした。高校までの生物の授業では基本的に既知の情報しか教わりません。そのため、大学進学直後の私は「生物学って、もうほとんど解明されているのだ」という間違っただ認識をもった井の中の蛙状態でした。そんな私にとって、学生からの質問にハッキリと「それはわかっていません。」と断言した後、「どうなっているんでしょうね？」と切り出し、考えられる可能性について語る沼田先生の姿がとても楽しそうにみえました。その時に、生物学ってまだまだ何もわかっていないんだ、色々考えるのって楽しそう、自分もこういう職業に就きたい、と思ったのが研究者を目指したきっかけです。余談ですが、沼田先生が最終講義で「自分が楽しそうにしていれば（実際に楽しいし）、博士に進学する学生も増えるだろうと思っていた」という旨をおっしゃっていたのですが、まんまとハマったわけです。

4. 大阪市立大学時代

そんなわけで、4年生の研究室配属では沼田先生の主宰する情報生物学研究室を希望し、無事に配属されました。当時の情報生物学研究室には、沼田先生と志賀先生、後藤先生の3名がいらっしゃいました。正式な指導教員は修士までは沼田先生、博士からは志賀先生だったのですが、それぞれ先生方の専門分野が異なっていたので、実験や研究の内容に応じて、それぞれの先生に相談にのってもらいながら研究を進めていました。当時の情報生物学研究室で研究をスタート

✉ takekata@lab.u-ryukyu.ac.jp

できたことは、大変な幸運だったと思います。ゼミでは3名の先生方が忌憚なく意見を交わしあい、意見が食い違った場合にどうやってすり合わせをしていくのか、建設的な議論にしていくのかといったことを体感できたことは貴重な財産となっています。また、3名の先生方がいらっしやることで、分野ごとの作法の違いや研究者ごとに考え方の違いがあることが早い段階で知れたことも非常に良かったと思います。

このような恵まれた環境で研究できることはそうそうないと当時から感じていたので、研究においてもできるだけ色々なことに挑戦するようにしました。研究テーマは、潮間帯に生息するコオロギの一種であるマングローブスズ *Apteronomobius asahinai* の概潮汐時計が概日時計と同じ生理機構の時計なのか、というものでした。私が研究室配属になった時点で、既に *period* の RNAi 後も概潮汐リズムが維持されることは明らかにされていました。しかし、なにも RNAi の効果が無ければ、単に RNAi が効いていないということになってしまいます。行動学的解析については沼田先生に、分子生物学的解析については後藤先生に、それぞれ相談しながら研究を進め、最終的に、*period* mRNA の発現が抑制されていること、概日リズムのみが消失していることを示すことができました¹。初めての論文がアクセプトされた際には、喜びというよりも安堵の気持ちに近かったことを覚えています。

その後の研究の進め方について、他の概日時計遺伝子について検証するという選択肢もあったのですが、神経生理学的な側面から、コオロギの概日時計の中核である視葉の除去実験に挑戦しました。その理由としては、概潮汐時計の所在を明らかにすることの重要性が高いと考えたのもあるのですが、せっかく志賀先生がいらっしやるのだから神経生理学的な手法についても学びたいと考えたからです。除去実験の結果、視葉を除去した場合にも概日リズムのみが消失し、概潮汐リズムは維持されることを示すことができました²。博士課程3年次から DC2 に採用されたこともあり、情報生物学研究室では7年間研究することができました。その間に3名の先生方がそれぞれ責任著者となった論文を出せたことは、ちょっとした自慢です。私が今も研究者を続けられているのは、業績面だけでなく、技術・知識面でもこのころの貯金があるからだと感じています。

3名の先生方は研究者としてだけではなく、教育者としても優れた方でした。沼田先生は、卒論執筆の際、研究室に同期がいなかった私の精神面を気にかけてくださり、よく声をかけてくださりました。マングロ

ーブスズの概日リズムが消えている、ということと同じ研究室の人にさえ上手く説明できず、一緒に落ち込んだこともありました。志賀先生には、研究で落ち込んだ際によく励ましていただきました。私のケアレスミスで実験機器を壊してしまい「研究者に向いてないんですかね…」と弱音を吐いた際に「この程度でそんなに落ち込むことが向いてない！」と叱咤激励していただいたことをよく覚えています。後藤先生には、お酒の席で「武方は将来何になりたいの？」とよく聞かれたことが印象に残っています。今思うと、目の前の研究に夢中になり過ぎていた私に、その後のことをしっかり考えなさいと、伝えたかったのだと思います。それをきっかけに、実験材料や手法にこだわらず、生き物の環境周期への適応機構を研究していきたいと考えるようになり、その方針は現在まで続いています。

5. ウィーン大学/MFPL 留学

学位を取得し、DC2の残り1年間を終えた後、日本学術振興会の海外特別研究員に採用され、ウィーン大学マックス F ペルーツ研究所 (MFPL) の Tessmar-Raible Lab に留学しました。詳細については、以前に留学体験記を書かせていただいたので、そちらをご覧ください。ウィーンでは Kristin Tessmar-Raible 先生と Florian Raible 先生のもとで、イソツルヒゲゴカイ *Platynereis dumerilii* の概月リズムについて研究しました。オーストリアという内陸国で海洋生物であるゴカイの研究をおこなうためのファシリティを整え、成果をあげられるのは Kristin のパワフルさのなせる業だと思います。2年間の留学でしたが、概月リズムという長周期のリズムの研究をその期間にまとめ上げるというのは、なかなか難しく、自分が主体となって行った研究は結局論文にできずにウィーンを去ることになりました。そのことが心残りではあるのですが、滞在中に研究所内で飼育されている多種多様な生き物の飼育方法や、ゲノム編集などの様々な技術に触れることができたことは貴重な経験です。

また、当時の MFPL にはウミユスリカの半月周・月周性研究で有名な Tobias Kaiser 博士も所属しており（正確には MFPL の所属ではなかったかもしれませんが）、Tessmar-Raible Lab とも交流がありました。建物が違ったのでそんなに頻繁に話すことは無かったのですが、たまに一緒にコーヒーを飲んだりしていました。ウミユスリカやマングローブスズなど、それぞれの実験材料の強みや展望について話すことが多かったのですが、お互いに隣の芝が青く見えているな

あ、と思いながら雑談をしていたのをよく覚えていません。

6. 琉球大学への異動後から現在

海外学振最後の年に、学振 PD に採用され、現在も所属している琉球大学の竹村明洋先生の研究室に異動することになりました(正式な学内の所属は数回変わっているのですが)。オーストリアを離れる際に、Kristin からは「ゴカイをもって帰って研究を続けても良いのよ」と言ってもらえたのですが、若手とよばれる間は色々な生き物を使ってみたいという思いがあり、一旦ゴカイからは離れてみることにしました。沖縄ではサンゴを対象にその産卵時期について研究しています。サンゴの一斉産卵はよく知られている現象ではあるのですが、時間生物学的な側面からの研究報告が少ないように思えたのがその理由です。しかしながら、実際に研究を始めてみると、なぜ少ないのがよく分かりました。1~2年目こそ、ビギナーズラックで良い結果が出たものの、その後は飼育系のトラブル等でなかなか苦戦しています。

竹村先生からは、人との繋がりを大切にしながら、とよく言われています。サンゴや大型魚類を使った研究を行う場合、特に飼育の面において、一人ですべて管理をすることは困難です。そのような場面で、無責任に人に押し付けるのは良くないが、頼れるところは頼りなさい、とよく諭されています。また、個々の得意を活かして大きな仕事をしようという竹村先生のスタンスは近くにおいて大変勉強になります。共創の場形成支援プログラムのような大きなプロジェクトを回せるのも、竹村先生のそのような姿勢や人柄があってこそだと感じています。現在私は、そのプロジェクトの中で亜熱帯の昆虫の生活史について研究しています。水産養殖に用いる飼料用昆虫の探索という目的で、学生時代に昆虫を使っていた私を組み込んでもらったのだと思いますが、サンゴで苦戦している私に、一旦昆虫に戻って見たらどうか、という気分転換的な意味合いもあったのかもしれませんが、また、「プロジェクトの仕事だけをしていたら人材の使いつぶしになってしまうので、ちゃんと自分の研究もしてください」と言っていただけのことにも感謝の気持ちしかありません。

7. おわりに

受賞論文ということで、これまでの研究歴を振り返ってみたのですが、お世話になった先生とのエピソードばかりになってしまいました。つくづく環境に恵まれてきたと感じています。今回の受賞を励みに、これからも研究に勤しむとともに、自分がしてもらったことを後進にしていけたらという気持ちです。

最後に本稿のタイトルを何にしようと考えていたのですが、私の研究テーマとスタイル的に“狭間”という言葉がピッタリだと感じました。学会などで生粋の生理学者の方とお話すると、私のことを生態学者ないしフィールドワーカーだと思われる方が結構いらっしゃいます。いやいや私も生理学者だし!と思わなくもないのですが、私が筆頭著者の論文を振り返ってみると、なるほど確かに全て野外の生物を使っています。だからと言って生態学者だと名乗れるほど、野外には出ていません。そんな感じの中途半端な立ち位置にいるのですが、だからこそ周囲の人にユニークだと言ってもらえる研究が出来ているのだと思います。研究テーマについても、海と陸の狭間である潮間帯に生息する生物が示す概潮汐リズムについて研究してきました。また、最近始めた昆虫の生活史についても、温帯と熱帯の狭間である亜熱帯で季節適応の研究をすることで、みえてくることがあると考えています。元ネタは映画“シン・ウルトラマン”の中で、ウルトラマンが自身について異星人なのか地球人なのかを問われた際に答えた台詞です。「両方だ。敢えて狭間にいるからこそ見えることもある。そう信じてここにいる。」狭間から見える景色があると信じ、これからも研究に励んでいきたいと思っています。

参考文献

1. Takekata, H., Matsuura, Y., Goto, S.G., Satoh, A. & Numata, H. RNAi of the circadian clock gene period disrupts the circadian rhythm but not the circatidal rhythm in the mangrove cricket. *Biol. Lett.* **8**, 488-491 (2012).
2. Takekata, H., Numata, H. & Shiga, S. The circatidal rhythm persists without the optic lobe in the mangrove cricket *Apteronomobius asahinai*. *J. Biol. Rhythms.* **29**, 28-37 (2014).

植物の概日時計における同期の研究

村中 智明[✉]

名古屋大学 大学院生命農学研究科

はじめに

第 21 回の学術奨励賞を受賞することができ、非常に光栄です。これまで支えていただいた皆様にこの場をかりて感謝いたします。改めて学会のホームページで過去の受賞者を拝見し、錚々たる方々の並びに加わることを実感し、身が引き締まる思いです。

2009～2015 年までに学生として 6 年、その後 2022 年まで博士研究員として 7 年にわたって研究を続けてきました。ポスドクとして過ごした時間が学生よりも長くなったタイミングで、2023 年からは名古屋大学の助教に採用いただき、立場が教員になりました。このような節目に奨励賞をいただけたので、本受賞論文では、研究内容を解説するというより、今日までの研究生生活を振り返る機会にしたいと思います。現在の所属で 5 つ目の研究室になります (図 1)。まとまりのない話になりますが、お付き合いください。

1. 時計の研究を始めるまで

京都市で育ち、小中高と公立だった。中学までは徒歩で、高校は自転車で学校に通っていた。京都大学に入学後も、自転車で通った。鴨川を眺めながら大学と生家を往復する生活は 9 年以上続いた。子供の頃にとりわけ生き物に熱中していたわけではない。嫌いではなかったが、ロボットアニメや特撮、漫画のほうが好きだった。その影響か SF を好むようになり、ニュートリノへのノーベル賞も手伝って、高校では宇宙や素粒子論の本を読んだ。大学受験も物理・化学を選択した。大学受験の年には、エウレカセブンというロボットアニメに熱を上げていた。少年がロボットを操縦する王道路線ではあるが、ボーイミーツガールの形式で珪素生命体とのファーストコンタクトを描く SF でもあった。アポロ計画などの影響を受けたスペースオペラから、遺伝子工学の台頭に影響を受けたバイオ系へと SF も移行していた。そういう視点から生物学にも興味を持ち始めた気もする。

2009	京都大学 理学 小山市隆 研	イボウキクサ	1 細胞リズム測定 自動リズム解析
2016	名古屋大学 理学 近藤孝男 研	シアノバクテリア (タンパク)	Kaiタンパク ATPase活性定量
2017	京都大学 生態学 工藤洋 研	ハクサンハタザオ	野外RNA-seq 概日時計の温度応答
2020	鹿児島大学 農学 芝山道郎/神田英司 研	アオウキクサ	光周性 局所適応
2023	名古屋大学 農学 中道範人 研	シロイヌナズナ	概日時計の温度応答

図 1. 研究経歴

大学に入り、新歓行事を見て回ると、ロボットを動かしている人々がいた。機械研究会というサークルで、鑑賞対象だったロボットを作成できるというコペルニクスの転回を受け、入ることにした。とってモノづくりの経験が浅く、変なものばかりを安く作ろうとするので、しっかりと動くロボットは作れずじまだった。それでも、金属加工、電子回路、CPU の基礎を、ある程度は習得できた。

京都大学の理学部では、入学時に物化生地といった専門分野に分かれず、3 回生進学時に選択する。物理と化学とは仲良くなれず、生物に進むことにした。ここでも SF 思考が頭をもたげ、地球外生命がいるとしたら、何より一次生産者を理解することが大事だと考え、植物を対象に定めた。3 回生では各研究室が提供する 1 ヶ月ほどの実習を複数選んで受講できる。植物学教室は 5 研究室からなり、系統分類学、細胞生物学、生理学 (光応答)、分子遺伝学 (光合成)、形態統御学 (細胞性粘菌) であった。各研究室の実習に参加して、細胞性粘菌の研究室に進むことに決めた。粘菌は原生生物であり植物ではない。いきなり方向性が変わったが、進路選択は臨機応変、そんなものだろう。細胞性粘菌は移動体という多細胞形態を経て子実体を形成する。個々の細胞の情報処理がいかにも移動体という全体を制御するのか、この「部分と全体」という枠組みに興味を覚えた。

形態統御学に配属されたのは 3 人だった。研究室に行くと、粘菌実習とは異なる先生と面談になり、ウキ

✉ muranaka@agr.nagoya-u.ac.jp / muranaka.tomoaki.jpn@gmail.com

クサとシアノバクテリア、どちらをやりたいかを尋ねられた。恩師となる小山時隆先生であり、概日時計との長い付き合いの始まりだった。

2. 時間生物学者見習いとしての6年間

突然に時計への道がひらけてしまったが、小山先生は、僕が3回生のときに名古屋大学の近藤研から京都大学に着任された。研究室配属の前に小山先生の授業は受けた記憶はあり、ラプラス変換やリミットサイクルの話が印象に残っている。数学を駆使して生命現象を解析することは面白いと感じた。粘菌の実習を担当した形態統御学研究室に小山先生が着任されたのも把握していた。配属されてから何を専門にするかを決めるつもりだったが、実習で粘菌を触ったので、次はウキクサかなと思った記憶がある。

小山先生は、ウキクサ類を用いた1細胞での概日リズム測定系をテーマにさきがけ「生命システムの動作原理と基盤技術」に採択されていた。すでにウキクサ類を用いた一過的な発光レポーター発現系を開発されており、これはパーティクルボンバードメント(ジーガン)で発光レポータープラスミドを細胞内に導入する手法だった¹。この際、植物個体内の細胞にまばらに導入される。その植物をイメージングすると1細胞由来の発光が輝点として測定できる。これが1細胞での概日リズム測定系のアイデアだ。小山研の一期生としてイメージング装置の組み立て・制御法から携わったが、ロボットサークルでの経験が役に立った。ウキクサ類の中でも、古くからモデルとして使われてきた長日植物のイボウキクサ (*Lemna gibba*) を僕が、短日植物のアオウキクサ (*L. aequinoctialis*) を同期が担当して研究を進めた。ちなみに発光レポーターとして使用した *AtCC1::LUC#* は、現所属の PI である中道範人先生が作製されたものであり、研究の初期からお世話になっている。

リズム測定と並行して進めたのは、ゲノムが小さく、解読プロジェクトが走っていたウキクサ (*Spirodela polyrhiza*) を新たなモデルとする準備だった。ウキクサは大型でウキクサ類では基部に属する。イボウキクサ、アオウキクサは日長に応じて容易に花が誘導され自殖も可能だが、ウキクサは自家不和合の中日植物であり、そもそも花をつけにくい。サリチル酸で花成が誘導されるという文献はあったが、培地条件から異なっていた。そこで引用をたどって、組成を突き止めた。試してみると、確かに開花した。先人の知恵、とくに過去の膨大な生理学データに学ぶことの重要性を実感した瞬間だった。ただ、花はつけても種子は取れず、

それ以上の進展はなかった。しかし、この新しい培地は予想外の恩恵をもたらした。ウキクサの重大な問題として、なぜか発光レポーターのシグナルが非常に低いことがあった。それが、この培地で測定すると、なぜか解消されたのだ。また、イボウキクサについても、5日程度で減退していたシグナルが、長期にわたって維持された。この培地条件を見出したことは、地味だが重要な成果だったと思う。

さて、培地条件の最適化により長期のリズム測定が可能になり、1細胞リズムの解析も本格化した。まず分かったのは、同一組織内でも脱同期することである。連続明条件にリリースすると7日ほどかけてピーク時刻がずれていく。ただし、じっと見ると近い細胞間では少し同期しているようにもみえる。この「みえる」を定量的に示すことに、博士課程のすべてをささげた。測定されたリズムのピーク時刻を自動で同定するアルゴリズムを R で実装した。この際、2014年7月に参加した札幌シンポジウムの講師だった Hanspeter Herzel 博士からの助言が役に立った。局所的な二次関数のフィッティングで Peak Picking しろというもので、色々なツールをこねくり回していた自分にとって、このシンプルな指針は大いに役立った。

ピーク時刻の正確な推定が可能となり、リズム周期の不均一性や不安定性を定量的に明らかにできた。固有周期は細胞間で異なるが (SD = 1.11 時間)、1サイクルごとの変動 (SD = 2.45 時間) も大きかった。この周期の不安定性はマウス線維芽細胞にもみられる。また、全体としては脱同期しているが、0.5 mm 程度 (10~20 細胞) の距離では位相が有意に近いことも示せた。同期する機構があるのかどうか、煮えきらない結果となったが、シロイヌナズナの葉での先行研究とも一致する見解になる。植物ではそもそも細胞が個別に光応答して同調できるため、相互作用が重要でないとも思えた。そこで、明暗サイクルへの同期も観察した。細胞レベルで同期過程が観察できるのは SCN スライスの系に対するアドバンテージとも思えたが、各細胞が位相応答をしていく結果となり、細胞の独立性が強調されただけであった。観察自体は面白いのだが、記述的にならざるを得ないのが課題であった。

ここで、前述の札幌シンポジウムでの Herzel 博士との出会いがまたもや重要となった。講義では、エントレイン時の位相は、フリーラン周期 τ と外的周期 T の関係 (τ/T) に依存するという古典的な仕事が紹介された²。その時は、へえと思って流したが、翌年の1月末になって、個々の細胞時計が、明暗条件に対して独立に同期しているなら、ピーク時刻は個々の細胞

時計の周期のばらつきを反映するはずだと気づいた。そして、明暗サイクルへの同期過程を測定したデータにおいて、同一細胞でフリーラン周期とエントレイン時のピーク時刻が決定できることにも気づいた。実際に、明暗サイクル下でのピーク時刻を調べると、2時間程度のばらつきがみられた。さらに、フリーラン周期と弱い相関が見られた。一方で、ピーク時刻は外側ほどピークが遅くなる空間パターンを示すことも明らかとなった。位置との相関のほうが明瞭だったため、各細胞のピーク時刻は、たしかに周期の影響を受けるが、むしろ個体内の位置から大きな影響を受けることが示唆された。これにより、フリーラン条件で確認された細胞の独立性が、明暗サイクルでは個体内の位置によって補正を受けるという論文の骨子が完成した³。かつて粘菌の実習でときめいた「部分と全体」の問題に着地することができた。

このストーリーをひらめいた時は、なんとなく作成していたそれぞれの図が有機的に繋がり、新たな地平がひらけた。時間はかかったが、自分で思いつけたという自負が、その後の研究生活の大きな支えになっている。急かすわけでも放置するわけでもない絶妙な距離感で指導いただいた小山先生には、自分も指導する立場になった今、改めて感謝している。

博士論文は3章構成で、1,2章が1細胞リズムについて、3章がウキクサ類の種間・種内のリズム多様性解析であった。3章は偶然見つけた培地条件で小山研にあったウキクサ全てで生物発光リズムが明瞭に測定できたため、とりあえず色々な種で測定した結果をまとめたものである⁵。博士課程の仕事としては、ウキクサ類へのパーティクルボンバードメントにおいて、まばらな導入による1細胞リズム測定と、迅速な導入によるハイスループットな多様性解析の2つの利点を示したことも重要だと考えている(図2)。

関連して多様性に関する文献をサーチした際、日本産のアオウキクサにおいて光周性花成の限界日長

に緯度ラインがあるという報告を見つけた⁴。ここでひとつの仮説を思いついた。限界日長の多様性は、日長測定に関わる遺伝子が発現する位相の多様性と関連するはずなので、 τ 依存的な位相の変化、つまり、周期の多様性とリンクするのではないかと。そこで、博士課程の後半は学会や弾丸フェリーなどにより日本全国からアオウキクサの採集を進めた。ウキクサ類はクローン増殖をするため遺伝型を保持して野外系統が維持できる点でも、自然多様性の解析に優れている。アオウキクサの解析は博士論文には載せられなかったが、30分の違いに明瞭に応答して花をつける様に感動し、ライフワークにしたいと考えるようになった。

3. 近藤研にすべりこむ

1細胞リズムを論文としてまとめ上げるのに時間を要し、半年遅れの2015年9月に学位を取得した。学位取得後は小山先生に雇用していただけたが長居はできないとのことで、学振PDをアオウキクサのテーマで出した。しかしながら、予備データ不足と、気合が入りすぎた強調だらけの読みにくい申請書により不採択となった。またこの時は植物分子生理分野に出したが、後述する採択時には生態学分野だったので、分野の見極めも重要だったと思われる。

どうしたものかと思いつつ、東京で開催された時間生物学会の第22回年会に参加した。この時は、京都府立大の八木田先生に声をかけていただき、シンポジウムで1細胞リズムについて発表した。ポスター会場に行くと、近藤先生がポスターの前に立って説明をしていた。小山先生の元ボスであり、ウキクサの先駆者でもある近藤先生とは当然面識はあったが、しっかりと研究のお話を聞いたのはこのときが初めてだったかもしれない。高時間分解能でのATPase活性の測定結果を説明いただき、研究ステージの到達点に素直に驚いた。その場で議論をしている際に、来年の行き先が決まっていないと話すと、じゃあ来ますか、とお誘

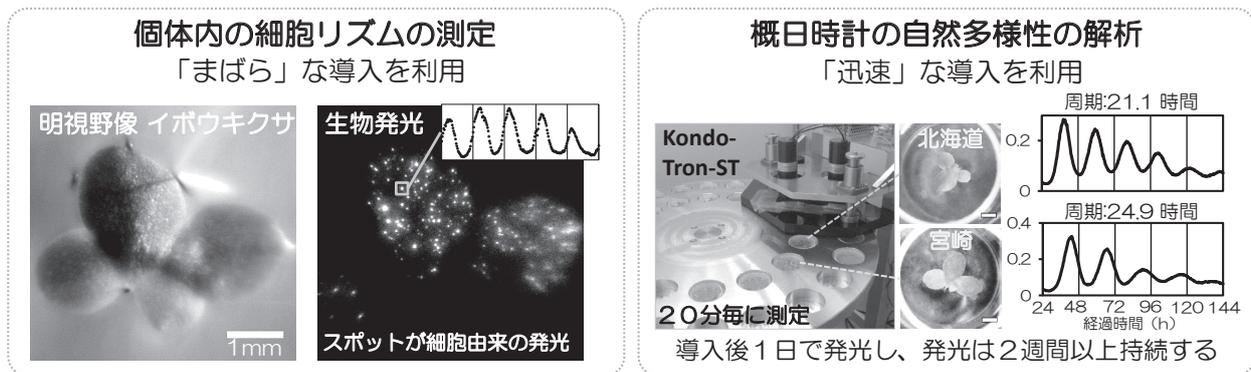


図2. パーティクルボンバードメントによる発光レポーター導入の2種類の利点

いただき、1回目の就活は終了した。

京都に戻って、いつものように鴨川沿いを自転車で走っていると、近藤先生から携帯電話に連絡があった。ベンチに腰掛けて話を聞くと、3月に高等研究院主催の国際ワークショップが2週間ほどあり、手伝ってほしいとのこと。そこで3月から名古屋大に研究員として異動した。そのワークショップでは、名古屋市立大の野村直樹先生と知り合いになり、時間概念についての共同研究を進めることもできた。関連して、郡司ペギオ幸夫先生主催の内部観測研究会にお邪魔したり、内部観測の提唱者である松野孝一郎先生とお会いできたりと、見識の広がる契機となった。

着任したのは特別推進研究の最終年度であったが、近藤先生は2回目の申請をされていた。しかしながら採択されず、任期が1年となった。その後研究室は縮小方向になったので、すべりこみで近藤研在籍者の資格を得たわけだ。着任後すぐにその旨を伝えられ、早々に2回目の就活となった。どうしたものかと思いつつ、3月後半に開催された植物生理学会に参加した。京都大学の生態学研究センターの工藤洋先生と立ち話をして、来年の行き先が決まっていないと話すと、じゃあ来ますか、とお誘いいただき、2回目の就活は終了した。京都大学理学の植物学教室と生態研の植物系は、合同で修士・博士論文の公聴会を行うので、工藤先生とは以前より議論させていただいていた。

近藤研では KaiC の *in vitro* リズムの解析を進めた。研究体制は完備されており、テクニシャンの方々に実験条件を伝えると、必要なタンパクはおろか、実験結果のエクセルファイルが返ってくる環境であった。とはいえ、オートサンプラーのセットや電気泳動などは自分でも行った。が、シアノや大腸菌に触れることなく1年を過ごした。この間に、近藤研にもデスクがあった北山陽子先生が急逝され、近藤先生も闘病生活に入るといった激動があったが、実験は継続し、いろいろなデータを出すことができた。これらのデータは出版前であり、紙面の都合もあるため詳細には触れない。

年会での奨励賞の受賞講演から、この論文を執筆する間に、惜しくも近藤先生が逝去された。現在、近藤研に蓄積されたデータをまとめて出版する準備に関わらせていただいている。重要な知見が豊富であり、近藤先生のビジョンも含めて世に出したい。

4. 生態学研究センターにて

工藤研には CREST 研究員として参加し、3年間お世話になった。工藤先生は野外環境でのトランスクリ

プトーム、エピゲノムの時系列データを取得しており、季節性、フェノロジーを中心に研究を展開されている。着任後に、すでに取得されていたアブラナ科多年草ハクサンハタザオの日周トランスクリプトームの再解析に取り掛かった。そのデータは春分、夏至、秋分、冬至に、48時間の2時間おきサンプリングしたものであった。議論中、工藤先生が残念そうに、「一番暑い8月と一番寒い2月のデータがないが惜しいなあ」とこちらを見つめてきた。とりあえず8月のデータを取りましょう、ということで、テントと寝袋を購入し、調査地に寝泊まりして2時間おきサンプリングをすることになった。これまでは自動化された測定器を利用していたので、時間生物学者らしいサンプリングは初めてだったが、特に苦もなくできた。それから、年に8回のサンプリングを3年間続け、24個のデータセットを得た。こちらの解析も現在進めている。

生態研には10近くの研究室があるが、学生やポスドクは部屋を共通で利用する。3階建ての建物が1つあるだけなので、食堂などなく、各階に設けられた炊事場を利用して食事をする。その結果、様々な研究者と交流できる。生態学に触れたことのない自分も受け入れていただき、門前の小僧として色々と学べた。

この間、アオウキクサの収集も続けた。系統ごとに限界日長を決めると、同一集団内にも大きな多様性があることがわかり、集団から複数系統を採取することにした。アオウキクサは小さいため大型のバット1つで200系統が維持できる。その一部を調べた結果、限界日長と周期に相関が見られた。想定通り、 τ 依存的な位相の変化が限界日長の多様化に関わるようだ。さらに花成ホルモン *FT* を同定し、その誘導時刻が限界日長と整合することも明らかとした。また、限界日長には緯度ラインが存在するが、35度帯には多様性があり、それはイネ品種によって異なる淡水時期に適応しているようであった。このような局所適応の解析についても、生態学的な知見が必要であり、生態研での3年間は有意義なものであった。

5. 鹿児島へ

ライフワークと定めたアオウキクサの限界日長適応の研究も準備が進んだため、学振 PD のテーマとして出すこととした。水田の湛水時期の重要性が示唆されたので、湛水時期が多様な地域のアオウキクサを調べたいと考えた。井関農機株式会社が公開している県ごと品種ごとに水田の湛水時期が分かる栽培暦一覧 (<https://www.iseki.co.jp/einou/soshoku01/>) をみると、鹿児島では早稲品種が3~7月、晩稲品種が6~

10月と大きく異なることがわかった。そこで鹿児島大学の芝山先生、神田先生に受け入れをお願いした。お二人はリモートセンシングや農業気象学が専門で、水田環境に詳しく、いろいろなことを教えていただいた。逆に、分子生物学とは縁遠く、トランスクリプトーム解析などは、遺伝子実験施設の設備を利用して進めた。一人で実験環境を立ち上げたことは貴重な経験となった。鹿児島の生活はコロナ禍とともにあり、他の研究者と交流できなかったのは残念であった。

鹿児島の水田に毎週通い、アオウキクサの開花率を調査したところ、早稲水田と晩稲水田で、予想外の違いが見られた。こちらも近日中に発表したいのでお待ちいただきたい。また、全国からアオウキクサを集め、35箇所500系統のコレクションとなった。

6. 再び名古屋へ

学振の3年間に終わりが見え始めた頃、名古屋大学の中道研の助教公募に応募し、採用いただいた。学生さんと協力して、ハクサンハタザオでみられた概日時計の低温での低振幅化について、シロイヌナズナを対象に解析を始めた。多くの植物で、冬季には、昼夜サイクルがあっても主要な時計遺伝子の転写リズムが高止まりする。この分子機構と適応的意義の両方を明らかにしたいと考えている。並行して、アオウキクサの限界日長適応についても解析を進めている。

このように、現在は、昼夜サイクルへ同期した状態における、概日時計の挙動の変化、とくに可塑性な振幅変化と、遺伝的な位相変化について、2つの植物を使い分け取り組んでいる(図3)。振幅や位相といった抽象的な概念を分子生物学と結びつけて研究することは、個々の遺伝子という部分が、いかに概日時計という全体を構成するかという、やはり「部分と全体」の問題になるかと思う。こうして研究履歴を振り返ると、部分の追求を主とする要素還元主義への反骨心が根底にある気もする。要素と全体をつなぐのは「同期」に他ならず、同期を前提とする時間生物学は可能性に満ちた学問だと感じる。本学会にはまだまだお世話になり、様々なことを学び、議論していきたい。

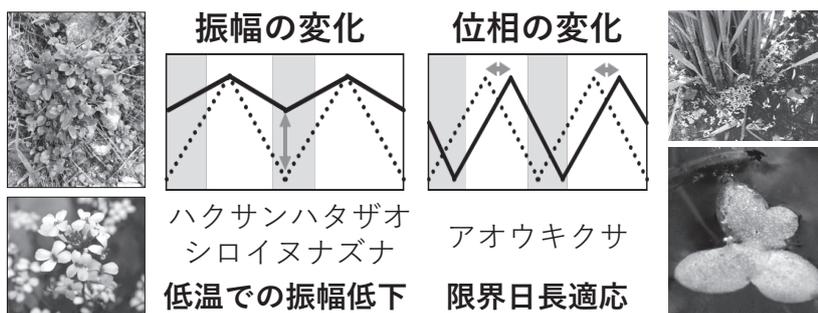


図3. 取り組んでいる2つのテーマ
振幅の変化は、可塑性な変化であり、低温での振幅低下について、ロゼットで越冬するアブラナ科草本で解析している。位相の変化は、遺伝的な変化であり、概日リズム周期の多様性と併せて、アオウキクサの限界日長適応を解析している。左にハクサンハタザオ、右にアオウキクサの写真を掲載した。

おわりに

とりとめなく書いてしまったが、本当に素晴らしい出会いに支えられて今日があること、そして非常に運が良かったことを再確認した。お気づきの方も多いかと思うが、出版できていない仕事如山積みである。奨励賞に恥じぬよう、しっかりと世に出していきたい。

参考文献

1. Miwa, K., Serikawa, M., Suzuki, S., Kondo, T. & Oyama, T. Conserved expression profiles of circadian clock-related genes in two *Lemna* species showing long-day and short-day photoperiodic flowering responses. *Plant Cell Physiol.* **47**, 601–612 (2006)
2. Aschoff, J. & Pohl, H. Phase relations between a circadian rhythm and its zeitgeber within the range of entrainment. *Naturwissenschaften* **65**, 80–84 (1978)
3. Muranaka, T. & Oyama, T. Heterogeneity of cellular circadian clocks in intact plants and its correction under light-dark cycles. *Sci. Adv.* **2**, e1600500 (2016)
4. Yukawa, I. & Takimoto, A. Flowering response of *Lemna paucicostata* in Japan. *Bot. Mag. Tokyo* **89**: 241–250 (1976)
5. Muranaka, T. Okada, M. Yomo, J. Kubota, S. Oyama, T. Characterisation of circadian rhythms of various duckweeds. *Plant Biol.* **17**, 66–74 (2015)
6. Nomura, N. Muranaka, T. Tomita, J. Matsuno, K. Time from semiosis: E-series time for living systems, *Biosemitotics*, **11**, 65–83 (2018)
7. Muranaka, T. Ito, S. Kudoh, H. Oyama, T. Circadian-period variation underlies the local adaptation of photoperiodism in the short-day plant *Lemna aequinoctialis*, *iScience* **25**, 104634 (2022)

予想外の結果に翻弄される

森岡 絵里[✉]

富山大学 学術研究部理学系

1. はじめに

この度は日本時間生物学会学術奨励賞を頂戴し、大変光栄に存じます。驚きと恐れ多い思いに震えております。就活もせず、大学を離れる機会を見送り続け、ただ流れに身を任せて漂って参りました。こんな私が今日まで研究を続け、このような賞まで受賞することができたのは、運とタイミングと多くの皆様の支えのおかげです。この場を借りて心より感謝申し上げます。

2. ハエ、大丈夫？

マウス視交叉上核 (SCN) の組織培養に Ca^{2+} 感受性蛍光タンパク質センサー (Yellow Cameleon 2.1 : YC2.1) 遺伝子を導入し、個々の SCN ニューロンに約 24 時間周期の細胞内 Ca^{2+} 濃度振動が存在することを報告し¹、第 1 回の日本時間生物学会学術奨励賞を受賞された池田真行先生が、2005 年に富山大学に着任された。当時、私は卒研配属先を考え始めた学部 3 年生で、どうせやるなら真面目に取り組む価値がある研究がしたいと思っていた。お前は一体何様なのか、なんとも生意気な学生である。生意気で無知な学生なりに真剣に考え、遺伝子がどのように本能行動を制御しているのかというような研究がしたいと漠然と考えていた。そこへシアノバクテリアからヒトに至るまでほぼすべての生物が有している「概日時計」という普遍的なシステムを研究している先生が目の前に現れたのである。かくして池田研究室 2 期生として卒研配属され、時間生物学に第一歩を踏み入れることとなった。当時、池田研究室では、ショウジョウバエの中枢時計ニューロンにも概日 Ca^{2+} 濃度リズムは存在するのか？という問いに答えるべく、マウスやラットに加えてショウジョウバエを実験材料として使い始めたところだった。配属前の池田先生との面談で、「ハエ、大丈夫？」と聞かれ、(そんなんやったことないから知らんがな) と思いながら、「まあ大丈夫だと思います」などと適当に返答し、ショウジョウバエを実

験材料として用いることになった。この時点では修士課程に進学することさえ考えておらず、まさかその後 15 年以上もショウジョウバエを用いて体内時計研究を続けることになろうとは夢にも思っていなかった。

3. やたらと光る末梢時計

「ショウジョウバエの脳を組織培養して中枢時計ニューロンの Ca^{2+} イメージングを行う」という目標はあったが、元々ショウジョウバエの研究室ではないわけで、当然ノウハウは全くなかった。手始めに、ショウジョウバエの脳を単離する練習として、解剖が簡単な幼虫の脳を取り出すことからスタートした。余談だが、ハエの幼虫 (要は蛆虫) を実体顕微鏡下で拡大して見ることになる私を心配した先輩に、ショウジョウバエの幼虫はクリスタルだから！ (綺麗だから大丈夫と言いたかったのだと思う) と言われた記憶がある。クリスタルかどうかはさておき、表皮が透明で内部が透けてトラキア (気管) が輝く様子は意外に綺麗なので、もし機会があったら是非見てほしい。ショウジョウバエの幼虫脳はボール状の 2 つ脳半球と食道下神経節からなる。脳には成虫原基などの組織がくっついており、最初は脳にダメージを与えずにこれらを除くのに苦労していた。あるとき、中枢時計ニューロン特異的に YC2.1 を発現させた系統 (*Pdf-GAL4/UAS-YC2.1*) から取り出した脳を蛍光実体顕微鏡で観察したところ、脳半球の間にやたらと強烈な蛍光を示す器官があることに気が付いた。*Pdf-GAL4* は中枢時計ニューロン特異的な発現ドライバーなので、そんなところは光らないはずだった。先輩からはドライバーの漏れだろうと言われたが、時計細胞・特異的な発現ドライバー *tim-GAL4* に変えても蛍光が観察される。気になってこの器官の正体を調べたところ、環状腺と呼ばれる内分泌複合体であることがわかった。さらに、環状腺を構成する前胸腺とアラタ体は時計遺伝子を発現する末梢時計であり²、前蛹の脳・環状腺複合体を培養して

✉ emorioka@sci.u-toyama.ac.jp

per-luc リズムを観察した論文³も見つかった。この論文に倣い、96穴プレートを用いて脳・環状腺複合体を培養してみたが、培養液中に浸けた組織は徐々に崩壊し蛍光も消失していく。到底中枢時計ニューロンの蛍光観察に結びつくとは思えなかった。池田先生は「僕はハエのことはよくわからないから松本顕先生（現・順天堂大学）に聞いて」と完全に放任主義であったが、「培養液に浸かった状態では酸欠で脳がもたないから、SCN 脳スライスと同じようにメンブレン上で培養してみたら」とアドバイスをくれた。これが上手くいき、カルチャーインサート上で培養することにより、1週間にわたり前胸腺と中枢時計ニューロンの *PER* タンパク質発現リズムを観察することができるようになった。今思えば、右も左もわからない学部生が1期上の先輩と2人で試行錯誤して自由に実験することが許されていたわけで、信じがたいほど贅沢な日々だった（今、学生にこんな自由に実験をさせることなど恐ろしくて絶対に許可できない）。

4. リバイズの洗礼

ショウジョウバエ脳の組織培養法の方向性は見えてきたものの、脳に数個しかない中枢時計ニューロンを長期にわたり観察するには、軸（焦点）が安定した培養条件を構築する必要がある。そこで、細胞数・サイズ共に大きい前胸腺細胞をターゲットに、組織培養の蛍光・発光イメージング法の改良に取り組むことにした。前胸腺は脱皮ホルモンの分泌を介して羽化リズムを調節する末梢時計とされていたが、中枢時計ニューロンからの神経支配を受けているとも考えられていた⁴。脳に連結した状態と切り離れた状態で環状腺を組織培養することで、末梢時計と中枢時計の関係性を明らかにすることができると考えたのである。メンブレン上での組織培養を始めてから、前胸腺細胞1つ1つを認識できる解像度で Ca^{2+} スパイクを検出できるようになるまで1年~1年半、*per-luc* リズムを検出できるようになるまでは1年半~2年もかかったが、興味深い結果が得られた。ショウジョウバエの末梢時計は、末梢細胞にも含まれるクリプトクロムを使って直接的に光を受容し、分子振動を調節するとされている⁵。しかし、前胸腺の *per* 発現リズムはそうではなく、脳からの光情報入力に依存して位相や振幅が調節されていたのである。この仕事は2010年末に *Nature Communications* 誌に投稿、バレンタインデーに膨大なレフェリーコメントが返ってきて（嬉しくない）、*PER* の二量体パートナーである *TIM* 発現リズムを解析することになったのだが、これが新たな厄

介を生んだ。*PER* とは異なり、*TIM* 発現リズムは脳がなくても光同調したのである。つまり、前胸腺細胞においては *period* と *timeless* という2つの時計遺伝子が異なる方法でリズム調節されていたのだ。条件によっては *per* と *TIM* のリズムが一致しないことを示したこの結果に対し、当然2度目のリバイズ要求が返ってくることとなった。とくに2度目の追加実験をしていた頃の私は「免染の鬼」と化していて、後になって隣席だった後輩から「あの頃は正直話しかけにくかった」と言われてしまった（申し訳ない）。池田先生をして「これまでで一番大変だった」と言わしめたリバイズを経て、論文は2012年6月に無事受理された⁶。レフェリー#5からは途中でコメントが返ってこなくなり、レフェリー#2からは最終的に「懐疑的といわざるを得ないことはあるが、時間が経てばわかるだろう（I guess time will say）」との捨て台詞を頂戴した。この経験のおかげで、後の論文のリバイズ要求を「あれに比べれば大したことない」という心持ちで受け取ることができている。



図1. 池田研ハロウィンパーティー（2010年10月撮影）
実験で忙しかったはずだがこんなこともしていた。典型的でつまらない仮装（魔法使い）をしているのが筆者。中央は変身した指導教員である。

5. 予想外の蛍光変化

リバイズに四苦八苦しながらも「ショウジョウバエの中枢時計ニューロンにも概日 Ca^{2+} 濃度リズムは存在するのか」という当初の問いを忘れたわけではない。前胸腺の実験と並行して、SCNと同様に蛍光 Ca^{2+} タンパク質センサーYC2.1を中枢時計ニューロン特異的に発現させたショウジョウバエの前蛹脳を組織培養し、中枢時計ニューロンの Ca^{2+} イメージングにチャレンジし始めた。そして博士課程1年時の2009年頃、YC2.1のF535/F480 nm レシオ値だけを見ると Ca^{2+} 濃度振動を思わせるデータがとれた。これで論文、博士号は安泰だなと思ったのもつかの間、このデータ、よく見ると明らかにおかしい。YCは、細胞内 Ca^{2+} 濃度変化に伴い480 nmと535 nmの2波長の蛍光輝度が逆向きに变化する FRET ベースの蛍光センサー

である。しかし、取得したデータを見ると、480 nm と 535 nm の蛍光輝度が見事なまでに平行に概日変動していたのである（図 2）。FRET が起きていないということは、Ca²⁺変化を検出していないということの意味する。当惑した私はこのデータを一旦見なかったことにした。しかし再び同様の平行な振動が観察されてしまう。1回だけなら無視できるが、再

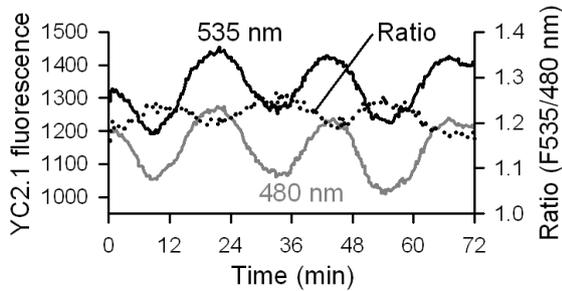


図 2. 480 nm と 535 nm の平行な概日変動

現性があるとなると原因を突き止めたほうがいい。池田先生に恐る恐る報告すると、「これはカルシウムではない何か、例えば pH の変化を検出しているのではないか」との suggestion を頂いた。一般的に GFP には酸感受性があり、YC もその例外ではない。YC2.1 は YC2.0 から pH 感受性を改良し、中性から弱アルカリの範囲では安定した Ca²⁺検出ができるが、それ以下の弱酸性レンジでは蛍光輝度が大きく減少する。事情のない話だが、当時の私にこの知識はなかった。実際にプロピオン酸をかけると YC2.1 の蛍光輝度が平行に減少することが観察され、ショウジョウバエの中枢時計ニューロンでは、Ca²⁺濃度ではなく H⁺濃度が酸性側に概日振動しているという可能性が高まった。そこで、金沢大学医学部の東田陽博先生にご協力いただき、4 ヶ月ほど東田研に通って蛍光 H⁺タンパク質センサー deGFP4⁸ を発現するトランスジェニックバエを作出した。現在ではトランスジェニックバエ作製業者が一般化しているので、自分でマイクロインジェクションをしてハエを作ることはなかなかない。便利な世の中になったものだが、経験する機会が失われているのは残念でもある。作出したハエを用いて H⁺イメージングを行ったところ、ショウジョウバエの中枢時計ニューロンに概日 H⁺濃度リズムが存在することが確かめられた。この結果は、後に海外のグループにより報告されたハエの時計ニューロンにおける概日 Ca²⁺リズムの存在⁹ を積極的に否定するものではない。しかしながら、近年論文で頻繁に見かける GCaMP ファミリーを含め、GFP ベースの蛍光タンパク質センサーのほとんどが酸感受性を持つことには留意すべきである。蛍光タンパク質センサーを使

っている実験者の多くは、私と同様に GFP の酸感受性を意識せずに使っているのではないかと思う。とくに、簡便であるがゆえに広く用いられる 1 波長測定用の蛍光センサーの輝度変化の解釈については細心の注意を払うことを強くおすすめする。なお、SCN ニューロンでは YC2.1 の F535/F480 nm レシオ値に明瞭な概日リズムが観察されるし、deGFP4 の振動も見られないため、ショウジョウバエのように H⁺が振動しているということはないようである。

6. ミトコンドリア LETM1

この細胞内 H⁺リズム形成に関与する因子とはなにか。FLYBASE のキーワード検索で引っかかってきた H⁺輸送に関与する 4 候補遺伝子の RNAi 系統をストックセンターから取り寄せ、行動リズムを指標に超小規模スクリーニングを行ったところ、ミトコンドリア陽イオントランスポーター LETM1 をノックダウンするとフリーラン周期が延長した。さらに細胞内 H⁺リズムも抑制され、PER/TIM 発現リズムも変調した。これがミトコンドリアに着目して狙って当たったのであれば格好が付くのだが、残念ながら全くの偶然の発見であった。さて、ここまでの結果だけではハエの中枢時計に見られる奇妙なリズムの発見で終わってしまう。今後この結果をどうまとめるべきか、そして自分の進路はどうするのか（博士号取得が半年遅れたため学振の海外特別研究員に応募できなかったし）と悩んでいたが、運よく内藤記念科学振興財団の海外研究留学助成に採択された。とりあえず先々のことは置いておき、UCI の Todd C. Holmes 博士の研究室に 1 年間留学してショウジョウバエ中枢時計ニューロンの whole-cell パッチクランプ解析手技を習得した。有難いことに電気生理装置一式をほぼ自由に使用してもらい、pH と中枢時計ニューロンの自発的発火頻度の連関を解析した。アーバインではなんと 1 度も傘の出番はなく（ポストドクの Keri によると特に雨が少ない年であったとのこと）、折り畳み傘を年中持ち歩く富山での生活からすると、あの 1 年は夢か幻だったのではないかという気さえしている。

LETM1 は真核生物で高度に保存されているミトコンドリア内膜タンパク質で、ショウジョウバエや酵母では K⁺/H⁺ exchanger¹⁰、哺乳類では Ca²⁺/H⁺ exchanger¹¹ として働くことが報告されている。そこで SCN の細胞内 Ca²⁺濃度リズムに視点を戻し、LETM1 が SCN ニューロンでも Ca²⁺リズムや分子振動を調節するかを調べることにした。池田研究室の学生たちの努力により、*Letm1* ノックダウンがラット SCN ニ

ニューロンの概日 Ca^{2+} 濃度リズムと *Bmal1-luc* リズムを減衰させること、これに対し末梢モデル細胞株の *Bmal1-luc* リズムには影響しないことなどが明らかとなり、研究は大きく進んだ。こうしてミトコンドリア陽イオントランスポーターLETM1が、ショウジョウバエのペースメーカーニューロンでは概日 H^+ リズムの、哺乳類のペースメーカーニューロンでは概日 Ca^{2+} リズムの形成に関与し、さらに時計遺伝子の分子振動にも影響を与えることを明らかにすることができた。予想外の異常なスペクトル変化に端を発し、ほぼ13年という長い年月をかけたこの研究は、2022年5月に受理された¹²。ミトコンドリアという難しいところに帰結してしまったというのが正直な感想であるが、生物種を超えて時計機能におけるミトコンドリアの重要性を示すことができたことと自負している。

7. おわりに

振り返ると、予想外に得られた結果に翻弄されてばかりで、これを書いている現在も、これまた偶然に観察された *Letm1* ノックダウン系統の温度補償異常を追いかけしています。もう少し緻密な仮説や計画を立てるということを感じたいものですが、予想外の結果に真摯に向き合うことも大切なのではないかと考えています(そうでないとこれまでの私を否定することになる気がする)。今後も粘り強く研究を続け、学会員であり続けることができればと思っています。卒研時代からお世話になり続けている池田先生、今考えると赤面もののハエについての基本的な質問にも快く答えてくださった松本先生、留学を受け入れてくれた Toddをはじめ、これまで研究を支えてくださった全ての皆様に、この場を借りて心より感謝申し上げます。今後とも何卒よろしくお願い申し上げます。お金のことは心配するな！と博士課程進学への後押しをしてくれた父母、お前就活してないってどういうことだよ？と心配してくれた兄にも感謝しています。

最後に、第31回日本時間生物学会学術大会は、2024年11月16-17日に富山国際会議場にて開催されます。美味しい地酒やお寿司が待っているかも！？ぜひ奮ってご参加いただけると幸いです。

参考文献

1. Ikeda, M. *et al.* Circadian dynamics of cytosolic and nuclear Ca^{2+} in single suprachiasmatic nucleus neurons. *Neuron* **38**, 253-263 (2003).
2. Liu, X., Lorenz, L., Yu, Q., Hall, J.C., & Rosbash, M. Spatial and temporal expression

of the period gene in *Drosophila melanogaster*. *Genes & Dev.* **2**, 228-238 (1988).

3. Emery, I.F., Noveral, J.M., Jamison, C.F., & Siwicki, K.K. Rhythms of *Drosophila period* gene expression in culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 4092-4096 (1997).
4. Myers, E.M., Yu, J., & Sehgal, A. Circadian control of eclosion: interaction between a central and peripheral clock in *Drosophila melanogaster*. *Curr. Biol.* **13**, 526-533 (2003).
5. Ivanchenko, M., Stanewsky, R., & Giebultowicz, J.M. Circadian photoreception in *Drosophila*: functions of cryptochrome in peripheral and central clocks. *J. Biol. Rhythms* **16**, 205-215 (2001).
6. Morioka, E., Matsumoto, A., & Ikeda, M. Neuronal influence on peripheral circadian oscillators in pupal *Drosophila* prothoracic glands. *Nat. Commun.* **3**, 909 (2012).
7. Miyawaki, A., Griesbeck, O., Heim, R., & Tsien, R.Y. Dynamic and quantitative Ca^{2+} measurements using improved cameleons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 2135-2140 (1999).
8. Hanson, G.T. *et al.* Green fluorescent protein variants as ratiometric dual emission pH sensors. 1. Structural characterization and preliminary application. *Biochemistry* **41**, 15477-88 (2002).
9. Liang, X., Holy, T.E., & Taghert, P.H. Synchronous *Drosophila* circadian pacemakers display nonsynchronous Ca^{2+} rhythms in vivo. *Science* **351**, 976-981 (2016).
10. McQuibban, A.G. *et al.* A *Drosophila* mutant of LETM1, a candidate gene for seizures in Wolf-Hirschhorn syndrome. *Hum. Mol. Genet.* **19**, 987-1000 (2010).
11. Jiang, D. *et al.* Letm1, the mitochondrial $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ antiporter, is essential for normal glucose metabolism and alters brain function in Wolf-Hirschhorn syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **110**, E2249-E2254 (2013).
12. Morioka, E. *et al.* Mitochondrial LETM1 drives ionic and molecular clock rhythms in circadian pacemaker neurons. *Cell Rep.* **39**, 110787 (2022).

概日時計によるアレルギー疾患治療を目指して

中村 勇規

山梨大学大学院 総合研究部医学域 免疫学講座

1. はじめに

この度は、第20回日本時間生物学会学術奨励賞を受賞できたこと、大変光栄に思っております。これまでにこの奨励賞を受賞した先生方は時間生物学を牽引する方々であり、私とその先生方と名前を連ねることができたことを心から榮譽あることだと感じています。私の研究内容が臨床・社会部門であるか否かについて議論してくださった審査に関わった多くの先生方に心から感謝いたします。また同時に、概日時計とアレルギー疾患研究に携わる機会を与えてくださった中尾篤人教授、柴田重信教授に深謝いたします。加えて、一緒に研究を行ってきた山梨大学免疫学講座の皆様、共同研究者の皆様にも感謝いたします。

本稿は、先日横浜で行わせていただきました受賞公演の内容に加え、奨励賞受賞までの約10年の研究生生活について書かせていただきました。文中の稚拙な表現や文章をご容赦していただけると幸いです。

2. アレルギー研究との出会い

2007年、学士研究で知ることになった『免疫学』を深く学びたいと思い、現在まで所属する山梨大学免疫学講座の戸を叩きました。修士入学試験の一つである面接の場ではじめて中尾教授にお会いした時の感想は「若っ！」の一言につきます。Tシャツ、デニムパンツにNew balanceのスニーカーといったほぼ大学生の風貌に、それまでに知っていた厳格な雰囲気や纏う教授らとは異なる『ワクワク感』を抱いたことを今でも鮮明に覚えています。

入学後、修士号取得までの約2年でJACI(当時Impact factor 8点くらい)にタバコ煙が気道上皮からTSLP産生を誘導し、喘息発症の一因となることをマウスモデルで証明した論文¹を発表させていただきました。その間、実験に没頭するあまり当時の彼女に愛想を尽かされた末フラれ、悲しんでいるところに中尾先生から笑いながらMr. childrenの『旅立ちの

歌』のCD、当時一緒に研究をしていた整形外科の先生に「小さい男だな」という一言を贈られ、立ち直つてさらに研究に没頭し過労で病院送り(隣が病院で助かりました)、これらの経験(誰も知らないことが実験をすればするほど、明らかになる感覚が本当に楽しくて仕方なかったこと)が現在の私を形取っていると感じています。

修士号取得後、民間企業に就職したのですが、大学で研究がしたいなと思っていたときに中尾先生から「ポストが空くけどどう？」とご連絡をいただきました。即答で「お願いします。」と返答し、2010年4月から山梨大学大学院総合研究部医学域免疫学講座助教の職に就くことになりました。お世話になっていた会社の社則として、一般的だとは思いますが辞意を伝えるのは1ヶ月前となっていたこともあり、新規立ち上げ事業の実験を一人で任されていた私が辞めると伝えた時の上司や先輩方の表情を思い出すと申し訳ない気持ちでいっぱいになります。

3. 概日時計研究との出会い

助教に就任した当時、早稲田大学(柴田研)との共同研究が開始され約1年が過ぎたところでした。ここで概日時計とマスト細胞の研究に出会いました。花粉症などのマスト細胞とIgEからなるI型アレルギーの症状が夜間から朝にかけて増悪することが古くから知られていたのですが、なぜ定期的にこの時間で増悪するのかについての詳細なメカニズムは不明でした。

Period2変異型マウス(*mPer2^{m/m}*)を柴田先生から譲っていただき、受動型皮膚アナフィラキシー(Passive Cutaneous Anaphylaxis; PCA)反応を用いて実験を開始しました。この実験は、抗原特異的IgEを皮内に投与し、24時間後、抗原とエバンスブルー混合液を静注することで抗原特異的IgE依存的にマ

✉ ynakamura@yamanashi.ac.jp

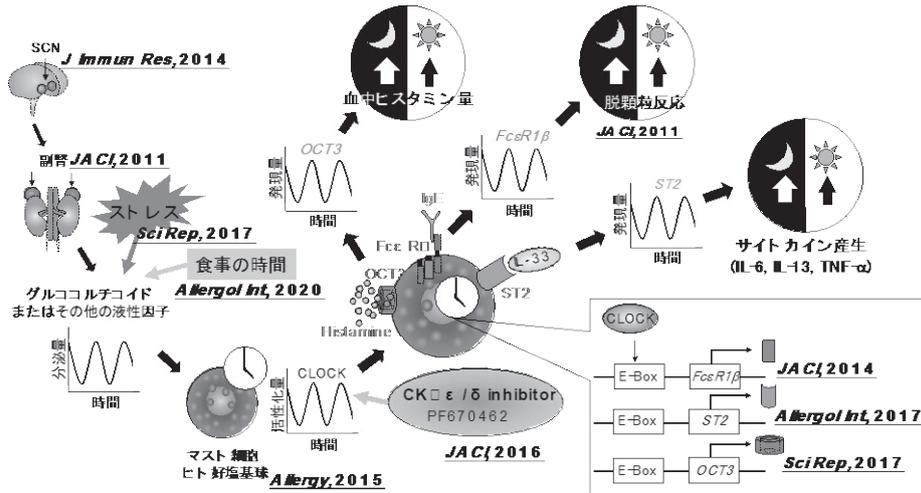


図1. 概日時計に制御されるマスト細胞の機能
マウスマスト細胞では時計遺伝子の概日リズム性発現していることが確認されており、IgE受容体 FcεRI、IL-33 受容体 ST2、定常状態でヒスタミン放出に関与する OCT3 がその制御下にある。また、ヒト末梢血好塩基球も時計遺伝子の時計遺伝子の概日リズム性発現していることが確認できており、花粉症患者における花粉に対する反応は日内変動を示す。

マスト細胞の脱顆粒を誘導します。その後、顆粒に含まれるヒスタミンなどによって血管内皮細胞が強く刺激され、血管拡張や血管内皮細胞同士の間隙が広がり血管透過性亢進を引き起こします。この結果、抗原特異的 IgE を投与した範囲のみでエバンスブルーが血管から漏出し、マスト細胞の脱顆粒の強弱によって染色される範囲や濃淡が検出できます。

この実験を6時間毎に行い、野生型マウスでは休眠期で強く、覚醒期で弱い(花粉症患者と同様の周期性)という日内変動を示すことが確認できました。一方、*mPer2^{m/m}* マウスでこの日内変動が消失することを明らかにしました²。野生型マウスにおける PCA 反応の結果が、美しく明快な周期性を示し、時計遺伝子変異によって全く示さなくなることに驚きました。最初は「うそでしょ?」と全く信じられずに、繰り返し3回ほど同じ実験を行ったのですが、毎回同じ結果を得ることができたため、「アレルギー反応は概日時計によって制御されている!」と実感でき、夜中に喜んでいたことを思い出します。

前述しましたが、楽しくなってしまった私は、朝から晩まで実験を行ってしまうのです、本能のままに。助教就任前に結婚していたのですが、新婚なのに帰ってこないと妻が頻繁にぼやいていたことを思い出します。妻は同業者ではないのですが、研究活動について理解を示してくれたことに感謝しています。

4. 概日時計とマスト細胞研究

その後も、アレルギー(主にマスト細胞)における概日時計の役割について精力的に研究に励みました。概日時計研究をしている研究者あるあるだと思いますが、研究に励めば励むほど、自分の概日時計が悲鳴をあげていることに気づき、食事の時間が乱れ、睡眠

障害に陥っていることに気づかず、そのアウトプットとして体重が増加、免疫機能の低下による恒常的な体調不良に至り、ラボメンバーと妻に迷惑をかけてしまいました。その協力のおかげで、2010年から2023年までの期間で、共筆・筆頭・責任著者としてアレルギー・免疫と概日時計に関する論文を15報発表させていただきました。

大半の研究は、野生型マウスと時計遺伝子変異・トランスジェニック(*mPer2^{m/m}*、*Clock^{Δ19/Δ19}*、*Per2^{Luc}*)マウスを用いてマスト細胞をターゲットした研究でした(図1)²⁻¹⁰。上述した *mPer2^{m/m}* マウスを用いた研究では、I型アレルギー反応が時計遺伝子によって制御されているという現象を報告したものに過ぎず、マスト細胞の概日時計が何をどのように制御して IgE 依存的な反応(脱顆粒反応)を制御しているのかという詳細なメカニズムは不明のままでした。

そこで、野生型と時計遺伝子変異型マウス骨髄細胞由来培養マスト細胞(Bone marrow-derived culture mast cells; BMMCs)やマスト細胞欠損マウス(Kit^{W/W^v})を用いて詳細な検討を行い、マスト細胞の概日時計は、副腎由来内分泌因子(コルチコステロンなど)によって同調し、IgE受容体 FcεRI の概日リズム性発現を制御して I 型アレルギー反応の概日リズム性症状発現が引き起こされていることを見出しました³。これはマスト細胞の概日時計をなんらかの方法で制御することができれば、アレルギー反応をコントロールできる可能性を示唆するものでした。その後、マスト細胞の概日時計を薬剤によって制御することができれば、IgE受容体の発現をコントロールでき、I型アレルギー反応を抑制できるのではと考えました。

様々な標的分子の候補が挙げられましたが、PER2タンパク質を分解へ導くことが明らかとなっていた

Casein kinase 1 δ/ϵ (CK1 δ/ϵ)を標的としました。すでにPER2を増加させることが知られていたCK1 δ/ϵ 阻害剤とヒト好塩基球とマウスを用いて実験を行い、処理することでマスト細胞内のPER2増加が観察でき、その間IgE受容体の発現量が低下し、脱顆粒反応も低下していることを見出しました。これは、薬剤によってマスト細胞の概日時計を制御(PER2増加)することで、I型アレルギー反応を抑制できる可能性を示した成果でした⁴。

花粉症などの症状を抑制する薬剤として、現在主流の抗ヒスタミン剤は、ヒスタミン受容体に作用して、マスト細胞が脱顆粒した後に放出されるヒスタミンの作用をブロックします。これに対し、マスト細胞の概日時計を制御して脱顆粒自体を抑制する試みは、「これまでにない全く新しい治療法になる可能性がある!」とラボミーティングで盛り上がったことを思い出します。

4. Galli Labへの留学

前述したCK1 δ/ϵ 阻害剤を使用した論文がアクセプトされた2016年は、石坂公成先生がIgE抗体を発見して50周年の年でした。この年の日本アレルギー学会学術大会では記念シンポジウムが開催され、免疫学の教科書で見たことがある石坂公成先生を直に拝見できたことに感動したことを思い出します。

さらに、このシンポジウムでは、世界で著名なアレルギー研究を行う先生方の講演も行われました。その中に、マスト細胞研究者では知らない人はいないと言われる、Stanford大学のStephen J. Galli先生の講演も含まれていました。Galli先生は、「マスト細胞はへび毒を分解する”Good side”な役割を持つ細胞である」とScience誌に報告したことをはじめ、マスト細胞に関する論文・総説をNature誌、Science誌、さらにはNew England J.に発表し続けている著名な先生です。

当時、学会参加の少し前から中尾先生に留学に行きたいと相談していました。そのくだり、中尾先生が「Galliのとこ行ってきなよ。スタンフォード大学に留学ってかっこいいじゃん」と仰られ、冗談かと思っていたのですが、アポなしでシンポジウム開始前に私を連れてGalli先生にご挨拶に行きました。ガチガチに緊張したのを思い出します。なんとかGalli先生の研究室に行きたいと名刺を渡しながら伝えることができ、メールや電話でのやり取りを経て、その1年半後にGalli Labに行くことになりました。

やり取りを続けるうちに、Galli先生がマスト細胞

の概日時計に興味を持っていることが分かりました。都合よく、私も留学中はマスト細胞の”Good side”と概日時計の研究を行いたいと考えていたこともあり、研究テーマはすぐに決まりました。しかし、実験はプレゼンと研究計画書を作成して、Galli先生を納得させない限りはできないと言われ、大急ぎで準備をしたのですが、約1ヶ月間は実験はできませんでした。

Galli先生に概日時計とは何か、マスト細胞(免疫反応)に概日時計があるといいのか悪いのかなどの根本的なことを説明することに苦労しました。概日時計が生理現象をコントロールして健康を維持しているイメージは簡単に理解してくれたのですが、外敵から体を守るための免疫反応がある一定の時間にだけ強くなるのは非合理的だと仰っていました。特に、アレルギー反応に至っては、概日リズムが存在するから早朝に喘息発作が起こる、夜間のかゆみによって睡眠が障害されるので、無いほうがいいともおっしゃっていました。この謎については完全な結論は出ていませんが、マスト細胞とIgEの本来の役割は寄生中感染防御にあることが知られています。ギョウ虫は夜間に肛門に卵を産みつける周期を持っており、夜間にマスト細胞が活発になることでそれを抑制できます。そう考えると合理的であると考えられます。しかし、近代化が進むにつれて、寄生虫感染はほぼ撲滅され、その機能は無害である自己タンパクや花粉などに対象を変えて、結果的に自分の体を傷害する難治の病気として迷惑がられています。

例えば花粉症では、花粉に接する機会が増える日中は仕事や学業の効率を下げるくしゃみや鼻水に関連するマスト細胞とIgEの反応は抑制されていることが望ましいと考えられます。一方、ギョウ虫感染が今でも起こると仮定した場合、腸管におけるこの反応は夜間に強くなるのが望ましいです。それゆえに、マスト細胞の機能は体全身で一つの病態と考えるよりも、それぞれ組織で分けて考えてみるとその機能に概日リズムが存在することの意味が見つけられるとGalli先生に伝え、研究の意義について納得を得ることができました。

研究計画については助成金申請や科研費申請等を多数こなしてきた経験があったので大丈夫だと思っていました。しかし、研究遂行に必要な費用や完遂までのタイムスケジュールなどを詳細に決めることを要求されまったく大丈夫ではありませんでした。さまざまな人がいると思うのですが、海外研究者についての理解が全く違っていただけ(大雑把に研究やっていると)思っていました。本当にごめんなさい。)に気づく

とともに、自分の“どんぶり勘定”的な研究計画を反省しました。

留学に行くと約2年後、新型コロナウイルス感染症パンデミックでStanford大学が立ち入り禁止になると聞き、実験ができないのであればと思い帰国しました。論文発表までに至らず帰国となり、中尾先生とGalli先生に本当に申し訳なかったと思います。しかし、「そんなもんだよ」と言ってくれた中尾先生と帰国後に続きができるように試薬やマウスを提供してくださったGalli先生に心から感謝しています。

5. おわりに

ヒトにおけるマスト細胞は主に体表と外界のインターフェイスに約1兆個存在すると目されている自然免疫細胞です。その機能は多岐に渡り、花粉症などのI型アレルギー疾患やリウマチなどの自己免疫疾患、細菌・ウイルス・寄生虫感染症、がん、精神疾患、妊娠・出産などにも関与すると言われていています¹¹。多くの論文でシングルセル解析を当たり前のように目にするようになり、マスト細胞においても組織ごとの多様性が明らかになりつつあります¹²。

今後もマスト細胞の概日時計研究を行っていきたいと思っています。上述したように、マスト細胞はヘテロな集団であることがほぼ確定的です。現在の免疫学の教科書では大きく分けて2つのサブセットとして紹介されています。今後は顆粒成分や表面タンパク、局在などに基づいた多様性を持った細胞であると説明されることが予想できます。この多様性の一つに“概日時計”が組み込まれることを望み、精進していきたいと思っています。また、マスト細胞と概日時計の研究成果が、今後の時間生物学発展の一助となれることを願っております。

研究者を目指した時から、この賞をいただくまでに多くの人に助けられて、迷惑をかけてきたと思います。最後にもう一度、これまでの研究に協力してくださったすべての皆様に感謝申し上げます。本当にありがとうございました。

参考文献

1. Nakamura, Y. et al. Cigarette smoke extract induces thymic stromal lymphopoietin expression, leading to TH2-type immune responses and airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, **127**, 1038-1045 (2008)

2. Nakamura, Y. et al. Circadian clock gene *Period2* regulates a time-of-day-dependent variation in cutaneous anaphylactic reaction. *J Allergy Clin Immunol* **127**(4), 1038-1045 (2011)
3. Nakamura, Y. et al. Circadian regulation of allergic reaction by the mast cell clock in mice. *J Allergy Clin Immunol* **133**(2), 568-575.e12 (2014)
4. Nakamura, Y. et al. Disruption of the Suprachiasmatic Nucleus Blunts A Time of Day-Dependent Variation in Systemic Anaphylactic Reaction in Mice. *Journal of Immunology Research*, vol.2014, Article ID474217 (2014)
5. Ando, N. et al. Allergen-specific basophil reactivity exhibits daily variations in seasonal allergic rhinitis. *Allergy*, **70**(3), 319-322 (2015)
6. Nakamura, Y. et al. Inhibition of IgE-mediated allergic reaction by pharmacologically targeting the circadian clock. *J Allergy Clin Immunol*, **137**(4), 1226-1235 (2016)
7. Nakamura, Y. et al. Regulation of plasma histamine levels by the mast cell clock and its modulation by stress. *Scientific Reports*, **7**, Article number:39934 (2017)
8. Kawauchi, T. et al. Clock-dependent temporal regulation of IL-33/ST2-mediated mast cell response. *Allergology International*, **66**(3), 472-478 (2017)
9. Nakamura, Y. et al. Time-restricted feeding in rest phase alters IgE/mast cell-mediated allergic reaction in mice. *Allergology International*, **69**(2), 296-299 (2020)
10. Nakao, A., Nakamura, Y. et al. Time will tell about mast cells: Circadian control of mast cell activation. *Allergology International*, **71**(4), 425-431 (2022)
11. Dudeck, A. et al. Mast cells as protectors of health. *J Allergy Clin Immunol*, **144**(4S), S4-S18 (2019)
12. Tuber, M. et al. Landscape of mast cell populations across organs in mice and humans. *J Exp Med*. **220** (10), e20230570 (2023)

海老原史樹文先生に聞く

海老原 史樹文¹

1: 名古屋大学名誉教授

聞き手: 吉川 朋子², 池上 啓介³

司会: 飯郷 雅之^{4,5}; 記録: 齋藤 祐希⁵

2: 富山大学 国際機構 交流部門、3:九州大学大学院 農学研究院
4: 宇都宮大学 農学部、5: 宇都宮大学大学院 地域創成科学研究科

日本時間生物学会の事務局長、学術大会長等を歴任された海老原史樹文先生をお迎えして、第2回時間生物学メモリアルインタビューを行いました。本企画は学会誌のインタビューシリーズの第二弾となるものです（2024年1月13日 Zoomにてオンラインインタビュー実施）。

飯郷: この企画は、先達にいろいろ話を伺って後輩のために役に立てようという企画です。最初に海老原先生がどのようなことを考えて、卒業論文、修士論文、博士論文に取り組みだしたかを伺いたいと思います。私の記憶が確かであれば、海老原先生は学生時代にマウスの行動の系統差を調べられていたと思います。ポストドク時代には三菱化成生命科学研究所で川村浩先生のところでブンチョウの視交叉上核除去実験をされ、その後、Menaker ラボに留学されて、マウスのメラトニン合成のミュータントを見つけられて、帰国された後は名古屋大学で教鞭をとられておられました。1990年代になると、アメリカの研究者たちは National Science Foundation (NSF) からかなり高額な研究費をもらっていて、NSF との共同研究などの企画ということで、1992年に三菱化成生命科学研究所でシンポジウム「NSF/TOKYO Symposium on Biological Timing」を、1997年にサンフランシスコで「Japan/US Conference on Molecular Chronobiology」を開催するなど国際的な流れもありました。こういったときの動きをぜひ後進に伝えていただければと考えています。続いて、研究人生の中で転機になったと思う出来事、研究対象である松果体のメラトニン、あるいはマウスだったり鳥だったり、さらには定年前に精力的に研究されていたCSマウスを対象とした精神疾患研究だったり、ざっくばらんにお話しただけだと思っております。もう研究をすばっ

と止められたという話を伺ったのですが、最後に、学問全体や時間生物学会を客観的に見ることができるお立場になってから何か見えてきたこと、後進に伝えたいことなどをお話しただけだと思っております。**海老原:** わかりました。まず最初に、話の内容を分かっていたかのために、少しだけ私の経歴をお話しさせて下さい。私は、名古屋大学農学部に入學し、大学院に進学、満了後、三菱化成生命科学研究所でポストドクを経て、名古屋大学農学部の教員に採用されました。この間、米国オレゴン大学、NIH、ドイツマックスプランク研究所で研究を続け、名古屋大学を退職後、関西学院大学理工学部に移り 68歳で退職しました。**飯郷:** それでは最初に、海老原先生の初期の研究、例えばマウス等のお話をさせていただけたらと思います。**海老原:** 私は昭和44年(1969年)に名古屋大学に入學しました。大学紛争真っ盛りのもので東京大学の入學試験がなかった年です。そんな時代でしたので、入學しても、校舎が封鎖されて建物内に入れない状態が続き夏休みぐらいまでずっと何もせずに終わってしまいました。勉強するような雰囲気も全然なかったですね。そんな感じで、学生生活を送ってきて、いざ4年生になると、いよいよどこかの研究室を選ばないといけないということになって、いろいろな研究室を回るわけです。私は、心理学や行動学に興味がありましたので、それに関連した研究ができる場所はないか、いろいろな教員に話を聞きました。研究室は6つほど

ありましたが、「育種学研究室」でお話を伺った時に、「あっ、これだ」と思いました。日本の実験動物学のパイオニアで、近交系マウスを日本で最初に作り、糖尿病マウスなどの病態モデル動物の作出に大きく貢献された近藤恭司先生が主宰する研究室です。近藤先生は、これからは「行動」や「心理」が大事だという話をしきりにされました。おそらく、精神疾患のモデル動物の必要性を考えられていたのではないかと思います。ちょうどその時、名大文学部の動物心理学の辻敬一郎先生が近藤先生のところへマウスを使って実験をしたいということで相談に来られていました。ちょうど良いタイミングだということで、紹介していただき、辻先生の研究室にも出入りさせていただくことになりました。それが行動や心理の実験を始めた経緯です。研究を始めるにあたって、まずは、マウスの回転輪活動に関することをやってみましょうという話になりました。しかし、当時の日本では概日リズムの研究者はほとんどいなくて、回転輪といっても見本になるものはなく、自分で手作りするしかありませんでした。缶詰の缶や塩ビ管など、手近にある色々な素材を使って大きさや取り付け位置などを検討しながら標準的な回転輪装置を作りました。近藤先生が作った近交系マウスの系統はたくさんありましたので、片っ端から活動リズムを調べました。すると、1系統だけ他の系統と異なるリズムを示すマウスが出てきました。昼間と夜間で二つ山がある二峰性のパターンを示すマウスで、それがその後の研究対象になった「CSマウス」です。

吉川：CSマウスについて、海老原先生はその時代からずっとやっていたのですね。私はそのことについて、全く存じ上げませんでした。

海老原：おかしなネズミだなと思いながらね。当時はそれ以上解析する技術もありませんでしたので、おかしなネズミで終わっていました。それをずっと温めていて、だいぶ年月が経ってからようやく遺伝解析ができるようになって、遺伝子も突き止められるようになりました。学位を取ってからは、三菱化成生命科学研究所の川村浩先生のところへ2年間お世話になりました。ラットで視交叉上核を破壊するとリズムが消えるという実験結果が報告されて、それが「時計」じゃないかっていう話があった頃です。

飯郷：Zuckerの実験ですね。

海老原：そうです。Stephan Zucker、Robert Mooreが論文を出しましたよね。川村先生の研究室でも、脳の活動を見るために長期間脳波を記録して、視交叉上核破壊により睡眠覚醒リズムが消失することを井深

先生が報告しています。一方、鳥類ではMenakerが松果体を除去するとリズムが消えることを示し、松果体が時計だということを主張していた時代です。

飯郷：鳥のhouse sparrow実験のお話ですね。

海老原：川村先生は鳥にも視交叉上核があるからその役割を知りたいということで、私を雇ってくれました。鳥の研究をしていた訳ではありませんが、名古屋大学の農学部は鳥の研究で定評があったために採用していただいたものと思います。ブンチョウを使って止まり木行動のリズムを測定し、視交叉上核破壊によってリズムが消失することを発表し、その後は名古屋大学に戻って助手になりました。研究者としての駆け出しの頃です。

飯郷：CSマウスは、既にそのときから二峰性ネズミで変な行動パターンを示すことがわかっていたのですね。名前がCSとついているのは何か意味はあるのでしょうか。

海老原：詳しいことはわからないので正確には言えませんが、CSのCとSは毛色の遺伝子座名が由来のようです。C遺伝子座は有色かアルビノ、S遺伝子座は斑点の有無を決める遺伝子で、これらの遺伝子座がいずれも劣性ホモ型になるマウスとして育成されたためにCSと名付けられたと聞いたことがあります。

池上：アルファベット順に順番にやっていた順番が偶然CSだったということですか。

海老原：CSマウスは、「ある特定の毛色遺伝子座を持つマウスを作出する」というテーマで学生実習を行った時に使用したマウスが元になっているという話を聞いています。ずいぶん古い話で農学部の第1回入学者の学生実習で、今から70年以上前の話です。

飯郷：ありがとうございます。学生実験から先生の研究に繋がっているというのは偶然ですね。

海老原：農学部では生物を育てることが基本で、特に育種の研究は、ずっと長い間種を絶やすことなく育てて行く必要があり、その時点では役に立たなくても、後々役に立つ場合があるわけですね。

飯郷：教訓として、覚えておきたいことのひとつですね。

海老原：鳥の概日リズム研究を始めたのは、川村先生のところでお世話になってからですが、それ以前に、Menakerが出した「Biochronometry」というタイトルの本を読んだことがあります。松果体を除去するとリズムが消えること、目を除去してもちゃんと明暗サイクルに同調できることなど、すごくきれいなデータだと感心したことを覚えています。皆さんもご存知ですよね。

一同：はい。

海老原：しかも脳の中にリズムの同調を司っている光受容体があり、例えばスズメの羽毛を引き抜いて光が中に入りやすくなり、頭蓋骨の表面に墨汁を塗って光が入るのを防いだら同調が外れるとかね。そういう実験は聞いたことはありますよね。

吉川：もちろん聞いたことがあります。

海老原：行動リズムの同調に関与する脳内光受容器と光周性反応に関与する脳内光受容器が違うというデータもあって、非常に綺麗な論文だなあと思いながら、鳥の研究をやるのだったら **Menaker** のところだなと思っていたのです。その後、たまたま留学する機会が与えられ、早速 **Menaker** のところに手紙を出したところ受け入れてもらえることになりました。

吉川：海老原先生の時代では、アメリカに限らず、留学に行くとう研究者は多分 **population** としてはまだまだ少なかった時代代と思うのですが、そこで思い切って行かれたっていう感じなのですか。

海老原：元々行きたいなと思っていましたので、希望を持って行きました。今の人があまり外国へ行きたいって思わないのですかね。

吉川：そんな感じですね。

海老原：私達の若い頃は海外に行くのは当然という風潮でしたね。昔の大学は講座に教授1人、助教授1人、助手2人という体制だったでしょ。今では教授1人、准教授1人、助教1人にも満たないぐらいでしょう。当時は助手が2人いたから、1人はある意味自由にできるという雰囲気だったんですね。だから私はアメリカと、もう1回ドイツにも留学しています。

吉川：私は今50代ですが、当時を振り返ると私達の世代は結構多くの方が海外に行きました。しかし、今は海外に行く割合は減ってきています。この現状を鑑みて、海老原先生から若い人に向けて是非とも海外へ行った方が良いというメッセージはございますか。

海老原：おそらく研究については、様々な情報ツールがありますので得るところが昔に比べると少ないかなと思いますが、それよりもやっぱり人との繋がりを作るいい機会だと思いますね。Zoomを使って会話することもできますが、直接会って話をするのは全然違いますね。いわゆる五感でわかるようなところがあると思います。だから、やっぱり外国へ行って刺激を受けてくると世界が広がりますね。吉川さんは海外に行かれているからわかるでしょ。

吉川：はい。わかります。2023年のお正月明けに、**Menaker** のメモリアルシンポジウムを **Virginia** でやりました。そのとき、本当に古い方から、もう **Texas**

の時代から、**Virginia** の時代までいろいろな人が集まって、同門でシンポジウムをやり、昔話をしたりしました。人の繋がりを感じられて、本当に楽しかったです。現地2泊3日の弾丸ツアーだったんですけど、みんなと会って話をしてみても、「その場にいる」ということの大切さっていうのを改めて感じましたね。

海老原：やっぱり研究は、第一に楽しくないといけないよね。楽しくなかったら、研究をやめてもいいんじゃないかって思うぐらい。義務的にやってたってしょうがないなっていう気もするんですね。そういう意味では、**Menaker** は楽しく研究をやっているでしょ。そういうところも勉強になりましたね。実際に会って振る舞いを見ていると、研究者としてどうあるべきか教えられることは多かったですね。

吉川：**Menaker** のラボにいる時、昔話的なことをいろいろ話してくれたのですが、その中で海老原先生のお話が時々出てきて、楽しく聞かせていただきました。

海老原：家族で行っていたからね。楽しい思いはさせてもらいましたね。

吉川：腕時計が何かを **RI** で汚染してしまったっていう。

海老原：日本では、アイソトープ使うとき結構厳しいですよ。だけど外国では平気で実験室で使っているんですね。**HPLC** で分析するときに、通常の実験室に、アイソトープの廃液が置いてあってそれを間違えて **HPLC** に流してしまったことがあるのです。トリチウムだったので大したことはないと思いますが、日本でそんなことやったら大変なことですよ。

吉川：何か他に、留学中で印象に残っているエピソードとかありますか。

海老原：エピソードっていうか、研究の面はもちろんそうですが、**Menaker** の学生に接する姿勢がすごく勉強になりましたね。吉川さんはよく知っていると思いますが、**Menaker** はすごく親しみやすく、あまり強制しないですね。上から押さえつけて研究やれとかいう感じじゃなくて、積極的にいろんなことを自分から自主的に出させるような雰囲気を作っていく人ですよ。ああいう姿勢が非常に勉強になりましたね。ずいぶんたくさんの方が育てているでしょう。その人が成果を出すとともに、次の世代に伝えていけるような形で研究者を育てるとい姿勢が新鮮でものすごくためになりましたね。特に大学の教員になりたてでしたから、すごく勉強になったんですね。こういう形で学生指導に当たりたいという気持ちを持てたのは確かですね。私はドイツの **Gwinner** のところにも留学しましたが、彼も研究を楽しむ研究者でしたね。

Menaker には Schally さんという大学事務の要職に付いていた奥さんがいて、男性、女性に関係なく料理も掃除も洗濯もお互いにやるという、当時の日本より男女平等に関して先進的な考え方を持っていましたね。そういう姿勢っていうのも非常に勉強になりました。

吉川：それは海老原家にも取り入れられているんですか？

海老原：自分ではそう思っているけれども、うちの奥さんがどう思ってるかしらね。僕は週に何回かちゃんと料理を作ってますよ。

吉川：そうなんですね。

池上：単身で関西学院大学に赴任されたときも、ご自分で身の回りのことをされていたのでしょうか。

海老原：そうですね。4年間、開学にいましたけど、マンションで1人住まいでしたので、全部自分で掃除、洗濯、料理を作ったりしていました。それが名古屋に帰ってきてからも続いています。単身赴任がなかったら多分あまり自分で色々やってないかもしれません。

吉川：留学時代に作った人脈というのは、その後のNSF等の関係にも繋がっている感じでしょうか。

海老原：もちろんそうですね。Menaker は教育的な配慮から、いろんな所を訪問することを推奨したんです。例えば、アメリカに到着した2週間後に、「ボストンで全米神経科学会があるので参加したらどうか」と言われて行ってきました。そうしたら、ものすごく大きな会場で、リズムの発表も日本とは比べようがないぐらい多くて、日米の差を実感して帰ってきました。また、メイン州にあるマウス研究のメッカとして有名な Jackson Lab にも、Menaker の知り合いを訪ねて見学に行ったこともあります。なかでも有益だったのは、Pittendrigh の誕生日のシンポジウムに参加した経験です。全米から多くのリズム研究者が集まり、数日間泊まり込みで議論し、ずいぶんいろんな人と知り合いになることができました。こうした経験が日米のシンポジウムを開催する上でずいぶんとためになっていると感じています。ところで、日米のシンポジウムって今も続いているのですか。

吉川：もう今はやってないですね。

海老原：日米の共同研究が始まったのは、Gene Block が代表で申請して、NSF から「National Science Foundation Center for Biological Timing」設立のための予算が下りたことが切っ掛けです。NSF のセンターができて、Gene Block が日本側に一緒にやりましょうと申し入れを行なったのです。当時は、三菱化

成生命科学研究所の井上先生が日本側の代表として対応したと思います。最初はとにかく一緒に集まってシンポジウムでもやりましょうという話になって、第1回シンポジウムを三菱化成生命科学研究所で開きました。その後、これを引き継ぐ形で科研費の国際学術研究を申請し、それが連続で3回採択されました。第1回は本間先生、第2回は私、第3回は近藤先生がそれぞれ代表を務め、8年間程(1993年~2001年)続いたと思います。こういう国際共同研究は今はないかもしれませんが、日本の若い人たちがアメリカの人たちと知り合いになったり、アメリカへ留学する機会を得られたりとか、いろんな面ですごく貢献したんじゃないかと思っています。

吉川：多分、私がまさしくそういう世代、つまり、大学生か大学院生の頃ちょうど定期的にシンポジウムがあった時代ですね。流れで留学してっていう、おそらく一番恩恵にあずかっていた世代だったのかなと思います。

飯郷：第1回の三菱化成でやったときに、井上先生と海老原先生と田畑先生と一緒に、僕もちょうどそのとき、マリアンナ医科大学で助手になって2年目だったのですが、そのときに発表する機会を頂き、錚々たるメンバーとお話をする機会をいただきました。Gene Block も Mike Menaker も、それから Michael Young もいましたし、Fred Turek もいました。僕は井上さんに頼まれて、Turek と Young を町田から成田空港まで送って行ってくれてと言われて、結局、日暮里の駅から京成に乗り換える所まで一緒に行って、「あとは大丈夫だから、ここまでで良いよ。」って言われて、そこで見送ったっていうことがありました。

海老原：飯郷さんもそのシンポジウムに出ているんですね。

飯郷：1回目に喋らせていただきました。多分、その時の夜に海老原先生のところの学生の吉村くんという、今は大先生になられましたけれど、4年生の彼と足立くんがいて。

海老原：彼らもその頃から、リズムの世界に入ってきたと思います。

飯郷：彼らがちょうど4年生だったんです。それが三菱の最初の回で、やはりあれはエポックメイキングな会だったと僕は個人的には思っております。

海老原：確かにそうですね。NSF が採択されて日本に働きかけをして、日本の時間生物学の質も量もぐっと伸びたという感じがするね。

吉川：そこからずっと、時計遺伝子の話にワーッと繋がっていくっていう時代でもありましたからね。

海老原：そうですね。私が代表を務めたのは、採択されてから数年経った後で、サンフランシスコと鈴鹿でシンポジウムを開いたと思います。

飯郷：僕はサンフランシスコにも鈴鹿にも行って、サンフランシスコは多分行っただけで喋ってないんですけど、鈴鹿サーキットホテルでやったときは喋らせていただきました。

吉川：鈴鹿は私も行きました。

海老原：吉川さんはサンフランシスコには行きませんでしたか。

吉川：私は行ってないです

飯郷：深田先生のところの高中陽子さんとか、あとは吉村さんがいて、あと誰が行ったかな。そのようなメンバーたちと向こうで遊んでいた記憶があります。

海老原：本間先生が最初の代表として国際学術研究に採択され、日本側研究者が NSF Center for Biological Timing の本拠地であるバージニア大学を訪れてクローズのミーティングをやった覚えがあります。米国でのミーティングとしては最初だと思います。

飯郷：鈴鹿でやったときは、Carl Johnson、バージニアの Richard Day、それから Carla Green も来ていましたね。誰が来ていたのか、一緒にカラオケに行ったので覚えてるんです。

吉川：日本にいながらにして錚々たる人たちがやってきてくれるっていう、あんまり大きな会ではなかったから、いろんな人とお話することもできたので本当にすごく良い機会であったと思います。

海老原：確かに良い機会でしたね。

飯郷：勿論、Gene Block もいらして、彼の奥さんも来られていて。そのときかな、深田先生のラボで Gene がセミナーをやったような気がします。それは別の会かもしれないのですけれども。

海老原：日本を訪れた研究者の方々には、色々なところでセミナーや講演をお願いできるので、シンポジウムだけでなくそれを中心に様々な波及効果がありますね。それが非常によかったと思います。

飯郷：サンフランシスコでやったときは、ちょうど程さんたちが Nature に *Per1* の論文書いたときで、会場に Jeff Hall がいて、程さんが「この論文をレビューした人がこの会場のなかにいると思うんだけど」と言って、笑いを取ってたのを覚えています。

海老原：そうですね。ノーベル賞の取ったメンバーが全員来てたって感じでしたね。

飯郷：どこかの会には必ずあの3人の誰かがいるみたいな感じで。

海老原：この後、ハワイで日米セミナーがありました。

Gene Block、近藤先生、岡村先生がオーガナイザーになっていました。あの頃は、よく日本とアメリカで交流してたんですよ。そういう国際交流というのが結局お互いの国の研究発展につながると思いますね。その点では、今年で40周年となる札幌シンポジウムは素晴らしいと思います。本間研一・さと先生の貢献は非常に高く評価されるべきだと思います。

飯郷：今でも、現役バリバリで活動してくださっています。

海老原：ええ。

吉川：本間先生たちは衰えることを知らずにすごいなあと思いますね。

海老原：確かにそうですね。

吉川：時間生物学会から離れてみて初めて何か気づいたこと、学会員に伝えておきたいことはありますか。

海老原：いろいろありますが、ドイツの Gwinner 教授のところに留学して思った事があります。Gwinner 教授は亡くなられてしまいましたが、長年鳥のサーカディアンリズムだけではなく概年リズムや鳥の渡りの研究もされていました。

池上：やっていましたね。

海老原：池上さんもよく分かっていると思いますけど、概年リズム研究は1年で1サイクルしか記録できないので非常に時間や労力のかかる仕事ですよ。その点では、最近研究領域を概年リズムにまで広げた吉村さんはすごく頑張っていると思います。Gwinner 教授は動物行動学を確立して1972年にノーベル生理学賞を受賞した Lorenz の学生だったんですよ。

飯郷：Lorenz のお弟子さんなんですか。

海老原：Gwinner 教授はその後アンデックスの研究所に移り、アショフの率いる生物リズム研究グループに入りました。そこは Lorenz の流れを汲んで動物の行動を研究するところでしたので、概年リズムのように何年間も一定の環境で動物を観察、飼育できる施設やそのためのスタッフを整えることができたのです。息の長い研究にはこうした条件を整えることが必要だと思いますね。Gwinner 教授はフィールドで鳥の調査研究も行っていました。それに関連して今思うのは、我々が研究してきた概日リズムは、ほとんどが実験室で得られた結果で、そこで得られた結果が全てではないと思うのです。自然界にはもっといろんなリズムや現象があるはずで、そういうものを対象にしないと自然界の本当の姿はわからないんじゃないかなと思います。昔からよく使われている近交系マウスも、ある一定の集団から系統育成されたものがほとんど

で、野生マウス集団にはもっと多様な遺伝子変異が内在し、それがより複雑な現象をもたらしていると思います。近交系マウスのほとんどがメラトニン欠損遺伝子を持ち、野生マウスにはその変異がないというのもその例だと思います。私達もフィールドへ行って野生マウスを捕まえてきてリズムを測定しましたが、近交系マウスとは全然違うパターンを示す個体がたくさん出てきます。今でいう時計遺伝子が関連しているかどうかは分かりませんが、時計遺伝子とは違う遺伝子によってリズムが消えてしまうこともあると考えています。そういう意味では、実験室で得られた結果が全てだと判断しない方がいいと思います。リズム同調に関する機構についても、パラメトリックやノンパラメトリック同調機構では説明が難しい同調の仕方をするマウスも自然界にいるんですね。リスの類だだと思いますが、ノンパラメトリックで位相がぐっと変わる時間帯に、1回も光を浴びなくても、ちゃんと24時間に同調できる動物がいるわけです。そうすると、我々が実験室で見ている現象が、本当に自然界で正しいのかと言うところが気にはなりますね。今の大学では早くデータを出さないといけないという現状があるから、やむを得ないところもあると思いますが、本当は結果がすぐに出なくても息の長い研究ができる研究体制が日本でも整えたらいいんじゃないかなという気がします。

吉川:なるほど。設備を整えるっていうハードルもあるし、そのデータの出ってくるスピードっていう。

海老原:本当はそうあるべきですね、でもそれによって、今まで我々が得ていた知識もちょっと変えないといけない場合も出てくるんじゃないかなと思います。

飯郷:ドイツの環境っていうのは、長い目で予算がついていて、設備もあって、職員もいてっていうことですか。

海老原:詳しいことはよくわかりませんが、外から見ていると、日本では当時は誰も挑戦しなかったこともドイツでは取り組む人もいたんだな思いました。概年リズムのように10年かかって1報書けるかどうかわからない研究を、日本では誰もテーマにしないですよ。

飯郷:そうですね。三菱化学の近藤宣昭先生でしたっけ。

海老原:そうですね、あの研究は長い時間がかかっていましたが、「Cell」に論文が出ましたね。

飯郷:Hibernation protein、シマリスでの研究ですね。あとは、沼田先生がヒメマルカツオブシムシで。げっ歯類に比べると昆虫であれば、インキュベーターで何

とかなるので。天災がなければできると思うのですが、哺乳類であのスケールの実験は難しいなあと思っと思っています。

海老原:時間生物の研究対象として、概年リズムの他にも月周リズム、潮汐リズムなどいろいろあるでしょ。なかなかやりにくいところがあると思いますが、本当はそういう分野にもう少し注目が集まればと思います。私が所属していた農学部では、いろんな動物を研究対象にしますので、生物リズムをみる視点が医学部や他の学部の人たちとちょっと違うんじゃないかなと思うことがあります。

池上:私も農学部と医学部に両方いましたけど、どちらも視点が違うし、目標も違うんですね。医学部は常にヒトなどの病気を扱っているけど、農学部はやっぱり生き物が好きな人が多いし、そういう人たちが農学部集まりますよね。

海老原:そういう点で視点が違うけれども、やっぱり生物の姿を正確に捉えようと思えば、自然界をもっと広く見渡すことが必要だと思います。

吉川:そうですね。みんながみんなできることではないと思いますけれど、やっぱりそういう仕事をする人がもっと正当に評価されて予算がついていくような形になっていけばいいのかなというふうに思います。

海老原:現在の大学がどのような状況かあんまり知りませんが、やっぱり大学も雑務や研究費獲得等で忙しく、長期的な展望に立った研究はできないんですかね。

池上:教員は雑務が多いですね。

海老原:ただ、研究は、本来興味があることを突き詰めていくということだと思いますので、それを忘れないようにして興味のあるテーマに打ち込んで行けばいいかなという気はしますね。

吉川:確かに、なかなか好きじゃないと徹夜実験とかできませんからね。

海老原:そうですね。

飯郷:時計遺伝子が発表されてから、どちらかというところ、時間生物学が細胞生物学の領域になりがちだと思うのですが、その点に関して海老原先生はどのように捉えられていらっしゃるのでしょうか。

海老原:リズムの発現機構を理解する上で一つの生物種に絞って徹底的に研究することは大切なことだと思いますが、時間生物学はそれが全てではないので、多様な研究が必要だと思います。

飯郷:もう少し「行動」の方まで俯瞰できる視点を持っている研究者が増えるといいなって僕は常々思っています。

海老原:そうですね。細胞生物学や分子生物学でメカ

リズムを解明していく方向と同時に、その仕組みによって本当に行動が制御されているかを突き詰める研究も必要だと思います。実際に、転写翻訳のフィードバックモデルで全ての現象を説明することはできないのではないですか？温度補償性とか24時間がどのように作られるかについてもね。

飯郷：まだまだではないでしょうか。

池上：近藤先生が道半ばでしたけども、ATPaseの活性が普通のATPase活性に比べて非常に低いっていうことは、何か時計の特殊性を証明しつつある段階で止まっちゃっている。

海老原：近藤先生から聞いた話ですが、Rosbashと喋ったときに、「ひょっとして、お前の方が正しいかも」と言っていたと聞いたことがあります。まだ本当のところは分かりませんが、いろんなところにリズムを作る仕組みがあるということなのかもしれませんね。一つだけじゃなくて。

池上：そうですね。

飯郷：僕が研究を始めたのって、1980年代後半だったのですけれども、その頃ってまだ例えばシアノバクテリアに時計があるっていうのは、多分誰も信じてないような状況でした。近藤先生たちがトランスジェニックのルシフェラーゼのラインで綺麗なデータを出してようやく信じてもらえるようになった時代になり、その後、遺伝子がいろいろわかってくると、おそらく脊椎動物とショウジョウバエは同じオリジンを持っていて、それに対して、例えば *Frq*、*WC1*、*WC2* のアカパンカビはまた違う系統で、植物とシアノバクテリアおそらく同じ系統なのかなっていう見方で僕は見ているのですけど、そうすると、多発テロじゃないのですけどいろんな場所で独立して、体内時計を身につけて、使っているメカニズムも違うけれど、分子メカニズムにはある程度共通項があるかもしれないし、ないかもしれない。本当にこれこそが「共通のメカニズム」なんていうのは言えないことがあってもおかしくないのではないかとずっと思っています。

海老原：いろんなところに24時間を発振するというのは共通しているけど、必ずしも共通の仕組みがあるわけではないということですね。

池上：収斂進化的に。

海老原：そういう感じなんじゃないかなという気がしていますね。昔は「特殊なリズムを出すのだから同じ仕組みに決まっているだろう」というふうに考えられていた時もあったと思いますが、もっといろんな仕組みがあって、結果的に表現型として同じようなものが出ているというのが最近の考え方だと思いますが、ど

うですかね？そうすると、今のフィードバックループも **one of them** っていうことかもしれませんね。そうすると、これからやるべきことは多いですね。

池上：まだまだありますね。

飯郷：フィードバックループのこと考えても、ただ遺伝子レベルでのフィードバックループ、例えば *Per* 遺伝子や *Cry* 遺伝子のループ以外にも多重ループになっていますし、そこから外に出ていったメラトニンが視交叉上核に戻ってきて時計をリセットしたりと、安定化させる機構はたくさん備えていますよね。

海老原：いろんなところにループがあって、それが組み合わさって結果的に安定したリズムができると考えるのが良いかもしれませんね。あと大切なことは、時間生物学の知見を実社会に生かすことですね。以前に比べるとずいぶん広まってきたとは思いますが、これからはますます大切になってくるでしょうね。

飯郷：僕が何年か前に時間生物学の巻頭言に書いたんですけども、NSFのプロジェクトでシフトワーカーとかタイムスケジュールの作り方に活かせるっていうのが多分あって、お金がついたんじゃないかと僕は勝手に想像していますが、なかなかそういう流れになってない気がします。あれからも30年近くも経ってるんですが。

海老原：働き方改革が今話題になっていますが、時間生物学の知見を取り入れた働き方改革が必要ですね。

飯郷：どうなんですかね。「体内時計に優しい社会を作ろう」みたいな流れはまだない気がしています。

海老原：しかし最近ではずいぶんと体内時計に関連する話題が取り上げられるようになりましたね。例えば、柳沢先生の睡眠の話はよくメディアが取り上げていますね。睡眠に関連してメラトニンも話題になりますね。私が名古屋大学で第2回の時間生物学会(1995年)を開いたときのシンポジウムが「メラトニン」でしたが、あの当時はメラトニンと言う用語ほどのメディアでも見かけなかったですね。しかし、今ではメラトニンというと多くの人が知っていますね。

吉川：はい。一般社会に浸透した言葉になりつつありますね。

海老原：睡眠を測定するウォッチが普及するなど、リズムをベースにした考え方がだいぶ浸透してきていますね。

飯郷：リズムだったり睡眠だったりっていうのは最近では結構簡単に測れるようになってきていますね。自分でスマホを持っていれば自分が何時から何時まで何歩歩いたなど記録できますので、そういった意味ではモニタリングは簡単にできている気がしますね。

海老原：確かにそうですね。

池上：今、スマートウォッチでもね、血圧とか心拍数とかが測れますから。体内時計を測れる時代ですよ。

吉川：得られたデータをうまく実装で生かして健康的な生活に直結できるころまでは、まだまだちょっと距離があるのかもしれないですね。

飯郷：キーワードは「社会実装」ですかね。

海老原：基礎研究があつての話ですが、その成果を社会に役立てることが大切ですね。柴田先生が取り組んでいる時間栄養学とか、スポーツ科学への応用などのように、色々な分野で時間生物学の知見が生かされることを期待したいですね。

飯郷：吉川さんと池上くんから最後に何かどうしても聞いておきたいことはありますか。

池上：先生に聞いておきたかったことは、リズムに拘らずに、研究当初から「行動」に携わらなかったらどんな研究したかったかとかってありますか。先生は、たしか後半はちょっと心理学系をしていましたけれども。

海老原：「こういうことをやりたい！」ということとはなかなか難しいですね。卒業論文のテーマを決める段階でも、大雑把に「心理」とか「行動」とかいうものに漠然と興味を持っていただけですからね。ある意味では行き当たりばったりみたいなのところがありましたからね。ただ言えるのは、興味があり面白いと思うことをやろうとする気持ちが大切だと思います。

池上：先生は、リズムの楽しさって何だと思えますか。

海老原：リズムの研究に限らず、未知の課題に答えを出すことは研究者としては楽しいことですよ。私の場合は、自分が面白いと思うことをやってこれたと思います。大学院の時に網膜の視細胞層の退化をもたらす *rd* 遺伝子を持つ C3H マウスを使って実験をしたことがあります。「視細胞が欠損しているマウスが明暗サイクルに同調するだろうか？」と疑問に思い、あれこれ自分で勝手に計画して実験してみました。そうすると、目が見えなくてもちゃんと明暗には同調できることが分かりました。その後、神経節細胞に存在するメラノプシンが関与していることが米国のグループにより明らかにされましたが、このテーマを取り上げたこと自体は間違っていないと思います。ただ、もっと深く追求していれば、もう少し色々な結果が出せたのではと残念に思うところはあります。池上くんも学生さんを指導する立場だから、それなりに感じることもあると思いますが。

池上：僕も研究が楽しくて仕方がなかった人間なのですが、今は楽しくないと思っているような学生が多い

ですよ。そういう学生らにはちょっと困惑していますけれど。

海老原：私が指導していた学生さんに対して「あれやれ！これやれ！」ってあまり言わないようにしたつもりですが、もしかしたら言っていたかも知れないね。

池上：役立てます。でも、なかなか言われないと何もできない人っていうのいますよね。自由にさせておいて伸びるタイプの人は、それはそれで素晴らしいのですが。

海老原：大学の研究室は、研究が好きな人だけ来て好きでない人は来なくても良いという所ではないので、その人がどういうものを求めているのか、研究者になりたいのか、あるいはちょっとだけ研究室にいて、将来社会に出て活躍したいのかなど、教員側で配慮しないといけないとは思いますが。

飯郷：ありがとうございます。吉川さん、編集委員長として最後に何かありませんか。

吉川：編集委員長としてですか。海老原先生も編集委員長をされていた時期がありますよね。そのとき何かご苦労みたいなのってございましたか。

海老原：特別苦労はありませんでしたが、岡山大学の中島先生から編集長を引き継ぎ、その後、査読論文が載せられるように規定を改訂しました。井深先生に論文を投稿できるようにしてくれて言われたためです。ほとんど投稿はないでしょう？

飯郷：オリジナルペーパーの投稿はないですね。

海老原：ないけれども、学会誌として論文は誰でも勝手に出せるものじゃなくて、ちゃんと査読していますよと示すことは必要ですね。

吉川：そこをやっていたのですね。それは本当に大きな功績です。ありがとうございます。

海老原：功績かどうか知りませんが、その必要性があったために規定を作っただけの話ですけどね。

吉川：いやいや、やっぱり事を一段難しくしているわけで、そこを立ち上げるっていうところはなかなかパワーが必要なところをやっていたの今初めて知りました。

海老原：編集者としての苦労というか面倒なことは、記事を集めることですね。締め切りを決めても、私もその口ですが、大体遅れますからね。そういういろいろな面倒はありますが、一番は何でも楽しくやるのが良いですね。学会活動も研究も義務的にやるんじゃなく楽しくやりたいですね。私もある程度楽しくやってきましたつもりですが、定年に近づくにつれて、人生、研究だけが全てではないと思うようになって、もう一切ぱっと捨てて新しいことやろうと思いましたが、今は、

名古屋市の高年大学に通い、野菜や花の育て方を教えてもらっています。知らないことを知れて結構楽しいですね。

飯郷：海老原先生は、畜産学科ご出身ですよ。例えば、農学科とか周りの同級生で、植物を育てていたりとか、そういう同級生が沢山周りにいらっしやっただんじじゃないかなという気がします、そういう方たちとの交流は、当時はあまりなかったのでしょうか。

海老原：当時は同じ学科の人たちとの付き合いが多くて植物関係の人たちとのつながりはあまりありませんでした。昔の名大の同じ研究室の人達とたまにあっています、その場で「同窓会をしましょう」という話になって、いろんな人に連絡を取りあっているところです。そうすると、もう何十年も連絡がなかった人からメールが来たりするんですが、その内容が、「自分も植物育てている」とか、「農業をやっています」とか、私を含めて、農学部出身の人ってそういうことに惹かれるのだなと思っています。

飯郷：やっぱり生き物が好きなんですよ。

海老原：私も思い起こしてみれば、小さいときから人間よりも生き物の方が好きで、そこが農学部に入り研究を始めた原点かなと思ったりします。山へ行ったりとか、「自然に親しむ」ことが、何となく肌に合うような気がするんです。

飯郷：子ども時代のお話をお聞きしたいのですが、僕の記憶が確かであれば、先生のお名前の「史樹文」が仏教っぽいお名前なので、ご出身がお寺だったんじゃないかって噂を聞いたことがあるのですが。

海老原：親父は、お寺の次男坊でしたが、仏教とは関係ない仕事をしていましたので、名前とは関係がないと思います。「史樹文」は「海老原」という字画に合う名前としてその道の専門家に付けてもらったと聞きました。

飯郷：先生の子どもの頃は、お経がすぐ隣にあるという感じでしょうか。

海老原：いやいや、そんなことはないですよ。うちの親父さんは寺の出身とはいえ、坊主になるのは嫌だからと言って、寺を出て行っちゃった人だから。私の小さい頃は家の周りにはまだ自然が残っていましたので、虫取りなどはしましたね。私はあまり目立なくて、結構おとなしくて人よりも自然が好きというようなタイプでしたから。周りから「こんなやつおったの？」っていう感じで見られていたのじゃないかなあ。

飯郷：気がついたら大学に入って、体内時計の研究をされたという感じですね。

海老原：そうですね。「これをやりたい！」っていうように、初めから目標があって進めるタイプじゃないから、流れにまかせてフラフラとやっていたら体内時計の研究をやっていたという感じなんです。私は最初から明確な方向性を持ってこういう事やりたいっていうように生きては来ませんでしたけど、結局は、人との出会いによって研究者として生きることができましたね。最初に近藤恭司先生と心理の辻敬一郎先生にお会いしたこと、川村浩先生のところに行ってリズムの研究への方向づけをしてもらったこと。**Menaker**や**Gwinner**のところに行って、最新のリズム研究の成果が学べたことなど、「人との繋がり」っていうのが研究を進めていく上で大事だなと強く思います。おそらくそういう人との巡り合わせがなければ、あまり研究を進めてこられなかったと思いますね。まあ大して成果を上げたわけではないですけどもね。

飯郷：いや、進んでないなんてことはないと思います。

海老原：実際、飯郷さん、吉川さん、池上くんにしても、ずいぶん頑張って研究をやっていますね。

飯郷：先達の仕事があるから我々も仕事ができるのであって、何も無いところに新しいものは積みません。

海老原：そのように言ってもらえるのはありがたいけれども、我々は大学人、研究者であると同時に教育者であるから、大事なことは後進に引き継ぐことであると思うんですね。そういう点では**Menaker**のところへ行って多くを学びましたね。

吉川：研究者としてという部分の教えも確かにそうなんですけれども、自分より下の者をどう導くかっていうところも含めて、**Menaker**に教えてもらったなという感じがしています。

海老原：研究は成果の引き継ぎにより、より良い成果につながるものなので、やはり教育と研究の両輪がうまく噛み合うこと大切だと思いますね。

飯郷：本日はどうもありがとうございました。先生のお元気そうなお顔が拝見できてとてもうれしく存じます。先生の体験談を通じて他の学会のメンバーにもいろいろ伝われば良いなと思っております。

海老原：また機会があればよろしくお願ひします。

一同：貴重なお話をありがとうございました！

時間生物学・睡眠学の学際的研究をめざして

駒田 陽子[✉]

東京工業大学大学 リベラルアーツ研究教育院

私どもの研究室は、2022年4月にスタートしました。時間生物学と睡眠学の研究を社会的・文化的な視点を入れながら進めていくことを目標としています。

東京工業大学では、学士課程から博士後期課程まで、継続的にリベラルアーツ教育と専門教育の両方を連動させ、それらを織り交ぜて学び続ける独自の教育課程を編成しています。学部生の9割が大学院に進学するため、学部と大学院を統一して「学院」という呼び名となっています。学院は、理学院、工学院、物質理工学院、情報理工学院、生命理工学院、環境・社会理工学院の6つで構成されています。

私の所属するリベラルアーツ研究教育院は6学院とは別の組織で、教養教育と専門教育を有機的に関連させ、知識や能力をスパイラルアップさせる「くさび型教育」を担っています。古くから著名な研究者・文化人が教鞭をとっていることで知られ、宮城音弥（心理学）、伊藤整（文学）、永井道雄（社会学）、鶴見俊輔（哲学）、永井陽之助（政治学）、川喜田二郎（文化人類学）、江藤淳（文学）などが所属していました¹⁾。現在も、個性豊かな教員が多いです。

組織がわかりづらくて恐縮ですが、大学院としての所属は環境・社会理工学院となります。学外から研究室を志望して下さる方には、リベラルアーツ研究教育院ではなく、環境・社会理工学院 修士課程、博士後

期課程を受験して頂く形になります。他の大学と同様、3月から5月にかけて大学院進学説明会を行っており、試験は修士課程が8月、博士後期課程は8月と2月に行っています。

研究内容のキーワードとしては、睡眠負債と社会的ジェットラグ、睡眠・生体リズムとリプロダクティブヘルス、社会・環境と睡眠、子どもの眠りなどです。ホームページ (<https://www.yk.ila.titech.ac.jp/wp/>) をご覧頂けますと幸いです。一緒に研究を進める大学院生、ポスドクを募集していますので、ぜひご連絡ください。

ニュースでも報じられているとおり、東京工業大学は2024年10月に東京医科歯科大学と統合し、「国立大学法人東京科学大学」という新しい大学になることが決まっています。今後、大学院の名称や組織も改編される可能性が高いですが、多様性と共鳴をモットーとして、学際的な時間生物学・睡眠学の研究²⁾を進めていきたいと考えています。

参考文献

1) 池上彰, 上田紀行, 伊藤亜紗 「とがったリーダーを育てる 東工大リベラルアーツ教育10年の軌跡」中公新書. 2021

2) 駒田陽子 「インボスター症候群が考える時間生物学の多様性と共鳴」 時間生物学. 2021 27: 1



写真1 大学の本館・時計台



写真2 研究室のメンバー（左から2人目が筆者）

✉ komada.yoko@ila.titech.ac.jp
<https://www.yk.ila.titech.ac.jp/wp/>

共創的な生体リズム研究拠点を目指して

安尾 しのぶ[✉]

九州大学 大学院農学研究院

2009年に九州大学大学院農学研究院の代謝・行動制御学研究室に准教授として着任してから、14年が経過しました。動物栄養学を主体とする研究室に単身で時間生物学を持ち込み、PIとして学生数名とともにリズム研究グループを形成したことが昨日のように思い起こされます。当時購入した15cm程度のゴムの木が、今や天井に届く大きさに成長し、歳月の流れを感じます。先代の教授（古瀬充宏名誉教授）がご退職後、2022年より教授に就任し、時間生物学主体の研究室となりました。2023年に池上啓介准教授が着任して更に体制が充実化し、2つのPIグループが併存する形で研究室を運営しています。本稿では、九州大学での研究過程や近隣地域のリズム研究連携の取り組みを紹介いたします。

1. 独立PIとしての研究開始

私が九州大学に着任したきっかけは、学位取得直後の2004年に吉村崇先生に連れられて参加したアリゾナでの国際鳥類内分泌学会で、古瀬充宏先生とお話したことです。当時はまだ研究者として独立する意識が少なく、自分を売り込むなどの私欲もなく楽しく議論をしたのを覚えています。その後すぐに私がドイツに渡り、学会等でお会いする機会はありませんでしたが、5年の歳月を経て九州大学でのご縁を頂きました。後に「アリゾナでの安尾さんの笑顔が印象的だった」と伺い、損得勘定なくあちこちで楽しく話すことの重要性を実感しました。

ドイツから帰国して着任後、早速学生を数名任せられ、「何でも好きなように進めてください」と告げられます。研究者として新たな道を拓くチャンスではあるものの、従来とかけ離れた研究に手を出すのはホヤホヤのPIには無謀です。さて何をしようかと研究室内を見渡すと、栄養学研究室ならではのHPLCの数々や産学連携先から提供された機能性栄養素の瓶の山、齧歯類の情動行動の解析装置が揃います。

これらの研究環境と私自身が有する光周性の背景を活かす道を模索した結果、気分や情動の光周性機構と季節栄養学的研究に取り組むことにいたしました。幸い、スタートメンバーの学生（現・岐阜大学の犬塚剛司先生含む）はフロンティア精神旺盛で、試行錯誤も大工仕事も厭わず、学生達や周囲に支えられながら研究基盤を構築することが出来ました。

2. キャンパス移転と試練

農学研究院は福岡市の中心に近い東区の箱崎キャンパスで100年近い歴史を刻みましたが、2018年に西区の伊都キャンパスに移転しました（写真1）。新しい地での研究室整備に翻弄される最中に、大きな試練が訪れます。それまで動物実験一本で研究を進めていましたが、明暗調節に欠かせないコフィン13個が、建物内の環境不良により全て使えなくなったのです。この数年前より動物実験規則が非常に厳しくなり、新キャンパスでは動物飼育室が遠く使用料も高額という状況で、実験動物のみで進めることに疑問を抱いていた中での出来事です。「あなたは本当に今後この研究を続けたいのですか」と問いかけていたようでした。しかし指導学生の卒論・修論研究を止める訳にはいかず、悠長に考える暇もなく、ヒト、牛、細胞、線虫、野生動物などあらゆる



写真1 九州大学伊都キャンパス

✉ syasuo@brs.kyushu-u.ac.jp

HP: <http://www.agr.kyushu-u.ac.jp/lab/lrmb/>

時間生物学 Vo. 30, No. 1 (2024)

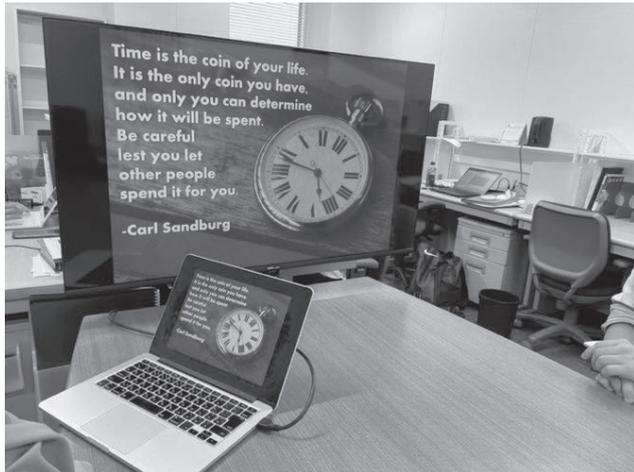


写真2 学生室の様子と研究室のロゴ：リズム波形で健康のシンボルである心臓が描かれ、光り輝くイメージが表現されている

る代替手段を模索しました。この際、樋口重和先生にはヒト調査の基本を教えていただき、小柳悟先生には学生の食事リズム調査に協力いただき、大池秀明先生には発光レポーター導入細胞を分譲いただき、佐竹暁子先生には線虫の研究者を紹介いただくなど、多くの先生達に大変お世話になりました。

色々と手を出して分かったことは、私はやはり動物の生体を用いた研究を続けたいということです。動物が本来有する潜在能力を発掘して活用したい。それを認識できた頃、偶然にも、新たな産学共同研究で明暗調節アイソレーターを複数入手することができ、研究主体は齧歯類を用いた研究に再び落ち着きました。今思えば、突然の研究環境変化に対する柔軟性を試された時期であり、全て順調な状態では考えもしなかった方向に研究の幅が広がるきっかけとなりました。

3. 現在の代謝・行動制御学研究室

2022年より研究室の主宰者となっただけからまず取り組んだことは、日常的に議論しやすい環境作りです。学生室に大きなミーティングテーブルとモニターを配置し(写真2)、実験結果やアイデアの議論は極力そこで行うようにしました。この場所では学生と他愛のない話をして笑いあったり、学生が近くで釣ってきた魚でパーティーをしたり、多目的に役立っています。学生が井戸端会議をして騒がしくなるデメリットもありますが、この場を設定してから学生同士の自発的な議論が増えると共に、PIとの議論に多くの学生を自然に巻き込んでブレインストーミングができるようになり、風通しの良さが格段に向上しました。

研究室の理念を表現するロゴの制定にも取り組みました。我々の研究室では多様な研究テーマに取

り組んでいます。根幹には「生体リズム研究を通して、生物がもつ未知の機序や潜在能力を掘り起こして社会に生かす」という考えがあります。「生体リズムの研究で社会を明るく照らすイメージで作ってください」と専門業者に依頼し、写真2のロゴが完成しました。

研究室には現在、教員2名、博士4名、修士9名、学部生4名、事務補佐員1名が所属しています。修士1年以下は安尾グループと池上グループに分かれています。私のグループでは、初期成長期の日長と神経発達や情動・代謝調節、周期的なストレスによる生体調節研究、食事リズム等の時間栄養学研究を三本柱として進めています。いずれの研究も出口はヒト、実験動物、家畜と多方面にわたります。複数の研究方向を持つことで、農学・理学・医学・薬学・歯学など様々な分野との繋がりが得られ、食品会社や製薬会社との産学連携も継続的にさせていただいています。2023年より池上グループの眼圧リズム研究や季節適応研究が新たに研究室のテーマとして加わり、さらに多様なリズム研究が活発化しています。博識で経験豊富な池上先生のご着任後、学生達が「池上先生に示唆されたのですが」を枕詞に多くの実験アイデアを提案するようになり、研究活性度が益々上昇しています。二人PI体制でも学生指導が偏らないように普段から密にコミュニケーションをとり、ゼミや研究室旅行等の行事では全員一緒です(写真3,4)。

4. 時間生物学研究の地域連携

九州大学および近隣地域には、多くの時間生物学研究者が在籍しています。研究対象はヒト、齧歯類、魚、微生物、植物まで多岐に渡り、アプローチも実験系、理論系、フィールド系など多彩です。近

隣のリズム研究者間で交流を図るため、伊藤浩史先生とともに、九州・山口・沖縄リズム研究会を2012年より毎年開催しています。当初は飲み会が主目的で研究会が後付けでしたが、実際に集まってみると、九州大以外にも琉球大の竹村明洋先生、山口大の明石真先生、当時熊本大におられた糸和彦先生、産業医科大におられた久保達彦先生など、豪華メンバーでの異分野間交流が大変刺激的で、毎年の恒例行事になりました。年度切り替え時のリトリートとしての意味合いも強く、これまでに沖縄（那覇、瀬底、西表島）、鹿児島島の指宿温泉、福岡の二日市温泉などで開催しました。初期の参加者は15名程度でしたが、コロナ禍を経て集合欲求が高まり、2023年は約40名、2024年は約50名の参加登録を頂いています。九州大学では九州・沖縄の11大学が連携協力する「九州・沖縄オープンユニバーシティ」を2023

年に開始しましたが、私たちは10年以上前から既に地域で異分野連携を進めており、時代を先取りしていると自負しています。

最近、これまで温めてきた地域のリズム研究連携を、より実質的な体制に昇華させる取り組みを始めています。令和6年度の九州大学改革活性化制度では、代謝・行動制御学研究室をハブとする学内リズム研究連携拠点が採択されました。さらに、九州大学内のリズム研究者有志で、環境・基礎・臨床を含む全学的な時間生物学拠点の構築を検討中です。分野の垣根を超えた共創的体制を通じて、先進的な研究教育と社会貢献に発展させることが目標です。時間生物学研究が熱いこの地域に、今後もますます多くの関連研究者や志を持つ学生が集うことを願っています。



写真3 大分県での研究室旅行にて



写真4 研究室対抗ソフトボール大会と打ち上げのアヒージョパーティー

院生時代の体験をふり返って

池上 太郎[✉]

琉球大学 大学院医学研究科 耳鼻咽喉・頭頸部外科学講座

はじめに

この度、北海道大学の李相逸さんよりバトンを受け取った。私は現在、リズムの研究はしておらず、時間生物学会でも幽霊会員になってしまっており、私のことをご存知ない方もいらっしゃるかもしれない。

私は学生時代からポスドクまでは魚の産卵リズムの研究をした。今回は、院生時代に経験したことが大学教員になった今どう活かされているかという話を書いてみたい。学位をとってもう12年、当時とは違う視点で振り返ることができるように思う。

ひとりで考える時間

私は、院生のときは九州大学の農学部でクサフグの産卵リズムの形成機構の研究していた。クサフグは2週間に一回大潮の日に産卵をする半月周性のリズムを示す海産魚で、そのリズムの解明が私の研究テーマだった。当時の私の指導教員は内分泌学が専門であり、生物リズムや時間生物学について独学で身につける必要があった。当時ラボには朝8時50分から17時までのコアタイムがあり、その時間は、実験するか、データをまとめるなどのデスクワークをすることが求められていたので、夕方～夜になってから大学図書館に行き、時間生物学関係の本を読んでいた。生物リズムについてさまざまな本を読むことで、「リズムの風景」がだんだんくっきりと見えてくるようになり、この時間はとても楽しいものだった。特に、時計遺伝子のネガティブフィードバックループによる調節機構があまりに精巧で夢中になった。当時、特に気に入って読んでいた本は、『脳と遺伝子の生物時計』（井上慎一著）、『時計遺伝子の分子生物学』（岡村均、深田吉孝編）、『生物時計の分子生物学』（海老原史樹文、深田吉孝編）。これらはのちに全て購入し、今でも折に触れて開いている。当時時間生物学初学者であった私にとっては生物リズムの基本的な考え方を身につけてくれた本だった。次第にリズム関連の原著論文も読んで理解できるようになり、自分でも実験計画を立てられるようになっていった。

Journal club

当時、研究室のメンバーは学部生から大学院生まで入れても常に3~5人だったので研究室のJournal club（抄読会）の順番が月1の頻度で回ってきた。Journal clubでは、紹介する論文はもちろんのこと、その論文で引用されている論文まで全て読み、そして使われている実験手法や統計もしっかり説明できないといけないというものだった。初めの頃は、論文の内容を説明するだけで精一杯だったが、次第に紹介する論文のWeak pointや自分ならどういう実験をすることで補強するかまで話せるようになった。このJournal clubは、論文を書く時の素地—ストーリーをどう組み立てたら人に理解してもらえるか—を育ててくれた。

節約

当時、研究室では限られた予算のなか、試薬を買うためにメンバー全員が節約に努めていた。そのため、実験室では、どんな暑い日も寒い日も皆エアコンも使わなかった。夏は太陽の日差しからくるジリジリとした蒸し暑さと室内のDeep freezerから吹き出される熱風にさらされ、開いた窓の外からはクマゼミのシャシャシャという大きな声が聞こえる中、皆タンクトップとハーフパンツ姿で実験。汗をたくさんかくため、午前と午後でタンクトップを着替え、冬は外に近い寒さで、ヒートテックを着込んでの実験だった。

また実験に使うクサフグがフィールド生物なので自分たちで集めた。遠いところだと、片道4時間ぐらいの長距離運転をして捕りに行っていた。当時、魚を集めるのは大変だったが、魚を集められたときには、「これで実験ができる！」という大きな喜びと達成感があった。

また当時は、キットなど高価な試薬は買えなかった。そのため、研究室には、一度もらったプラスミドDNA精製カラムを何度もElution bufferで洗って、再利用している猛者も！PCRで使うプライマー1つにしても、なかなか注文できない。そのため、自分がデザイ

ンしたプライマーがうまくワークしない場合でも、すぐに諦めることなく、アニーリング温度を変えながら、バッファー中の塩化マグネシウム濃度なども微調整しながら、トラブルシューティングした。

作れる試薬は全部作る

このような環境にいたことで、作れる試薬は全部自分たちで作れるようになっていった。研究室に『Molecular Cloning: A laboratory Manual 2nd edition』(J. Sambrook, E.F. Fritschy, T. Maniatis 著) という 3 巻シリーズの洋書の実験書があり、そこに載っている試薬(プラスミド調製で使う、アルカリ SDS 法の試薬や RNA 抽出試薬、電気泳動の Loading dye、その他、諸々のバッファーなど)は、ほぼ自分たちで作った。今は多くの人がキットや Ready to use の試薬を使うことが多いが、若い時期にキットの原理の元になる試薬類を粉から作れるようになったことは、後々、研究の自由度を飛躍的に広げてくれた。

初めて獲得した研究費

ただ、そうは言っても、制限があるがゆえに研究がなかなか自分のペースで進まないということもあり、修士の早い段階から博士課程に進学したら学振の特別研究員になって自分の研究費で自由に試薬を使えるようになりたいと思うようになっていた。

M2 で学振 DC1 を申請できるようになったときに指導教員からは、君の研究費の申請書だから教員には頼らずに全て一人でやるようにと言われ、自分で考えながら取り組んだ。最初のうちは、特別研究員に採択されている先輩たちの申請書を参考に見せてもらい、それを真似して書いて応募する。しかし、その程度のことでは採択されることもなく、結局 2 回苦い思いをし、3 回目の応募でついに DC2 として採択された。それは当時ミシガン大学に海外学振で留学していた小沼健さん(現・鹿児島大学)が申請書を見てくれたおかげだった。申請書を書いては小沼さんに送り、分かりづらい箇所や研究の魅力が伝わらないなど内容についても指摘してもらい、それを直してはまた送ってコメントをもらう・・・を繰り返し、ようやく完成した申請書は研究について分野外の人を読んででも理解できて面白いと思ってもらえるものになっていた。この経験は現在も申請書作成のときに活かしている。

サイエンスクラス

修士課程のいつだったか思い出せないが、私は国際会議で人に伝わる英語が話せるようになりたいと

思い、福岡市中央区赤坂にある英会話教室に通い始めた。その英会話教室は、Ph.D を持つイギリス人の先生(専門は systems chemistry)が経営する小さな教室で、一般的な会話のクラスからサイエンスクラス(研究者が英語でプレゼンをする)までであった。当時サイエンスクラスには九州大学の理学部、医学部の教員や院生、そして久留米大学の医学部の教員など総勢 8 名ほどがいた。専門分野でいうと、植物生理学、量子生物学、気象学、臨床医学(神経内科学、循環器学)、薬学。毎週、一人が当番で自分の話したい内容を準備して、みんなに聞いてもらい、質疑応答。そして、最後にイギリス人の先生からスライドのどこがよかったか、どこがわかりにくかったか、コメントをもらう。自分の研究内容から自分が面白いと思った論文や研究の紹介まで色々した。毎週、ラボとは全く違うメンバーとディスカッションできたのはとても良い刺激だった。

その後、イギリス人の先生が大学教員のポジションを得たことで、英会話教室はクローズされることになったが、サイエンスクラスは既に参加者にとってはかけがいのない場所になっていたため、Native speaker はいない状態だったが私が中心となり自主的にサイエンスクラスを継続することにした。場所を九大箱崎キャンパスの附属中央図書館 3 F の演習室に決め、英会話教室にいた日本人メンバーに加えて、さらに学内のポスドクや海外留学生たちにも声をかけた。その結果、参加者は多種多様になる。国籍は、インド、パプアニューギニア、バングラデッシュ、中国。専門分野も生化学、発生学、構造生物学、皮膚科学、水産学、農業経済学とさらに幅が広がった。そこでは英語でのプレゼンの仕方だけでなく、参加者が発表者に「こういう解析方法があるけど、これを使ったら、この事象は解明できないか」といった研究手法の提案まで活発に出るようになっていったのだ。またプレゼン以外の体験談もじつに楽しかった。研究室以外の多様な人たちと毎週交流できたことで、視野が広がり、今でもこのメンバーと交流が続いている。のちに私が医学部に移るときにも、メンバーの皮膚科の教員から基礎研究と臨床研究の視点の違いから臨床ではどういう人材が求められているのかを教えてもらった。

生物リズム若手研究者の集いで出会った人たち

博士の学位をとって初めて「生物リズム若手研究者の集い 2011」に参加した。その時の世話人は池上啓介さん、伊藤浩史さん、西出真也さん、藤原すみれさん、淵側太郎さん、吉種光さん。世話人が皆、研究や

議論が大好きで、キラキラしていて、なんて素敵な人たちなんだろうと思った。宿泊先の温泉旅館で、参加者たちと夜遅くまでリズムや研究のことを目一杯語り合う。これまでラボの中で一人リズム研究をしていたため、この時初めてリズムについて深くディスカッションできた。あの時の楽しさは今でも忘れない。もっとこの人たちから学びたい、そして自分もこの会に貢献したいと思うようになり、数年後、この研究会の世話人になった。今は分野が変わってしまったが、その時の仲間たちからは今も刺激をもらい、研究の相談にも乗ってもらっている。私にとってかけがえのない存在だ。

現在の私

私は学振 PD のポスドク研究員をした後、琉球大学医学部耳鼻科の助教の職につき、研究と教育に従事している。

職場は、私と 2 名の実験補助員以外は、臨床医 25 名と言語聴覚士 5 名という環境だ。このため、私は耳鼻科の教室で実施される全ての研究に携わっており、臨床医や実験補助員たちと協力しながら研究を進めている。これは私が臨床研究に関わるようになって個人的に感じたことだが、病気の研究は、研究者の視点だけで進めると、病気のメカニズムそのものの解明に向かう。病気の要因は予想している以上に複雑で、その結果、解明された断片的な成果では患者へすぐに還元できることは滅多にない。一方、臨床医の視点だけで研究を進めると、臨床応用といった出口ばかりにこだわる傾向にあり、そもそもの研究の仮説の土台となっている一つ一つの事象の確認作業を飛ばしていることが多々ある。その結果、そもそもの前提条件が間違っていたということがあった。私が着任したばかり

の頃は、教室内で各自がバラバラに研究している状態だったが、今は研究者と臨床医がそれぞれの視点や考え方をリスペクトしながら、研究の方向性を常に微調整しながら、しっかりと石橋を叩きながらも、ちゃんと出口を見据えた研究を行っている。そして、実験補助員 2 名が私と一緒に研究を進めてくれるため、たくさんの研究テーマを同時に進めることが可能になっている。

また院生時代に作れるものは何でも自分で作ってきた経験から、まだキット化されていない新しい分子をターゲットにしたときには、自分で測定系を確立している。新しいアッセイ系を自分でつくれるようになったことは研究の自在さや可能性を広げてくれている。

もう一つの仕事は教育。主に博士課程の院生の学位研究指導と医学科の学部生の研究指導を行っている。琉球大学では医学科の学生は三年次に基礎配属という研究室に 4 ヶ月間通って研究するという科目があり、その指導をしているが、その際にも、院生時代の経験が心の底にある。私は、学生と教員が力を合わせて研究のワクワクする感覚を一緒に感じながら進めることを大切にしたいと思っている。

おわりに

渦中にいるときには見えなかったものが俯瞰できる年齢になった。

院生のとき、厳しい環境の中で工夫した経験に今とても助けられている。ラボのメンバーはもちろんだが、それ以外の人たちともたくさん交流した経験により研究者としての視野が大きく広がった。どんな状況下でもつかみ取るものがあり、今の自分の一部になっている。

時間生物学の怪

畠山 哲央[✉]

東京工業大学 地球生命研究所 (ELSI)

琉球大学の池上太郎さんからリレーエッセイのバトンを頂いたので、本エッセイを執筆する次第となった。このバトンが託されたメールにおいて、池上さんは自らを幽霊会員であると仰っていたが、実は私も幽霊会員である。驚くべきことに幽霊から幽霊へとバトンが回ることになってしまったが、たまには死者の国でバトンが回ることもあろう（時間生物学会にはエッセイを書ける生者はもうあまり残っていないのかもしれないが、それは死者が語る問題ではなかろう）。さて、そもそも幽霊とは、基本的には洋の東西を問わず、現世になんらかの未練を持って死んだ生物（主に人間）が、死後に霊体となって現れるという存在である。ただし、幽霊自体はその未練の具体的な内容を常に把握しているわけではない。そのため、生者がその未練の内容を徐々に明らかにして、最終的に幽霊を成仏に導くというのは、よく見られるストーリーラインである。私や池上さんのような幽霊会員も、時間生物学に何らかの未練があったからこそ、幽霊会員として学会に留まっていたのだとも言える。そこで、幽霊会員の私が時間生物学の何に対して未練があるのかというのを、過去を遡ることで明かしてやろうというのが、本稿の目的である。幽霊が自分の未練を解き明かすという構成は珍しいが、ここは一つ、お付き合いいただければ幸いである。

幽霊である私と、同じく幽霊である池上さんとの出会いは、偶然にも二人が2014年の生物リズム若手研究者の集いで世話人を務めたことであった。残念ながら、その時の若手の会のホームページを確認することは現在ではできない。街の様子がすっかり変わり、幽霊の生前の様子について調べようとしても一筋縄ではいかない、というのもまた幽霊話においては定番の展開ではあるが、現在ではその舞台はインターネットにも及ぶようである。ただし、幸運なことに、その時の若手の会のことは幽霊になって

もよく覚えている。仁和寺の宿坊に泊まり、朝早くにお勤めをしながら感じた京都の冷たく静謐な空気は、今でもありありと思い出すことができる。その若手の集いでは、講演者として近藤孝男先生、近藤滋先生、田中一裕先生、佐竹暁子先生、中垣俊之先生、上田昌宏先生、そして影山龍一郎先生をお呼びした。それまでの生物リズム若手研究者の集いでは、ほぼ概日時計の研究者の方々に講演していただいていたのだが、その京都の会では、近藤孝男先生の概日時計の講演から始まり、その後により広範な非線形・非平衡の生命現象のトピックの話をしていただくことで、生物リズムの研究も概日時計からどんどん幅広い対象へと広げていこうというのが一つのテーマであった。

その世話人を務めていた時、つまり2014年の時分では、私はシアノバクテリアの概日時計であるKaiタンパク質のモデルを用いて、概日時計の周期の温度補償性の新しいメカニズムを理論的に提唱した論文を発表し、それに続くテーマとして、概日時計の周期の温度補償性と、位相の温度に対する感受性の関係を理論的に研究していた。このテーマは後に実を結び、2015年に論文を発表することができた（偶然にも翌年の生物リズム若手研究者の集いの最中にアクセプトのメールを受け取った）。これによって、当時の私は概日時計について理論的に重要な問題についてはかなりの部分を解くことができたと考え、その後は段々と研究対象を概日時計からより広範な非線形・非平衡の生命現象へと広げていくことになった。その結果、徐々に時間生物学会からは疎遠になっていき、物理学会や生物物理学会に出ることが多くなっていった。

このままいくと、概日時計の研究からどんどん離れていった結果、私はそのまま時間生物学会から消滅してしまうように思われるかもしれない。実際に、私も時間生物学会からはほとんど成仏しかけて

✉ hatakeyama@elsi.jp



『システム生物学入門』書影

いたのだ。しかし、昨年、時間生物学会と睡眠学会の合同大会において、突然、理論シンポジウムのプログラム委員として指名していただき、その縁もあって自らが企画したシンポジウムで講演を行うこととなった（ちなみに私の名前を提案していただいたのは、2014年の生物リズム若手研究者の集いで一緒に世話人を務めた大出晃士さんであった）。さらに、昨年、講談社より『システム生物学入門』という本を上梓することになり、その中の一章を割いて、概日時計システムについて数理的な視点からまとめることとなった。このように、概日時計システムの研究から疎遠になっていたはずが、突如、概日時計について考える機会が一度に訪れることとなったのだ。

その結果、概日時計に関して理論的に解くべき問題がまだ残っていることを、2014年の生物リズム若手研究者の集いから10年目にして、「再」発見したのであった。解くべき問題は色々あり、ここではそのうちのいくつかを述べるにとどめる（興味がある方は、拙著『システム生物学入門』をお読みいただければ幸いである）。一つは、私がシアノバクテリアの概日時計のモデルで見つけた周期の温度補償性メカニズムが、振動を作る仕組みが違う他の生物の概日時計システムにおいても適用できるかどうかということである。さらに、そもそも概日時計システムがどのように進化してきたかという問題である。実験的に扱うことが難しい進化の問題であっても、理論的な道具を用いれば、アプローチするための道が見えてくることもある。実を言えば、これらは、私が2014年、あるいは2015年の生物リズム若手研究者の集いの世話人を務めていた時分には既に気づいていた問題である。しかし当時はこれらの問題にうまくアプローチすることができなかったのだ。そう、私の未練とは、なんのことはない、概日時計について単に理論的に解けていない問題があるということだった。幸いにも、昨年、時間生物学会に久しぶりに参加したことと、教科書を書いたことで、私は自らの未練を自覚することができたのだ。

さて、昨年のシンポジウムの後、昔お世話になった方々に、まだ理論的に解けていない問題がいくつかある、と私は未練を打ち明けたのだ。幽霊が出てくる怪談においては、未練を明かすのが話のクライマックスで、そこで幽霊が成仏することも多い。しかし、解けていない問題があるというのは、幽霊会員にとってはクライマックスでもなんでもなく、単に研究がスタートしただけである。解くべき問題を解くまでは、研究者が成仏することは叶わないだろう。未練を知り、幽霊であるということを実感した今、逆に私が時間生物学会へ出戻する可能性が増したわけだが、時間生物学会員の皆様におかれましては、幽霊の私を見かけても塩など撒かれないようお願いしたい。

アメリカでのポストドク生活

梅崎 勇次郎[✉]

摂南大学 農学部農業生産学科

1. はじめに

私は、摂南大学農学部の応用昆虫学研究室（石川幸男教授、藤井毅講師）で特任助教として勤務している梅崎勇次郎と申します。微小害虫を捕食する生物農薬（天敵昆虫）を使い、天敵昆虫などが発する匂いを利用して天敵昆虫を畑に定着させる仕組みづくりを、時間生物学の視点を含めて研究をしています。私は、大学院生時に岡山大学の時間生物学研究室（富岡憲治教授、現在は吉井大志教授）に在籍し、キイロショウジョウバエの歩行活動リズムの制御機構に関する研究に従事していたことから、時間生物学の分野に足を踏み入れる機会を得ました。今回、時間生物学会学会誌に留学体験記を執筆させていただく機会を頂きましたので、現在は米国のカリフォルニア大学デービス校（UC Davis）で研究室を運営されている濱田文香先生の研究室で博士研究員として在籍した時の研究生生活をご紹介しますと思います。2013年11月から2021年6月まではOhio州（OH州）Cincinnatiにある Cincinnati Children's Hospital Medical Center（CCHMC）のDivision of Ophthalmologyに所属しました。その後研究室が移動して、2021年7月から2022年9月までの期間はCalifornia州（CA州）DavisにあるUC DavisのDepartment of Neurology, Physiology and Behaviorで勤務しました。

本稿は、一個人の米国行ききっかけから、米国での研究生生活をトピックごとにまとめてみました。研究の詳細については興味のある方は論文を見て頂ければと思います、細かい内容は記しませんでした。米国に研究留学を検討されている方には多少有益かもしれませんが、万人に有益な内容は全くないかもしれません。時間生物学会会員の中にこんな奴もいるんだな、という程度で、実験の合間にお茶でも飲みながら気晴らしに読んでもらえると幸甚です。

2. 米国行ききっかけは突然に

私は富岡先生の研究室で博士課程を終えた後、順天堂大学大学院医学研究科の老研センターにある研究室（服部信孝教授、今居譲専任准教授）で博士研究員として勤務しました。そこでは、老人性神経変性疾患であるパーキンソン病の発症機序などについて研究を行っていました。研究費を獲得する目的で、学振、学内・学外の研究費の申請を行っていた際に、海外学振の申請先として濱田先生にコンタクトを取りました。濱田先生とはコンタクトを取るまでは面識はありませんでした。当時、濱田先生が独立して最初の論文が *Current Biology* に発表された頃でした（Kaneko et al. 2012 *Current Biology*）。富岡先生の研究室でハエの温度同調に関する研究を行ったことから、ハエで体温リズムに類似した現象について研究できればと思い、濱田先生にコンタクトを取りました。直接メールでコンタクトをとったところ、快く応じてくださいました。また、研究テーマについてもこちらでできることであればなんでもOKということで、自由に提案させて頂きました。結果、その申請書は落ちたのですが、その後しばらくして、まだ興味がありますか？と突然の連絡をいただきました。あとから分かったのですが、その時に来る予定だった人がドタキャンになったため、私を思い出して連絡くださったとのことでした。

連絡を頂いてから、まずは濱田先生とオンライン面談を行いました。どのような研究に携わることになるか、現在の研究室のメンバー構成、研究室や研究所の実験設備などを伺いました。行くかどうか真剣に考えましたが、給与をもらいながら米国で研究を行えるチャンスであること、研究分野も大学院生時の研究分野に近いこと、任せられたテーマを十分に遂行していれば割と自由に他のテーマもできそうなこと、現在の職場より給与が良いこと、また当時はカレンダーイヤー2年分は税控除だったので、借りていた奨学金の完

✉ yujiro.umezaki@setsunan.ac.jp

済を少しは前倒しできるかもしれない、などと考え、次のステップに進むことに決めました。

その後、研究室メンバーに現在までの研究内容についてオンラインでプレゼンテーションを行い、その後研究室メンバーと十数分ずつの個別のオンライン面談を行って終わりとなりました。もともと緊張しやすい性格なのでかなり緊張していたこと、当時は英語がほぼ話せない状況であったので、英語での発表や質疑応答も慣れていないこともあり手応えは全くありませんでしたが、結果、OK のオファーをいただきました。

濱田先生の研究室に行くことを決めてからは大変で、これまでの実験データをまとめ、他の先生方に私の実験の引き継ぎを行い、学位論文の研究のサポートを行っていた先生方の実験の引き継ぎのほか、引越しの手続きなど米国での生活の準備を行った怒涛の3か月間でした。正直なところ、今となってはその時に何をしていたか細かくは覚えてはいません。

3. はじまった米国での研究生生活

怒涛の3か月の準備期間を経て、ようやく米国 Cincinnati に辿り着きました。私にとって、訪れるのも住むのも初めての米国の地が Cincinnati となりました。11月から Cincinnati に住みはじめたのですが、例年では11月前後から徐々に寒くなるのですが、私が米国に行った年は十数年ぶりに寒波が来て、11月ですでに例年よりも気温が低かったようです。結局その冬は、マイナス20度以下を何度も経験しました。余談ですが、私は引越して最初の年は居を構えた地域が悪天候になるのが通例で、現在の枚方市に住み始めた最初の冬は例年ない雪が積もり、翌年の初夏は日本で一番暑い地域になるなど、なぜか住む土地に変な気候を呼び寄せるようです。

さて、私にとって訪れるのも住むのも初めての米国の地となった Cincinnati は、中西部にある OH 州の南部に位置する都市で、緯度としては日本の東北とほぼ同じくらいです。州都 Columbus、Cleveland に次ぐ、OH 州第3の都市です。また、街のサイズが中規模ながらスポーツが盛んで、NFL のシンシナティ・ベンガルズ、MLB のシンシナティ・レッズ、MLS の FC シンシナティがダウンタウンに本拠地を構えています。

CCHMC は、Cincinnati のダウンタウンから車で10分ほどのところにあります。1884年に現在の前進となる診療所が開設され、1950年代には医師 Albert Sabin によりポリオウィルス生ワクチンを世界で初

めて開発したことで世界的に知られました。また、全米で有数の小児病院であり、2023-2024 US news and reports Children's hospital ranking で全米一位になりました。大通りを挟んで、斜め向かいにはシンシナティ大学があり、両者を合わせると中規模都市でありながら、かなり規模の大きな大学、研究所だと思います。

リズムに関連する研究室がいくつかあり、濱田先生の隣の研究室の Richard Lang 先生、CCHMC 内の別の研究棟には John Hogenesch 先生、シンシナティ大学医学部には Chris Hong 先生の研究室があり、Chris の研究室とは論文紹介を月に1回、Richard, John, Chris の研究室とは Progress を月に1回行なっていました。研究室内では、研究室ミーティングを月に2回ほど、濱田先生とのミーティングは特別な指定がない限り随時といった感じでした。

濱田研究室は、大きな1部屋を Richard の研究室とともに利用しており、居室と分子生物学の実験はその部屋を利用しました。加えて、行動実験用の部屋が2つ、カルシウムイメージング用の顕微鏡がある部屋が1つ、ハエを扱う部屋が1つありました。そのほか、研究所内に遺伝子コアや顕微鏡コアなどがあり、顕微鏡コアでは、蛍光顕微鏡から、共焦点顕微鏡、マルチフォトン顕微鏡や画像解析ソフトが利用可能でした。UC Davis に移ってから感じたことですが、研究に必要な設備はほぼ全て揃っており、十分過ぎるほどでした。

4. CCHMC での研究生生活

当時の濱田研究室は、私以外にポスドク2名（そのうちの1人は日本人の合田さん(Herman Wijnenn 先生の研究室に在籍したあと、濱田先生の研究室に加入)、テクニシャン1名、そして、近隣の大学の学部学生数名がボランティアとして実験のサポートで参加していました。

濱田先生の研究室では、キイロショウジョウバエを利用した温度選択行動、および、温度選択リズムの制御の仕組みについて研究を行っており、熱産生などの自律性の体温調節能を持たないとされている変温動物のハエで、体温リズムに類似した行動を調べることができました。

濱田先生は私が研究室に所属になった当時は Assistant Professor で、グラント申請や会議やトークを頼まれて出向いたり、その合間で研究の進捗をチェックしたり、ミーティングを行ったりと非常に忙しくされていましたが、研究のことで質問があればい

つでも相談にのってくれました。また、上述の通り私の英語は使い物にならなかったため、アメリカ人テクニシャンと中国人ポスドクの間で席を用意してくれたおかげで、時間はかかりましたが、徐々に皆とコミュニケーションをとることができるまでにはなりました。

当時、研究室ではいくつかの研究テーマが進んでおり、私が担当したのは、(1) 新しく作成した温度選択行動を測定する行動実験装置を使えるようにセットアップすること、(2) 代謝と温度選択リズムとの関連性についての研究でした。(1) 新しい行動実験装置については、行動実験で実働していたのは1台のみで、予備にもう1台だけある状況で、新たに2台を実験で使えるようにすることでした。ショウジョウバエの温度選択リズムは、25度で飼育したハエだと、朝方は24.5度前後を示し夕方には26度前後を示し、夜間には24.5度前後を示すのですが、飼育条件(光の強さや温度条件、餌の条件など)や測定条件(測定環境の光の強さや温度、湿度など)でハエが選択する温度が変化します。これらをうまく調整することで安定的に再現性よくデータを得られるのですが、新たに作成した行動実験装置はこれまで使用していた部屋とは別の部屋で使用するため、部屋のサイズがやや大きいこともあり、それぞれのパラメーターをうまく設定する必要がありました。これと並行して(2) 代謝と温度選択リズムとの関連性について、新しい行動実験装置を利用して研究を行いました。(1) がなかなか安定してデータが出なかったこともあり、(2) への取り掛かりが遅くなりましたが、翌年あたりから2018年に出した論文(Umezaki et al. 2018 *Current Biology*)の基となるデータが徐々に得られるようになりました。

5. 日本人コミュニティ

Cincinnati では、日本人研究者コミュニティ UC-Tomorrow があり、数ヶ月に1回、Cincinnati 近隣の日本語話者の研究者が最新の研究成果を発表し、ディスカッションする会が催されていました。分野も幅広く、私たちの研究室のような基礎研究から、臨床研究まで多岐に渡り、分野の壁なく、ざっくばらんにディスカッションできる雰囲気とともに、発表者と参加者の研究に対する熱量を常に感じる会でした。私も論文を出す前に発表する機会を頂きましたが、様々な視点からフィードバックをもらうことができ、論文をまとめる上で非常に参考になりました。海外の研究室に留学される場合、英語を上達したいという理由で日本人

と関わらない環境づくりをされる方もいますが、Cincinnati は中西部のコンパクトな街ですので、西海岸や東海岸のようなアジア系スーパーや美味しいレストランがそこかしこにある環境ではありません。研究、生活上の情報共有の場として、また、研究で付き添われたご家族同士が知り合う機会としても、素晴らしく機能していたと思います。

Cincinnati では Kenwood Japanese Fellowship があり、月に一回日本人のための礼拝と、その後のお茶会があります。礼拝の間、小さいお子さんはボランティアの方が日本語学習を無料で行なってくれていました。また、Thanksgiving や Christmas ではイベントが催されて皆でお祝いをしました。私はクリスチャンではありませんが、クリスチャンではない方でも参加可能で、普段の研究生活では研究者と触れ合う機会が多いですが、現地で勤務する日本語話者の方々と交流する素晴らしい時間を過ごすことができました。

6. 政治環境の変化やパンデミックの中での研究生活

一般的に海外での研究生活が始まる前に不安を感じるのは、雇用契約が急に切れてしまうこと、急な病気や怪我だと思いますが、政治環境の変化や世界的な病気の大流行が影響を与えるとは米国滞在前には想像していませんでした。

米国での研究生活の期間で大統領が2度変わりましたが、トランプ前大統領在籍の期間は、新規ビザ発行が問題にあがっていたこともあり、滞在ビザの発行・更新が行われるかが心配でした。

コロナウイルスによるパンデミックの期間では、確か2020年のはじめから徐々にCincinnati で感染者、重症者が多くなり、病院や研究所、大学内でも体調に異変を感じて休暇を取る人も増えました。そして、2020年3月下旬に大学、研究所の一時閉鎖が実施されました。私たちの研究所では病院も併設しているので、患者の方々を守りつつ、そして、研究活動を維持しつつの中での判断だったと思います。しばらくの間、実験で使用する動物の管理のみが許され、各研究室ごとで登録者のみが動物の世話のために研究所に出入りできました。この期間が最も不安で、NYの悲惨な状況を知らせるニュースを見て、自分が罹患し重症化したらどうしようか、我々の地域もNYと同じような状況になるのか、どれくらい研究所の閉鎖期間が続くのか(研究を進められない期間が続くのか)、渡航禁止状態であったので日本に戻れないでしょう、、、と不安な日々を過ごしていました。一時閉鎖期間中、オンラインで研究室ミーティングは継続していたの

で、家で作業可能な仕事の進捗を報告しつつ、健康状態の確認を互いに行っていました。週1回の買い物とエクササイズ以外は、ずっと家の中で過ごしていたのでストレスが溜まる状況でしたが、毎週の研究室のオンラインミーティングがあったことでストレス軽減になりました。また、これまでも心が疲弊した時は体を動かしてストレスを軽減させていたので、毎日夜明けごろの人の少ない時間帯に散歩やランニングなどのエクササイズをして心身のバランスを保っていました。

その後しばらくして、各研究室で人数制限下で研究室や研究所内施設の入室が可能となり、研究を再開することができましたが、入室可能な人数制限があり、これまで通りの十分な実験はできませんでした。2020年後半あたりから、マスク着用、ワクチン接種、発熱の有無のチェックはありましたが、基本的にはほぼ従来通り研究が可能な状況には戻ったと記憶しています。

パンデミックがやや落ち着きつつある中、2021年になってから研究室が UC Davis に引越す具体的な予定の連絡を受けました。

7. Davis への移動と UC Davis での研究生活

時間が前後しますが、研究室が UC Davis に移るかも？という話は、パンデミック前から濱田先生からお話があり、研究所がパンデミックにより一時閉鎖する前にはより具体化し、その頃には濱田先生と旦那さんの行川賢先生のご家族は Davis に引越されて、あとは、いつ研究室を引越すのか、という状況でした。2020年後半にはすでに行川先生の研究室が引越しを終えていました。濱田研究室の引越しの日程は、コロナ禍の最中で手続きなどで遅延が出て具体的な引越しの日程が決まらなかったのですが、コロナがやや落ち着いた2021年はじめあたりで濱田研究室の引越しの具体的な日程が決まり、2021年6月に引越しを行い、7月初旬から濱田研究室が完全に UC Davis に移ることが決まりました。

私が Davis に引越すことを決めた理由について、2018年に出した自分の論文を発表する前後から次の就職先探しをはじめ、また、パンデミック前に父が病気を患ったことから次の就職先を日本にフォーカスして公募への申請をはじめていました。引越しには人手が必要なので濱田研究室への貢献のためもちろんありますが、このまま Cincinnati 近隣で新しい研究室に就職して、新たな研究テーマを行いながら次の就職先を探すよりは、引越して実験ができない期間は

あるが、研究室のセットアップを行いながら、可能な限りできる実験をして残りの仕事をまとめつつ、なるべく早く次のポジションを探すことを考えてのことでした。

研究室の引越しの日の2、3か月前から引越しの準備を開始し、実験器具、試薬、ハエの準備を行いました。また、Davis の研究室で実験などをサポートしてくれる学部学生の Interview も並行して行いました。これらの作業と並行して、自宅の荷物などをまとめたり、Davis のアパート探しなどを行いました。引越しの準備が終わって積み荷が終わったら全てが終わりではありませんでした。車で Cincinnati から Davis までの運転が待っていました。引越し荷物とともに車を一緒に運ぶ手段もありましたが、パンデミック中は旅行に行けない日々が続いたので、タイトな旅程ではほぼ車を運転するだけの旅でしたが、約 2,300 miles (3,680 km) の距離を1週間かけて運転して Davis まで向かいました。

アメリカ人の友人が、Kansas は1度行ったら2度と行きたくなくなるほど何も無い、と言っていたのですが、Cincinnati から南西へ向けて運転していくと、本当に穀倉地帯が続く何も無い平坦な Highway が続き、進んでいるのかどうか、どこを走っているのかわからない感覚になるような、やや不安な気持ちになり、また、住んでいる時は Cincinnati がやや田舎だなど心の隅では思っていました。このこと比べると割といいところだったんだなと思直すことができました。Kansas 州を過ぎた後は Denver、Boulder、Salt Lake City を経由し、Nevada 州を通過して Davis に着きました。Denver や、Nevada と California の州境には比較的大きな山々があり、アップダウンの激しい道では、私の2006年製 Corolla ではアクセルをベタ踏みしても馬力がなくスピードも出ないため他の車にどんどん追い越され、追突されないか怖い思いを何度もしましたが、事故やオーバーヒートなどの故障もなく無事到着できました。

Davis は、CA 州の州都である Sacramento から車で西に約30分、San Francisco からは東へ約2時間の距離にある街です。街は学園都市で、アジア系の学生が多いことから街にはアジア系の小さなスーパーもあり、また、家具などの購入や、日本食が欲しい時は隣の Sacramento まで行けば購入できました。街中の移動は自転車ですら十分で、治安が驚くほど良く、Cincinnati では銃による事件がたまに起こっていましたが、Davis にいる間は危険な事件について一度も

聞きませんでした。UC Davis は、元は農業専門学校として開校し、のちにカリフォルニア大学システムのメンバーとなりました。理系の学部が有名で、Agriculture と Veterinary medicine は全米でトップクラスの大学です。

Davis に到着した後すぐに研究室に向かい、現在の研究室の状況などを濱田先生から説明を受け、実際に使用予定の部屋を見せてもらいました(引越し荷物が搬入されるまで、仮の研究室を利用していました)。退官された先生(Barbara A. Horwitz 先生、哺乳類の Hibernation などについて研究)の後の部屋を使うことになり、Davis に私が到着した時には Horwitz 先生の研究室の実験機器はほぼ撤去されていましたが、部屋は埃などでかなり汚れていてすぐには使えず、清掃員による清掃後に使える状況でした。清掃を終えた後、引越しの荷物が来る予定になっており、どの部屋に何を置くかを決め、引越しの荷物を運び込んでから片付けを行う段取りを決めました。しかし、清掃員が清掃に来る予定が変更となり、引越しの荷物が届けられる日程をずらすことは難しいので、濱田先生やポスドク、UC Davis で新たに実験などをサポートしてくれる学部学生たちで机や床、棚などを清掃することになりました。徐々に気づくのですが、清掃や設備の修理などは Facility の都合で予定が変わることがあり、CCHMC では清掃や機械の修理などを依頼すると、予定通りに作業をしてくれたのですが、UC Davis では私が朝出勤した時にエンジニアがすでに鍵を開けて設備の修理をはじめていたり、急にドタキャンになることがありました。彼らの都合次第で予定がかなり変わってしまうことがわかり、CCHMC のスタッフは非常に素晴らしかったんだと感じました。このような状況なので、予定では行動実験用の部屋が、私が日本に帰る前にはできていた予定だったのですが、工期が遅れて、実際に目にすることなく Davis を後にすることになりました。

予定通りに研究室のセットアップは進みませんでした。そのような状況でも、ハエの飼育は必要ですし、今できる限りの実験のセットアップを進めていかなければなりません。色々とお世話になったのは、先に研究室の引越しを終えていた行川先生の研究室のほか、Neil Hunter 先生の研究室(共焦点顕微鏡を使わせて頂いた)、そして、昆虫のリズム研究をされている方は特にご存じと思いますが Joanna Chiu 先生の研究室でした。Joanna は Department of Entomology and Nematology の Professor で Chair も勤めていました。使用済みのハエの処分の仕方など



写真1. Cincinnati の研究室メンバーの写真
(上) 濱田先生のご自宅でごホームパーティーが行われた時の写真。左から2番目が濱田先生、右から2番目が筆者。
(下) 引越し準備中にメンバーと撮った写真。1番左が筆者。



写真2. Davis の研究室メンバーの写真
大学近くのレストランでピザパーティーを行った時の写真。右から3番目が筆者、その左隣が濱田先生。

から、のちに私の研究の一部を Joanna の研究室メンバーとコラボレーションさせて頂いたり、色々とお世話になりました。また、Joanna の研究室とは月に1度 Progress のミーティングを行なっていました。

研究室のセットアップや実験をしつつ、日本や米国で開催されたオンライン学会の参加、次の就職先の公募への申請を行なっていたところ、現職で働く機会を頂き、私の米国での研究生活は終わりました。

8. 最後に

濱田研究室での研究生活の出来事を時系列でトピックごとにまとめる形式で記してみました。とりとめのないつまらない話に感じましたら、申し訳ありません。

日本に住んでいる間は私の周りでは事件があまり起こらない、穏やかな生活だったのが、異国の地に住むだけで色々なことが起こりました。様々なことが起こるたびに母国語ではない言語で対応しなければならず、周りの助けを必要としたので、対処する過程で徐々にタフになり、何が起っても楽しめる能力が身についたのは良かったことかもしれません。

1つ悔やんでいることとして、論文をもっと出せたのではないかということです。その点は、濱田先生に

申し訳ない気持ちがあります。共著として何編かの論文に関わらせて頂いたので、研究室の発展にほんの少しは貢献できたかもしれません。米国でご夫婦でそれぞれ独立した研究室を運営され、仕事では素晴らしい成果を出し、子育てと仕事を両立されているのを間近で見させて頂いて、濱田先生には本当に尊敬と感謝しかなく、自分には到底できないことだなと思いました。

留学体験記を記す過程で、現職の仕事に忙殺されて忘れていたことを色々と思い出しましたが、それぞれの節目で自分が次に進む方向性を自分自身で決断してはいるものの、決断までの道程で、私の周りいた多くの方々に影響を受け、お世話になり、導いてもらったことに改めて気づきました。濱田先生をはじめ、旦那さんの行川先生、研究室メンバー、米国滞在中に色々相談にのって頂いた富岡先生、吉井先生、そのほかに関わって頂いた多くの方々には本当に感謝しています。

ちなみにですが、濱田先生の研究室は大学院生、ポスドクを随時募集されているそうですので、ご興味をお持ちの方はコンタクトを取ってみてください。

最後に、今回執筆の機会をくださった編集委員の富田淳先生に感謝を申し上げます。

第 30 回日本時間生物学会学術大会開催報告

桑 和彦[✉]

名古屋市立大学 大学院薬学研究科

2023 年度の第 30 回学術大会は、第 45 回日本睡眠学会定期学術集会との合同大会として、2023 年(令和 5 年)9 月 15 日から 17 日の 3 日間、パシフィコ横浜 ノースにて開催されました。本大会は、本来 2020 年度に第 27 回学術大会として、睡眠学会と合同で開催の予定でしたが、コロナ禍で睡眠学会側が中止(延期)を決めたため、時間生物学会はオンラインで単独開催しました。そのため、第 27 回と第 45 回の組み合わせが、第 30 回と第 45 回と変わりましたが(第 46・47 回睡眠学会定期学術集会是 2021・22 年に開催済)、2020 年とほぼ同様の計画で、3 年延期して開催しました。私は 2020 年のオンライン大会でも大会長をさせて頂いたので、2 回目の大会長です。2020 年は柴田重信先生に副大会長を依頼しましたが、今回は大出晃士先生、駒田陽子先生、安尾しのぶ先生の 3 名に副大会長を担当頂きました。睡眠学会側は、柳沢正史先生が大会長、川名ふさ江先生、木村昌由美先生、神林崇先生が副大会長を務め、この 8 名と睡眠学会が運営委託するコンベンションリンケージの担当者(白男川真帆さん、片岡慎太郎さん)が実行委員会として企画・運営を行いました。概要にまとめたように、プログラム委員を学術委員長の柴田先生を含む 10 名にお願いし、睡眠学会側のシンポジウムと内容が重複しないようプログラムを決めました。

睡眠学会と合同といっても、予算規模では大きく開きがあることから、例年と異なりパネリストへの交通費・宿泊などの規定は、睡眠学会側に準じて行いま

した。また、会期も睡眠学会と合わせて 3 日間とし、初日は合同プログラムとポスターブリッツ、2 日目はポスター発表、特別講演と国際シンポジウム、3 日目に時間生物学会独自のプログラムを行う形としました。内容は、睡眠学会との合同シンポジウム 3 個、時間生物学会独自のシンポジウムとワークショップ 6 個、若手コロキウム、奨励賞講演と総会などで、合同開催ということもあり、参加人数、プログラム数とも、過去最高規模になりました(概要参照)。合同懇親会も行い、多くの参加者に楽しんで頂けたと思います。ご協力頂いたみなさまに感謝いたします。

個人的には、長いおつきあいの柳沢先生と一緒に計画できたこと、さらに偶然でしたが 2023 年に柳沢先生と Emanuel Mignot が受賞した Google ブレークスルー賞受賞記念講演を、みなさんに聴いて頂けたこと、特別講演に時間生物側の希望で、ヒトの生物時計の権威 Charles Czeisler を招待し、Amita Sehgal, Joel Levine の 2 名のショウジョウバエ研究者も招くことができたこと、多様な生物の睡眠と時計の国際シンポを開けたこと、3 年ぶりに懇親会が開けたことなどが、本当に良かったと思います。

最後に、会計は睡眠学会側に全て任せていましたが、3 年前の合同大会会場費のキャンセル料(約 700 万円)を返却する目標を達する黒字になったことを報告しておきます。みなさま、ご参加を頂き、ありがとうございました。

【第30回日本時間生物学会学術大会概要】

- ・第45回日本睡眠学会定期学術集会と合同大会
- ・会期：2023年(令和5年)9月15日から17日の3日間
- ・場所：パシフィコ横浜ノース
- ・実行委員：
大会長 条 和彦
副大会長 大出 晃士、駒田 陽子、安尾 しのぶ
- ・プログラム委員：
伊藤 浩史、吉種 光、武方 宏樹、松尾 拓哉、村中 智明、
古池 美彦、富田 淳、志賀 向子、畠山 哲央、柴田 重信（学術委員長）
- ・プログラム：
特別講演 5、国際シンポ 1、合同シンポ 3、単独シンポ 4、
ワークショップ 1、若手コロキウム 1、奨励賞講演 2、ポスター演題 100
- ・参加登録：
時間生物学会 会員 315名 非会員 167名 計：482名
睡眠学会 会員 1,943名 非会員 997名 計：2,940名
重複を除く合計数 3,324名



第 30 回日本時間生物学会学術大会に参加して

高峰 詩由[✉]

京都大学 医学部 人間健康科学科

京都大学若村研究室 4 回生の高峰詩由と申します。
2023 年 9 月 15 日~17 日の 3 日間、パシフィコ横浜ノースで開催された第 30 回日本時間生物学会学術大会に参加させていただきました。どこを見ても熱い議論が交わされている雰囲気にくわくした 3 日間でした。

当初、筑波大学の IIS の見学の後に、この学術大会に参加し、生体リズムについて勉強させていただく予定でした。しかし、初めてポスター発表をした、今年 6 月の日本生理人類学会の大会がきっかけで、発表することになりました。そこでは、朝型・夜型と月経前の肌状態との関係を報告しました。懇親会の会場で、国立精神・神経医療研究センターの北村真吾先生に「時間生物学会でも発表してみてもどうか」と背中を押していただき、やってみようかなという気持ちが芽生え、ポスター発表に挑戦することに決めました。

しかし、発表を決意したのはよかったものの、8 月に自身の予定がすでに決まっており、短い期間で準備せねばならず、想像していた以上に大変なことになりました。結果や考察をまとめるところはもちろん、図表をきれいに作ること、ポスターの体裁を整えることも、まだ慣れておらず、苦戦しました。そのような中で、同じ研究室の先輩である博士課程の初治沙矢香さんに論旨の立て方や考察の組み立て方など、たくさんのヒントを頂き、助けていただきました。他の研究室のみなさんにもたくさんアドバイスをいただき、当初と比べずいぶんときれいなポスターに仕上がりました。この場をお借りして感謝申し上げます。

さて、今回の大会は、日本睡眠学会との合同大会ということで、ポスターだけでも 300 演題近く、講演・セッションも数多く準備されていました。多くの研究者の方々が参加されており、この分野で研究している人がこんなにたくさんいるんだと圧倒されました。セッションの中には部屋からあふれ、通路で聞いている

方もたくさんおられ、その中を移動する先生や先輩についていくだけで必死でした。

初日のポスターブリッツでは、私の発表順番が早かったため、6 月のポスターブリッツの時と比べて、さほど緊張せず、あっという間に終わりました。順番が後半だったら、きっとずっと緊張したままで、後の方の発表を楽しく聞くことができなかつたと思います。ポスターブリッツは、興味を持ってもらうための工夫が多様多彩でしたので、今後の発表の参考にさせていただきます。

2 日目はポスター発表当日でした。私は、「月経前肌悩みの年代ごとの朝型・夜型比較」というテーマで、20、30、40 歳代の 3 つの年代に分け、6 月の学会での内容を発展させて、報告をしました。特に、夜型の肌悩みの特徴について、足を運んでくださったたくさんの方に、関心を持っていただきました。自分の発表テーマに興味を持っていただけたことが嬉しく、また、ディスカッションもでき、有意義な時間を過ごせました。生理人類学会の大会でお世話になった先生にも声をかけていただき、ほっとしました。

夕方には、Charles A. Czeisler 先生のご講演を拝聴しました。研究室では、日頃のゼミで Czeisler 先生の論文を読む機会があるのですが、その論文の著者が目の前にいることにとってもどきどきしました。夜の懇親会では、どうしても Czeisler 先生とお話しし写真を撮っていただきたかったものの、話しかける勇気が出ませんでした。先輩の初治さんをお願いして、九州大学の樋口重和先生のお力をお借りして、一緒に写真を撮ってもらいました。名刺もくださり、大変貴重な機会になりました。もう少し英語ができればもっと話せたのになという心残りも、同時にもっと生体リズムについて勉強しないと、という気持ちが湧き上がってきました。次の学会までには、英語もさらに話せるようになりたいと思います。

✉ takamine.shiyori.86z@st.kyoto-u.ac.jp

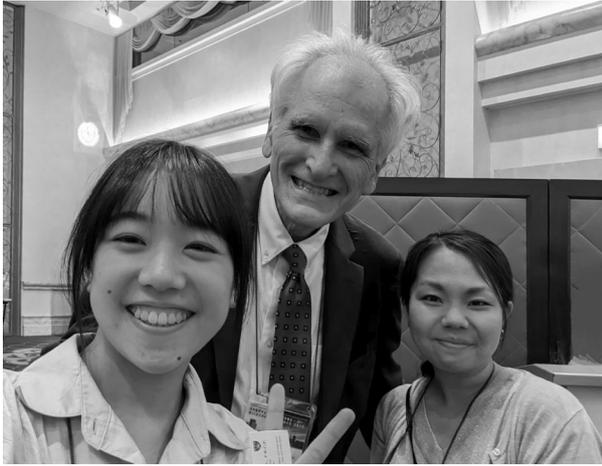


写真1 左から筆者、Czeisler 先生、初治さん

最終日は、ポスターを回収して京都に帰ろうかと会場に行くと、貼り紙に私の名前があり、優秀演題賞に選ばれていることを知りました。Tシャツで表彰式に出ることになってしまいましたが、このような賞がいただけたこともみなさまのおかげです。心より感謝申し上げます。

また、学会期間中に、大学院修士課程に合格したという知らせを受け取りました。今回の学会参加はいろいろな意味で一生忘れられないものになりました。まだこの分野に足を踏み入れたところで、わからないことばかりですが、これからも学び続けようと思います。今後ともご指導よろしくお願いたします。



写真2 表彰式（筆者は右から2番目）

2023年度日本時間生物学会 優秀演題賞受賞者(13名)
(閉会式の前に表彰式があります)

JSC15 高峰 詩由	JSC79 向井 歩
JSC19 丹 由美子	JSC86 谷川 未来
JSC23 大橋 路弘	JSC89 村上 温美
JSC43 中川 哲	JSC109 田宮 寛之
JSC52 太田 暉也	JSC113 福島 優樹
JSC63 中川 颯也	JSC115 田母神 さくら
JSC68 池田 ひかり	

第 30 回日本時間生物学会学術大会に参加して

池田 ひかり[✉]

奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科

2023 年 9 月 15 日 (金) ~ 17 日 (日) の 3 日間にわたり横浜で開催されました第 30 回日本時間生物学会と日本睡眠学会第 45 回定期学術集会の合同大会に参加いたしました。私は COVID-19 のパンデミックが始まったタイミングから学術大会に参加し始めたため、大会自体の中止やオンライン開催が多く、対面で発表を行えたのは今回の学術大会が初めてでした。そのため、自分のポスターをケースに入れて会場に持っていくことに密かに憧れており、それが叶った喜びを覚えています。また、出身地での開催ということでどこか懐かしい気持ちで会場に向かいました。

今回は合同大会ということもあり、馴染みがない分野も多くありましたが、どれも面白そうで、時間生物学会、日本睡眠学会の内容を問わず発表に聞き入りました。特に興味深かった内容は合同ワークショップ「数理が導く新しい時間生物学」でした。普段は実験をメインで行っているため、数理は気になるけれどもなかなか手の出せない分野だなと感じていました。発表者の一人、徳田先生の発表内容が、私が行っている根にも焦点を当てた研究であり、親近感を持ちました。数理モデルを用いることによって、私の研究がさらに発展するのではないかと考え、心を躍らせました。数理が少し身近な存在になったかもしれません。このような、ふとしたときに、自分の研究と異分野の研究が繋がる時の高揚感は学会ならではの楽しみだと思っています。できるだけ多く興味のある発表を聞きたいと思っていたため、時間帯がかぶっているシンポジウムのいずれに参加するかを決めるのはとても心苦しかったです。

ポスターセッションでは、「地上部の概日時計による根毛伸長メカニズムの解析」と題して発表させていただきました。所属研究室は植物の根に生える毛状の器官、根毛の長い部分と短い部分が周期的に現れることを発見しました。現在、私は共同研究者と開発した機械学習モデルを使用して根毛長を測定、解析するこ

とで概日時計と根毛伸長メカニズムについて研究しています。ポスターでは、根毛長の周期性の形成に地上部の光受容と概日時計が重要であることに加えて、地上部から地下部への長距離シグナル因子の候補について発表しました。発表が始まると、多くの方がポスターに訪れてくださり、様々なご質問やコメントをいただきました。ディスカッションを通して、自分自身の研究を見直すきっかけになり、長距離シグナル候補因子の提案などの新たな視点を得られる実りある楽しい時間となりました。オンラインと比べて、実際に顔を合わせて話すことが私には合っており、議論が弾んだことは対面ならではの良さだなと実感しました。そしてありがたいことに優秀演題賞を戴くことができました。研究及びポスター作成を支えてくださった研究室の先生方、学会発表に快く送り出してくださった共同研究者の方々、そして発表に足を運んでくださった皆様に感謝申し上げます。

博士後期課程の修了後は、一般企業に就職する運びとなりましたが、今回の学術大会への参加で多くの方とディスカッションを行うことができ、興味深い研究に出会い、大会の雰囲気を楽しめたことは充実した経験でした。学生のうちに本大会に参加できたことに嬉しさを感じつつ、緊張していた今回よりも、2 回目の参加はきっと楽しいのだろうと、来年度の学術大会へ参加を迷っています。研究をしていない一般企業の社員がひっそりと大会に参加してもいいのでしょうか。気になります。

最後になりましたが、ハイブリッド方式 (現地開催 / ライブ配信 / オンデマンド配信の併用) で開催された本合同大会の企画運営をしてくださった糸先生をはじめとする大会準備委員の皆様、関係者の方々に心より御礼申し上げます。そして参加記執筆の機会を賜りました編集委員の皆様にも深く御礼申し上げます。今後の時間生物学と日本時間生物学会の発展を願い、結びとさせていただきます。

✉ ikeda.hikari.ie7@gmail.com

第30回日本時間生物学会学術大会 参加記

村上 温美[✉]

大阪大学 大学院理学研究科 生物科学専攻

この度、大会参加記を執筆させていただきます、大阪大学大学院博士後期課程3年の村上温美と申します。私は、子育て時期の母マウスの母性行動や摂食行動が概日時計によってどのように制御されているかについて研究しています。今まで、生理学や神経系の学会に参加しましたが、博士論文の執筆に向けて時間生物学をメインに活躍されている方々からのご意見を頂戴したく、昨年の9月に横浜で開催されました今大会にポスター発表で参加させていただくことにしました。

今大会で初めて経験することになったのが、ポスターブリッツです。30秒でポスターのアピールをする、というものでしたが、30秒でいったい何が話せるのか、どこをアピールすべきなのか首をひねるばかりでした。先生方のご指導のもと、なんとかスクリーンに映すA4のプリントと原稿を完成させ、学会初日はマスクの下でぶつぶつと原稿をつぶやきながら過ごしました。本番は30秒以内に収めることができ、一安心で自分のあとの演者の方々の発表を聴いていました。個性的な発表の数々で楽しく聴かせて頂きました。スクリーンに映される視覚情報を効果的に使いながら、短い時間で研究内容のインパクトを残す難しさも感じました。

2日目の午前のポスターセッションでは、多くの研究者の皆様へ足を運んでいただき、貴重なご意見を頂戴することができました。自分がおこなった研究を、こんなにも多くの方々が興味を持ち、面白がってくださっていることを実感でき、とてもうれしく思いました。様々な質問をいただく中で、博士論文執筆に向けてしっかり調べておくべきことや、検討する必要があることが明確になったように思います。私はマウスの子育て行動について研究をおこなっていますが、栄養学的な観点やヒトの臨床での応用、子育て経験者の体験談と反省など幅広い視点でのコメントはとても興味深いものでありました。途中、他のポスターを見る

ために、その場を離れることもありましたが、ポスターセッションの前半と後半合わせて2時間ほど皆様とお話させていただくことができありがたい限りでした。ポスター会場を見て回っていると、以前読んだ論文の著者の方がポスター発表されていて、有名人に会ったかのような気分になりました。私の研究と絡めた質問にも前向きに答えてくださり、とても参考になりました。また、今回の発表で優秀演題賞に選んでいただきました。多くの素晴らしい発表がなされている中から選出いただき、大変光栄に思います。私のポスターに足を運んで議論を盛り上げてくださった皆様へこの場を借りて御礼申し上げます。ありがとうございました。

3日目のシンポジウムではメダカやキノコ、クマといった、様々な生物種に関する講演が印象的でした。概日リズムだけでなく、概年リズムや時系列データの解析といった生体リズムを通して様々な生物の研究を知れる点が、時間生物学会の面白いところなのだなと思いました。

また、今回は日本睡眠学会との合同開催だったことが特徴であったと思います。今まで目にする機会が少なかった睡眠に関する臨床での症例報告のポスターや不眠症の治療に関するランチョンセミナーなども興味深く拝見拝聴させていただきました。シンポジウムなどの口頭発表でも多く見られました、睡眠時無呼吸症候群の治療が注目のトピックであることが感じ取れました。

今回の学会では、ポスター発表でのディスカッションを通して自分の研究をより深めることができ、また最新の研究にも触れられ、大変有意義な時間を過ごすことができました。最後になりましたが、指導教員の大阪大学 富永恵子先生、ポスター作製にご助言くださいました京都大学 岡村均先生、賞状の郵送など手配して下さった大会運営スタッフの皆様へ心より感謝申し上げます。

✉ amurakami@bio.sci.osaka-u.ac.jp

日本睡眠学会第 45 回定期学術集会・ 第 30 回日本時間生物学会学術大会 合同大会に参加して

齋藤 祐希[✉]

宇都宮大学大学院 地域創生科学研究科 工農総合科学専攻 分子農学プログラム 生物有機化学研究室

私の生まれ故郷である神奈川県横浜市で 2023 年 9 月 15 日～17 日に開催された日本睡眠学会第 45 回定期学術集会・第 30 回日本時間生物学会学術大会合同大会に参加致しました。横浜といえば家系ラーメン。学会会場に向かう前に家系総本山吉村家詣をしました。飯郷先生曰く、栃木家の方が煮卵がおいしいとのことでした。私もそう思います。

日本時間生物学会学術大会には 2 回目の参加になります。前回の第 29 回日本時間生物学会学術大会は宇都宮大学峰キャンパスで開催されましたが、当時は運営に携わっていたので、じっくりと他の方々の発表を拝聴する余裕がありませんでした。今回は他大学のみなさんや企業の方々の様々な内容の研究発表を堪能することができ、知的好奇心がくすぐられる体験となりました。様々な発表を拝聴して感じたことは、「時間生物学」という学問は奥が深く、まだまだわからないことだらけであるからこそ魅力的な学問であるということです。恥ずかしながら、この学会に参加する直前まで「時計遺伝子とはなんぞや？」という状態であったため、基礎から勉強し始め、シンポジウム等の内容についていけるよう備えておりましたが、やはりまだまだ勉強不足であることを痛感しました。参加する毎に少しでも時間生物学の知識を深めていきたいと思っております。

前回に引き続き、日本時間生物学会でポスター発表をさせて頂きました。演題名は「アユ (*Plecoglossus altivelis*) におけるセレノプロテイン遺伝子の網羅的同定、組織発現プロファイル、および mRNA 量の日周リズムとサーカディアンリズム」です。生理的機能が不明な遺伝子が未だ残されているセレノプロテイン遺伝子群の網羅的機能解明を目指して卒業論文研究を開始し、「セレノプロテインは体内時計および季節繁殖制御に関与するのか？」という作業仮説の検討を開始しました。セレノプロテインはゲノムにコード

される「21 番目のアミノ酸」と呼ばれるセレノシステイン(システインの硫黄原子をセレン原子に置換したアミノ酸)を持つタンパク質で、オパール終止コドン UGA が mRNA の 3'非翻訳領域に存在する selenocysteine insertion sequence という tRNA 様構造の助けを借りるとセレノシステインがコードされてタンパク質に挿入されます。硬骨魚類のアユを対象として mRNA-seq データから同定した 35 種のセレノプロテイン遺伝子の発現部位をリードのマッピングによりまず同定しました。リアルタイム PCR (qPCR) によりセレノプロテイン遺伝子群の脳における mRNA の明暗条件下における日周リズムの有無を検討し、さらに恒暗および恒明条件下におけるサーカディアンリズムの有無、すなわち時計制御遺伝子であるかどうかを検討しました。384well プレートを用いた大量の qPCR はまさに修行でした。ポスター発表を聞きに来てくださった東京大学の南陽一先生などから、研究方法に関する詳細なコメントや「論理的に説明ができることを意識するように」と、今後の目指すべき方向についての的確なアドバイスをいただけたことを大変感謝しております。

懇親会では、色とりどりの美味しいお料理を囲みながら談笑に耽りました。豪華なお料理を囲み、学術的な話に花を咲かせる時間が何にも代えがたい貴重な機会となりました。第 29 回宇都宮大会の運営にともに携わった中村孝博先生、渡辺和人先生、明治大学の学生さんたちと再会したときの感動はもちろんですが、Zoom 上でしかお会いしたことがなかった先生方と実際にお会いできたときの感動は計り知れませんでした。対面の学会は良いものですね。第 30 回日本時間生物学会学術大会長の糸先生のお話によると、新型コロナウイルスがアウトブレイクしたこともあり懇親会開催は久しぶりとのことでした。そのためか、閉会式後も会場に留まる参加者が多く、ホテルスタッフに誘導されてその場を後にする参加者が多くいら

✉ mc236575@s.utsunomiya-u.ac.jp

したのが印象的でした。

私が最も興奮した体験は、Charles A. Czeisler 先生に突撃名刺交換&記念撮影をお願いしに行ったことです。その時の Czeisler 先生は、お食事中にも関わらず私たちのリクエストを快くお引受して頂きました。後から考えると申し訳ない気持ちで一杯です。当時の私たちは Czeisler 先生の細かい研究内容を知らずに突撃したわけですが、当日宿泊先への帰り道で飯郷先生から睡眠医学やヒトのメラトニン研究の権威であることを聞いて大変恐縮しました。Czeisler 先生以外の海外の研究者にも話しかけに行きましたが、も

っと英語がうまく話せたらどれだけ会話が盛り上がっただろうと今でも残念な思いです。研究と平行して英会話にも力を入れていきたいと思います。これらの体験をきっかけに私もいつかポスター賞を受賞できるくらいの研究成果を出せるよう努力を続けることをここに宣言します！

末筆ながら、本学会の発表準備のために多大な時間を割いていただき、人生でまたとない体験をさせていただいた指導教員である飯郷先生や研究室メンバー、大会および学会関係者のみなさまにこの場をお借りして心から厚く感謝と御礼を申し上げます。



写真1 横浜といえば家系
家系総本山吉村家と家系ラーメン。



写真2 横浜といえば夜景
大行列でコスモクロックには乗れませんでした。



写真3 ポスター発表
アユのセレノプロテイン。



写真4 学会の楽しみは懇親会
ヨコハマグランドインターコンチネンタルホテル3F「ボールルーム」へ。



写真5 懇親会の楽しみはお料理とデザート
ケーキをたくさんとってご満悦なのはだあれ？

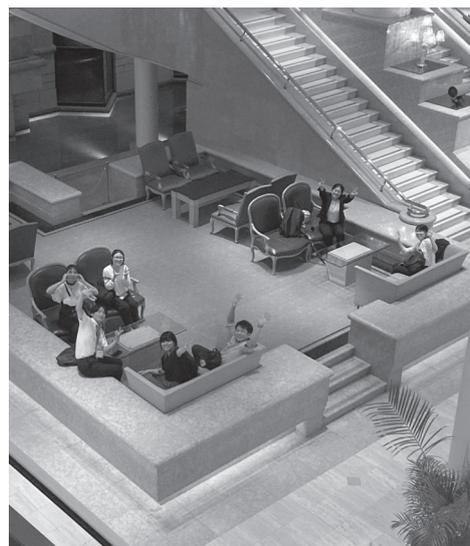


写真6 懇親会終了後
ロビーでくつろぐラボメンバー。

生物リズム若手研究者の集い 2023 参加録

梶 穂高[✉]

九州大学大学院 芸術工学専攻

2023年11月26日から27日まで静岡県御殿場市にある御殿場高原時之栖で開催された生物リズム若手研究者の集い2023に参加してきました。

私は修士課程の2年生で、概日リズムが示す周期のゆらぎの理論研究を、九州大学大学院芸術工学研究院の伊藤浩史先生のもとで取り組んでいます。数理モデルを用いて、周期ゆらぎがシグナル伝達によってどのように変化するかを調べており、その結果をもとに、生物の種類を問わない普遍的なゆらぎ制御の設計原理を構築しています。研究会ではこの構築した理論についてのポスター発表を行いました。

本研究会では、4人の先生方による講演、ポスター発表、そしてディスカッションの時間がありました。始めに自然科学研究機構分子科学研究所の秋山修志先生のご講演では、淡水性や海洋性などの様々なシアノバクテリアのKaiCのホモログを調べることで、どのような過程で今のような概日リズムを持つようになったのか、そして、今後異なる惑星の周期への適応可能性など、概日リズムの過去と未来について語られました。

二人目の筑波大学医学医療系・IHSの平野有沙先生のご講演では学振DCやPDに採択されるために気をつけることだけでなく、将来的な研究計画書の作成において役立つヒントや方法についてもわかりやすくアドバイスしてくださいました。また、先生が海外で研究していた頃、研究計画書をラボの人に見てもらい厳しい意見をもらいつつ最後には「いいね!」と言ってもらったというエピソードが印象的でした。

3人目の立命館大学の徳田功先生は非線形力学と生体のリズムに関してご講演をされました。その中でも、私はヒトに近いサル類は、なぜ言葉を話すことができないのに、ヒトは言葉を話すことができるのかという内容に非常に興味を惹かれました。サル類は叫び声などの大きな声を出すために、声帯が複雑化している一方で、安定性に欠けており、逆にヒトの声帯は

より単純であるため、安定で明瞭な音を伝達できると知りました。

最後に、名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所の金尚宏先生は、大学の研究者と民間の研究職との違いに関するご講演をされました。製薬会社の研究職の仕事はもちろんのこと、民間の研究者とアカデミックな研究者の考え方の違いについても知ることができました。特に、民間の研究者ほど論文の評価は厳しく、アカデミックな世界での評価とは異なることがあるということを知った時には驚きでした。一口に研究者と言っても、民間と大学では様子が違うということを知って知りました。

グループディスカッションは1日目と2日目にメンバーを入れ替えて行われました。実験研究を主にこなしている方々からの意見を聞き、新たな視点や意見を交換する良い機会となりました。また、所属する研究室では扱っていないマウスの概日リズムやメダカの概年リズムの研究などに触れることができ非常に面白かったです。

研究会の最後には、1日目に行われたポスター発表から選出された若手奨励賞の受賞者が発表されました。この若手奨励賞は今回から始まったもので、ポスター発表者の中から参加者が一人一票投票し決まります。私は幸運にも多くの方々にご評価いただき、受賞者の一人に選んでいただきました。普段、伊藤浩史先生から研究内容に関してだけでなく、作図やスライド、そしてポスターのデザインに関する継続的な指導が、この受賞につながったと感謝しております。

本研究会では短い期間でしたが、他研究室の学生や若手研究者の方々とつながりを築くことができたことが、私にとって最も意義深い経験でした。来年も是非参加したいと思っています。

最後に、研究会を準備して下さった世話人の皆様に深く感謝いたします。

✉ kaji.hotaka.601@s.kyushu-u.ac.jp



写真 1. 研究会集合写真



写真 2. 若手奨励賞受賞者たち

国際時間学会 第18回トリエンナーレ大会

松村 律子[✉]

山口大学 時間学研究所

2023年7月2日から6日間、国際時間学会の第18回トリエンナーレ大会が日本時間学会および時間学研究所との共催で山口大学にて開催されました。新型コロナウイルスの影響で、1年延期されての開催でした。国際時間学会（International Society for the Study of Time, ISST）は、理系文系を問わず分野を超えて多様な時間の側面を探求することを目的とした学際的組織で、時間に関する学際的研究の第一人者 Julius Thomas Fraser 先生により創設されました。ISST と私の所属先でもある山口大学時間学研究所とは、2015年より国際セミナーの共催や研究協力といった連携活動を行ってきました。今回の大会は、これらの活動を通じて親交を深めていたラジ・シュタイネック先生（2023年度までのISST会長、チューリッヒ大学）が日本学の専門家であることも後押しして、山口大学での開催が決まりました。

実は山口市では6月30日から翌1日にかけて記録的大雨となり、海外から参加の方の多くが山口入りするタイミングで、新幹線の遅延が生じてしまいました。さらに、新山口駅から山口大学最寄り駅までの路線は運休しました。駅で足止めされている方々からの状況報告が、メーリングリストを通じて私にも次々と送られてきました。私はそれらを見ているうちに、一人でなんだか申し訳ないような気持ちになっていました。しかし、そのうち「最寄り駅まではバスを利用すれば安く行けるよ」と情報共有してくださったり、「世界最速の鉄道網の1つでじっとしていると、時間が確実に伸びる…これ論文になるかな?」といったコメントをくださったりして、ポジティブに状況を乗り切ろうという雰囲気醸成され、当事者でない私のほうが安心させられました気がしました。

心配された翌2日の学会初日には天候も落ち着き、食事会や国宝瑠璃光寺五重塔の見学、能の鑑賞など歓迎イベントが予定通り行われました。エクスカッションが行われた4日目以外は朝8時半から18時まで、口頭発表が行われました。発表内容は、時間について

科学、芸術、社会学、哲学、文学など様々な分野の視点から研究された内容で、バラエティに富んでいました。芸術を専門とする方の作品展示のための展示室も設けられ、作品の形態も、映像、写真、インスタレーション作品など多様でした。すべての内容をきちんと理解できたかは自信がありませんが、多様な観点から捕らえられた時間について知ること、それを通じて“時間とは”ということについて考えを巡らせたことは、時間学研究所に身を置く者として、大変有意義なことでした。

私個人のことを少し述べさせていただきますと、JT Fraser Memorial Lecture Speaker として招待を受け、1時間程度の発表を行いました。どう考えても身に余りすぎる大役で、当初は正直困惑しましたが、今になって振り返ると、貴重な体験をさせていただいたと、感謝の気持ちしかありません。ですが、それまで英語での口頭発表経験がなかった私がいきなり1時間も話せるわけがありません。一部は原稿を読もう。そう考えて準備していましたが、なんと、トラブルで原稿画面がスクロールできない状況になりました。今これを読んでくださっている方にもご経験があるかもしれません、どうしてこうも、よりによって今！ということが起こるのでしょうか。状況は改善しなかったもので、「ええい、ままよ!」とおぼろげな記憶をたよりに話すしかなくなりました。

そんなこんなでしたので、私の英語がどの程度伝わったかわかりませんが、質問時間にすぐ質問をいただけたということは、それなりに伝わったのだろうと勝手に良いほうへ考えています。日本語が流暢なシュタイネック先生や、小山恵美先生のサポートもあり、質問時間も無事に終えました。印象的で大変ありがたかったのは、講演終了後に多くの方が次々と声をかけてくださったことです。それは労いであつたり、これ知ってる? という話だったり、いろいろでしたが好意的に受け入れられた感じられて、うれしかったのを覚えています。

✉ rfriz44@yamaguchi-u.ac.jp

最終日のクロージングバンケットにも参加させていただき、日ごろの”自分の味“とは異なる”外の味“に感激しながら(普段ご自身が食事を作られておられる方にはきっとご理解いただけると思います。)、久しぶりのお酒も楽しみました。諸事情により両隣が現 ISST 会長と次期 ISST 会長という席に座っていたため、食事の内容や食べ方について英語で解説して差し上げたりしていると、あっという間に時間は過ぎていきました。最後に、シュタイネック先生へ貴重な機会をくださったことへの感謝を伝え、帰途につきました。

大会に参加していて個人的に良いなと思った点があります。口頭発表の発表形式です。各パネル枠につき4名程度が発表するのですが、同じパネルの発表を先に全て終えてから、全員分の質問時間が設けられていました。この形式ですと、質問する側は質問を考えたり整理したりする時間に余裕ができますし、発表者側も発表を終えて一息ついてから落ち着いて答えることができるのでは、と思いました。進行の時間調整もしやすくなるのではないのでしょうか。私がこれまでに参加したことがある学会の数が少ないため知らなかっただけで、珍しい形式ではないのかもしれませんが、特に若手の発表の場ではこの形式は良いのではないかと感じました。

ところで、山口市のような小さな地方都市で国際学会が開かれるのは珍しいため、今大会の開催は新聞やテレビに取り上げていただけました。また、開催準備等にあたって(一財)山口観光コンベンション協会様にご協力いただいた縁で、協会のPR動画に今回の大会の様子がおさめられています。2024年2月現在、協会HPで見られますので、ご興味のある方はぜひご覧になってください。とても素敵な動画に仕上がっています。そして、2024年が明けてすぐ、驚きのニュースがありました。昨年、盛岡市が選ばれ話題となったニューヨーク・タイムズ紙が選定する、2024年に行くべき52カ所の一つとして山口市が選定されたのです。研究所スタッフの方とISSTの開催が影響したのでは、と冗談のように話していますが、今後もぜひ国内外問わずたくさんの方に来ていただきたいです。

最後は山口市アピールになってしまいましたが、今回、時間というキーワードを軸に、文理関わらず分野を横断した発表が行われるこのユニークな学会を、国内唯一の時間に関する研究所、時間学研究所を持つ山口大学で開催されたことは、大変意義深いことだったと思います。個人的にも改めて時間の多様性、研究対象としての面白さを認識する良い機会になりました。また、国際学会の主催者側の経験ができたことも、有意義なことだったと思います。今回の経験を今後の研究活動に活かしていきたいと思います。



写真1. 大会初日の歓迎食事会 歴史的施設(元々は料亭)「菜香亭」で行われました。100畳の大広間です。



写真2. 著者の発表直前の様子 緊張しています。



写真3. 口頭発表の様子 発表はステージ左の演台の前で行い、全員が発表した後こちらの席で質問を受けていました。

SfN2023 と寄り道 NYC の追憶

宮崎 翔太[✉]

明治大学大学院 農学研究科 生命科学専攻

2023年11月11日から15日まで、米国ワシントンD.C.のWalter E. Washington Convention Centerで開催されたNeuroscience 2023 (SfN2023)に参加しました。正確な数は把握していないのですが、聞くところによると3万人ほどの参加者がいたようです。大会前、SfN参加経験のある指導教員の中村孝博先生には「フェスみたいだぞ。ビビんなよ。」と茶目っ気たっぷりに言われ、返す刀で「マジっすか!」と勢いよく返事しつつも、フェスの類に参加したことがないので実際のところワケも分からず返事していたことになるのですが、会場に来ると確かにそこはフェス会場でした。

そのフェス会場では数多くのポスターボードと名だたる企業ブースが軒を連ねていました。まず、ポスターボードを数えようと思い、会場を端から練り歩くことにしました。演題のカテゴリー毎にアルファベットで区分けされていたのですが、Aのセクションには何個、Bのセクションには何個、C, D...からZまで数えて500個を超えるボードを確認し、さらにその先にAA, BB...と続いているのを見てもう数えるのをやめました。おそらく1,000個以上のポスターボードがあったと思います。写真を付していますので、その規模が伝わっていますと幸いです。また、ポスターセッション

は毎日午前と午後で4時間ずつ設けられているのですが、割り当てられた発表が終われば撤収しなければなりません。このボードの数をもってしても足りない演題数なのかと驚きました。一方では大会最終日、レクチャーが行われていたホールの撤去作業に紛れて、並べられていた椅子をしれっと数えたのですが、そこには約7,000もの椅子が並べられていました。発表演題はみなさんが想像に難くない“ザ・Neuroscience”な研究だけでなく、個人的に気になったのはタコの睡眠の研究や、灌流システムを備えたSCNスライス培養皿を3Dプリンターで作るというテクニカルな演題もあり、Neuroscienceを合言葉に色んな角度からやって来た数多くの研究者が一堂に会していました。

本大会ではその演題数の多さゆえに、大会のために作られたアプリをインストールして目当ての演題を選び、あらかじめスケジュールに登録しておくことが推奨されていました。ポスター発表や口頭発表、レクチャー形式などの非常に多くの演題が同時進行しているため、アプリのスケジュール管理を頼りに、色々な会場をせっせと行き来していました。

夕方には、主に会場近くのWestinやMarriottのような高級ホテルで、“Social event”という催しが日々開催されていました。これは、出身大学や研究内容のような、ある特定の κατηγοリーで集う懇親の場となっています。しかもタダです。初日に参加したSocialでは、講演をいくつか聞いた後にビュッフェスタイルの懇親会が行われ、また別の日では懇親会だけのSocialもありました。中でも、「The Sleep and Circadian Biology DataBlitz」のSocialでは、睡眠と時間生物学分野の研究者が集い、お酒やご飯を嗜みながら、選ばれた20演題のデータブリッツを聞く時間が企画されていました。そのカジュアルさも相まってなのか、Undergradと紹介されるとみんなで「Ohhhhh!!」とか、時間を過ぎてしまうと一斉に「Boooo!!」みたいな、海外独特のオーディエンスの“ノリ”があって楽しかったです。



写真1 ポスター会場（中央、右）と企業展示ブース（左）
画角に収まりきれないエリアがまだある。

さて、私は Nanosymposium というシンポジウムでの 15 分の口頭発表演題に選出され、栄誉なことと思う一方で発表のプレッシャーを感じていました。大会が近づくにつれ不安と緊張が増し、夏ごろから空はずっと鈍色に見えていたような気がしましたが、同じシンポジウムでは私の発表を挟む前後に名古屋大学の小野大輔先生と筑波大学の李若詩さんが控えており、睡眠研究の発表者が多い中そこだけ SCN 研究の仲間と固められていたので、会場で実際に対面すると幾分かモヤが晴れた気がしました。

本大会では、各々が分刻みのスケジュールを組んで会場を歩き来する状況はすでにお話しした通りですが、シンポジウム当日、私たちの前に控えていた発表者の一人が欠席していることが伝えられました。座長の方は、なるべく欠席の分を埋める意味で、発表者全員に「ゆっくり喋っていいよ」と気遣ってくださったのですが、みなさん大体持ち時間ぴったりで進んでしまったため、小野先生の発表目当てでスケジュール通りに会場入りするとすでにその発表の終盤で、続く私の発表を聞かされた、という人もいたみたいです。しかしそのハプニングもあって、シンポジウムに来てくださったワシントン大学の Erik Herzog 教授が直々に私たちに声をかけてくださり、みんなで会場外のテーブルを囲んで、聞けなかった小野先生の発表を仕切らなすことにしました。またついでに私自身の発表で、公の場ではうまく答えられていなかった質問についても、このとき丁寧に解説してくださり、みんなでディスカッションしました。私自身、Neuroscience の解像度がまだまだ低いことを痛感しました。

空いた時間には、D.C.の街並みを散策した他、ホワイトハウスやスミソニアン博物館（国立自然史博物館と国立航空宇宙博物館）にも観光しました。ホワイトハウスは外から眺めただけですが、博物館は全部回り切った頃には足がパンパンでした、また、前年の 2022 年度に UCLA の Chris Colwell 研究室に 1 ヶ月だけお邪魔させていただいたことがあったのですが、そこで友達になった大学院生の Damion と SfN の会場で偶然再会し、熱いハグを交わしました。Damion はマーモセットを利用した Psychophysics 的な研究をしていて、時計関連の学会ではおよそ会うことはないでしょうが、Neuroscience という合言葉があったからこそ再会できた縁だと思います。

大会が終わった後ニューヨークへ寄り道して、コロンビア大学の Rae Silver 教授の研究室を訪れました。そこでも自身の研究についてディスカッションした他、Silver 研究室から最近発表された portal system の whole brain imaging を見せてもらいました。さらには、Silver 教授夫妻がメトロポリタンオペラの「La Bohème」というオペラに招待してくださいました。オペラ鑑賞は人生初めてで、オペラグラスと手元の字幕の行き来でアタフタして、ミーハーまるだじだったと思いますが、芸術をどっしり構えて堪能できるように、ジャンルを問わずたくさんの作品に触れなければと思いました。そしてこの磨かれた芸術の感覚を学術論文にも落とし込んでいきたいと強く思いました。

また、空いた時間に一人でタイムズスクエアを散策していると、なんだかなじみのある、しかし明らかに違和感のある夢の国のネズミたちに囲まれ、腕を絡め



写真 2 シンポジウム会場にて



写真 3 感動の再会

られ「一緒に写真撮ってあげるよ」と言われました。突然のパーソナルスペースへの侵入と、肌で伝わるコスプレの“なま感”に身が凍りつつも、スマホを渡してタイムズスクエアを背景にばっちり撮影してもらいました。すると撮影後に「チップチップチップ」と言ってきたので、ここでようやく（ははーん。なるほどねえ。）と思い、まんまとハメられたことに気づきました。彼女たちには20ドルも要求されたのですが、一方で（撮ってもらったしなあ。）という思いもあったので、話のネタになるならと3ドルに値切って追い返しました。なのでこの参加記執筆の機会にきっちり3ドル分しがんでいきたいと思えます。後で見聞きした情報によると、チップはあくまで optional なのと、また、スマホを渡してしまうと持ち逃げされることもあるみたいです。そしてこのビジネス、タイムズスクエア以外にも世界の観光地でも行われているみたいなのでぜひ気を付けてください。

今回の海外渡航ではニューヨークへの寄り道も含めて計10日間ほど滞在していましたが、終わってみると一気に過ぎていったような気がしています。それほどまでに毎日が新鮮で楽しかったのだらうと思えます。今これらの体験を書き起こしてみても、ここに記した1段落1段落が、それだけでは表現しきれないくらい色濃い思い出であると記憶しています。会いたい人にも会えて、思いがけない出会いもあって、有意義なディスカッションもできて Neuroscience の最先端にも触れられて、海外の文化も堪能できて、旅費と会費と円安（と物価高）のダメージが心配でしたが、それを大幅に上回るリターンがあったと思えます。中村孝博先生と小野大輔先生には本渡航にあたって常にサポートしていただきました。特に滞在中のホテル

で夜な夜なディスカッションしたアツい夜を忘れません。この場を借りて厚くお礼申し上げます。私自身もうすぐ長い学生生活が終わってしまうのですが、振り返ってみると、毎年時間生物学会はもちろん、海外の大会としてはEBRS、SRBR、そして今回のSfNを学生のうちに経験することができました。決して楽なことばかりではありませんでしたが、終わってみて「行かないきゃ良かった。」と思ったことは今のところ一度もありません。帰国後、後輩には「海外に行けるチャンスがあれば積極的につかみに行くように」と偉そうに言うておきました。日々の研究活動を通じて、タイムズスクエアの撮影隊に屈しない頑丈なフィジカルと強靱なメンタルを身につけてほしいと切に願っています。



写真5 メトロポリタン歌劇場の前にて



写真4 大会最終日、お疲れさまのディナー



写真6 悪夢の国へのいざない

第 31 回日本時間生物学会学術大会のお知らせ

本年の第 31 回日本時間生物学会学術大会の大会長を仰せつかりました富山大学の池田でございます。みなさまに新年のご挨拶と大会のご案内をと考えていたところ、元日から能登半島を震源地とする最大震度マグニチュード 7 規模の地震が発生し、関係各位にご心配をおかけしております。お隣の石川県では 240 名をこえる死者を、富山県でも 3 名の重傷者を出す激甚災害であり、まずはこのたびの能登半島地震により被災された皆様ならびにそのご家族の皆様にご心よりお見舞い申し上げます。今年の富山大会は、当初、11 月 16 日（土）～17 日（日）の 2 日間を予定しておりましたが、スイスクロノバイオロジーミーティングを主催するフリブール大学の Urs Albrecht 先生から、ジョイントしてミーティングを開催してはとのお申し出もあり、また、米国オレゴン健康科学大学の Charles Allen 先生や、国立台湾大学の Shih Kuo Chen 先生など兼ねてから親交のある海外の研究者もご参集いただけるとのことで、11 月 15 日（金）に国際デーを加えて 3 日間で開催することといたしました。こうした連絡を海外の研究者としている最中での地震の発生であり、海外からも被災状況について心配するメールや問い合わせを多数いただきました。幸い富山市内の被害は、報じられるほど大きくはなく、富山大学の被害は、弓道場の窓ガラスの一部が割れたり、図書館の書籍が散乱する程度に収まりました。新幹線を含め交通インフラも正常であり、秋の学会開催には何ら影響がないことをお知らせしておきます。一方で、Google マップで震源地との直線距離を測ってみると、震源地である能登半島の先端と、富山市の距離は意外と近く、100KM 弱しか離れていないので、被害が少なかったのは奇跡的で、海外の先生方が心配するのも無理はないと思う次第です。被災地ではなお水道や電気が不通な場所も多く、仮設住宅の設営もまだまだこれからという状況を考えると、平和に安心して体内時計を論じることができることは改めて幸せなことだと感じられます。富山大会では、海外からの参加者を含めた国際的な学術交流、冬眠生物学や時計タンパク質といった生命科学分野のカuttingエッジな話題提供、さらには時間薬理から教育学分野に及ぶ「時間生物学の社会実装」までを網羅したシンポジウムを予定しています。これまで好評であった若手コロキウムや、データブリッツも継続して開催し、会を盛り上げたいと思っています。もちろん、学会の主役は最新の話題満載のポスター発表であることは今さら述べる必要はありません。シンポジウムの概要や、演題・参加登録などの情報につきましては、大会ホームページよりご案内いたしますのでぜひご覧ください。皆様のご参加を心よりお待ちしております。

第 31 回時間生物学会学術大会
会長 池田 真行
(富山大学 理事・副学長)

【大会概要】

11 月 15 日（金） 国際シンポジウム （於 富山大学理学部多目的ホール）

11 月 16 日（土）～17 日（日） 第 31 回日本時間生物学会学術大会 （於 富山国際会議場）

大会ホームページ：<https://jsc31.org/>

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

『第22回（2024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 岩崎秀雄

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、この要領およびオンライン申請フォームの記載事項をよく読んで下さい。なお受賞者は、2024年11月16日（土）～17日（日）に富山大学で開催される第31回日本時間生物学会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. 応募年度の4月1日時点で、博士学位の取得後11年以内、または、修士学位・6年制課程学士学位（医学部、歯学部、獣医学部、薬学部など）の取得後13年以内であること。ただし、産前・産後の休暇、3か月以上の育児休業を取得した場合は、男女を問わず1回の出産につき1年、学位取得後年数の延長を認めます。また、介護休業を取得した場合は、その期間、学位取得後年数の延長を認めます。その他、激甚な災害等不測の事態や、療養などによる研究活動の中断・遅延を考慮します。

応募締切日：2024年6月20日（木）必着

応募方法：オンライン申請フォームにアクセスし、必要な情報を記入の上、以下の応募書類をアップロードしてください。

応募書類：以下の情報を一つにまとめたpdfファイルをアップロードしてください（字数は制限しませんが、10Mb以内、および8ページ以内を目途としてください）

1. 候補者氏名
2. 職歴（ライフイベントに関わる配慮事項がある場合、その旨記載してください）
3. 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）
4. 時間生物学会あるいは他学会等での表彰歴
5. 本件に関する連絡担当者名とメールアドレス（他薦の場合は推薦者、自薦の場合は本人）
6. 業績
 - (1) 研究課題名
 - (2) 研究成果の内容
 - (3) 論文リスト：年代の新しいものから列記してください。投稿準備中・投稿中・査読中などの成果（プレプリントを含む）は載せないでください（特に明記しておきたい情報があれば、この欄ではなく、下記（6）の欄に記入してください）。なお、分野の慣例により、査読を経ない公表済の論稿・総説・書籍などを研究成果の最終産物として申請したい場合は、その旨明記した上で記載してください。
 - (4) 上記の内、主要論文の要旨（5編以内、各400字以内で記載してください）
 - (5) 時間生物学に関する今後の可能性。
 - (6) その他、参考になると思われる事項など（任意）
 - (7) 推薦状（自薦の場合は必要ありません）

生物リズムに関する札幌シンポジウム2024

期日：2024年8月9日（金）～10日（土）

場所：京王プラザホテル札幌、北海道大学学術交流会館

【プログラム】

8月9日（金）京王プラザホテル

午後1時 アショフ・ホンマ生物リズム研究賞授賞式

午後1時15分：受賞講演 John Hogenesch (USA)

午後2時30分 受賞記念シンポジウム「TTFL and Beyond」

Andrew Beale (UK), Ryosuke Enoki (JPN), Shuji Akiyama (JPN)

午後4時15分 受賞記念講演 (1) William Schwartz (USA)

午後5時15分 受賞記念講演 (2) Rae Silver (USA)

8月10日（土）北海道大学学術交流会館

午前8時45分：シンポジウム「Seasonality」

Xiaodong Xu (China), Takashi Yoshimura (JPN), Yoshifumi Yamaguchi (JPN)

午後10時30分：シンポジウム「Circadian Clock and Sleep」

Hiroaki Norimoto (JPN), Akiyo Natsubori (JPN), Luoying Zhang (China)

午後12時30分：ランチョンポスター

午後1時30分：特別講演 (1) Murat Özgören (Turkey)

午後2時：シンポジウム「Suprachiasmatic Nucleus」

Takahiro Nakamura (JPN), Daisuke Ono (JPN), Jennifer Evans (USA)

午後3時45分：シンポジウム「Human Circadian System」

Roelof Hut (the Netherlands), Shigekazu Higuchi (JPN), Mitsuyuki Nakao (JPN)

午後5時30分：特別講演 (2) Joseph Takahashi (USA)

午後7時：懇親会 マイステイズ・札幌アスペンホテル

シンポジウム参加申し込み

オンライン登録 (<https://aschoff-honma.wixsite.com/ahmf/sapporo-symposium2022>)

登録料：1万円 (抄録集、ランチョンポスター、懇親会代金)

ポスター発表申し込み (締切5月31日)

トラベルグラント (5万円) ポスター発表を登録した大学院生等学生対象

シンポジウム事務局

アショフ・ホンマ記念財団秘書室 (斉藤直子)

064-0915 札幌市中央区南15条西15丁目1番30号ベルビル5F

電話：011-520-2345、Email：nasa.ahmf@gmail.com

第7回アジア時間生物学フォーラム

期日：2024年8月11日（日）～12日（月・休日）

場所：北海道大学学術交流会館

【プログラム】

8月11日（日）

午前8時45分：シンポジウム「Plant Clock」

Tokitaka Oyama (JPN), Qiguang Xie (China), Hong Gil Nam (Korea), TBD

午後10時35分：シンポジウム「Molecular Clock」

David Virshup (Singapore), Masao Doi (JPN), Ximing Qin (China), Hikari Yoshitane (JPN)

午後12時15分：ランチョンポスター

午後1時15分：アジア睡眠学会メッセージ Hrudananda Mallick (India)

午後1時30分：基調講演（1）Woe-Yeon Kim (Korea)

午後2時15分：シンポジウム「Comparative Aspects of Circadian Clocks」

Jae Kyoung Kim (Korea), Han Wang (China), Kazuhiko Kume (JPN), Yoshitaka Fukada (JPN)

午後4時05分：シンポジウム「Suprachiasmatic Nucleus」

Yasufumi Shigeyoshi (JPN), Jun Yan (China), Michihiro Mieda (JPN), Han Kyoung Choe (Korea)

午後5時45分：基調講演（2）Erquan Zhang (China)

午後7時：懇親会 札幌グランドホテル・ビッグジョッキ

8月12日（月・休日）

午前8時45分：シンポジウム「Circadian Clock and Metabolism」

Jinhu Guo (China), Yujiro Yamanaka (JPN), Huatao Chen (China), TBD

午後10時35分：シンポジウム「Circadian Clock and Adverse Conditions」

Ying Xu (China), Kazuhiro Yagita (JPN), Seung-Hee Yoo (Korea), TBD

午後12時15分：ランチョンポスター

午後1時30分：基調講演（3）Hiroki Ueda (JPN)

午後2時15分：シンポジウム「Sleep and Brain Mechanism」

Satoru Masubuchi (JPN), Zhi-Li Huang (China), Tae Kim (Korea), TBD

午後4時05分：シンポジウム「Ontogeny and Aging」

Shinobu Yasuo (JPN), Anita Jagota (India), Wataru Nakamura (JPN), TBD

午後5時45分：基調講演（4）Vinod Kumar (India)

午後6時30分：閉会式

フォーラム参加申し込み

オンライン登録 (<https://aschoff-honma.wixsite.com/ahmf/asian-forum-on-chronobiology-in-201>)

登録料：1万円（抄録集、ランチョンポスター）

懇親会費：8千円

ポスター発表申し込み（締切5月31日）

シンポジウム事務局

アショフ・ホンマ記念財団秘書室（斉藤直子）

064-0915 札幌市中央区南15条西15丁目1番30号ベルビル5F

電話：011-520-2345、Email：nasa.ahmf@gmail.com

賛助会員

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.	(Sharad Mittal)
有限会社 メルクエスト	(山本敏幸)
電制コムテック株式会社	(田上寛)
エダングズ Bld.	(橋口久美子)

日本時間生物学会事務局

執筆要領

2023年4月改訂

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：tomokoyn@u-toyama.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。図や写真をカラーで投稿頂いた場合も、印刷は白黒を基本とします。カラー印刷をご希望の場合は、投稿時にお知らせ下さい。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。

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原則としてすべての記事を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。総説については医中誌Webに抄録が掲載されます。抄録掲載を許可いただけない場合はご連絡ください。総説は原則として発表済みの内容をもとに記載してください。本誌掲載後、著作権は日本時間生物学会に帰属するものとし、本学会の承諾なしに他誌に掲載することを禁じます。

1. 総説と技術ノート

- 1) 原稿の長さは、図、表、文献を含め刷り上がりで4～5ページ程度（1頁は約2100字と考えて下さい：横1行23文字で1頁46×2=92行）とする。
- 2) 第1頁に表題、著者名、所属及びその所在地、電話番号、FAX番号、E-mailアドレス及び脚注（必要がある場合）を記す。
- 3) 第2頁に400字程度のアブストラクトを記入する。
- 4) 本文に節を設ける場合、1.、2.、3.、・・・とする。
- 5) 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¹、…である^{2,4}。
- 6) 文末の参考文献の記載は、次のようにする（Nature誌と同形式）。著者が6名以上の場合は、筆頭著者名のみを記載し、以下は「*et al.*」と省略する。

[雑誌] 通し番号. 著者名 題名. 誌名, 巻数, ページ (発行年)

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

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

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

2. 研究室便り

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. リレーエッセイ

リレー式に次号の著者を指名していくエッセイ。内容は自由。図表や写真も掲載可能。刷り上がりで1～2頁程度。

4. 留学体験記

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。

5. 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。