

時計遺伝子 24 時間振動発現転写調節と脂質代謝, 日内睡眠の分子機構

石田 直理雄

哺乳類時計遺伝子 *Period2* (*Per2*) の発見から、10 年が過ぎた。その後の生物時計分子機構の進展についてまとめる。生物時計による行動を始めとする様々な 24 時間振動現象に CLOCK/BMAL, PERIOD/CRY による E-box 制御だけでなく、bZIP 型転写因子 E4BP4 による *Per2* 振動発現やグリコーゲン合成酵素キナーゼによる PER2 リン酸化の時間特異的核移行が重要であることを明らかにした。時計変異マウスを使った網羅的遺伝子解析により、時計遺伝子産物にリズム転写制御される遺伝子の中に、核内受容体で脂肪酸をリガンドとする peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) を見出し、この PPAR α を介して脂質異化が日周時間特異的に起こることも見出した。時間特異的脂質異化の帰結として肝臓日周時計が日内睡眠の季節時計 (脳内) を制御する経路が解明されつつある現状についても解説する。あらゆる生物が持つ季節を感じる光周性の謎解きは分子日時計から垣間見えてきたのである。

1. 時計のありかと時計遺伝子

ヒトを含む我々哺乳類の 24 時間リズムを支配するマスター時計は、脳内視床下部の視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus, SCN) と呼ばれる部分に存在する。左右の視神経が脳内で交叉する部分の真上に存在するためこの名が与えられた。この約 10^4 個から成る神経細胞組織には視神経からの入力があり (光が時計の位相を変えられるのはこのため)、さらに出力系としては松果体 (メラトニンの主要な産生組織) や満腹中枢、摂食中枢、体温中枢、自律神経系等がある。この SCN での 1 個 1 個の神経細胞の発火頻度が昼高く夜低いリズムを持ち、SCN でのホルモン分泌等に 24 時間リズムが存在することは長年知られてきたが、

独立行政法人 産業技術総合研究所 生物機能工学研究部門 生物時計研究グループ (〒305-8566 茨城県つくば市東 1-1-1 中央 6-5)

Molecular mechanism of rhythmic clock gene transcription, lipid metabolism and torpor

Norio Ishida (Clock Cell Biology Research Group, Institute for Biological Resources and Functions, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Central 6-5, Higashi 1-1-1, Tsukuba, Ibaraki 305-8566, Japan)

どのような分子 (遺伝子産物) がこのような 24 時間リズムに必要なのかは全くの謎であった。

近年のショウジョウバエ分子生物学の進展により、この謎が解明され始めた。ショウジョウバエではリズム異常を

表 1 ショウジョウバエと対応するマウスの時計遺伝子

ショウジョウバエ	マウス
<i>Period</i>	<i>mPeriod 1</i> <i>mPeriod 2</i> <i>mPeriod 3</i>
<i>Timeless</i>	—
<i>Timeout/timeless 2</i>	<i>mTimeless</i>
<i>Cryptochrome</i> (ハエでは入力)	<i>mCryptochrome 1</i> <i>mCryptochrome 2</i>
<i>Clock (Jrk)</i>	<i>Clock</i> <i>NPAS2/MoP4</i>
<i>Cycle</i>	<i>Bmal1/MOP3</i> <i>Bmal2/MOP9</i>
<i>doubletime</i>	<i>casein kinase I ϵ</i> <i>casein kinase I δ</i>
<i>shaggy</i>	<i>GSK3β</i>
<i>protein phosphatase 2A</i>	
<i>slimb</i>	β - <i>TrCP1</i> , β - <i>TrCP2</i>
<i>vrille</i>	<i>E4BP4</i>

示す変異バエの遺伝子を解析するという方法で *period* 遺伝子をはじめ表1で示した11個の遺伝子産物が24時間リズム生成に関わっていることが明らかになっている。驚いたことにこの相同遺伝子がヒトでもほぼ保たれていることが1997年以降、我々を含む世界の四つの生物時計研究グループにより解明された。しかし哺乳類では実験的制約もあるが、そのうち少なくとも *period1*, *period2*, *period3*, *Cry1*, *Cry2*, *Clock*, *Bmal1*, *casein kinase 1ε*, *glycogen synthase kinase 3β* (*GSK-3β*), *β-TrCP1*, *β-TrCP2*, *E4BP4* の12個の遺伝子について時計遺伝子としての機能的コンセンサスが得られている (<http://staff.aist.go.jp/s-hanai/>)。この時計遺伝子の定義とは、この遺伝子に変異がある場合、行動のリズムに影響を与える(表現型としては無周期、長周期、短周期のいずれか又は全てを示す)遺伝子を言う。個々の遺伝子の表現形についてはそれぞれ原著にあたっていただきたい。これら時計遺伝子の特徴の一つにその遺伝子産物(mRNA又はタンパク質)ほとんどが24時間でリズムに我々の体内で発現することがある。我々の単離したラット *Per2* 遺伝子の例を後述するが文献も参照されたい¹⁻³⁾。この性質を利用して、体内時計はSCNばかりでなく我々の体内のあらゆる組織細胞に存在することも明らかとなった(末梢時計)。これら末梢時計が、脳内SCNによりそのリズム同調性をコントロールされていることは、SCN破壊による末梢時計遺伝子発現リズムの消失や、器官培養するとSCN細胞は長期間24時間リズムを失わない自動性を有するが、肝臓・腎臓・心臓等の末梢臓器はほぼ数日でそのリズムを消失することからも明らかである。すなわち我々の体内では細胞ばかりでなく時計遺伝子の発現も自転しているのである。遺伝子の物質的概念さえも確立される以前の時代に物理学者のErwin Schrödingerが生物は環境の周期性を取り込んでいると述べたことは誠に卓見であった。

2. 時計遺伝子の細胞内での働き

全ての細胞に存在する時計遺伝子は一体どのような働きを持っているのだろうか。時計遺伝子産物12個のうち八つまでは転写制御因子(たくさんの遺伝子発現を調節するいわゆるマスター遺伝子)であることが最近のハエと哺乳類の比較研究から明らかとなった。すなわち、遺伝子発現をオンにする転写制御因子(CLOCK, BMAL1)が夜の特異的な時間にそれらをストップさせる転写制御因子(PERIOD, CRYPTOCHROME)を呼び覚ますという1週のループが約24時間で起きているのである(図1)。おもしろいことにこれら転写制御因子ループの元に肝臓で約335, SCNで約340の遺伝子が24時間リズム発現するように制御されている事実だ。ところが二つの組織間で共通に制御されているのは約30個の遺伝子で、その他の非共通部分にそれぞれ組織特異的なリズム形成に必要な遺伝子が存在すると考えられる。上述したようにタンパク質発現量にもリズムがあり、これらの分解、安定性、時間特異的核内移行⁷⁾等を制御するのがカゼインキナーゼ Shaggy 等のリン酸化酵素である。

3. 生物時計における *period2* の周期決定因子としての重要性

哺乳類の生物時計分子機構は、PERIODを始めとする時計遺伝子産物の転写/翻訳のフィードバックループにより構成されると考えられている(図1)¹⁾。この分子機構の大筋はショウジョウバエをモデルとして発展してきた²⁾。ショウジョウバエの時計変異株 *period* は、1971年にR. KonopkaとS. Benzerにより単離された⁴⁾。残念ながら、一昨年12月にBenzerは他界されたが、この分野の真の創始者と言える。なぜなら、行動に関する形質は多因子で決まると考えられていた時代に一遺伝子一行動説を提唱した先見性は今でも輝いており、物理学から転身した第1期分子

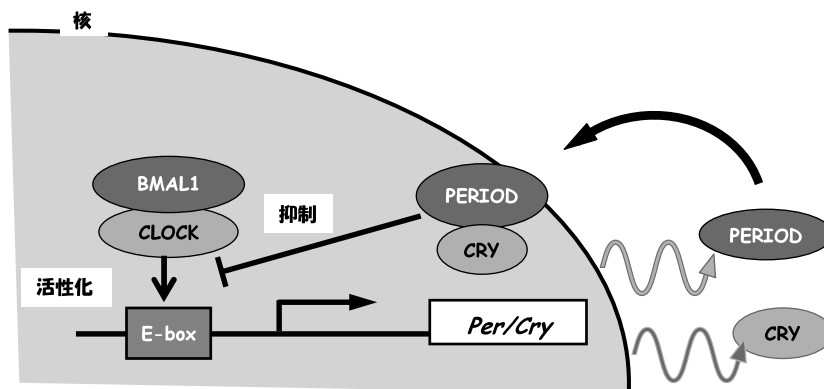


図1 正の転写因子が負の転写因子を活性化するフィードバックループ
哺乳類の24時間振動の転写機構の基本モデル

生物学者らしい大胆な仮説は見事に哺乳類まで花開いた。その後、1984年に *Period* 遺伝子がクローニングされ、別の位置の一つのアミノ酸変異が、それぞれ短周期、長周期、無周期（ストップコドン）の形質を生み出していることが明らかとなった^{1,5)}。

その後、長い暗黒時代があり、哺乳類の時計遺伝子の存在が知られるのはゲノムプロジェクトが完了する1990年後半のこととなる。我々もかずさDNAゲノム研究所と共同で、ラット *period2* (*rper2*) 遺伝子の同定とその末梢臓器での24時間振動発現を見出した³⁾。ショウジョウバエ *Period* 遺伝子のホモログが哺乳類では三つ存在し (*per1*, *per2*, *per3*)、後に最も時計機能に深く関わるのが *per2* であることが解るが、これは全くの偶然であった。それぞれの遺伝子欠損マウスが作られ、単独では *per1* が短周期、*per3* はほとんど表現型がなかった。ところが、*per2* 破壊マウスや *per2* ドミナントネガティブマウスは行動が恒暗条件下又は恒明条件下で無周期という形質を示した。

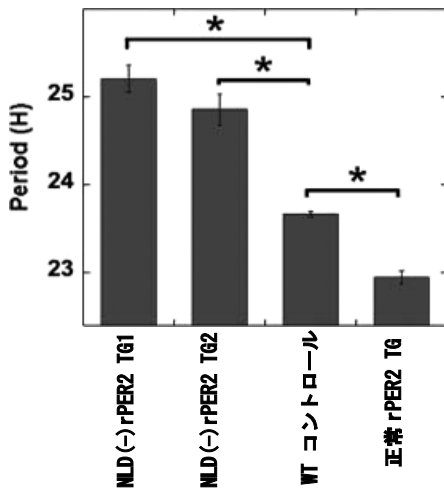
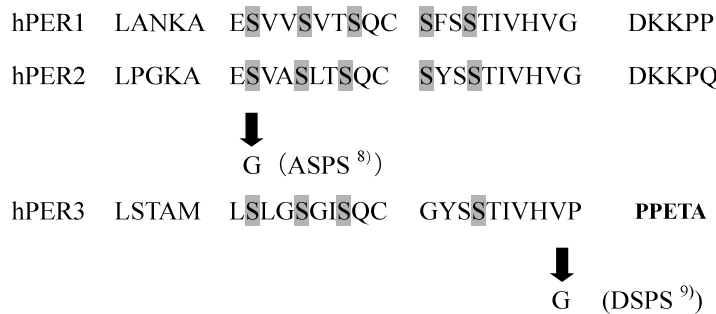


図2 核移行配列欠失型 rPER2 過剰発現マウスは長周期を、正常 rPER2 過剰発現マウスは短周期を示す

さらに、*per1* 破壊マウスでは見られないが、*per2* 破壊マウスでは SCN での BMAL1 等、他の時計遺伝子の振動発現も失われていた⁶⁾。この事実から *per2* は、他の時計遺伝子の振動発現をも制御する重要な因子と考えられた。また最初に我々がクローン化した rPER2 配列の中に双極型核移行配列を見出した⁷⁾。さらにこの核移行配列を欠失させた rPER2 を COS1 細胞で過剰発現させると内在性の PER2 ばかりか CRY1 をも細胞質にトラップし CRY1 の核移行も阻害することが明らかとなった。そこで我々は、この核移行配列結失型 rPER2 を過剰発現させたトランスジェニックマウス (TG) と正常 rPER2 を過剰発現した TG 作製を試みた⁸⁾。その結果、核移行配列欠失型 rPER2 マウスは、日周行動のリズムが長周期を正常型 rPER2 発現マウスは短周期を示した (図2)。SCN への PER2 の核移行の免疫染色の結果、長周期型で核移行が遅れていたことから、図1の PERIOD や CRY の抑制系タンパク質の核移行の遅れが周期を延長していると考えている。さらに、rPER2 過剰発現マウスでは暗期の覚醒度、体温が高いことなど SCN の以外の脳の部位での作用も考えられ、今後の解析が望まれる。最近、PER2 の核移行を促進する因子として、glycogen synthase kinase-3β (GSK-3β) を見出した⁹⁾。すなわち、GSK-3β が PER2 に直接結合し、リン酸化を引き起こし、核移行を促進する。この経路は、うつ病に効く LiCl の作用機序をよく説明する。すなわち、LiCl が GSK-3β の自己リン酸化を起こすと不活化し PER2 の核移行を遅らせ、これが行動の周期を長くするわけである。この経路は現在、抗精神薬の開発を目指す人たちの間で新しい創薬のターゲットとして注目されている。

4. リズム異常症と時計遺伝子変異

ヒトの睡眠覚醒リズム障害として睡眠相前進症候群 (ASPS)、睡眠相後退症候群 (DSPS) 非24時間睡眠覚醒症候群がよく知られている。これらの疾患は家族性に見ら



セリン(S)がカゼインキナーゼIのリン酸化ターゲットとなるアミノ酸で、リズムの位相調節に重要である。矢印は ASPS (睡眠相前進症候群) や DSPS (睡眠相後退症候群) で変異したアミノ酸。

図3 ヒトリズム異常症の時計遺伝子産物変異部位

れるがごく最近までその原因遺伝子が知られていなかった。ところが2001年に米国ユタ州の家族性ASPSの1家系でリンケージ解析を行ったところ染色体2番にその原因遺伝子がマップされ、最終的に $hPER2$ 遺伝子の662番目のセリンがグリシンに変化していることが報告された(図3)。この領域はカゼインキナーゼIe (CKIe) の結合領域であり、特にこのN端側最初のセリンがリン酸化を開始させるのに重要なアミノ酸であるとされている。主に $PER2$ の機能は位相後退にあると考えられており、このリン酸化部位の変異が $PER2$ タンパクの機能喪失を引き起こし位相が前進したのではないかと推定している。この発見と同時期に海老沢らのグループは、 $hPER3$ においてカゼインキナーゼIeリン酸化部位のごく近傍のアミノ酸のバリンがグリシンに変異している例をDSPS家系で見出した。 $per3$ のノックアウトマウスはわずかではあるが位相後退を起こすと報告されている。このことから $PER3$ の正常機能が位相前進にあると考えれば、この変異が位相後退家系の原因とも考えられる。どちらの家系も時計遺伝子産物の1個のアミノ酸配列の変化が同調機能を失わせている。最近ではヒトやマウスの夜型昼型傾向の背景に時計遺伝子配列のポリモルフィズムが関与することも明らかになってきた。また、我々は $Clock$ 遺伝子の変異株から夜型傾向を示すモデルマウス作製に成功した。今後オーダーメイド医療の時代が来ると個人の睡眠傾向の遺伝的背景を考慮することの重要性はますます増加するであろう。

5. $period2$ 振動発現に影響する因子

前述したように、 $Per2$ の24時間振動発現は生体リズムの維持に重要であり、その主要な調節点は転写である。これまで $per2$ mRNA振動発現に関わるシス配列としてCACGTTという非正規のE2-boxが知られていた^{10,11)}。最近我々は、この $PER2$ 振動発現にショウジョウバエ時計遺伝子 $vriII$ のホモログであるbZIP型転写因子E4BP4が関与することを生化学的に同定した¹²⁾。 $mper2$ プロモーター付近にはA、B2箇所のE4BP4結合サイトが存在する(図4A、B)。この2箇所の配列に変異を入れたところ、B-site特異的に $per2$ 発現抑制が解除された。さらに、時間特異的ゲルリターデーション法、ChIP法のいずれでもB-siteの時間特異的結合が確認された。最後にA-site、B-siteとE2-boxのそれぞれに変異を入れた $per2$ プロモーターの振動発現活性をリアルタイムモニター系でルシフェラーゼの活性として測定してみた(図4C)。大変興味深いことにE2単独の変異では24時間振動はなくなりますが、E2-boxとB-siteの両方に変異を入れると24時間振動が消失することが細胞のレベルで証明できた。このことは従来 $in vitro$ でA-siteの重要性のみが指摘されてきたが¹³⁾、振動発現のような複雑な系では細胞の系又は個体の系に戻して解析す

ることの重要性を物語っている。また、E2-box単独の変異では、振動発現が維持されていることから、これまでのCLOCK/BMALとPER/CRYだけのネガティブ・フィードバックモデル(図1)だけでは $per2$ の振動が説明できないことが明らかとなった。最近我々は、E4BP4が $PER2$ やCRY2とも細胞内で結合することを見出した¹⁴⁾。これらの事実から新しい生物時計の負の転写調節因子複合体のモデルを提唱した(図5)。これらの複合体が時間特異的に核内移行を起こし、 $PER2$ 、CRY2はCLOCK/BMAL複合体をターゲットにして、E4BP4はB-site(D-box)をターゲットに転写を負に制御することが予想される。その後ホスファチジルコリンのトランスポーターMdr2¹⁵⁾や、薬物代謝に関わるシトクロムP450 3A4(CYP3A4)¹⁶⁾や胆汁酸合成に関わるcholesterol 7 α -hydroxylase¹⁷⁾(Cyp7 α)の24時間振動発現にもE4BP4が重要という報告が相次いでおり、転写因子E4BP4が24時間リズム転写形成に負に働くという構図は末梢時計特に肝臓機能において重要と考えられる。

6. 脳内中枢と末梢組織でリズム発現する遺伝子

我々はこれまで時計変異マウス($Clock$ 、 $Cry1/Cry2$ ダブルノックアウト)を用いて肝臓でネガティブフィードバックループ依存的に日周発現する遺伝子群の網羅的解析を行ってきた^{18,19)}。この過程で日周発現する遺伝子は、SCNばかりでなく、肝臓、腎臓、心臓等の末梢時計にも多く存在することが明らかになった⁶⁾。SCNを破壊すると、末梢の時計遺伝子や、日周発現遺伝子の日周リズムが消失することから、中枢由来の物質がこれらの日周発現を司っていることが考えられた^{5,20)}。SCNからの活動期開始前の時刻情報が下垂体からのACTH分泌を通して副腎からのグルココルチコイド分泌として血中に現れることはよく知られた事実である。そこで、我々はグルココルチコイドを末梢時計の時刻調節因子と仮定し、副腎除去したマウスと疑似手術したコントロールマウスについて日周発現する遺伝子の変化を観察した。その結果、肝臓で日周発現する遺伝子169個のうち、100個が副腎依存的に日周発現し、残り69個は副腎除去後も日周発現を維持していた²¹⁾。日周性が維持されるものには、 $per2$ 、 $E4BP4$ 等の時計遺伝子そのものや、細胞分裂を制御する $wee1$ 、転写因子 $Dec2$ 、核内受容体PPAR α 等の時計に直接制御されるアウトプット遺伝子が含まれていた。SCN破壊でこれら時計遺伝子発現の日周性が失われたことと考えるとこの事実は、グルココルチコイドはSCNからの時刻調節因子ではないことを示唆している。それでは、SCNからの時刻調節の物質的背景は何かというと、いくつかの候補物質が存在するがまだ決定的な証明に至っていない。しかし我々が1998年に発表したSCN由来物質説²⁾はさらに異なる方法

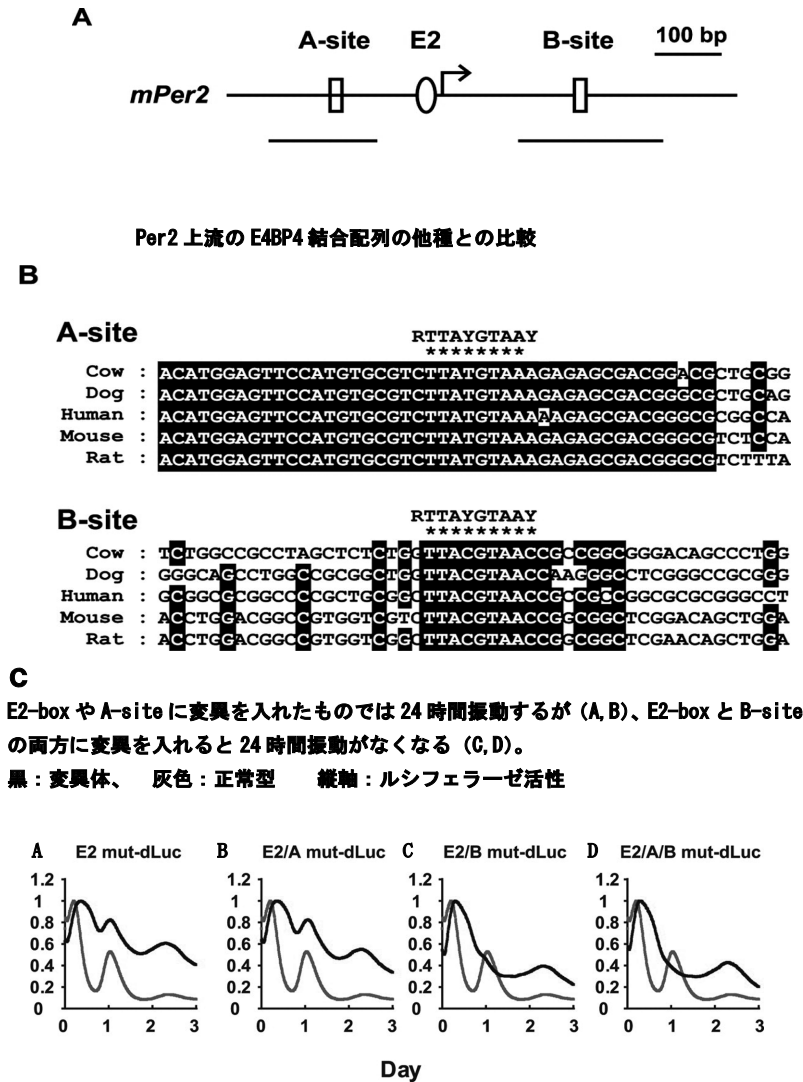


図 4

- A *mPer2* 遺伝子上の E4BP4 結合配列
↗は、転写開始点, E2; E2-box
- B A-site と B-site の周辺配列；生化学的解析から B-site の重要性が解る
- C *Per2* プロモーターの 24 時間振動活性

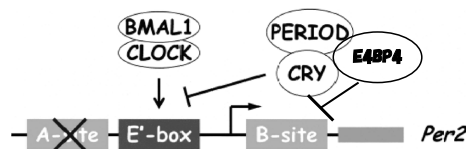


図 5 E4BP4 を介する転写調節
PERIOD や CRY と結合して転写抑制に働く。

で二つのグループにより解析された。Britman らはパラビオシス手術により SCN 破壊マウスと正常なマウスの体液循環をつないで末梢の時計遺伝子のリズムを見るという大胆な実験を行った²²⁾。この結果、正常マウスから体液を供給された SCN 破壊マウスの肝臓、腎臓におけるリズムは

回復した。しかし、心臓、脾臓、骨格筋では回復しなかったことからこれらの臓器では神経支配が強いと推測されたが、少なくとも肝臓や腎臓においては、SCN 由来物質がその末梢時計の日周性維持に必要なことが明らかになった。一方、P. Sassone-Corsi らは *Per1*^{-/-} マウスより胎児線

維芽細胞 (MEF) を取り出し、コラーゲンと共に正常マウスの皮下へ移植するという実験を行った²³⁾。その結果、本来短周期の *Per1*^{-/-} の MEF が正常周期に戻った。さらに、おもしろいことには *clock* 変異マウス (*clock/clock*) 由来の MEF を移植しても、その無周期性は回復しなかったのである。この結果は、末梢時計のリズム発現には末梢細胞内の分子時計機構が必要なこと、一方その分子時計が備わっていればその周期は SCN からの液性物質情報で修正可能なことを示している。このように、現在我々が 1998 年に示した SCN 由来物質仮説²⁾ は多くの実験により裏付けられているが、いまだにその物質的実体は謎のままである。

7. 肥満マウスに時計遺伝子変異マウスを交配すると肥満が増大する

我々は中枢の食欲調節ホルモン、レプチン遺伝子をホモに欠損した *obese*^{-/-} マウスを用いて、時計遺伝子変異 *clock*^{-/-} との関連を調べた²⁴⁾。まず、*obese*^{+/-} マウスに *clock*^{+/-} マウスをかけ合わせることで両遺伝子欠損のホモマウスを選別した (*clock*^{-/-}, *obese*^{-/-})。驚いたことにこの二重変異マウスは体重のみでなく、血中コレステロール・中性脂肪量とも *obese*^{-/-} よりさらに増大した (図 6)。この分子機構を探る目的で色々試みてみたが、内臓の白色脂肪のサイズが野生型 < *clock*^{-/-} < *obese*^{-/-} < *clock*^{-/-}, *obese*^{-/-} の順で大きくなることが明らかとなった。この結果からも時計遺伝子 *clock* の変異は脂質代謝機能に影響を与えることが推察された。これは、F. Turek らが発表した *clock*^{-/-} マウスを通常食、高脂肪食のどちらで飼育しても昼夜なくえさを食べることにより肥満となりメタボリックシンドロームを誘起するという報告²⁵⁾ と似ているように思われるが、*clock*^{-/-} 単独変異では我々の結果は彼らのもの

と異なり、体重増加は見られない (図 6)。彼らとの違いの原因は今のところ解からないが、ジェネティックバックグラウンドを含めいくつかの可能性の議論は他の総説や論文を参照されたい^{26~28)}。

8. 時計遺伝子が制御する核内受容体のリズム発現

最近我々はマイクロアレイ解析の過程から脂質代謝に関わる重要な遺伝子が *clock* 遺伝子に支配されていることを見出した。核内受容体で長鎖脂肪酸をリガンドとする PPAR α である。この遺伝子産物は、肝臓や心臓で特によく発現しており、ミトコンドリアやペルオキシソームの中で脂肪酸異化 β -oxidation の機能を調節している。PPAR α の発現に日周期性があることは知られていたが、どんな転写調節機構がリズムミミックな発現を生じさせるか知られていなかった。我々は、PPAR α 遺伝子中のエキソン 2 の中に E-box を含む領域が存在し、ここに *clock/Bmal1* が結合し、日周期的発現が見られることを時間特異的ゲルシフト法、クロマチン免疫沈降法等を用いて示した²⁹⁾。すなわち、マウスは昼間 (非活動期) *clock* が上昇して来るがこの時間帯に PPAR α が上昇し、呼応して脂質燃焼が起こることが推定される。人間の場合、夜間に *clock* が上昇することを考えると、脂質燃焼は夜間上昇すると考えられる。非活動期の脂質異化上昇という構図は種を越えた一般的現象かもしれない。また、現代人の睡眠時間不足がメタボリックシンドロームを増やす一因であるとする疫学を説明する可能性がある。さらに、最近の様々な研究から絶食時に PPAR α が *rev-erb α* を介して PAI-1 や ApoCIII の日周発現を制御することが明らかとなった (図 7)。この事実は血栓症や動脈硬化が朝方起きやすい現象が時計遺伝子によることを説明するが、詳細は他の総説を参照されたい³⁰⁾。

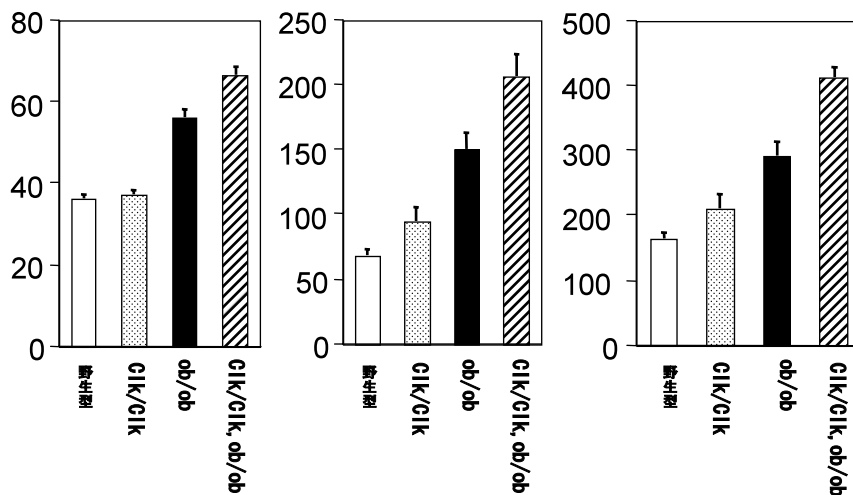


図 6 Clock 変異マウスでは、肥満が促進される
T-Chol: 総コレステロール量, TG: 血中の中性脂肪; 三つの肥満のインデックスが ob/ob マウスに *clk/clk* をかけ合わせると増大する。

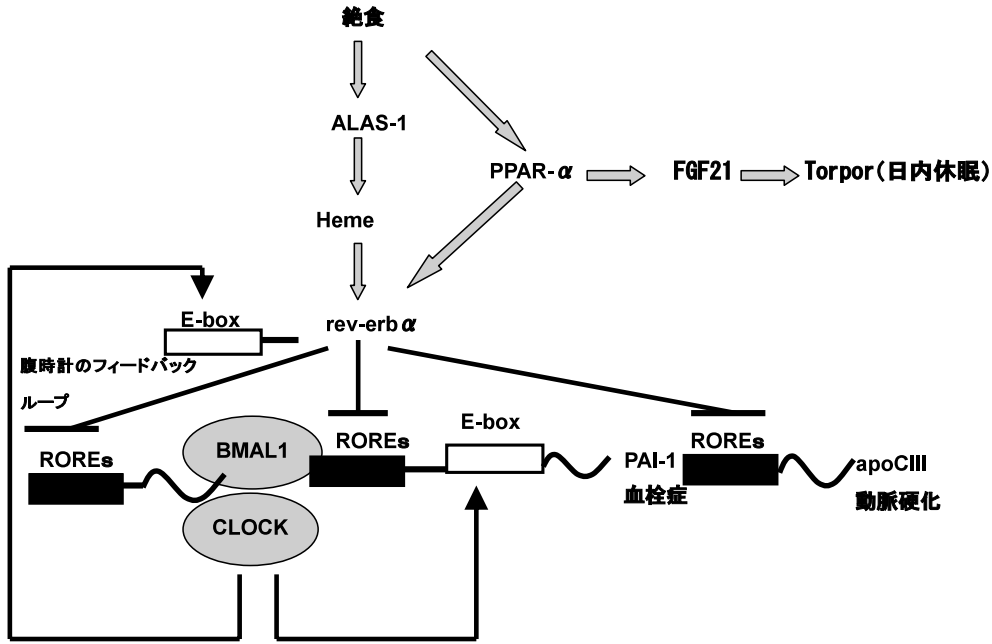


図7 腹時計のフィードバックループ
 絶食刺激がHemeとPPAR-αの両経路から様々な24時間振動に影響を与える。またFGF21の経路を介して季節時計にも影響する。PAI-1; plasminogen activator inhibition 1, apoCIII; apolipoprotein CIII

9. 核内受容体 PPARα のリガンドが時計の位相を前進させ日内休眠を引き起こす

これまで主に分子時計→脂質代謝の制御という事例を述べてきた。しかしその逆のフィードバックすなわち、脂質分解産物→時計という道筋は我々の生体に存在しないのだろうか。最近、我々は偶然にも PPARα のリガンドであり、高脂血症剤として繁用されているフィブレートが行動のリズムを前進させることを見出した³¹⁾。興味深いことに、この位相前進は長日(明:暗=16h:8h)特異的で短日条件下(明:暗=8h:16h)で観察されない³²⁾。夜行性の齧歯類であるマウスを明暗環境下で飼育した場合、通常その活動時間帯は夜間に限られている。このマウスに、PPARα のリガンドであるフィブレートを餌とともに自由に投与すると、活動時間帯が3時間程度前進(早寝早起き)し、明期の後半から活動を始めるようになることを見出した(図8a)。次に活動時間帯が後退(夜更かし朝寝坊型)するDSPSのモデルマウス(早大 柴田重信先生から供与)にフィブレートを投与したところ、活動時間帯の正常化が確認された(図8b)。リズムの位相に影響を与える薬剤は稀だが、今回の知見は、PPARα をターゲットとした新規なリズム障害治療薬の開発につながるものと考えている。さらに、このフィブレートを2週間餌にまぜて与えるとマウスの暗期後半に日内休眠(冬眠に似た一過性低体温)を引き起こすことを見出した³³⁾(図8c)。この時、マイクロア

レイ解析により脳視床下部より摂食ホルモン NPY の発現が上昇すること、NPY 受容体の Y1 のアンタゴニストにより、日内休眠が消失することが明らかとなった。冬に秋までに内臓等に貯めた脂肪を燃やし、交感、副交感神経活動を維持する哺乳類の持っている基礎代謝分子機構は我々冬眠しなくなった哺乳類にも遺伝子進化的に残存している可能性がある³⁴⁾。

終わりに

遺伝性の睡眠障害のみならず、社会の24時間化に伴う様々な睡眠障害が社会的問題となっている。概日リズム睡眠障害と呼ばれる一連の睡眠障害の発症には、時計遺伝子によって構成されている体内時計が関係しているものと考えられているが、特に非遺伝的な睡眠障害の詳細なメカニズムに関しては不明である。睡眠障害の治療法としては、高照度光療法他に、ビタミンB12やメラトニンの投与が一般的であるが、その作用機序は不明であり、効果に関しても大きな個人差が認められている。さらに冬季うつ病等の季節性障害も生物時計機構が深く関わっている。今後、これらの日周時計分子機構が季節変動の分子機構につながる経路を解明する上で PPARα と FGF21 は重要な鍵分子となる³⁵⁾。またこれからの生化学分野として時計遺伝子転写のクロマチン環境の問題³⁶⁾も重要であろう。

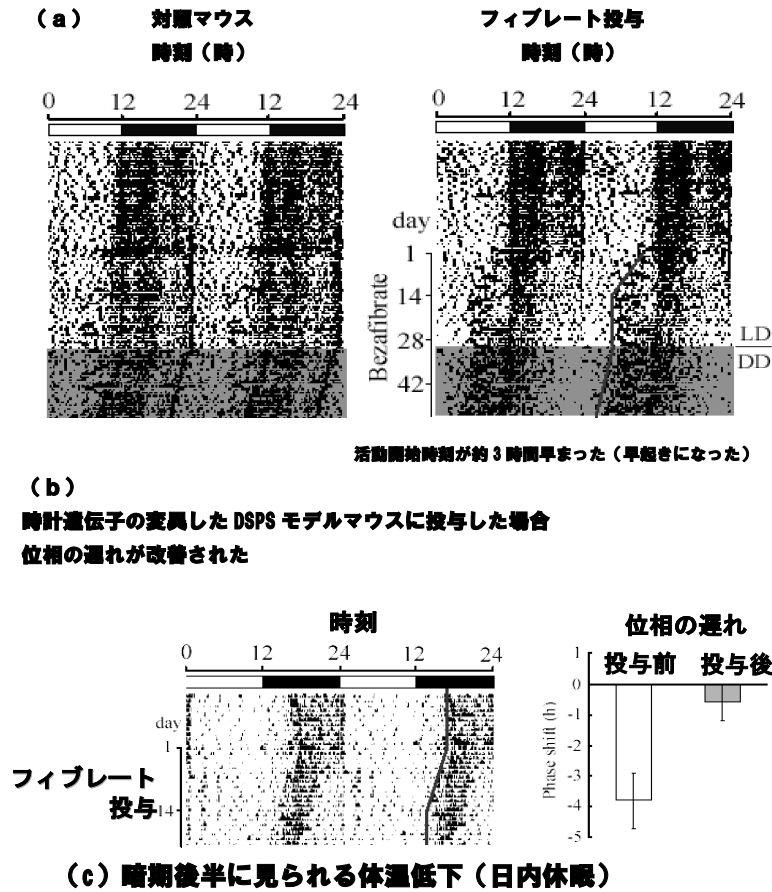


図8 フィブレート投与による正常マウスと DSPS モデルマウスの位相前進

謝辞

この総説を書くにあたり、これらの研究は産業技術総合研究所生物時計研究グループのスタッフ、ポスドク、並びにテクニシャン、秘書や若い東京工業大学生命理工学研究科、筑波大学生命環境科学研究科の大学院生、学部生達と

の長年の議論と実験の賜であることを申し述べ、これらの方々に心より感謝したい。また、最近の日内休眠の成果に関して、徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部情報統合医学講座 勢井宏義教授、近久幸子助教の多大なる協力を得たことを感謝したい。また、初期のラット *period*

遺伝子クローニングの折にかずさ DNA 研究所 大石道夫
 所長, 長瀬隆弘主任研究員の御協力を得たことを心から感
 謝している。

文 献

- 1) Dunlap, J.C. (1999) *Cell*, **96**, 271–290.
- 2) Ishida, N., Kaneko, M., & Allada, R. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 8819–8820.
- 3) Sakamoto, K., Nagase, T., Fukui, H., Horikawa, K., Okada, T., Tanaka, H., Sato, K., Miyake, Y., Ohara, O., Kako, K., & Ishida, N. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 27039–27042.
- 4) Konopka, R.J. & Benzer, S. (1971) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **68**, 2112–2116.
- 5) 石田直理雄 (2000) 生物時計のはなし—サーカディアンリズムと時計遺伝子, バイオサイエンスシリーズ, 羊土社.
- 6) Lowrey, P.L. & Takahashi, J.S. (2004) *Annu. Rev. Genomics Hum Genet.*, **5**, 407–441.
- 7) Miyazaki, K., Mesaki, M., & Ishida, N. (2001) *Mol. Cell Biol.*, **21**, 6651–6659.
- 8) Miyazaki, K., Wakabayashi, M., Chikahisa, S., Sei, H., Ishida, N. (2007) *Genes Cells*, **12**, 1225–1234.
- 9) Iidaka, C., Miyazaki, K., Akaike, T., & Ishida, N. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280** (33), 29397–29402.
- 10) Yoo, S.H., Ko, C.H., Lowrey, P.L., Buhr, F.D., Song, E.J., Chang, S., Yoo, O.J., Yamazaki, S., Lee, C., & Takahashi, J.S. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 2608–2613.
- 11) Akashi, M., Ichise, T., Mamine, T., Takumi, T. (2006) *Mol. Biol. Cell*, **17**, 555–565.
- 12) Ohno, T., Onishi, Y., & Ishida, N. (2006) *Nucleic Acids Res.*, **35**(2), 648–655.
- 13) Ueda, H.R., Chen, W., Adachi, A., Wakamatsu, H., Hayashi, S., Takasugi, T., Nagano, M., Nakahama, K., Suzuki, Y., Sugano, S., Iino, M., Shigeyoshi, Y., & Hashimoto, S. (2002) *Nature*, **418**, 534–539.
- 14) Ohno, T., Onishi, Y., & Ishida, N. (2007) *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **354**, 1010–1015.
- 15) Kotaka, M., Onishi, Y., Ohno, T., Akaike, T., & Ishida, N. (2007) *Neurosci. Res.*, **60**, 307–313.
- 16) Takiguchi, T., Tomita, M., Matsunaga, N., Nakagawa, H., Koyanagi, S., & Ohdo, S. (2007) *Pharmacogenet Genomics*, **12**, 1047–1056.
- 17) Noshiro, M., Usui, E., Kawamoto, T., Kubo, H., Fujimoto, K., Furukawa, M., Honma, S., Makishima, M., Honma, K., & Kato, Y. (2007) *J. Biol. Rhythms*, **4**, 299–311.
- 18) Oishi, K., Miyazaki, K., Kadota, K., Kikuno, R., Nagase, T., Atsumi, G., Ohkura, N., Azama, T., Mesaki, M., Yukimasa, S., Kobayashi, H., Iitaka, C., Umehara, T., Horikoshi, M., Kudo, T., Shimizu, Y., Yano, M., Monden, M., Machida, K., Matsuda, M., Horie, S., Todo, T., & Ishida, N. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**(42), 41519–41527.
- 19) 化学バイオニュース (時計変異マウスを用いた肝臓で日周発現する遺伝子群の網羅的解析 石田直理雄)
- 20) Oishi, K., Sakamoto, K., Okada, T., Nagase, T., & Ishida, N. (1998) *Neurosci. Lett.*, **256**: 117–119.
- 21) Oishi, K., Amagai, N., Shirai, H., Kadota, K., Ohkura, N., & Ishida, N. (2005) *DNA Res.*, **12**: 191–202.
- 22) Guo, H., Brewer, J. M., & Bittman, E.L. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**(8): 3111–3116.
- 23) Pando, M.P., Morse, D., & S-Corsi, P. (2002) *Cell*, **110**: 107–117.
- 24) Oishi, K., Ohkura, N., Wakabayashi, M., Shirai, H., Sato, K., Matsuda, J., & Ishida, N. (2006) *J. Thromb. Haemos.*, **4**: 1774–1780.
- 25) Turek, F.W., Joshu, C., Kohsaka, A., Lin, E., Ivanova, G., McDearmon, E., Laposky, A., Losee-Olson, S., Easton, A., Jensen, D., Eckel, R.H., Takahashi, J.S., & Bass, J. (2005) *Science*, **308**: 1043–1045.
- 26) Ishida, N. (2006) *Neurosci. Res.*, **57**: 483–490.
- 27) Oishi, K., Atsumi, G., Sugiyama, S., Kodomari, I., Kasamatsu, M., Machida, K., Ishida, N. (2006) *FEBS Lett.*, **580**: 127–130.
- 28) Staels, B. (2006) *Nat. Med.*, **12**: 54–55.
- 29) Oishi, K., Shirai, H., Ishida, N. (2005) *Biochem. J.*, **386**: 575–581.
- 30) 石田直理雄 (2008) 臨床血液, **49**(8), 626–633.
- 31) Shirai, H., Oishi, K., Kudo, T., Shibata, S., Ishida, N. (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **357**: 679–682.
- 32) Oishi, K., Shirai, H., Ishida, N. (2008) *Neuro Report*, **19**, 487–489.
- 33) Chikahisa, S., Tominaga, K., Kawai, T., Kitaoka, K., Oishi, K., Ishida, N., Rokutan, K., Sei, H. (2008) *Endocrinology*, **149** (10), 5262–5271.
- 34) 産業技術総合研究所 (2008) きちんとわかる時計遺伝子, 白日社.
- 35) Oishi, K., Uchida, D., Ishida, N. (2008) *FEBS Lett.*, **582**, 3639–3642.
- 36) Onishi, Y., Hanai, S., Ohno, T., Hara, Y., Ishida, N. (2008) *Mol. Cell Biol.*, **28**, 3477–3488.