

Neural mechanisms underlying the central circadian clock

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-05-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Mieda, Michihiro メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00066100

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



【総説】

中枢概日時計の神経メカニズム

三 枝 理 博

金沢大学医薬保健研究域医学系統合神経生理学

Neural mechanisms underlying the central circadian clock

Michihiro Mieda

はじめに

睡眠・覚醒、体温、血圧、ホルモン分泌など、動物の行動や様々な身体機能は、約1日周期のリズム（概日リズム・サーカディアンリズム）により調節される^{1,2)}。一方現代社会では、時差や夜間勤務、生活習慣の乱れにより、概日リズムの変調は誰にでも起こりうる問題である。これは睡眠障害のみならず、気分障害、肥満・メタボリックシンドローム、がん等、様々な疾患・健康障害のリスクを増大する。したがって、概日リズム発振のメカニズムを理解し、概日リズム変調の効果的な予防方法・対処方法を見つけることは、大変重要である。

哺乳類の概日リズム制御中枢は、視床下部の視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus: SCN) である (図1)。視交叉上核の体内時計 (中枢概日時計) は自律的に概日リズムを刻み、神経性、液性シグナルにより全身へ時刻情報を送る^{1,2)}。概日システムは、地球の自転に伴う24時間周期の昼夜変化を予測して行動や体内環境を最適化するために進化したものと考えられる。ただし、「概ね1日」とあるように中枢概日時計の周期は24時間から少しずれるので、網膜で受容される外界の光の情報が視交叉上核に伝えられて毎日時計を微調整し、外界の24時間周期の昼夜サイクルに同調する (光同調)。

本稿ではまず、中枢概日時計・視交叉上核について簡単に紹介した後に、視交叉上核神経ネットワークに関する私たちのこれまでの研究について概説する。

1. 中枢概日時計・視交叉上核

視交叉上核は約2万のニューロンよりなる神経ネットワークである。マウスでは長径が1 mmにも満たず、ヒトでは米粒大の神経核である。2017年のノーベル

生理学医学賞が「概日リズムを生み出す遺伝子・分子メカニズムの発見」に授与されたように、時計遺伝子群の転写翻訳フィードバックループを中心とした、個々の細胞内で概日リズムを刻む分子機構 (細胞時計) については、これまでにかなりの部分が明らかになった (図1)²⁾。興味深いことに、細胞時計は視交叉上核に特異的なものではなく、全身のほぼ全ての細胞が備えている。このことから現在では、概日システムの階層構造が提唱されている。末梢時計は体中の至る所に在り、それぞれの組織・臓器の機能の概日リズムを局所的に調節する。ただ、各臓器の概日リズムの相対的なタイミング (位相) の関係、いつどの臓器機能がピークになって、といった順序がバラバラになると困るので、視交叉上核が統一時間を発信する時報のような役割を果たす。したがって、視交叉上核の中枢時計としての役割は不動である。逆に、時差ボケや交替勤務などライフスタイルの要因によって、臓器間でのベストな位相関係が崩れると (内的脱同調)、様々な健康障害や疾病の一因となると考えられる^{1,2)}。

単離された個々の視交叉上核ニューロンは位相や周期もバラバラで不安定な概日振動を示す点で、線維芽細胞などの末梢細胞と何ら変わらない。一方で神経ネットワークがある程度維持された視交叉上核スライスでは、長期間にわたり極めて安定な概日リズムを刻むことが明らかになっている。したがって、多種・多数の時計ニューロン間のコミュニケーションを介し強固で安定な概日振動を発振する機能的神経ネットワークの構築こそ、視交叉上核のみに見られる特異的な性質であり、視交叉上核を中枢概日時計たらしめていると言える²⁾。しかしながらその動作原理についてはほとんど明らかになっていない。我々はこの問題について、ニューロンタイプ特異的遺伝子操作マウスを用いて、研究を行ってきた。

3. 視交叉上核の神経メカニズムの研究

これまでに述べたように、数万の視交叉上核ニューロンはそれぞれ細胞時計を持つが、個々の細胞時計はあまり精密なものでなく、不安定で、周期、位相、振幅がかなりばらついているので、細胞間コミュニケーションによる統合がSCN全体での単一概日リズム発振・発信に必要である^{2,11}。この統合された概日リズムの振幅、周期、位相を決定するネットワークレベルでのメカニズム、視交叉上核内での機能局在・役割分担は、どのようなになっているのだろうか？

私たちは、中枢概日時計・視交叉上核の動作原理の理解には、それを構成するニューロンタイプごとの役割を明らかにするアプローチが有効と考え、ニューロンタイプ特異的に遺伝子操作・神経活動操作をするための遺伝子操作マウスを開発してきた。これまでは特にAVPニューロンについての機能解析が進んでいる。AVPニューロンのみで細胞時計を破壊（時計遺伝子*Bmal1*を欠損）したマウスは、行動の概日リズム周期が約1時間、活動時間帯が約5時間も長くなった（図2）¹²。その行動リズムは非常に不安定で、少数の個体ではリズムが消失した。遺伝子発現概日リズムの解析や、培養視交叉上核スライスでの時計遺伝子発現リズムの発光イメージングなどの結果から、当該マウスの概日リズム異常は、細胞間コミュニケーションに関わる分子の発現が視交叉上核で激減し、AVPニューロン間のカップリング（相互作用）が減弱したことによる中枢時計の機能低下が原因であると考えられた。AVPニューロンが持つ細胞時計が視交叉上核ネットワークによる概日リズム発振に重要であることが示唆されたが、当該マウスの多くの個体では異常ながらも行動リズムは残っているため、AVPニューロンのみでリズム発振に必要な十分であるわけではない¹²。

次に、AVPニューロンの細胞時計を壊すのではなく、その概日周期を人為的に操作したマウスを作成し、AVPニューロンがペースメーカー細胞として機能して、視交叉上核全体や行動の概日リズム周期の決定に関与する可能性について、検討した¹³。Casein kinase 1δ (*CK1δ*) は時計タンパク質PER2をリン酸化して分解の速度を速めることで、細胞時計の周期を短くする（時計の進みを速くする）¹⁴。私たちはこれを利用し、AVPニューロン特異的に*CK1δ*遺伝子を欠損させ、AVPニューロンの持つ細胞時計のみ周期が長いマウスを作製した。すると、他の視交叉上核ニューロンの細胞時計は正常周期（約24時間）にもかかわらず、概日行動リズム周期が約1時間延長した（図2）。また逆に、アデノ随伴ウイルスベクターを用いて視交叉上核のAVPニューロン

特異的に*CK1δ*を過剰発現させると、概日行動リズム周期が約30分短縮した。つまり、視交叉上核の全ニューロンを変えなくても、AVPニューロンのみで細胞時計周期を変えれば、視交叉上核から全身に発信する概日リズムの周期を変えることができる¹³。同様の手法で視交叉上核VIPニューロン特異的に*CK1δ*を欠損しても概日行動リズム周期は変化しない。一方で、全視交叉上核ニューロンで*CK1δ*を欠損した時の行動リズム周期延長の程度は、AVPニューロン特異的に欠損させた場合と有意な差が無い。さらに、細胞内Ca²⁺リズムを指標に細胞時計周期をin vivoで測定すると、AVPニューロン特異的*CK1δ*欠損マウスでも、AVPニューロン、VIPニューロンの両方で、細胞時計周期が行動概日リズム周期と同程度に延長することが明らかになった（Tsuno et al, 投稿準備中）。以上の結果から、AVPニューロンは、視交叉上核神経ネットワーク全体が発振する概日リズムの周期を決定する、主要なペースメー

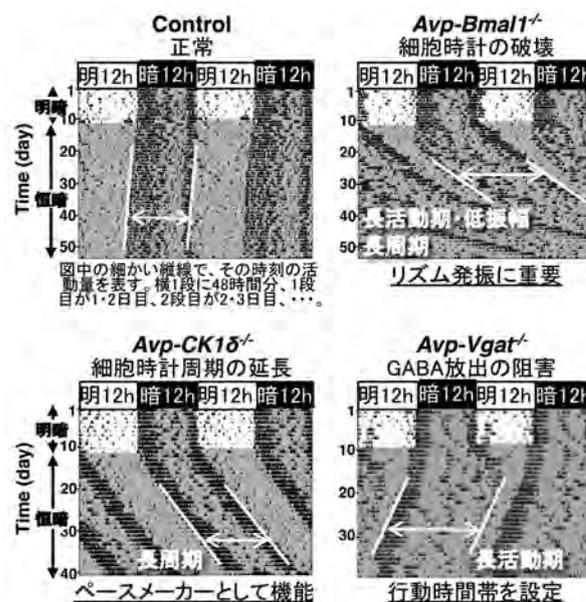


図2. AVPニューロン特異的遺伝子操作マウスの概日行動リズム異常^{12,13,16}

代表的なアクトグラム。図中の細かい縦線で、その時刻のマウスの自発運動量を表す。横1段に48時間分を記録。1段目が1・2日目の記録、2段目が2・3日目、3段目が3・4日目…と続く。マウスは夜行性。恒暗環境（一日中消灯）でも、中枢時計の働きで明瞭な行動の概日リズムを示す。AVPニューロン特異的に細胞時計を破壊したマウス (*Avp-Bmal1*^{-/-}) は、恒暗条件下で活動期が延長し、概日リズムが減弱して不明瞭になる。フリーラン周期は長く不安定である。AVPニューロン特異的に細胞時計の周期を延長したマウス (*Avp-CK1δ*^{-/-}) は、行動リズムのフリーラン周期も延長するが、活動期の長さは変わらない。AVPニューロン特異的にGABAの放出を阻害したマウス (*Avp-Vgat*^{-/-}) では、フリーラン周期は変わらないが、活動期が顕著に延長する。

カー細胞であると考えられる。これらの結果は従来の見解を覆し、AVPニューロンが視交叉上核の概日リズム発振およびその周期決定に重要な役割を担うことを示している(但し、このタイプの“ニューロン”が大事なのであって、AVP分子はそれ程重要ではなさそうである)。

先に述べたように全視交叉上核ニューロンがGABAを含有するが、GABAの役割ははっきりしていない¹⁵⁾。理由として、GABAシグナル欠損マウスは生後致死で行動解析が不可能、視交叉上核内でもニューロンタイプによりGABAの機能が異なる、等が考えられた。これらの問題を回避するため、AVPニューロン特異的に小胞GABAトランスポーター(VGAT)を欠損させ、当該ニューロンからのGABA放出のみ特異的に阻害したマウスを作成した¹⁶⁾。このマウスの視交叉上核でも、時計遺伝子に駆動される細胞時計の刻みはほぼ正常であった。しかしin vivoでの視交叉上核の神経活動(発火)は、昼と夜にピークがある二峰性リズムを示した(昼にピークの一峰性が正常)。概日行動リズムも二峰性に変化し、視交叉上核の細胞時計に対して行動の開始時刻が早まり、終了時刻は遅れ、行動時間帯が延長した(図2, 図3)。時計が正確でも、オン・オフタイマーの設定が狂っていたら、まだ寝ていて良い時刻に起こされてしまう。このような視交叉上核の細胞時計上に正確に行動時間帯を設定するメカニズムに、AVP

ニューロンから放出されるGABAを介した細胞間コミュニケーションが重要と考えられた(図3)。これは中枢時計における、細胞内の時計遺伝子メカニズムと協調して機能する新たな制御階層の発見とも言える。

一方で、VIP分子は視交叉上核ニューロンの重要な同調因子として知られているが、我々、および他のグループの研究結果では予想に反し、VIPニューロン特異的に細胞時計を欠損しても、細胞時計の周期を変化させても、概日行動リズムに顕著な異常は観察されない(Tsuno et al, 投稿準備中)¹⁷⁾。これらの結果より、主にAVPニューロンのネットワークに概日リズム発振や概日周期、日長・活動時間帯がコードされており、VIPはAVPニューロンネットワークの位相を調節・安定化するのではないかと考えている。

3. おわりに

中枢概日時計の周期が24時間から大きく外れると、外界の昼夜サイクル(24時間周期)に合わせるのが難しくなる。実際、俗に言う宵つ張りの朝寝坊(夜型傾向)は概日時計の周期が長いことが一因と考えられている。一方時差ボケでは、中枢概日時計の時刻が外界の時刻とずれている(位相がずれている)。歳をとると眠りが浅くなるのは、中枢概日時計の刻みが弱い(振幅が小さい)ためと考えられる。周期、位相、振幅、それぞれがどのように制御されているのか、中枢概日時計のメカニズムを正確に理解することで、体内時計の乱れに起因するさまざまな健康障害・疾患に対し、最も適切な改善・治療法を見出すことができるようになる期待される。中枢概日時計を自由自在に操作できる技術の開発を目指したい。

2017年にノーベル医学生理学賞がこの分野のパイオニア三名に授与されたように、体内時計の細胞内分子機構(細胞時計)については大部分が明らかにされた。一方で、中枢時計・視交叉上核のネットワークメカニズムの理解は緒に就いたばかりである。極めて安定的で堅牢なリズムを発振する一方で、網膜から伝えられた外界の光に効率的に、しかも時刻依存的に同調することのできる、視交叉上核の極めて特異的な性質を説明するのに、細胞内の時計遺伝子メカニズムだけでは明らかに不十分である。1972年に視交叉上核が中枢時計と同定されてから、その構築について多くの解剖学的、分子的、電気生理学的研究が行われてきたが、完全な記述にはほど遠い。今後、遺伝子発現プロファイリングや神経接続パターン、電気生理学的特性などの詳細な情報を基に、ニューロンタイプ特異的な遺伝子操作、神経活動や細胞内Ca²⁺リズムのin vivo計

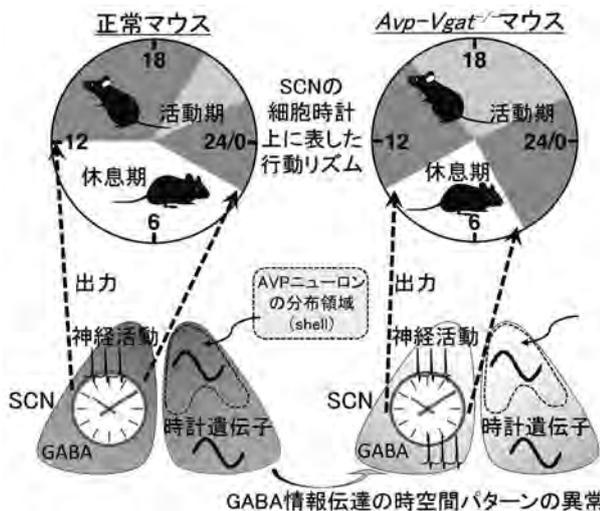


図3. AVPニューロンはGABAを介して視交叉上核SCNの神経活動を制約し、動物が行動する時間帯を決める¹⁶⁾。AVPニューロンのみGABA放出能を損なわせても、時計遺伝子に駆動される細胞時計は正常に時を刻む。一方、SCNニューロンの神経活動は昼と夜にピークのある二峰性リズムを生じ、行動リズムも二峰性に変化する[活動期の開始時刻は早まり、終了時刻は遅れ、中休み(薄灰色)が顕著になる]。

測, 光遺伝学や化学遺伝学による人為的な神経活動操作などの手法を組み合わせることで, 視交叉上核ネットワークの動作原理の理解が進むと期待される。

謝 辞

これまでご指導を頂いた多くの先生方, 共同研究者の方々に深謝いたします。また, 執筆の機会を与えて下さいました金沢大学十全医学会雑誌編集委員長の吉崎智一教授ならびに関係の方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Bass J, Lazar MA. Circadian time signatures of fitness and disease. *Science* 354(6315): 994-999,2016
- 2) Herzog ED, Hermanstynne T, Smyllie NJ, et al. Regulating the Suprachiasmatic Nucleus (SCN) Circadian Clockwork: Interplay between Cell-Autonomous and Circuit-Level Mechanisms. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 9(1): a027706,2017
- 3) Harmar AJ, Marston HM, Shen S, et al. The VPAC(2) receptor is essential for circadian function in the mouse suprachiasmatic nuclei. *Cell* 109(4): 497-508,2002
- 4) Colwell CS, Michel S, Itri J, et al. Disrupted circadian rhythms in VIP- and PHI-deficient mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285(5): R939-R949,2003
- 5) Aton SJ, Colwell CS, Harmar AJ, et al. Vasoactive intestinal polypeptide mediates circadian rhythmicity and synchrony in mammalian clock neurons. *Nat Neurosci* 8(4): 476-483,2005
- 6) Jones JR, Simon T, Lones L, et al. SCN VIP neurons are essential for normal light-mediated resetting of the circadian system. *J Neurosci* 38(37): 7986-7995,2018
- 7) Schwartz WJ, Reppert SM. Neural regulation of the circadian

vasopressin rhythm in cerebrospinal fluid: A pre-eminent role for the suprachiasmatic nuclei. *J Neurosci* 5(10): 2771-2778,1985.

- 8) Groblewski TA, Nunez AA, Gold RM. Circadian rhythms in vasopressin deficient rats. *Brain Res Bull* 6(2): 125-130,1981
- 9) Jin X, Shearman LP, Weaver DR, et al. A molecular mechanism regulating rhythmic output from the suprachiasmatic circadian clock. *Cell* 96(1): 57-68,1999
- 10) Yamaguchi Y, Suzuki T, Mizoro Y, et al. Mice genetically deficient in vasopressin V1a and V1b receptors are resistant to jet lag. *Science* 342(9154): 85-90,2013
- 11) Mieda M. The central circadian clock of the suprachiasmatic nucleus as an ensemble of multiple oscillatory neurons. *Neurosci Res* 156:24-31,2020
- 12) Mieda M, Ono D, Hasegawa E, et al. Cellular Clocks in AVP Neurons of the SCN Are Critical for Interneuronal Coupling Regulating Circadian Behavior Rhythm. *Neuron* 85(5): 1103-1116, 2015
- 13) Mieda M, Okamoto H, Sakurai T. Manipulating the Cellular Circadian Period of Arginine Vasopressin Neurons Alters the Behavioral Circadian Period. *Curr Biol* 26(18): 2535-2542,2016
- 14) Etchegaray JP, Machida KK, Noton E, et al. Casein kinase 1 delta regulates the pace of the mammalian circadian clock. *Mol Cell Biol* 29(14): 3853-3866,2009
- 15) Ono D, Honma K ichi, Yanagawa Y, et al. Role of GABA in the regulation of the central circadian clock of the suprachiasmatic nucleus. *J Physiol Sci* 68(4): 333-343,2018
- 16) Maejima T, Tsuno Y, Miyazaki S, et al. GABA from vasopressin neurons regulates the time at which suprachiasmatic nucleus molecular clocks enable circadian behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118(2):e2010168118,2021
- 17) Lee IT, Chang AS, Manandhar M, et al. Neuromedin s-producing neurons act as essential pacemakers in the suprachiasmatic nucleus to couple clock neurons and dictate circadian rhythms. *Neuron* 85(5): 1086-1102,2015