

中枢概日時計を中心とした統合生理学研究

著者	三枝 理博
著者別表示	MIEDA Michihiro
雑誌名	金沢大学十全医学会雑誌
巻	126
号	2
ページ	41-42
発行年	2017-06
URL	http://doi.org/10.24517/00049307

【研究紹介】

中枢概日時計を中心とした統合生理学研究 Integrative physiology of the central circadian clock

金沢大学医薬保健研究域医学系統合神経生理学
三 枝 理 博

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⁾。ゆえに、概日リズムの変調により不眠、肥満や気分障害、癌等、さまざまな健康障害・疾患リスクが増大する。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。

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。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」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)^{1,2)}。

私たちは、さまざまな遺伝子改変マウスに、電気生理学、薬理学、組織学、行動学、光遺伝学、分子生物学などの手法を適用し、中枢概日時計・視交叉上核神経ネットワークの動作原理を明らかにすること、さらに中枢概日時計が脳機能や全身のホメオスタシス・ホメオダイナミクスを制御するメカニズムを統合的に理解することを目指している。また、中枢概日時計の異常により生ずる

疾患病態の研究や疾患モデルの開発にも発展させていきたいと考えている。

1. 中枢概日時計・視交叉上核

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、各細胞内で概日リズムを刻む分子メカニズム(細胞時計)については、これまでに詳細が明らかになっている^{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、といった順番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、システム間・臓器間でのベストな位相関係が崩れると、様々な健康障害や疾病の一因となると考えられる。

視交叉上核は約2万個のニューロンから成り、複数のタイプのニューロンで構成されている(図2)²⁾。単離された個々の視交叉上核ニューロンは位相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。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。

2. 視交叉上核の神経メカニズムの研究

視交叉上核のほぼ全てのニューロンはGABA作動性であり、その一部が特定の神経ペプチドを共発現する(図2)²⁾。視交叉上核背内側部に分布するAVP(arginine vasopressin)産生ニューロンと、腹側部に位置するVIP(vasoactive intestinal polypeptide)産生ニューロンは2つ

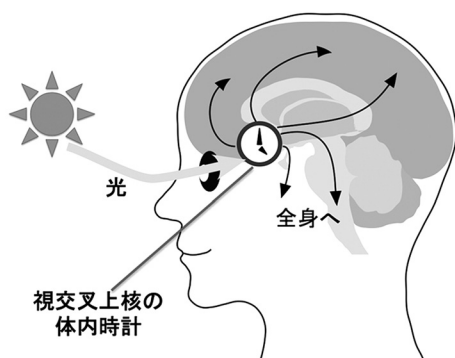


図1. 哺乳類の概日リズム中枢・視交叉上核

の主要なニューロンタイプである。VIPは視交叉上核ニューロン間の同調に重要な因子であり注目を集めてきたが、その作用機序の詳細は明らかでない。AVPニューロンは高振幅の概日振動を示すが、AVPは視交叉上核の出力分子ではあるが、概日リズム発振自体には必要ないと考えられてきた。

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。AVPニューロンのみで細胞時計（概日時計の分子機構）を破壊したマウスは、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³⁾。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）が弱まったためと考えられた。また、AVPニューロンのみで細胞時計の周期を変化させると、それに応じて概日リズム周期も変化することを見出した⁴⁾。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ペースメーカー機能に重要な役割を担うことを示している（但し、AVP分子が重要かは定かでない）。さらにAVPニューロン特異的Vgat（小胞GABAトランスポーター、GABAのシナプス放出に必須の分子）欠損マウスでは、活動時間帯が顕著に延長し、概日行動リズムが極度に減衰することが明らかになった（投稿準備中）。マウス個体によっては概日行動リズムが消失する。すなわち、AVPニューロンからのGABA放出が視交叉上核ニューロンのカップリングに重要であることが示唆される。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、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。これらの結果より、概日リズム発振・周期決定にはAVPニューロンが主要な役割を果たすこと

が強く示唆される。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・安定化すると考えている（図2）。

3. 今後の展望

現在、本稿で紹介した概日リズムに異常を示すAVPニューロン特異的遺伝子操作マウスの視交叉上核について、電気生理学的解析を行っており、神経ネットワークの異常と行動の異常を結びつけようと試みている。さらに、光遺伝学や化学遺伝学的手法を組み合わせ、中枢概日時計神経ネットワークの動作原理に迫りたい。

今後は、光遺伝学・化学遺伝学による神経活動の人為的操作、組換えウイルスベクターを用いた神経回路トレーシング、遺伝子発現プロファイリングなどの手法を用いて、視交叉上核の中枢概日時計が睡眠・覚醒、行動、摂食、自律機能などを制御するメカニズム、さらに中枢概日時計を調節する因子や神経経路について、明らかにしたい。また、中枢概日時計を人為的に攪乱することにより、行動や生体機能にどのような問題が生じるのかを明らかにし、さらにはその乱れを正すために、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す。

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）に合わせる事が難しくなる。実際、俗に言う宵っ張りの朝寝坊（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²⁾。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ことと期待される。

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、今回の寄稿の機会を頂きました金沢大学十全医学会の皆様へ感謝いたします。

文 献

- 1) Bass J, Lazar MA. Circadian time signatures of fitness and disease. *Science*, 354, 994-999 (2016)
- 2) Herzog ED, Hermanstyn 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 (2017)
- 3) 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, 1103-1116 (2015)
- 4) Mieda M, Okamoto H, Sakurai T. Manipulating the Cellular Circadian Period of Arginine Vasopressin Neurons Alters the Behavioral Circadian Period. *Curr Biol*, 26, 2535-2542 (2016)

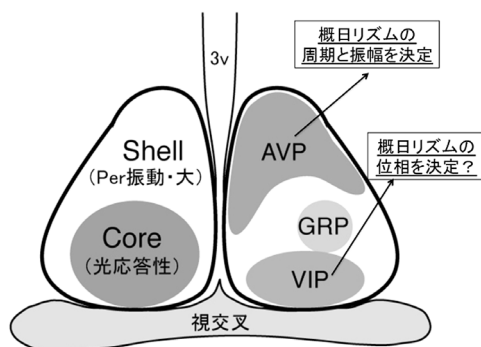


図2. 視交叉上核神経ネットワークにおける機能局在