

令和 2 年 5 月 21 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08580

研究課題名(和文) 不適切環境光入力による概日リズム障害発生機序の究明とその回避方策の検討

研究課題名(英文) English

研究代表者

重吉 康史 (SHIGEYOSHI, Yasufumi)

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：20275192

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：自然界では遭遇しない夜間の光暴露に対してどのような制御があり、中枢神経系がどのような反応を示すか検討を行った。今回、網膜から哺乳類体内時計中枢である視交叉上核(SCN)へ到り、さらにSCNからの投射領域にいたるまで位相依存性に光照射のシグナル伝達が制御されていることが明らかになった。まず、光照射によるSCNのコア領域における神経細胞の興奮が概日リズムによって制御されていることが明らかとなった。さらにこのようなゲートの仕組みが室傍核に及ぶことも明らかになった。さらに、直接光照射を受ける網膜においても位相依存性のゲート機構が存在することを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

光情報は網膜を介して中枢神経系に伝えられる。従来、体内時計による入力制御の検討はSCNにおける反応を検討するものであった。すなわち昼間の光曝露はゲートされて視交叉上核の興奮を生じないことが知られていた。今回、光入力制御システムが網膜にも存在することを明らかにした。また、室傍核の光入力からの興奮が概日リズムで制御されていることを世界で始めて明らかにした。これは光による入力信号が、SCN以外の領域においても制御されていることを示す。この結果は不適切な光曝露が概日リズムのみではなく他の中枢神経系に影響をおよぼすことを示唆する。

研究成果の概要(英文)：We examined how the central nervous system responds to light exposure during the night which is absent in the nature. We revealed that the signal transduction of light is controlled in a phase-dependent manner from the retina to the suprachiasmatic nucleus (SCN), which is the center of the mammalian body clock, and further to the projection area from the SCN. First, it was clarified that the excitation of neurons in the core region of the SCN by light exposure is controlled by the circadian rhythm generated by the SCN. Furthermore, it became clear that such a gate mechanism extends to the paraventricular core. Furthermore, it was proved that there is a phase-dependent gating mechanism in the retina that receives direct light exposure. The findings suggest that light exposure causes an abnormal reaction due to disturbance of circadian rhythm, suggesting that inappropriate light exposure affects not only circadian rhythm but also other central nervous system.

研究分野：時間生物学

キーワード：視交叉上核 概日リズム ゲート機構 光照射 光曝露 網膜 室傍核 Bmal1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

睡眠覚醒、体温、自律神経系、ホルモン分泌などほとんどの生理作用に概日リズムが現れる。概日リズムの中核は視床下部の視交叉上核 (SCN) に存在する。しかし概日リズムを発振可能な概日時計は 身体のほとんどの臓器や組織に存在する。SCN 以外の全身の ”末梢時計” は SCN からのシグナルによってその位相を統括されている。申請者は長年にわたり体内時計と光照射の関連について検討を行ってきた。光による体内時計の位相変位の分子機構を明らかにした(Shigeyoshi 1997 Cell)。また、明暗リズムと体内時計のずれを生じる代表的病態である時差症候群(時差ぼけ)について SCN の背側領域の環境サイクルへの同期が遅れることが時差症候群の原因をなすことを世界に先駆けて示した(Nagano 2003 J. Neurosci)。このように光は網膜から SCN へ到達することによって全身の概日リズムを環境の明暗周期に同期させている。一方、光照射の影響は SCN にとどまらない。シフトワークや睡眠相後退症候群を抱えて通学、通勤をすることによる不適切位相での活動強制や光照射が身体システム全般の破綻を来たすことが明らかである。よって SCN 以外の時計、いわゆる SCN 以外の中枢神経系の諸領域を含む”末梢時計”が光照射によってどのような情報を受け取り、末梢時計がもつ概日リズムにどのような変化をもたらすのかを明らかにすることが、概日リズム関連疾患の予防に必須である。

2. 研究の目的

目的

体内時計中枢と環境光という二つのリズム因子が急性あるいは慢性的な非同期状態となった際に神経系の機能に及ぼす障害の発生機序を明らかにすることを目的とする。光環境の変化、ストレスなどの中枢時計あるいは末梢時計に作用する事が明らかな刺激を加え、階層内および階層間における同期の破綻とその回復について観察する。概日リズムと SCN 以外の中枢神経系における光照射の影響がどこにあらわれるのか、また、その入力には SCN に見られるゲート現象の様に概日リズムによって制御されているのかどうかを明らかにする。さらに階層間を結ぶ同期機構を、組織培養、ゲノム改変マウスの作成といった教室で日常的に利用している介入技術を用いて、形態学的、分子生物学的側面から同期の様態の解析、同期を達成する機構について解析する。同時に、非同期状態によって生じる神経系の機能不全状態を検出し、このような非同期がもたらす健康上の不具合をどのようにして解決策をさぐる。

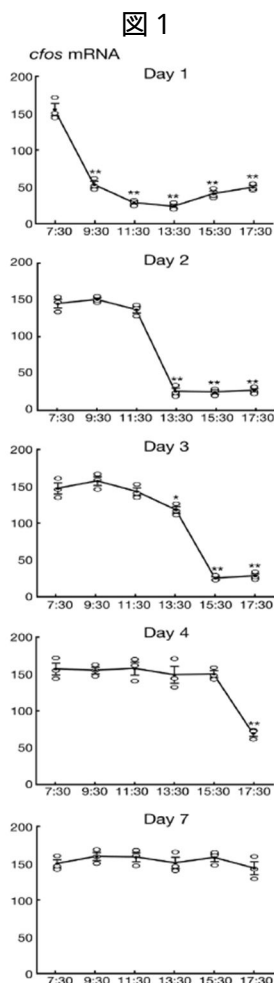
3. 研究の方法

- (1) 時差ボケ期間における光照射に対する不応期 (dead zone) の時間帯が、時差ボケによってどのような位相変位を生じるのか、すなわち、時差ボケを生じている際に、直接中枢神経系の活動に影響をおよぼす時間帯がどのように位相シフトするかを検討した。12 時間明、12 時間暗の LD サイクルで 2 週間以上の期間、C57B/6J オスマウスを飼育した後、LD サイクルを 10 時間後退させた。そののち暗期で二時間おきに 30 分光照射を行い、脳を安楽死の後摘出した。Dead zone の検出のために cFos の SCN への発現を in situ hybridization 法を用いて検討した。

- (2) 網膜における光入力によって、網膜における概日リズムを検出する。8週齢の C57B/6J マウスおよび Bmal1 KO マウスを 12 時間明、12 時間暗の条件で 2 週間以上の期間飼育した。そのうち恒常暗条件として、4 時間おきに 400lux の光照射を 30 分間行い安楽死の後マウスの眼球を摘出して in situ hybridization にて cFos 遺伝子の発現量および局在を検討した。さらに副腎を摘出した後に、同様の実験を行い、副腎からの糖質コルチコイド分泌が cFos 発現の概日リズムにどのような影響を及ぼすかを観察した。
- (3) 教室に導入された機器である発光イメージング装置 Multi versa によって、Per2::luc knock in マウスの脳スライスの全体像を捕らえ概日リズムを持つ領域のスクリーニングを行った。8 週齢の C57B/6J マウスを 12 時間明、12 時間暗の条件で 2 週間以上の期間飼育した。そのうち脳を取り出しスライス培養を行って、前脳および間脳の発光を連続計測した。
- (4) 中枢神経系の光照射反応領域の探索。中枢神経系とくに大脳、間脳における光照射の影響を探索するために、8 週齢の C57B/6J マウスおよび概日リズムが全身性に失われた Bmal1 KO マウスを 12 時間明、12 時間暗の条件で 2 週間以上の期間飼育した。そのうち恒常暗条件として、主観的昼および主観的夜において蛍光灯にて 600lux 光を照射した。30 分後にサンプルを採取し、Digoxigenin でラベルされた cRNA プローブを用いた in situ hybridization 技術を用いて神経興奮のマーカである cFos 遺伝子の発現を観察した。

4. 研究成果

- (1) 時差ぼけ時におけるゲーティングのシフト様式について
 光入力を遮断して SCN の興奮を抑制して、概日リズムに影響を及ぼさない機構はゲートと呼ばれる。また、光に反応しない時間帯を dead zone と読んでいる。このような光情報を中途遮断するゲート機構が時差ぼけ時にどのように位相変位するかを SCN における cFos 遺伝子の光による誘導現象を観察することによって明らかにした。この研究で、デッドゾーンの位相が SCN のシェル領域からのタイミング信号の制御下にあることを示唆する。さらにゲートは時差ぼけ時における主観的夜での光暴露を遮断しないことが明らかになった。急な明暗サイクルのシフト後に徐々に dead zone はシフトした。図 1 に光照射後の cFos 陽性細胞数の日毎の変位を示す。これはゲート機構の位相も SCN のシェル(背内側部)における概日リズムによって支配されていることを示している。(Nagano et al. Brain Research 2019 にて発表。)



(2) 網膜のゲート位相を決定している機構の解明

網膜は SCN (S C N) の中心概日時計を同調させるために光信号を送信する。 S C N は末梢概日生理機能を調節するが周囲光も含まれるので網膜の細部は不明のままである。我々はマウスの網膜概日システムの機構を検索した。最初に網膜内で概日リズムの位相特異的に光に反応する領域を明確化した。さらに副腎からの糖質コルチコイドによって網膜の光反応の概日リズムが制御されていることを明らかにした。これは周囲光ではなく SCN がグルココルチコイドを介して網膜リズムを調節することを示したものである。(論文投稿中。)

(3) 概日リズムをもつ脳領域の迅速スクリーニング系の確立とその結果

教室に導入された機器 Multi versa によって、Per2::luc knock in マウスの脳スライスの全体像を捕らえ概日リズムを持つ領域のスクリーニングを行った。このスライスには副腎ホルモンの影響下がないことから理想的な条件である。海馬、大脳皮質、小脳などほとんどの領域で概日リズムをとられることができなかった。一方、線条体に継続する概日リズムが存在することが明らかとなった。(未発表。)

(4) Bmal1KO マウスを用いた脳領域光照射スクリーニング

自然界では光照射のない夜間 (midnight) の光入力に対して、SCN 以外にどのような領域で神経興奮が生じるか、さらに概日リズムがその神経興奮にどのような影響を及ぼすのかを検討した。Bmal1 は時計遺伝子であり、その遺伝子の欠失によって概日リズムは失われる。Bmal1 KO マウスを用い、神経興奮のマーカーである cFos 遺伝子の誘導の局在を検討した。前脳、間脳をスクリーニングした結果、野生型マウスと Bmal1 KO マウスにおいて SCN および視床下部室傍核にのみ明瞭な相違が認められた。恒常暗条件一日目の野生型マウスでは、明期にあたる時刻に光照射を行うと cFos は SCN に誘導されなかった (ゲート現象) 一方、室傍核には cFos が誘導された。逆に Bmal1 KO マウスにおいては、明期に当たる時刻にも SCN に cFos が誘導された。一方、夜間の光照射でも室傍核での cFos の誘導は低下していた。これは概日リズムが中枢神経系への光曝露情報の入力を制御していることを示している。(投稿準備中。)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Nagano Mamoru, Ikegami Keisuke, Minami Yoichi, Kanazawa Yuji, Koinuma Satoshi, Sujino Mitsugu, Shigeyoshi Yasufumi	4. 巻 1714
2. 論文標題 Slow shift of dead zone after an abrupt shift of the light-dark cycle	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Research	6. 最初と最後の頁 73～80
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.brainres.2019.02.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Terajima Hideki, Yoshitane Hikari, Yoshikawa Tomoko, Shigeyoshi Yasufumi, Fukada Yoshitaka	4. 巻 8
2. 論文標題 A-to-I RNA editing enzyme ADAR2 regulates light-induced circadian phase-shift	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14848
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-33114-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Niwa Yasutaka, Kanda Genki N., Yamada Rikuhiko G., Shi Shoi, Sunagawa Genshiro A., Ukai-Tadenuma Maki, Fujishima Hiroshi, Matsumoto Naomi, Masumoto Koh-hei, Nagano Mamoru, Kasukawa Takeya, Galloway James, Perrin Dimitri, Shigeyoshi Yasufumi, Ukai Hideki, Kiyonari Hiroshi, Sumiyama Kenta, Ueda Hiroki R.	4. 巻 24
2. 論文標題 Muscarinic Acetylcholine Receptors Chrm1 and Chrm3 Are Essential for REM Sleep	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2231～2247.e7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2018.07.082	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tamai T Katherine, Nakane Yusuke, Ota Wataru, Kobayashi Akane, Ishiguro Masateru, Kadofusa Naoya, Ikegami Keisuke, Yagita Kazuhiro, Shigeyoshi Yasufumi, Sudo Masaki, Nishiwaki Ohkawa Taeko, Sato Ayato, Yoshimura Takashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Identification of circadian clock modulators from existing drugs	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 EMBO Molecular Medicine	6. 最初と最後の頁 e8724～e8724
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15252/emmm.201708724	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sujino Mitsugu, Asakawa Takeshi, Nagano Mamoru, Koinuma Satoshi, Masumoto Koh-Hei, Shigeyoshi Yasufumi	4. 巻 8
2. 論文標題 CLOCK 19 mutation modifies the manner of synchrony among oscillation neurons in the suprachiasmatic nucleus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 854
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-19224-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sujino Mitsugu, Asakawa Takeshi, Nagano Mamoru, Koinuma Satoshi, Masumoto Koh-Hei, Shigeyoshi Yasufumi	4. 巻 8
2. 論文標題 CLOCK 19 mutation modifies the manner of synchrony among oscillation neurons in the suprachiasmatic nucleus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 854
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-19224-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kanazawa Yui, Ikegami Keisuke, Sujino Mitsugu, Koinuma Satoshi, Nagano Mamoru, Oi Yuki, Onishi Tomoya, Sugiyo Shinichi, Takeda Isao, Kaji Hiroshi, Shigeyoshi Yasufumi	4. 巻 98
2. 論文標題 Effects of aging on basement membrane of the soleus muscle during recovery following disuse atrophy in rats	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Experimental Gerontology	6. 最初と最後の頁 153 ~ 161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exger.2017.08.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kurosawa Gen, Fujioka Atsuko, Koinuma Satoshi, Mochizuki Atsushi, Shigeyoshi Yasufumi	4. 巻 13
2. 論文標題 Temperature?amplitude coupling for stable biological rhythms at different temperatures	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLOS Computational Biology	6. 最初と最後の頁 e1005501
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pcbi.1005501	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kubo Atsuko, Sujino Mitsugu, Masumoto Koh-hei, Fujioka Atsuko, Terashima Toshio, Shigeyoshi Yasufumi, Nagano Mamoru	4. 巻 50
2. 論文標題 Profiles of Periglomerular Cells in the Olfactory Bulb of Prokineticin Type 2 Receptor-deficient Mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Acta histochemica et cytochemica	6. 最初と最後の頁 95 ~ 104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1267/ahc.17001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koinuma Satoshi, Kori Hiroshi, Tokuda Isao T., Yagita Kazuhiro, Shigeyoshi Yasufumi	4. 巻 12
2. 論文標題 Transition of phase response properties and singularity in the circadian limit cycle of cultured cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0181223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0181223	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 重吉 康史
2. 発表標題 基礎医学から時間医療を考える 未来予想図――これからの時間医療――
3. 学会等名 日本睡眠学会第44 回定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 重吉 康史
2. 発表標題 あなたの体内リズム正確ですか？サーカディアンリズムとアレルギー管理
3. 学会等名 第36回日本小児臨床アレルギー学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 重吉 康史
2. 発表標題 体内時計を意識した睡眠障害への新しいアプローチ
3. 学会等名 第2回日本心身医学関連学会合同集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	池上 啓介 (IKEGAMI Keisuke) (10709330)	近畿大学・医学部・助教 (34419)	
研究 分担者	筋野 貢 (SUJINO Mitsugu) (30460843)	近畿大学・医学部・助教 (34419)	