

第3回 体内時計を介した概日リズムの発生機構

体内時計は太陽光との関連性が深いことは良く知られていますが、食事による影響についてはあまり理解されていません。第3回では、初回講座の続きとして中枢時計と末梢時計の働き方の違いについて、また第2回に解説した内容と関連する時計遺伝子を介した概日リズムの発生機構について説明します。

体内時計（中枢時計と末梢時計）について

光の刺激は網膜（メラノプシン発現神経細胞）から、視床下部の上部にある視交叉上核（suprachiasmatic nuclei: SCN、約1万6千個の神経細胞から成る神経核領域）に伝わり、その神経細胞内に存在する中枢時計（主時計や親時計とも言われる）に達します（図1）。中枢時計は身体中の細胞に指令を送る司令塔で、全身の数十兆個の細胞に同調を促す働きを担っています。そして、その指令を受け取って同調する（リズムを刻む）のが個々の細胞に存在する末梢時計（従時計や子時計とも言われる）です。演奏会の指揮者に例えられる中枢時計から演奏家の末梢時計に指令が伝達される仕組みは、完全には解明されていませんが、その情報伝達に関わるのは交感神経系やホルモン、サイトカインなどの体液中の成分（液性因子）であると考えられています。例えば、中枢時計からの発振（シグナル）が交感神経を介して直接副腎を刺激し、増加した副腎皮質ステロイドホルモン（グルココルチコイド）が全身の細胞に情報を伝える結果、末梢時計の同調が起こるという機序です¹⁾。実際には、様々な液性因子が複合的に作用して体内リズムを形成していると考えられます。

光の刺激で中枢時計の発現リズムが起動する 食事(朝食)摂取で末梢時計の発現がリセットする

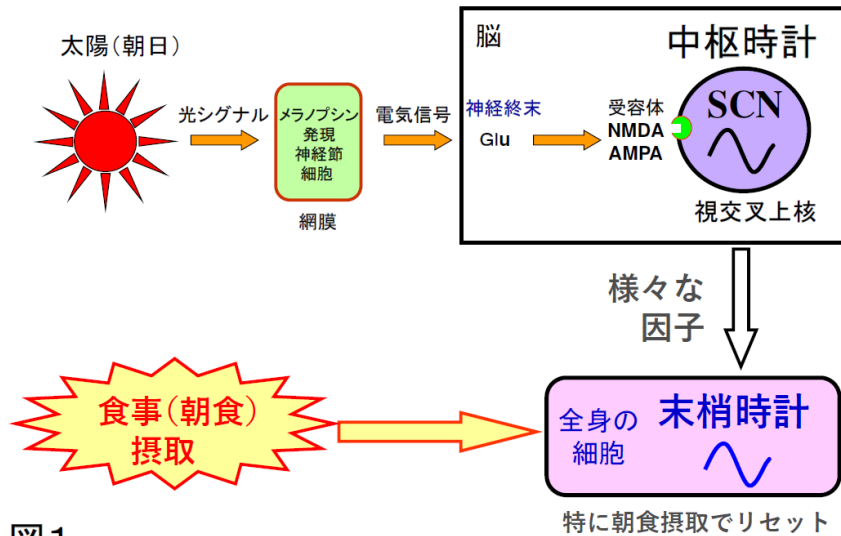


図1

一方、時間栄養学の核心部分と言えるのが食事による概日リズムへの影響です。中枢時計の発振に応じて液性因子が増加する結果、全身の末梢時計の概日リズムに指令が伝わるならば、食事に含まれる栄養成分によっても同様に末梢時計の概日リズムは影響を受ける可能性があります。そしてそれが最初に証明されたのは、中枢の影響がない培養細胞を血清（血液から血球を除いた成分）で刺激すると時計遺伝子にリズムが発生したと言う1998年の報告です²⁾。さらに、マウスに特定の時間にだけ餌を与える制限給餌の実験で、肝臓や腎臓、心臓、膵臓にある末梢の時計遺伝子の概日リズムが中枢時計とは無関係に前進したり後退したりする（位相が変わる）ことが明らかにされ³⁾（図2）、別のグループからも同様の実験結果が報告されました⁴⁾。これらのことから、末梢に存在する時計遺伝子は主に食事の影響を受けて体内時計の概日リズムをリセットすることが明確になりました。食事をする時刻や食事の内容（組成）が末梢細胞の概日リズムに影響するという発見は、健康について時間栄養学の視点で考える契機になった点で大変に重要なものだったと思われます。

制限給餌の末梢時計への影響

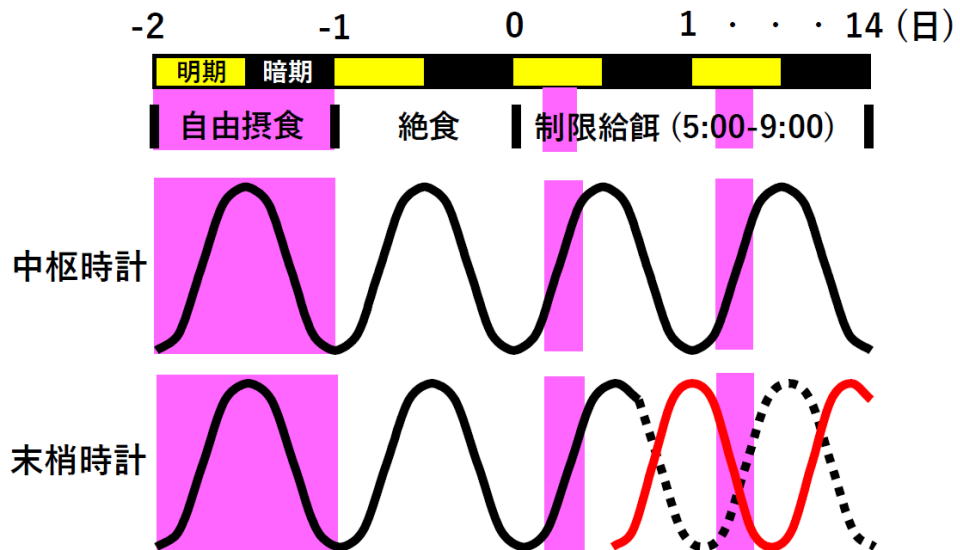


図2 中枢時計は光(黄色)の刺激により規則正しく発現の増減を繰り返すが、末梢時計は食事(ピンク色、制限給餌は普段摂食しない明期の5~9時にだけ餌を与えた)の影響を受けて発現が変動(赤線)する。

概日リズムの発生機構

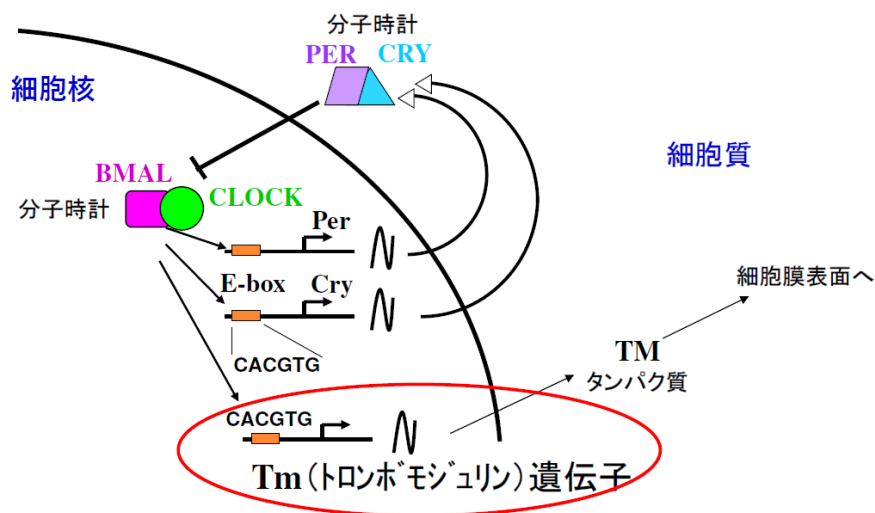
1729年にフランスの科学者がミモザの木を観察した結果から、植物には太陽の光に依存しない24時間周期を生み出す仕組みがあることを見出したのが概日リズムの存在を示した最初だと言われています。その後の長い年月を経て、体内時計に関する研究は、後述するノーベル賞と関連する1970年以降のショウジョウバエ(染色体が四対しかなく、世代交代も10日程と短い)を用いた時計遺伝子の発見により進展しました(表1)。現在想定されている概日リズムの発生機構について以下に説明します(図3)。

表1

体内時計研究の年表

西暦	生物	内容
1729年	植物	初めての概日リズムの報告
1959年	アカパンカビ	概日リズムの報告
1971年	ショウジョウバエ	<i>period</i> 変異体
1984年	ショウジョウバエ	<i>period</i> 遺伝子の単離 → ノーベル賞研究
1994年	ショウジョウバエ	<i>timeless</i> 遺伝子の単離 → ノーベル賞研究
1994年	マウス	<i>Clock</i> 変異体(哺乳類で最初の報告)
1997年	マウス	<i>Clock</i> 遺伝子の単離
1997年	哺乳類	<i>Period</i> 遺伝子の単離
1998年	培養細胞	血清添加でリズム産生
1998年	藍藻	<i>Kai</i> 遺伝子群の単離
2000年	マウス	末梢の時計遺伝子の食事による変動
2005年	藍藻	リン酸化を介した概日リズム安定化の研究
2017年	生物	体内時計制御機構の発見でノーベル賞

トロンボモジュリンの概日リズムも時計遺伝子の転写制御で生じる



BMAL-CLOCK 2量体はE-ボックスに結合してその下流の遺伝子を発現増加させ、mRNAからタンパク質(PERとCRY)の合成を促進させる。合成されたPER-CRY 2量体は核内でBMAL-CLOCK 2量体の働きを抑制する。その結果、PERとCRYの合成が低下するようになり、今度は次第に再びBMAL-CLOCK 2量体の働きが高まる。(フィードバックループ) E-ボックスを有する遺伝子(Tm)はこの分子時計の増減サイクルに依存して、同様のリズムを刻むので、タンパク質(TM)も概日リズムが発生する。

図3

第2回講座で解説しましたように、体内時計タンパク質もその設計図である時計遺伝子から転写・翻訳過程を経て合成されます。時計遺伝子（Per（パー）やCry（クライ））の転写に影響を及ぼす遺伝子中の調節領域には、E-ボックスと呼ばれる6塩基対からなる特定の遺伝子配列（典型的な配列はCACGTG）が存在しています。一方、別の時計遺伝子（Clock（クロック）やBmal（ビーマル））の産物である分子時計（注1）（CLOCKやBMAL）にはこのE-ボックスに結合する働きがあります⁵⁾。図3に示しますように、時計遺伝子を介した分子時計の周期的な増減が発生する機構は、以下のようなフィードバックループが形成されることによります。すなわち、分子時計のCLOCKとBMALがヘテロ二量体（CLOCK-BMALのように異なる物質が対になった状態）を形成して核内で時計遺伝子のPerやCryに存在するE-ボックス配列に結合すると、それぞれの転写が促進される結果、細胞質内に分子時計のPERやCRYが翻訳によりたくさん産生されます。このPERとCRYがヘテロ二量体（PER-CRY）を形成して核内に移行すると、今度はCLOCK-BMALの働きを阻害するように作用します。その結果、E-ボックスに依存した転写反応が進まなくなり、次第にPerとCryの発現（結果的にPERとCRYの産生）が減少してくるので、逆にCLOCK-BMALの働きが回復して転写（その後の翻訳）が促進するようになるというものです⁵⁻⁷⁾。この発現増減のサイクルは睡眠から目覚めた後の強い光刺激によりリセットされるので、24時間周期の変動が毎日発生することになります。

この機構において重要なのは、E-ボックス配列を有する別の遺伝子とその産物のタンパク質（例えば、図3中のTmとTM）にも、時計遺伝子とその産物（分子時計）と同様の転写促進/抑制反応のサイクルが生まれ、24時間の概日リズムが発生することです。実際にはタンパク質のリン酸化や別の経路も関与するなどもっと複雑な調節機構になっていますが、基本的には図3に示すような時計遺伝子の発現変動を介して分子時計が増減することで、概日リズムが発生すると理解されています。末梢時計は光に感受性の高い中枢時計からの指令を受け取りますが、食事による影響も大きいことから、朝日を浴びてからあまり時間を経過しないうちに朝食を摂取し、両時計が同調するリズムを刻むような生活を送ることが大切です。

（注1）体内時計と分子時計の使い分けは明確ではありませんが、本講座では体内時計は機能を表す時に、分子時計は個々の時計タンパク質を意味する時に使用します。

体内時計とノーベル賞

2017年のノーベル生理学・医学賞は「体内時計を制御する分子メカニズムの発見」により米国の3人の研究者が受賞しました（図4）。体内時計をコントロールする「時計遺伝子」を発見し、その仕組みを解明したことが受賞理由です。彼らの発見に先立って1971年にショウジョウバエから体内時計（*Per* 変異体）を見つけたシーモア・ベンザー博士⁸⁾もご存命なら受賞されたことでしょう。

2017年 ノーベル生理学・医学賞

ジェフリー・ホール	米ブランダイス大名誉教授(72歳)
マイケル・ロスバシュ	米ブランダイス大教授(73歳)
マイケル・ヤング	米ロックフェラー大教授(68歳)

受賞理由： **体内時計を制御する分子メカニズムの発見**
(体内時計をコントロールする「時計遺伝子」を発見し、その仕組みを解明)

- ・ホール氏とロスバシュ氏は1984年、ショウジョウバエをモデルに、日常の体内リズムを制御する**時計遺伝子「ペリオド」**を特定。
(ヤング氏らも同年に同じ遺伝子を報告)
- ・ホール氏とロスバシュ氏はこの遺伝子によって作られるたんぱく質が夜間に細胞内で作られ、日中に分解されることを発見。**24時間の体内サイクルとの同調を解明。**
- ・ヤング氏は94年にペリオドの機能を補完する時計遺伝子**「タイムレス」**を発見。
(タイムレスは哺乳類の**「クライ」**に相当する)

図4

著者は日系アメリカ人のジョセフ・タカハシ博士（哺乳類では初めてになる時計遺伝子 *Clock*（変異体はイタリック体を使う）を1994年に発見⁹⁾）が受賞者の一人になるかと思っていましたし、池田正明先生（埼玉医科大学、BMAL1 (Brain and Muscle Arnt-like 1 の頭文字) の命名者¹⁰⁾ で、2018年8月に女子栄養大学で開催した第5回時間栄養科学研究会（現日本時間栄養学会（注2））において特別講演（演題：ノーベル賞研究に貢献した時計遺伝子 *Bmal1* の発見）をしていただきました）も候補者の一人と思っていました。また、この領域における初期の研究とは言えないものの、食事（栄養）によって末梢の時計遺伝子の

発現が大きく影響を受けることを発見した前述の培養細胞や制限給餌での研究²⁻⁴⁾も極めて重要な報告だったと考えられます。

現在、私達に身近な食材の摂取法や食事時刻に関するたくさんの研究成果が報告されるようになり、「時間栄養学と疾患」について大きな関心が持たれています。これらの内容については次回以降に紹介させていただきます。

(注2) 第8回日本時間栄養学会学術大会(大会長:大池秀明(農研機構)、テーマ:「美味しさ・食欲と時間栄養」)が2021年8月27~28日にオンラインで開催されます。興味のある方は学会のホームページ(<https://www.chrono-nutrition.jp/>)をご覧ください。

参考文献

- 1) Le Minh, N, *et al.*: Glucocorticoid hormones inhibit food-induced phase-shifting of peripheral circadian oscillators, *EMBO J.*, **20**, 7128-7136 (2001)
- 2) Balsalobre, A., *et al.*: A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells, *Cell*, **93**, 929-937(1998)
- 3) Damiola, F., *et al.*: Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus, *Genes Dev.*, **14**, 2950-2961 (2000)
- 4) Stokkan, K.A., *et al.*: Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding, *Science*, **291**, 490-493 (2001)
- 5) Kume, K., *et al.*: mCRY1 and mCRY2 are essential components of the negative limb of the circadian clock feedback loop, *Cell*, **98**, 193-205 (1999)
- 6) Gekakis, N., *et al.*: Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism, *Science*, **280**, 1564-1569 (1998)
- 7) Dunlap, J.C.: Molecular bases for circadian clocks, *Cell*, **96**: 271-290 (1999)
- 8) Konopka, R.J., and Benzer, S.: Clock mutants of *Drosophila melanogaster*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **68**, 2112-2116 (1971)

9) Vitaterna, M.H., and Takahashi, J.S., *et al.*: Mutagenesis and mapping of a mouse gene, Clock, essential for circadian behavior, *Science*, **264**, 719-725 (1994)

10) Ikeda, M., and Nomura, M.: cDNA cloning and tissue-specific expression of a novel basic helix-loop-helix/PAS protein (BMAL1) and identification of alternatively spliced variants with alternative translation initiation site usage, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **233**, 258-264 (1997)