

最先端・次世代研究開発支援プログラム  
事後評価書

研究課題名	現代時間環境の検証基盤となる概日時計機構解析と時間医学技術開発
研究機関・部局・職名	山口大学時間学研究所 教授
氏名	明石 真

## 【研究目的】

本課題の目的は、24 時間社会に生きる現代人が概日時計と向き合って健康に生活するために、その基盤となる基礎的知見と技術開発に貢献することだった。この達成のために、当初の研究計画では以下（1）から（4）の4つの課題をあげた。（1）時計遺伝子 *Period* は概日時計システムにおいて不可欠な構成因子であるが、その遺伝子産物の機能は明確ではない。真の機能を明らかにすることで、現在の概日時計分子モデルの矛盾点を解決する。（2）概日時計機能を失ったマウスを用いて、概日時計と疾患の関係を明らかにする。主に、動脈硬化の増悪に対して概日時計機能不全が及ぼす影響を探る。また、24 時間社会における現代人の健全な概日時計を守るために、以下の2つに挑戦する。（3）概日時計を診断するために、医療の現場などで利用できる簡易で低侵襲的なヒトの時計遺伝子測定技術を確立する。（4）食による概日時計制御メカニズムを解析するとともに、概日時計に作用する天然物質の探索を行うことで人為調節の基盤とする。

## 【総合評価】

<input type="radio"/>	特に優れた成果が得られている
<input type="radio"/>	優れた成果が得られている
<input type="radio"/>	一定の成果が得られている
<input type="radio"/>	十分な成果が得られていない

## 【所見】

## ① 総合所見

概日時計は地球上に暮らす生物の代謝、活動などに重要な役割を果たすシステムであり、その異常が疾患に影響を与える可能性も十分に想定されている。したがって、世界的にも、国内的でも多くの研究者が参入している重要研究領域である。最終目標である概日時計作用物質のヒトへの適用には至っていないが、本課題研究は着実に推進し十分な成果を上げている。

概日リズムの細胞内メカニズムに加え、それを変調させたり、細胞集団あるいは組織間で同調させたりするメカニズムも重要である。本研究課題の大半はむしろ後者に

深く関連し、そのメカニズムに関し、CLOCK のリン酸化やインスリンの作用を示唆する結果が示されている。すなわち、PER は CRY と共に抑制因子として働くだけではなく、CRY を一時的に抑制する機能も持つことを明らかにした。

概日リズムを外的に錯乱したマウス（慢性時差ぼけモデル）の実験は、本研究課題においては重要な位置づけである。Period2 遺伝子の機能欠損マウスに高脂肪食を負荷すると、コントロールマウスに比べて動脈硬化巣が拡大することを明らかにしたことは、今後の発展を期待させる成果である。

摂食による概日時計の分子メカニズムを検討した結果、摂食による概日時計の調節にはインスリンが作用することを、主にインビボイメージング法とインスリン阻害ペプチドを組み合わせることによって示された。さらに、インスリンは組織特異的に概日時計の調節を行っていることが明らかにされた。

## ② 目的の達成状況

・ 所期の目的が

(  全て達成された ・  一部達成された ・  達成されなかった )

研究代表者は時計遺伝子産物の中で Per(period)ファミリーに焦点をあてて研究を進めており、本研究課題では (1) Per の新規機能の同定、(2) Period 欠損マウスを用いて、高脂肪食付加による動脈硬化発症における概日時計の関与の解析を目指した。さらに、現所属着任後1年で本課題に採択されたこともあり、意欲的に (3) ヒト体内時刻測定法の開発、(4) 概日時計調節を可能とする天然物質の探索も目指した。

(1) については、PER が、CRY による PER 発現の抑制に抑制をかけることで、概日リズムフィードバックループを遅延させることを *in vivo* で明らかにしたこと、PER3 にはそのような効果がないことを示したことが大きな成果とみなされ、十分に達成されていると評価できる。

概日リズムの細胞内メカニズムに加え、それを変調させたり、細胞集団あるいは組織間で同調させたりするメカニズムも重要だと思う。本研究課題の大半はむしろ後者に深く関連していると思われる。そのメカニズムにつき、CLOCK のリン酸化やインスリンの作用を示唆する結果が示された。すなわち、概日時計はこれまで、遺伝子の活性化因子 (BMAL1 と CLOCK) と遺伝子の抑制因子 (PER と CRY) によって生み出されていると考えられていたが、申請者たちは、PER は CRY と共に抑制因子として働くだけではなく、CRY を一時的に抑制する機能も持つことを明らかにした。

(2) については、Period2 遺伝子の機能欠損マウスに高脂肪食を負荷すると、コントロールマウスに比べて動脈硬化巣が拡大することを明らかにしている。しかし、動脈硬化発生機序が複雑なため、Period 遺伝子欠損マウスで動脈硬化が増悪されるという結果のみでは不十分だと思う。a) 遺伝子レスキューの効果、b) 時計遺伝子が動脈硬化に間接的に関与するにしても、摂餌量、行動活性、内分泌活性、交感神経活性などの何れの要因を介しているのか、c) さらに、通常マウスの概日リズムを変調させた場合（「慢性時差ぼけ条件」）の効果、を調べることが必要だろう。

(3) 概日時計機能の正常化（多くの場合は脱同調の修正を意味する）のために、位

相調節を補助するための薬や食品開発は有効な手段である。概日時計本体を理解するには時計遺伝子の発現リズムを評価しなければならないが、従来法はスループット性に乏しくまた精度の低いものであり、多数の環境因子や物質の評価に適用することは困難であった。申請者たちはこの問題を世界にさきがけて解決するために、概日時計の振動体そのものである時計遺伝子の発現リズムを、自由行動下の動物においてリアルタイムで計測するための技術開発を行った。その結果、未だ成功率は 50% 程度ではあるが、2 週間以上にわたって時計遺伝子の発現リズムをモニタリングし続けることに成功している。

(4) については、具体的な内容が不明確であり、「現在進行中」と解釈される。「in vitro 実験系によって以前から着目していた天然物質群の in vivo での効果を検証しつつある」のか、「新しいスクリーニング法によって天然物質群から候補物質を探索し、それらの効果を in vivo で検証しつつある」のかが曖昧である。しかし、特許などの関係で、公表を控えていることも考えられ、評価が困難である。

以上の研究成果は、食による概日時計調節の基礎的メカニズムと応用に貢献するものである。最終目標である概日時計作用物質のヒトへの適用には至っていないが、目標を十分に達成したと考えられる。

### ③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が  
( ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が  
( 創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

本研究課題の最も独創的な点は、「毛包 1 個を数回摘出し、PER 遺伝子発現を時系列的に調べることでヒトあるいは動物個体の体内時計を正確に見る」技術を開発し、その応用への糸口を得ることにあると考える。目的(1)はその理論的基盤の構築といえ、これについては先進性・優位性のある成果を得ていると評価できる。一方、最も独創性をもつ概日時計評価系の構築については、最終的な確立段階へのアプローチの途上であり、当初目的にあった臨床応用への試みには至っていないようである。

概日リズムにおける PER 遺伝子の機能に関わる新規知見は、生理学一般からみても十分に特筆すべき成果といえる。一方、新規の概日時計評価系の構築については、特筆すべき研究成果が創出されつつあると判断される。

概日リズムを変調するメカニズムとして、CLOCK のリン酸化が関与することを示すデータが得られている。概日リズムについては、そのメカニズムそのものも重要な課題だが、それを変調させるメカニズムもまた重要であり、概日リズムに関連した疾患の予防・改善のキーポイントになると考えられる。CLOCK のリン酸化やインスリンの作用を示唆する結果が示されている。すなわち、PER は CRY と共に抑制因子として働くだけでなく、CRY を一時的に抑制する機能も持つことを明らかにした点は評価できる。また、個体レベルではインスリンが PER 発現を活性化するという知見も得られており、摂食が概日リズムを調整するメカニズムが個体-分子レベルを通じて解明さ

れる手がかりになる可能性がある。

研究代表者の研究提案の方向性の応じた研究成果が得られており、ブレイクスルーと呼ぶべき成果に繋がる可能性はある。研究代表者らが開発中の体内時刻測定法は簡便であり、かつ侵襲性が少ないので、サンプルの採取法（十分な細胞が付着した毛根の採取法）などに関するマニュアルなども整備できれば、臨床応用可能な測定技術である。

#### ④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が  
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が  
(見込まれる ・ 見込まれない)

現代社会では、ヒトのもつ本来の生体リズムから逸脱した人工環境にさらされる機会が多く、それに関連した社会的、経済的課題も多いと思われる。例えば、生活リズムの乱れによる児童の学力低下、昼夜連続業務による事故の発生などが上げられる。本研究成果は、(間接的に)概日リズムの変調が生活習慣病の発症に関連することを示していることから、生活リズムの重要性を広く社会に認識させるためのエビデンスとなると考えられる。また、新規の概日時計評価系が確立されれば、これを体調の評価・管理や、無理な業務による事故防止などの社会的問題の解消、さらにそれらに関連した産業分野の育成などに役立てられる可能性があり得る。

本課題は、従来の概日時計分子モデルの改良につながるインパクトの大きな成果を含み、同領域の進展に寄与するものである。研究成果が社会的・医学的に応用できるようになれば、関連する研究分野の進展に寄与することが見込まれる。現時点では社会的、経済的課題の解決に貢献できる成果は得られていないが、研究代表者らが開発中の体内時刻測定法の技術開発が進めば、貢献する可能性も見込まれる。それゆえ、本研究課題によって、社会的課題の解決に貢献する研究の芽が見いだされたと評価出来よう。

#### ⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

高インパクトなジャーナルに3編の論文発表を含め、研究成果を、英文原著論文8編を報告している。分子メカニズムの解析に関する研究に関し、当初の計画目標を上回る成果を得たと言える。一方、知的財産権の出願も無いことは残念である。

一般向けの講演会、雑誌、テレビ番組でも積極的に啓発活動を勧めるなど、十分に国民との対話を行っている。ただし、本研究課題の実施状況や成果の一端がどの程度これらに含まれているかは不明確である。一般向けのセミナーや講演会も年複数回実施されているが、これらが、1) 本研究課題の運用の一環として行ったものか、2) 研究組織における定期的セミナーなどの一部として行ったものか、3) 招待講演の一部として行ったものかは明らかでない。