

時計遺伝子による体内時計の制御について

はじめに

生物が持つ約 24 時間周期のリズムのことを体内時計と言い、時計遺伝子と呼ばれる複数の遺伝子によって制御されています。規則正しい生活では、時計遺伝子はメリハリのあるリズムを刻みます。一方で、不規則な生活により時計遺伝子は乱れた弱いリズムとなります(図-1)。体内時計の乱れは、睡眠障害をはじめとした様々な生活習慣病の発症に影響を与えると考えられています。このように日々の生活に大きな影響力を持つことから、体内時計に対する注目度は日ごとに高まっています。

今回は、2017年のノーベル生理学・医学賞¹⁾で話題になった時計遺伝子による体内時計の制御についてご説明いたします。

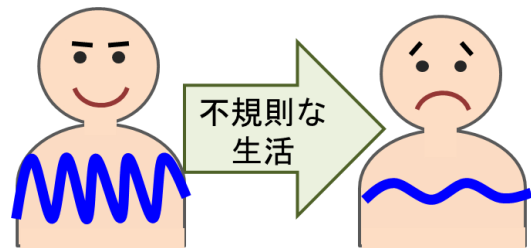


図-1 体内時計のイメージ

① 体内時計の乱れによる影響

ヒトに存在する約 3 万もの遺伝子のうち 15%程度が時間により発現量が変動すると言われております²⁾。そのため、体内時計の乱れは、睡眠だけでなく、うつ病や肥満、糖尿病、高血圧など広範囲に影響を及ぼします。パソコンやスマートフォンなどのブルーライトやシフトワークによる夜勤等、近年のライフスタイルの変化により、体内時計が乱れた人は増加傾向にあります。

② 体内時計のリセット機能

ヒトの体内時計は 24 時間よりわずかに長いことが知られております³⁾。したがって、規則正しい生活を送る人の体内時計が徐々に遅れていったとしても不思議ではありません。

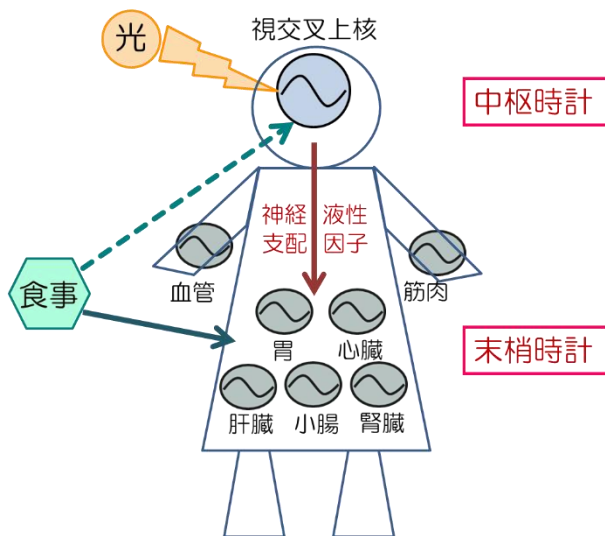


図-2 中枢時計と末梢時計

ところが実際には、体内時計に備わっているリセット機能により 24 時間周期が保たれています。

体内時計は中枢時計と末梢時計に分かれています。中枢時計は脳の視交叉上核という領域に存在し、末梢時計は全身の細胞に存在します。中枢時計は光によるリセット機能を持ち、朝に光を浴びることで体内時計の時刻合わせをします。さらに、この時刻情報を末梢

時計に伝える司令塔の役割も担っています。さながら、中枢時計は指揮者、末梢時計はコーラス隊のように、中枢時計の指揮に末梢時計が従い、体全体の時刻を合わせています(図-2)。

一方で、最近の研究で末梢時計が食事で独自にリセットされることが分かってきました³⁾。例えば、夜行性のマウスに昼の間、餌を与えるとマウスの末梢時計は昼型に変わることが研究により明らかとなっており³⁾、このことは朝に十分な光を浴び体内時計の時刻を合わせても、不規則な食事が原因で末梢時計が中枢時計の指揮からはずれ、乱れた体内リズムを刻む可能性を示しています。

食事による体内時計の制御は重要なリセット機能のひとつですが、現代では不規則な時間に食事を摂る機会が増え、中枢時計と末梢時計の調和が取れず、体内で時差が生じている人が増えています。

③ 時計遺伝子による体内時計の制御

生物に約 24 時間周期の体内時計が存在することは古くから認識されていましたが、そのメカニズムは長い間不明でした。2017 年ノーベル生理学・医学賞を受賞したホール博士、ロスバシュ博士、ヤング博士のショウジョウバエを用いた研究により、時計遺伝子が体内時計を制御していることが明らかとなりました。現在ではヒトを含む哺乳類における分子機構も解明されています。

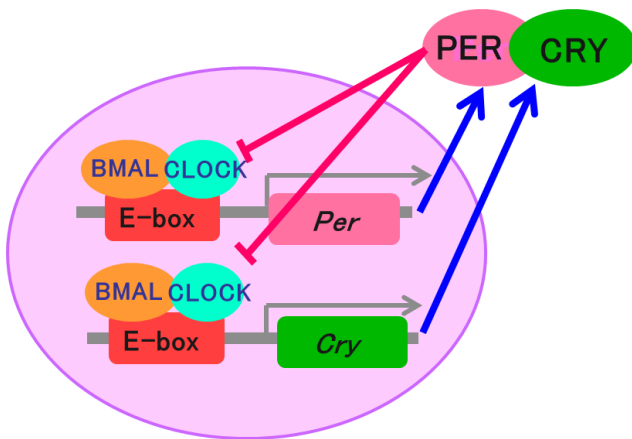


図-3 時計遺伝子による体内時計の制御機構の一例

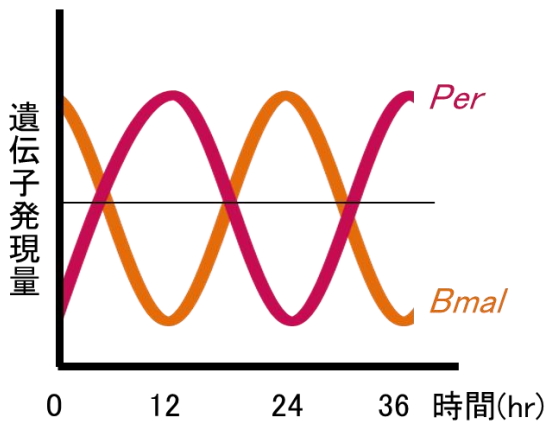


図-4 Per 及び Bmal 遺伝子の発現

ヒトの時計遺伝子による体内時計制御機構の一例を図-3 に示しました。体内時計は複数の時計遺伝子により制御されています。その中でも *Per*, *Cry*, *Bmal*, *Clock* という時計遺伝子が主な調節の役割を担っており、コア遺伝子と呼ばれています。

コア遺伝子の 1 つである *Per* 遺伝子における 24 時間の動きは以下の通りです。

1. BMAL タンパク質と CLOCK タンパク質が E-box と呼ばれるタンパク質結合領域に結合することに伴い、*Per* 遺伝子の発現量が増加する。
2. 合成された PER タンパク質が、CRY タンパク質と結合し、BMAL タンパク質と CLOCK タンパク質の働きを抑制する。
3. *Per* 遺伝子の発現量が減少する。

24 時間周期で 1. ~ 3. の動きを繰り返すため、経時的な *Per* 及び *Bmal* 遺伝子

の発現量変動は、図-4のように波状のグラフになります。この発現変動が約24時間周期の体内リズムを生んでいます。

④ 時計遺伝子発現を調べる方法

一般的に遺伝子発現を解析する方法として Real-time PCR 法が広く知られています。この方法は特定のポイントで遺伝子の発現量を調べる方法であり、短い間隔でたくさんの測定ポイントを設定した場合、大変な労力を要します。そのため、一般的にはある程度間隔を空けて測定しますが、時計遺伝子発現の詳細な経時変化が反映されにくくなります（図-5）。また、測定ポイントごとに細胞を回収する必要があるため、同一細胞で試験が実施できない点もデメリットになります。そこで弊財団はこれらのデメリットを克服した試験方法による、時計遺伝子発現解析試験の受託を開始いたしました。

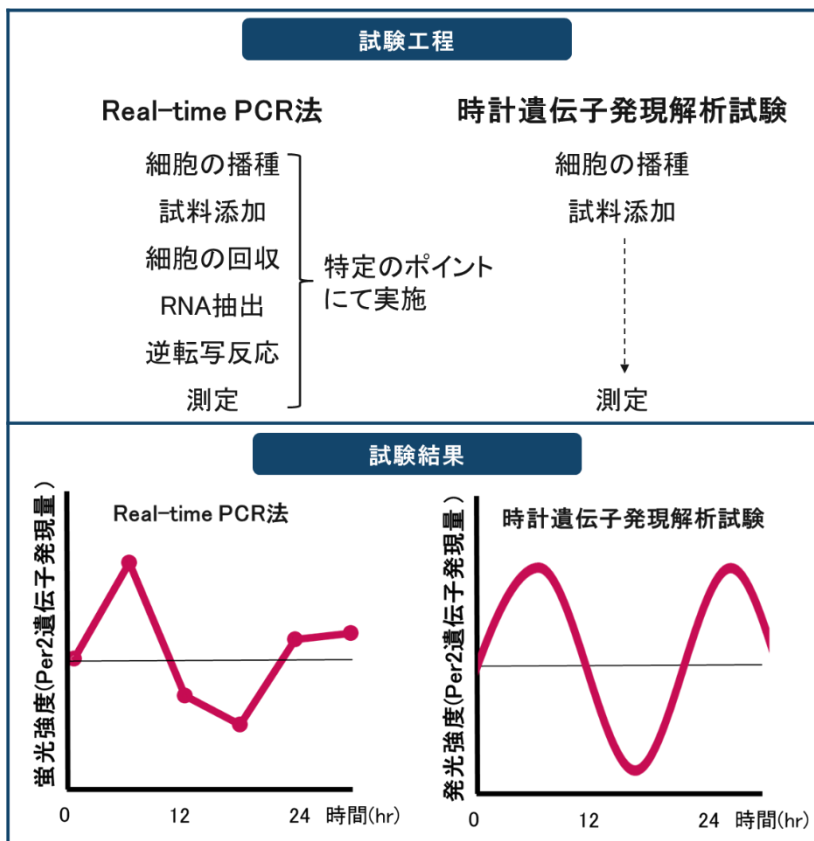


図-5 Real-time PCR 法と時計遺伝子発現解析試験の工程及び結果の比較

時計遺伝子発現解析試験受託のため、まずコア遺伝子の1つである *Per2* 遺伝子の発現変動に伴い発光する細胞を作製しました。発光強度が *Per2* 遺伝子発現量と関連しており、発光強度を連続的に測定できる装置を用いることで、食品等が時計遺伝子の発現量に与える影響を経時的に測定することができます。つまり、同一細胞を用いて自動連続測定が可能となり、従来の方法のデメリットが克服されており、また、一度に多検体の試験が可能のため、スクリーニング試験としてもご活用頂けます。

⑤ 時計遺伝子発現解析試験の実施例

弊財団が実施した検討試験ではローズマリーのエタノール抽出液に時計遺伝子発現の調節作用があることを見出しています。図-6は時計遺伝子発現解析試験で実際にご報告するグラフの一例です。振幅を解析することで、検体が *Per2* 遺伝子の発現量に与える影響を確認できます。振幅のデータから、ローズマリー抽出液は *Per2* 遺伝子の発現量を増加させることが分かりました。さらに、発現量のピークトップが未処置対照に比べわずかに後ろにずれる現象が認められました。

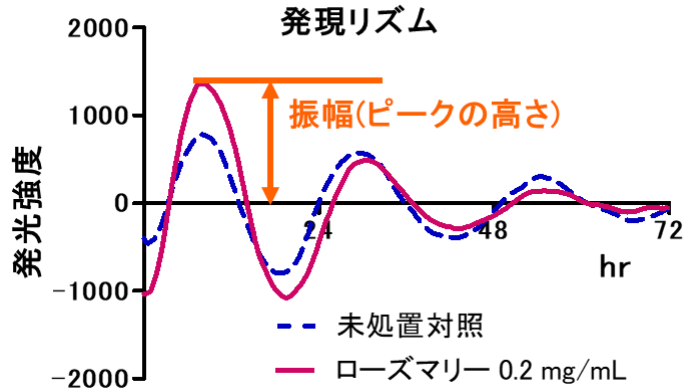


図-6 *Per2* 遺伝子の経時変化

この結果から、ローズマリー抽出液は時計遺伝子の発現周期を遅らせる作用を持つことが示唆されました。

時計遺伝子発現解析試験では時計遺伝子の発現量のみならず、発現リズムのずれに関しても解析可能であり、この点も本試験のメリットのひとつと言えます。

⑥ 時計遺伝子の発現を調節する食品成分

発現周期を遅らせる作用は食品成分等で既に多数報告されています。表-1 に時計遺伝子の調節作用が報告されている食品成分の一例を示しました⁴⁾。カフェインには時計遺伝子の発現周期を遅らせる作用があることが報告されています⁵⁾。眠気覚ましにコーヒーを飲む人も多いですが、これには時計遺伝子も関わっています。

表-1 時計遺伝子の調節作用が報告されている食品成分

食品成分	食品成分を含有する主な食品	時計遺伝子に対する作用
カフェイン	コーヒー	発現周期を遅らせる
ノビレチン	柑橘類	発現の振幅を増大させる 発現周期を遅らせる
レスベラトロール	赤ワイン	発現周期を遅らせる
ケイ皮酸	シナモン	発現周期を早める

おわりに

弊財団では今回ご紹介した時計遺伝子発現解析試験以外にも多くの機能性試験を受託しております。生化学試験や動物試験もございますので、ぜひお気軽にご相談ください。

参考資料

- 1) <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2017/summary/>
- 2) <https://yomidr.yomiuri.co.jp/network/20170428-0YTEW209664/>
- 3) http://www.nyusankin.or.jp/health/pdf/Nyusankin_472_b1.pdf
- 4) Hideaki Oike. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, Vol. 81, No. 5, 863-870 (2017)
- 5) Seira Narishige et al. British journal of Pharmacology, 171, 5858-5869 (2014)