

氏 名	つち や よし き 土 谷 佳 樹
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学位記番号	生 博 第 28 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	生命科学研究所統合生命科学専攻
学位論文題目	哺乳類における概日リズム同調の制御機構

論文調査委員 (主査) 教授 西田 栄介 教授 泉井 桂 教授 垣塚 彰

論 文 内 容 の 要 旨

概日リズムは原核生物から哺乳類に至るまでほとんど全ての生物に備わっている生体リズムの一つである。概日リズムの周期長は地球の自転に伴う24時間の環境変動周期とほぼ同じであるが、生物種によって若干の差があることが知られており、生物は総じて光や温度といった外的環境因子によって体内リズムを環境リズムに正確に同調させていると考えられている。哺乳類における概日リズムの制御中枢は間脳の視床下部に存在する視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus: SCN) であり、SCN において時計遺伝子と呼ばれる遺伝子群の約24時間周期の発現振動が観察されている。遺伝子発現の概日リズムは SCN だけでなく広範な末梢組織や株化された培養細胞においても観察されており、生体内においては SCN が何らかの神経あるいは分泌シグナルを介して末梢の時計を統合していると考えられている。これらの時計遺伝子発現の振動現象は転写調節に基づく遺伝子発現の負のフィードバックループによって引き起こされていると考えられており、哺乳類においては転写促進因子である BMAL1 と CLOCK のヘテロ二量体が Period (Per) の発現を促進し、発現した PER タンパク質が BMAL1: CLOCK ヘテロ二量体の働きを抑制することで Per 遺伝子の発現振動が成立している。

第一章では概日リズムの特徴の一つである温度補償性を、哺乳類末梢組織のモデル系としてマウス培養繊維芽細胞を用いて解析した。まず NIH3T3 細胞を異なる温度条件下で培養して時計遺伝子発現の概日リズムの周期長を測定したところ、温度条件に関わらず周期長はほぼ一定であった。また 42°C の高温で細胞を処理すると概日リズムがリセットされることを見出し、それが既知のリセット現象と異なり Per1 の一過性の発現誘導を伴わないことを見出した。以上のことから温度補償性が概日リズム形成の分子的基盤であるフィードバックループそのものに備わっており、また、温度が末梢組織のリズムをリセットし得ることが示唆された。

第二章では生理活性物質の一つであるプロスタグランジン E₂ (PGE₂) が概日リズムに及ぼす影響を培養細胞およびマウス個体を用いて解析した。まず PGE₂ が NIH3T3 細胞およびマウス末梢組織の概日リズムをリセットできることを示し、それが PGE₂ 受容体の 4 つのサブタイプのうち EP1 に依存的な作用であることを示唆する結果を得た。末梢組織の概日リズムには PGE₂ による投与時刻依存的な位相変化が起こったが、マウスの行動リズムには PGE₂ の投与による有意な位相変化が観察されなかった。これらの結果から、PGE₂ は生体内において概日リズム中枢である SCN から末梢組織へのリズム同調因子として働いている可能性が考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

概日リズムは地球上に存在するほぼ全ての生物に備わっている約24時間周期の生体リズムの一つである。哺乳類における概日リズム中枢は視床下部にある SCN と呼ばれる部位にあり、SCN の細胞内で period などの時計遺伝子群が転写調節に基づく遺伝子発現の負のフィードバックループを形成している。このリズムの周期は24時間ちょうどではないので、SCN は網膜を通して外界から光信号を受け取ることで体内リズムを24時間周期の環境リズムに正確に同調させている。時計遺伝

子の発現リズムは SCN だけでなく広範な末梢細胞や培養細胞にも観察されており，末梢の時計は SCN から何らかの神経経路や分泌性因子を介して時刻情報を受け取っていると考えられているが，その詳細なメカニズムは依然としてよく分かっていない。申請者は末梢時計の同調因子として，温度とプロスタグランジン E₂ (PGE₂) に着目し，それらの概日リズム同調作用について解析を行った。

本論文において申請者はまず，概日リズムの特徴の一つである温度補償性が細胞内における時計遺伝子発現の負のフィードバックループそのものに備わっていることを哺乳類培養細胞系を用いた実験により示した。これまで温度補償性は概日リズムのアウトプットである行動リズムやホルモン分泌リズムにしか観察されておらず，本研究によって概日リズム生成の分子的基盤である時計遺伝子の発現リズムに温度補償性が備わっていることが初めて明らかになった。また，42°C の高温処理が培養細胞に概日リズムを誘導できることを見出し，温度上昇が末梢時計の同調因子となり得ることを示した。次に申請者は，概日リズムの同調因子候補として，生体内で様々な生理作用を持つことが知られている生理活性物質である PGE₂ に着目し，PGE₂ が培養細胞に時計遺伝子発現の概日リズムを誘導できることを示した。さらに，PGE₂ をマウスに腹腔内注射することによって末梢組織の概日リズムが位相変化を起こすことを見出し，PGE₂ が生体内においても末梢時計を同調できることを示した。申請者は PGE₂ による概日リズムの同調に PGE₂ 受容体の 4 つのサブタイプのうちの一つである EP1 が重要な役割を果たしていることも見出している。さらに，PGE₂ 投与によってマウス行動リズムは影響を受けないことを示し，PGE₂ が SCN から末梢時計への同調シグナルとして働いている可能性を提示した。

以上のように，本論文で述べられた成果は非常に重要であり，本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認められる。さらに，平成17年1月24日，論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。