

運動が生物時計の階層構造に与える影響を解明

～運動が生物時計の乱れが関わる疾患の予防法として有効であることを科学的に証明～

ポイント

- ・ 恒常暗環境下での習慣的な運動が生物時計の階層構造に与える影響を遺伝子レベルで測定。
- ・ 運動が行動リズム、時計遺伝子発現リズムの時間的秩序を維持することを発見。
- ・ 生物時計の乱れが関わる疾患を予防する運動プログラムの開発に繋がる科学的根拠を提供。

概要

北海道大学大学院教育学研究院の山仲勇二郎准教授らの研究グループは、習慣的な運動が行動リズム、中枢時計・末梢時計の時計遺伝子発現リズムの時間的秩序を維持することを発見しました。

行動（睡眠・覚醒）および生体の多くの機能には、約24時間の概日リズム（サーカディアンリズム）*¹が存在します。哺乳類におけるこのリズムの発振中枢は間脳視床下部視交叉上核*²に存在し、中枢時計と呼ばれています。生物時計の自律振動メカニズムは、複数の時計遺伝子*³の転写と翻訳からなる分子フィードバックループが想定されています。近年、生物発光技術の進展により、ホタルの発光酵素を導入したトランスジェニックマウスを用いることで、同一個体からの複数部位の時計遺伝子発現の測定が可能となりました。本研究では、哺乳類の主要な時計遺伝子である *Period1**⁴ を生物発光によりモニター可能なトランスジェニックマウス (*Per1-luc* マウス) を用いて、通常の昼夜変化に同調した状態と、昼夜変化の存在しない恒常暗環境、そして恒常暗環境下で24時間周期の運動スケジュールを与える3つの条件で、行動リズム、視交叉上核、弓状核*⁵、肝臓、骨格筋といった末梢組織の時計遺伝子発現リズムの時間関係を比較しました。

その結果、恒常暗下での運動スケジュールに行動リズムが同調した際の視交叉上核と末梢組織における時計遺伝子発現リズムの時間関係は、昼夜変化に同調した状態と同様であることを世界で初めて明らかにしました。本研究の成果は、光を十分に得られない全盲患者や特殊な光環境下での生物時計の調節、および生物時計の乱れが関与する疾患の予防に、習慣的な運動が効果を持つことの科学的根拠となります。

なお本研究成果は、2023年2月20日（月）公開の *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 誌にオンライン公開されました。

【背景】

行動（睡眠覚醒）と多くの生体の機能には、約24時間を1周期とする概日リズム（サーカディアンリズム）が存在し、概日リズムは生物時計機構によって発振、制御されています。ヒトを含め哺乳類の生物時計機構は、間脳視床下部視交叉上核（suprachiasmatic nucleus: SCN）に存在する中枢時計と、視交叉上核外の脳部位および肝臓、骨格筋などの末梢臓器に存在する末梢時計からなる、階層性多振動構造となっています。中枢時計である SCN の役割は、網膜から受容する外界の昼夜変化を時刻の手がかりとして固有のリズム周期を環境周期に同調させると同時に、神経性あるいは液性の概日リズム信号を全身の末梢時計に伝達し、行動と生理機能を時間的に統合し、活動と休息に最適な体内環境を維持することです。

生物時計が発振するサーカディアンリズムを調節可能な環境因子は同調因子と呼ばれています。哺乳類の生物時計の主要な同調因子は、外界の昼夜変化（自然光、高照度光）ですが、習慣的な運動は昼夜変化の存在しない恒常暗環境でも中枢時計が発振する行動リズムを同調（非光同調）させることが報告されていました。しかし、恒常暗環境下で行動リズムが運動スケジュールに非光同調した際の、行動リズム、中枢時計、末梢組織における時計遺伝子発現リズムの時間関係は明らかになっていませんでした。

【研究手法】

本研究では、哺乳類の主要な時計遺伝子である *Period1* のプロモーターの下流にホタルの生物発光酵素であるルシフェラーゼを導入したトランスジェニックマウス（*Per1-luc* マウス）を用いて、通常の飼育環境下である 12 時間明期 12 時間暗期の 24 時間明暗サイクル、明暗サイクルの存在しない恒常暗環境、そして恒常暗環境下で 24 時間周期の運動スケジュールを与える 3 つの条件で、*Per1-luc* マウスの行動リズムと *Per1-luc* マウスから採取した SCN、弓状核、肝臓、骨格筋を培養し、時計遺伝子発現リズムを比較しました。なお、SCN は活動開始を制御する Evening 振動体と活動終了を制御する Morning 振動体が含まれることが報告されている吻側 SCN（Evening 振動体）と尾側 SCN（Morning 振動体）、2 枚の冠状断切片を作成し、*Per1-luc* リズムを測定しました。

【研究成果】

研究の結果、マウスの行動リズムが恒常暗下での運動スケジュールに同調（非光同調）し、運動スケジュールに同調するタイミングが恒常暗下でのフリーラン周期に依存すること、活動時間の長さが昼夜変化の存在する条件に比べ恒常暗条件下で延長し、運動スケジュールに同調した際には再び短縮すること、運動スケジュールに同調した際の活動時間が運動のタイミングに依存して変化すること、活動の開始位相と終了位相では運動スケジュールへの同調に要する期間が異なることを明らかにしました。

さらに、行動リズムと視交叉上核、肝臓の時計遺伝子発現リズムの時間関係は、昼夜変化の存在する条件下から恒常暗条件下では異なりましたが、恒常暗下で運動スケジュールに同調した条件では昼夜変化の存在する条件と同様の時間関係に回復（再統合）されることを世界で初めて明らかにしました。ただし、弓状核については、運動スケジュールに同調した際に、昼夜変化に同調した条件に比べて大きく前進していました。

これらの結果は、習慣的な運動は恒常暗下で変化した行動リズム、中枢時計、末梢時計の時計遺伝子発現リズム間の時間関係を再統合し、昼夜変化による光同調と同様に行動リズムと中枢・末梢時計間の時間関係を維持することが可能であることを遺伝子レベルで明らかにしました。さらに、運動を

行うタイミングに応じてマウスの活動時間が変化したことから、運動時刻に応じて行動リズムにおける活動開始を制御する Evening 振動体と活動終了を制御する Morning 振動体、2 つの振動体間の相互協調を変化させる可能性を新たに提示しました。

【今後への期待】

今回の研究成果は、昼夜変化の存在しない環境下においても規則正しく運動を行うことで生物時計を調節することが可能であることを遺伝子レベルで初めて明らかにしました。本研究の成果は、全盲患者や光によるリズム同調が困難な環境（パンデミック下での外出自粛、地下室、宇宙ステーションのような閉鎖環境）における生物時計の調節、生物時計の乱れが原因とされる様々な疾患の予防に有効な運動スケジュールを提言する際の科学的根拠となることが期待されます。

【謝辞】

本研究は、文部科学省科学研究費補助金(19H03993)の支援のもとで実施されました。

論文情報

論文名 Nonphotic entrainment of central and peripheral circadian clocks in mice by scheduled voluntary exercise under constant darkness. (恒常暗下での習慣的な運動スケジュールは中枢時計および末梢時計を同調させる)

著者名 佐藤 蓮^{1, 2}、山仲勇二郎^{3, 4} (1 北海道大学教育学部(当時)、2 北海道大学大学院医学院(現在)、3 北海道大学大学院教育学研究院、4 北海道大学脳科学研究教育センター)

雑誌名 American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology (米国生理学会雑誌)

DOI 10.1152/ajpregu.00320.2022

公表日 2023年2月20日(月)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院教育学研究院 准教授 山仲勇二郎 (やまなかゆうじろう)

T E L 011-706-3077 F A X 011-706-3077 メール y-yu2ro@edu.hokudai.ac.jp

U R L <http://yamanaka-lab.wixsite.com/chronobiology>

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

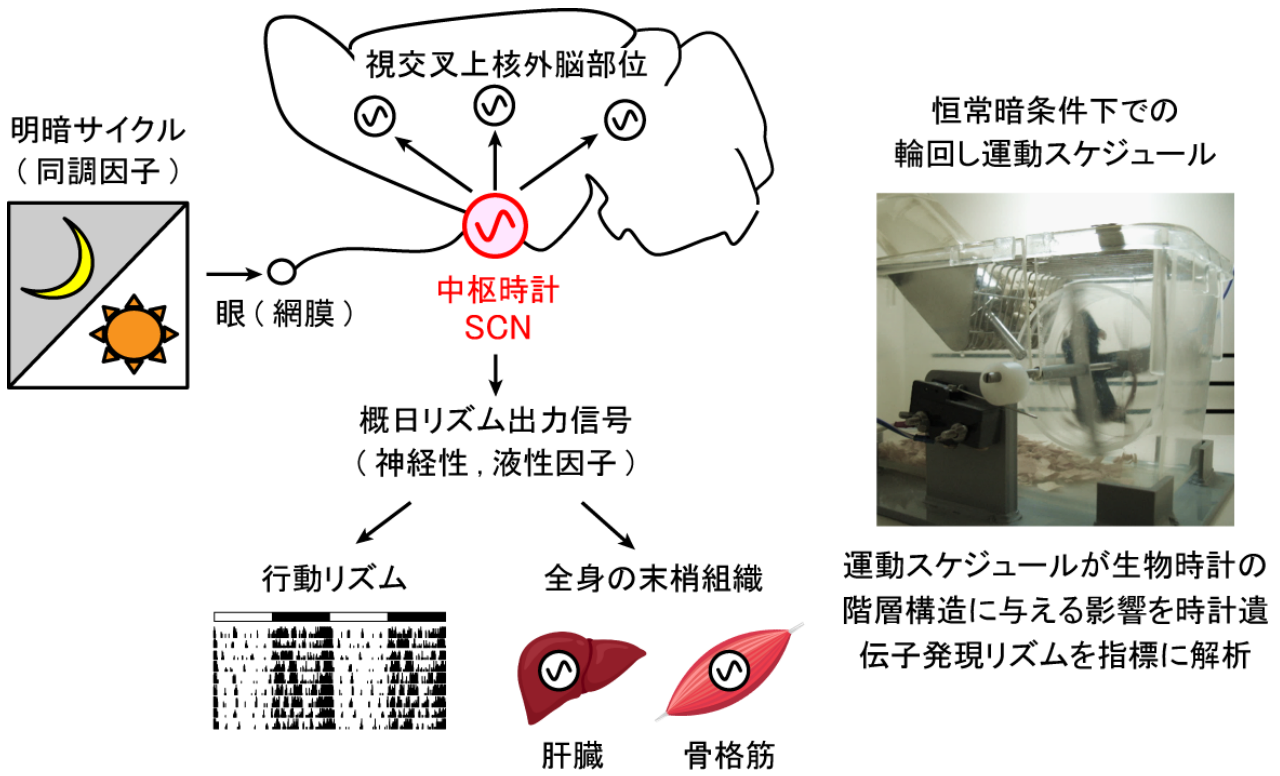


図 1. 哺乳類の生物時計機構の階層性多振動体構造と本研究での検証課題。

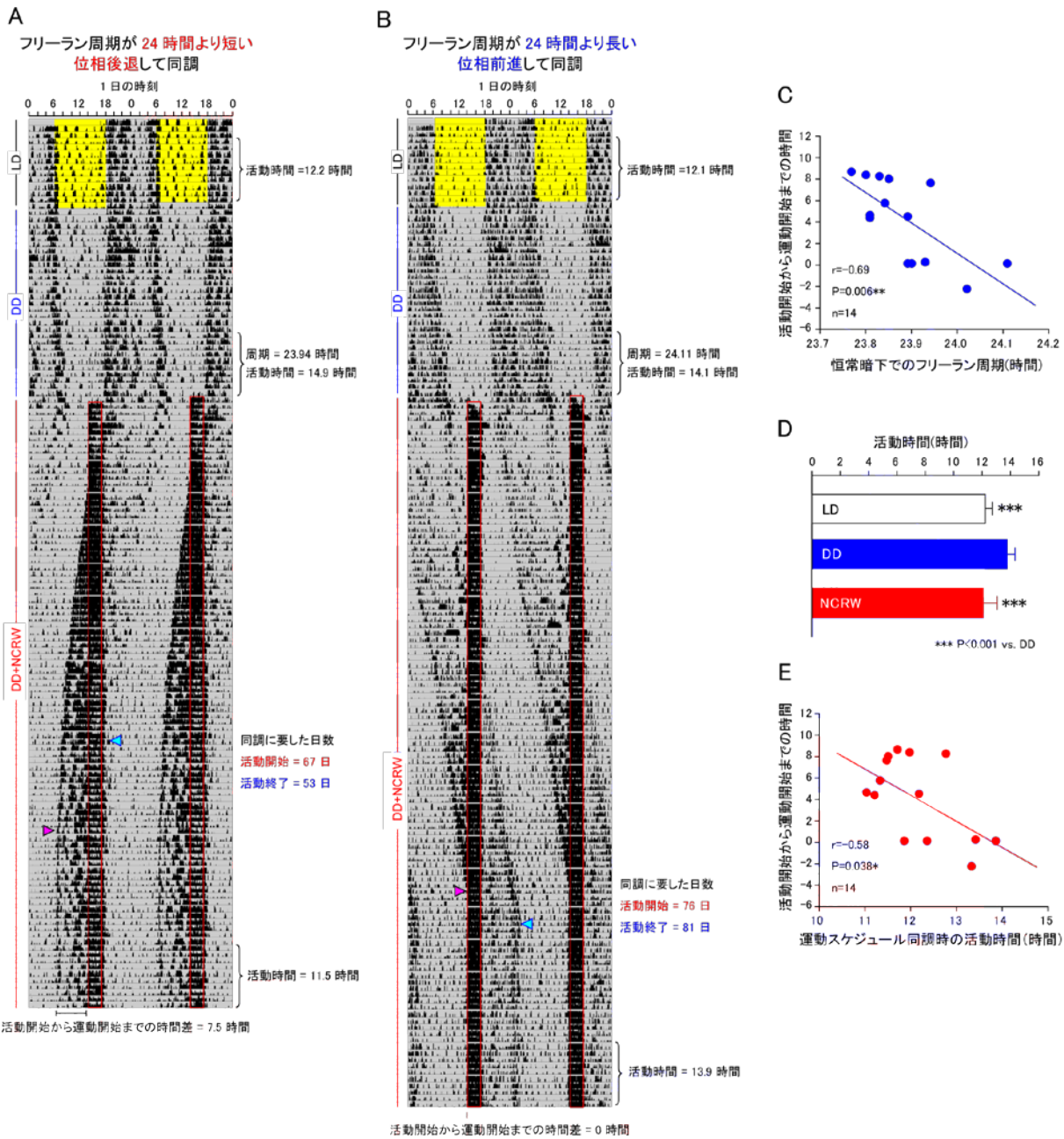
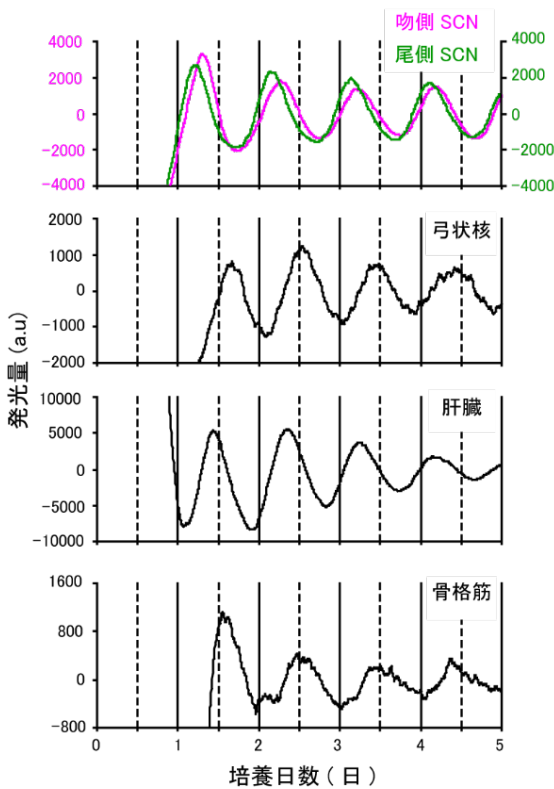


図 2. マウス自発活動リズムの運動スケジュールに対する非光同調

マウスの自発活動(行動)リズムの典型例。マウスは 24 時間の明暗サイクル(LD、図 A、B 内の黄色が 12 時間の明期、灰色が 12 時間暗期を示す)で飼育した後、明暗サイクルの存在しない恒常暗(DD)に移行。恒常暗で固有の行動リズム周期(フリーラン周期)を観察した後、マウスは回転輪の設置された新しいケージ(NCRW: New Cage with a Running Wheel)に 1 日 3 時間移動させ、自発的な輪回し運動を行わせた。恒常暗でのフリーラン周期が 24 時間より短い周期のマウス(A)は活動期の後半の輪回し運動で行動リズムが 24 時間の運動スケジュールに同調し、フリーラン周期が 24 時間より長い周期のマウス(B)は活動開始時刻付近の輪回し運動で同調する。同調に要する日数は、活動開始位相と活動終了位相で異なっていた。輪回し運動スケジュールに同調するタイミングは、恒常暗下でのフリーラン周期に依存して変化する(C)。活動時間の長さは、明暗サイクルに比べ恒常暗で活動時間が長くなり、運動スケジュールに同調すると再び短縮する(D)。運動スケジュール同調時の活動時間は、運動スケジュール同調時の輪回し運動時刻に依存する(E)。LD: 24 時間周期の明暗サイクル、DD: 恒常暗条件、DD+NCRW: 恒常暗下での輪回し運動スケジュール。

Per1-lucリズムの測定例



Per1-lucリズムピーク時刻の分布

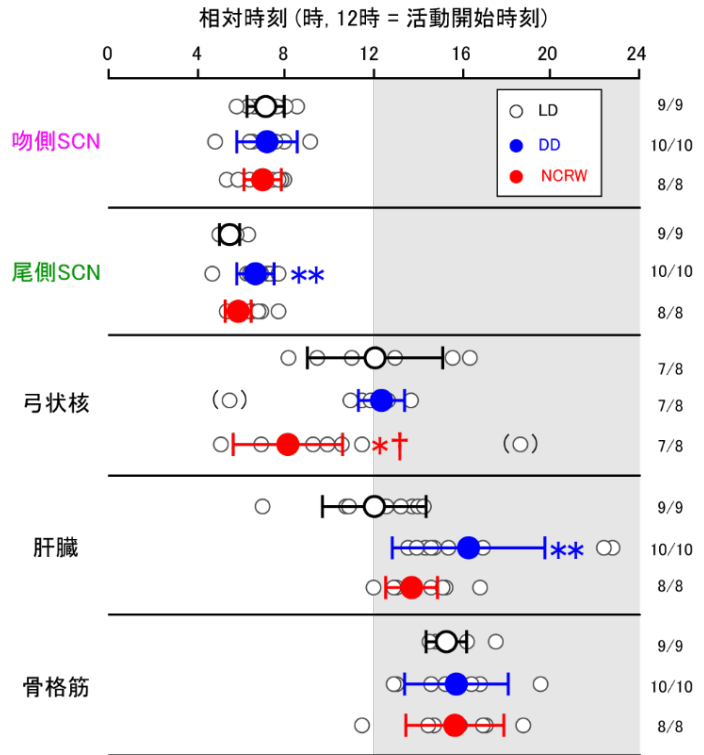


図 3. 視交叉上核(SCN)、弓状核、肝臓、骨格筋における *Per1-luc* リズムの測定例(左図)と明暗サイクル条件、恒常暗条件、恒常暗下での運動スケジュール同調時の *Per1-luc* リズムのピーク時刻の比較(右図)。明暗サイクル下で同一個体から採取した SCN、弓状核、肝臓、骨格筋の *Per1-luc* リズムを 5 日間培養条件下で測定した典型例(左)。明暗サイクル下(LD、黒)、恒常暗下(DD、青)、運動スケジュール同調時(NCRW、赤)の *Per1-luc* リズムピーク時刻を行動リズムの活動開始位相を 12 時とした相対時刻でプロットしている(右)。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ LD 条件に対する有意差、† $P < 0.05$ DD 条件に対する有意差を示している。

【用語解説】

- *1 サーカディアンリズム … 約 24 時間周期で変動する生理現象で、地球上のあらゆる生物に存在する。
- *2 視交叉上核 (しこうさじょうかく) … 哺乳類の概日リズムの中枢が存在する間脳の視床下部にある神経核。
- *3 時計遺伝子 … 約 24 時間の概日リズムを形成するために必要と考えられている遺伝子群。
- *4 Period1 … 哺乳類の生物時計の分子フィードバック機構を構成する主要な時計遺伝子の 1 つ。
- *5 弓状核 (きゅうじょうかく) … 摂食行動、体温調節、睡眠覚醒等の調節を担う神経核。視交叉上核と双方向性の神経路の存在が報告されている。