

【助成の種類】平成30年度中山賞奨励賞

【研究テーマ】概日リズム中枢を司る神経ネットワークの光イメージング解析

【氏名】榎木亮介

【所属】北海道大学電子科学研究所

【はじめに】

生物時計は、生命が地球の環境変化に適応する為に獲得した能力であり、地球上のあらゆる生命体に見いだされる。私たち哺乳類では、ストップウォッチで計測する様な早い時間感覚から、一生（寿命）という二度と繰り返されない時間まで、様々な時間スケールで生物時計が存在している。時計機能は全身ほぼ全ての細胞に存在しており、睡眠覚醒やホルモン分泌などの生理機能に周期的なリズムをもたらし、時刻や季節の認識や時間感覚にも重要な役割を担う。また現代社会においては、極端な夜型生活、慢性的な睡眠不足、交代勤務により生物時計が乱れることで、高血糖、高脂血症、高血圧などの重大なリスクファクターとなり、癌や鬱病などの様々な体と心の変調を引き起こすことが知られ、生物時計の基礎的研究は重要性を増している。

哺乳類の約24時間の概日リズムの中枢は、脳深部の視床下部の視交叉上核に存在する。視交叉上核は網膜を介して外界から直接の光情報を受け、視交叉上核の固有の周期を24時間に調節して、全身の細胞や臓器に統一のとれたリズム情報を

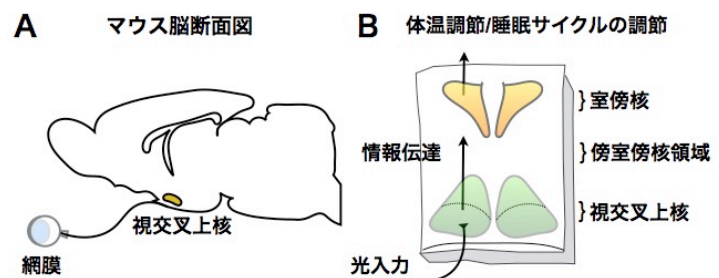


図1. 視交叉上核-室傍核-傍室傍核領域の情報伝達

出力する [図1]。近年の研究により、視交叉上核における分子から細胞、神経ネットワークレベルの各階層のリズム発振メカニズムが次第に明らかとなって来た。一方で、哺乳類の生体内では、レム-ノンレム睡眠サイクルやホルモン分泌など、様々な生理機能に24時間よりも短い数十分～数時間の短い周期の“ウルトラディアンリズム”が観察されるが、その作動メカニズムや調節機構はよく分かっていない。新生児や、視交叉上核を外科的に切除/破壊した実験動物では、食事や飲水などの動物行動にウルトラディアンリズムのみが観察されることから、概日リズム中枢とは別にウルトラディアンリズム中枢領域があると推察されてきた。しかしながら、ウルトラディアンリズムを神経ネットワークレベルで長期的かつ高精細に計測できる良い研究手法がなく、ウルトラディ

アンリズムを生成する脳領域が何処にあるかさえも長く不明だった。

私はこれまで、日から週単位の長期間で撮像ができる蛍光イメージング計測法を確立し、哺乳類の 24 時間リズム（概日リズム）の中枢を司る視床下部の視交叉上核において、概日リズム発振メカニズムの解析を行ってきた。特に、細胞内カルシウム濃度や膜電位変動、時計遺伝子の発現などの様々な細胞機能を高精細に可視化することで、視交叉上核の階層的な多振動体構造や [Enoki et al., PNAS, 2012]、概日カルシウムリズムの発生メカニズム [Enoki et al., Scientific Reports, 2017]、神経回路で同期する概日膜電位リズムの存在 [Enoki et al., PNAS, 2017] などを明らかにしてきた。これらの研究の過程で私は、視交叉上核の主なリズム情報の出力先である室傍核-傍室傍核領域において、神経細胞群で同期する細胞内カルシウムのウルトラディアンリズムを偶然見いだした。特に昨年度は、視交叉上核-傍室傍核/室傍核の領域間の神経回路に焦点を当て、光計測によるリズムの自律振動の計測を基軸に、薬理実験などによりウルトラディアンリズムの生成と、視交叉上核による制御メカニズムを解明することを目指して研究を行った。

【研究結果】

実験では、視交叉上核-傍室傍核/室傍核の領域を含む組織スライス切片を作成し、アデノ随伴ウイルスの感染により遺伝子コード型の高感度カルシウムセンサー[GCaMP6]を神経細胞に特異的に発現させ、ニポウディスク共焦点と高感度 CCD カメラからなる蛍光タイムラプス顕微鏡により、数日～週レベルの長期間の光計測を行った。視交叉上核から細胞内カルシウムの概日リズムを計測し、同時に傍室傍核/室傍核領域のウルトラディアンリズムを計測し、両者の機能相関などを詳細に解析した [図 2]。

その結果、室傍核と傍室傍核領域の多数の神経細胞において見いだされるウルトラディアンリズムの周期は 30 分～4 時間と幅があり、周期は一定ではなく時間とともに揺らぐ性質があることが分かった。さらにウルトラディアンリズムは室傍核と傍室傍核領域のみを単離した組織でも観察されるが、視交叉上核のみを単離した組織では観察されなかったことから、室傍核と傍室傍核領域がウルトラディアンリズムの発生源であることが明らかとなった。さらにウルトラディアンリズムは、室傍核と傍室傍核領域の概日リズムによりその出現頻度が増減することや、薬理的な実験により、ウルトラディアンリズムは神経ネットワークの同期により生み出されることが分かった。特に興奮性と抑制性の神経伝達物質であるグルタミン酸と GABA のバランスによりウルトラディアンリズムが制御されており、さらに神経細胞ネットワークのミリ秒スケールの早い神経細胞の同期活動がウルトラディアンリズムを生み出すことも分かった。

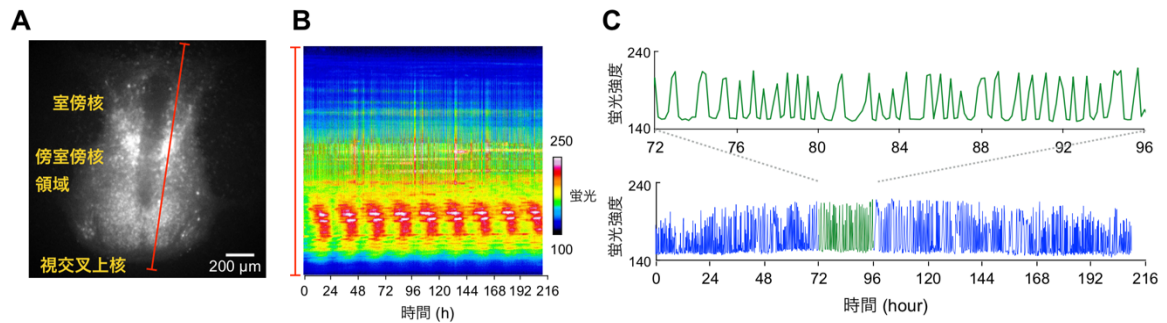


図2. 室傍核-傍室傍核領域のウルトラディアンカルシウムリズム

【考察】

室傍核と傍室傍核領域には、様々なホルモンを産生する神経細胞が存在していることが知られており、さらにこの脳部位は他の脳領域へと投射して、体温や睡眠サイクルを調節する中枢領域へと情報を伝えていると推察されていることから、本研究で見いだしたウルトラディアンリズムは生体の様々な生理機能のリズムを制御していると推定される。近年の研究により、極端な夜型生活、慢性的な睡眠不足、交代勤務などによる生物リズムの乱れが生活習慣病の誘因となることがわかってきており、生物リズムの基礎的研究はますます重要性が増している。特に本研究で得られた新たなウルトラディアンリズム知見は、これまでの概日リズムの知見と統合することで、生体リズムや睡眠障害の新たな治療法や予防法の開発に道を拓き、健康増進に寄与すると期待される。

また視交叉上核の神経活動は夜行性および昼行性動物の双方で同様の位相でリズムが観察されるが、室傍核と傍室傍核領域ではその行動リズムが昼夜逆転とする報告から[Nunez et al., JBR, 1999]、本研究で見いだした神経回路は動物の昼夜行動を制御する神経機構である可能性がある。これらの現象は、従来の *vitro* 研究では観察できていなかったことから、生物時計分野で長年の謎である昼行性/夜行性の神経回路研究へと発展する可能性がある。

本研究は北海道大学大学院医学研究院の本間研一名誉教授、本間さと客員教授、復旦大学（中国）の黄志力教授らとの共同研究により行った。また本研究の成果は、米国科学アカデミー紀要のオンライン速報版で公開した。

論文名 Ultradian Calcium Rhythms in the Paraventricular Nucleus and Subparaventricular Zone in the Hypothalamus (視床下部の室傍核及び傍室傍核領域におけるウルトラディアンカルシウムリズム)

著者名 吴瑜珥 1, 榎木亮介 2, 3, 織田善晃 4, 黄志力 1, 本間研一 3, 本間さと 3

(榎木は同等筆頭著者および責任著者)

1 復旦大学基礎医学院, 2 北海道大学電子科学研究所, 3 北海道大学大学院医学研究
院, 4 長崎大学歯学部

雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences (米国科学アカデミー紀
要)