

# 遺伝子ネットワークを手がかりに体内時計のシステムを探る

上田 泰己

理化学研究所の上田泰己博士は、体温や血圧、睡眠、ホルモン分泌のリズム、精神状態などに大きく影響を与える体内時計を研究している。今回、世界で初めて哺乳類の時計遺伝子 16 個のネットワークの構造を明らかにし、朝方に働く遺伝子のオン・オフがマウスに正常に作動しないと、体内時計の周期リズムが崩れてしまうことを突き止めた。

## システムの解明には効率的な実験系が不可欠

**Nature Digest** — なぜ体内時計を研究対象にされたのですか？

**上田** — 大学 3 年のときに生命科学における時間と空間の問題を研究したいと思い、具体的な対象として「体内時計」と「発生」を考えました。時間がテーマとなる体内時計については、当時、時計をつかさどる遺伝子が 24 時間周期の振動をもち、体内時計を調節するという理論モデルがありましたが、実際の生命現象はブラックボックスでした。一方、発生を通じて生命体という空間を知りたいのですが、発生には空間と時間の両方がかかわるため、解明するのは大変です。そこで、まず体内時計から手をつけることにしました。

**ND** — 新分野として注目されていたシステム生物学の手法を選ばれましたね。

**上田** — システム生物学は分子生物学、遺伝子工学、バイオインフォマティクス、非線形物理学などを融合し、生命現象をシステムとして理解する学問です。研究にはシステムの同定、解析、制御、設計の 4 つの流れがあります。私はまず体内時計に関する遺伝子を捕まえる「システム同定」を始めました。マウスを 12 時間ずつ明暗が変わる条件で飼育した後、

脳の視床下部にある視交叉上核\*<sup>1</sup>と肝臓の細胞を、12 時間ずつ明暗にする条件と恒暗条件の 2 つで 2 日間 4 時間ごとにサンプリングし、DNA チップで遺伝子を調べました。そして、視交叉上核から 101 個、肝臓から 397 個の有意に発現振動する遺伝子を発見しました<sup>1</sup>。次にその遺伝子のプロモーター領域\*<sup>2</sup>を解析して、体内時計として振動する遺伝子配列を見つけました。

**ND** — その遺伝子の機能はどんな方法で解明されたのですか？

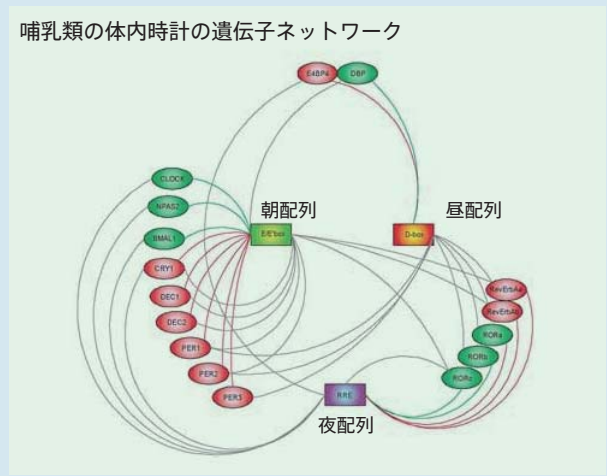
**上田** — 試験管内でリアルタイムに周期リズムがみられる状況を作ることに挑戦しました。それまでの研究では、完全な実験系はなかったからです。体内時計のように複雑でダイナミックなシステムを解くには、効率的な実験系が不可欠です。分解されやすいように加工したホタルの発光酵素を振動する遺伝子に標識して、ラットの線維芽細胞に入れ、それをステロイドホルモンで刺激してリズム振動を起こさせ、発光の状態を振動のようすをみるのです。この方法では、どの遺伝子のどの配列が、いつどのようなリズムを作るのかをハイスループットスクリーニング\*<sup>3</sup>で簡便にみることができます。

このような経緯で 16 個の時計遺伝子のほとんどが 1 日の決まった時間（朝・昼・夜）に発現することを確認しました。さらに朝・昼・夜の発現を制御する各プロモーター配列が、それぞれ 9 個、7 個、6 個の遺伝子上に保存されていることを見つけ、それらが織りなす体内時計の遺伝子のネットワークを明らかにしました<sup>2</sup>（図参照）。

**ND** — ネットワークの中で朝・昼・夜のプロモーター配列の重要度に差はあるのでしょうか？

**上田** — 朝配列を機能改変した遺伝子をマウスの皮膚の線維芽細胞に入れて不活性化すると、昼と夜の配列が活性化しません。一方、夜配列の活性化を抑えると夜配列の一部が影響を受け、朝と昼の配列は影響を受けません。しかし、昼配列の活性化の抑制は朝と夜にはまったく影響がない。つまり朝配列の活性化が最も大切で、夜配列は部分的に大事なことがわかりました。

次に、不活性化を抑える、つまりいつも活性化させて切り替えをなくすとどうなるかをみました<sup>3</sup>。改変した 6000 個の遺伝子の中から朝配列の活性化は正常だが不活性化が起きない変異遺伝子を探し出し、それを線維芽細胞に入れると、やはり体内時計全体が壊れます。朝配列の活性化（オン）と不活性化（オフ）の切り替えが体内時計の鍵を握るのです。



時計遺伝子の発現を制御する遺伝子プロモーターの朝配列（E-box/E'-box）と昼配列（D-box）夜配列（PRE）は、16 個の時計遺伝子とネットワークを組み、体内時計の機能をつかさどる。ネットワーク上の朝配列は、3 個の遺伝子によって活性化され（オン、緑色）、6 個の遺伝子によって不活性化される（オフ、赤色）。この朝方に働く時計遺伝子のオン・オフが正常に切り替わらないと、体内時計の周期リズムが崩れてしまう。

理化学研究所 上田泰己



### 体内時計のしくみがもっとわかれば、薬の使い方も変わる

**ND** — 研究の次のターゲットは何でしょうか？

**上田** — 現在は、朝・昼・夜の3遺伝子配列がなぜ連続的に発現するかなど、システムを制御する因子の同定に入っています。体内時計には、24時間周期で振動する、光刺激など環境に同調する、普通の化学反応と異なり温度による変化がない（温度補償機能）といった特徴があります。24時間周期はなぜ作られるのか、視交叉上核がどのように光を受け止めて体内時計をリセットするのかなどを解明したいですね。

**ND** — 体内時計と睡眠や発生などの関係はわかってきたのでしょうか？

**上田** — 睡眠や発生に体内時計がどう影響するかを調べるには個体での研究が必要で、まだまったく不明です。2004年に時計遺伝子の発現状態から、マウスの体内時刻や概日リズム障害<sup>\*4</sup>を、DNAチップを使って診断する方法を開発しましたが<sup>4</sup>、今は体内時計にかかわるホルモンであるメラトニンやほかの代謝産物の血中濃度を手がかりに、体内時刻を知る方法を作ろうとしています。体内時計を修正して概日リズム障害を治す薬のスクリーニングも研究したいですね。抗がん剤などでは投与される時刻によって薬の効果が上がったり、副作用が少なくなったりすることが知られています。体内時計のしくみがもっとわかれば、薬の使い方も変わると考えています。

### さまざまな専門家の融合が成功の鍵

**ND** — 遺伝子の解析やバイオインフォマティクスを組み合わせる実験系の作成と、広い範囲で取り組むのは大変ではありませんか？

**上田** — 私の学生時代はIT分野と分子生物学の融合がテーマで、現在ではそれに加えてDNAチップなどの測定系ハードウェアの技術を融合させるのがテーマになっています。私たちの研究でもシステムの制御因子を調べるために、ハードの測定系を強化したいと考えています。必要なときにすぐ測定系を作れる体制にするために、今、敷地内に半導体に微細加工をするMEMS (micro electro mechanical system) 分野の研究室を建設中です。

上田泰己 (うへだ・ひろき)

理化学研究所発生・再生科学総合研究センター システムバイオロジー研究チーム チームリーダー。医学博士。1975年、福岡県生まれ。2000年、東京大学医学部卒業、2004年、同大学院医学系研究科博士課程終了。1999～2004年、山之内製薬(株)で体内時計の発振機構や同調機構のモデル化、ショウジョウバエ体内時計の発現解析、哺乳類体内時計のシステム生物学を研究する。2003年から現職、2005年から理化学研究所機能ゲノミクスサブユニットのユニットリーダーを兼任。2006年からは東北大学加齢医学研究所と徳島大学ゲノム機能研究センターの客員教授、大阪大学理学研究科連携大学院の招聘教授としても活躍。日本インベーター大賞優秀賞(2004年)、東京テクノフォーラム21ゴールドメダル(2005年)など授賞多数。

すでに、分子、細胞、組織、個体の各階層で、包括的かつ体系的なスクリーニングができる体制を整えていて、いずれも世界一、あるいは世界有数のスペックです。標識をつけて遺伝子やタンパク質の発現プロセスをモニターし、大規模解析するこの手法は体内時計に限らず、さまざまな分野で使えろと考えています。

**ND** — 研究が成功する鍵は何でしょうか？

**上田** — 私たちのチームには、遺伝子や原子レベルの構造をシミュレーションする理論家、生化学や分子生物学の専門家、動物の行動リズムの専門家が体内時計というテーマでつながっています。測定など水を使う実験をするウェットの専門家と、情報を扱うソフトの専門家、機械を扱うハードの専門家が集まっています。これまでの経験では、ウェットとソフトとハードが揃ったときにプロジェクトがうまくいくと思います。バックグラウンドの異なる人たちが融合できる場が大切です。また、他分野の専門家や一般の人との会話は、研究のいいヒントになります。サイエンス・カフェなどで話す機会が増えていますが、時間の許す限り参加したいと思っています。

**ND** — ありがとうございました。 ■

\*1 視交叉上核  
脳の視床下部にある左右一対の神経核。網膜や大脳の扁桃体などから情報が入り、体内時計の中核として働くほか、性ホルモンの分泌も調節している。

\*2 プロモーター領域  
遺伝情報のメッセンジャーRNAへの転写を制御する配列の部分。

\*3 ハイスループットスクリーニング  
コンピューターとロボット技術を組み合わせ、膨大な数の化学物質を分析する技術。新薬候補物質のスクリーニングのスピードアップに欠かせない。

\*4 概日リズム障害  
時差ぼけや不眠など、体内時計のずれによって起こる症状の総称。うつの原因にもなるほか、引きこもりにも関連すると考えられている。

聞き手は小島あゆみ (サイエンスライター)。

1. Ueda, H., R., et al, *Nature*, **418**, 534-539(2002)
2. Ueda, H., R., et al, *Nature Genetics*, **37**, 187-192, (2005)
3. Sato, T., K., Ueda, H., R., et al, *Nature Genetics*, **38**, 312-319(2006)
4. Ueda, H., R., et al, *PNAS*, **101**, 11227-11232(2004)