

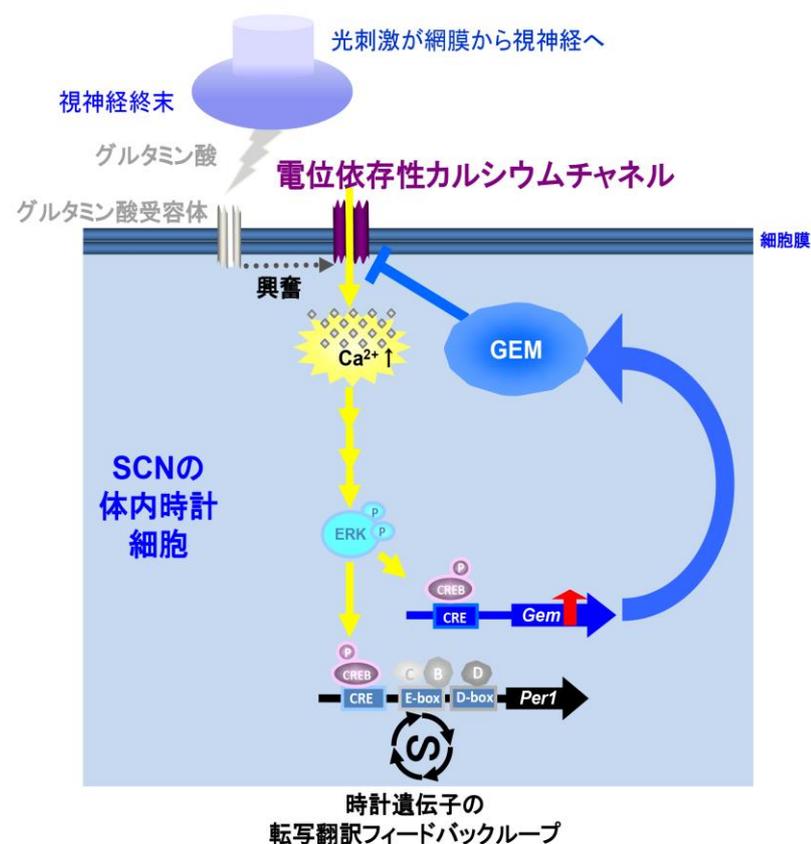
光誘導物質による新しい体内時計の同調制御機構

—光により誘導される神経細胞の活動抑制物質の発見—

概要

体内時計には、約 24 時間周期のサーカディアンリズム^{*1}を生み出す仕組みだけでなく、このリズムのタイミングを環境の明暗変動に一致させるシステム（同調機構）があります。これは、眼で受けた光の明暗情報が視神経から体内時計中枢である視交叉上核^{*2}に伝達され、この時刻を動かすことで行われます。哺乳類では、時刻を一度に 3 時間以上動かすことはできないことが知られています。しかし、その制限が作られる仕組みについては分かっていませんでした。今回、京都大学大学院薬学研究科 松尾雅博 特定助教（現：滋賀医科大学非常勤講師）、同大学院医学研究科 岡村均 研究員（京都大学名誉教授）、大阪大学 富永恵子 准教授らの共同研究チームは、光が神経活動を抑制する低分子量 G タンパク質^{*3}Gem を誘導し、これが体内時計の細胞の活動を抑制し、過剰に動くことを防いでいることを明らかにしました。光刺激で時計細胞に発現した Gem が、細胞が興奮するときに開く電位依存性カルシウムチャンネル(VDCC)^{*4}を抑制することで、細胞内へのカルシウムイオン流入量を減少させます。体内時計は、この仕組みをつかって、適切な時間の長さの時刻変動が起こるように調節していることが明らかになりました。

本研究成果は、2022 年 5 月 24 日（現地時刻）に、国際学術誌「Cell Reports」にオンライン掲載されました。



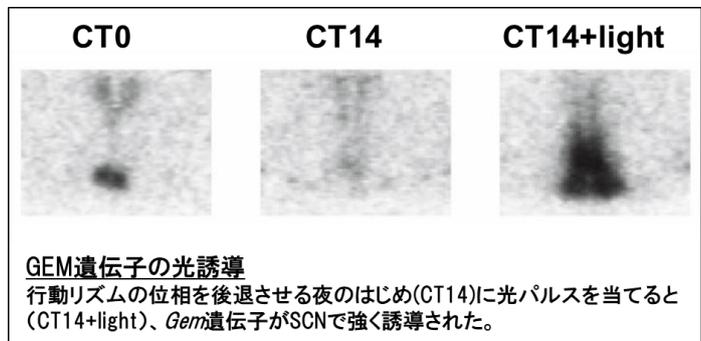
眼に光が入ると、その情報は網膜で受容され、それが視神経に伝わり、その神経線維は、体内時計の中枢である視交叉上核に至ります。光情報は、神経終末からのグルタミン酸の放出に変換され、このグルタミン酸を視交叉上核の時計細胞は、グルタミン酸受容体で受けとります。夜間、時計細胞はこの光刺激を受けて興奮し、電位依存性カルシウムチャンネル (VDCC) が開き、細胞外からカルシウムイオンが細胞内に流入します。このシグナルは最終的に、細胞核に到達すると、クロマチンリモデリングが起こり、CREB のリン酸化により CRE が活性化し、時計遺伝子 Per の転写が促進され、体内時計がシフトします。それと同時に、Gem 遺伝子の転写も促進され、できた GEM が VDCC の抑制因子となってカルシウムイオンの流入を抑制します。これにより、過剰な体内時計のシフトが防止されます。

1. 背景

私たちは、眼に入る視覚情報によって物を見ることができます。しかし、眼から脳に伝わるのは視覚情報だけではありません。私たちの周りの明暗情報は、脳の小さな神経核で体内時計のある視交叉上核にも伝わり、体内時計を環境の明暗周期に同調させます。実際、眼に光が当たると視神経終末からグルタミン酸などの興奮性神経伝達物質が放出され、その刺激を時計細胞のグルタミン酸受容体が受けとります。そうすると、時計細胞が興奮し、VDCCが開き、カルシウムイオンが流入します。このカルシウムイオンにより、時計遺伝子発現が変動し、体内時計の時刻が動きます（体内時計が体外の環境時間に同調する）。しかし、不思議なことに、体内時計の時刻は3時間以上シフトすることはありません。つまり、体内時計には時刻が過剰に動かないような仕組みがあるのですが、その機構は全く分かっていません。今回、そのシフト抑制機構を解明しました。

2. 研究手法・成果

我々は体内時計の中核である視交叉上核の機能を探りたいと考え、時刻特異的に視交叉上核に発現する遺伝子を網羅的に探索していました。そこで見つかったのが、朝に出現し夕方には消えてしまう低分子Gタンパク質Gemでした。Gemの役割を調べるため、夜間に光照射をすると、照射前には全くなかったGemが、照射後30分で上昇し始め、照射後60分から90分で劇的に増加しました（昼間のピークの5倍以上）、体内時計の昼間に光が当たっても増えないのですが、夜間には、光刺激依存性のGem遺伝子の増加が確認されたのです。



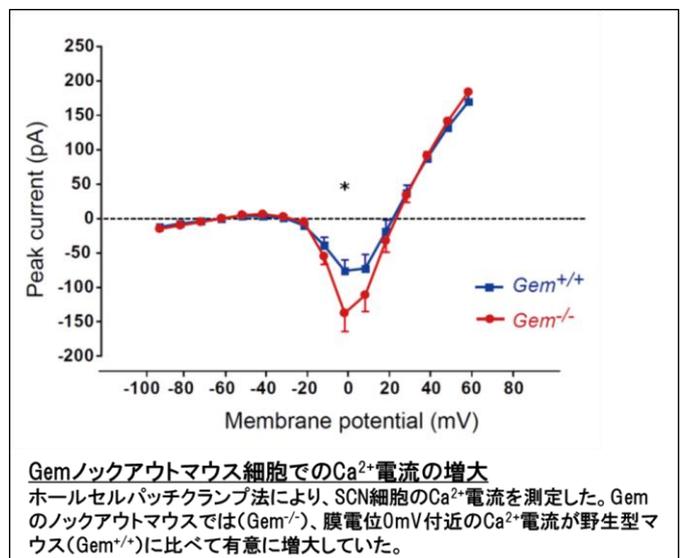
次に、Gemの機能を調べるため、遺伝子欠損マウスを作製しました。実際の光刺激による行動リズムのシフト量を測ってみますと、Gemを欠損させたマウスでは、野生型の正常マウスより、光刺激による時刻のシフト量が増大します。また、シフトの量は、光刺激が強いほど大きくなるという用量依存性を示しますが、どの光の刺激量でも、常に、Gem欠損マウスでは大きく位相シフトしました。

体内時刻のシフトは時計遺伝子が司っています。この時計のシフト量を、時計遺伝子の発現量として直接モニターできる視交叉上核の培養系を用いたリアルタイムモニター系でも調べました。シフト量はGem欠損マウスの視交叉上核では増大し、VDCCの阻害剤であるニフェジピンを投与した場合と同程度でした。

膜電位固定法でGem欠損マウスのカルシウムイオンの変動を測定したところ、L型カルシウムチャネル^{※5}を介したカルシウムイオンの細胞内への流入（カルシウム電流）が増大していました。

まとめますと、本研究により次の2点を発見しました。

- 1) 光刺激に反応して、時計細胞にカルシウムチャネルの抑制物質であるGemが誘導されます。
- 2) 誘導されたGemは、VDCCからのカルシウムイオンの細胞内への流入を抑制し、体内時刻が過剰にシフトないように調節しています。



3. 波及効果、今後の予定

細胞外からの刺激に対して速やかに応答して発現誘導される内因性の遺伝子の総称を最初期遺伝子と呼び、これには転写因子、成長因子や細胞骨格などさまざまなものがあります。今回着目した Gem もその一つですが、細胞の興奮に関係する細胞膜タンパク質に働き、直接抑制するような機能を持つ物質が刺激により出現することは、今まで知られていませんでした。神経細胞は外部の刺激を受けて興奮し、信号を伝達することが特徴ですので、最初期遺伝子は特に重要です。Gem は、時計細胞が刻む時刻の光刺激による急激な変化を防御する機構として働くことで、生体リズムの乱れを予防します。今後、視交叉上核での時計細胞に限らず、他の神経細胞や血糖を調節する膵臓のインシュリン分泌細胞や心筋細胞などの興奮性細胞での Gem や類縁物質の働きが注目されます。

VDCC の機能の抑制は、てんかんや疼痛の治療薬の作用点として挙げられているだけでなく、将来的には、パーキンソン病や、様々な精神症状（中毒、不安など）への治療作用点候補として浮上しています。今回の研究で初めて、内因性のカルシウムチャンネル抑制物質である RGK タンパク質^{※6}（Gem もその 1 因子）が、刺激部位特異的に誘導されることが明らかになりました。時計細胞に限らず、刺激に応じて、脳内のさまざまな部位で同様の物質が誘導されることが解明されれば、VDCC 阻害剤が各種脳疾患の新しい治療剤として活用できる可能性が広がるかもしれません。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、文部科学省 科研費（研究課題番号 15H01843; 18H04015; 20K20864）、文部科学省 科学技術振興機構（JST）CREST（研究課題番号 JPMJCR14W3）の支援を受けて実施されました。

また、本研究には京都大学大学院薬学研究科の瀬尾和幸博士と溝曾路祥孝博士が参加し、山口賀章 同講師、土居雅夫 同教授、同大学 大森治紀 名誉教授、京都府立医科大学 樽野陽幸 教授、中尾龍太 同助教、国立研究開発法人理化学研究所 阿部高也 技師、東京大学 郡宏 教授の研究協力のもとで行われました。

<用語解説>

※1 **サーカディアンリズム** 約 24 時間周期の内因性リズム。概日リズム、生体リズムとも言う。英語は circadian rhythm で、ラテン語 circa（約）、dies(一日)からの造語。circadian rhythm（概日リズム）は、環境サイクルのない恒常環境下でその存在が確かめられる内因性リズムである。circadian rhythm には、24 時間周期の環境サイクルに同調（entrainment）する性質がある。

※2 **視交叉上核** 脳の視床下部にある生体リズムの最高位中枢。眼からの視神経が脳に入る時に、左右の視神経は交叉するが、その直上にあるので、この名称がある。視交叉上核は 1 mm にも満たない小さいサイズの神経核で、左右 1 対ある。この神経核は時間情報を発信し、神経伝達やホルモンを介して末梢臓器に伝えられることで全身の多様な生理機能に 24 時間周期の規則正しいリズムを与えている。

※3 **低分子量 G タンパク質** 分子量約 20 ~ 35 kDa のグアニンヌクレオチド結合タンパク質。グアノシン三リン酸(GDP)結合型からグアノシン三リン酸(GTP)結合型への転換により活性型となり、特異的な標的分子に結合して細胞内シグナルを伝達する。

※4 **電位依存性カルシウムチャンネル (VDCC)** カルシウムイオン (Ca^{2+}) は、細胞が活動するときに使われる、きわめて重要な細胞内シグナルのセカンドメッセンジャーであり、広範な細胞機能を調節する。細胞外 Ca^{2+} 濃度が 1~2 mM であるのに対して、定常状態の細胞内では Ca^{2+} 濃度は数十 nM と非常に低い濃度に保たれている。細胞膜上のカルシウムチャンネルのうち、通常は閉じているが、膜電位の脱分極によって活性化される（開

く) カルシウムチャンネルを電位依存性カルシウムチャンネル (voltage dependent calcium channel: VDCC) という。

※5L型カルシウムチャンネル VDCCの一型。L型 (Cav1) は遅い不活性化 (Long lasting) と大きな (Large) 単一チャンネルコンダクタンスを有することから名づけられた。

※6 RGK タンパク質 低分子量 G タンパク質のうち、一次構造上の相同性から多くの Ras サブファミリータンパク質が同定されている。その一つとして電位依存性カルシウムの強力な抑制物質である RGK タンパク質 (Rad, Rem, Rem2, Gem/Kir から取られた) がある。

<研究者のコメント>

眼に入った光は網膜に受容され神経節細胞を興奮させ、その終末からグルタミン酸を視交叉の直上に位置する体内時計中枢である視交叉上核の時計細胞に浴びせかけます。夜間、グルタミン酸シャワーを受けた細胞は体内時計をゆっくりと動かし、体内時間が環境 (外界) の時計に調律されます。今回、この光による情報伝達の過程で低分子量 G タンパク質 Gem が誘導されること、その誘導された Gem が時計同調システムの調整に関与していること、を見つけました。あらためて、我々の脳にある 1 mmにも満たない小さな時計が、より大きな自転という地球のリズムシステムと共鳴する分子機構に驚嘆しています。(岡村)

<論文タイトルと著者>

タイトル:

A light-induced small G-protein Gem limits the circadian clock phase-shift magnitude by inhibiting voltage-dependent calcium channels (光によって誘導される低分子量 G タンパク質 Gem は、電位依存性カルシウムチャンネル(VDCC)を阻害することにより、概日時計の位相シフトの大きさを制限する)

著者:

Masahiro Matsuo, Kazuyuki Seo, Akiyuki Taruno, Yasutaka Mizoro, Yoshiaki Yamaguchi, Masao Doi, Rhyuta Nakao, Hiroshi Kori, Takaya Abe, Harunori Ohmori, Keiko Tominaga, Hitoshi Okamura

掲載誌: Cell Reports

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110844>