

マウス体内時計に対するグルコース代謝の影響
(Influence of glucose metabolism on mouse biological clock)

栗山 恒二 (Kuriyama, Koji) 紹介 : 柴田 重信 教授

地球上の生物が普遍的に獲得した性質の一つに、概日リズムがある。これは、地球環境の1日周期のリズムに対応して作り出された、およそ1日(約24時間)周期の内因性リズムで、睡眠、代謝、内分泌、行動リズムなど様々な生体現象に関与している事が知られている。概日リズムの中樞は、哺乳類においては視床下部の視交差上核(SCN)に存在するが、肝臓など末梢にも *Per* などの時計遺伝子は発現している。末梢時計の強力な同調因子として摂食が知られており、普段マウスの活動が活発ではない明期の一定時間にのみ餌を提示する制限給餌(RF)を行うと、しだいに餌の提示時刻を認識し、給餌前に活発な活動する。この行動は SCN 破壊後も観察され、末梢組織の時計遺伝子群の発現も餌の時刻に合わせて位相を変化させるが、その機構の詳細は不明のままである。本研究では、末梢組織における時計遺伝子発現について研究した。第1章では、餌の主成分の炭水化物分解産物グルコースに注目し、in vivo におけるグルコース投与が末梢の時計遺伝子発現に与える影響を確認した。第2章では、ストレプトゾトシン(STZ)投与により 1型糖尿病モデルマウスを作成しインスリン投与および投与時刻が末梢の時計遺伝子発現に与える影響を調べた。

第1章では、第一にグルコース急性投与による末梢 *Per1*、*Per2* mRNA の変化を観察した。次に夜行性であるマウスに昼に制限給餌を行うと、昼をピークとした末梢時計遺伝子の発現位相変化が見られ、制限給餌を中止すると夜をピークとした位相に徐々に戻る。そこで、グルコースが末梢時計遺伝子の同調因子であるなら、昼に制限給餌を行い時計遺伝子の発現位相ピークを昼に移行させて、制限給餌を中止した後、給餌時刻に合わせてグルコースの連日投与することにより、発現位相ピークが昼から夜に戻るのを抑制出来るか確認した。

マウス肝臓において、グルコース投与によって *mPer1* も *mPer2* も1時間後、2時間後において発現上昇が確認された。グルコースと比較して、*mPer2* 発現誘導において給餌がより強い影響力を持つ事が判明した(図1)。またマンノースなど非栄養性化合物では、*mPer2* 発現誘導は引き起こされなかった。

次に、3日間の周期的なグルコース投与により、事前に形成された RF スケジュールによるマウス肝臓における時計遺伝子発現位相変化を維持することができた(図2)。

図1.

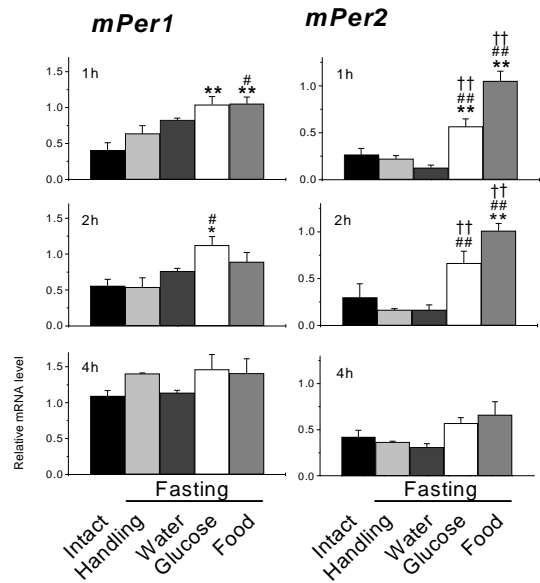
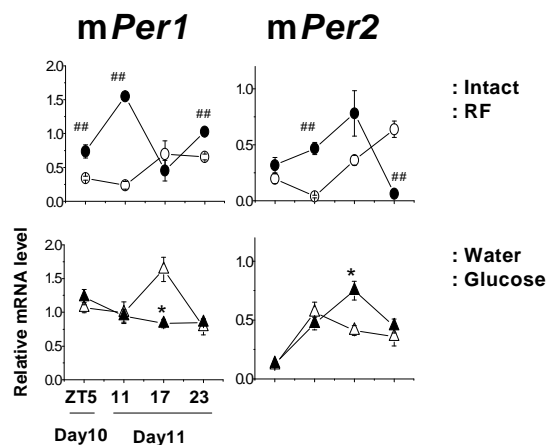


図2.



このことより、毎日一定時刻のグルコース摂取は、給餌予知行動および *mPer* 遺伝子発現リズムを引き起こす重要な化学的信号を生産可能性がある。その作用は、グルコース投与によるエネルギー代謝に伴い、NADPH/NADP 比の変化により BMAL1:CLOCK のヘテロダイマー形成が促進され、*mPer1* と *mPer2* の転写を促進したと考えられる。しかし、グルコースは餌ほど強力な同調因子とはなりえず、体温やホルモンなど摂食にかかわる他因子の関与も考えられるが給餌性リズム形成にかかわる分子機構は不明なままであった。

近年の報告から糖尿病モデル動物では、末梢組織にの時計遺伝子の発現が減弱し、位相が変化すると報告がある。そこで第2章では、糖尿病モデルマウスの時計遺伝子発現を確認した。その後糖尿病モデルマウスに、連日一定時刻のインスリン投与が体内時計のリズム性の回復が可能か、また、時間薬理学的視点から、インスリン投与時刻を明期、暗期開始に行い、効果に差があるのか確認した。最後にインスリン単回投与が時計遺伝子発現に影響を与える影響を確認した。

STZ 処置によりマウス肝臓における *mPer2* と *mPER2* 発現リズムは減弱し、発現ピークが ZT18(ZT0、ZT12 各々ライトオン、オフ) から ZT12 に前進するが、SCN における *mPER2* 発現は変化しない事が分かった。このことから、

STZ 処置は末梢時計発現の振幅を減弱させるが、中枢である SCN の時計発振には影響を与えないという事が推察された。

また、暗期直前 ZT11.5 のインスリン投与により、糖尿病で悪化した肝臓における *mPer2* と *mPER2* 発現が改善されるが、ZT23.5 では改善されず、インスリン投与効果の時刻依存性が確認された (図3 - 4)。この結果は、インスリン連日投与が糖尿病の症状を減じただけでなく、末梢概日リズム時計機能を回復したことを強く示唆している。したがって、本研究はヒトの糖尿病患者に対するインスリン治療にも応用できる可能性を強く示唆するものであった。ところで、インスリンの単回投与で肝臓の *mPer2* と *mPER2* 発現が十分に回復したことから、一定時刻の連日投与は、リズム形成の強化を引き起こし更にリズム回復効果が促進されたと考えられる。

今まで餌による末梢組織における体内時計の同調機構の詳細は不明であったが、今回の研究によりその機構の一部を解明できたと考える。これにより、糖尿病患者のリズム異常を連日のインスリン投与により改善できる可能性がある。また、昼夜逆転勤務による仕事能率の低下や時差ぼけなど、中枢時計と末梢時計の乖離が原因の一員と思われる障害の解決への一助となると確信する。

図3.

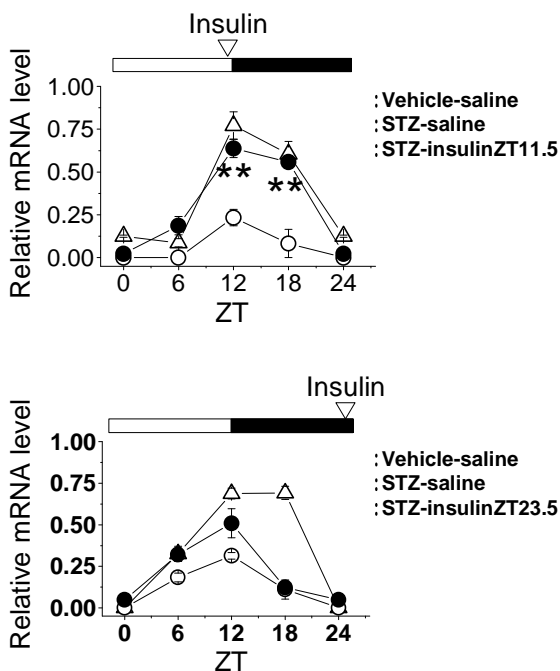


図4.

