

第2回 体内の時間を知る

(1) 「体内時刻」を知る意義

前回、人類が作った時計と自然が作った時計の話をしました。いずれの時計も正確な時を刻むのですが、違いもあります。その1つは設計図で、人類の作った時計には設計図がありますが、体内時計にはわかりやすい形の設計図はありません。あるのかもしれませんが、私たちはまだ「設計図」を知りません。また、当然ですが、人類の作った時計、例えば腕時計には時刻の表示機能があります。今回はいかに「表示機能がない」という障害を克服して、自分たちの体内時計の時刻（体内時刻）を知るのかについてお話します。

体内時刻を知ることによってどんな意味があるのか疑問に思われるかもしれませんが、実は近年、体内の時間情報が医療の面でもとても有用だろうということが分かってきました。例えばフランス・レヴィ博士は有名な研究をしました (Levi, Pathol Biol (Paris), 1994)。通常はがん患者に対する抗がん剤治療の場合、昼も夜も同じ濃度で行うのですが、レヴィ博士はある時間帯には抗がん剤を多く、別の時間帯には少なく投与するという時間によって「メリハリ」をつけるという研究を行いました。そうすると生存時間がこの時間によってメリハリをつけた治療を受けた方で上がり、副作用もちょっと減る、ということを見出しました。こういった治療法のことを時間治療 (chronotherapy) といいます。タンパク質は遺伝子からできます。さらに、様々な薬の効果が時間帯によって違いそうだとすることも分かってきつつあります。2014年、米国シンシナティのジョン・ホグネシュ先生らが、様々な薬の標的となるタンパク質をコードする遺伝子が、体の中で24時間周期でダイナミックに変動することを発見しています (Zhang et al., PNAS, 2014)。

時間情報が薬の効果に大きな影響を与えることが分かってきました。しかし、時間情報は各人で異なります。各人の体内の時刻を測ればいいのでは？ということなのですが、この体内時刻の測定は難問です。これまでの方法は体内時刻を知ろうとすると、体温の移り変わりや血中のホルモン量の移り変わりを基準に測る方法なので、24時間付きっきりで測定をしないとイケない。この状況を何とか変えることはできないでしょうか？

(2) 分子時刻表法の開発

実は、古くからある考え方の中に、たった一度の測定でその場所の時刻を知る方法がありました。前回リンネの花時計の話をし、「どの花が咲いているのか、どの花が閉じているのか」を観察すればその場所の時刻がわかるという話をしました。このアイデアを応用したら、体内時刻が測れないかと考えたわけです。

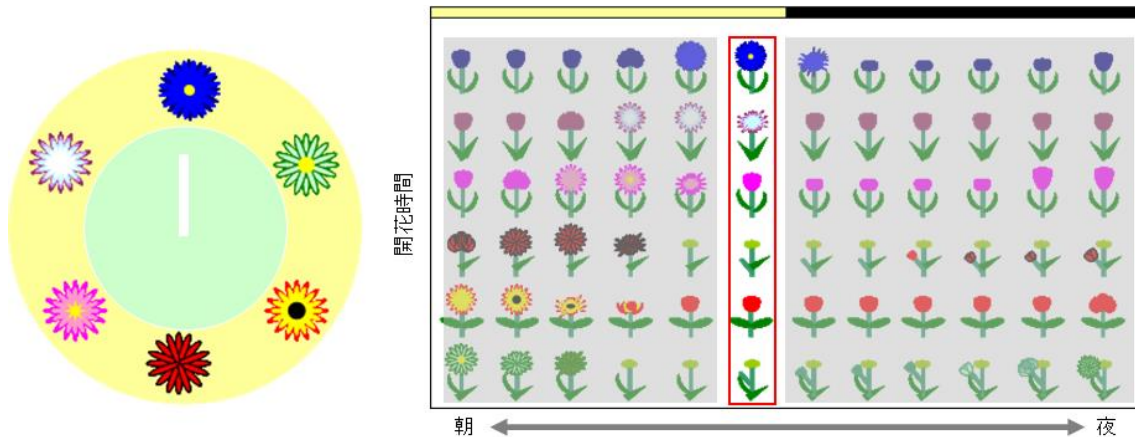


図1. 花時計。1日のいろいろな時間に咲く花を集める(左)。ある時間(ここでは12時)に花壇を眺めると、12時に咲く花(青)は開き、6時に咲く花(赤)は閉じていて、というように複数種の花の状態から「時刻」が推定できる。

私たちはまず、花の開閉に相当するような時刻を表す物質（時刻表示物質）を探してみました。ちょうど2000年代にヒトを含む動物の遺伝子情報を一挙に人類が手に入れられるようになりました。遺伝子からRNAを経てタンパク質が作られますが、この頃ちょうど様々なRNAの量を一度に見る方法（GeneChip）が考案され、これを使ってマウスの中核の時計（視交叉上核の時計）や末梢の時計（それ以外の細胞がもつ時計）で様々な時刻に出る遺伝子がないか探しました。その結果、かなり多くの遺伝子が、ダイナミックにリズムを刻み24時間周期で朝昼晩の様々なタイミングに多くなることが分かりました（当時は振動する遺伝子は全体の数パーセントと考えられていましたが、現在では半数以上の遺伝子が振動するといわれています）。朝に多く遺伝子が発現する（RNAが作られる）朝遺伝子や、昼に多くなる昼遺伝子、夕方の方遺伝子、晩の晩遺伝子、深夜の深夜遺伝子、明け方の明け方遺伝子なるものが、どんな組織にもありそうだ、と分かってきたわけです。これが正しければ、朝・昼・夕方・晩・深夜・明け方の遺伝子の発現状態を花時計の花の状態に見立て、どの花が咲いているのか（どの遺伝子が発現しているか）を観察すれば時刻が分かる、と考えました。

例えば、朝遺伝子を緑、夕方遺伝子を赤で考えると、朝には緑の遺伝子が多い、つまり緑の花がきれいに咲いていることになります。昼になると今度は昼遺伝子（黄）が作られていく、黄色の花が咲く。夕方になれば夕方遺伝子（赤）の遺伝子が上がってくる。晩には晩遺伝子（紫）が多くなり、深夜には深夜遺伝子（青）が多くなり、明け方には明け方遺伝子（水）が多くなります。発現量が上がっていく遺伝子が移り変わると同時に下がっていく遺伝子も移り替わっていきます。緑の花が咲いているときは紫の花は閉じ、黄色の花が咲いているときは青の花が閉じ、赤色の花が咲いているときには水色の花が閉じる。朝だと晩の遺伝子が少なく、昼だと深夜遺伝子が少なく、夕方だと明け方遺伝子が少なくなっていく。

こういうふうに時刻表示遺伝子のパターンを見れば体内時刻が測れそうだとすることで、2004年に、はじめに振動遺伝子を調べ上げて「分子の時刻表」を作り、それを参照して1時点の測定で時間を測る、そういう方法（分子時刻表法）を開発することに成功しました（Ueda et al., PNAS, 2004）。

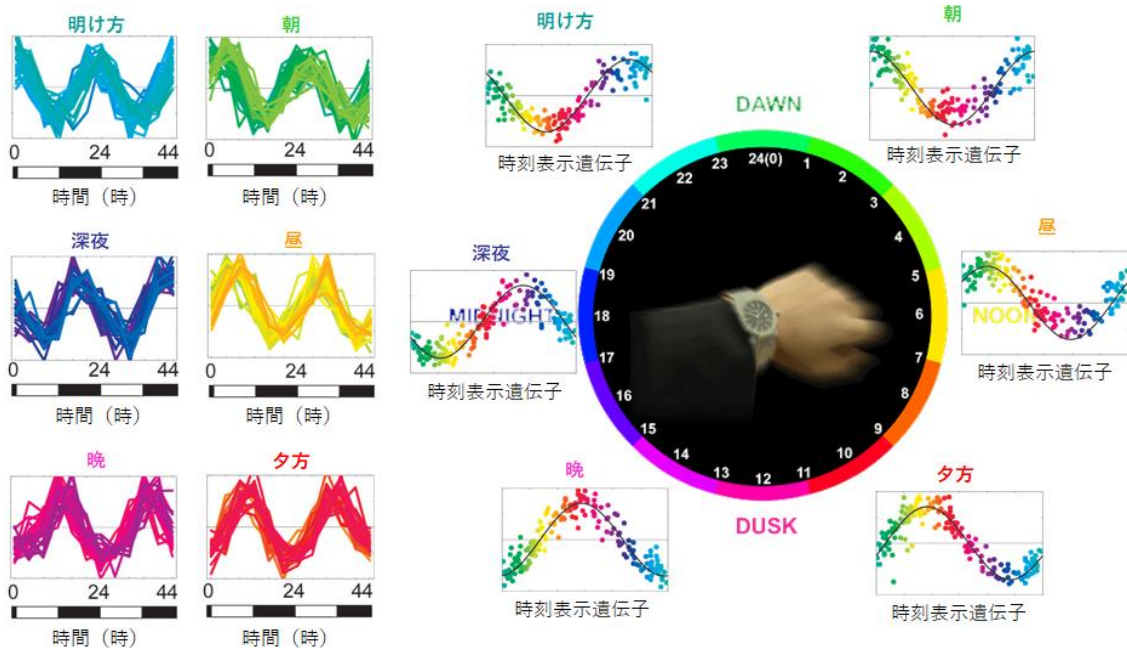


図2. 分子時刻表法。1日のいろいろな時間にピークをもつ遺伝子を集める(左)。その情報を基に、いろいろな振動遺伝子の発現パターンから体内時刻を算出する。このことにより、体内時刻を測定して時間治療に役立てたり、リズム異常を検出したりできる。

(3) 分子時刻表法の発展と応用

体内時刻の測定法は、その後発展していきました。2004年にRNAで体内時刻が計れることを証明した後に、今度は動物（マウス）の血液中を流れる代謝産物に振動する物質があるか調べたところ、同じように朝物質・昼物質・夕方物質があることが分かり、代謝産物でも体内時刻が計れるということを報告しました（Minami et al, PNAS, 2009）。また、正確かつ定量的な測定法を確立することでタンパク質でも体内時刻が測定できることを2016年に示しました（Narumi et al., PNAS, 2016）。いくつかヒトへの応用もされており、私たちの研究室ではヒトの血中の代謝産物を使うことで体内時刻の測定が可能だということを示しましたし（Kasukawa et al., PNAS, 2012）、山口大学の明石真先生の研究室はヒゲの毛根部からとったRNAを使って時刻を測る方法を発表しています（Akashi et al., PNAS, 2010）。英国のグループは、私たちと同じような方法で血液や尿中の代謝物質を使って時刻を測ることを試み（Davies et al., PNAS, 2014; Skene et al., PNAS, 2018; Giskeodegard et al., Sci Rep, 2015）、また英国のグループと米国のグループが血液中の核酸（RNA）を使って時刻が測れ

ることを示しています (Laing et al. eLife, 2017; Hughey, Genome Med, 2017)。ドイツのグループは血中の白血球から抽出した RNA を使って正確に時刻が計れることを示しています (Wittenbrink et al., J Clin Invest. 2018)。また別の米国のグループは皮膚で時刻が測れることを示しました (Wu et al. PNAS, 2018)。

ちょっと変わった応用としては、農業生物資源研究所 (当時) の井澤毅先生が、稲の「時刻」を計ることを試みました (Matsuzaki et al., Plant Cell, 2015)。生育中の稲の様々な状態を知るために稲の時刻情報が有用だということで、私たちの方法の応用により「稲の時刻」を測ることに成功しています。また私たちの動物が季節を感じる方法に関連する研究の際にも役立ちました。春になると分泌されるホルモンがあるのですが、何時に光が当たると「春」だと感じるようになるのか、これが長い間謎だったのです。これを調べるためには、調べる動物が何時だと感じているのか、がとても大事なので体内時刻を調べることをしました。結論としては、明け方の光、つまり「まだ夜だろう」と思っている時に光が入ると、日の長さが長くなったと感じる仕組みが、動物に備わっていることが分かりました (Masumoto et al., Curr Biol. 2010)。最近テクノロジーが発達し、1つ1つの細胞の中の微量な物質も計測できるようになり、1細胞レベルで RNA を定量的に測ることができるようになってきました。この結果、1細胞の時刻を測るという研究が出始めています (Wen et al., Nat Neurosci., 2020)。

私たちの開発してきた体内時刻測定法には難点もありました。最大の難点は何かということ、最初の「分子時刻表を作る」作業があまりに大変だったことです。米国のジョン・ホグネシュ博士はこの分子の時刻表を自動的に作れないかと考えました。いま、24時間で一回りするような遺伝子を二つ考えます。例えば朝遺伝子と昼遺伝子のように、ちょっと発現量多いタイミングがずれた二つの遺伝子があったとすると、その2つの遺伝子の発現量の (時間的な) 関係はちょうど円のように表わせます。逆に言えば、こういう円のような関係を持つ遺伝子を見つければ時刻表が作れるんじゃないか、こういうことを考えて自動的に時刻表を作ることに成功しました。今までヒトで時刻表を作るのは難しかったのですが、この方法をつかうことで、複数のサンプルから時刻表が作れるようになってきました (Anafi et al., PNAS, 2017)。あとは法医学の分野で、その方が何時頃に亡くなったのかを調べる。法医学で検体を調べた時の残っているサンプルを使うことができます。死亡時刻情報は例えば乳児の突然死などで原因を調べるために重要になるのですが、そういうところにも応用が検討されるようになりました (Agostinelli et al., Bioinfomat, 2016)。これ以外にも、人工知能の分野のテクノロジーを使って、時刻をより正確に測る方法を開発する、こういったところにも応用されてきています (Hughey, Nucleic Acids Res, 2016; Braun et al., PNAS, 2018)。

(4) 「時間」を考える

グスタフ・クリムトは「女の三代 (The Three ages of woman)」という絵を描いていま

す(*1)。そこには、赤ちゃん、お母さん、おばあさんが描かれていますが、ここには様々な時間が描かれていることに気づきます。1つは赤ちゃんがお母さんになり、おばあちゃんになる移りゆく時間。「時間の矢」という言い方をしますが、一方向性に進む時間です。もう1つは、繰り返される時間です。赤ちゃんがお母さんになって、そのお母さんから新しい赤ちゃんが生まれるというような、繰り返される時間が描かれているわけです。私たちの体はたった1つの細胞から始まっていて、その細胞は母親と父親から来ますので移りゆく時間の中にあります。一方で一部の細胞は時間を巻き戻すことができます。時間が進んだり、場合によって戻ったりする。だんだん成長とともに様々なことを覚え、場合によっては記憶をリセットしてフレッシュなスタートを切ることができます。こういう、私たちの身体に刻まれている時間がどういうものかは、実はあまりよくわかっていないのです。

先ほどお話した、朝遺伝子、昼遺伝子、夜遺伝子、あるいは朝物質、昼物質、夜物質のような形で、血液の中、細胞の中、組織の中に溜まっていく様々な物質の量で時間を表すことができるのかもしれませんが。私たちが示したように、細胞の中にある分子が溜まっていく様子で時刻を表現できます。まるでお風呂に水が溜まっていくように、時間が溜まっていき、お風呂から水が抜けていくと時間が巻き戻る、というわけです。しかし、私たちの体はだんだん色々なことを学んで、そして年老いていく訳ですが、今までの経験が何か物質の量だけで刻まれているかと言うと、そうでもないかもしれません。もしかすると何か紙に絵を描くように、石に物を刻むように情報を書き込んでいるのかもしれませんが。「分子に印をつける」ような形で時間が刻まれるかどうかについては、実は良く分かっていません。この時間を数える仕組みはどのようなものか、それはなにかの物質の変化なのか、それともその物質にいろんな状態があって、その状態変化似時刻情報が刻まれているのか、そのあたりについて考えていきます。

*1 [https://en.wikipedia.org/wiki/The_Three_Ages_of_Woman_\(Klimt\)](https://en.wikipedia.org/wiki/The_Three_Ages_of_Woman_(Klimt))