

はしがき

原核生物から真核生物すべての生物において自己体内（あるいは細胞内）に時を刻み続ける体内時計が具備されている。これは地球の自転や公転が作り出す様々な環境の周期的変化に対応すべく獲得した適応戦略と考えられる。18世紀半ばに生体に内在生のリズムが存在する事が見つかって以来、様々な分野でこの生体リズムに対する研究が開始され、10年程前にはショウジョウバエにおいてついに時計遺伝子perが見つかった。この時計遺伝子perの発見以来、一応、遺伝子レベルの発展は昨今まで静止状態にあったが、昨年、さらに新たなtimeless遺伝子の発見により、per遺伝子の研究に新たな転換を迎えた。換言すれば、遺伝子レベルでの時計の解明はまだ未知であることを意味している。一方、高等動物における時計機構の解明も大きく前進して来た。この前進は人の時間治療学への道を開こうとしている。本研究はこの様な背景の中で、鳥類や哺乳動物の生体時計機構を分子細胞レベルで解明しようと計画されたものである。わずか2年で、高等生物の時計機構が明らかになるとは当初から思っていないが、この2年で期待以上の成果を得たと私自身は満足している。以下にその主な発見の一部を記して、はしがきとしたい。

### 1. 鳥類の松果体細胞における生物時計

鳥類松果体細胞には生物時計が存在し、恒常条件の培養下においても、約24時間周期のリズムを継続する。このリズムは松果体ホルモンであるメラトニンの分泌リズムとして反映される。まず、この研究において、鳥類の種における時計機構の相違を明らかにできた。スズメ、鳩の松果体には光受容器、時計発信機構が存在するのに対し、うずらの松果体には時計機構は存在していなかった。また、夜行性鳥類のふくろうの松果体は退化しており、血液中にはメラトニンが極めて少量にしか存在しなかった。これはメラトニンが鳥類の行動を抑制することから逃れるための退化と考えられた。細胞レベルの研究において、恒常暗下でのメラトニン分泌リズムに先行して、cAMPのリズムが形成されていること、プロテインキナーゼA特異的阻害薬H8は量依存的にメラトニン分泌を抑制することが判明した。一方プロテインキナーゼCの阻害薬カルフォスチンでは抑制効果は見られなかった。以上の結果は、鳥類松果体細胞の生物時計は細胞内に於いて、自らアデニレートサイクラーゼを活性化し、cAMPを合成すること。また、このcAMPはプロテインキナーゼAを介してメラトニンの分泌を誘起することを示唆した。これらの知見は、従来アデニレートサイクラーゼが細胞外の情報伝達物質によって活性化されるカスケードとは異質なものであり、細胞内活性化機構の手がかりとなるかも知れない。

### 2、ラットの行動リズムに対するメラトニンの効果

ラットの松果体を除去しても生体リズムには影響が認められないが、外性的にメラトニンを投与すると、生物時計はメラトニンに対し、種々の反応を示す。今回、メラトニンを毎日定刻に投与し、リズムに対する影響、及び、慢性的に投与したときの光に対する同調効果への影響を検討した。まず、恒常条件下で自由継続リズムを示すラットに毎日定刻にメラトニンを投与した。その結果、行動リズムはすべてのラットで、メラトニンの投与時刻に同調した。しかし、恒常明下でリズムの消失したラットではメラトニンによる同調効果は認められなかった。慢性的投与においては、光の条件を急に変化させると、メラトニン投与群では対照群に比較して早く再同調する事が見いだされた。これらの結果は、メラトニンが時差ボケ解消薬として利用できる事を強く示唆するものであった。また、このメラトニンの作用は視交叉上核のアデニレートサイクラーゼ抑制効果による可能性が最近の我々の研究で明らかになった。

最後に、本研究に御援助戴いた東京大学の高橋迪雄先生、塩田邦郎先生に心より御礼申し上げます。

平成8年3月  
研究代表者 村上 昇

平成7年度科学研究費補助金 一般研究（C）研究成果報告書

1. 課題番号 06660383

2. 研究課題 鳥類と哺乳動物の生体時計機構の分子細胞学的研究

3. 研究組織

研究代表者 村上 昇 (宮崎大学農学部獣医学科家畜生理学講座)

研究協力者 中原 桂子 (宮崎大学農学部獣医学科家畜生理学講座)  
丸本信之 (宮崎大学農学部獣医学科家畜生理学講座)

4. 研究経費

平成6年度	1、100	千円
平成7年度	900	千円
計	2、000	千円

## 5.研究発表

### (1) 学会誌等

- 1 Nishi, R., Murakami, N., Marumoto, N., Nasu, T., Kuroda, H., Etoh, T.  
Circadian oscillation of 64-kDa polypeptide in the rat suprachiasmatic nucleus. (1994)  
J. Vet. Med. Sci. 56(1):161-163
- 2 Murakami, N., Nakamura, H., Nishi, R. Marumoto, N. Nasu, T.  
Comparison of circadian oscillation of melatonin release in pineal cells of house sparrow, pigeon and Japanese quail, using cell perfusion systems. (1994)  
Brain Research 651:209-214
- 3 Nasu, T., Nakai, M., Murakami, N.  
Vascularization of the pineal gland in the crow. (1994)  
J. Vet. Med. Sci.  
56:1185-1186
- 4 Noboru Murakami, Tetsuro Katayama and Tetsuo Nasu : A Inhibitor of protein synthesis phase-shifts the circadian oscillator and inhibits the light-induced phase shift of the melatonin rhythm in pigeon pineal cells (1995)  
Brain Research 693: 1-7
- 5 Keishiro Akasaka, Tetsuo Nasu), Tetsuro Katayama and Noboru Murakami  
Development of regulation of melatonin release in pineal cells in chick embryo. (1995)  
Brain Research 692: 283-286
- 6 Haruto Kuroda, Manabu Fukushima, Masaaki Nakai, Tetsuro Katayama and Noboru Murakami: Daily wheel running activity modifies the period of the free-running rhythm in rats via intergeniculate leaflet?  
Brain Research (in press)
- 7 Nobuyuki Marumot, Noboru Murakami, Tetsuro Katayama, Haruto Kuroda and Takayuki Murakami : Effects of daily injection of melatonin on locomotor activity rhythms of rats maintained under constant blight or dim light.  
Physiology & Behavior (in press)
- 8 Nobuyuki Marumot, Noboru Murakami, Haruto Kuroda and Takayuki Murakami : Melatonin accelerate reentrainment of circadian locomotor activity rhythms to new light-dark cycle in the rat.  
Jpn J. Physiol. (in press)
- 9 Haruto Kuroda, Hisae Nakamura, Noboru Murakami and Tetsuo Nasu:

Involvement of protein kinase C in the light-induced reduction  
in melatonin release from chick pineal cells.

reduction of melatonin release in chick pineal cells.

( in preparation for submission)

10 Keiko Nakahara and Noboru Murakami:

Involvement of adenylate cyclase activation in circadian oscillation  
of melatonin release under constant darkness in chick pineal cells.

( in preparation for submission)

(2) 口頭発表・講演等

1 村上 昇

生物時計局在細胞の長期細胞灌流法によるサーカディアンリズムの測定と時計機  
構の解析

第119回日本獣医学会生理学生化学分科会ワークショップ「細胞培養実験の展  
開」(1995年4月、東京)

2 村上 昇

ラットの概日リズム機構および光同調機構の加齢に伴う変化

第119回日本獣医学会臨床分科会シンポジウム「動物の老化」

(1995年4月、東京)

3 村上 昇、丸本信之、中原桂子

メラトニンと動物のリズム

第2回日本時間生物学会学術大会シンポジウム「メラトニン：基礎研究から人へ  
の展開」(1995年11月、名古屋)

4 福島 学、村上 昇、片山哲郎、黒田治門

ラットの車廻し行動は外側膝状体中葉部を介して体内時計の周期を変化させる？

第120回日本獣医学会

(1995年11月、鳥取)

5 中原桂子、村上 昇、那須哲夫、片山哲郎、黒田治門

鳥類松果体細胞の生体時計に及ぼす氷冷パルスの効果

(1995年11月、鳥取)

6 村上 昇

メラトニンと動物のリズム

大阪大学蛋白質研究所セミナー「サーカディアンリズムの分子機構」

(1996年3月、大阪)

7 村上 昇

実験動物のサーカディアンリズムとクロノファーマコロジー

第10回薬物動態ワークショップ「実験動物から人へ」

(1996年4月、東京)

(3) 著書

1 村上 昇

光と生物時計

「光と人間生活ハンドブック」佐藤愛子、利島保、大石正、井深信男、編集、  
p 81-90 朝倉書店 (1995)