

課題番号	LS089
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	現代時間環境の検証基盤となる概日時計機構解析と時間医学技術開発
研究機関・ 部局・職名	山口大学・時間学研究所・教授
氏名	明石 真

1. 当該年度の研究目的

(1) 概日時計制御因子である Period(PER)の機能に関して、我々は新規のメカニズムの可能性を見出しているが、*in vivo*(動物個体)においてエビデンスを取得し、得られたデータをもとに論文化する。(2)また、概日時計と動脈硬化増悪の相関研究においては、高脂肪食負荷による動脈硬化プラークの面積は時計遺伝子機能欠損により拡大する傾向があるが、このプラークの詳細な組織学的解析や血圧日内変動解析により、プラーク面積の拡大の原因となったメカニズムの糸口を見つけ出す。(3)さらに、体毛を利用した時計遺伝子発現測定法においては、より少ない検体量および採取回数で測定可能にするための技術検証を行う。これにより、測定の高スループット化を目指す。(4)さらに、概日時計に作用する天然物質候補について、この物質が動物の生理学的なリズムおよび時計遺伝子発現に効果があるのか検証する。

2. 研究の実施状況

(1) CLOCK のリン酸化はその転写因子としての活性と相関が高く、Cryptochrome (CRY) によって CLOCK の転写活性が抑制される際には脱リン酸化が起こることがわかっていた。今年度の研究により、PERはCRYによるCLOCKの脱リン酸化を抑制することが判明した。これは、PERによるCRYの抑制のメカニズムの一端は、CLOCKのリン酸化保護にあることを示唆している。概日時計の必須のコンポーネントであるPERの分子的機能は、その発見から15年経った今でも不明であり、今回の我々の成果は解明の糸口になると考えられる。証明に至れば概日時計モデルが再検討されることになる想定される。*in vivo*で説得力の強いデータが必ずしも得られたわけではないが、我々の今回の発見は概日時計分子メカニズムにおいてブレークスルーとなり得るものである。したがって、現在論文としてまとめており、数ヶ月以内に投稿予定である。

(2) 血圧の日内変動パターンと動脈硬化発症リスクにおいて相関が報告されており、動脈硬化のメカニズムを探る上でテレメトリーによるリアルタイム動脈圧測定は本研究において欠かせないものである。それゆえ、我々はこのシステムの導入が必須であると考えているが、これは難易度の高い実験であり、ようやく系が立ち上がったところである。また、動脈硬化だけではなく、マウスを異なる明暗サイクルで飼育すると、ある種のがん細胞の増殖に影響があることを見出しており、今後は動脈硬化とがん化の両方を検証していくことになる。

様式19 別紙1

(3)ヒト概日時計測定法については、培養系を用いる方法、タンパク質発現解析法、もしくはRNA 定量法などのさまざまな可能性を検証したところ、RNA 定量法に改良を加えることで、少ない体毛から信頼度の高いデータが得られることがわかった。さらに、従来のリアルタイム PCR 法においては、時計遺伝子のように発現量が低い場合はその測定精度において限界があり、同法より脱却することでより採取する体毛の本数を減らすことを考えている。具体的には、branched DNA 法を利用することによって概日リズム診断の効率化を示唆するデータを得ており、確立されればさらなるハイスループット化が可能になる。この実験系が確立されしだい、フィールドワークを実践する。

(4)自由行動下において動物個体の時計遺伝子活性をリアルタイムで測定する実験系を立ち上げていく。この利点は、タイムコースによる臓器採取ではわからない同一個体動物における発現量変化や精度の高い遺伝子発現の系時変化を見ることが可能になることである。天然物質が概日時計位相に及ぼす影響は必ずしも大きくないと想定され、そのため我々はこの系の確立を目指している。従来の行動解析によって、天然物質の効果を示唆する予備データが得られたが、この実験系では限られた情報しか得られてこない。そのため、我々は、時計遺伝子の活動を個体レベルにおいて、リアルタイムで測定する方法の確立が不可欠であると考えているが、まだ時間がかかりそうである。

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計0件
計8件	(掲載済み一査読無し) 計5件
	2011年7月1日発行 生物の科学：遺伝 第65巻 第4号 (68 - 76頁) 「ヒトの概日時計を評価するための新手法」著者：明石 真
	2011年8月1日発行 Cardiovascular Frontier 第2巻 第4号 (19 -27頁) 「動脈硬化と概日時計」著者：明石 真、野出孝一
	2011年11月26日発行 医学のあゆみ 第239巻 第9号 (897 - 903頁) 「ヒトの概日時計を評価するための新手法」著者：明石 真
	2011年12月10日発行 医学のあゆみ 第239巻 第11号 (1129-1130頁) 「ヒト体内時刻の新測定法」著者：明石 真、野出孝一
	2011年12月20日発行 Diabetes Frontier 第22巻 第6号 (597 - 606頁) 「体内時計と生活習慣病」著者：明石 真、野出孝一
	(未掲載) 計3件
	2012年 照明学会誌「現代生活環境と概日時計」著者：明石 真
	2012年 Heart View 「時計遺伝子の分子機構を識る」著者：明石 真、野出孝一
	2012年 肥満研究「生活習慣病予防と概日時計」著者：明石 真

様式19 別紙1

<p>会議発表 計 10 件</p>	<p>専門家向け 計 5 件</p> <p>平成 23 年 10 月 17 日 World Sleep 2011 (京都) 講演者：明石 真 「Hair follicle cells as a non-invasive way to assess the human circadian clock and the effects of rotating shift work patterns.」</p> <p>平成 23 年 11 月 10 日 全国大学保健管理研究集会 (下関) 講演者：明石 真 「現代人と概日時計」</p> <p>平成 23 年 12 月 14 日 日本分子生物学会 (横浜) 講演者：明石 真 「A possible new role of mammalian PER proteins」</p> <p>平成 23 年 12 月 23 日 Metabolism Scientific Forum (東京) 講演者：明石 真 「概日時計と生活習慣病」</p> <p>平成24年3月17日 日本循環器学会 (福岡) 講演者：明石 真 「A noninvasive method for assessing the human clock」</p> <p>一般向け 計 5 件</p> <p>平成 23 年 7 月 2 日 山口大学公開講座 (山口大学主催) 講演者：明石 真 「体内時計と 24 時間社会」</p> <p>平成 23 年 7 月 14 日 山口はってんクラブ (山口銀行主催) 講演者：明石 真 「慢性時差ぼけ：現代医学の死角」</p> <p>平成 23 年 10 月 29 日 日本女性薬剤師会研修会 (下関) 講演者：明石 真 「現代人と体内時計」</p> <p>平成23年11月21日 商工会議所講演会 (旭川) 講演者：明石 真 「体内時計と現代社会」</p> <p>平成24年1月22日 市民公開講座 (山口) 講演者：明石 真 「日常的な慢性時差ぼけと現代病」</p>
<p>図書 計 2 件</p>	<p>2011 年 5 月 2 日発行 体内時計の科学と産業応用 (244 - 253 頁：10 ページ) 「体毛を用いたヒト概日時計の評価法」著者：明石 真 ISBN：9784781303406</p>

様式19 別紙1

	<p>2012年1月25日発行 Annual Review 循環器 2012 (29 - 36頁 : 8ページ) 「循環器系における概日時計の分子機構」著者 : 明石 真 ISBN : 9784498134140</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>研究所ホームページのリニューアルにつき、近日公開予定。</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>平成 23 年 10 月 14 日 イブニングセミナー 京都 (キャンパスプラザ京都) 「最先端次世代研究開発支援プログラム進捗報告」対象者 : 一般 (40名程度)</p> <p>平成 23 年 11 月 4 日 イブニングセミナー 東京 (キャンパスイノベーションセンター (CIC)) 「最先端次世代研究開発支援プログラム進捗報告」対象者 : 一般 (60名程度)</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計 9 件</p>	<p>2011 年 4 月 14 日掲載 朝日新聞 (31 面) 「山大が 2 部門で科学技術賞受賞 時間学の確立など評価」</p> <p>2011 年 4 月 14 日掲載 中国新聞 (地域面) 「山口大に文科大臣科学技術賞」</p> <p>2011 年 4 月 14 日掲載 山口新聞 (県内総合) 「時間学で文科大臣表彰」</p> <p>2011 年 5 月 25 日発行 ふでばこ 第 23 号 (118 - 125 頁) 「山口大学時間学研究所」</p> <p>2011 年 7 月 17 日掲載 日経新聞 (全国、SUNDAY NIKKEI) 「交代勤務で時差ぼけ」</p> <p>2011 年 9 月 1 日発行 へるすあっぷ 2 1 第 323 号 (52 - 52 頁) 「体内時計を毛髪で測定」</p> <p>2011年12月22日掲載 産経新聞 (九州・山口版) 「時間学の 10 年」</p>

様式19 別紙1

	2012年1月28日掲載 朝日新聞（中国地方） 「生活リズム整えよう」 2012年3月12日掲載 中国新聞（教育面） 「私の師」
その他	2011年11月19日展示 サイエンスアゴラへ出展（東京） 「体内時計と生活リズムの不思議な関係」

4. その他特記事項

特になし

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	107,000,000	37,950,000	0	69,050,000	0
間接経費	32,100,000	11,385,000	0	20,715,000	0
合計	139,100,000	49,335,000	0	89,765,000	0

2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	33,900,000	0	0	33,900,000	33,835,718	64,282	
間接経費	10,170,000	0	0	10,170,000	10,170,000	0	
合計	44,070,000	0	0	44,070,000	44,005,718	64,282	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	23,421,993	実験試薬・実験器具等
旅費	1,529,320	成果発表旅費(パシフィコ横浜)・共同研究者との研究打合せ旅費等
謝金・人件費等	8,061,141	研究補助者人件費等
その他	823,264	学会参加費・施設使用料等
直接経費計	33,835,718	
間接経費計	10,170,000	
合計	44,005,718	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
超純水製造装置	PURELAB Flex3 ELGA	1	903,000	903,000	2011/7/21	山口大学
ダイレクトヒート型CO2イン キュベーター 一式	アステック社 他	1	2,243,535	2,243,535	2011/7/26	山口大学
安全キャビネット	1355 Thermo Scientific社	1	1,182,300	1,182,300	2011/7/29	山口大学
小動物用イソフル ラン麻酔類 一式	Univentor	1	754,845	754,845	2011/7/29	山口大学
ニコン 実体顕微 鏡	SMZ745T顕微鏡 本体部(三眼タイ プ) 他	1	687,645	687,645	2011/9/22	山口大学
倒立蛍光顕微鏡	EVOS fl AMG社 AMF-4302	1	3,192,000	3,192,000	2011/10/19	山口大学
テレメトリーデータ 取得分析コン ピューターシステム	DSI社ART/Gold	1	4,178,790	4,178,790	2011/10/31	山口大学