

令和4年 5月 2日

報道機関 各位

体内時計ニューロンの24時間振動には ミトコンドリアの働きが不可欠

■ 概要

2017年のノーベル医学・生理学賞研究により、規則正しい1日の寝起きのサイクルを調節する仕組みとして、「時計遺伝子」が根源的な振動を作り出すことが明らかにされている。一方で、時計遺伝子の転写や翻訳が実際どのように細胞の活動リズムや、動物の行動リズムを作り出すのかについては不明であった。

富山大学 池田 真行（国際担当理事・副学長）、森岡 絵里（学術研究部理学系助教）らはカリフォルニア大学アーバイン校・医学部（Todd C. Holmes 教授）らとの国際共同研究により、ミトコンドリア内膜のイオン輸送体（LETM1）が、約24時間周期の時計遺伝子振動や細胞内イオン濃度リズムの形成に不可欠であることを、ラットやショウジョウバエの神経細胞を用いて明らかにした。この成果は、これまで細胞核（時計遺伝子）を主に説明されてきた体内時計の分子振動メカニズムが、それ単独では安定した出力を得ることができず、ミトコンドリアの強い関与を必要とすることを示した最初の知見として注目される。

この研究成果は、2022年5月10日 米国東部標準時午前10時（日本時間2022年5月10日 午後11時）に米国科学雑誌 *Cell Reports*（セル リポーツ）オンライン版に掲載されました（日本時間2022年5月11日 午前0時 報道解禁）。

【論文タイトル】 Mitochondrial LETM1 drives ionic and molecular clock rhythms in circadian pacemaker neurons

■ 研究の背景

米国の3人の研究者ジェフリー・ホール、マイケル・ロスバッシュ、マイケル・ヤングは、1日の寝起きのサイクルを調節する仕組みとして「時計遺伝子」が体内時計の基本振動を形成することを明らかにしたことにより2007年のノーベル医学・生理学賞を受賞している。彼らは、時計遺伝子の転写フィードバックループ、つまりは(i)時計遺伝子の読み出しと、それによる(ii)時計タンパク質の産生、および(iii)産生されたタンパク質による遺伝子転写のフィードバック制御が、約24時間周期で繰り返されることにより、細胞の中で分子レベルの時計振動が形成されることを明らかにした。時計遺伝子は、行動リズムを支配するために必須である脳内の特定のニューロン（体内時計ニューロン）のみならず、ほぼ全身の細胞で約24時間の細胞リズムを作り出すことができる。一方で、動物の体内時計ニューロンを破壊すると、その他の細胞で時計遺伝子が正常に働いていたとしても、24時間の睡眠覚醒サイクルは維持できなくなることが知られている。体内時計ニューロンに固有な細

胞機能は、時計遺伝子のみで説明することは不可能であり、その解明が待たれていた。

■発見の経緯と研究成果の概要

池田らの研究グループは、マウスの体内時計中枢である視床下部視交叉上核（SCN）ニューロンに特異的な生理現象として、自律的な約 24 時間周期の細胞内カルシウム濃度振動が存在することを約 20 年前に観察し、それ以来、その Ca^{2+} リズムが体内時計ニューロンの普遍的な機能を説明し得るのではないかという仮説を立て研究を続けている。同研究室に所属する森岡は、この仮説の検証のために、キョウジョウバエを実験モデルとして用いて研究を進展させてきた。なお、ショウジョウバエの体内時計ペースメーカーニューロンは、脳の両側方に遍在することから側方ニューロンと呼ばれている。森岡は約 10 年前、本学大学院博士課程在学時に、池田が SCN ニューロンに用いた同じ手法で、側方ニューロンの Ca^{2+} リズムの検出を試みたが、残念なことに Ca^{2+} リズムを観察することはできなかった。一方で、その観察中に、蛍光 Ca^{2+} センサーが示した異常なスペクトル変化（予想外のアーティファクト）から、側方ニューロンでは水素イオン濃度（pH）が大きく変化している可能性を見出していた。

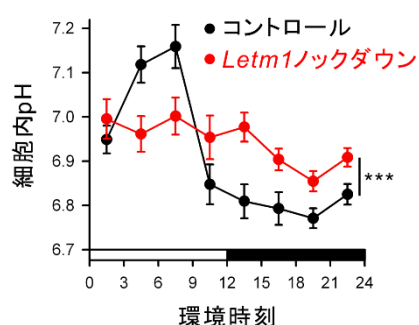
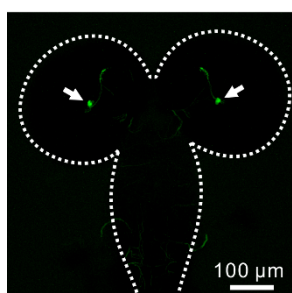
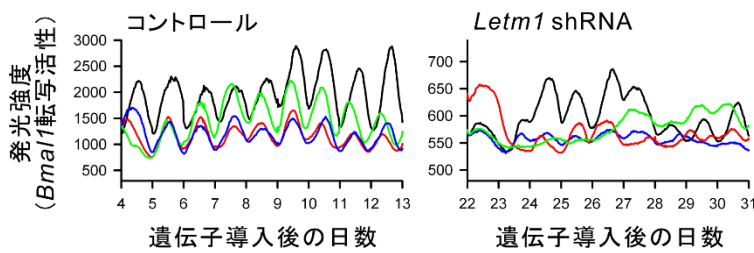


図 1. 蛍光 pH センサータンパク質を発現させたトランスジェニックバエの蛹の脳（点線）の共焦点蛍光画像。矢印で示した側方ニューロン（ペースメーカーニューロン）において概日 pH 振動が観察され、この振動が *Letm1* ノックダウンにより抑制されることがわかった。

そうした経緯から、本研究では、水素イオン (H^+) を正確に検出する蛍光センサータンパク質を発現する遺伝子組み換えショウジョウバエを作成し、側方ニューロンを観察した（図 1）。その結果、昼間には中性であったニューロン内の pH が、夜間には弱酸性（約 pH 6.8）となるリズムが存在することを突き止めた。また、様々な遺伝子変異体を用いて、このイオン濃度リズムの震源を解析したところ、ミトコンドリアに発現する陽イオン交換輸送体（LETM1）が、決定的な役割を果たしていることを突き止めた。さらに、森岡はカリフォルニア大学アーバイン校に 1 年間研究留学し、この pH 変動が側方ニューロンの活動電位リズムを駆動することを明らかにした。

興味深いことに、LETM1 をノックダウンした側方ニューロンは、時計遺伝子リズムが変調していた。さらに、LETM1 をノックダウンしたラットの SCN ニューロンでも、細胞内 Ca^{2+} や時計遺伝子の 24 時間振動が変調していることが明らかとなった（図 2）。これらの新しい発見は、これまで細胞核（時計遺伝子）で説明されてきた体内時計の分子振動メカニズムが、

それ単独では安定した出力を得ることができず、特に体内時計ニューロンでは、ミトコンドリアの正常な働きが不可欠であることを示している。



←図2. *Letm1* shRNA および時計遺伝子レポーターを共発現させたラット SCN ニューロンの発光イメージング。*Letm1* ノックダウンにより時計遺伝子 *Bmal1* の転写活性リズムが大きく乱れることが明らかとなった。

■今後の展開

ミトコンドリアは、エネルギー産生を行う細胞小器官として知られていることから、上記の発見は、時計遺伝子の振動、細胞内 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ 濃度リズム、代謝リズムが言わば「三つ巴」の関係で連動して動いていることを示唆している（図3）。代謝リズムの乱れは、様々な疾患の原因と成り得ることから、今後はリズムの乱れを高感度に検出できるシステムを構築することで、代謝異常を起因とするさまざまな疾患の前兆を可視化することができればと考えている。また、睡眠覚醒などのリズムに、ミトコンドリアや細胞内イオン振動がどのように関与するのかを解明していきたい。

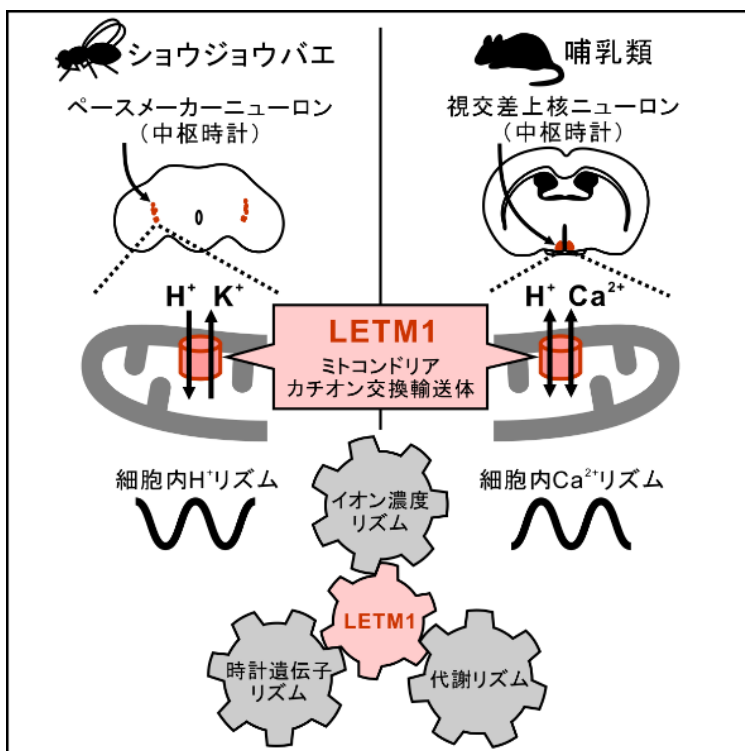


図3. 中枢時計ニューロンの体内時計機構における LETM1 の役割を示した模式図。

【論文詳細】

論文名：

Mitochondrial LETM1 drives ionic and molecular clock rhythms in circadian pacemaker neurons

著者：

Eri Morioka¹, Yusuke Kasuga¹, Yuzuki Kanda¹, Saki Moritama¹, Hayato Koizumi², Tomoko Yoshikawa³, Nobuhiko Miura⁴, Masaaki Ikeda⁵, Haruhiro Higashida⁶, Todd C. Holmes⁷, Masayuki Ikeda^{2,3}

著者所属：

1. 富山大学大学院理工学教育部
2. 富山大学大学院生命融合科学教育部
3. 富山大学国際機構
4. 横浜薬科大学薬学部
5. 埼玉医科大学医学部
6. 金沢大学 子どものこころの発達研究センター
7. カリフォルニア大学アーバイン校 (UCI) 医学部

掲載誌：

Cell Reports (セル リポーツ)

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金、内藤財団（内藤記念海外研究留学助成金）および国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）ムーンショット型研究開発事業（JPMJMS2021）などの支援を受けて行われました。

【本発表資料のお問い合わせ先】

富山大学 理事・副学長 池田真行

TEL : 076-445-6632 (森岡助教オフィス)

Email : msikeda@sci.u-toyama.ac.jp