

## 総 説

### 睡眠と生体リズム

勢 井 宏 義

徳島大学大学院ヘルスパイオサイエンス研究部神経情報医学部門情報統合医学講座統合生理学分野

(平成16年4月15日受付)

(平成16年4月26日受理)

睡眠の調節機構には2つの面がある。一つは、徹夜など日頃の睡眠量がけずられると、翌日の昼間に強い眠気が襲ってきたり、夜に深く寝てしまうといったホメオスタシスの面と、もう一つは、徹夜したからといって、午前中には眠れない、あるいは、夜は、いつも同じ時刻に眠くなり、それを過ぎると、眠気がおさまってしまうといったリズムの面である。この二つの調節機構によって、睡眠・覚醒リズムは調節されている。

#### サーカディアンシステム

生物はその体内に時計を持っており、外的な時間情報のない状態においても、ほぼ24時間周期の生理的活動を維持できる。このリズムは「サーカディアン(概日)リズム」とよばれ、そのメインの発振源である「生物時計」は脳の視交叉上核に存在する。睡眠・覚醒、体温、各種ホルモン分泌、血圧など、あらゆる生理学的機構は、こ

の生物時計の支配下にある(図1)<sup>1,2)</sup>。ヒトの生物時計は24時間よりも少し長い(～0.5時間)振動周期を持っているが、網膜からの光情報によって24時間周期に同調している。この光刺激による位相の変化は「位相-反応曲線」によってその特性が示されている。すなわち、生物時計の位相は、夜の前半に光を感受すると後退し、夜の後半に光を感受すると前進するというものである。この性質は、コンビニや塾など、現代の24時間社会におけるリズム機構への弊害を考える際、重要なものとなる。

一方、生物時計の振動メカニズム(図2)<sup>1,2)</sup>については、いわゆる「時計遺伝子」の発見に始まり、分子レベルでの研究が日進月歩で進められている。ほ乳類の場合、clock, bmal1, per1~3, cry1, 2などが主要な時計遺伝子群である。特に、per1, 2は中心的な振動遺伝子と考えられている。clockとbmal1の産物(CLOCK, BMAL1)が結合し、核内でポジティブ因子を形成する。ポジティブ因子は、per1, 2のプロモ-

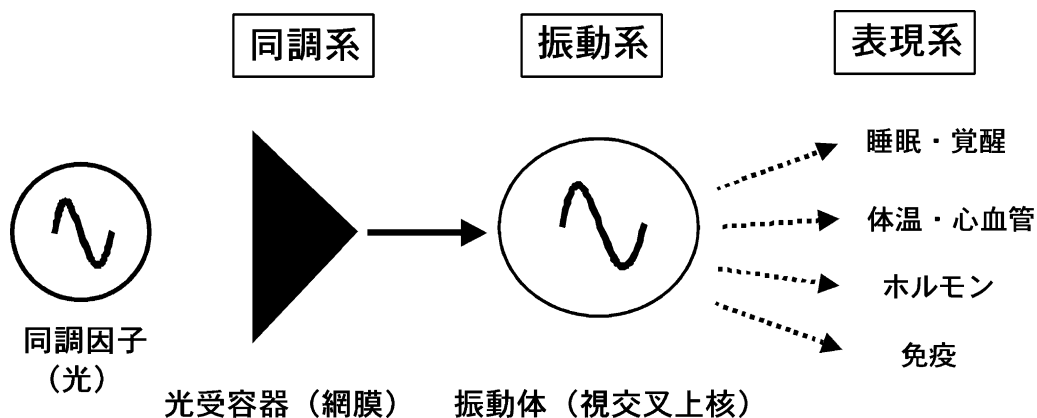


図1 サーカディアンシステムの模式図

振動体である生物時計は脳の視交叉上核に存在する。ほとんどの生体機能(表現系)はその支配下にある。この振動体は24時間に近いが、それより少し長いか短い固有の周期を持っている。その固有の振動周期は、網膜の感受した光情報が、網膜視床下部路を介して振動体に伝えられることによって、外的な光の振動周期(=地球の自転周期)に同調させられる。

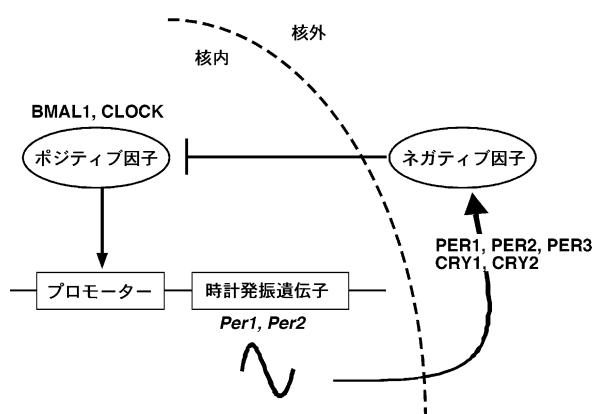


図2 サーカディアンシステムの分子機構  
CLOCK, BMAL1, CRY1, 2の太文字は蛋白であることを示す。

ター部分に結合し、per 1, 2 mRNA の発現を誘導する。発現した per 1, 2 mRNA からの産物 (PER 1, 2) は、核外において cry 1, 2 などの産物 (CRY 1, 2) と結合しネガティブ因子を形成する。ネガティブ因子は核内に移行し、clock, bmal 1 mRNA の発現を抑制する。この転写・翻訳のネガティブフィードバック機構が、サーカディアンリズムを形成すると考えられている。1 個の細胞内での振動は、神経ネットワークを形成することによってその振動を増強させ、視交叉上核が示すような強力な振動となる。さらに、視交叉上核からは、睡眠・覚醒、体温などの調節システムへ、神経性あるいは液性の出力機構が存在し、最終的に全身的なサーカディアンリズムが形成される。現時点では、中心的な振動遺伝子である per 1, 2 mRNA 発現のリズムが消失している場合、生物時計が停止している、すなわち、サーカディアンシステムが機能していないと考えられている。

この稿では、時計遺伝子を操作した、あるいは変異を起こしたマウスにおける観察を元に、時計遺伝子と睡眠・覚醒リズムについて紹介する。

### cry 1, 2 ダブルノックアウトマウス

cry 1, 2 ダブルノックアウトマウスにおける per 1, 2 の遺伝子発現はリズムを失っている<sup>3)</sup>。すなわち、生物時計は遺伝子レベルで停止しているといえる。このマウスにおける睡眠・覚醒リズムと心拍数のリズムを観察した(図3, 4)。野生型では、光情報のない「恒常暗」の状態でも、覚醒量と心拍数にはほぼ24時間周期の

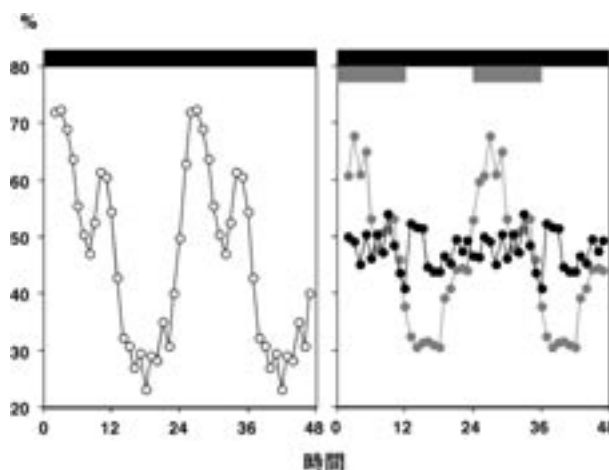


図3 cry 1, 2 ダブルノックアウトマウスにおける、覚醒量 (1 時間毎) の変化  
左・白丸：野生型の恒常暗における変動、右・黒丸：ノックアウトマウスの恒常暗における変動、右・グレーの丸：ノックアウトマウスの明暗サイクル下における変動。

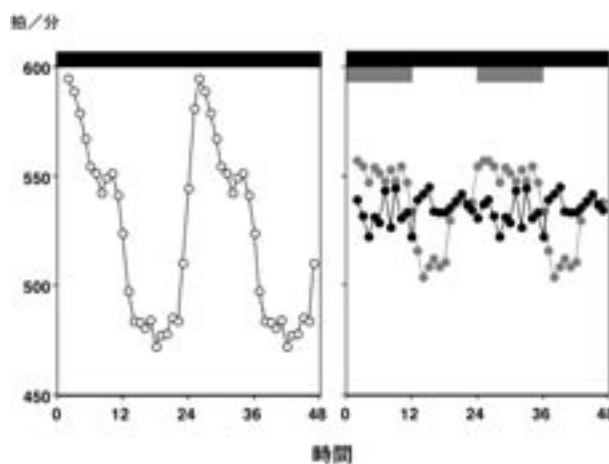


図4 cry 1, 2 ダブルノックアウトマウスにおける、心拍数 (1 時間毎) の変化  
左・白丸：野生型の恒常暗における変動、右・黒丸：ノックアウトマウスの恒常暗における変動、右・グレーの丸：ノックアウトマウスの明暗サイクル下における変動。

リズムが観察される。このリズムはフリーランリズムと呼ばれている。このリズムこそが、機能する生物時計の存在を示唆する。

一方、cry 1, 2 ダブルノックアウトマウスでは、恒常暗にすると、覚醒量・心拍数ともそのリズムが完全に消失する。覚醒量・心拍数は、野生型の平均値のレベルで、ほぼ水平となる。生物時計が停止しているから、表現系のリズムが消失するのは当然の結果といえる。しかし、cry 1, 2 ダブルノックアウトマウスで

も、明暗サイクル下では、その明暗に合わせた覚醒量・心拍数リズムが出現する。このリズムは、生物時計によって個体が自律的に表現するサーカディアンリズムではなく、明暗サイクルに伴う「マスキング効果」と呼ばれるものである。ノックアウトマウスが見せる、マスキング効果による覚醒量のリズムの振幅と、野生型のリズムの振幅とは有意な差がない。睡眠・覚醒リズムは、生物時計がなくても光のリズムがあれば、充分、形成されることが分かる。一方、cry 1, 2ダブルノックアウトマウスの心拍数のリズムは、明暗サイクル下では、そのリズムが野生型のように形成されない。すなわち、野生型の心拍数のサーカディアンの振幅に比べて cry 1, 2ダブルノックアウトマウスのマスキング効果による振幅は有意に小さい。

まとめると、睡眠・覚醒と心拍数は、時計遺伝子の振動が停止していても、光の情報を受けて生物時計の振動を介さない24時間リズムを呈するが、光の影響を受ける度合いが異なり、心拍数にはその影響が弱いということを示唆している（図5）。

clock ミュータントマウス

clock ミュータントマウスにおいても、cry 1, 2ダブルノックアウトマウスと同様に per 1, 2の遺伝子発現はリズムを失っている<sup>4</sup>。すなわち、生物時計は遺伝子レベルで停止している。しかし、clock ミュータント

マウスでは、cry 1, 2ダブルノックアウトマウスと異なり、恒常暗においても、図6で深部体温がそうであるように、表現系は振動を維持する<sup>5</sup>。このことは、per 1, 2遺伝子を中心とした生物時計が停止した状態でも、少なくとも、この系のマウスにおいては、サーカディアンリズム（あるいは、それに類似した自律振動）が維持

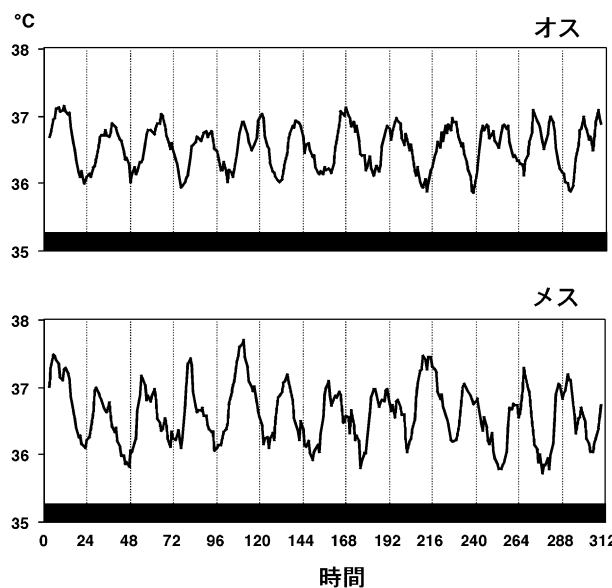


図6 恒常暗における clock ミュータントマウスの深部体温リズムの例  
恒常暗においても、深部体温のサーカディアンのリズムが維持されている。メスには4日に1回の性周期の変動も見られる。メスの方がオスよりも周期が短い。

cry 1,2ダブルノックアウトマウス

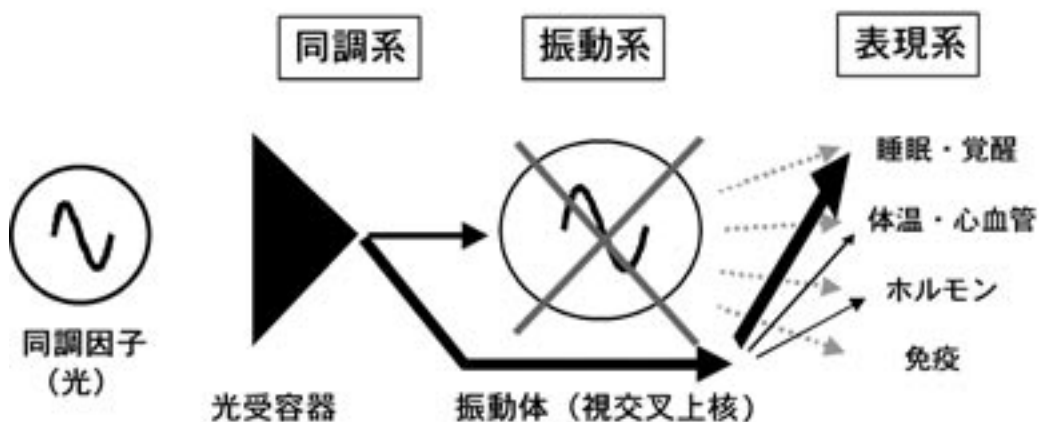


図5 cry 1, 2ダブルノックアウトマウスにおける、サーカディアンシステムの模式図  
ノックアウトマウスでは、振動体は停止している。しかし、光情報が直接的に睡眠・覚醒や心拍数の調節機構に作用して、明暗サイクルに合わせたリズムを作り出す。しかし、光情報の作用の強さには、睡眠・覚醒と心拍数の間に差がある。

されることを示しており、極めて興味深い。他にこのような時計遺伝子変異マウスの報告はない。しかし、現時点では、この振動のメカニズムについては全く不明である。このマウスは、サーカディアンシステムのメカニズムに関して、今後、新たな視点を提供してくれる可能性を秘めているのかもしれない。

clock ミュータントマウスにおける体温のフリーランリズムの周期 (= 生物時計の固有振動周期) はオスが約27時間、メスが約26時間と、性差が存在する<sup>5)</sup>。このように長い振動周期を持つミュータントマウスでも、24時間周期の通常のリズムに同調できる。図7にその体温と活動量、図8に睡眠・覚醒の12時間明期・12時間暗期におけるリズムを示す<sup>6)</sup>。ミュータントマウスの体温は1日の平均値としては野生型と変わらないが、最も高くなる時刻は、野生型に比べて2時間ほど後退している。これは活動量や睡眠のリズムについても同様のことが言える。この体温や行動リズムの位相の違いは、フリーラン周期の違いによることが知られている。ヒトにおいても、長いフリーラン周期をもっているものは、明暗の位相に対して、体温の変化が遅れることが明らかになっている。

すなわち、長いフリーラン周期をもっているヒトは「夜型」と呼ばれる特性を持つ。このようなマウスを用いることで、ヒトにおける「夜型・朝型」に関する生物学的研究が可能となる<sup>7)</sup>。

時計遺伝子の変異や操作は、睡眠・覚醒リズムにも大きな影響を与える。しかし、上記2系統のマウスに限れば、リズムが崩れていても、1日の睡眠・覚醒量の平均値は保たれている。このことは、睡眠・覚醒を発生させるメカニズムは、時計遺伝子の支配下にはあるけれども、睡眠・覚醒のタイミングだけを調節されていて、量的な調節(すなわちホメオスタシス)は維持されていると考えられる。しかし、断眠による睡眠リバウンドの程度、すなわち、外乱による睡眠のホメオスタシスが、時計遺伝子によって影響を受けているとする論文もある<sup>8)</sup>。

生活リズムの乱れが、不規則な食生活や運動不足などと結びつき、生活習慣病を引き起こす可能性については、近年盛んに指摘され始めている。時計遺伝子が、血圧や糖代謝などの調節にどのように関わっているのか、今後の著者の研究課題としている。

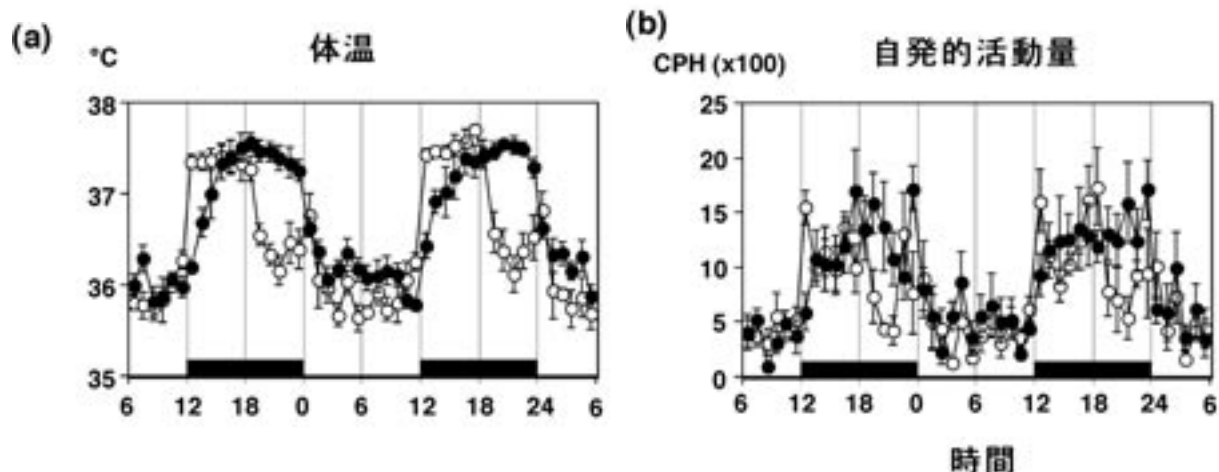


図7 clock ミュータントマウスの体温、行動量の変化  
白丸は野生型、黒丸はミュータントマウス。X軸の黒い横棒は暗期を示す。照明オンの時点を0時としている。

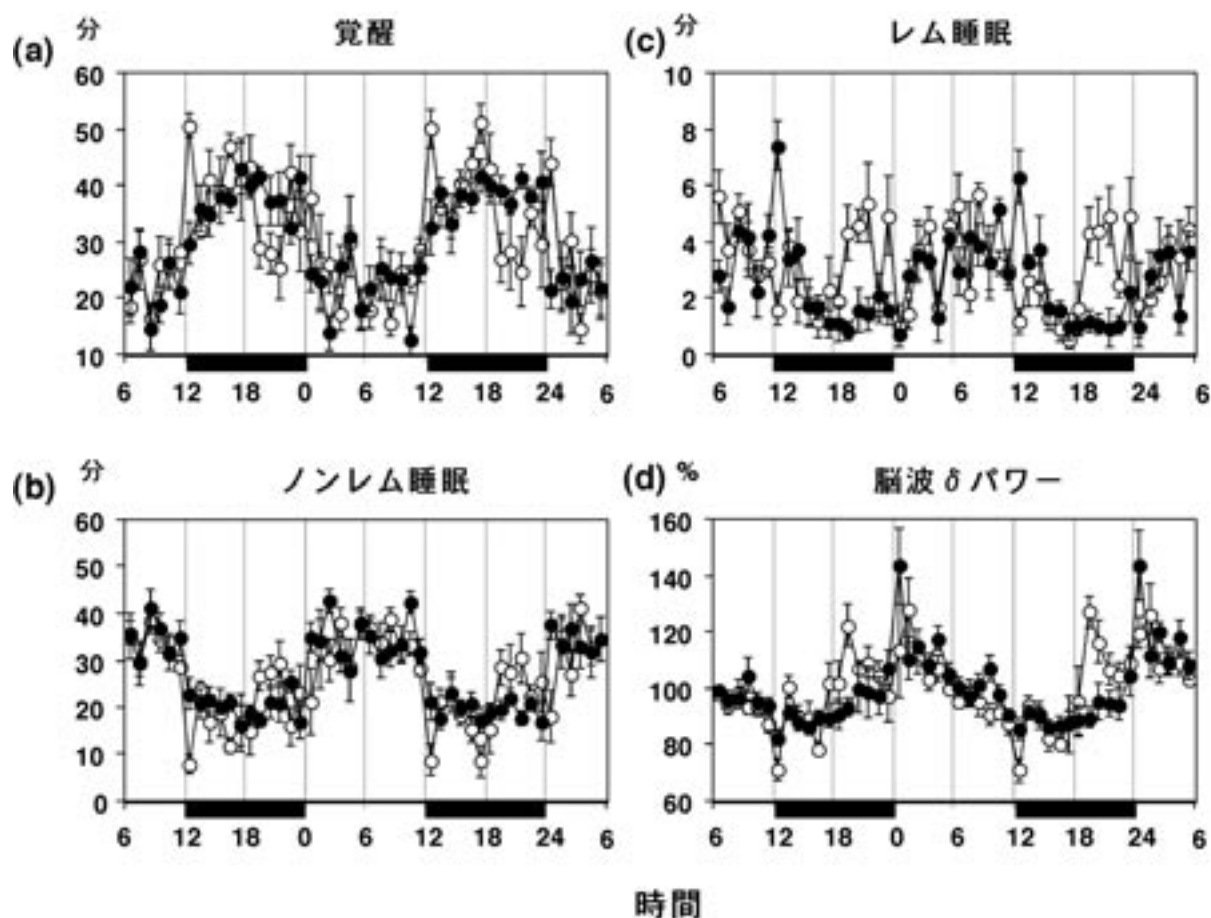


図8 clock ミュータントマウスの睡眠・覚醒量の変化  
 白丸は野生型, 黒丸はミュータントマウス。X 軸の黒い横棒は暗期を示す。照明オンの時点を 0 時としている。

## 謝 辞

cry 1, 2 ダブルノックアウトマウスは神戸大学の岡村均教授, clock ミュータントマウスは産業技術総合研究所の石田直理雄教授より提供を受けた。両教授に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 岡村 均, 山口 瞬: 時計遺伝子と哺乳類の時間発振機構。医学のあゆみ, 190: 259-267, 1999
- 2) Reppert, S. M., Weaver, D. R.: Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. Ann. Rev. Physiol., 63: 647-676, 2001
- 3) van der Horst, G. T., Muijtjens, M., Kobayashi, K., Takano, R., *et al.*: Mammalian Cry 1 and Cry 2 are essential for maintenance of circadian rhythms. Nature, 398(6728): 627-30, 1999
- 4) Oishi, K., Miyazaki, K., Ishida, N.: Functional CLOCK is not involved in the entrainment of peripheral clocks to the restricted feeding: entrainable expression of mPer 2 and BMAL 1 mRNAs in the heart of Clock mutant mice on Jcl/ICR background. Biochem. Biophys. Res. Commun., 298(2): 198-202, 2002
- 5) Ochi, M., Sono, S., Sei, H., Oishi, K., *et al.*: Sex difference in circadian period of body temperature in Clock mutant mice with Jcl/ICR background. Neurosci. Lett., 347(3): 163-6, 2003
- 6) Sei, H., Oishi, K., Morita, Y., Ishida, N.: Mouse model for morningness/eveningness. Neuroreport, 12: 1461-1466, 2001
- 7) Sei, H., Sano, A., Oishi, K., Fujihara, H., *et al.*: Increase of hippocampal acetylcholine release at the onset of dark phase is suppressed in a mutant mice

model of evening-type individuals. *Neuroscience*,  
117 : 785-9, 2003

*et al.* : A role for cryptochromes in sleep regulation.  
*BMC Neurosci.*, 20 : 20, 2002

8) Wisor, J. P., O'Hara, B. F., Terao, A., Selby, C. P., *et*

## *Sleep and biological clock*

*Hiroyoshi Sei*

*Department of Integrative Physiology, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School, Tokushima, Japan*

### SUMMARY

Circadian rhythm is an endogenous rhythm controlled by a master oscillator (biological clock) in the supra-chiasmatic nucleus (SCN), affecting on the almost all physiological functions including sleep/wake regulation. Recently the biological clock has been shown to function at the molecular level, and several circadian-related genes have been identified, such as the Clock, Per 1-3, Bmal 1 or Cry 1, 2.

We observed the sleep/wake rhythm in cry 1, 2 double knockout mice and clock mutant mice. Both strains have lost the circadian oscillation in the expression of circadian-related genes. Cry 1, 2 double knockout mice show the entrained sleep/wake rhythm to ordinary light-dark (LD) cycle, although they show completely flattened rhythm under the constant dark (DD) condition. On the other hand, clock mutant mice show the persistent circadian sleep/wake rhythm under even DD conditions. Although the expression of circadian-related genes do not oscillate, the clock mutant mice have potent circadian rhythm in body core temperature, behavior, sleep/wake and cortisol etc. The clock mutant mice have a longer (27 hrs) period of free-running rhythm under DD condition, and the phase of sleep/wake rhythm is delayed for about two hours comparing to the wild-type under LD condition.

The important role of the circadian-related genes in the sleep/wake regulation has been indicated. The functional impairment of the circadian-related genes may be involved in the sleep disorders, such as insomnia or hypersomnia.

Key words : circadian, sleep, circadian-related genes