

大田原市のような明暗環境は生体リズムに作用し体の調子を整える

国際医療福祉大学・薬学部・年齢軸生命機能解析学分野

林 奏子(はやし かなこ)、川井咲紀、橋本蒔子

【概 要】はっきりした明暗周期で生活することは昼行性のヒトの健やかさにつながる。体が持つ約 24 時間周期リズムの乱れは、肉体のみならず精神疾患発症と因果関係がある。我々は、体の様々な部位で同時に継続的な計測をしており病気の段階的発症機構を捉えることを試みている。大田原は、明暗環境がはっきりしているので、健康を基盤とする誘致等に貢献できる可能性があると思われる。

【栃木を元気にするには】光や食事・運動は、リズムを正しくリセットする効果がある。リセットには 1 週間強を必要とする。我々が独自に作製してきたシステムで測定してきたデータと医学的知見を元に、栃木のはっきりとした明暗環境で農業体験等を開催し **Night-Light Detox(NLD)** をすることで、肉体的精神的健やかさを取り戻すことが期待できる。

【はじめに】地球上の生物は、昼と夜の明暗サイクルに生体リズムや体内時計を一生毎日適応させ続ける。太陽光は生体リズムと体内時計を整える最も強力な刺激である。規則正しい食事や昼間の運動もリズムを整える要因になりうる。地球上の明暗サイクルに適応するため、体内時計遺伝子が存在しており、全身の調子を整えることに寄与している。現代人の生活は、とりわけ都市部において夜通し明るく、不規則な勤務があったり食事や運動時間が不規則だったりする。地球誕生から繰り返されてきた明暗サイクルに身を任せなくなってきたことは、便利さの追求の情報化社会の弊害であり、癌や糖尿病、うつ病など幅広い病気を誘発因子と言われている。現代病ともいえる様々な病気発症機構と明暗サイクルと相反する生活との相関関係を明らかにするためには、生体リズムの乱れを長期間にわたって一個体の全身でモニターし、統合的な解析と理解が必要である。これまで、24 時間周期の明暗サイクル条件下で長期間遺伝子発現を定量化することは技術的に困難であった。我々は、技術的な壁を打破する特殊ライト計測システムを開発した。これは長期間にわたり一個体の全身で複数部位を同時にモニター出来るものである。生体リズムの乱れが生じる環境下で測定したとき、生体リズムの乱れ具合を数値化することを可能にした。今後、明暗サイクルに適応できない度合いを数値化し、精度を上げることを目指す。さらに乱れた生体リズムが、どのくらいでどのような過程で規則正しい生体リズムに整っていくかも調べる予定である。このようなデータの蓄積は、身体的精神的健やかさを保つことに大きく貢献できると考えている。我々が提案する **NLD 活動** とは、生体リズムを乱す夜の光、不規則な食事、夜の運動などの様々な要因から離れて、本来持っている体にあった環境に一時的または永続的に身をおいてみようということである。栃木は明暗がはっきりしている環境であり（大田原市は過去 4 回 星空全国 1 位）、農業も盛んである土地柄なので、栃木で農業体験（朝の光を浴びて体を動かす）等の **NLD 活動** を含む我々が提供するデータを基にしたツーリズムの提案は、「心身ともに健康にする街」として現代病に悩む都市部の人々の健康支援につながるのではないかと考えている。

【方法】*Per1* プロモーターにホタルルシフェラーゼ遺伝子 (*luc*) を連結させた *Per1-luc* 遺伝子トランスジェニック (*Per1-luc*) マウスをもちいて研究を行った。発光基質ルシフェリンを連続的に腹腔内投与することで全身の時計遺伝子発現リズムを定量解析した。マウスを地球上の明暗サイクルを模倣した環境に適応させるために、白色蛍光灯、LED ライト、紫外線ライトなどを用いて、マウスの行動リズムと時計遺伝子発現リズムを計測し、かつ同時計測できるか検討した。時計遺伝子発現計測は肝臓 (liver) に組織密着型センサー (TCS) を取り付け長期間行った (図 1)。時計遺伝子発現部位は生体深部の肝臓を選んだ。肝臓は生体内の様々な機能を担っている重要な組織であり、時計遺伝子発現が強い。睡眠行動リズムと肝臓の時計遺伝子発現リズムの発現の度合いを定量化し、生体リズムの可視化を行った。最終的に生体リズムを破綻させる覚醒剤をマウスに投与し、日々の明暗サイクルでの正常なリズムが破綻し生体リズムの乱れていく過程を正確に検出できるか検討した。そして **NLD** すべき時計遺伝子発現リズムの乱れ具合 (Disturbance of Clock gene expression Rhythm; DCR) を数値化した。

【結果】1. 生体リズムをリセットする短波長の光 (UV-LED) 特性 外界の明暗情報は網膜の細胞から脳内視床下部の体内時計中枢・視交叉上核 (SCN) へ伝達されることで体のリズムが外界環境に適応する。網膜から SCN への伝達物質は網膜内に存在する青色の光 (ブルーライト: $\lambda_{\max}$ 480nm) の受容細胞であるメラノプシン細胞であることが報告されているが、480nm を含む明暗ライトである蛍光灯や LED ライト照射では、時計遺伝子発現を定量することが困難であった。我々は 390nm 以上の可視光領

域をフィルターでカットした 370nm に最大励起波長をもつ短波長の光 (UV-LED) (図 1A)が生体リズムを強力に明暗サイクルに同調することを見出した(図 1B)。図 1B の図において横軸は 12hr UV LED ライト ON 12hr OFF の UV-light:dark (UV-LD) 条件2日間の時間を示し、縦軸は日数を示している。黒い部位が、マウスが活発に動いている時間、白い部位は動いてない(睡眠)ことを示す。この光は非常に微弱な光量で睡眠行動覚醒リズムを明暗サイクルに同調させ、夜間にマウスに照射すると生体リズムを遅らせ(3 時間照射で約 3hr の遅れ)、太陽光と同等の作用を持った。体内時計中枢 SCN 内での時計遺伝子 *Per1* の発現も UV-LD に同調し、昼高く夜低いリズムを示した。

2. 生体リズムは非常に微弱な UV-LED でリセットされ、UV-LED 照射中においても遺伝子発現定量およびリズム計測が可能である UV-LD 条件下で、生体内の遺伝子発現計測に影響を与えることなく、リアルタイムに遺伝子発現定量解析が可能になった(図 1C)。図 1C は、横軸は時間を示し、縦線の間隔は 12 時間を示す。縦軸は遺伝子発現量をフォトンカウント数で示している。行動リズム周期と同様 *Per1* 遺伝子発現リズム周期も約 24 時間を示し UV-LD に同調していることが分かる。このことにより睡眠行動覚醒リズムと肝臓などの時計遺伝子発現リズムの同時計測を行うことで、明暗条件下での時計遺伝子発現のピーク時刻、振幅、周期から体の調子を評価することが可能になった。

3. 日々の生活リズムから生体リズムが乱れる過程を可視化することに成功 本システムをもちいて日々の生活リズムから生体リズムが乱れる過程を行動リズムと *Per1* 遺伝子発現リズムを指標としてリアルタイムに可視化することに成功した(図 2)。行動リズムの図を図 2 左に示している。Day0 からリズムを乱す薬物を飲水投与してから日々の生活リズムが徐々に乱れ破綻していく過程が分かる。縦軸横の①から⑫で行動リズムと *Per1* 遺伝子発現リズムを同時に計測解析し、代表的な *Per1* 遺伝子発現リズムを右に示した。DCR 値は明暗条件下で正常なリズムを示す時に 0(ゼロ)、完全にリズムが乱れ破綻している時を DCR 値 5 とし、6 段階で表示することとした。①は規則正しい生活と遺伝子発現リズムを示し DCR 値 0 とした。④では就眠時間が遅れる、夜間食事や夕食の遅れによるリズムの乱れで DCR 値 3 とした。⑦では社会時間に適応せず、生体リズムが完全に乱れている段階で DCR 値を 5 とした。DCR 値が大きいほど正常な行動リズムと時計遺伝子発現リズムがずれていることを示している。

【考察】連続明暗条件下、マウス個体レベルで時計遺伝子発現リズムをリアルタイムで計測するシステムを完成させた。生体リズムの機構はマウスからヒトまで保存されていることからマウスの結果はヒトに応用できると考えられる。交代勤務者の不規則な睡眠(図 2)、夜間の食事による体の健康状態の変化、逆にどのような食事や睡眠時間が体に良いかなどの数値データを取得可能となる。都会生活でのストレスからの癒しの街として大田原市のような環境が適切であるという根拠になるデータ(図 1B,C)を提案することにより、NLD 活動の目的である DCR 値の正常化ができると期待できる。また地域の特産品や温泉の生体リズムへの効果に DCR 値を追加することでさらにアピールできると思われる。

