時刻・時間における体内時計機構の役割

早稲田大学先進理工学部 柴田重信

Role of circadian clock in the clock and time perception

SHIGENOBU SHIBATA

School of Advanced Science and Engineering, Waseda University

Abstract It is well known that clock genes such as *Per1* and *Per2* operate molecular clock works of circadian system in mammals. Clock gene expression is observed not only in the suprachiasmatic nucleus (SCN), a main oscillator, but several brain nuclei such as hippocampus, amygdala and cerebral cortex. Thus, clock genes that appeared in the brain must possess some role in brain function, for example clock system may play a critical role in clock function such as clock and time perception.

There are two kinds of circadian clock; SCN-dependent and SCN-independent circadian rhythms. The former rhythm is reset by environmental light-dark signal, and the latter is reset by daily feeding with fixed time during daytime. Under restricted feeding conditions, the peak of circadian rhythm of *Per1* and *Per2* genes in the cerebral cortex and liver was advanced for 4–6hrs. This result strongly suggests that cerebral circadian rhythm of clock gene expression is sensitive to time cue induced by feeding schedule rather than light-dark schedule. Internal clock system governed by SCN-dependent or SCN-independent circadian rhythm may be used for reference of clock perception, time perception or time estimation.

Key words : circadian rhythm, time perception, clock gene, anticipatory activity rhythm

はじめに

私の家ではビーグル犬を飼っており、家内が散歩と餌の係りである。イヌ (*Canis lupus familiaris*) を飼われた経験の持ち主はお気づきの方も多いと思うが、散歩や餌のときはその時間の前からそわそわする。つまり、毎日決まった時間に散歩や餌を習慣付けると、イヌは時刻を覚えているようである。人も昼食の時間の前になると、お腹がグーとなることを経験する。これは「腹時計」があり、食事の時刻を教えてくれているのかもしれない。このように食事の時間を予知する行動を「予期的活動リズム (anticipatory activity rhythm)」と呼ぶ。なぜ「リズム」という語尾をつけるかというと、後で詳しく述べるが、この行動は体内時計リズムと関連してい

るからである。栄養素の代謝酵素は腹時計の下に働いているので、腹時計が働くとき食物を効率よく代謝できるからである。つまり我々の体は無意識のうちに体内時計から時刻の情報を入手し、うまく生理機能にあわせている。一方で、我々は3分間経過したことを言い当てることができ、3分間が非常に意味を持つ人、例えばボクサーなどはより正確に言い当てることができるとされている。では、このような時間産出、時間経過、時刻の認知機構に体内時計が関与するのだろうか。そこで、この総説では体内時計と時刻・時間の関係について述べることにする。

1. 色々な周期のリズム

心臓の鼓動のリズムも、女性の「月経」のリズムも同じリズム現象で捉えることができる。このような生体は速いリズムから遅いリズムまで、多くのリズム現象で成り立っている。体内時計はこのような

多くの生体リズムを司っているということになる。リズム現象は周期、振幅、位相で表現するが、まず周期を考えて分類する。周期が約90分の(A)ウルトラジアンリズム (ultradian rhythm) がある。この90分周期は睡眠によく見られる。睡眠はノンレム睡眠と呼ばれる深い睡眠で脳の睡眠と、レム睡眠と呼ばれる身体が休み、脳は夢を見る睡眠に2大別されるが、この2つの睡眠がペアとなり約90分続く。したがって、6時間睡眠の人はこのリズムが4回起こり、7.5時間睡眠の人は5回起こることになる。次に(B)サーカディアンリズム (circadian rhythm) がある。これはサーカ (およそ、概)、ディアン (日) リズムとなり、日本語で「概日リズム」と呼ぶ。つまり約1日を周期とするリズムで、体温リズム、副腎皮質ステロイドホルモン分泌リズム、睡眠・覚醒リズムなど、昼と夜で大きく変わる現象にはほとんどこの概日リズムが関わっていることになる。時計遺伝子などの働きがよくわかっているのはこのリズムであるので、後ほど詳しく解説する。したがって、狭義に体内時計といった場合には、このサーカディアンリズムを動かす時計のことを指している。(C)サーカルナリズム (circa-lunar rhythm) は、約1月を周期とするリズムである。先に述べたように女性の月経周期や、潮の満ち引きがかかわる海産生物に見られる。さらに遅い周期で(D)サーカアニュアルリズム (circa-annual rhythm) があり、年周期のリズムである。生物では1年に一度開花するものや、動物では1年に一度繁殖期を迎えるものなどが知られている。人の場合年周期のリズムはあまり見られないが、季節によって変化する、例えば日照時間と関連して、冬季のうつ病が発症する「冬季うつ病」なども知られている。

2. サーカディアンリズム (概日リズム) と日内リズム

サーカディアンリズムを司る体内時計は約24時間周期で振動するリズムであり、ヒトの場合は約24.5時間である。リズム周期は動物種でも異なり、ハムスター (*Mesocricetus auratus*) の輪回しリズムは24時間より長い、一般にはマウス (*Mus musculus*) の輪回しリズムは24時間より短い。いずれにしても24時間には近いがぴったり24時間の生物は少ない。また24時間周期より大きくずれた20時間周期や36時間周期などのリズムは普通には見られない。ヒトの場合24.5時間だとすると、地球の自転周期の24時間より0.5時間長いわけであるが、体内時計の針を毎日0.5時間進めていることになる。0.5時間進める働きをするのが朝日であるが、その仕組みについては後述する。したがって、地球上でお日様とともに生活

していると24時間のリズムを刻むことになり、このリズムの周期は正確に24時間であり、「日内リズム、日周リズム」と呼ばれる。

地球上で暮らす我々はどのようにして24.5時間ではなく、24時間周期に合わせているのであろうか。このようにサーカディアンリズムを同調させ、日内リズムを刻ませる繰り返しの刺激を同調因子と呼び、明暗サイクル、食事サイクル、温度サイクルなどが重要な因子として知られている。

3. 主時計としての視交叉上核

脳の視床下部と呼ばれる場所の視神経が交差している直上に視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus) とばれる約1万個からなる神経集団 (神経核とよぶ) がある。この神経核を壊したネズミを作ると、この動物は睡眠・覚醒リズムが消失し、1日中起きたり眠ったりを繰り返すことが1972年にわかった (Stephan, Zucker, 1972)。その後の研究で、ここの神経核が壊れると、体温リズム、副腎皮質ホルモン分泌リズムなどほとんどすべてのリズムが消失することから、ここが体内時計の中枢だと同定された。視交叉上核は視神経交叉の真上にあることからわかるように、目から網膜を通して外界の明暗情報を受けとっていることがわかった。つまり、明暗サイクルの同調因子を視交叉上核が受け取り、毎日30分時計を前進させることにより、24時間に合わせているが、その仕組みは後述する。

4. 体内時計の3要素

体内時計は「周期」、「振幅」、「位相」という3要素で表現できる。周期はほとんどが24時間に近い周期であり、動物種によってあるいは系統によって異なる。ちなみにマウスでは Balb/C は短く、C57black は長い。また、種々の時計遺伝子変異マウスが作成されているが、表現型 (phenotype) として現れやすいのは周期の変異である。振幅は小さいもの (ヒトの体温リズム) から大きいもの (血中メラトニンの昼夜差、コレステロール分解酵素の昼夜差) までさまざまだる。一般的に昼夜差が大きい信号ほど昼夜のシグナルとして利用していると考えられる。リズムの位相の情報は重要である。一般的には視交叉上核の時計位相が基準となり、マウスの場合大脳皮質や肝臓などの時計遺伝子発現リズムの位相は数時間遅れている。現地時間の時計と自分の時計の位相がずれるといわゆる時差ぼけになる。

体内時計は図1に示すように「入力」「発振」「出力」という3要素でも表現できる (Figure 1)。サーカディアンリズムを作り出す源が発振であり、この発振機構の解明が精力的に進められている。入力

Figure 1. Diagram of circadian clock systems. There are two entrainment signals such as photic and feeding stimuli for resetting the circadian rhythm. Circadian systems contain three components, that is, input, oscillation and output. In the body there are three different levels of clocks, such as suprachiasmatic clock, brain clock and peripheral clock.

サーカディアンリズムを日内リズムにする（24時間周期にあわせる）ための信号である。同調入力とも呼ばれている。大きく分けて、光刺激の入力（光パルス入力）と、セロトニンやメラトニンなど光と異なった入力（暗パルス入力）がある（Figure 1）。光入力は夜間の始めや明け方に時計を遅らせたり、進めたりして作用するが、暗パルス入力は主に昼間から夕方にかけて、時計を進める作用をすることが知られている。メラトニンを時差ぼけに使うときのことを考える。アメリカ西海岸で現地の夜間でも日本時間では昼に相当するので眠れないが、このときメラトニンを服用すると、日本時間の昼間に効いて前進させ、現地時間に合わせやすくなる。出力は体内時計の信号を種々の生理学的なリズム性変動に伝える仕組みを意味する。視交叉上核は室傍核に信号を伝え、それが下垂体前葉の ACTH 分泌につながり、その後副腎皮質からコルチゾール分泌の日内リズムをもたらす。ところで、出力を担う遺伝子群を時計制御下にあるという意味で、Clock controlled gene (CCG) と呼ぶ。

5. 光パルス同調の詳細

人を薄暗闇の中で生活させ、好きな時間に寝起きしてよいと指示すると、睡眠・覚醒リズムがフリーラン状態を示す（Figure 2）。これは光を照射したときの体内時計の前進と後退を模式的に説明した図である。白塗りの横向きのパールを睡眠時間とする。縦軸が毎日の経日的変化とする。この人の睡眠の1日目は21時であるが、次の日は30分遅れるので、21時

30分に睡眠開始が来る。これが続くと、白塗りのパール（主観的夜）の時間帯が右下がり遅れていくことがわかる。起きたら直ちに（この人にとっては朝、主観的夜の終わり）に光を照射するとその日に寝入る時間が1時間ほど進むことがわかった。その後また暗闇で過ごした後今度は寝入ってまもなく（主観的夜の始め）光を照射すると次の日の入眠開始時間が1時間ほど遅れることがわかった。さらにこの被験者の昼間に相当する時刻（主観的昼）に光照射を行っても次の日に入眠時刻は変化しなかった。つまり、起床時刻辺りの朝の光が人の体内時計の同調には重要であること、またコンビニエンスストアなどで夜間に強い光を浴びると体内時計を遅くする要因になることがわかった。金、土、日と週末に夜間強い光を浴びかつ朝の体内時計前進時刻を過ぎても寝ていると、日ごとに体内時計は遅れ、休日明けの月曜日に通常時間に起こされると、一種の時差ぼけ状態となる危険性が大きくなる。高齢者が海外旅行に行くと、現地時間に合わせるための時計前進の大きさが小さいため、現地時間に合わせにくく時差ぼけになりやすい要因のひとつとなりうる。

6. 時計発振の分子機構

1997年に哺乳動物の時計遺伝子 Clock と Per1 が発見され（King, Zhao, Sangoram, Wilsbacher, Tanaka, Antoch, Steeves, Vitaterna, Kornhauser, Lowrey, Turek, & Takahashi 1997; Tei, Okamura, Shigeyoshi, Fukuhara, Ozawa, Hirose, & Sakaki. 1997）、それを契機に数

Figure 2. Schematic diagram of light-induced phase advance and delay of circadian sleep-wakefulness rhythm in a human. A. sleep-wakefulness rhythm showed the free-running with approximately 24.5 hr cycle under dim light conditions, then light was applied in the morning, in the evening or daytime of the subject's clock time. His sleep-wakefulness rhythm showed the advance, delay or no change in corresponding to morning light, evening light or daytime light, respectively. B. Phase-response curve for light to sleep-wakefulness rhythm. Circadian time 12 was designated as sleep onset time. The figure shows the phase-advance or phase-delay when light was applied at circadian time 21-3 or at circadian time 12-18.

多くの時計遺伝子が発見された。体内時計の分子基盤の解明が急速に進んだ。Bmal1とClockが一緒にになり、Per1遺伝子の発現を調節するところのスイッチを入れる。するとPer1遺伝子から核の外でPER1と呼ばれるタンパク質ができる。このタンパク質が十分にできると、Per1遺伝子発現調節のスイッチを切りに細胞の核内に入っていく。最終生産物が生産現場に出向いて止めるような機構を「フィードバック制御」とよぶが、時計の周期性もこの仕組みを利用している。このスイッチが入り、切れるまでに約24時間の時間を費やしていると考えられている。スイッチが入ってから切れるまでの時間が短ければ24時間より短い周期の時計となり、切れるまでの時間が長いと24時間より長い周期の時計となる。また時計を前進させるときは一時的に時計の周期を短くし、後退させるときは周期を長くしていることになる。最近では切れるまでの時間が短いリズム異常の人が見つかっており、睡眠時間が非常に前進してくるので睡眠相前進症候群と呼ばれている。ところで、概日リズム睡眠障害の代表的なものとして睡眠相後退症候群 (delayed sleep-phase syndrome ; DSPS) と睡眠相前進症候群 (advanced sleep-phase syndrome ; ASPS) があり、前者は就眠時刻が病的に遅くなる疾病で、後者は早くなる疾病である。

7. 体内時計は全身にある

時計遺伝子の発見でわかったこともうひとつのこ

とは、体内時計が全身性にあるということである。Per1遺伝子は主時計のある視交叉上核に多く発現しかつ、サーカディアンリズムを示すことは容易に想像できるが、調べてみると、大脳皮質や海馬などの脳や心臓、肺、肝臓、腎臓、皮膚などほとんどあらゆる臓器に発現し、リズムを刻んでいることが明らかとなった。したがって現在体内時計は、階層構造をとったシステムとして機能していると考えられるようになった。オーケストラに例えると、視交叉上核が指揮者で(主時計)、大脳皮質や海馬などの脳(脳時計)や肝臓、心臓などの末梢臓器(末梢時計)にある時計がそれぞれの楽器のパートであり、演奏するタイミングを視交叉上核が指示しており、これでハーモニーが取れたオーケストラになっている(Figure 1)。楽器が違ってもそれぞれの臓器の時計は固有の働きを有している可能性が高い。肝臓では、コレステロールや中性脂肪の合成に関わる酵素が体内時計の支配下であり、それぞれの都合がよい時刻に合成を行っていると考えられている。視交叉上核がそれぞれの臓器にどのような信号で時刻の情報を伝えているかについては不明であるが、自律神経や内分泌ホルモンの可能性が指摘されている。

(1) 時刻認知による予期的活動リズム形成

マウスやラットの主時計の視交叉上核をこわすと、睡眠-覚醒リズム、体温リズム、摂食行動リズムなどが消失し、1日中変動がないフラットな状態にな

Figure 3. Effect of restricted feeding on motor activity rhythm in the mouse under light-dark cycle. Feeding time was restricted for 4 hrs in the middle of daytime (white rectangular) (left panel) or continued for ad lib feeding (right panel). Activity bouts were increased 23 hrs before each feeding time during restricted feeding days and also fasting day. Thus, the mouse with restricted feeding condition shows diurnal activity pattern.

る。ところが壊れた動物に毎日一定時刻に餌を与えると動物は餌をもらう時刻を中心として活動量を増大させ、それから12時間経過した時刻に活動量を低下させる新しいリズムを形成する。もちろん正常動物でも制限給餌で活動高進が出現し、詳しく調べてみると餌を与える1-2時間前より活動が開始する、いわゆる餌時間の「予期的活動リズム」が出現することがわかる (Figure 3) (Hara, Wan, Wakamatsu, Aida, Moriya, Akiyama, & Shibata, 2001)。この行動リズムは単に餌提示に反応しただけではない証拠に、(1)リズム形成ができた後に絶食を行い実際餌がもらえなくても行動リズムは持続する。(2)24時間おきに毎日一定時刻に餌をやらずに、18時間おきや36時間おきに餌を提示してもこのリズムは形成されない。すなわち24時間に近い周期（サーカディアンリズム）に合わせた行動リズムである。(3)餌を提示している時刻を急に8時間進めると、光のときの時差ぼけと同じような仕組みで、新しい現地時間に合わせて餌を取れるようになるには2-3日を要する。(4)このリズム形成には最低2-3日必要であり、7日経過するとこのリズム形成が完成する。また自由摂食に戻すと1-2日で元の夜行性の摂食パターンに戻るが、絶食を行うと以前に給餌されていた時刻に活動量のピークがくる。このように、給餌性の予期的活動リズムは餌を条件刺激とした一種の学習行動である。面白いことに、学習阻害効果が知られている NMDA 受容体拮抗薬の MK-801 は予期的活動形成を阻害することが報告された (Ono, Shibata, Minamoto, & Watanabe, 1996)。これらのことから、

給餌性の予期的活動リズムは視交叉上核には依存しないリズムと言うことで、視交叉上核非依存性のサーカディアンリズムと呼ばれる。この給餌性リズムは「光-視交叉上核」とは異なった仕組みで「食事-脳の場所 (不明)」として働いていると考えられている。Figure 2 の左には正常マウスに給餌制限を行なうと、行動リズムの位相が前進し予期的活動リズムが出現していることを示す。

(2) 給餌性予期的活動リズムの特徴

正常なマウスを用いて、昼間の一定時刻に餌を与え（ヒトでいえば、毎日夜食を取る）、予期的活動が出現したマウスの時計遺伝子の発現リズムが調べられた (Figure 4)。面白いことに、視交叉上核の Per1 遺伝子発現は自由摂食マウスと、給餌制限マウスに差は認められなかったが、大脳皮質や肝臓では給餌時間に合わせた時刻に遺伝子発現のピークが動いていた。すなわち、餌と光を比較して、体内時計同調作用の強弱を考えると、視交叉上核以外の生体の時計は明暗環境のリズムではなく餌のリズムの方に引き寄せられることがわかった (Figure 4)。肝臓では時計遺伝子の支配下にあるコレステロール合成酵素 (HMGCoA reductase) のリズムの位相も餌のリズムに合っていた。

日本からアメリカに行くとき（あるいはヨーロッパから日本に帰国するとき）は体内時計を前進させないといけないが、ヒトの場合サーカディアンリズム周期が24時間より長いために後退には有利でも前進には不利となり、時差ぼけを経験する人が多い。

Figure 4. Effect of restricted feeding on clock gene expression rhythm in the mouse suprachiasmatic (SCN) nucleus and cerebral cortex. Feeding time was restricted for 4 hrs in the middle of daytime (gray color rectangular) for 7 days. Then mouse brain was removed at different clock time with 4 hrs intervals. In situ hybridization technique was applied to see the *Per1* and *Per2* gene expression in the SCN and cerebral cortex. Ad-lib feeding mouse shows the daily rhythm of gene expression with a peak time at night in the cerebral cortex and with a peak time at noon in the SCN. Restricted feeding advanced the daily rhythm of clock gene expression in the cerebral cortex, but not in the SCN.

もともと体内時計は24時間より長いので遅れやすく、すなわち夜更かしには合いやすいが、早起きは短くしないといけないので合わせにくいことに起因している。そこで、次に以下のような仮説を立てた実験をおこなった。ハワイに行くときに、ハワイ時間に合わせた食事をあらかじめ2-3日前より実践しておく(前倒しの食事時間になる)、実際ハワイに行ったとき時差ぼけ(睡眠障害)が少なく済むのではないかと考えた。ハワイでは現地の光が日本時間の早朝に当たるとことになり、体内時計の前進に有利に働いている。一方で、給餌性リズムをうまく使い視交叉上核以外の時計の位相を前進させるのである。その結果、前もっての現地時間に合わせた給餌はマウスの時計遺伝子発現リズムを非常によく前進させ、ヒトの場合は特に高齢者で睡眠障害を軽減させることができた。

給餌性予期的活動リズム形成により出来上がった時計は「腹時計」とも呼ばれるが、脳のどこに中枢があるかは議論があり、確定していない。またこの時計を形成させる食事の内容については不明であるが、ラットの実験では、炭水化物性の食事が消化吸収の面で勝るため、タンパク質や脂肪食より形成

されやすいとの報告がある。また、サッカリンなどの非栄養性の嗜好物では形成できなかったとする報告もある。実際どのような仕組みでこのリズム形成が起こるのかについてはこれからの研究に期待される。

「早寝早起き朝ごはん」運動が展開されているが、「ブレイクファスト」すなわち、「絶食を破る」朝ごはんが食餌性の同調刺激としては強いと期待されることから、朝ごはんは体内時計のリズムの観点からも重要であると考えられる。逆に夜食を取る習慣が付いていると、そのことが体内時計を遅らせる要因となり、「遅寝遅起き夜食」の悪循環に陥る危険性をはらんでいる。これを断ち切るにはとにかく、早起きし朝ごはんを食べる習慣をつけることである。Figure 1に示すように、給餌刺激は視交叉上核以外の体内時計のリセットに重要な働きを示す。

(3) 予期的活動リズム形成と脳

オレキシン神経は摂食行動と睡眠に関わるペプチドとして同定された。オレキシン神経の欠損やオレキシン含量の低下動物はいずれも睡眠障害を示した。これはヒトのナルコレプシー症状と非常に類似しているため、この疾病の原因遺伝子と考えられている。

面白いことにこのマウスには絶食を行った後の餌探索行動に障害が出てくることがわかった。このことから、オレキシン欠乏が餌探索のための覚醒維持を困難にさせると結論付けられた。給餌性リズムはこの「覚醒の維持」と「摂餌行動」が結びついて形成されることから、オレキシンの変異動物では給餌性予期的活動リズム形成が障害されている可能性が示唆され、実際、我々のグループ (Akiyama, Yuasa, Hayasaka, Horikawa, Sakurai, & Shibata, 2004) と Yanagisawa らのグループ (Mieda, Williams, Sinton, Richardson, Sakurai, & Yanagisawa, 2004) が障害されることを発表した。しかしながら、このマウスでも予期的活動リズムを完全に障害させないことから、まだ他の神経機構が関与している可能性は否定できなかった。

リズム性の行動を中継する神経核として、視床下部の背内側核 (DMH) が同定された (Saper, 2006)。この神経核の破壊実験より、DMH が給餌性予期的活動リズム形成に重要である可能性を示唆する論文も報告されたが、一方で否定的な論文もあり、結論するに至っていない。恐らく「腹時計」と称する脳の機構は、給餌性予期的活動リズム形成に関わっている脳であることには間違いない。また、摂食行動にかかわる視床下部の腹内側核や室傍核を破壊しても障害されないし、海馬、扁桃核、線条体などの破壊でも影響されなかった。このことから、腹時計という責任脳部位があるのではなく、これに関わる分子が脳に広範に存在する可能性も考えられる。

(4) 予期的活動リズム形成と時計遺伝子変異動物

先に述べたように給餌性リズム形成は視交叉上核由来のサーカディアンリズムに類似しているため、同じ時計遺伝子を使っている可能性が示唆される。実際、現在までのところ、Clock, Per2, Cry1/Cry2 の3種類の時計遺伝子変異マウスを使って、給餌性リズム形成の実験が行われた。Clock 遺伝子のミュータント動物を用いて給餌性リズム形成を行ったところ、予期的活動リズムが出現することから、このリズム形成には Clock 遺伝子は関わっていない可能性が指摘された (Pitts, Perone, & Silver, 2003)。次に我々は Cry1, Cry2 遺伝子の両方が欠損したマウスを用いて実験を行った。このマウスは恒常暗に置くと直ちにサーカディアンリズムを消失することが知られている。しかしながらこのマウスでも、基本的には給餌性予期的活動リズムは形成された (Iijima, Yamaguchi, van der Horst, Bonnefont, Okamura, & Shibata, 2005)。しかしながらこの場合には給餌性行動リズムが不安定であり、大きく出現する日と、あまり出現しない日が見られ、安定し

ていなかった。したがって、Cry1, Cry2 遺伝子は給餌性リズムそのものの形成には重要な働きをしていないものと考えられた。次に Per2 遺伝子のミュータントマウスを用いた実験が行われた。このマウスでは給餌性予期的活動リズム形成が強く抑制され、給餌性リズム形成には Per2 遺伝子の働きが重要であると指摘された (Feillet, Albrecht, & Challet, 2007)。しかしながら、肝臓の Per1 遺伝子発現リズムは、昼間の給餌により位相が前進し、この効果は野生型マウスも Per2 遺伝子ミュータントマウスでも同じ強度であった。行動リズムと末梢時計遺伝子発現リズムになぜ乖離が生じたかは現在のところ不明である。最近の研究によると、Cry1, Cry2 は時計の発振の分子機構に関与が弱いとの研究もあり、このことが Cry1, Cry2 の両遺伝子変異マウスと Per2 遺伝子変異マウスとの相違に結びついた可能性が考えられる。

(5) 時間産出と体内時計

1 分や 3 分といった時間産出 (time production) が体内時計の影響を受けるか否かを調べることは、体内時計の時刻認知機能を調べる観点からおもしろい課題である。一般的に時間産出が短いと時間の予想は長く答えてしまう。夜行性動物であるラットを用いた実験では、夜間の体温が高い活動期には時間産出は短くなり、時間の長さを過大評価してしまい、逆に昼間は体温が低く時間産出は長くなるという (Campbell, Murphy, & Boothroyd, 2001)。また、時間産出の日内リズムを調べてみると、低体温期は時間産出が短くなった。これは高体温期では代謝が一般的に高いため、時間を算出する仕組みに影響を与え、短くカウントすることによることかもしれない。また、活動期は注意力や認知機構が高まるために、時間産出が短くなる可能性がある。深部体温は体内時計の影響下にあることから、体内時計機構が深部体温リズムを形成しそのことが時間産出リズムを引き起こす可能性が示唆される。

ヒトを対象とした 10 秒間の時間産出実験が 9 : 00, 13 : 00, 17 : 00, 21 : 00 の 4 点で行われた (Kuriyama, Uchiyama, Suzuki, Tagaya, Ozaki, Aritake, Kamei, Nishikawa, & Takahashi, 2004) (Figure 5)。この実験は体温をモニターし、かつ以下の 3 条件で行なわれた。(1) 時間産出のタスクの前に、数字、図形、言葉の記憶を行わせ、時間産出のタスク後に聞くことにより、記憶が時間産出に及ぼす影響を調べる。(2) 時間産出がうまくいったら 500 円の報酬をわたすという動機づけが時間産出に及ぼす影響を調べる。(3) コントロール実験で、ただ単に時間産出を行わせる。まず、体温と時間産出には負の相関が見られた。すなわち高体温では時間産出が短いという結

Kuriyama et al., Neurosci. Res., 2004

Figure 5. Time estimation during nocturnal sleep in human subjects. In order to understand how the human brain perceives the passage of time during sleep, healthy volunteers participated in time estimation trials scheduled six times during 9 h nocturnal sleep periods, under carefully controlled conditions. The time estimation ratio (TER: a ratio of subjective passage of time to actual time interval) decreased significantly from the first to the sixth trial. Human brain has an ability to estimate the passage of time during nocturnal sleep without referring to time cues, and that the accuracy of this function fluctuates from overestimation in the early hours of sleep to underestimation in the last hours of sleep (Kuriyama, et al., 2004).

果であり、これはラットのデータとよく一致した。次に(1)–(3)の実験条件間で差が認められないことから、時間産出の日内リズムは体内時計の支配下であり、注意力や他のパフォーマンスの影響を受けにくいことがわかった。逆に言えば時差ぼけなど体内時計に変調が起ると時間産出機構も影響を受ける可能性が考えられた。

最近体内時計の変異マウスが開発され、サーカディアンリズム周期が短いものや長いものが見つかったので、これらの動物を用いて時間産出実験を行うと、それぞれ10秒間が短くあるいは長くなれば仮説が検証されることになる。

(6) 時間産出と睡眠

睡眠が起こるメカニズムとして2つの要因が知られている。体内時計による入眠のタイミング（概日リズム睡眠）と、睡眠物質（疲労物質）の増加に伴う入眠（ホメオスターシス睡眠）である。徹夜で夜明け頃は眠くても昼頃になるとあまり眠気を感じな

いのは、疲労物質は溜まる一方で、体内時計のタイミングが覚醒モードになっているからである。マウスやラットの視交叉上核をこわすと、睡眠が昼間に集中しなくなるとともに睡眠の量が非破壊動物より増加する傾向にある。Cry1, Cry2のダブル変異マウスでは、同じように睡眠・覚醒のリズムに異常が出てくるし、やはり、ノンレム睡眠の量と脳波のデルタ波成分が増大する。したがって、正常な体内時計が覚醒の維持に重要であるのかもしれない。一方、この変異マウスは断眠後のリカバリー睡眠（ホメオスターシス睡眠）には影響を及ぼさなかった。ヒトの時計遺伝子の遺伝子多型と概日睡眠リズム障害であるDSPSやASPSとの関係を調べた研究によると、Per2遺伝子がASPSに関係し、Per3, CK1epsilonがDSPSに関与することが報告されている。また、朝型–夜型嗜好性テスト（いわゆる朝型人間か、夜型人間かといったことに関わる）と時計遺伝子の変異との関係では、Per3とClock遺伝子の遺伝子多型との関連性が指摘されている（Ebisawa, 2007）。

我々は Clock の変異マウスを用いて、DSPS のモデルマウスを作製した。Clock 変異マウスを生後直ちに恒常明の条件下に飼育すると、消灯してもすぐに覚醒せず、3-4 時間後に起きだすことを見出した (Wakatsuki, Kudo, & Shibata, 2007)。この症状はヒトの DSPS 治療に効果があるとされているメラトニン投与により改善されたが、投薬を止めると再び DSPS 症状を示した。ごく最近、高脂血症治療薬のフェノフィブレートが DSPS 症状を改善することを見出した (Shirai, Oishi, Kudo, Shibata, & Ishida, 2007)。このように時計遺伝子の変異は睡眠・覚醒リズム障害に密接に関係している可能性がある。一方、断眠や不眠が体内時計機構に影響を及ぼす可能性も指摘されているが、詳細については不明である。

睡眠と時間産出に関係した論文について紹介する (Aritake, Uchiyama, Tagaya, Suzuki, Kuriyama, Ozaki, Tan, Shibui, Kamei,

Okubo, & Takahashi, 2004) (Figure 6)。コントロールした状態で睡眠をさせ、45 分以上のノンレム睡眠が起り、Stage2 の睡眠が 3 分間続いたときに被験者を起こし、経過時間を聞き、再び眠らせる。このときに実際に経過した実時間との比をとり、時間産出率で表すと、睡眠に入った直後では時間経過を速く感じ、明け方の睡眠時では時間経過を遅く感じるという結果が得られ、睡眠状態が時間産出処理機構に関わっていることがわかった。脳内の時間経過の処理機構はノンレム睡眠でもできることがわかり、かつそれは睡眠の前半と後半で大きく変わることがわかった。以前の研究から、起床時刻より前もって起きるように指示された人は起きる前より ACTH の分泌が高まることが知られている。このことは睡眠中にも時間経過をカウントする脳内機構が存在することを意味し、上記の仮説に一致する。この場合も睡眠を介してサーカディアンリズム機構が関与しているかもしれないが、詳細は不明である。Figure 7

Figure 6. Circadian fluctuation of time perception in healthy human subjects. Time perception sessions (TPS) were conducted 4 times at 0900, 1300, 1700 and 2100 h. The TPS consisted of five 10-s time production trials under five different conditions (control trial, those with reward, and 3 different dual-load working memory tasks). Two-way repeated measures ANOVA for produced time revealed a significant main effect of session, but no effect of task or interaction. There was a significant negative correlation between produced time and core body temperature. Human short-term time perception may be more influenced by circadian rhythm than working memory load or psycho-physiological status. (Aritake, et al., 2004).

Figure 7. Schematic diagram of relationship among clock perception, time estimation and time perception. Circadian systems may affect such perception through suprachiasmatic nucleus clock, brain clock and peripheral clock.

には体内時計と時刻・時間認知機構の関わりを示す模式図を示した。時刻認知には体内時計が関わっていることは容易に想像できうるが、時間産出や時間評価などにも体内時計の強力な支配下にある体温リズムが関わっていることが明らかになっている。したがって、動物心理の研究場面でも、時間や時刻の情報をうまくコントロールすることで、新たな発見が期待されよう。

引用文献

- Akiyama, M., Yuasa, T., Hayasaka, N., Horikawa, K., Sakurai, T., & Shibata, S. 2004 Reduced food anticipatory activity in genetically orexin (hypocretin) neuron-ablated mice. *European Journal of Neuroscience* **20**, 3054-3062.
- Aritake, S., Uchiyama, M., Tagaya, H., Suzuki, H., Kuriyama, K., Ozaki, A., Tan, X., Shibui, K., Kamei, Y., Okubo, Y., & Takahashi, K. 2004 Time estimation during nocturnal sleep in human subjects. *Neuroscience Research* **49**, 387-393.
- Campbell, S. S., Murphy, P. J., & Boothroyd, C.E. 2001 Long-term time estimation is influenced by circadian phase. *Physiology and Behavior* **72**, 589-593.
- Ebisawa, T. 2007 Circadian rhythms in the CNS and peripheral clock disorders: human sleep disorders and clock genes. *Journal of Pharmacological Science* **103**, 150-154.
- Feillet, C. A., Albrecht, U., & Challet, E. 2007 "Feeding time" for the brain: a matter of clocks. *Journal of Physiology Paris* **100**, 252-260.
- Hara, R., Wan, K., Wakamatsu, H., Aida, R., Moriya, T., Akiyama, M., & Shibata, S. 2001 Restricted feeding entrains liver clock without participation of the suprachiasmatic nucleus. *Genes to Cells* **6**, 269-278.
- Iijima, M., Yamaguchi, S., van der Horst, G. T., Bonnefont, X., Okamura, H., & Shibata, S. 2005 Altered food-anticipatory activity rhythm in cryptochrome-deficient mice. *Neuroscience Research* **52**, 166-173.
- King, D. P., Zhao, Y., Sangoram, A. M., Wilsbacher, L. D., Tanaka, M., Antoch, M. P., Steeves, T. D., Vitaterna, M. H., Kornhauser, J. M., Lowrey, P. L., Turek, F. W., & Takahashi, J. S. 1997 Positional cloning of the mouse circadian clock gene. *Cell* **89**, 641-653.
- Kuriyama, K., Uchiyama, M., Suzuki, H., Tagaya, H., Ozaki, A., Aritake, S., Kamei, Y., Nishikawa, T., & Takahashi, K. 2004 Circadian fluctuation of time perception in healthy human subjects. *Neuroscience Research* **46**, 23-31.
- Mieda, M., Williams, S. C., Sinton, C. M., Richardson, J. A., Sakurai, T., & Yanagisawa, M. 2004 Orexin neurons function in an efferent pathway of a food-

- entrainable circadian oscillator in eliciting food-anticipatory activity and wakefulness. *Journal of Neuroscience* **24**, 10493–10501.
- Ono, M., Shibata, S., Minamoto, Y., & Watanabe, S. 1996 Effect of the noncompetitive N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist MK-801 on food-anticipatory activity rhythm in the rat. *Physiology and Behavior* **59**, 585–589.
- Pitts, S., Perone, E., & Silver, R. 2003 Food-entrained circadian rhythms are sustained in arrhythmic *Clk/Clk* mutant mice. *American Journal of Physiology* **285**, R57–67.
- Saper, C. B. 2006 Staying awake for dinner: hypothalamic integration of sleep, feeding, and circadian rhythms. *Progress in Brain Research* **153**, 243–252.
- Shirai, H., Oishi, K., Kudo, T., Shibata, S., & Ishida, N. 2007 PPARalpha is a potential therapeutic target of drugs to treat circadian rhythm sleep disorders. *Biochemistry Biophysics Research Communication* **357**, 679–682.
- Stephan, F. K., & Zucker, I. 1972 Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proceeding of National Academic Science U.S.A.* **69**, 1583–1586.
- Tei, H., Okamura, H., Shigeyoshi, Y., Fukuhara, C., Ozawa, R., Hirose, M., & Sakaki, Y. 1997 Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila* period gene. *Nature* **389**, 512–516.
- Wakatsuki, Y., Kudo, T., & Shibata, S. 2007 Constant light housing during nursing causes human DSPS (delayed sleep phase syndrome) behaviour in Clock-mutant mice. *European Journal of Neuroscience* **25**, 2413–2424.

(2008. 2 .21 受稿, 2008. 4 . 7 受理)