

文部科学省私立大学戦略的研究基盤  
形成支援事業シンポジウム 2013

サーカディアンメディスンの  
基礎臨床連携研究拠点

平成 25 年 6 月 28 日

主催 自治医科大学

# 特別講演 1

実験室外環境でのヒトの概日時計評価法の検討と実践

Assessment of the human circadian clock based on peripheral clock gene expression

山口大学 時間学研究所 時間生物学研究室

明石真

The Research Institute for Time Studies, Yamaguchi University

Makoto Akashi, PhD

概日時計メカニズムの研究、概日リズム障害の臨床的診断、そして時間医療の実践など、ヒトの概日時計に関連する領域の発展を推進するためには、簡易で信頼性の高い概日時計測定法の確立が期待される。メラトニンが伝統的に概日リズムのマーカースとして使用されてきており、さらに最近では血中代謝産物もより強力な新規マーカースとして用いられるようになってきた。しかしながら、これらのマーカースは光や食事などによるマスキングの影響を受けるために、実験室のような制御された環境下における測定が必要であった。加えて、現在提唱されている分子モデルでは、概日時計は時計遺伝子の自律的転写振動によって駆動されていると考えられていることから、概日時計を真の意味で理解するにはその分子的本体である時計遺伝子の発現レベルを調べるのが求められる。しかし、最初の哺乳類の時計遺伝子が発見されてから約16年経ったが、ヒト個体を用いた研究で時計遺伝子の発現リズムを調べた報告の数は未だ一握りに過ぎない。

時計遺伝子の転写振動は体中のほとんど全ての細胞において観察できる。この性質は、どの末梢組織の生検によってもヒトの概日時計の診断に使用できることを示唆している。私たちが近年確立した毛包細胞を用いる方法は、未だ技術的に改良すべき点が残されているが、上記の測定上の問題を解決できる可能性があり、実験室外におけるヒトの概日時計診断および調査研究を推進するツールとなる可能性がある。

私たちは、毛包細胞の時計遺伝子発現リズムの位相が、被験者個々人の生活習慣位相（つまり、朝型や夜型など）を反映していることを示した。これはすなわち、私たちの方法論がヒトの概日時計の評価系として適切であることを示唆している。これに加えて、生活習慣の変化に合わせて時計遺伝子発現リズムの位相変化が起こることも確認している。さらに、本手法の応用例として、昼夜交替労働者の時計遺伝子発現リズムを調べてみた。すると、このような労働者が慢性的な時差症候群と呼べる状況に陥っていることが明確に示された。

私たちの実験方法は特別な手法を必要とせず、RNA定量実験を導入している研究室ならばどこでも実施可能である。実験室外であっても、体毛を抜き取って毛包細胞を集めるだけで、時計遺伝子発現リズム位相決定のための解析が実施可能である。現在、私たちはさらに実験系を改良することで、高スループット化を実現することを目標として研究を進めている。

# シンポジウム 第1部

## 下垂体隆起部・前葉における日内リズム分子の同定 Circadian rhythm and pars tuberalis / pars distalis of adenohypophysis

組織学部門

藤原研、屋代隆

Histology

Ken Fujiwara, Takashi Yashiro

下垂体前葉には成長、生殖、代謝、免疫にかかわる6種類のホルモン(ACTH、GH、PRL、TSH、LH、FSH)を分泌する。これら内分泌細胞の機能調節は視床下部や末梢臓器からのホルモンにより調節されている。この視床下部による下垂体前葉ホルモンの分泌調節には、従来、下垂体門脈系による血流を介した制御が唯一であると考えられてきた。一方、古くから下垂体前葉ホルモンの放出は日内リズムを示すことは知られているが、そのメカニズムは未だ十分には明らかになっていない。

前葉を構成する細胞には内分泌細胞以外に非ホルモン産生性の濾胞星状細胞(FS細胞)があり、長い突起で内分泌細胞を取り囲むように存在している。FS細胞は様々な成長因子を分泌し、内分泌細胞の機能維持に働いていると考えられているがその機能は分かっていない。FS細胞間においてギャップ結合が形成されており、前葉内でネットワークを作っていると考えられている。近年、視床下部の性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)ニューロンが下垂体隆起部のFS細胞に到達していることが同定され、視床下部一下垂体門脈系を介した制御系に加え、FS細胞間ネットワークによる情報伝達系がLH/FSHの放出促進作用を持っている可能性が見いだされ注目を集めている。

Sojiらは前葉の隆起部に移行する手前にFS細胞が集中していることを観察し、この部位を「前葉移行部」と名付けた。最近、我々は共同研究者のHattoriらとともに、この前葉移行部のFS細胞が、GnRH刺激により一過性に細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇を観察した。しかし、洗浄後に2回目の刺激を行っても細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇は見られなかった。興味深いことに、このようなGnRHに対する応答性は午前採取した試料で観察されるが、午後採取した試料ではそもそも1回目の刺激にすら応答しなかった。このことから、午前中に起こるGnRHのサージにより一度GnRHに暴露されると、しばらくGnRHに対して不応期を維持すると考えられた。このことはFS細胞のネットワークが下垂体前葉ホルモン放出の日内変動の制御に深く関与していることを示唆している。現在、その日内リズムのメカニズムの解明に取り組んでいる。

(本研究は名古屋市立大学医学部 曾爾彊グループとの共同研究である。)

## PrRP-オキシトシン系とリズム PrRP-oxytocin pathway and rhythms

神経脳生理学部門

尾仲達史、高柳友紀、山下雅子、吉田匡秀

Neurophysiology

Tatsushi Onaka, Yuki Takayanagi, Masako Yamashita, Masahide Yoshida

摂食は一日のうち主に活動期に行われる。このリズムが乱れると肥満になり易いことが知られている。しかし、摂食が主に活動期に行われる機構は必ずしも明らかではない。そこでまず、非活動期の摂食と活動期の摂食とを比較した。

摂食量は一回に摂食する量とその頻度の積で表される。マウスの摂食を検討したところ、非活動期の明期には暗期と比較して、摂食の頻度が少ないだけでなく、一回に摂食する量も低値を示した。従って、明期に摂食量が少ないのは、明期に活動量が少ないことを反映しているだけでなく、一回摂食量を制御する機構にも明期と暗期で差が生じる可能性がある。

一回摂食量を制御する因子として消化管ホルモンの重要性が指摘されている。即ち、食物を摂取すると、腸管から血中に消化管ホルモン、特にコレシストキニン (CCK) が血中に放出され、腹部迷走神経の求心性線維の CCK<sub>A</sub> 受容体を刺激し、延髄孤束路核を活性化し、その結果、摂食が終了する。延髄孤束路核から先の機構については不明な点が多いが、CCK は延髄孤束路核のプロラクチン放出ペプチド(PrRP)産生ニューロンを活性化させる。この延髄 PrRP 産生ニューロンは摂食させると活性化された。また、CCK 投与による摂食抑制作用は、PrRP 欠損動物では低下していた。さらに、PrRP を欠損しているマウスの一回摂食量は、野生型動物と比較して増加していた。これらのデータは PrRP 産生ニューロンが一回摂食量を制御する因子であることを示唆している。PrRP 産生ニューロンの下流に関し、PrRP 産生ニューロンは視床下部オキシトシン産生ニューロンに投射していることが示されている。オキシトシン産生ニューロンは PrRP 受容体を発現しており、PrRP を投与すると活性化された。また、摂食あるいは CCK 投与によりオキシトシン産生ニューロンは活性化されるが、この活性化は PrRP 欠損動物で低下していた。さらに、オキシトシン受容体を欠損したマウスでは PrRP 欠損動物と同様に、一回摂食量が低下していた。これらのデータは、PrRP-オキシトシン系が一回摂食量を制御していることを示唆している。

次に、PrRP-オキシトシン系の活性化が明期と暗期で差があるかを検討した。24 時間絶食後に明期、暗期に再摂食させたところ再摂食量はそれぞれ  $0.49 \pm 0.04$  g、 $0.81 \pm 0.15$  g であった。しかし、オキシトシン産生細胞の活性化の程度は変わらなかった。このデータは、オキシトシン産生細胞の活性化の感度が明期に上昇しているという考えに合うデータである。

エストロゲンによるミトコンドリアタンパク質  
PHB2 を介した脂肪分化調節と日内変動

Estrogen, related to circadian rhythm, regulates adipogenesis by inducing  
nuclear translocation of mitochondrial protein PHB2

機能生化学部門

笠嶋克巳、富永薫、黒岩憲二、山本智、遠藤仁司

Functional Biochemistry

Katsumi Kasashima, Kaoru Tominaga, Kenji Kuroiwa, Satoshi Yamamoto, and Hitoshi Endo

エストロゲンは年齢軸における変動や概日リズムが存在する。エストロゲンの減少は、閉経早期の閉経後肥満の原因であることが知られている。我々はこれまでミトコンドリア内膜に存在する多機能タンパク質であるプロヒビチン2 (PHB2) がエストロゲン依存的に核に移行することを報告した。本報告では、エストロゲンによって核へ移行した PHB2 が、PGC-1 $\alpha$  を介して PPAR $\gamma$  の転写活性を抑制することにより脂肪分化を負に制御することを示す。E2 は、脂肪前駆細胞において内在性の PHB2 を核に移行させる。PHB2 は PGC-1 $\alpha$  に直接結合し、PPAR $\gamma$  の転写活性を抑制する。ミトコンドリア移行シグナルを欠失した PHB2 変異体 (PHB2C) を脂肪前駆細胞に発現させると、E2 非依存的に脂肪分化を抑制した。閉経後肥満のモデルマウスである卵巣摘出(OVX)マウスでは、増大した脂肪細胞のミトコンドリアに局在した PHB2 が、E2(+)食にて肥満の解消した脂肪組織では核に局在した。脂肪組織特異的に発現する PHB2C のトランスジェニックマウスでは、OVX マウスにおける肥満を軽度減少させた。以上の結果は、エストロゲンがミトコンドリアタンパク質を介して肥満を抑制することを示している。体内のエストロゲン量および PGC-1 $\alpha$  の発現量が概日リズムを示すことから、概日リズムにおけるミトコンドリア機能の調節を今後検討する。

室傍核 Nesfatin-1 による概日摂食リズムの制御：肥満における障害  
Regulation of circadian feeding by paraventricular  
Nesfatin-1 rhythm: Its impairment in obesity

統合生理学部門

前島裕子、中田正範、Udval Sedbazar、矢田俊彦

Integrative Physiology

Yuko Maejima, Masanori Nakata, Udval Sedbazar, Toshihiko Yada

世界中で肥満者が増加し、大きな健康問題となっている。肥満はエネルギーの摂取が消費を上回ることに起因し、エネルギーの過剰摂取つまり過食は主要な原因である。ヒト肥満・過食はリズム障害を伴うことが多いことが最近の研究で明らかにされている。従って、摂食概日リズムとその形成機構の理解は肥満・メタボリックシンドロームの成因解明に極めて重要である。

Nesfatin-1(Nesf)は 2006 年に報告された摂食抑制ペプチドで、脳内の多くの神経核に分布するが、摂食抑制作用においては室傍核(PVN)の Nesf が重要であることが知られている。本研究は、PVN Nesf の発現リズムと摂食パターンおよび肥満、過食との関係について調べた。

正常 Wistar ラットの摂食は、暗期に亢進し、明期に抑制される。PVN Nesf の日内変化は、明期初期に PVN Nesf mRNA 発現は亢進しており、暗期には低下していた。従って、PVN Nesf mRNA 発現リズムと摂食リズムは逆相関することが明らかになった。さらに明期に Nesf 中和抗体を脳室内投与すると摂食量が亢進し、暗期の投与は摂食に影響しなかった。これらのことから、明期の Nesf の発現上昇が摂食抑制をもたらすことが示唆された。さらに shRNA により PVN Nesf を局所的にノックダウンすると摂食量の亢進が見られた。以上の結果から、明期初期の PVN Nesf 発現上昇は明期の生理的な摂食抑制に関与することが示された。

一方レプチン抵抗性を示す肥満・過食モデル動物である Zucker-fatty ラットにおいては、明期の PVN Nesf 発現上昇が障害されており、明期摂食量および 1 日摂食量の亢進が顕著であった。そこで明期に Nesf を脳室内投与すると、明期および 1 日の過食は軽減された。

以上の結果より、PVN Nesf 発現リズムが概日摂食リズムを形成する重要な要素であることが示された。さらに Nesf の投与は、肥満に伴う摂食リズム障害および過食に対する有効な治療となる可能性が考えられる。

# 特別講演 2

細胞リズムとネットワーク：発光・蛍光レポーターで知る中枢時計の多様な機能

Cellular rhythms and networks: monitoring clock functions by  
bioluminescence and fluorescence reporters

北海道大学 大学院医学研究科 時間医学講座

本間さと

Department of Chronomedicine, Hokkaido University Graduate School of Medicine

Sato Honma, MD, PhD

約 24 時間周期の振動を発振する概日時計は、地上の昼夜、季節の周期性に同調し、生理機能を時間的に制御する生物に共通の生存戦略であり、周期性、明暗サイクルへの同調機構などはシアノバクテリアからヒトまで、驚くほど類似している。ほ乳類では、視床下部視交叉上核 (SCN) に概日時計中枢 (中枢時計) が局在し、全身の臓器・細胞がもつ概日時計 (末梢時計) を時間的に統合すると共に、環境の明暗サイクルに同調する。安定した約 24 時間周期のリズム発振のための細胞内メカニズムとして、一群の時計遺伝子の転写とタンパク産物による転写抑制の自律発振分子フィードバックループが提唱されてきた。

研究のブレークスルーは、しばしば新たな技術開発によってもたらされる。概日時計研究では、生物発光レポーターがいち早く導入され、その低侵襲性・定量性が、週単位の長期連続計測が必要な概日時計研究において威力を発揮してきた。同一組織、細胞、あるいは個体内での、時計遺伝子の転写活性やタンパク量の長期・連続・リアルタイム計測は、概日時計研究を飛躍的に発展させた。

我々は、発光レポーターを用いて時計遺伝子 *Per1* 発現と **PER2** レベルを計測すると共に、マルチ電極ディッシュによる自発発火測定と組合せ、細胞内リズム発振に必須と考えられてきた時計遺伝子 *Cryptochrome* (*Cry*) の機能を検討した。その結果、無周期変異と考えられてきた **CRY** 欠損マウスの **SCN** が、新生児期にのみ明瞭な **PER2** リズムを示すこと、一方、細胞レベルでは、すべての年齢で時計遺伝子発現にリズムが存在するが個々の細胞リズムが脱同調していることが分かった。さらに、共培養法により、新生児の **SCN** から分泌される因子がリズム同期に関わっていることを示した。中枢時計 **SCN** の振動細胞ネットワークは、生後発達の過程で **CRY** に依存して機能的に変化することが明らかとなった。

我々は、また、時間・空間解像度が発光に比較して圧倒的に高い蛍光プローブを用い、1 週間以上の長期計測を可能とし、**SCN** のほぼすべての神経細胞が細胞内カルシウムレベルに明瞭なサーカディアンリズムをもち、位相・振幅に部位特異性があること、背側・腹側の振動体が神経性連絡で同期していることを明らかにした。時計遺伝子発現とカルシウムレベルの同時計測も可能であり、一細胞レベルで分子時計から細胞機能発現までを捉えるシステムは、今後の応用が期待される。

## シンポジウム 第2部

時計遺伝子のヒストン低アセチル化と肥満・糖尿病マウスの糖代謝異常

### Reduced histone H3K9 acetylation of clock genes and abnormal glucose metabolism in ob/ob mice

臨床薬理学部門

牛島健太郎、小林(石川)瑛子、安藤仁、古川雄祐、藤村昭夫

Clinical Pharmacology

Kentarou Ushijima, Eiko Ishikawa-Kobayashi, Hitoshi Ando, Yusuke Furukawa, Akio Fujimura

体内時計障害は様々な疾患の発症に関与することが近年の時間生物学研究により示されている。当研究室では、これまでに糖尿病モデルマウスの末梢臓器において、時計遺伝子発現リズムが破綻していることを明らかにした。本研究では、糖尿病モデル(ob/ob)マウスにおける時計遺伝子の発現リズム異常が、糖代謝異常の発症に関与しているか否かを明らかにすることを目的とした。ob/ob マウスの脂肪組織では Dbp、Per2 および Bmal mRNA の発現リズムが破綻しており、これらの時計遺伝子では、転写調節領域においてヒストンの低アセチル化が認められた。ob/ob マウスに HDAC 阻害薬を投与すると、脂肪組織における Dbp mRNA 発現量が有意に増加し、さらにマウスのインスリン抵抗性が有意に改善した。HDAC 阻害薬を投与しても Per2 および Bmal1 遺伝子のヒストンアセチル化レベルおよび mRNA 発現量は変化しなかった。糖尿病治療薬であるピオグリタゾンには、ob/ob マウスのインスリン抵抗性を改善させたが、時計遺伝子のヒストンアセチル化レベルおよび mRNA 発現量には影響しなかった。続いて、Dbp mRNA の発現異常が糖代謝異常を惹起するか否かを明らかにするため、RNA 干渉実験を行った。前駆脂肪細胞である 3T3-L1 細胞に Dbp の siRNA を処置し、その後脂肪細胞へ分化させた。Dbp mRNA 発現量を抑制した脂肪細胞では、アディポネクチン分泌量および糖取り込み活性が有意に低下した。以上の結果より、脂肪組織における DBP 発現低下は糖代謝異常の発症に関与する可能性がある。



## 脂質代謝の概日リズム Circadian Regulation of Biolipid Metabolism

内分泌代謝学部門

大須賀淳一、山室大介、坂井謙斗、高橋学、永島秀一、石橋俊

Endocrinology & Metabolism

Jun-ichi Osuga, Daisuke Yamamuro, Kento Sakai, Manabu Takahashi,  
Syuichi Nagashima, Shun Ishibashi

肥満は、脂肪組織とりわけ脂肪細胞が必要以上のトリグリセリド (TG) を蓄積した結果であり、糖尿病、高脂血症の病態や血管合併症の進展にも密接に関連していることから、その制御は治療的観点からも重要な課題と考えられる。また、虚血性心疾患の基礎となる粥状動脈硬化症は、血管壁での脂質蓄積に引き続く病的な細胞反応によって形成される。この最初の過程はマクロファージによる脂質の蓄積である。動脈硬化病変で観察される泡沫細胞はコレステロールエステル (CE) を蓄積したマクロファージである。細胞内脂質蓄積の調節は、脂質の合成と貯蔵及びその分解より成り立っている。

我々はこれまでに中性脂質の分解系について遺伝子欠損モデルを作成し解析を行ってきた。Lehner らが報告した Triacylglycerol hydrolase (TGH) に類似した Triacylglycerol hydrolase-2 (TGH-2) は脂肪組織と肝臓に主として発現している。TGH-2 は、TG リパーゼ活性が少ないためカルボキシエステラーゼと考えられている。TGH は肝臓からの VLDL 分泌を制御していることが報告されているので、TGH-2 にも同様の機能が備わっている可能性もある。また、マクロファージの CE を分解する酵素として Neutral cholesterol ester hydrolase 1 (NCEH1) を同定した。NCEH1 の欠損マウスでは泡沫化が起りやすく、動脈硬化も進展していたので、CE 分解の中心的な役割を担っていると考えられている。

遊離脂肪酸 (FFA) はこうした脂質分解酵素により生成され、エネルギー産生に供されるが、状況によっては脂肪毒性として臓器障害の原因にもなりうる。中性脂質の分解には触媒する酵素以外にも、ホルモンや自律神経系、cAMP-PKA カスケードにより調節されており、食事由来のインプットとともに概日律動を形成している。本研究では脂質分解系酵素の血清脂質の概日律動に及ぼす影響について解析・検討を行っている。

# 最先端の夜間血圧モニタリング装置の開発と臨床応用 Cutting Edge of Development and Clinical Application of Sleep Blood Pressure Monitoring

循環器内科学部門

荻尾七臣、星出聡、永井道明、新保昌久

Cardiology

Kazuomi Kario, Satoshi Hoshide, Michiaki Nagai, Masahisa Shinpo

これまで、夜間血圧は ABPM でのみ測定されていたが、家庭血圧を用いても測定できるようになってきた。これまで我々は、就寝前にセットすることにより睡眠中の夜間血圧の測定が可能となる新規家庭血圧計 **Medinote** を開発し、その血圧計を用いた全国登録研究 **Japan Morning Surge-Home Blood Pressure Study (J-HOP)** を実施している。本研究では、我が国における家庭血圧の地域特性と予後を検討する。本研究では午前 2 時、3 時、4 時に睡眠中の夜間血圧を測定したが、そのレベルは ABPM で測定した夜間血圧とほぼ同一であった。また、家庭血圧でアルブミン尿や左室肥大などの臓器障害との関連も、ABPM の夜間血圧と比較して遜色なかった。ABPM ができない患者では、家庭血圧による夜間血圧測定でも代用ができる可能性があり、今後、予後との関連を追跡してゆきたい。

【トリガー夜間血圧計の開発】 血圧変動性を刺激に対する昇圧反応と考えた場合、ある一定の刺激により血圧がどの程度、上昇するかを再現性良く測定できる血圧モニタリングの開発が望まれ OSA の無呼吸発作時には、胸腔内陰圧負荷に加え、無呼吸後半から無呼吸が解除される時相に一致して著明な血圧上昇（スリープサージ）が引き起こされる。我々は無呼吸発作時の酸素分圧の低下をトリガー信号にしてこの“血圧スリープサージ”を捉える夜間トリガー家庭血圧計と 3G を用いた評価システム **Sleep Pressure Monitoring -1 (SP-1)** を開発した。低酸素の程度に対する血圧スリープサージも 1 つの反応性指標となる。これらの血圧反応性は個人で大きく異なり、過度の増大は心血管リスクとなるであろう。SP-1 のプロトタイプで夜間血圧モニタリングを用いて検出した重症睡眠時無呼吸症候群患者の“スリープサージ”は 100mmHg に達することもある。このスリープサージが血圧サーカディアンリズムを修飾し、睡眠無呼吸患者で好発する夜間発症の心血管イベントのトリガーとなると考える。この仮説を証明するため、2012 年 10 月より、多施設 **Sleep Pressure and disordered breathing in REsistant Hypertension And cardiovascular Disease (SPREAD) Registry** 研究を開始している。本シンポジウムでは、これらの研究の最先端を発表する。

【参考文献】 Kario K. Proposal of a new strategy for ambulatory blood pressure profile-based management of resistant hypertension in the era of renal denervation. *Hypertens Res.* 2013 May.

## 自閉性障害の概日リズム異常と病因遺伝子解析 Genetic analysis for circadian rhythm abnormality in autism

発達医学部門

山形崇倫、松本歩、神保恵理子

Developmental Medicine

Takanori Yamagata, Ayumi Matsumoto, Eriko Jimbo

自閉性障害は、社会性の障害、コミュニケーション障害と常同的行動を特徴とする発達障害である。44～83%に睡眠障害を合併するとの報告があり、食行動の異常や消化器系の変調も多く、サーカディアン異常が病態に密接に関連していると考えられる。病因として、染色体の微細構造異常 (CNV) やシナプス結合・機能に関与する遺伝子の変異が同定されているが、各変異の頻度は低く、多数の病因遺伝子が関与し、また、多因子遺伝であることも示唆されている。我々は、自閉性障害のサーカディアン異常に関連する遺伝学的背景として、以下の可能性を想定した。

- ①CNV 中にサーカディアンに関連する遺伝子が含まれる。
- ②自閉性障害の病因であるシナプス形成・機能の変化によりサーカディアン異常が起きる。
- ③シナプス関連遺伝子変異にサーカディアン関連遺伝子多型が加わりサーカディアン異常を来す。
- ④サーカディアン関連遺伝子の中に自閉性障害とサーカディアン異常を来す遺伝子がある。

これらを解明するため、親から承諾の得られた自閉性障害患者のリンパ球から DNA 抽出し解析した。①Agilent Human Genome CGH 180K を用いた aCGH 解析による CNV 検出。②サーカディアン関連遺伝子の網羅的変異解析。時計遺伝子やメラトニン受容体遺伝子等、23 個の遺伝子を選択。解析対象遺伝子のエクソンをキャプチャーし、次世代シーケンサーGS junior(Roche 社)を用い、変異解析した。

aCGH 解析結果、自閉性障害患者の 32.4%に、*de novo* あるいは候補遺伝子として有望な遺伝子を含む遺伝性の CNV を検出した。睡眠障害を持つ患者の CNV 中の遺伝子機能の解析により、自閉性障害とサーカディアンの関連解明が期待される。睡眠障害を持つ患者で、父由来の *NR1D1* の p.S20R と、母由来の *SHANK2* の p.R845Q を検出した。*SHANK3* は自閉性障害の病因として比較的頻度が高く、*SHANK2* も疾患関連変異が報告されている。両者の変異を持つことで、自閉性障害とサーカディアン異常発症のリスクが高まる可能性も考えられる。また、広汎性発達障害で睡眠障害と胃腸症状を持つ児と睡眠障害と胃腸症状を持つ母において、時計遺伝子の一つにミスセンス変異を検出した。この遺伝子の機能は十分判明しておらず、自閉性障害の病因遺伝子として解析中である。