

## 解 説

## 時間隔離実験により明らかとなったヒトの生物時計の構造と機能

山仲勇二郎

北海道大学大学院教育学研究院生活健康学

## 1. はじめに

ヒトの睡眠と覚醒のタイミング(行動リズム、睡眠覚醒リズム)は、脳内の生物時計と恒常性維持機構からの制御を受けている。生物時計は、昼夜変化を手がかりとし睡眠の最適時刻を決めており、多くの生理機能を時間的に統合する。すなわち、昼間に活動し、夜間に睡眠をとることにより、自律神経系および内分泌ホルモンの概日リズムと同調して、良質の睡眠が得られるよう体内環境を調節している。

時間生物学(クロノバイオロジー、chronobiology)は、生物時計および生体にみられるリズム現象を研究対象とする研究領域である。2017年のノーベル医学・生理学賞を生物時計の研究者らが受賞したことにより、生物時計、生体リズム、時間生物学への関心が高まりつつあるが、生物時計、とりわけヒトの生物時計の構造と機能についてはあまり知られていないような印象を受ける。本稿では、生物時計の特徴、ヒトを対象とした時間隔離実験により明らかとなったヒト生物時計の構造と機能について解説すると共に、ヒト生物時計研究における未解決の問題についても議論したい。

## 2. 生物時計の自律振動メカニズム

生物時計は生体内に存在する自律振動機構であり、地球の自転により生じる24時間の環境周期が存在しない恒常環境下においても独自のリズム周期を刻む自律性を備えている。恒常環境で観察されるリズムは、フリーランリズム(自由継続リズム)とよばれ、生物時計の内因性周期が表現されると考えられている。生物時計が自律振動する仕組みは、時計遺伝子と呼ばれる複数の遺伝子群の転写と翻訳からなるネガティブ制御型のフィードバックループが想定されている。実際に主要な時計遺伝子を欠損した動物では行動リズムの周期が変化あるいは

無周期化する<sup>1)</sup>。ヒトにおいても極端な早寝早起きとなる睡眠相前進症候群の患者では時計遺伝子のリン酸化酵素のミスセンス変異が報告されており、恒常環境に設定された時間隔離実験室で計測された睡眠覚醒リズムは24時間より短い周期を示すことが報告されている<sup>2)</sup>。さらに、いわゆるクロノタイプ(朝型夜型タイプ)に関与する遺伝子が351種類存在することが大規模調査により明らかにされ<sup>3)</sup>、今後クロノタイプ関連遺伝子と生物時計との関連性に着目したオーダーメイドでの遺伝子診断や時間治療の研究が発展していくものと推測される。

## 3. ヒト生物時計の基本性質

ヒトの生物時計の内因性周期や環境因子に対する位相反応や同調機構を調べるには、自然環境や時刻情報などから隔離された恒常環境下で生体リズムを長期間にわたり測定することが必要である。西独マックスプランク研究所のAschoffは、1962年にミュンヘン大学医学部の地下にあった防空用手術室を改造して住居型の時間隔離実験室をつくり、様々な実験条件下で行動(睡眠覚醒)と生理機能や時間感覚等を測定した。現在知られているヒト生物時計の性質の多くはAschoffらの実験によって明らかにされたといっても過言ではない。Aschoffらによって行われた時間隔離実験の研究成果をまとめた「The Circadian System of Man」<sup>4)</sup>はヒトの生物時計を研究対象とする際には非常に参考になる良書として推薦しておきたい。以下にヒトの生物時計の基本性質について解説する。

## 1) フリーランリズム

昼夜変化や時刻情報から隔離された恒常環境下で観察される生体リズムの周期は、24時間とは異なるフリーランリズムを示す。フリーランリズム周期は後述する24時間

の昼夜変化への同調に必要な位相反応を知るうえで重要な情報となる。時間隔離実験室を使用した最初のフリーラン実験は、1962年にAschoff自身が被験者となり恒常環境下で睡眠覚醒リズムや深部体温(直腸温)等を9日間測定した。Aschoffのフリーラン周期は24.7時間であり、24時間よりも長い周期であった。その後、Aschoffらによって測定された147名のフリーラン周期は、直腸温リズム $25.0 \pm 0.5$ 時間(平均周期 $\pm$ 標準偏差)、睡眠覚醒リズム $24.9 \pm 0.2$ 時間といずれのリズムも24時間より約1時間長い約25時間周期であった<sup>4)</sup>。国内では北海道大学の本間研一教授(現名誉教授)が1983年に時間隔離実験施設を完成させた。本間らは、Aschoffらと同様の被験者自身が睡眠と覚醒のタイミングを決定する自己調節法によりフリーランリズムを測定した。その結果、日本人のフリーランリズム周期は、Aschoffらによって測定された結果と同様の傾向であった<sup>5)</sup>。また、フリーランリズム周期には性差があり、男性に比較して女性のフリーラン周期が短かった。一方、ハーバード大学のCzeislerらは、Aschoffらや本間らが用いた被験者自身が睡眠時に照明を消灯する古典的なフリーラン実験に対し、被験者を強制的に20時間あるいは28時間の睡眠覚醒スケジュールで生活させる強制脱同調法(Forced desynchrony: FD法)を考案し、フリーラン周期が24時間に近い平均24.2時間であること、性差、加齢による変化も認められないことを報告している<sup>6)</sup>。FD法は、生物時計が刻む生体リズムのすべての位相に均等に睡眠と覚醒を割り当てることで睡眠と覚醒による生体リズムに対する睡眠と覚醒のマスキング効果を均等化し、生物時計のフリーランリズムを正確に捉えることを可能にするという考えに基づいている。マスキング効果とは、ある刺激が生物時計を介さずに生物時計が発振する生体リズムを接修飾する現象である。また、FD法では概日リズムの位相を測定する際には、光や運動等によるマスキング効果を排除するため、被験者を安静仰臥位で約36時間連続覚醒させるコンスタントルーチン法を実験の前後に実施し、深部体温リズムの最低値位相やメラトニンリズムのピーク位相の位相差からフリーラン周期を計算する。FD法+コンスタントルーチン法によるフリーランリズムの測定は、強制的な睡

眠と覚醒のスケジュールが生物時計の発振する生体リズムに影響しないことが必要であり、睡眠覚醒リズムの制御モデルの1つである2プロセスモデル(two process model)を前提としている。ヒトのフリーランリズムの周期が、25時間であるか24.2時間であるかについてはフリーランリズムを測定する実験条件および前提となる睡眠覚醒リズムの制御モデルをどのように捉えるかにより異なる。フリーランリズム周期について議論する際には、どのような手法で測定されたかを理解しておくことが重要である。なお、Czeislerらが報告した24.2時間のフリーラン周期とAschoffらが報告した25時間のフリーラン周期のちがいのについて、Czeislerらは、Aschoffらが用いた実験条件において実験室内の光照度(300-500ルクス)と夜間の光照射による位相後退がフリーラン周期を長くする主たる原因とされていたが、本間により詳細な再解析が行われCzeislerらの指摘は否定されている<sup>7) 8)</sup>。

## 2)光同調

生物時計の周期や位相を調節する環境因子を同調因子とよぶ。Aschoffらによって時間隔離実験が本格的に実施されるようになった当初は、ヒトの生物時計の主たる同調因子は、社会的因子(厳密な生活スケジュール)であることが想定されていた。しかし、夜行性齧歯類であるラットにおいて松果体ホルモンであるメラトニンが夜間の光照射により分泌が抑制されることが明らかとなり、さらに1980年にはLewyによってヒトのメラトニン分泌は500ルクスでは抑制されないが、1500~2500ルクスの高照度光照射によって分泌が抑制されることが示された<sup>9)</sup>。網膜で受容した光がメラトニン分泌を抑制する神経路は、網膜視床下部路→生物時計中枢(視交叉上核)→室傍核→交感神経上頸神経節→松果体であり、高照度光が生物時計中枢の同調因子として作用する可能性が浮上した。そして、本間らは時間隔離実験室内で生体リズムがフリーランしている被験者に人工的に24時間周期の明暗サイクル(8時間5000ルクスの高照度光、16時間低照度光)を与えるとフリーランが阻止され、人工的な明暗サイクルに同調することを初めて発見し、ヒトの生物時計も他の哺乳類と同じく光が主要な同調因子であることを

報告した<sup>10)</sup>。生物時計の同調メカニズムは、2つの理論①リズムの周期を調節するパラメトリック同調と②リズムの位相を調節するノンパラメトリック同調が提唱されている。日常生活下で明暗サイクルに同調するメカニズムは、ノンパラメトリック同調と高照度光パルスによる位相反応曲

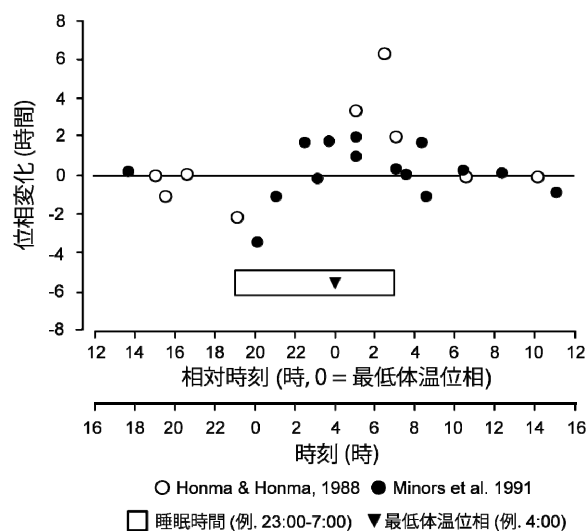


図 1 高照度光パルスに対するヒト概日リズムの位相反応曲線

線により説明される。位相反応曲線は、恒常環境下で生体リズムがフリーランしている被験者に生体リズムの様々な位相で1〜3時間の高照度光を照射し、光照射前後での生体リズムの位相変化量を測定することにより作成される。図1は、時間隔離実験室で生体リズムがフリーランしている被験者に約5000ルクスの高照度光を3時間照射して作成した位相反応曲線である<sup>11)12)</sup>。位相反応曲線は、横軸に高照度光を照射した時刻、縦軸に位相変化量をプロットしたものでプラスが位相前進(時計が進む)、マイナスが位相後退(時計が遅れる)を示す。位相反応曲線のカタチは生物種間で共通であり、主観的暗期の前半に位相後退相(phase-delay)、主観的暗期の後半から主観的明期の前半に位相前進相(phase-advance)、主観的明期の中間では位相反応が生じない無反応期(dead zone)がみられる。一方、Czeislerらは、低照度環境下で5000〜9000ルクスの高照度光を5時間×3日間あるいは6.7時間×1回照射し、その前後での位相変化量を測定する実験手法を用いて無反応期が存在しない位相反応曲線を報告している<sup>13)</sup>。この実験では、高照度光を連続して照射するだけでなく、光照射を行っている3日間

は睡眠時間帯もずらすスケジュールが採用されている。これは、後述する睡眠覚醒リズムと生物時計間の脱同調を引き起こす可能性がある。生体リズムの脱同調時には外部刺激に対して生物時計の位相反応が大きくなることに関係している可能性がある。生物時計の光による位相反応を評価する際には生体リズムの同調状態も考慮することが必要である。また、日常生活下での24時間周期の昼夜変化への光同調の実態については未解決の問題があり、時間隔離実験室で作成された位相反応曲線をもとに朝方の光照射のみでリズム同調を説明することについては疑問が残る。この問題については、後ほど議論したい。

#### 4) 非光同調

ヒトの生物時計にとって最も強力な同調因子は高照度光であるが、光以外の環境因子が生物時計の同調因子として作用する可能性が恒常暗条件下での時間隔離実験や全盲患者を対象とした研究により示されている。Aschoffらは時間隔離実験室を使用し、完全な暗黒条件下で3日間被験者を厳密な24時間周期の生活スケジュールに従って生活させ、直腸温や尿中代謝物のリズムを測定した<sup>14)</sup>。その結果、被験者の生体リズムは24時間を維持し、厳密な生活スケジュールが非光同調因子として生物時計に作用する可能性を報告した。さらに、眼球を摘出し、光を受容することのできない全盲患者の約半数は日常生活下にあってもフリーランするが、残りの半数は正常なリズム同調を示す<sup>15)</sup>。つまり、光以外の社会的因子が非光同調因子として作用する可能性がある。全盲患者を対象とした時間隔離実験において、24時間より短い23.8時間の厳密な生活スケジュール下で生活させると直腸温および血中メラトニンリズムが生活スケジュールに同調する。この実験では、被験者は毎日起床6時間後に10分間の自転車運動を行っており、厳密な生活スケジュールに加え、習慣的な運動が非光同調因子として作用することを推測させるものであった<sup>16)</sup>。宮崎らは視覚障害のない健常成人男性を対象に生物時計の光同調に影響しない低照度光に設定した時間隔離実験室内で23.6時間の生活スケジュールで15日間生活させた際、

覚醒時に自転車運動を行った群でのみメラトニンリズムが前進し生活スケジュールへの同調が促進されることを報告している<sup>17)</sup>。つまり、厳密な生活スケジュールのみでは生物時計の非光同調因子としての作用は弱い、覚醒時に運動を行うことによって生活スケジュールへの非光同調作用が強化されることを示唆する。

#### 5) 内的脱同調とヒト生物時計の2振動体モデル

内的脱同調 (internal desynchronization) とは、恒常環境下で睡眠覚醒リズムと深部体温およびメラトニンリズムが異なる周期でフリーランする現象であり、ヒトの生物時計機構にのみに観察される興味深い現象である。内的脱同調が生じると深部体温やメラトニンリズムの周期は約25時間を維持する(厳密には内的脱同調前に比べわずかに周期が短くなる)が、睡眠覚醒リズムは約34時間の長周期(I型)あるいは約18時間(II型)となる<sup>4)</sup>。内的脱同調後では、サイクルごとに睡眠覚醒リズムと深部体温リズム間の位相関係が変化するため、日によっては覚醒時に体温の低下やメラトニン分泌が高くなり、被験者は眠気、食欲不振、倦怠感など時差ボケ症状と似たような不調を訴える。内的脱同調後は、睡眠覚醒リズムと深部体温リズムが異なる周期でフリーランするが両リズム間には相互協調の関係があり、深部体温の下降期のはじめに開始した睡眠は持続時間が長く、上昇位相より開始した睡眠は持続時間が短くなる。内的脱同調がみられることからヒトの生物時計が少なくとも2つの異なる自律振動機構から構成されることが示唆される。内的脱同調を説明するモデルとして2振動体モデルが提唱されている(図2)。振動体Iは、約25時間のフリーラン周期をもち、

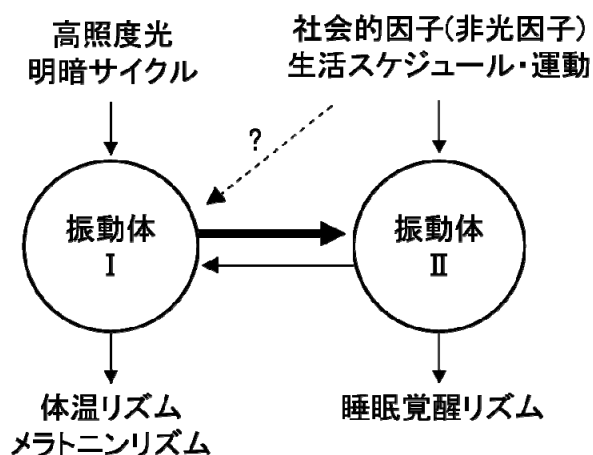


図2 ヒト生物時計の2振動体モデル

深部体温やメラトニンリズムを制御し、生物時計中枢である視床下部視交叉上核に局在すると考えられている。一方、振動体IIは約34時間あるいは約18時間のフリーラン周期をもち、睡眠覚醒リズムを制御する。振動体IIの局在については、長年不明であったが最近のモデル動物を使用した実験から中脳ドパミン神経系あるいは複数のドパミン神経が協調することにより1つの振動体として機能するネットワーク型振動体が想定されている<sup>18)</sup>。

#### 6) 睡眠覚醒リズムの部分同調

恒常環境下で生体リズムの内的脱同調が生じることからヒトの生体リズムは深部体温やメラトニンリズムと睡眠覚醒リズムがそれぞれ異なる振動機構に制御されることが想定される。深部体温やメラトニンリズムを制御する振動体Iは、解剖学的特徴や動物実験の結果から視床下部視交叉上核に局在し、高照度光を同調因子とすることが想定されているが、睡眠覚醒リズムを制御する振動体IIの性質については不明な点が多い。

橋本らは、光同調に影響しない10ルクスの低照度に設定した時間隔離実験室内で被験者のふだんの睡眠時間帯を強制的に8時間前進させ、8日間前進したスケジュールで生活させた後、スケジュールを制限しないフリーラン条件へ移行する実験を行った<sup>19)</sup>。興味深いことに、フリーラン移行時に被験者は前進した睡眠時間帯付近から睡眠を開始したが、メラトニンリズムは位相後退し、睡眠覚醒リズムのみが強制スケジュールに再同調する部分同調 (partial entrainment; entrainment of partition) とよばれる現象がみられた。この結果は、強制的な生活スケジュールのような社会的因子は、睡眠覚醒リズムを制御する振動体IIの同調因子として作用するが、深部体温やメラトニンリズムを制御する振動体Iに対する作用は弱いことが明らかとなった。さらに、位相前進した睡眠覚醒リズムはその後のフリーラン期間中に位相前進あるいは位相後退しながらメラトニンリズムと再同調したことから、睡眠覚醒リズムがメラトニンリズムを制御する振動体Iの制御下にあることという2振動体モデルを支持する結果であった。しかし、強制的な生活スケジュールに従って生活させた際のどの要因が振動

体Ⅱの同調因子として作用するのかについては不明であり、さらなる研究が必要である。著者らは、橋本らの用いた実験スケジュールで強制スケジュール期間を4日間に短縮し、覚醒時に自転車エルゴメーター運動を行わせると、4日間という短期間であっても睡眠覚醒リズムの部分同調が認められることを示した<sup>20)</sup>。この結果は、運動による交感神経活動の亢進や覚醒レベルの上昇が睡眠覚醒リズムの同調因子に関与することを推測させる結果であった。最近、著者らはフリーラン環境下で1日1食の食事スケジュールを与えると睡眠覚醒リズムが食事スケジュールに同調し、メラトニンリズムはフリーランすることを報告しており、食事スケジュールも睡眠覚醒リズムの同調因子として作用すると考えられる<sup>21)</sup>。これらの結果は、ヒト生物時計の2振動体モデルを支持するものであり、生活スケジュール、運動、食事といった社会的因子は、主に睡眠覚醒リズムの同調因子として作用することが明らかとなった。しかし、社会的因子による睡眠覚醒リズムの部分同調のメカニズムは依然として不明であり、モデル動物を用いた研究が必要である。

#### 4. ヒトの生物時計の未解決の問題

これまでに実施されてきた時間隔離実験により、ヒトの概日リズムおよび睡眠覚醒リズムを制御する仕組みが明らかにされてきた。しかし、ヒトの生物時計の構造と機能に関して未解決の問題がある。以下にその一部について解説したい。

##### 1) EM 振動体仮説

夜行性げっ歯類を対象とした研究では、動物の行動開始位相と行動終了位相が同調因子に対して異なる位相反応を示すこと、恒常明環境下で行動リズムが分離する現象(スプリッティング)することから行動開始と終了が異なる振動体によって制御されることが想定されており、行動開始を制御する振動体が Evening (E) 振動体、行動終了が Morning (M) 振動体とよばれる EM 振動体仮説が示唆されている<sup>22)</sup>。E 振動体と M 振動体の局在については、視交叉上核の前方吻側部に E 振動体、後方尾側部に M 振動体が局在することが明らかにされている<sup>23) 24)</sup>。ヒトにおいても時間実験室内で異なる光周性(長日条件、短日

条件)を模倣した研究では、短日条件においてメラトニン分泌時間の延長と睡眠時間が2相性に分離する現象が報告されている<sup>25)</sup>。また、時間隔離実験室内で高照度光に対する位相変化を測定した実験では、高照度光照射によるメラトニンリズムの分泌開始位相と分泌終了位相では異なる位相反応を示すことが報告されている<sup>26)</sup>。しかし、ヒトにおいても睡眠(覚醒)の開始と終了位相を制御する EM 振動体が存在し、高照度光に対して異なる位相反応曲線を持つか否かについては不明であり、ヒトを対象としたさらなる研究が必要である。

##### 2) 日常生活下での生物時計のリズム同調機序

先述のとおりヒトの生物時計は、24時間より長いフリーラン周期をもつため、日常生活下においては生物時計の位相を前進させることが地球の自転により生じる24時間の環境周期に同調するうえで必要と考えられている。時間隔離実験室内で生体リズムがフリーランしている被験者に単発の高照度光パルス(1 or 3時間、5000 or 9000ルクス)を与えて作成された位相反応曲線を基に光によるリズム同調機序を考えると朝方起床後に光を浴びることでリズム同調に必要な位相前進を得ることが可能と考えられる。ここで問題となるのが①リズム同調に対する履歴現象(after effect of entrainment)、②日常生活下での光暴露量、そして③非光同調因子である社会的因子(生活リズム、運動、食事)の概日リズム中枢へのフィードバック作用の関係である。フリーラン環境下で作成された高照度光に対する位相反応曲線は、生体リズムが24時間より長い周期(約25時間)でフリーランしている被験者を対象に作成されたものである。一方、24時間リズムに同調している日常生活下においては、同調の履歴効果(同調のアフターエフェクト)によりフリーラン周期は24時間に近い周期になっていることが想定される。過去に同調の履歴現象の存在を報告した研究<sup>27)</sup>では、フリーラン初期(フリーラン3日目から10日目)の直腸温リズムのフリーラン周期は24.75時間であったが、フリーラン開始から3週間後の深部体温リズムのフリーラン周期は24.84時間にまで延長し、日常生活下ではフリーラン周期が24時間に近い周期に変化していることが推測され、同調に

必要な位相前進量は小さくなっていると考えられる。また、日常生活下での光暴露量は各人の生活リズムや生活環境に依存しており、オフィス勤務者と屋外で働く機会の多い勤務者との間では暴露される光量が大きく異なると考えられ、フリーラン環境下で作成された位相反応曲線では同調に必要なとされる以上の位相前進が生じてしまう可能性も考えられる。先述のとおり Aschoff らが時間隔離実験を開始した当時はヒトの生物時計の主たる同調因子は生活スケジュールのような非光同調因子が想定されていた。そして、北海道大学の本間研一教授(現名誉教授)らの研究グループが実施した一連の時間隔離実験により非光同調因子が睡眠覚醒リズムの同調因子として作用すること、さらに睡眠覚醒リズムから生物時計中枢へのフィードバック経路の存在、運動が生物時計の光同調を強化する可能性が示された。以上のことから、日常生活下でのヒトの生物時計が 24 時間リズムを同調する際にはリズム同調に必要な位相変化量=24 時間の環境周期とフリーラン周期の差、光暴露量、光暴露時間、生活リズムが相互に影響しあっていることが想定され、これらのパラメーターを考慮したさらなる研究が必要である。また、生物時計にみられる個人差であるクロノタイプについても、社会的時差ボケや睡眠負債との関連から注目されているが、クロノタイプのちがいは生物時計のフリーラン周期にもみられることが報告されている。フリーラン周期と光に対する位相反応曲線との関係性について、4 種の夜行性齧歯類を対象に 15 分間の光パルスに対する位相反応曲線を比較した研究では、位相反応曲線の前進相と後退相の大きさはフリーラン周期と密接に関係しており、24 時間リズムの同調に有利になるようなかたちとなることが示されている<sup>28)</sup>。つまり、24 時間より長いフリーラン周期をもつ動物では、位相後退に比べて位相前進相が大きい位相反応曲線となる。今後、クロノタイプのちがいと生物時計の光および非光同調因子に対する反応性のちがいについても研究が展開されていくことが期待される。

### 3) 睡眠覚醒リズムの制御モデル

睡眠覚醒リズムの制御モデルは、1982 年に Borbély らに

より提唱された 2 プロセスモデルがよく知られている<sup>29)</sup>。2 プロセスモデルは、覚醒期間中に蓄積する睡眠物質・睡眠圧であるプロセス S と生物時計中枢により発振されるサーカディアンリズムが睡眠の開始と終了の閾値を決定するプロセス C から構成され、生物時計中枢が睡眠覚醒リズムに影響する一方向性の制御モデルであり、睡眠覚醒リズムから生物時計中枢へのフィードバック経路については存在しないことが前提とされている。さらに、1984 年に Daan と Borbély によりプロセス C の振動幅が変化することで睡眠覚醒リズム(プロセス S)から生物時計中枢(プロセス C)へのフィードバック作用が存在しなくとも時間隔離実験室で観察される内的脱同調をモデルから模倣可能であることが示され、プロセス C の振動幅が変化する条件が追加された<sup>30)</sup>。しかし、2 プロセスモデルが提案された当時より 2 プロセスモデルでは説明不可能な現象の存在が指摘されていた(詳細は参考文献 31 参照)。そして、2016 年に 2 プロセスモデルは大幅な修正がなされることとなり、睡眠覚醒リズムの発振中枢は生物時計中枢ではなく視交叉上核外に存在すること、睡眠覚醒リズムの状態が生物時計中枢に影響するフィードバック経路が存在することを考慮する必要があることが 2 プロセスモデルの提唱者である Borbély ら自身により提示された<sup>32)</sup>。この改訂により 2 プロセスモデルは 2 振動体モデル(図 2)と本質的に同様のモデルになった。本稿内でも紹介した睡眠覚醒スケジュールを強制的に 20 時間あるいは 28 時間周期にする強制脱同調法(FD 法)と被験者を 24 時間以上覚醒(断眠)させた状態で概日リズムを評価するコンスタントルーチン法を用いて得られたフリーラン周期や高照度光に対する位相反応曲線については睡眠覚醒リズムの状態が生物時計に影響した可能性があり、得られた結果について再検討する必要がある。

### 引用文献

- 1) Reppert, S. M., & Weaver, D. R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418(6901), 935–941.
- 2) Jones, C. R., Campbell, S. S., Zone, S. E., Cooper, F., DeSano, A., Murphy, P. J., Jones, B.,

- Czajkowski, L., & Ptáček, L. J. (1999). Familial advanced sleep-phase syndrome: A short-period circadian rhythm variant in humans. *Nature medicine*, 5(9), 1062–1065.
- 3) Jones, S. E., Lane, J. M., Wood, A. R., van Hees, V. T., Tyrrell, J., Beaumont, R. N., Jeffries, A. R., Dashti, H. S., Hillsdon, M., Ruth, K. S., Tuke, M. A., Yaghootkar, H., Sharp, S. A., Jie, Y., Thompson, W. D., Harrison, J. W., Dawes, A., Byrne, E. M., Tiemeier, H., Allebrandt, K. V., ... Weedon, M. N. (2019). Genome-wide association analyses of chronotype in 697,828 individuals provides insights into circadian rhythms. *Nature communications*, 10(1), 343.
- 4) Wever R. A. *The Circadian System of Man, Results of Experiments under Temporal Isolation*. Springer Verlag, New York, 1979.
- 5) 本間研一, 本間さと, 広重力. *生体リズムの研究*. 北海道大学図書刊行会, 1989.
- 6) Czeisler, C. A., Duffy, J. F., Shanahan, T. L., Brown, E. N., Mitchell, J. F., Rimmer, D. W., Ronda, J. M., Silva, E. J., Allan, J. S., Emens, J. S., Dijk, D. J., & Kronauer, R. E. (1999). Stability, precision, and near-24-hour period of the human circadian pacemaker. *Science (New York, N.Y.)*, 284(5423), 2177–2181.
- 7) 本間研一. ヒトの体内時計(1). *時間生物学*. 25(1), 2-9, 2019.
- 8) 本間研一. ヒトの体内時計(2). *時間生物学*. 25(2), 88-98, 2019.
- 9) Lewy, A. J., Wehr, T. A., Goodwin, F. K., Newsome, D. A., & Markey, S. P. (1980). Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science (New York, N.Y.)*, 210(4475), 1267–1269.
- 10) Honma, K., Honma, S., & Wada, T. (1987). Entrainment of human circadian rhythms by artificial bright light cycles. *Experientia*, 43(5), 572–574.
- 11) Honma, K., Honma, S. (1988) A human phase-response curve for bright light pulses. *Jpn J. Psychiatry Neurol.*, 42, 167-168.
- 12) Minors, D. S., Waterhouse, J. M., & Wirz-Justice, A. (1991). A human phase-response curve to light. *Neuroscience letters*, 133(1), 36–40.
- 13) Khalsa, S. B., Jewett, M. E., Cajochen, C., & Czeisler, C. A. (2003). A phase response curve to single bright light pulses in human subjects. *The Journal of physiology*, 549(Pt 3), 945–952.
- 14) Aschoff, J., Fatranská, M., Giedke, H., Doerr, P., Stamm, D., & Wisser, H. (1971). Human circadian rhythms in continuous darkness: entrainment by social cues. *Science (New York, N.Y.)*, 171(3967), 213–215.
- 15) Sack, R. L., Lewy, A. J., Blood, M. L., Keith, L. D., & Nakagawa, H. (1992). Circadian rhythm abnormalities in totally blind people: incidence and clinical significance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 75(1), 127–134.
- 16) Klerman, E. B., Rimmer, D. W., Dijk, D. J., Kronauer, R. E., Rizzo, J. F., 3rd, & Czeisler, C. A. (1998). Nonphotic entrainment of the human circadian pacemaker. *The American journal of physiology*, 274(4 Pt 2), R991–R996.
- 17) Miyazaki, T., Hashimoto, S., Masubuchi, S., Honma, S., & Honma, K. I. (2001). Phase-advance shifts of human circadian pacemaker are accelerated by daytime physical exercise. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 281(1), R197–R205.
- 18) Natsubori, A., Honma, K., & Honma, S. (2014). Dual regulation of clock gene *Per2* expression in discrete brain areas by the circadian pacemaker and methamphetamine-induced

- oscillator in rats. *The European journal of neuroscience*, 39(2), 229–240.
  - 19) Hashimoto, S., Nakamura, K., Honma, S., Honma, K. (2004) Non-photoc entrainment of human rest-activity cycle independent of circadian pacemaker. *Sleep Biol. Rhythms* 2, 29–36.
  - 20) Yamanaka, Y., Hashimoto, S., Tanahashi, Y., Nishide, S. Y., Honma, S., & Honma, K. (2010). Physical exercise accelerates reentrainment of human sleep-wake cycle but not of plasma melatonin rhythm to 8-h phase-advanced sleep schedule. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 298(3), R681–R691.
  - 21) Yamanaka, Y., Hashimoto, S., Honma, A., Honma, S., & Honma, K. I. (2022). A fixed single meal in the subjective day prevents free-running of the human sleep-wake cycle but not of the circadian pacemaker under temporal isolation. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 323(1), R16–R27.
  - 22) Pittendrigh, C.S., Daan, S. (1976) A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. *J. Comp. Physiol.* 106, 333–355.
  - 23) Inagaki, N., Honma, S., Ono, D., Tanahashi, Y., & Honma, K. (2007). Separate oscillating cell groups in mouse suprachiasmatic nucleus couple photoperiodically to the onset and end of daily activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(18), 7664–7669.
  - 24) Yoshikawa, T., Inagaki, N. F., Takagi, S., Kuroda, S., Yamasaki, M., Watanabe, M., Honma, S., & Honma, K. I. (2017). Localization of photoperiod responsive circadian oscillators in the mouse suprachiasmatic nucleus. *Scientific reports*, 7(1), 8210.
  - 25) Wehr T. A. (1991). The durations of human melatonin secretion and sleep respond to changes in daylength (photoperiod). *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 73(6), 1276–1280.
  - 26) Hashimoto, S., Kohsaka, M., Nakamura, K., Honma, H., Honma, S., & Honma, K. (1997). Midday exposure to bright light changes the circadian organization of plasma melatonin rhythm in humans. *Neuroscience letters*, 221(2-3), 89–92.
  - 27) Endo, T., Honma, S., Hashimoto, S., & Honma, K.i (1999). After-effect of entrainment on the period of human circadian system. *The Japanese journal of physiology*, 49(5), 425–430.
  - 28) Daan, S., Pittendrigh, C.S. (1976) A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. II. The variability of phase response curves. *J. comp. Physiol.* 106, 253–266.
  - 29) Borbély A. A. (1982). A two process model of sleep regulation. *Human neurobiology*, 1(3), 195–204.
  - 30) Daan, S., Beersma, D. G., & Borbély, A. A. (1984). Timing of human sleep: recovery process gated by a circadian pacemaker. *The American journal of physiology*, 246(2 Pt 2), R161–R183.
  - 31) 本間研一. (2021) 睡眠・覚醒の調節機構: その謎から臨床へ. *Prog. Med.* 41, 1159-1163.
  - 32) Borbély, A. A., Daan, S., Wirz-Justice, A., & Deboer, T. (2016). The two-process model of sleep regulation: a reappraisal. *Journal of sleep research*, 25(2), 131–143.
- Title:** Fundamental Properties of The Human Circadian System: Results from Experiment Under Temporal Isolation Facility

**Author(s):** Yujiro Yamanaka

**Address(es):** <sup>1)</sup> Laboratory of Life & Health Sciences, Department of Biomedical Sciences, Graduate School of Education and Faculty of Education, Hokkaido University, Sapporo, Hokkaido, 060-0811, Japan.

**Keywords:** Circadian rhythm, Sleep-wake cycle, Chronobiology, Humans