

柳沢 正史

筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構
機構長・教授

光を用いた睡眠の機能と制御機構の統合的解析

§ 1. 研究実施体制

(1)「柳沢」グループ

- ① 研究代表者:柳沢 正史 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構、機構長・教授)
- ② 研究項目
 - ・「眠気」分子可視化技術の開発
 - ・「眠気」分子の *in vivo* イメージング

(2)「櫻井」グループ

- ① 主たる共同研究者:櫻井 武 (筑波大学医学医療系、教授)
- ② 研究項目
 - ・“Slow Neurotransmission”を模倣する新規光遺伝学ツールの開発

(3)「ラザルス」グループ

- ① 主たる共同研究者:ミハエル ラザルス (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構、准教授)
- ② 研究項目
 - ・アデノシン受容体を利用した *in vivo* 光薬理学手法の開発と展開

(4)「林」グループ

- ① 主たる共同研究者:林 悠 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構、准教授)
- ② 研究項目
 - ・光遺伝学と線虫遺伝学を組み合わせた睡眠の生理的作用の解析

(5)「坂口」グループ

- ① 主たる共同研究者:坂口 昌徳 (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構、准教授)
- ② 研究項目
 - ・光遺伝学とメタボローム解析による眠気の化学的実態の同定

(6)「フォクト」グループ

- ① 主たる共同研究者:Kaspar Vogt (筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構、准教授)
- ② 研究項目
 - ・睡眠徐波の制御機構の解明

§ 2. 研究実施の概要

睡眠の理解と制御を目的とした複数の研究プロジェクトが進行している。

【柳沢 G】睡眠制御の分子機構を明らかにしようと、マウスのフォワード・ジェネティクス研究から見出された新規睡眠制御遺伝子 *Sik3* を *Nature* 誌に公表した (Funato, Yanagisawa et al. *Nature* 2016)。SIK3 はリン酸化酵素であり、眠気の細胞内シグナル系を形成していると考えられるものの、SIK3 の活性が睡眠・覚醒サイクルとどう相関するか、どのような因子により SIK3 が駆動するかなど SIK3 の制御メカニズムは不明である。この点を、明らかにするため、SIK3 キナーゼ活性の可視化を目指して、京都大学松田道行教授らと共同で SIK3 活性を検出する蛍光プローブの開発に取り組んでいる。

【櫻井 G】“Slow Neurotransmission”を模倣する新規光遺伝学ツール開発を目指して、モノアミンやペプチドをリガンドとする G タンパク質共役受容体と、フォトプシンのキメラ蛋白質の作製を開始した。コーンオプシン vSWO, vLWO を用いた神経細胞の抑制には成功しており、マウスをもちいて、オレキシンニューロンおよびノルアドレナリンニューロンの抑制が、マウスの恐怖行動の発現に影響することを確認している (投稿中)。さらに、これらとキメラ G タンパク質の共発現による興奮性の操作の可能性を検討中である。

【ラザルス G】*in vivo* 光薬理学手法の開発を目指して、光照射により化学構造が変化し、睡眠誘導作用を獲得するような小化合物の開発を行っている。候補である小化合物の化学的・生物学的性質を調べ、光照射により構造を変化させる位置を見出した。

【林 G】マウスではなく、線虫をモデル動物として睡眠の生理作用を明らかにすることにも取り組んでいる。線虫は、全身が透明なため、生きたまま体内の神経細胞まで容易に光を届けることができる。睡眠中の線虫の神経細胞を光遺伝学により刺激したところ、線虫を強制的に覚醒させることに成功した。この方法は、直接線虫に物理的な刺激を加える必要がなく、刺激そのものによるストレスが低いと期待される。さらに、光刺激の半自動化と多個体の同時睡眠計測の方法も確立できたことで、今後線虫を用いた断眠効果の研究のハイスループット化へとつながることが期待される。

【坂口 G】眠気の化学的実態解明を目指して、メタボロームを用いた研究を進めている。ノンレム睡眠とレム睡眠および覚醒状態において、脳の特定の場所でどのような分子が変動しているかを調べている。

【ラザルス G】睡眠徐波の制御機構の解明を目指し、大脳皮質小領域内のニューロンを光遺伝学的刺激や発火を記録することに成功した。マウスを睡眠状態に維持したまま、光遺伝学的に腹側被蓋野ドパミン神経を操作することにも成功している。

代表的な原著論文

Funato, H., Miyoshi, C., Fujiyama, T., Kanda, T., Sato, M., Wang, Z., Ma, J., Nakane, S., Tomita, J., Ikkyu, A., Kakizaki, M., Hotta-Hirashima, N., Kanno, S., Komiya, H., Asano, F., Honda, T., Kim, S.J., Harano, K., Muramoto, H., Yonezawa, T., Mizuno, S., Miyazaki, S., Connor, L., Kumar, V., Miura, I., Suzuki, T., Watanabe, A., Abe, M., Sugiyama, F., Takahashi, S., Sakimura, K., Hayashi, Y., Liu, Q., Kume, K., Wakana, S., Takahashi,

J.S., Yanagisawa, M., 2016. Forward-genetics analysis of sleep in randomly mutagenized mice. *Nature* 539, 378–383. doi:10.1038/nature20142