

「光の特性を活用した生命機能の時空間制御技術の開発と応用」
平成 28 年度採択研究代表者

H29 年度
実績報告書

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
 - ・睡眠制御因子の可視化

(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／国際統合睡眠医科学研究機構 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)「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

(4)「ラザルス」グループ

- ① 主たる共同研究者:ラザルス ミハエル (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

(5)「フォクト」グループ

- ① 主たる共同研究者:フォクト キヤスパー (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

(6)「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】睡眠の根源である「眠気」の生物学的実態は未解明である。細胞内キナーゼ SIK3 の変異やリン酸化状態は眠気と関連し、眠気の中核を担うと考えられる。この眠気と関連する SIK3 の脳内での実体を解明するため、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を開発した。このプローブの性能評価及び機能改善と並行して、*in vitro* 系による SIK3 が関与する細胞内シグナルの解明、*in vivo* イメージングを可能にするプローブ発現マウスの作製を行った。

【櫻井 G】哺乳類オプシンをもちいた光操作を一過性の神経活動抑制にもちいて、オレキシンから青斑核、および青斑核から扁桃核への神経伝達が、恐怖関連行動の表出に果たす役割を明らかにした (Soya et al. *Nat Commun.*, 2017) ほか、オレキシン欠損マウスにおけるカタプレキシーが、扁桃核外側核のグルタミン酸作動性ニューロンの抑制によってほぼ完全に抑制できることを示した (Hasegawa et al. *PNAS*, 2017)。そのほか、Gs に共役できるオプシンや光で遺伝子発現をコントロールできる Tet-light システム、および生体発光をオプシンの駆動に使用するシステムの開発を行なっている。

【坂口 G】脳局所の機能負荷と睡眠状態の変化を同時に検討することで、眠気の制御に関与する代謝分子の経路の候補を見出した。本経路に存在する幾つかの候補分子は、これまで眠気との相関が示唆されていたものだけでなく、今回新たに眠気との相関が疑われる分子を含んでいる。

【ラザルス G】光操作技術により、モチベーション行動に関連する脳領域・側坐核が有する睡眠誘発効果を発見した (Oishi et al. *Nat Commun.*, 2017)。また、*in vivo* 光薬理学手法の開発において、光照射により化学構造が変化し、活性薬物が放出される新規化合物の合成に成功した。

【フォクト G】ChR2 を用いた大脳皮質の局所的な記録と光操作を実現し、覚醒と徐波睡眠の間の顕著な変化を見出した。引き続きオプトロード記録システムの開発を行っている。また、光遺伝学的に青斑核ニューロンを刺激することにより覚醒レベル、睡眠圧を亢進することに成功した。

【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。本年度は、睡眠中の線虫を光の利用により強制的に覚醒させる技術を開発したことを活かして、睡眠障害がその後のどのような生理的機能に影響を与えるかを解明した。さらに、線虫の睡眠計測と光刺激を自動的に行い、かつ、異常が検出された個体の回収が可能な、高度に自動化したシステムの開発にも成功し、睡眠の必要性に影響を与える遺伝子のスクリーニングに向けた準備を整えた。

代表的な原著論文

Soya, S, Takahashi, MT, McHugh, T, Maejima, T, Herlitz, S, Abe, M, Sakimura, K, Sakurai, T. Orexin modulates Behavioral Fear Expression through the Locus Coeruleus, *Nature Communications*, 2017 Nov 20;8(1):1606. 10.1038/s41467-017-01782-z

Hasegawa, E., Maejima, T., Yoshida, T., Maseck O.A., Herlitze, S., Yoshioka, M., Sakurai, T., Mieda, M. Serotonin neurons of the dorsal raphe mediate the anti-cataplectic action of orexin neurons by reducing the amygdala activity. April 25, 2017 Proc Natl Acad Sci U S A. 114(17):E3526-E3535. 10.1073/pnas.1614552114

Oishi Y, Xu Q, Wang L, Zhang BJ, Takahashi K, Takata Y, Luo YJ, Cherasse Y, Schiffmann SN, de Kerchove d'Exaerde A, Urade Y, Qu WM, Huang ZL, Lazarus M, Slow-wave sleep is controlled by a subset of nucleus accumbens core neurons in mice, Nature Communications, vol. 8, article 734, 2017. 10.1038/s41467-017-00781-4