

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
2016年度採択研究代表者

2020年度 年次報告書

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. 研究成果の概要

柳沢 G は「眠気」の生物学的実態の解明を目標とし、新規睡眠因子 SIK3 キナーゼの活性を検出する蛍光プローブ Eevee-SIK と HyBRET-SIK をオプトバイオ松田グループと共同で開発した。これらのプローブを用い SIK3 を活性化する化合物とニューロン内 SIK3 の新しい動態を発見した。

櫻井 G は OPN4 を用いた新規オプトジェネティクスツールの開発を試みた。従来のチャンネルロドプシンに比べて、OPN4 は刺激に使用するレーザー強度、細胞毒性、効果の持続時間の観点で極めて優れていることを見出した。

坂口 G は眠気の実態の同定と睡眠中の記憶固定化の原理を解明するために、歯状回で睡眠と記憶両方に伴って変化する代謝分子を網羅的に明らかにした。また、レム睡眠中の記憶を固定化することに必要な神経サブタイプを同定した。さらに、睡眠を AI でリアルタイム自動判定する技術を確立した。

ラザルス G は退屈な時の眠気を理解するためにモチベーションや快楽に関与する側坐核による睡眠誘発機能を見出した。また、睡眠を誘発するアデノシン A2A 受容体に注目し、広島大学安倍グループと共同でアデノシン A2A 受容体に対する可視光活性化アロステリック調節薬を開発し、自由行動マウスの睡眠を誘発することに成功した。

フォクト G は光遺伝学的な刺激に対する大脳皮質の応答が覚醒時よりもノンレム睡眠時に大きくなる理由の解明に挑んだ。In vitro と in vivo の実験により、ノンレム睡眠時の神経応答のフィードフォワード阻害の低下が原因であることを示唆する結果を得た。また、in vitro におけるコリン作動性トーンは in vivo の状態を再現していることも示唆された。

林 G は以前、過眠の表現型を示す線虫 rem-5 遺伝子変異を単離した。今年度、この遺伝子のマウスホモログを特異的に破壊したところ睡眠が大きく増加することを見出した。

§ 2. 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、教授)
- ② 研究項目
 - ・代謝向性神経伝達を模倣する新規光遺伝学ツールおよび光で遺伝子発現を制御する新規技術の開発

(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 キャスパー (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 (京都大学 大学院医学研究科、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

【代表的な原著論文情報】

- 1) Takahashi TM, Sunagawa GA, Soya S, Abe M, Sakurai K, Ishikawa K, Yanagisawa M, Hama H, Hasegawa E, Miyawaki A, Sakimura K, Takahashi M, Sakurai T. A discrete neuronal circuit induces a hibernation-like state in rodents. *Nature*. 2020 Jul;583(7814):109–114. doi: 10.1038/s41586-020-2163-6. Epub 2020 Jun 11.
- 2) Kumar D, Koyanagi I, Carrier-Ruiz A, Vergara P, Srinivasan S, Sugaya Y, Kasuya M, Yu TS, Vogt KE, Muratani M, Ohnishi T, Singh S, Teixeira CM, Chérasse Y, Naoi T, Wang SH, Nondhalee P, Osman BAH, Kaneko N, Sawamoto K, Kernie SG, Sakurai T, McHugh TJ, Kano M, Yanagisawa M, Sakaguchi M. Sparse Activity of Hippocampal Adult-Born Neurons during REM Sleep Is Necessary for Memory Consolidation. *Neuron*. 2020 Aug 5;107(3):552–565.e10. doi: 10.1016/j.neuron.2020.05.008. Epub 2020 Jun 4.
- 3) Honda T, Takata Y, Chérasse Y, Mizuno S, Sugiyama F, Takahashi S, Funato H, Yanagisawa M, Lazarus M, Oishi Y. Ablation of Ventral Midbrain/Pons GABA Neurons Induces Mania-like Behaviors with Altered Sleep Homeostasis and Dopamine D₂R-mediated Sleep Reduction. *iScience*. 2020 Jun 26;23(6):101240. doi: 10.1016/j.isci.2020.101240. Epub 2020

Jun 4.

- 4) Miyazaki T, Kanda T, Tsujino N, Ishii R, Nakatsuka D, Kizuka M, Kasagi Y, Hino H, Yanagisawa M. Dynamics of Cortical Local Connectivity during Sleep–Wake States and the Homeostatic Process. *Cereb Cortex*. 2020 Jun 1;30(7):3977–3990. doi: 10.1093/cercor/bhaa012.
- 5) Carrier–Ruiz A, Sugaya Y, Kumar D, Vergara P, Koyanagi I, Srinivasan S, Naoi T, Kano M, Sakaguchi M. Calcium imaging of adult–born neurons in freely moving mice. *STAR Protoc*. 2020 Dec 31;2(1):100238. doi: 10.1016/j.xpro.2020.100238. eCollection 2021 Mar 19.