

概日周期と睡眠制御研究のフロンティア

名古屋市立大学大学院薬学研究科

神経薬理学分野

桑 和彦

2018/ 8/19

睡眠障害相談室

[http:// sleepclinic.jp](http://sleepclinic.jp)



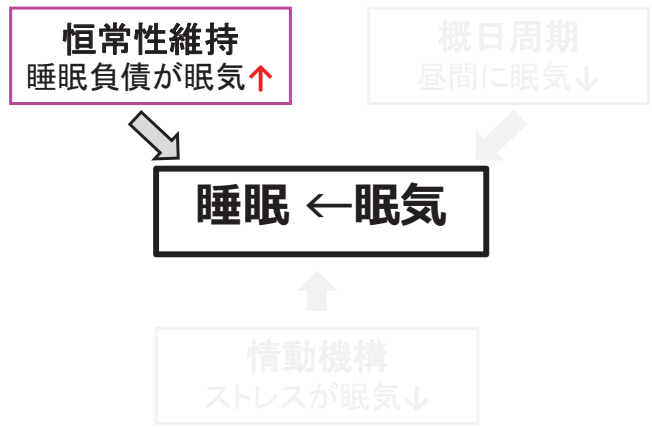
2000年12月開設

アクセス150万回

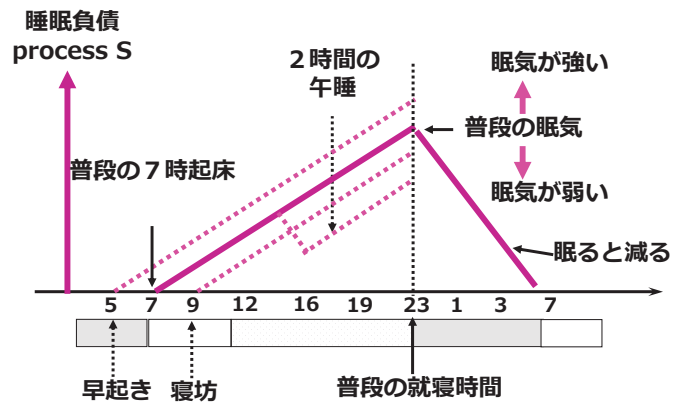
相談件数：  
2000件以上

2

睡眠(≒眠気)の制御因子



睡眠負債 sleep debt による眠気

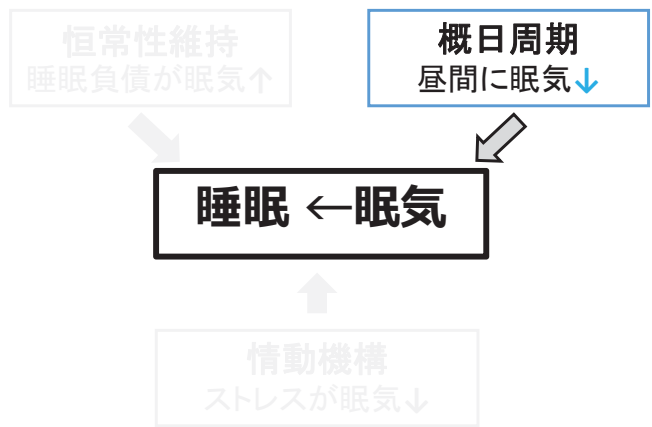


アウトライン

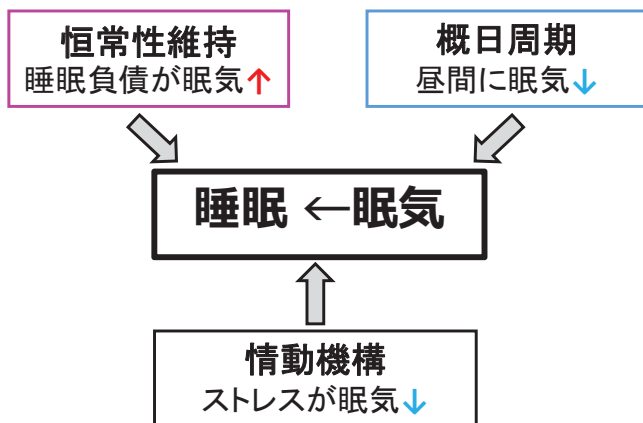
- 概日周期(体内時計)と睡眠制御
  - 二過程モデル：概日周期と睡眠の関係の原点
- 概日周期睡眠障害と睡眠相後退症候群の治療
- 細胞機能としての概日周期研究
  - 時計遺伝子による分子レベルでの制御
- 細胞レベルの睡眠研究
  - 神経細胞一個で説明する睡眠という現象

3

睡眠(≒眠気)の制御因子



睡眠(≒眠気)の制御因子



概日周期とは何か？その発見

最初は、17世紀に植物で発見された

ドメラン：

オジギソウ(ミモザ)の日周期運動の発見  
暗い箱に入れても、開閉する

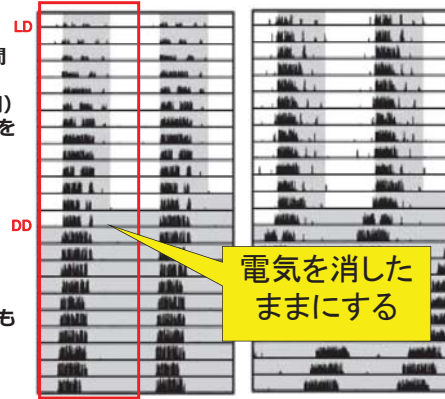
昆虫の羽化も、暗くしても、早朝羽化の、  
周期が保たれることなどが見つかった

8

# 概日周期(サーカディアンリズム)とは

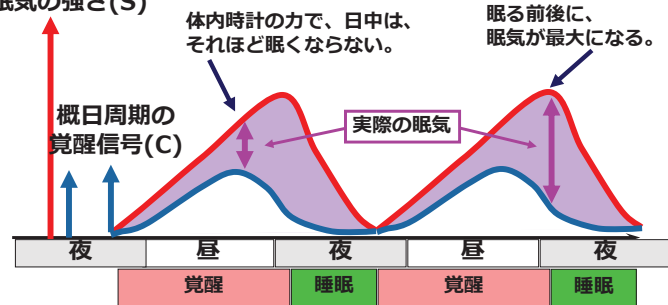
- 約24時間周期  
サーカ = 約(概)  
ディアン = 1日=24時間
- 調節可能性(環境に同期)  
光などにより、進み遅れを調節できる
- 自律性  
外部環境が一定でも、  
時を刻み続ける
- 温度補償性  
体温・環境温が変わっても  
同じ周期を保つ

2匹のマウス(夜行性)の運動リズム



# (簡易型) 二過程モデル

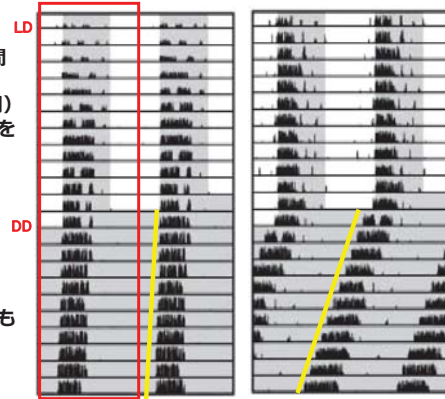
睡眠負債による  
眠気の強さ(S)



# 概日周期(サーカディアンリズム)とは

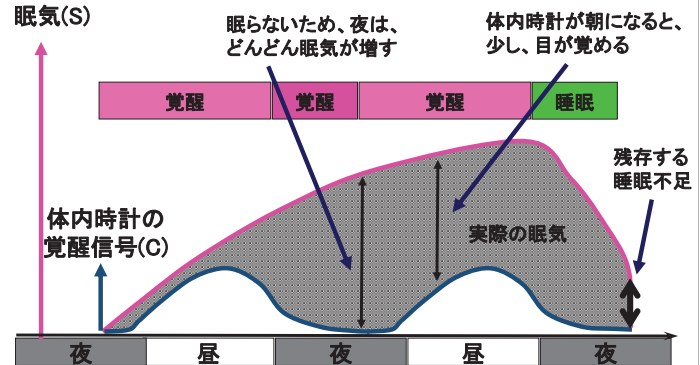
- 約24時間周期  
サーカ = 約(概)  
ディアン = 1日=24時間
- 調節可能性(環境に同期)  
光などにより、進み遅れを調節できる
- 自律性  
外部環境が一定でも、  
時を刻み続ける
- 温度補償性  
体温・環境温が変わっても  
同じ周期を保つ

2匹のマウス(夜行性)の運動リズム

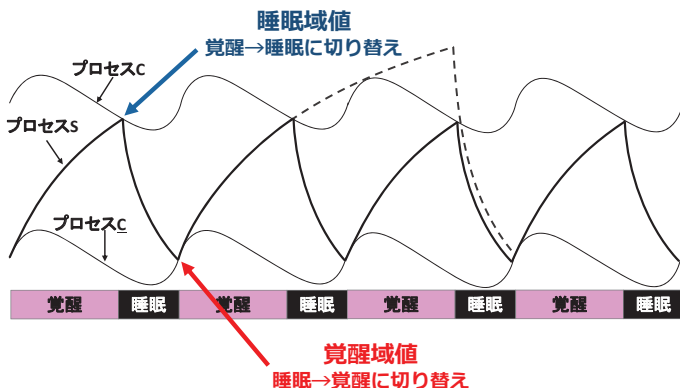


# 徹夜明けに、すっきりする理由

睡眠不足の(=起きていることによる)

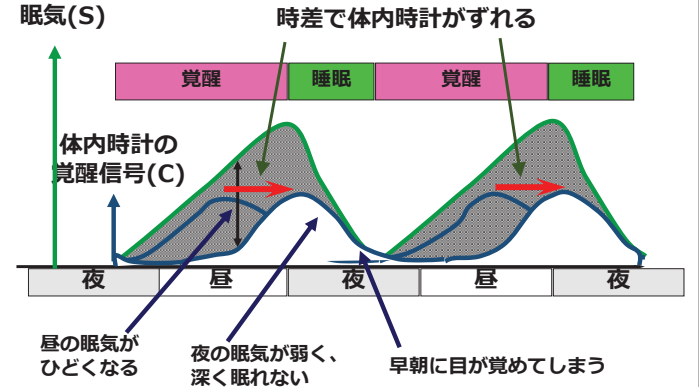


# Two Process Model (Borbely, 1982)

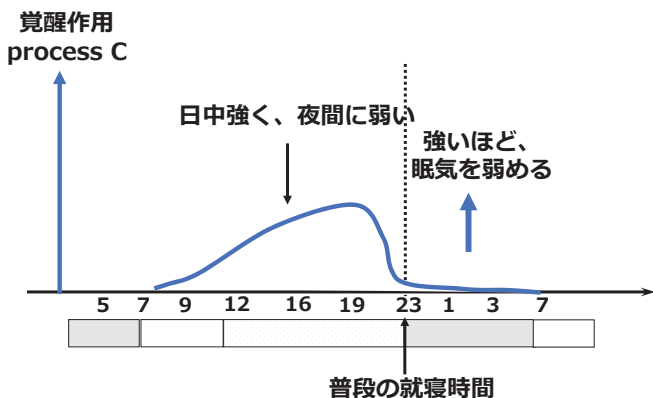


# 体内時計のずれ = 時差ぼけ

睡眠不足の(=起きていることによる)



# 概日周期生物時計の覚醒作用

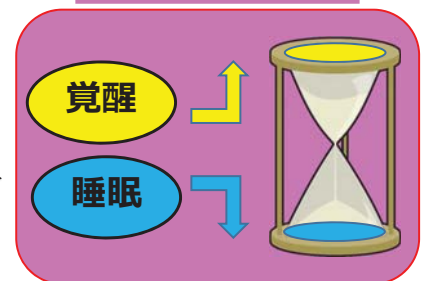


# 2種類の制御系: 2過程モデル

## 概日周期機構



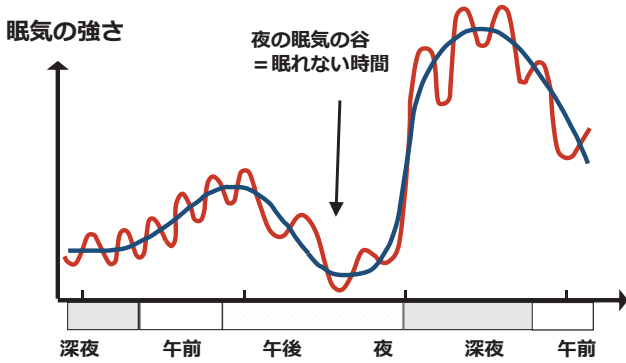
## 恒常性維持機構



## 二過程モデルの問題点 1 = 波が1回

実際の眠気の変動は、もっと複雑

## 大波, 中波, 小波... 眠気の複雑な変化



## 二つの資料

専門家向け

- 良い睡眠リズムの整え方 (v 2.0)  
~睡眠覚醒相後退障害の治療法~

<http://k-net.org/dswpd.html>

一般向け (特に学生)

- 朝起きるのが辛いことや、授業中眠いことに悩んでいる君へ

<http://bit.ly/SLEEPy>

## アウトライン

- 概日周期(体内時計)と睡眠制御
  - 二過程モデル: 概日周期と睡眠の関係の原点
- 概日周期睡眠障害と睡眠相後退症候群の治療
- 細胞機能としての概日周期研究
  - 時計遺伝子による分子レベルでの制御
- 細胞レベルの睡眠研究
  - 神経細胞一個で説明する睡眠という現象

## 睡眠日誌によるチェック

睡眠表は、睡眠障害相談室HPにあります

<http://bit.ly/Sleeplog>

### 睡眠日誌 : 名前 ( )

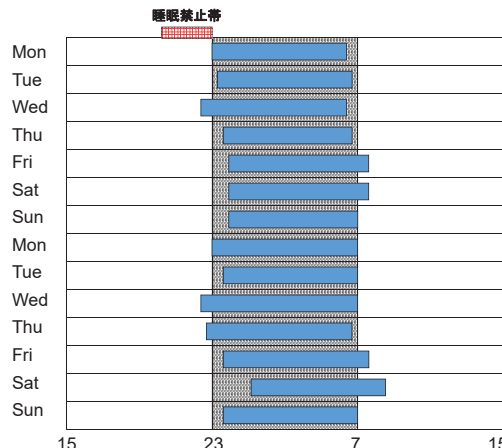
記録日時	ベッド/ふとんに入っていた時間														寝付くまでの時間	睡眠時間	起床回数	中途覚醒回数	目覚めの良さ	熟睡感など
	平成 年	月	日	時	分	秒	時	分	秒	時	分	秒	時	分						
月 日 ( )																				
月 日 ( )																				
月 日 ( )																				
月 日 ( )																				
月 日 ( )																				
月 日 ( )																				
月 日 ( )																				
月 日 ( )																				
月 日 ( )																				
月 日 ( )																				
月 日 ( )																				
月 日 ( )																				
月 日 ( )																				

### 睡眠日誌 : 名前 ( )

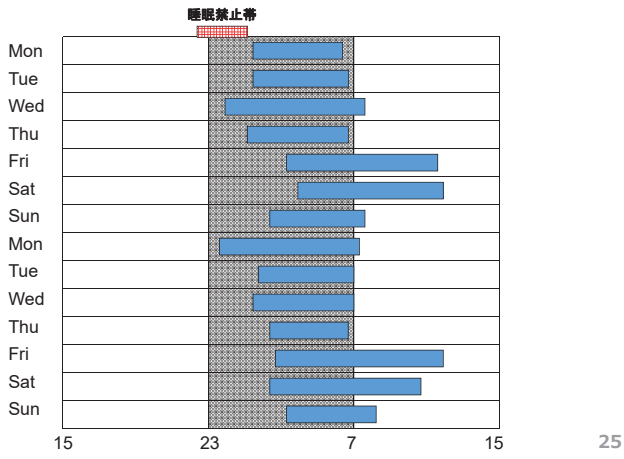
記録日時	ベッド/ふとんに入っていた時間														寝付くまでの時間	睡眠時間	起床回数	中途覚醒回数	目覚めの良さ	熟睡感・その他	
	平成 年	月	日	時	分	秒	時	分	秒	時	分	秒	時	分							秒
11月13日(水)																60分	11時間	分	3	悪い	
11月14日(木)																0分	8時間	分	0	良い	
11月15日(金)																0分	6時間	分	0	良い	
11月16日(土)																5分	12時間	分	1	良い	
11月17日(日)																0分	16時間	分	5	悪い	
11月18日(月)																0分	7時間	分	0	良い	
11月19日(火)																60分	12時間	分	5	悪い	
11月20日(水)																30分	9時間	分	9	良い	
11月21日(木)																0分	12時間	分	3	悪い	
11月22日(金)																0分	10時間	分	3	悪い	
11月23日(土)																0分	9時間	分	1	悪い	
11月24日(日)																0分	16時間	分	5	悪い	
11月25日(月)																5分	12時間	分	5	悪い	
11月26日(火)																60分	7時間	分	3	悪い	

1. ベッド(ふとん)に入っていた時間を録り(5分単位)で、寝付くまでにかかった時間(5分単位)を次の欄に記録して、睡眠時間(90分単位で良い)を計算して下さい。  
2. 途中で目が覚めたり、トイレに行った場合は、その回数も、中途覚醒回数の欄に記入して下さい。  
3. 目覚めの良さは、良い・普通・悪い・特に悪い・寝たなど、その評価で、記入して下さい。  
4. その他には、寝りに関係したこと(朝起きてコーヒーを飲んだ、普段より運動が多かった、寝たなど)を何でも記録して下さい。

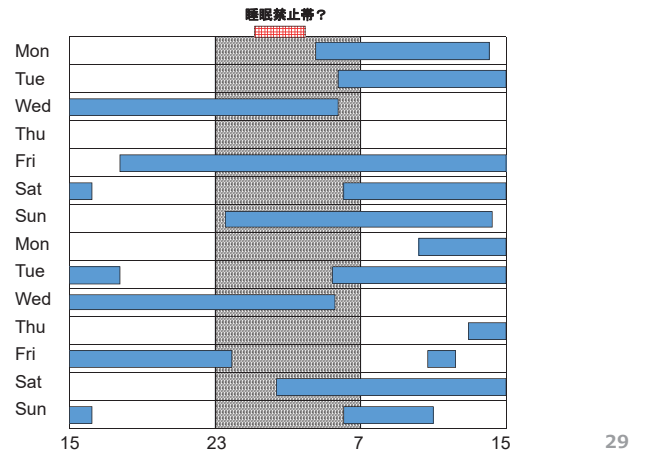
## 正常な睡眠リズム



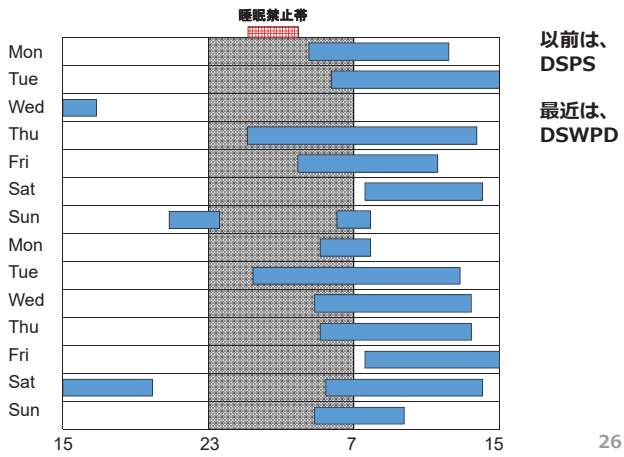
## 不適切な睡眠リズム：社会的時差



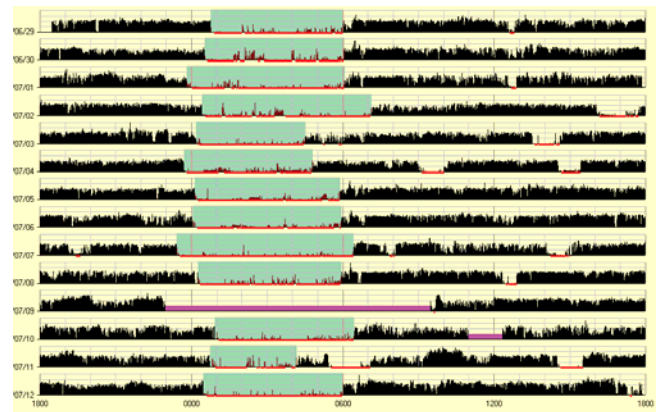
## 不規則型睡眠覚醒リズム



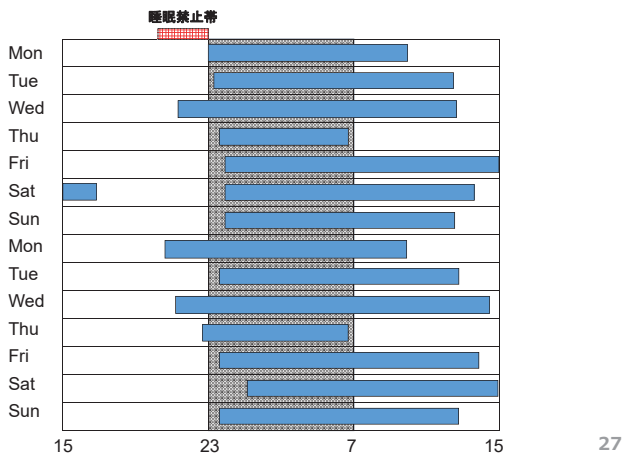
## 昼夜逆転：睡眠覚醒相後退障害



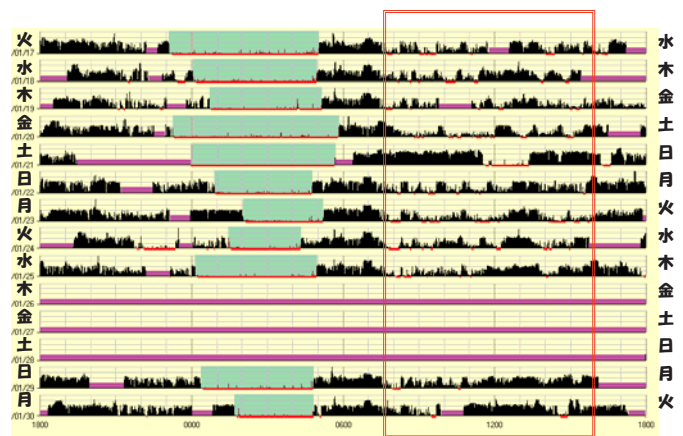
## アクチグラフを使った睡眠記録



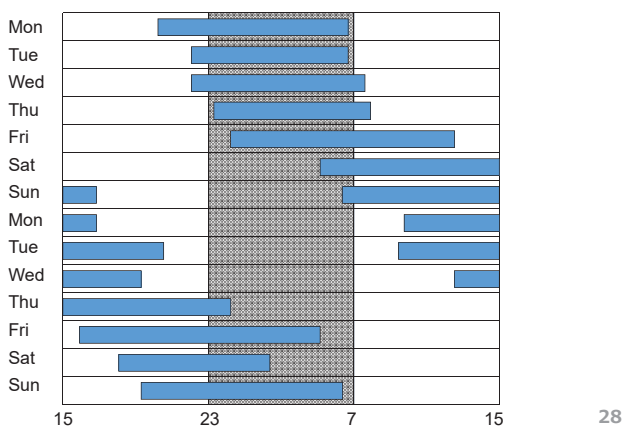
## 睡眠時間延長：長時間睡眠者



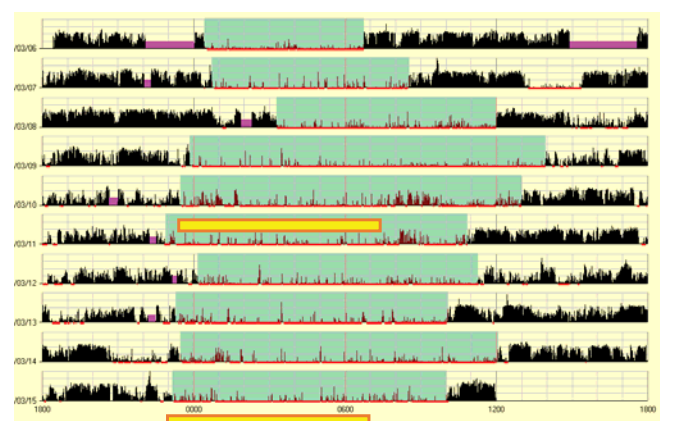
## 睡眠不足症候群 17歳



## フリーラン：非24時間型睡眠覚醒障害

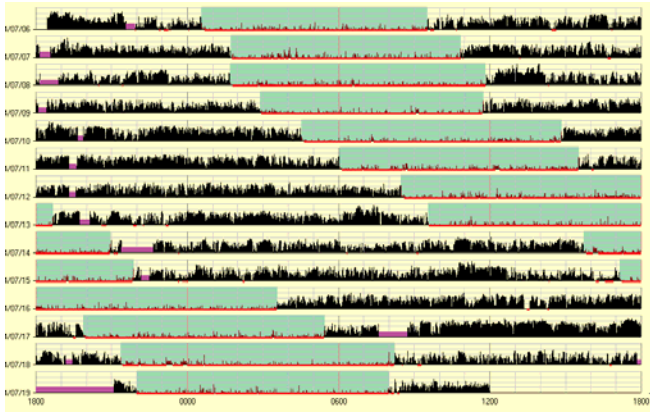


## 長時間睡眠型 (17歳男性、高校生)





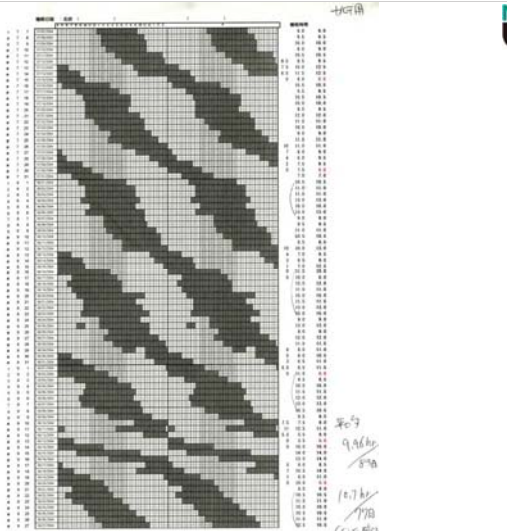
非24時間型 (18歳男性、高校生)



睡眠覚醒相後退障害の治療



体内時計の制御  
リズムの合わせ方



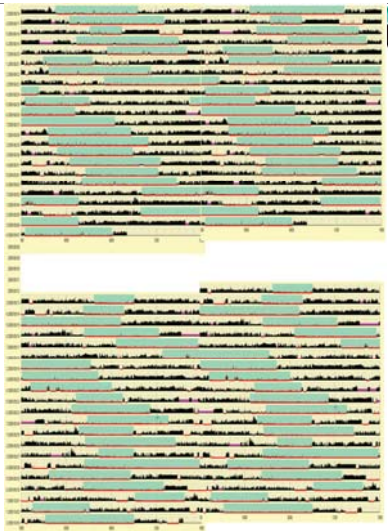
光で調節

朝だけでなく、夜も注意

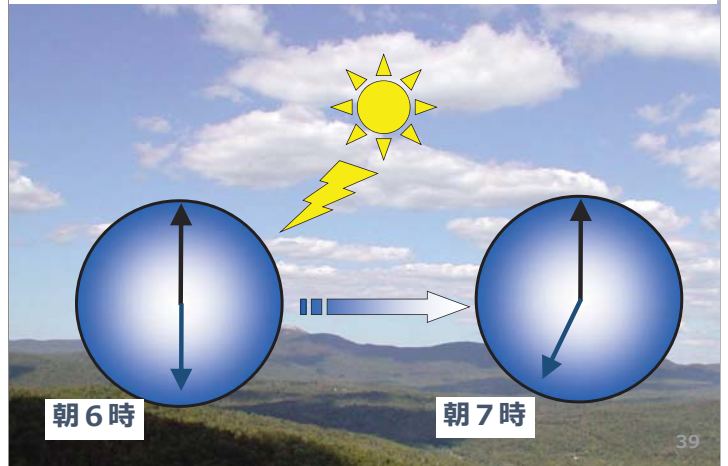
治療前

治療が部分的に  
奏功した  
非24時間型  
睡眠覚醒障害例

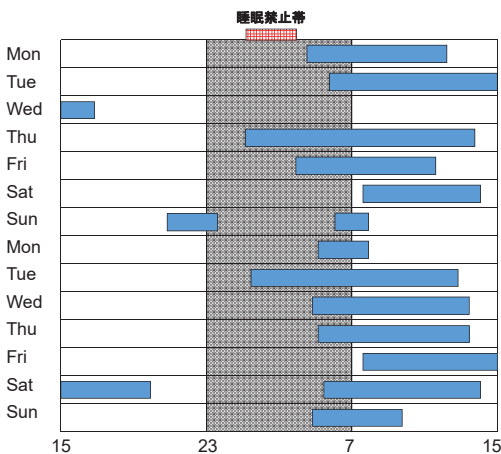
治療後



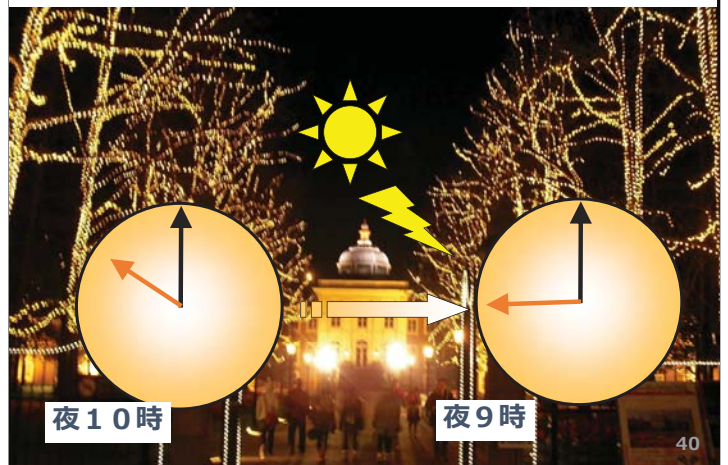
朝の光 → 時計の針を進める



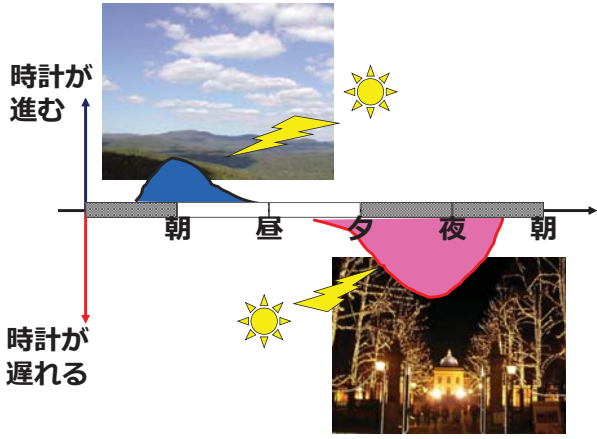
昼夜逆転：睡眠覚醒相後退障害



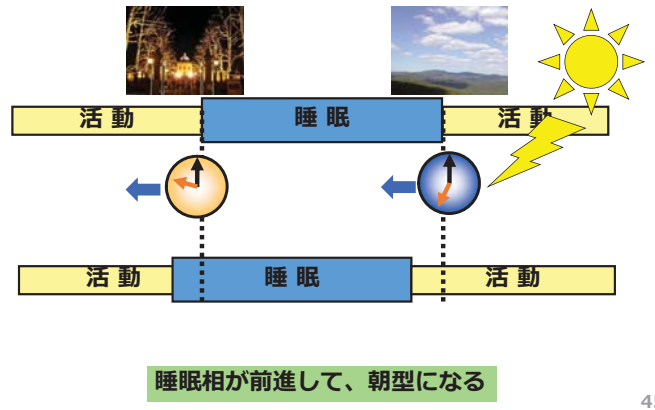
夜の光 → 時計の針を遅らせる



# 体内時計の光によるリセット

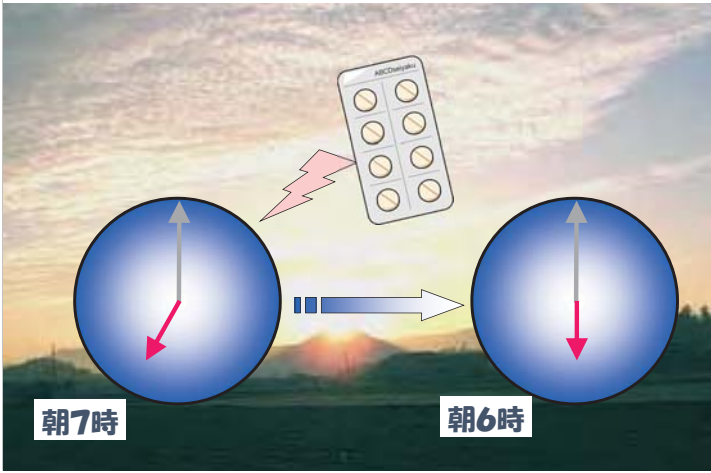


# 時計の針と睡眠の関係：朝の光



睡眠相が前進して、朝型になる

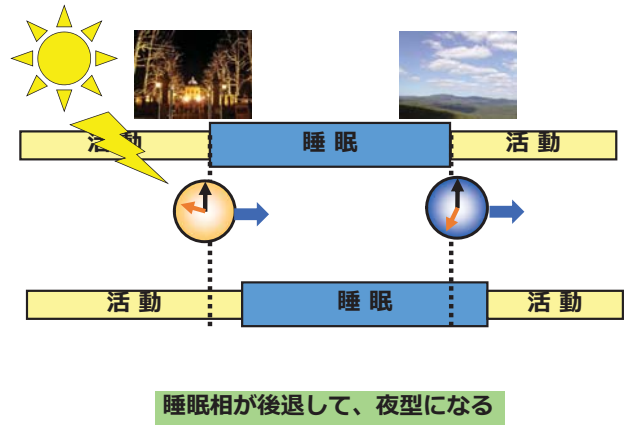
# 朝のメラトニン → 時計の針を遅らせる



朝7時

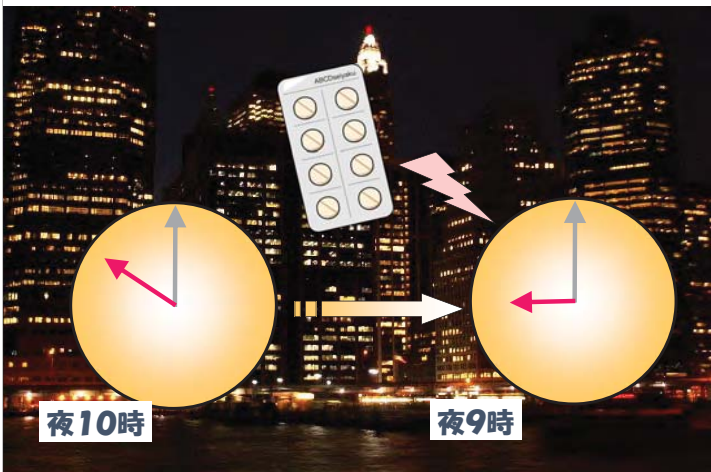
朝6時

# 時計の針と睡眠の関係：夜の光



睡眠相が後退して、夜型になる

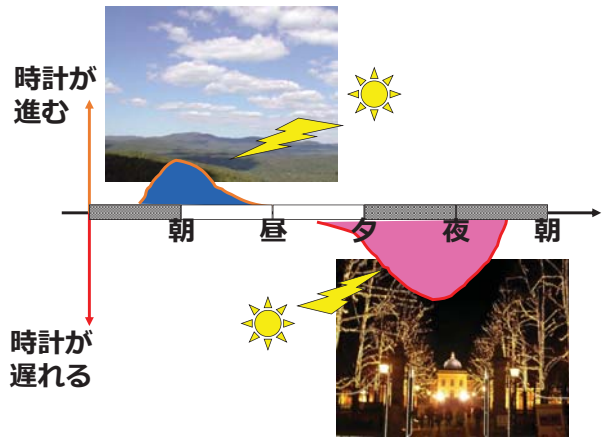
# 夜のメラトニン → 時計の針を進める



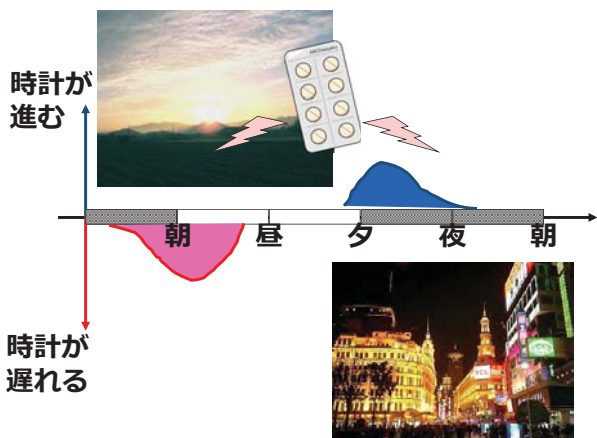
夜10時

夜9時

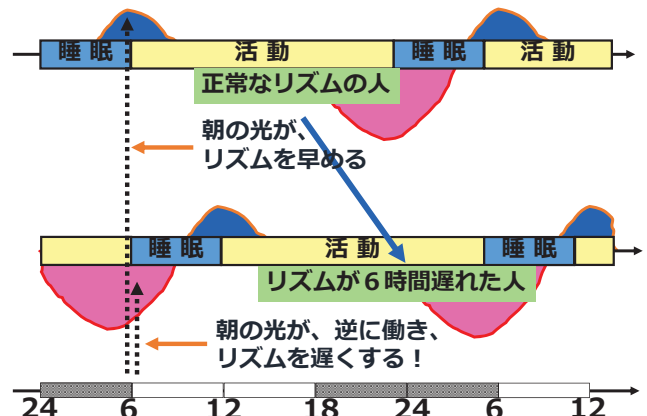
# ここで大事なものは・・・



# メラトニンによる調節（光と逆位相）



# その人の朝に、光が当たるのが重要



正常なリズムの人

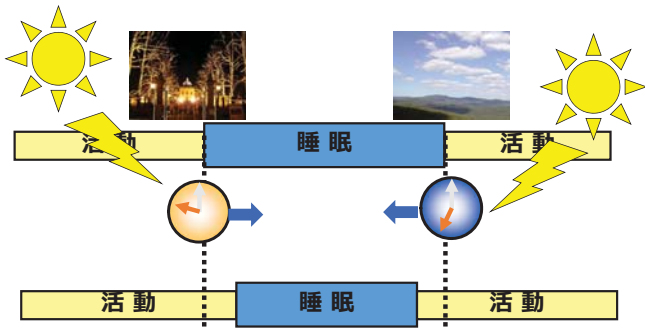
朝の光が、リズムを早める

リズムが6時間遅れた人

朝の光が、逆に働き、リズムを遅くする！



## 光に朝晩当たると 睡眠が短くなる



睡眠相が短縮して、睡眠不足になる

49

## アウトライン

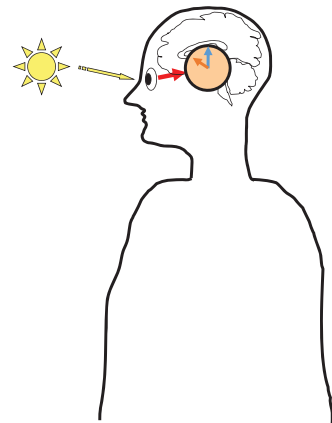
- 概日周期(体内時計)と睡眠制御
  - 二過程モデル：概日周期と睡眠の関係の原点
- 概日周期睡眠障害と睡眠相後退症候群の治療
- 細胞機能としての概日周期研究
  - 時計遺伝子による分子レベルでの制御
- 細胞レベルの睡眠研究
  - 神経細胞一個で説明する睡眠という現象

53

朝（起きる時間）に  
光に当たる、だけではなく  
夜（眠る時間の前）に  
光に当たらないことが、重要！

50

## 脳の中に時計がある



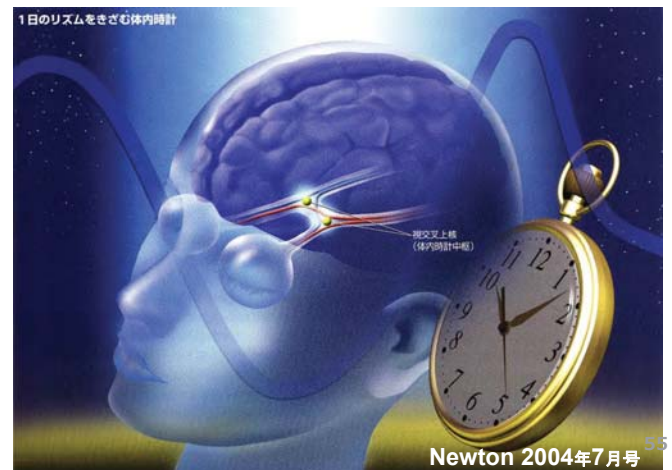
54

## アリピプラゾールの話題

- 最近、DSWPD への少量アリピプラゾール（エビリファイ）療法が話題
  - 夕方 1mg 投与で、寝つき・起床を改善
  - 即効性があり1週間程度でリズムが戻る
  - 効果が高く、8~9割で改善する(らしい)
  - DPA: ドーパミンパーシャルアゴニスト
  - DSS: ドーパミンシステムスタビライザー
- ↓
- 少量では睡眠を短くする作用がある
  - 副作用に注意。睡眠衛生指導は必須

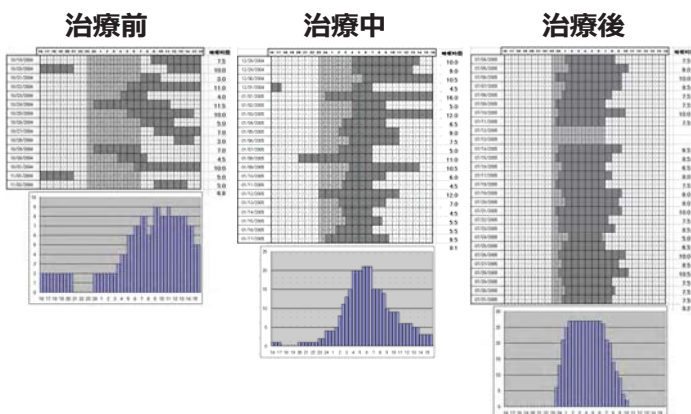
51

## 体内時計の中枢



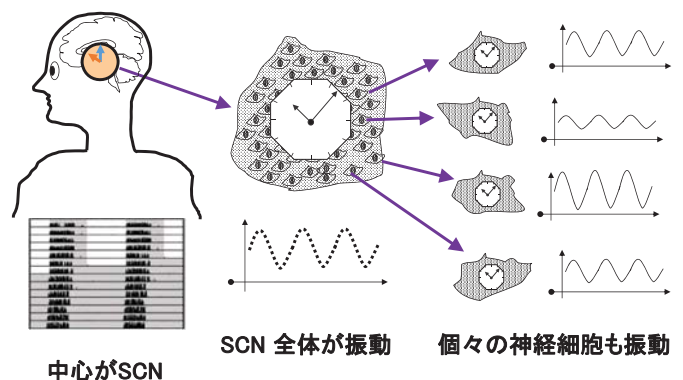
55

## 睡眠相後退症候群



NC

## 生物時計の構成



中心がSCN

SCN 全体が振動

個々の神経細胞も振動

神経細胞1個にも、時計がある！

56

# 時計は、個々の細胞レベルで作られる

その仕組みは？

## 時計遺伝子発見の歴史

1971 ショウジョウバエ *Period* 変異の発見(ベンザー)

1984 ショウジョウバエ *Period* 遺伝子クローニング

ヤング+ジャクソン  
ホール+ロスバッシュ

1995 ショウジョウバエ *Timeless* 遺伝子クローニング  
ヤング+セーガル

1997 マウス *Clock, Period* 遺伝子クローニング  
タカハシ

1998 ショウジョウバエ *Clock, Cycle* 遺伝子クローニング  
ホール+ロスバッシュ

1999 マウス *Cryptochrome* 遺伝子クローニング  
レパート+桑

## ノーベル医学生理学賞 2017



ジェフ・ホール  
ボストン  
ブランダイス大学

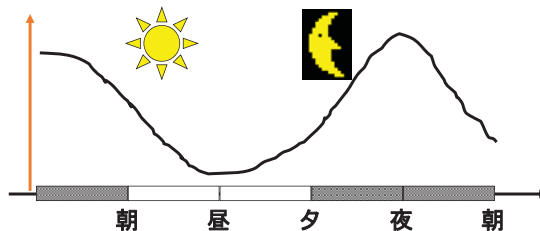
マイケル・ロスバッシュ  
ボストン  
ブランダイス大学

マイケル・ヤング  
ニューヨーク  
ロックフェラー大学

## 生物時計の時計の針

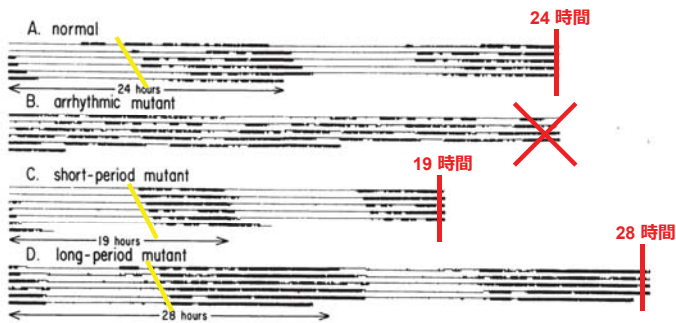
時計の針は、時計遺伝子のタンパク質の量！

ピリオド遺伝子  
タンパク質量



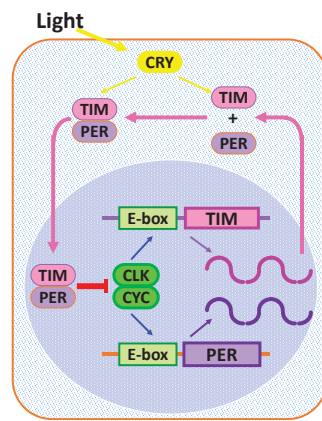
## 概日周期体内時計の異常の発見

ピリオド *Period* 遺伝子変異の最初の論文の図



Konpka RJ & Benzer S, Proc. Nat. Acad. Sci. 68, 2112-6 (1971) 59

## 時計遺伝子が振動を作る



ショウジョウバエ

ノーベル賞につながる  
4つの時計遺伝子

ポジティブ因子  
CLK / CYC

ネガティブ因子  
PER / TIM

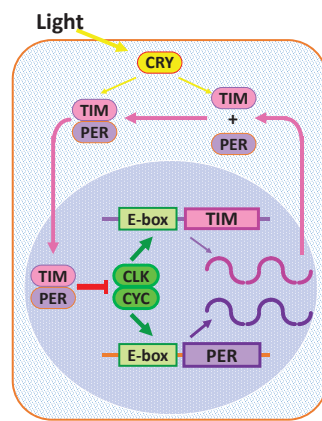
## ベンザー と コノプカ (+堀田) の発見

一つの遺伝子が、一つの行動を制御できることを、最初に示したのがベンザー  
その材料が、ショウジョウバエ

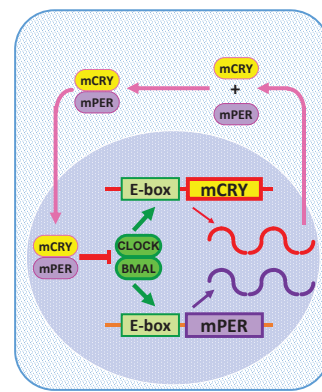
- ・ シーモア・ベンザーの業績：
- ・ 時間 => 概日周期
- ・ 愛 => 交尾 (求愛) 行動
- ・ 記憶 => 学習行動



## 昆虫もヒトも、ほぼ同じ仕組み



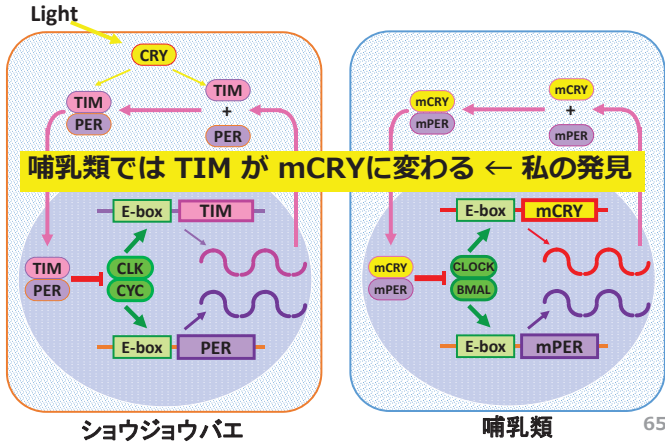
ショウジョウバエ



哺乳類



# 昆虫もヒトも、ほぼ同じ仕組み



ショウジョウバエ

哺乳類

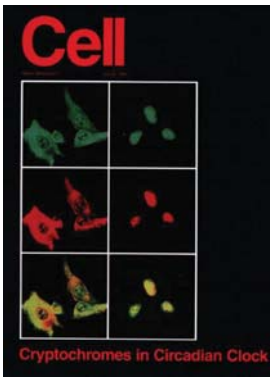
# 体中にある体内時計



# 哺乳類の時計遺伝子の機能解析



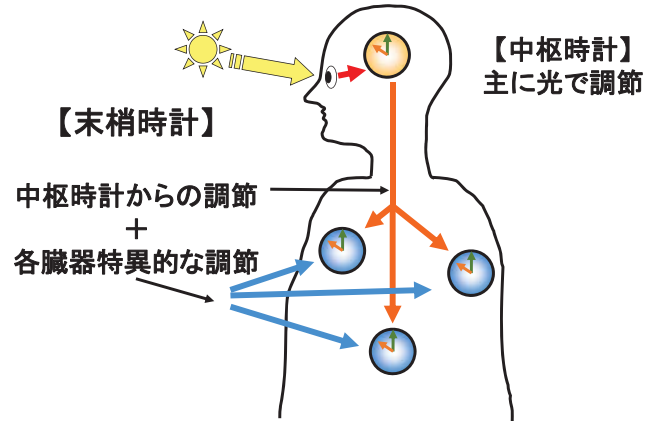
哺乳類のクリプトクロームが時計遺伝子であることを発見 (Kume et al. Cell, 1999)



BMAL1がクリプトクロームと反対位相で振動することを発見 (Shearman et al. Science, 2000)



# 中枢時計と末梢時計の関係

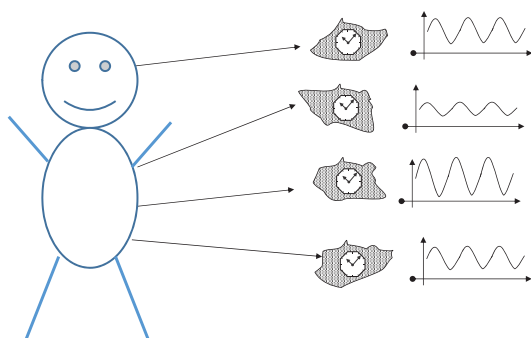


# 時計遺伝子発見の最大のインパクト

身体の全ての細胞に時計がある!

# 概日周期は、細胞一個の現象である

# 生物時計の構成



どんな細胞にも、時計がある!

# では、睡眠はどのレベルの現象か?

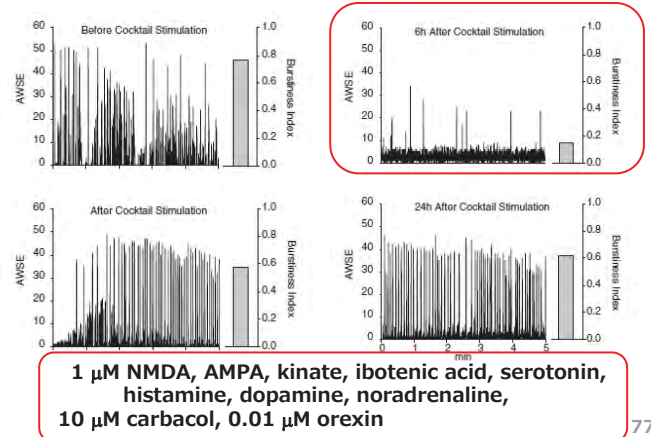
細胞?、細胞間(シナプス)、局所回路、全脳

## アウトライン

- 概日周期(体内時計)と睡眠制御
  - 二過程モデル：概日周期と睡眠の関係の原点
- 概日周期睡眠障害と睡眠相後退症候群の治療
- 細胞機能としての概日周期研究
  - 時計遺伝子による分子レベルでの制御
- 細胞レベルの睡眠研究
  - 神経細胞一個で説明する睡眠という現象

73

## 覚醒カクテル刺激？



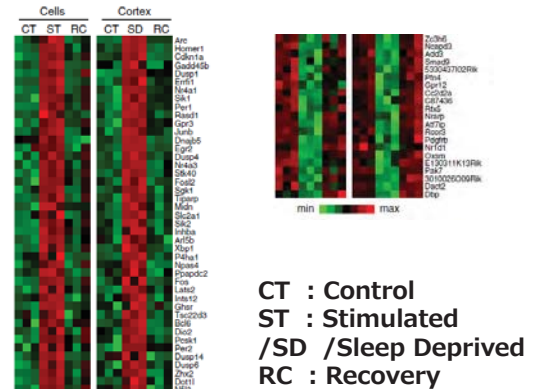
77

## 細胞レベルの睡眠研究

睡眠時の同期性に着目

74

## 断眠マウスの脳と遺伝子発現比較



78

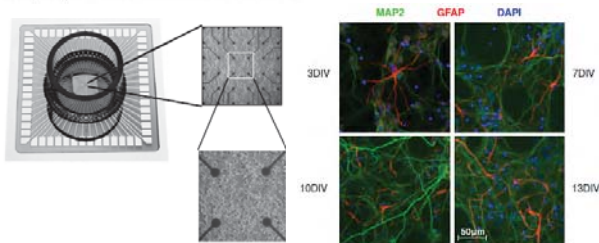
## 神経細胞レベルでの睡眠？

Key Electrophysiological, Molecular, and Metabolic Signatures of Sleep and Wakefulness Revealed in Primary Cortical Cultures

J. Neurosci. 32:12506 (2012)

Valerie Hinard,<sup>1</sup> Cyril Mikhail,<sup>1</sup> Sylvain Pradervand,<sup>2</sup> Thomas Curie,<sup>1</sup> Rieckelt H. Houtkooper,<sup>1</sup> Johan Auwerx,<sup>3</sup> Paul Franken,<sup>1</sup> and Mehdi Tafti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Center for Integrative Genomics and <sup>2</sup>The Genomic Technology Facility, University of Lausanne, and <sup>3</sup>Laboratory for Integrative and Systems Physiology, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, CH-1015 Lausanne, Switzerland



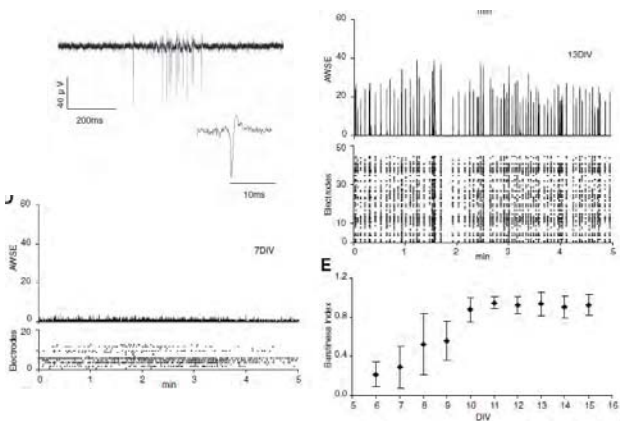
75

## 意外な方向への発展：脳脊髄液の変化

覚醒条件では、細胞外液のイオンが変化  
→より生理的条件での研究

79

## 培養神経が同期発火を始める



76

## 細胞外液イオン変化が睡眠状態を作る

SCIENCE

SLEEP RESEARCH

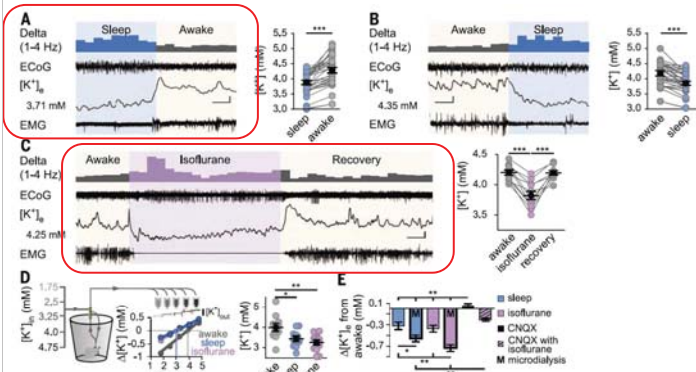
Changes in the composition of brain interstitial ions control the sleep-wake cycle

Fengfei Ding,<sup>1,2\*</sup> John O'Donnell,<sup>1\*</sup> Qiwu Xu,<sup>1</sup> Ning Kang,<sup>1</sup> Nanna Goldman,<sup>1</sup> Maiken Nedergaard<sup>1,3,†</sup>

Ding et al. Science 352, 550, 2016

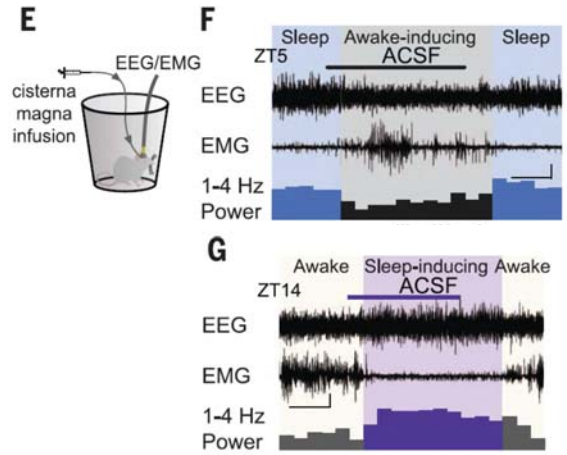
80

## 覚醒中は、個体内でも[K<sup>+</sup>]が増加



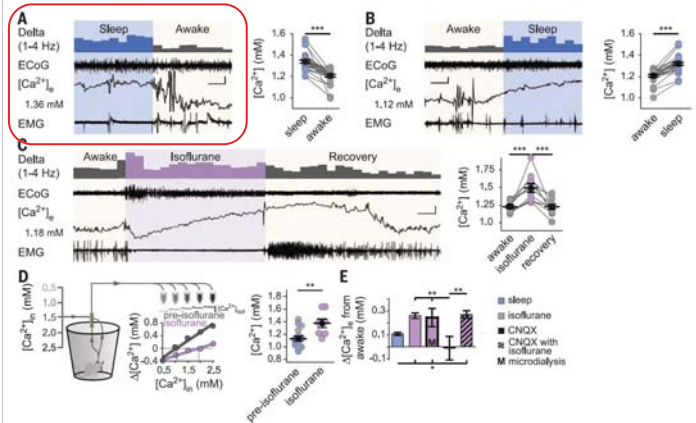
81

## 髄液のイオン変化が、睡眠覚醒を誘導



85

## 覚醒中は、細胞外[Ca<sup>2+</sup>]が減少



82

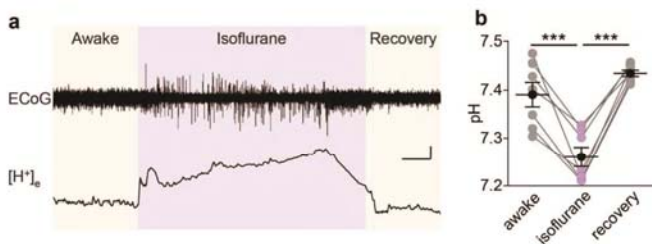
これは、グリンファティックシステムを提唱したグループの研究です

86

## 眠ると、pHは下がった！

- 麻酔により、覚醒時 pH 7.39 → 7.26
- つまり、眠ると、[K<sup>+</sup>]↓ [Ca<sup>2+</sup>]↑ [H<sup>+</sup>]↑

Fig. S3



83

## Glymphatic system

睡眠中、脳内の脳脊髄液灌流量が60%増え、新陳代謝産物のクリアランスが増加する。脳はリンパ系がなく、睡眠中、グリア細胞(アストロサイト)が変形/縮小して、灌流を増やす。

→グリアが作るリンパ系=グリンファティックと命名

SCIENCE VOL 342 18 OCTOBER 2013

## Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain

Lulu Xie,<sup>1\*</sup> Hongyi Kang,<sup>1\*</sup> Qiwu Xu,<sup>1</sup> Michael J. Chen,<sup>1</sup> Yonghong Liao,<sup>1</sup> Meenakshisundaram Thiagarajan,<sup>1</sup> John O'Donnell,<sup>1</sup> Daniel J. Christensen,<sup>1</sup> Charles Nicholson,<sup>2</sup> Jeffrey J. Iliff,<sup>1</sup> Takahiro Takano,<sup>1</sup> Rashid Deane,<sup>1</sup> Maiken Nedergaard<sup>1†</sup>

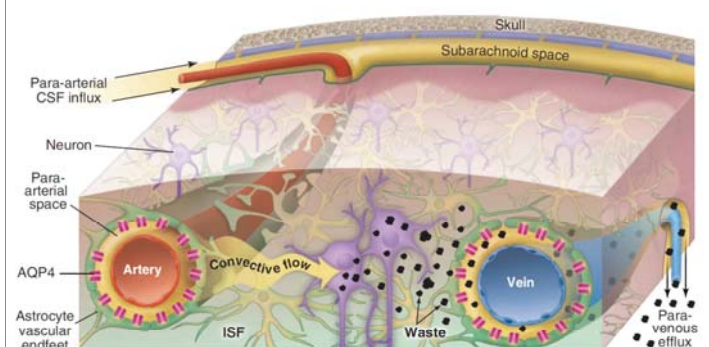
Xie et al. Science 342 (2013)

87

単なる結果ではない。

睡眠覚醒状態を変える原因ともなる

## Glymphatic = glia + lymphatic



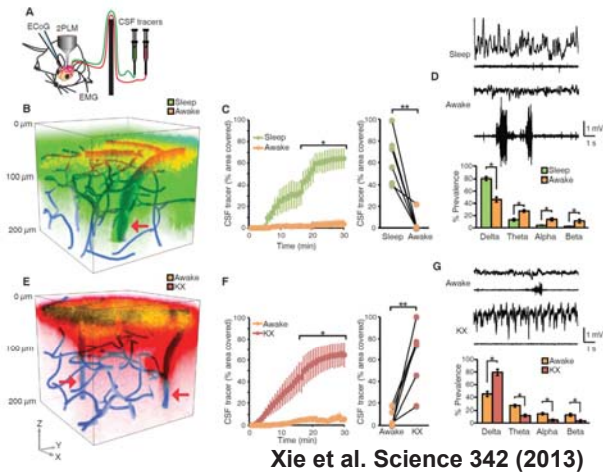
Go with the flow. Convective glymphatic fluxes of CSF and ISF propel the waste products of neuron metabolism into the paravenous space, from which they are directed into lymphatic vessels and ultimately return to the general circulation for clearance by the kidney and liver.

Xie et al. Science 342 (2013)

84



## CSF→脳内の物質移行が睡眠中増加



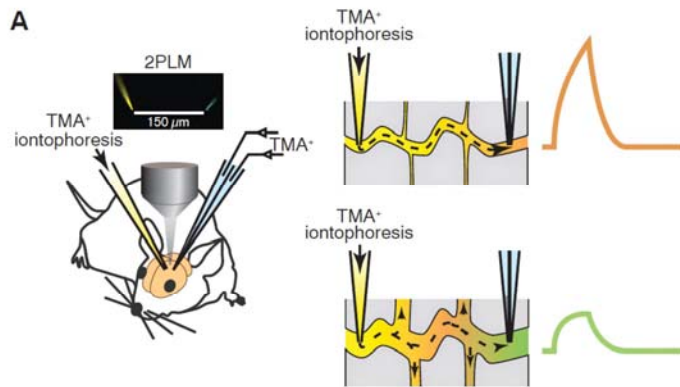
Xie et al. Science 342 (2013)

89

## モデル細胞のシミュレーション研究



93



Xie et al. Science 342 (2013)

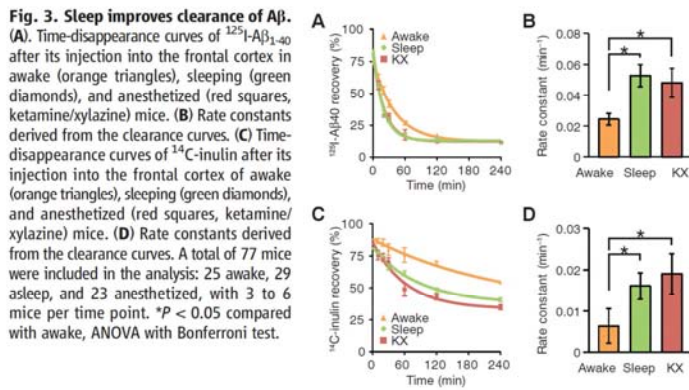
90

## 理論モデルからの研究 細胞内カルシウムイオンの役割

東大・上田研

94

## Aβのクリアランスが睡眠で増加



Xie et al. Science 342 (2013)

91

## 細胞内[Ca<sup>2+</sup>]の増加が睡眠を作る



### Involvement of Ca<sup>2+</sup>-Dependent Hyperpolarization in Sleep Duration in Mammals

Fumiya Tatsuki,<sup>1,5</sup> Genshiro A. Sunagawa,<sup>2,5</sup> Shoi Shi,<sup>1,5</sup> Etsuo A. Susaki,<sup>1,2,5</sup> Hiroko Yukinaga,<sup>2,5</sup> Dimitri Perrin,<sup>2,4,5</sup> Kenta Sumiyama,<sup>3</sup> Maki Ukai-Tadenuma,<sup>2</sup> Hiroshi Fujishima,<sup>2</sup> Rei-ichiro Ohno,<sup>1</sup> Daisuke Tone,<sup>1</sup> Koji L. Ode,<sup>1,2</sup> Katsuhiko Matsumoto,<sup>2</sup> and Hiroki R. Ueda<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Systems Pharmacology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033.

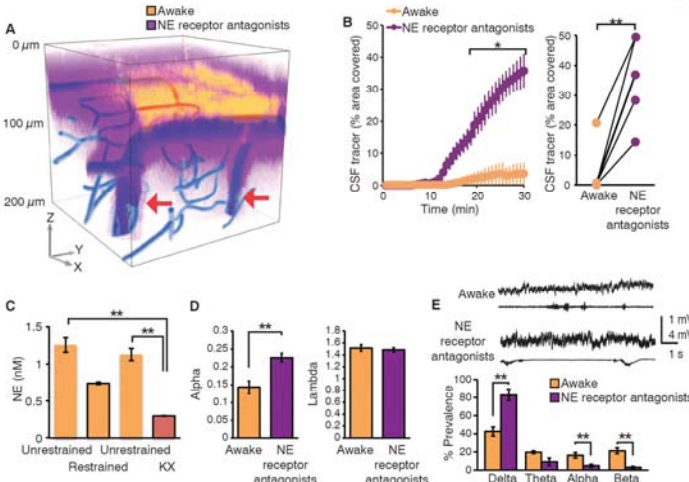
Tatsuki et al. Neuron 90, 70-85, 2016

### Mammalian Reverse Genetics without Crossing Reveals Nr3a as a Short-Sleeper Gene

Genshiro A. Sunagawa,<sup>1,5</sup> Kenta Sumiyama,<sup>2,5</sup> Maki Ukai-Tadenuma,<sup>1,5</sup> Dimitri Perrin,<sup>1,5,6</sup> Hiroshi Fujishima,<sup>1</sup> Hideki Ukai,<sup>1</sup> Osamu Nishimura,<sup>2</sup> Shoi Shi,<sup>2</sup> Rei-ichiro Ohno,<sup>2</sup> Ryohei Narumi,<sup>1</sup> Yoshihiro Shimizu,<sup>7</sup> Daisuke Tone,<sup>2</sup> Koji L. Ode,<sup>2</sup> Shigehiro Kuraku,<sup>2</sup> and Hiroki R. Ueda<sup>1,2,4,5\*</sup>

Sunagawa et al. Cell Reports 14, 662, 2016

95

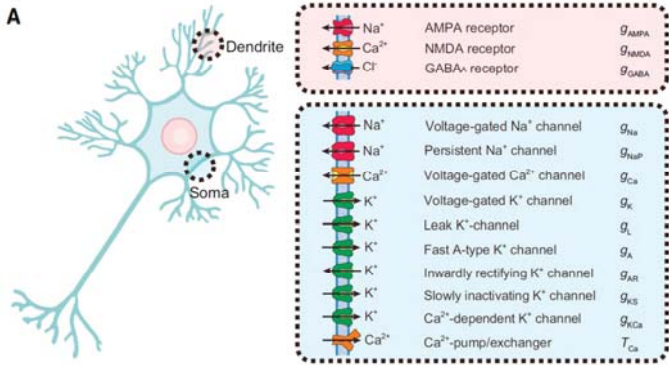


## 平均 neuron モデルを作り oscillation が出現する条件を探した



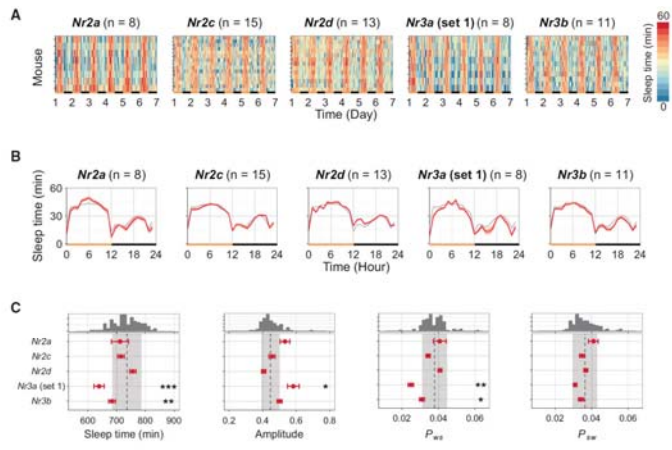
96

# Average Neuron model

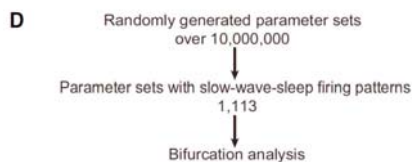
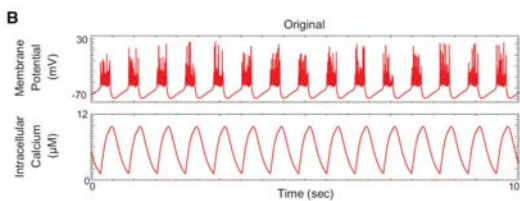


97

# NMDA受容体KOマウスで睡眠減少



# 同期性の高まる状態を検索して発見！



98

睡眠にも、単一細胞レベルで記載できる部分がある！



102

# モデルからの仮説：

細胞内[Ca<sup>2+</sup>]依存的な過分極による  
神経細胞抑制が睡眠を増加する

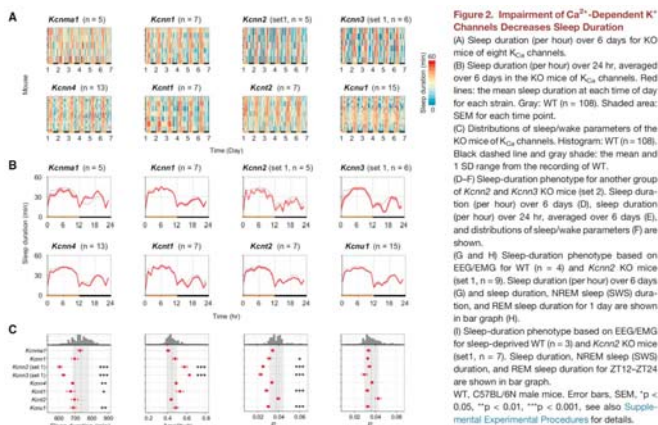


ウェットの系で証明



99

# Ca<sup>2+</sup>依存性K<sup>+</sup>チャンネルが睡眠量制御



# ショウジョウバエの睡眠研究



ハエは眠るのか？ Do flies sleep?



2000年～ タフツ大学

2002年～ 熊本大学

2013年～ 名古屋市立大学

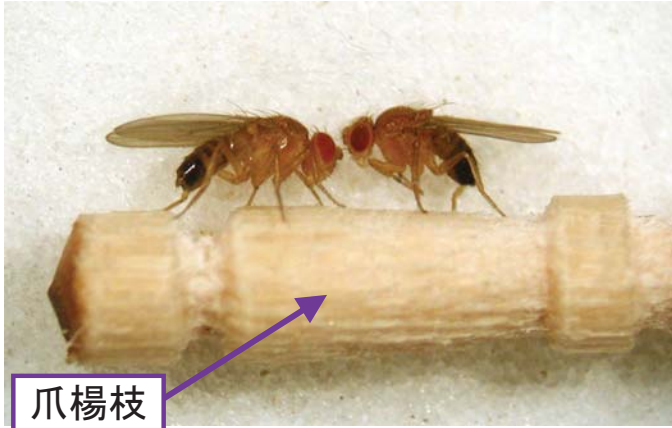


Rob Jackson



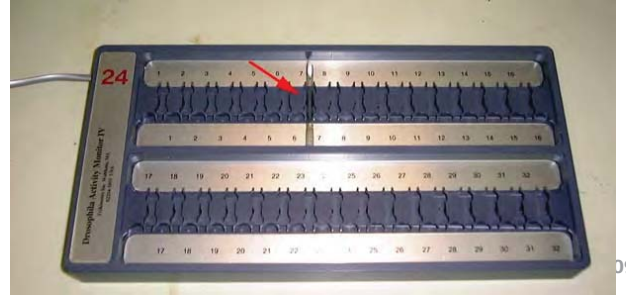
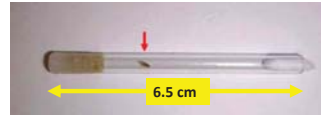
104

## ショウジョウバエ：ノーベル賞常連！



爪楊枝

## DAM 赤外線モニター活動計測器



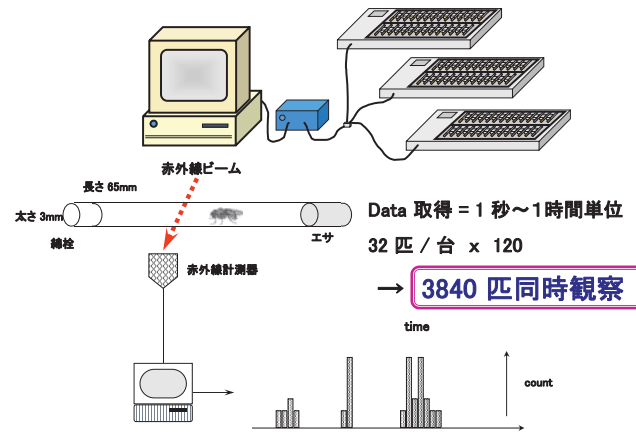
## ショウジョウバエを使うメリット



- 遺伝学に最適
- 世代時間が短い（10日間）
- 小さく多数飼育可能
- 個体レベルの行動が観察できる
- 睡眠・寿命などの研究が可能
- 概日周期の解析が進んでいた
- 時計中枢（PDF神経）が同定されていた

106

## ショウジョウバエの睡眠計測



110

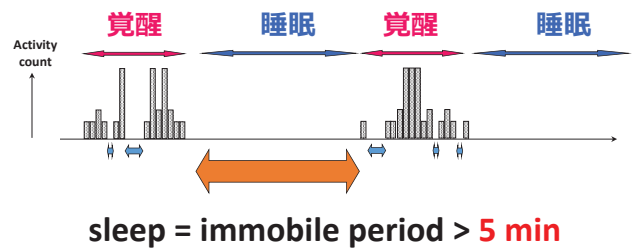
## ショウジョウバエの活動計測法



ガラス管の中で一匹ずつ飼育  
赤外線ビームを横切る回数で計測

107

## ショウジョウバエの睡眠の定義



5分以上の不動状態を睡眠と定義

111

## 睡眠計測 Trikinetics 社 DAM



## ショウジョウバエの睡眠制御

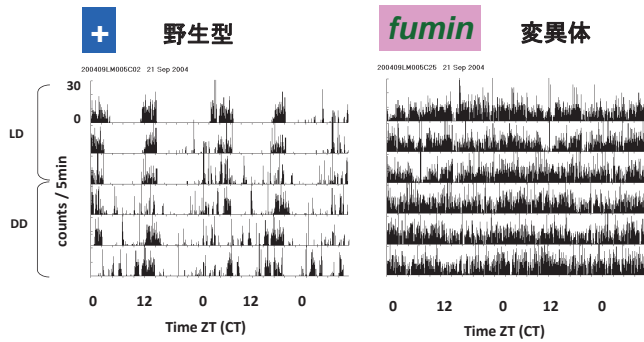


ドーパミンの関与の発見

112



## fumin(不眠) 変異の発見



113

## NMDA受容体が睡眠を増加



PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

## The NMDA Receptor Promotes Sleep in the Fruit Fly, *Drosophila melanogaster*

Jun Tomita<sup>1,3</sup>, Taro Ueno<sup>1,2</sup>, Madoka Mitsuyoshi<sup>1</sup>, Shoen Kume<sup>1</sup>, Kazuhiko Kume<sup>1,3\*</sup>

1 Institute of Molecular Embryology and Genetics, Kumamoto University, Kumamoto, Japan, 2 Department of Sensory and Motor Systems, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Tokyo, Japan, 3 Department of Neuropharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, Nagoya, Japan

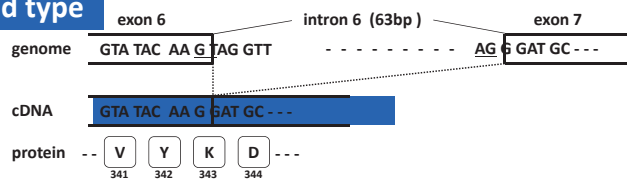
マウスの研究の前に、ハエで発見した

117

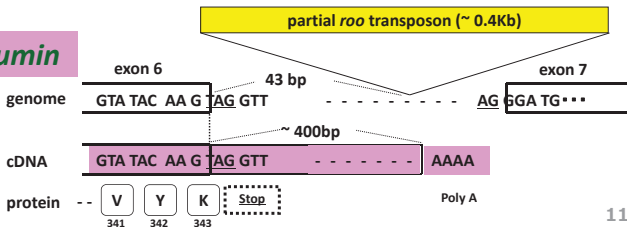
## ドーパミントランスポーター遺伝子変異



wild type



fumin



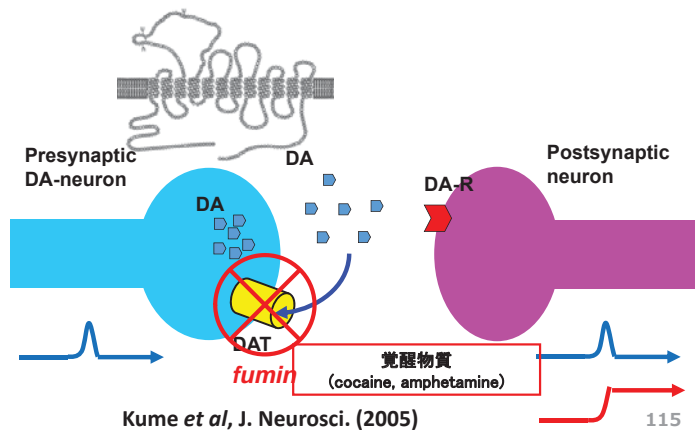
114

## 新規睡眠関連遺伝子の機能解析



118

## ドーパミントランスポーターの機能



115

## 柳沢プロジェクト



- 変異を持つマウスを系統的にスクリーニング
- 1週間の脳波計測で睡眠を定量
- 1週間に100ライン以上のスループット
- これまでに、既に8000匹のスクリーニング
- 少なくとも5つの新規睡眠関連遺伝子を発見



## 報告した睡眠関連遺伝子



- dFMR (Fragile X syndrome gene) Neuron 2002
- DAT (dopamine transporter) JNS 2005
- Calcineurin, Sarah (CN regulator) JNS 2011
- JNK (c-jun N-terminal kinase) BBRC 2012
- NMDAR1 (glutamate receptor) PLoS One 2015
- CHamide1 (enteropeptides) PLoS Genetics 2015
- SIK3 (Sodium inducible kinase) Nature 2016
- dNAAT (neutral amino acid transporter) unpubl.
- dAWP1 (anesthesia resistance gene) unpubl.
- etc.

116

## 発見された変異の例



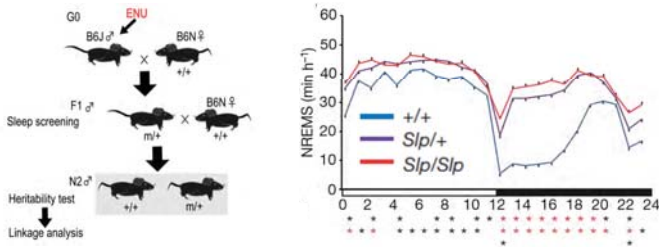
- *Sleepy (SIK3)*  
1日のNREM睡眠量が、大きく増える  
覚醒時の活動には、大きな異常はない
- *Dreamless (NALCN)*  
全体の睡眠量には大きな変化がないが、レム睡眠量のみが減る

120

## Mouse *Sleepy1* gene cloning

### Forward-genetics analysis of sleep in randomly mutagenized mice

Hironasa Funato<sup>1,2</sup>, Chika Miyoshi<sup>1\*</sup>, Tomoyuki Fujiyama<sup>1\*</sup>, Takeshi Kanda<sup>1\*</sup>, Makito Sato<sup>1,2\*</sup>, Zhiqiang Wang<sup>1</sup>, Jing Ma<sup>1</sup>, Shin Nakane<sup>4</sup>, Jun Tomita<sup>4</sup>, Aya Ikkyu<sup>1</sup>, Miyo Kakizaki<sup>1</sup>, Noriko Hotta-Hirashima<sup>1</sup>, Satomi Kanno<sup>1</sup>, Haruna Komiya<sup>1</sup>, Fuyuki Asano<sup>1</sup>, Takato Honda<sup>1</sup>, Staci J. Kim<sup>1</sup>, Kanako Harano<sup>1</sup>, Hiroki Muramoto<sup>1</sup>, Toshiya Yonezawa<sup>1</sup>, Seiya Mizuno<sup>1</sup>, Shinichi Miyazaki<sup>1</sup>, Linzi Connor<sup>1</sup>, Vivek Kumar<sup>1,2</sup>, Ikuo Miura<sup>1</sup>, Tomohiro Suzuki<sup>1</sup>, Atsushi Watanabe<sup>1</sup>, Manabu Abe<sup>10</sup>, Fumihito Sugiyama<sup>1</sup>, Satoru Takahashi<sup>1</sup>, Kenji Sakimura<sup>10</sup>, Yu Hayashi<sup>1,11</sup>, Qinghua Liu<sup>1,12</sup>, Kazuhiko Kume<sup>1</sup>, Shigeharu Wakana<sup>1</sup>, Joseph S. Takahashi<sup>1,6,13</sup> & Masashi Yanagisawa<sup>1,13,14</sup>



Funato et al., Nature, 2016, 539: 378–383.

121

## SIK3 / Sleepy 遺伝子の機能

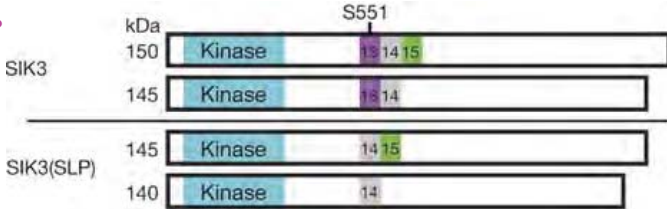
- マウスではSleepy / SIK3 は、Exon skip によりPKA site が、失われている。
- ヘテロで出現するドミナントな表現型  
ハエで、PKA site をつぶしても、同じ表現型  
→睡眠が増える
- ノックアウトは、異なる表現型  
→睡眠が減る (線虫も同様)

125

## Mouse *Sik3*<sup>SLP</sup>/*Sleepy* mutation

- In-frame exon (13) skip, which contains conserved phosphorylation site for PKA.

Truncated form is expressed in mutants.



122

## まとめ

- 概日周期は、細胞レベルで規定される現象で、広く遺伝子が保存されている。
- 睡眠も、一部は細胞レベルで規定され、種々の遺伝子が、種を超えて保存されている。
- 特にNMDA受容体を介する神経可塑性機構が睡眠要求と関与することは、睡眠と記憶の関係の基盤となるかもしれない。
- SIK3の機能解析から、概日周期中枢が睡眠の量的な制御にも関与することが示唆された。  
→単純な二過程モデルでは解釈できない

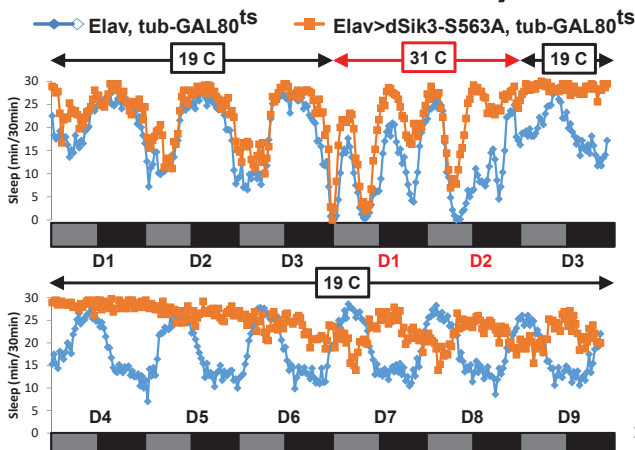
126

## いろいろな動物でのSIK3遺伝子の比較

	PKA site	
ヒト	EQSLLQPPTLQLLNGMPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGSPPLVTMTPT	100
サル	EQSLLQPPTLQLLNGMPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGSPPLVTMTPT	100
マウス	EQSLLQPPTLQLLNGMPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGSPPLVTMTPT	100
ラット	EQSLLQPPTLQLLNGMPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGSPPLVTMTPT	100
イルカ	EQSLLQPPTLQLLNGMPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGSPPLVTMTPT	100
セイウチ	EQSLLQPPTLQLLNGMPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGSPPLVTMTPT	100
ニフトリ	EQSLLQPPTLQLLNGMPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGSPPLVTMTPT	100
トカゲ・爬虫類	EQSLLQPPTLQLLNGMPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGSPPLVTMTPT	100
ゼブラ・魚類	EQSLLQPPTLQLLNGMPLGRRASDGGANIQLHTQQLLKRPRGSPPLVTSPT	90
ハエ	DQHLLKPP---VVMGASSFGRRASDGGANLHIYYPATGTVVGPAQGGQMD--	30
線虫	---KMLPVPKSEERRASAGETLLPTNFD---	#

SIK3-SA = Serine(563) を Alanine に変換

## 高温で誘導する TARGET system



124