

堺市医師会女医会設立70周年記念講演会

体内時計と睡眠の研究の最前線

名古屋市立大学大学院薬学研究科
 神経薬理学分野
 条 和彦

講演資料 = <http://k-net.org>

2019/ 2/17



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



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



アウトライン

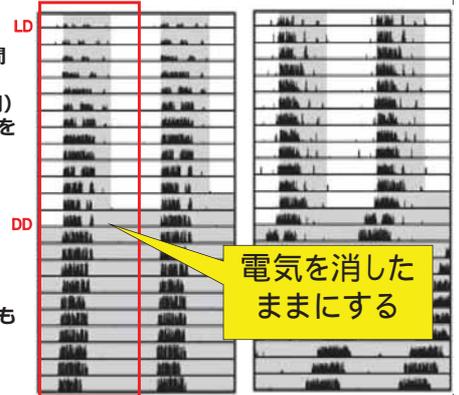
- 体内時計と睡眠
 - 体内時計とは何か？
 - 体内時計と睡眠の関係は？ 二過程モデル
 - 概日周期睡眠障害と治療
- 睡眠研究の最先端
 - 睡眠制御物質の探求
 - 睡眠の生理的意義 ~グリーンファティック
 - 細胞レベルの睡眠研究



概日周期(サーカディアンリズム)とは

2匹のマウス(夜行性)の運動リズム

1. 約24時間周期
 サーカ = 約(概)
 ディアン = 1日=24時間
2. 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
3. 自律性
 外部環境が一定でも、
 時を刻み続ける
4. 温度補償性
 体温・環境温が変わっても
 同じ周期を保つ

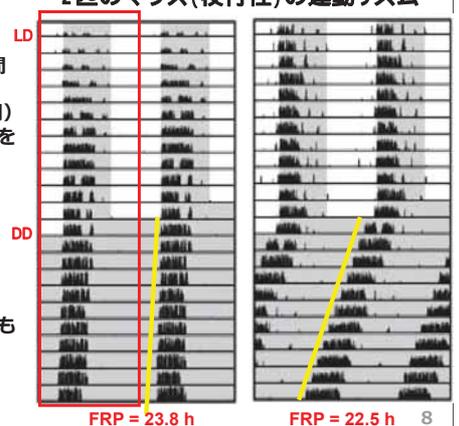


体内時計とは何か？

概日周期(サーカディアンリズム)とは

2匹のマウス(夜行性)の運動リズム

1. 約24時間周期
 サーカ = 約(概)
 ディアン = 1日=24時間
2. 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
3. 自律性
 外部環境が一定でも、
 時を刻み続ける
4. 温度補償性
 体温・環境温が変わっても
 同じ周期を保つ

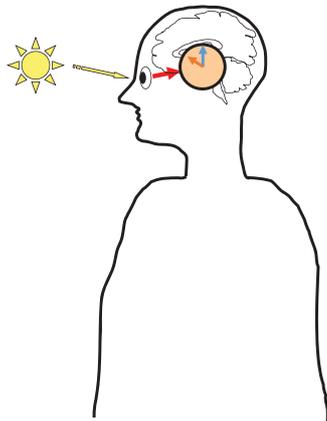


FRP = 23.8 h

FRP = 22.5 h



脳の中に時計がある



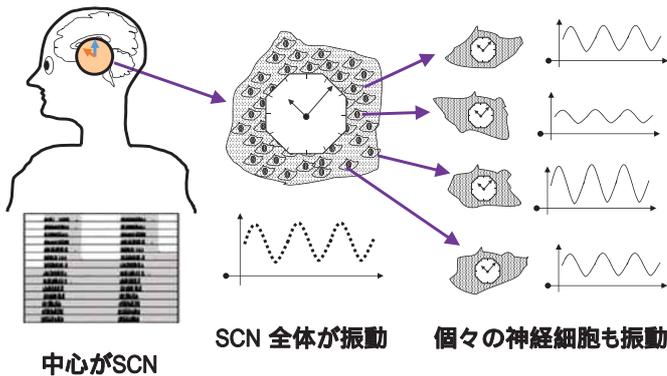
9

ショウジョウバエ：ノーベル賞常連！



爪楊枝

生物時計の構成



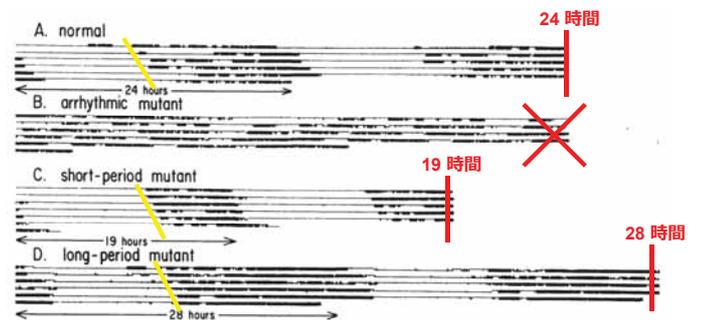
神経細胞1個にも、時計がある！

10

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)

14

時計は、個々の細胞レベルで作られる

その仕組みは？

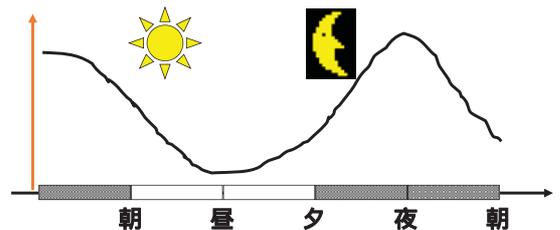
11

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



15

ノーベル医学生理学賞 2017



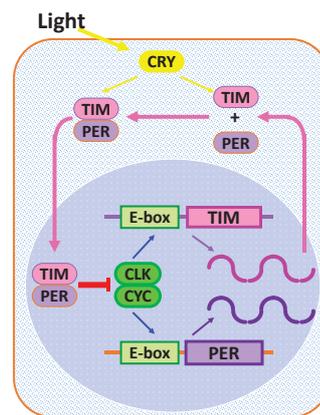
ジェフ・ホール
ポストン
ブランダイス大学

マイケル・ロスバッシュ
ポストン
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

12

時計遺伝子が振動を作る



ノーベル賞につながる
4つの時計遺伝子

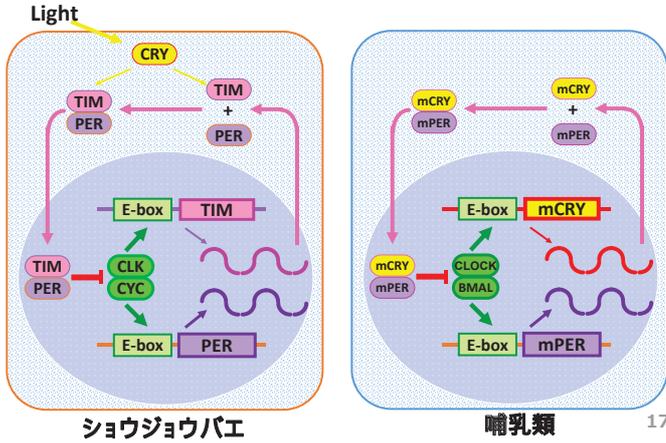
ポジティブ因子
CLK / CYC

ネガティブ因子
PER / TIM

ショウジョウバエ

16

昆虫もヒトも、ほぼ同じ仕組み



ショウジョウバエ

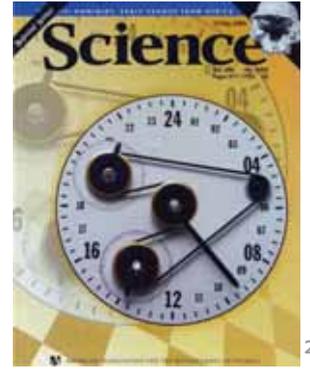
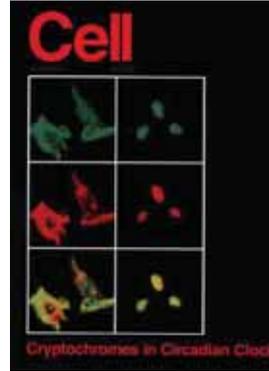
哺乳類

哺乳類の時計遺伝子の機能解析

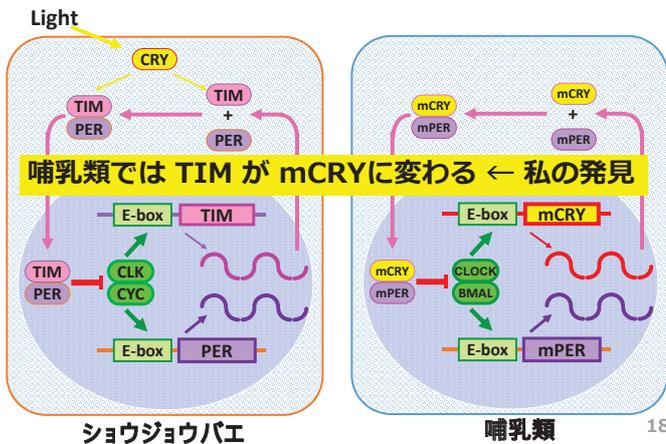


哺乳類のクリプトクロームが時計遺伝子であることを発見 (Kume et al. Cell, 1999)

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)



昆虫もヒトも、ほぼ同じ仕組み



ショウジョウバエ

哺乳類

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！

ベンザー と コノプカ (+堀田) の発見

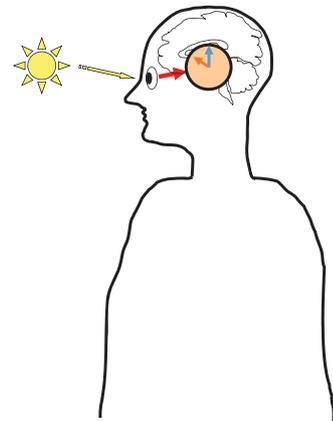


一つの遺伝子が、一つの行動を制御できることを、最初に示したのがベンザー
その材料が、ショウジョウバエ

- ・ 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



脳の中に時計がある



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

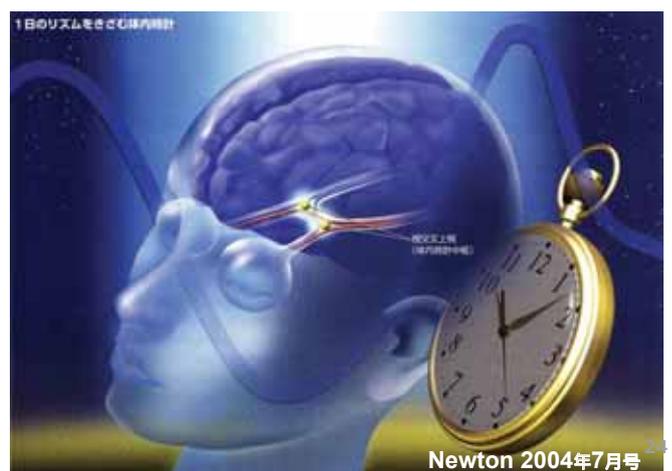
1997 マウス Clock, Period 遺伝子クローニング
タカハシ

1998 ショウジョウバエ Clock, Cycle 遺伝子クローニング

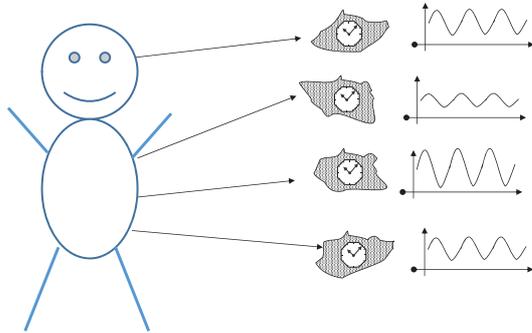
ホール + ロスバッシュ

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

体内時計の中核



生物時計の構成

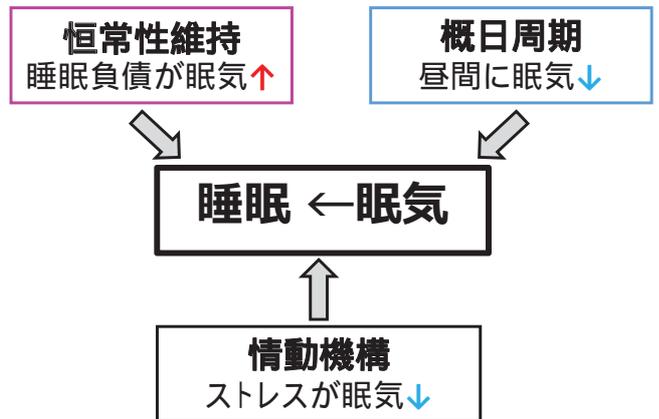


どんな細胞にも、時計がある！

体内時計と睡眠の関係は？

二過程モデル

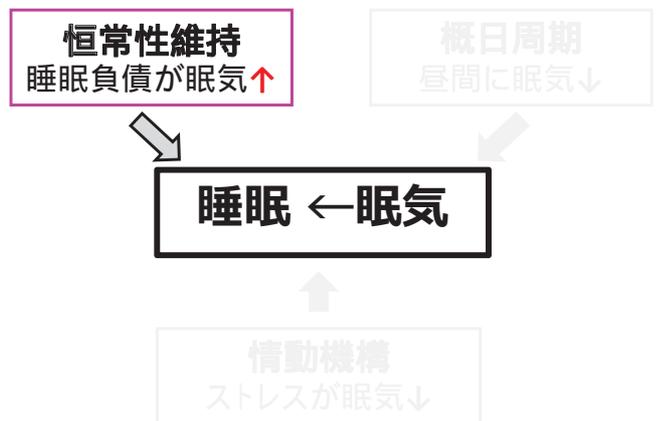
睡眠(≒眠気)の制御因子



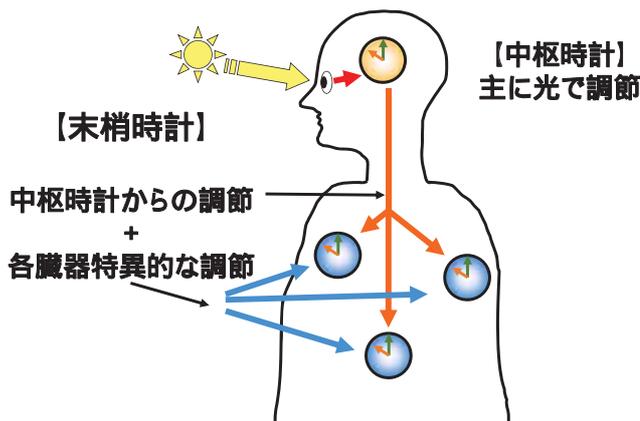
体中にある体内時計



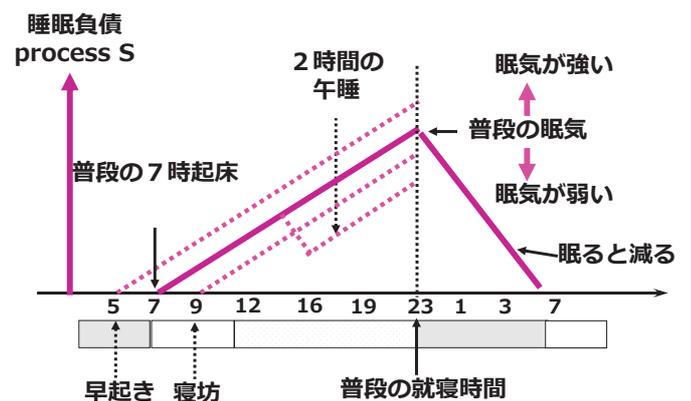
睡眠(≒眠気)の制御因子



中枢時計と末梢時計の関係



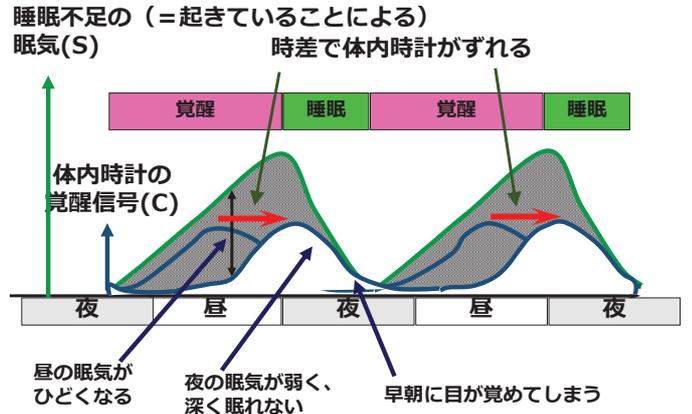
睡眠負債 sleep debt による眠気



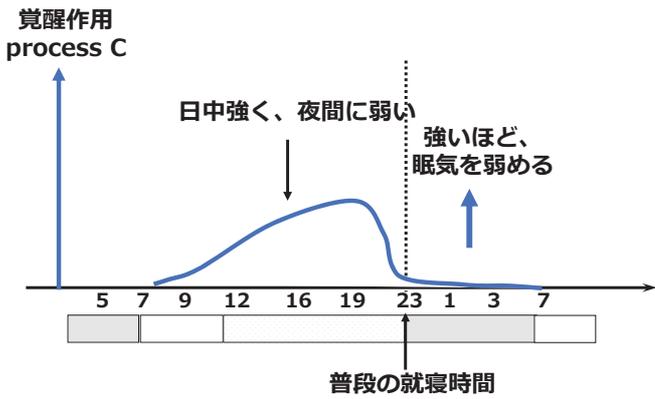
睡眠(≒眠気)の制御因子



体内時計のずれ = 時差ぼけ



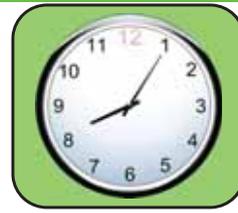
概日周期生物時計の覚醒作用



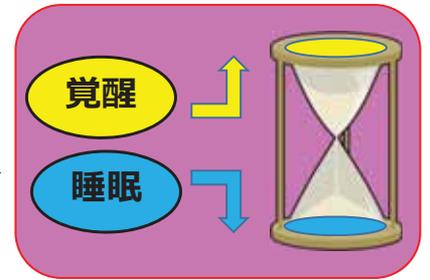
2種類の制御系：2過程モデル



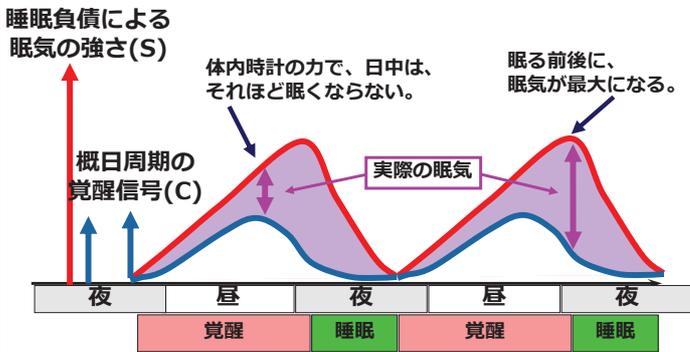
概日周期機構



恒常性維持機構



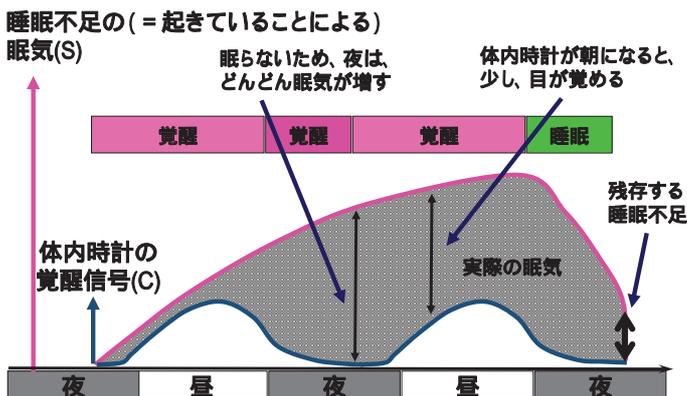
(簡易型) 二過程モデル



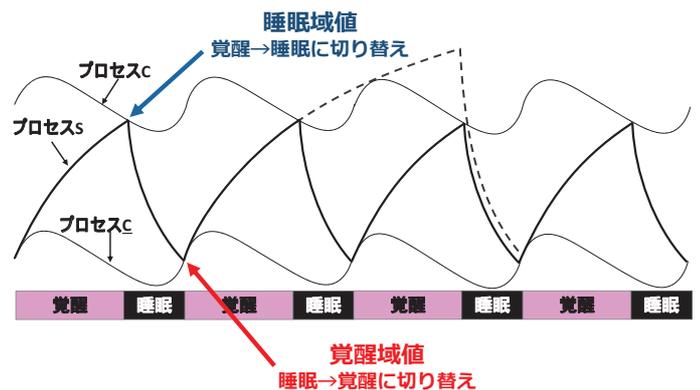
二過程モデルの問題点 = 波が1回

実際の眠気の変動は、もっと複雑

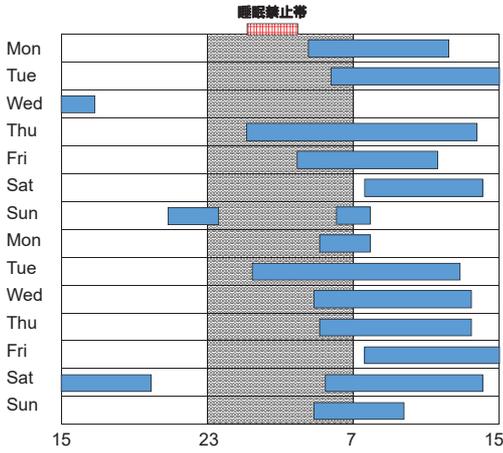
徹夜明けに、すっきりする理由



Two Process Model (Borbely, 1982)



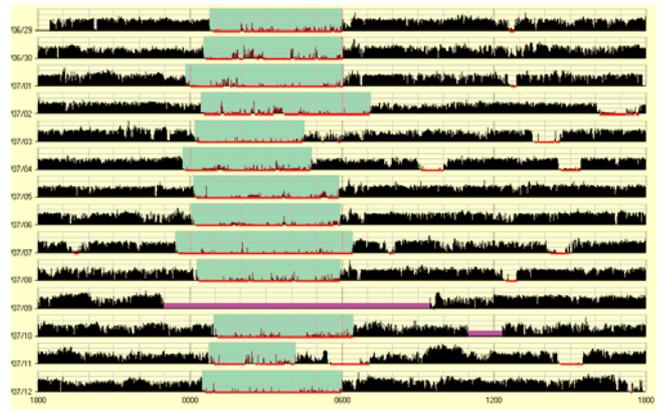
昼夜逆転：睡眠覚醒相後退障害



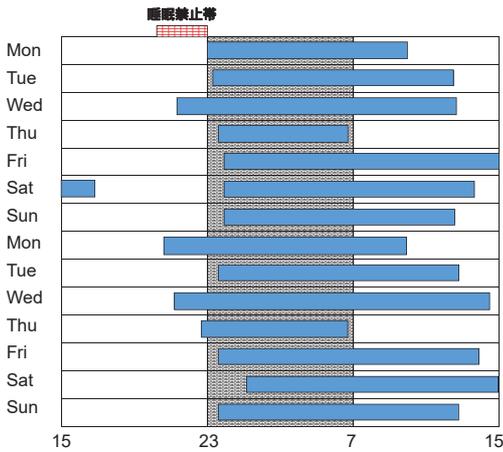
以前は、
DSPS
最近は、
DSWPD

49

アクチグラフを使った睡眠記録

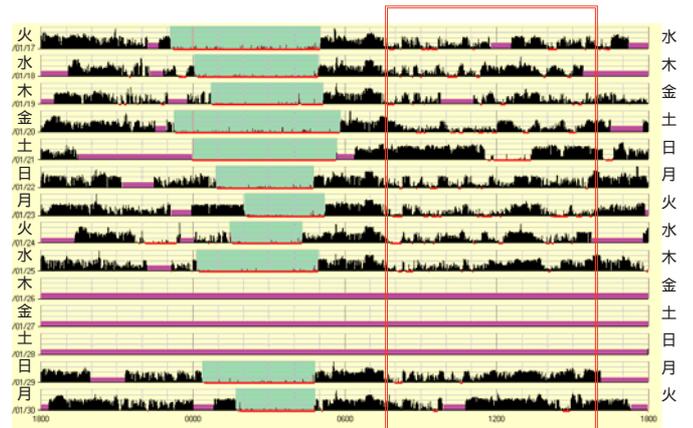


睡眠時間延長：長時間睡眠者

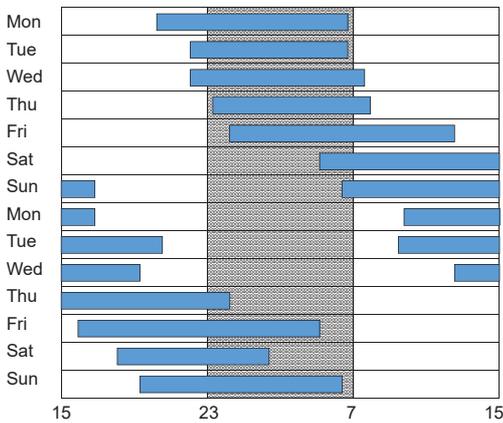


50

睡眠不足症候群 17歳

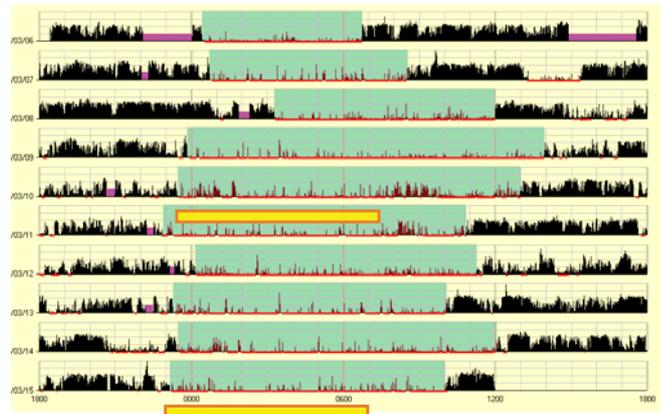


フリーラン：非24時間型睡眠覚醒障害

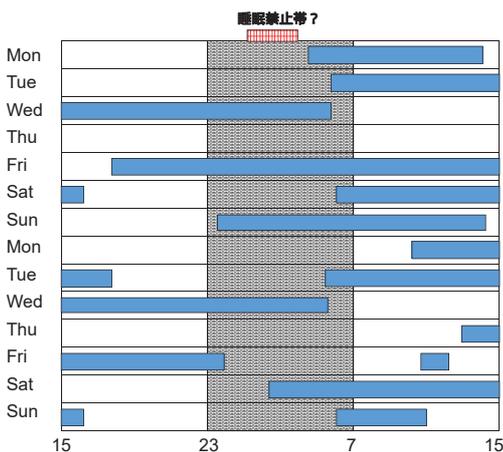


51

長時間睡眠型 (17歳男性、高校生)

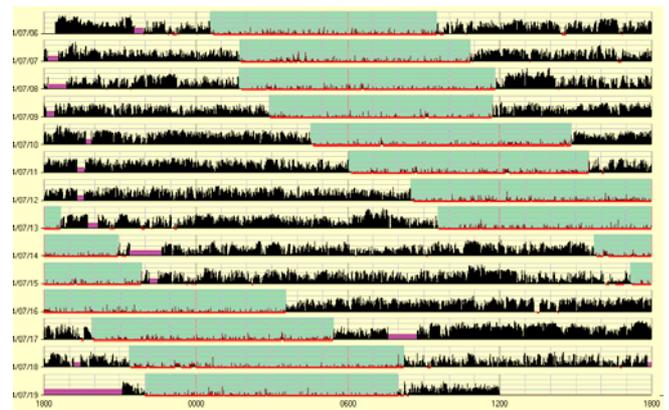


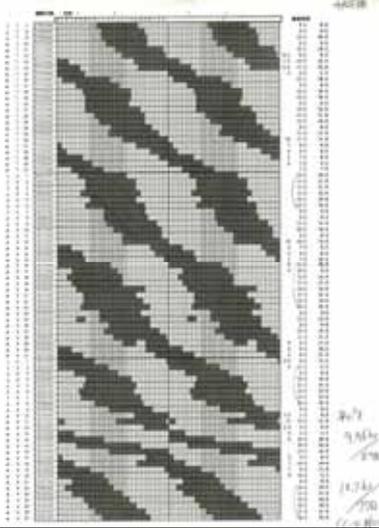
不規則型睡眠覚醒リズム



52

非24時間型 (18歳男性、高校生)





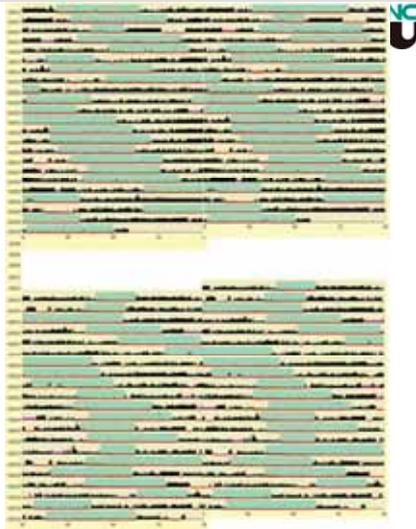
光で調節

朝だけでなく、夜も注意

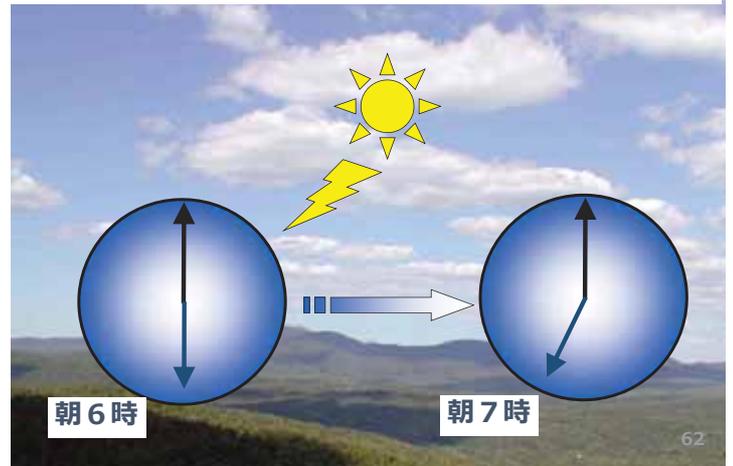
治療前

治療が部分的に
奏功した
非24時間型
睡眠覚醒障害例

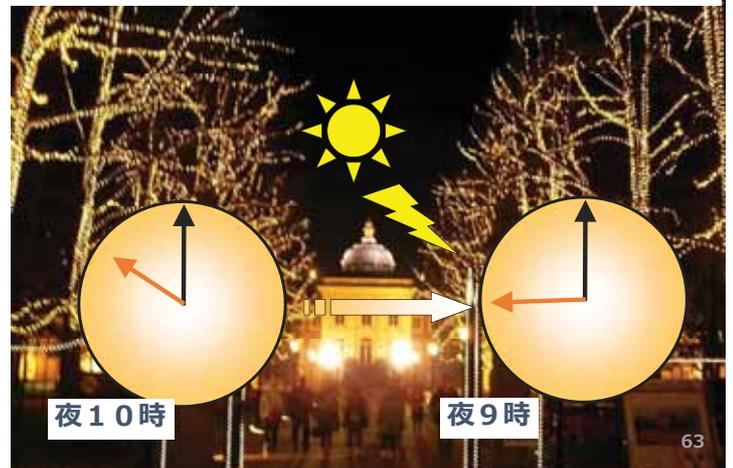
治療後



朝の光 → 時計の針を進める



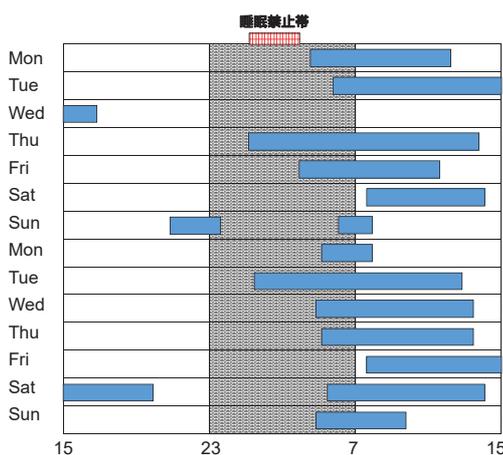
夜の光 → 時計の針を遅らせる



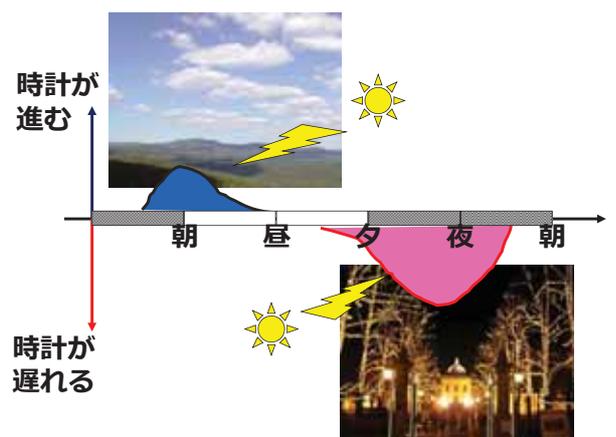
睡眠覚醒相後退障害の治療

体内時計の制御 リズムの合わせ方

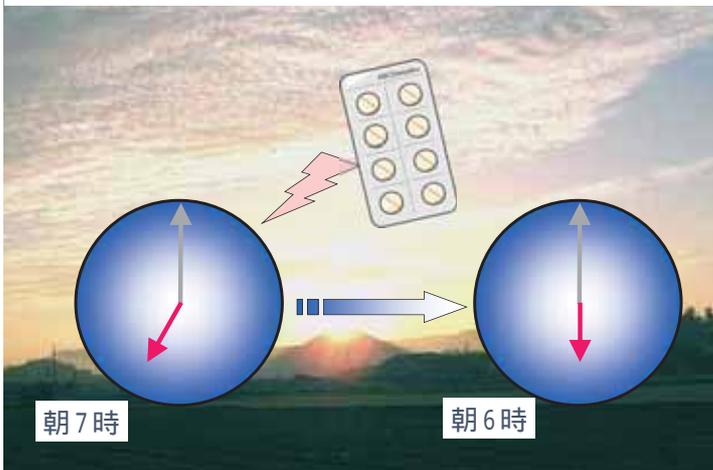
昼夜逆転：睡眠覚醒相後退障害



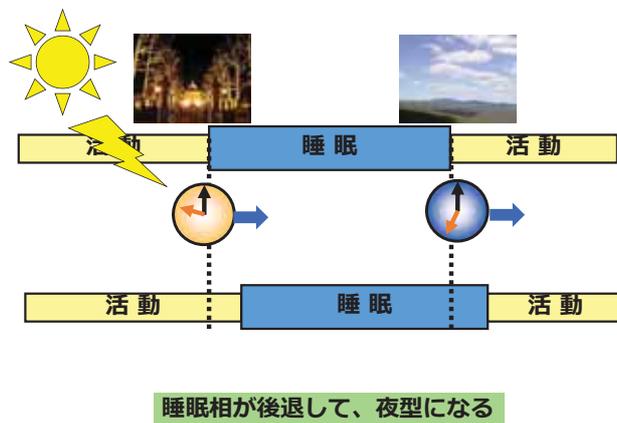
体内時計の光によるリセット



朝のメラトニン → 時計の針を遅らせる 65

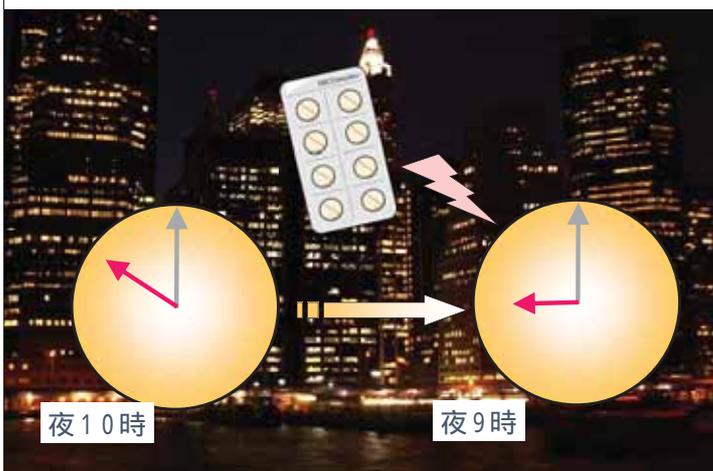


時計の針と睡眠の関係：夜の光

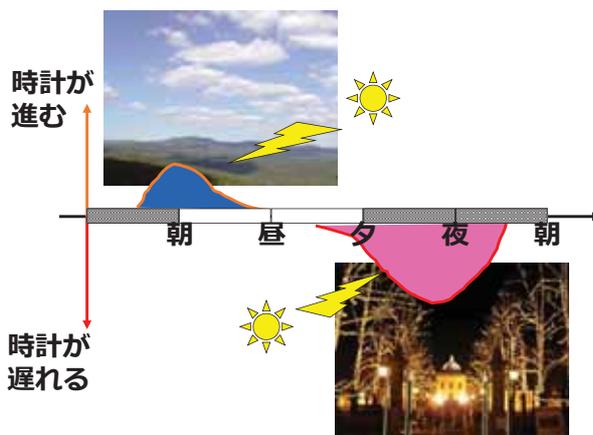


69

夜のメラトニン → 時計の針を進める 66

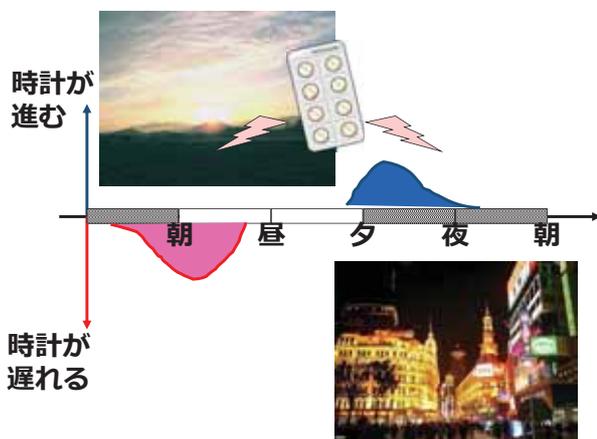


ここで大事なのは・・・

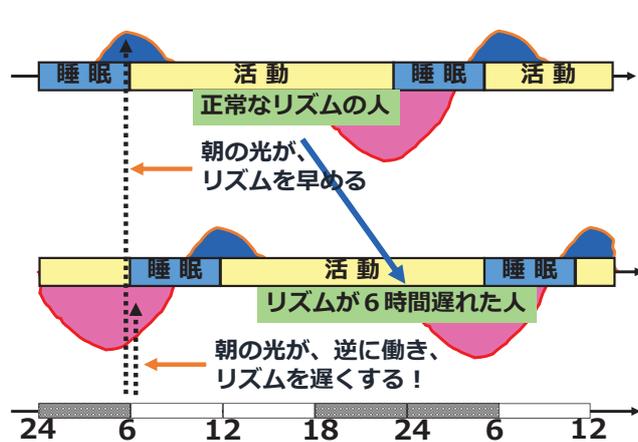


70

メラトニンによる調節（光と逆位相）

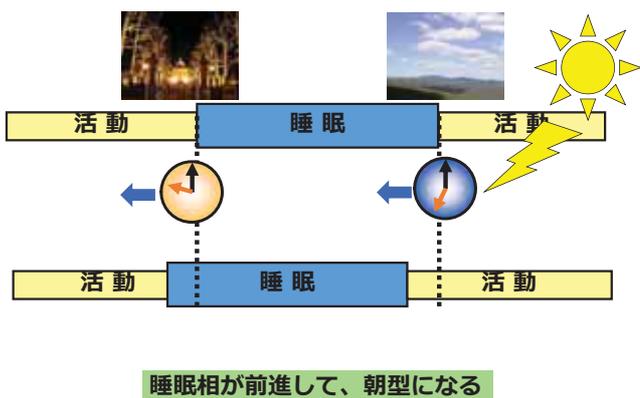


その人の朝に、光が当たるのが重要



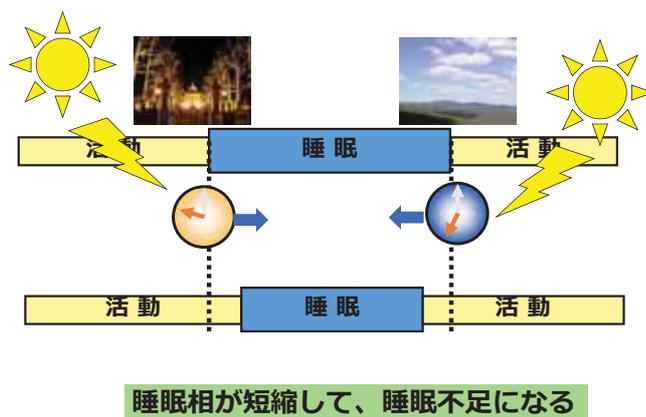
71

時計の針と睡眠の関係：朝の光



68

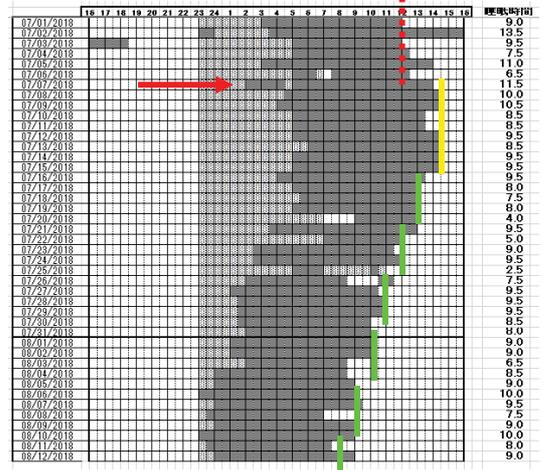
光に朝晩当たると睡眠が短くなる



72

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！

位相漸進治療



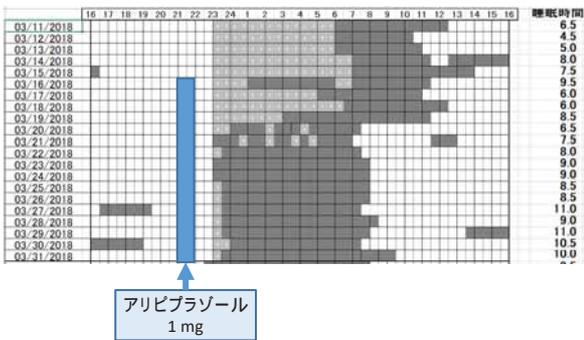
アリピプラゾールの話題

- 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

アリピプラゾールの話題

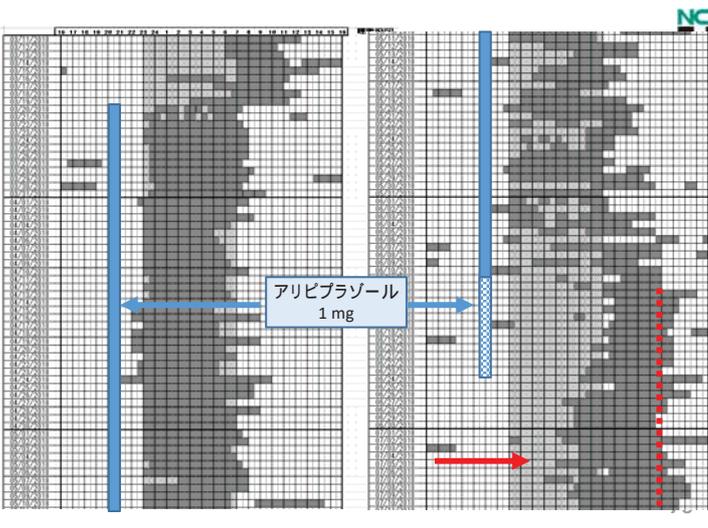
- 最近、DSWPD への少量アリピプラゾール（エビリファイ）療法が話題
 - 夕方 1mg 投与で、寝つき・起床を改善
 - 即効性があり1週間程度でリズムが戻る
 - 効果が高く、8～9割で改善する(らしい)
 - DPA: ドーパミンパーシャルアゴニスト
 - DSS: ドーパミンシステムスタビライザー
- ↓
- 少量では睡眠を短くする作用がある
 - 副作用に注意。睡眠衛生指導は必須

自験例

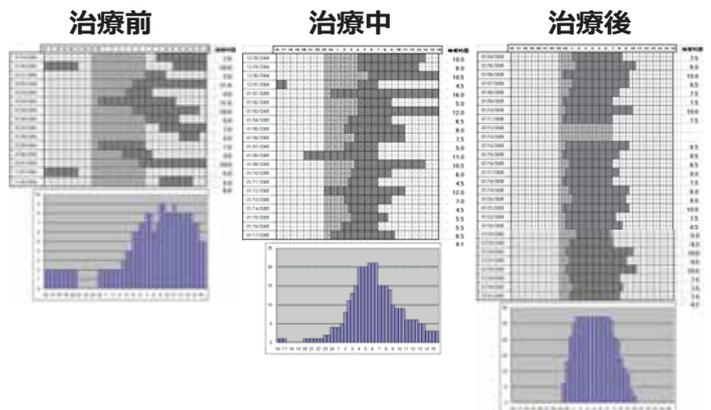


アリピプラゾールの話題

- 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



睡眠相後退症候群





不眠(断眠)動物の脳質中に証明した
催眠性物質(睡眠の真因) 石森國臣

睡眠の原因は、脳髄(中枢神経系)とりわけ大脳の疲労にあることは、万人の共通認識である。

しかし、その疲労がどのように睡眠を引き起こしているのか つまり「睡眠に直接働きかけている原因はどのようなものか」という疑問に関し、古くから現在まで、医者が日々出くわす(治療法のない)不眠症の生理的根拠に基づいた有効な治療法を発見するために、また哲学者が精神とは(ここでは)何かを深く究めるために必要な知識として、あらゆる手段を使って研究を重ねてきたが、誰もが様々な説を唱えるも、その傾向をまとめれば全て想像説であり、実験の根拠を築くような確固たる説は存在しない。

ここから、睡眠研究の最先端

最先端と言いながら、最初は明治の話 100年前の名古屋発の研究

睡眠制御の可能性

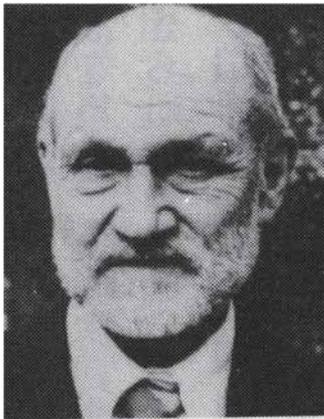
1. 起きているために必要な物質が足りなくなる
= 覚醒物質による制御
2. 眠くする物質が貯まってきて眠くなる
= 睡眠物質による制御
3. 両方がある

睡眠の意義と睡眠物質の探求

睡眠物質の発見

- 犬の断眠実験
石森ら (1909)、ピエロンら (1913)
- 犬を100時間以上断眠し、その脳を取り出し、すりつぶして組成を分析した。
- その溶液を断眠していない他の犬に接種すると、睡眠を誘発することができた。

睡眠物質の発見



Pieron(仏), 1913



石森国臣(現・名大), 1909

睡眠物質探求

- これまで30種以上の睡眠物質が発見された
- アデノシン、ウリジン、プロスタグランジンD
- インターフェロン、インターロイキン
- エンドトキシン などなど
- ただし、どれも「生理的睡眠物質」とは、みなされなかった・・・

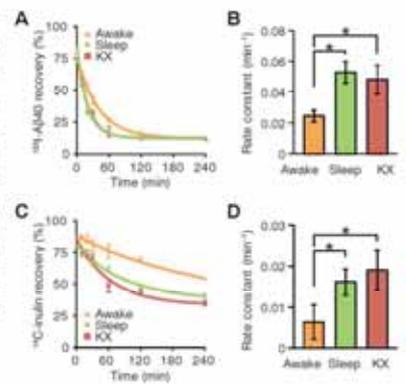


不眠動物ノ脳質中ニ證明シ得タル
催眠性物質——睡眠ノ真因
愛知縣立醫學專門學校生理醫化學教室
石森國臣

睡眠の生理的意義

グリンファティック システムの発見 (2013)

Fig. 3. Sleep improves clearance of Aβ. (A) Time-disappearance curves of 125I-Aβ1-42 after its injection into the frontal cortex in awake (orange triangles), sleeping (green diamonds), and anesthetized (red squares, ketamine/xylazine) mice. (B) Rate constants derived from the clearance curves. (C) Time-disappearance curves of 14C-inulin after its injection into the frontal cortex of awake (orange triangles), sleeping (green diamonds), and anesthetized (red squares, ketamine/xylazine) mice. (D) Rate constants derived from the clearance curves. A total of 77 mice were included in the analysis: 25 awake, 29 asleep, and 23 anesthetized, with 3 to 6 mice per time point. *P < 0.05 compared with awake, ANOVA with Bonferroni test.



Glymphatic system

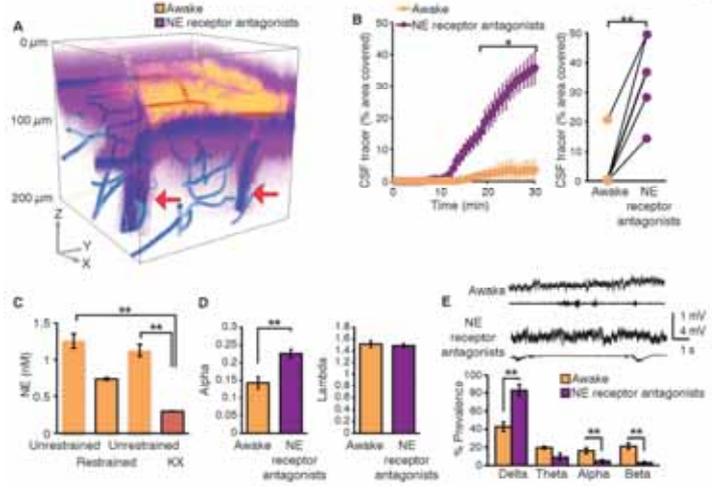
睡眠中、脳内の脳脊髄液灌流量が60%増え、新陳代謝産物のクリアランスが増加する。脳はリンパ系がなく、睡眠中、グリア細胞(アストロサイト)が変形/縮小して、灌流を増やす。

→グリアが作るリンパ系 = グリンファティックと命名

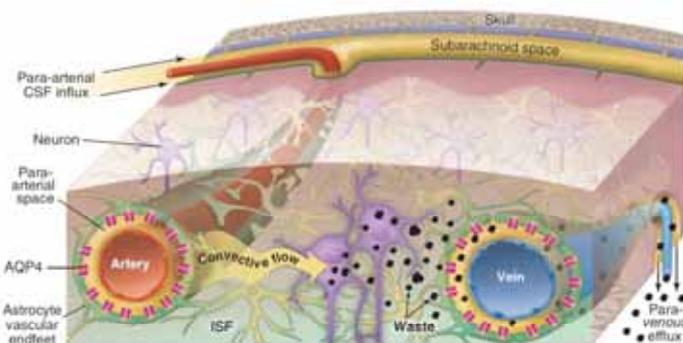
SCIENCE VOL 342 18 OCTOBER 2013

Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain

Lulu Xie,^{1*} Hongyi Kang,^{2*} Qiwu Xu,¹ Michael J. Chen,¹ Yonghong Liao,¹ Meenakshisundaram Thiyagarajan,¹ John O'Donnell,¹ Daniel J. Christensen,¹ Charles Nicholson,² Jeffrey J. Iliff,¹ Takahiro Takano,¹ Rashid Deane,¹ Maiken Nedergaard^{1†}



Glymphatic = glia + lymphatic

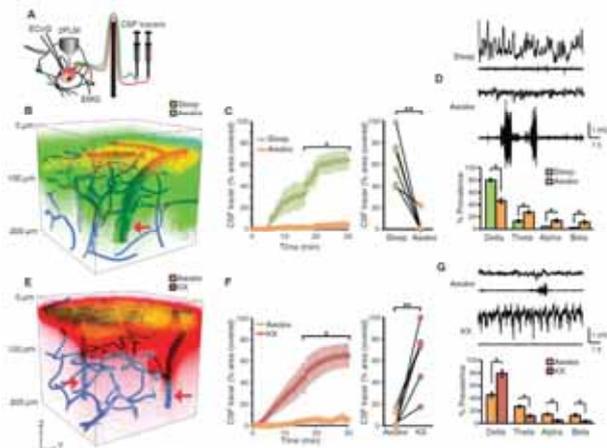


Go with the flow. Convective glymphatic fluxes of CSF and ISF propel the waste products of neuron metabolism into the paravenous space, from which they are directed into lymphatic vessels and ultimately return to the general circulation for clearance by the kidney and liver.

睡眠中の脳のことが初めてわかった

どうやら、掃除・修復をしているらしい

CSF→脳内の物質移行が睡眠中増加



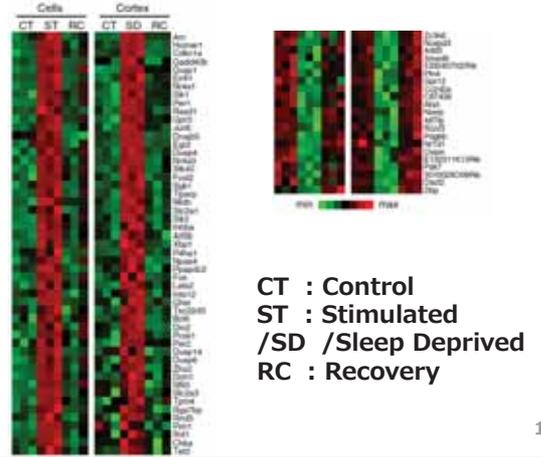
概日周期は、細胞一個の現象である

では、睡眠はどのレベルの現象か？

細胞レベルの睡眠研究

睡眠時の同期性に着目

断眠マウスの脳と遺伝子発現比較



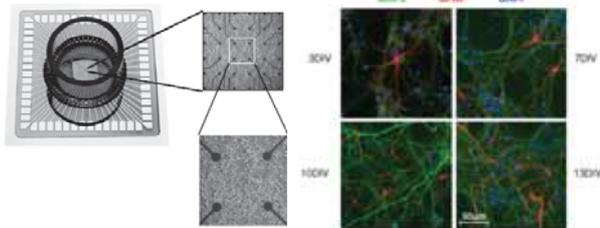
神経細胞レベルの睡眠研究

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

J. Neurosci. 32:12506 (2012)

Valérie Binard,¹ Cyril Mikhaïl,¹ Sylvain Pradervand,¹ Thomas Curie,¹ Rickelt H. Houtkooper,¹ Johan Auwerx,¹ Paul Franken,¹ and Mehdi Tafti¹

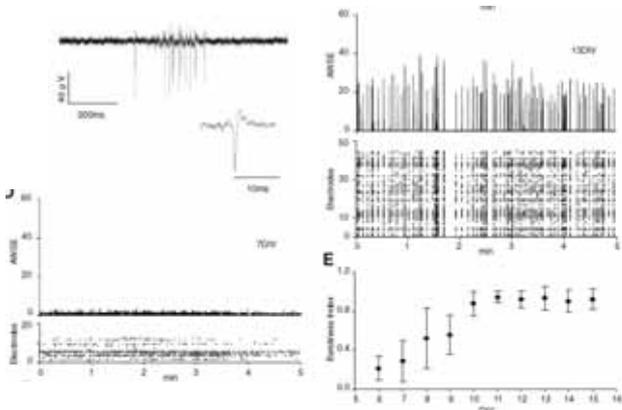
¹Center for Integrative Genomics and ²The genomic Technology Facility, University of Lausanne, and ³Laboratory for Integrative and Systems Physiology, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, CH-1015 Lausanne, Switzerland



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
→より生理的条件下での研究

培養神経が同期発火を始める



細胞外液イオン変化が睡眠状態を作る

SCIENCE

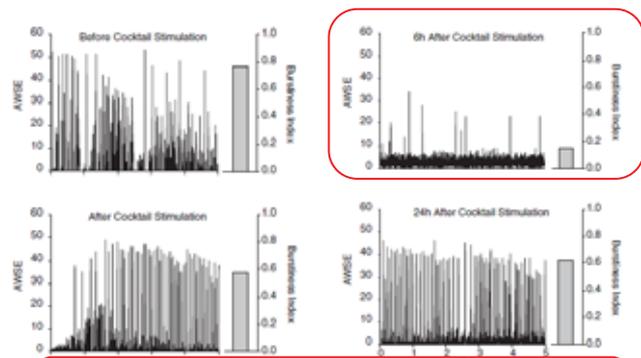
SLEEP RESEARCH

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

Fengfei Ding,^{1,2*} John O'Donnell,^{1,2*} Qiwu Xu,¹ Ning Kang,¹ Nanna Goldman,¹ Maliken Nedergaard^{1,2,3}

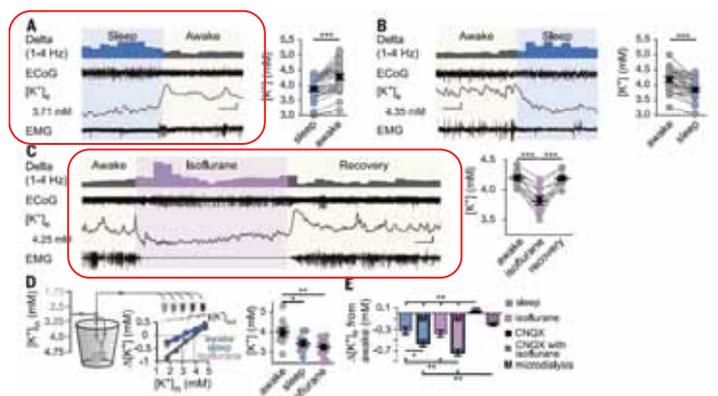
Ding et al. Science 352, 550, 2016

覚醒カクテル刺激？

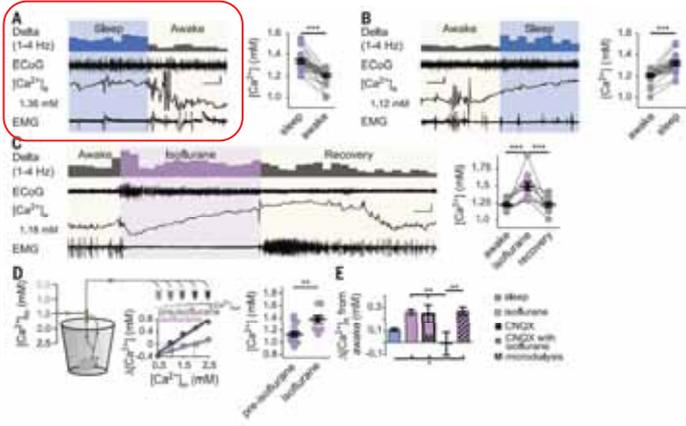


1 μM NMDA, AMPA, kainate, ibotenic acid, serotonin, histamine, dopamine, noradrenaline, 10 μM carbacol, 0.01 μM orexin

覚醒中は、個体内でも[K⁺]が増加



覚醒中は、細胞外[Ca²⁺]が減少



105

モデル細胞のシミュレーション研究



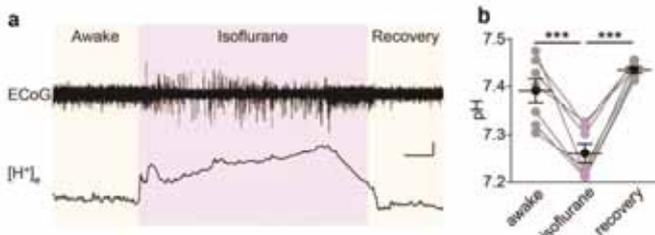
109

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⁺]↓ [Ca²⁺]↑ [H⁺] ↑

Fig. S3



106

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



110

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



107

細胞内[Ca²⁺]の増加が睡眠を作る



Involvement of Ca²⁺-Dependent Hyperpolarization in Sleep Duration in Mammals

Fumiya Tatsuki,^{1,2} Genshiro A. Sunagawa,^{1,2} Shoi Shi,^{1,2} Etsuo A. Susaki,^{1,2,3} Hiroko Yukinaga,^{2,3} Dimitri Perrin,^{2,4,5} Kenta Sumiyama,² Maki Ukai-Tadenuma,² Hiroshi Fujishima,² Rei-ichiro Ohno,¹ Daisuke Tone,^{1,2} Koji L. Ode,^{1,2} Kazuhiko Matsumoto,² and Hiroki R. Ueda^{1,2,6*}

¹Department 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

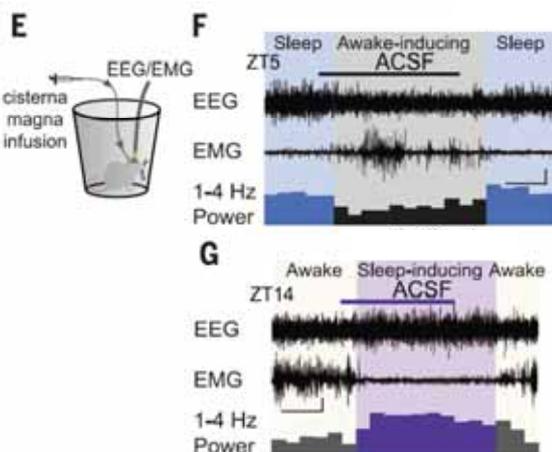
Mammalian Reverse Genetics without Crossing Reveals *Nr3a* as a Short-Sleeper Gene

Genshiro A. Sunagawa,^{1,2} Kenta Sumiyama,^{2,3} Maki Ukai-Tadenuma,^{1,2} Dimitri Perrin,^{1,4,5} Hiroshi Fujishima,¹ Hideki Ueki,¹ Osamu Nishimura,¹ Shoi Shi,¹ Rei-ichiro Ohno,² Ryohei Narumi,¹ Yoshihiro Shimizu,¹ Daisuke Tone,² Koji L. Ode,¹ Shigehiro Kuraku,¹ and Hiroki R. Ueda^{1,2,6*}

Sunagawa *et al.* *Cell Reports* 14, 662, 2016

111

髄液のイオン変化が、睡眠覚醒を誘導



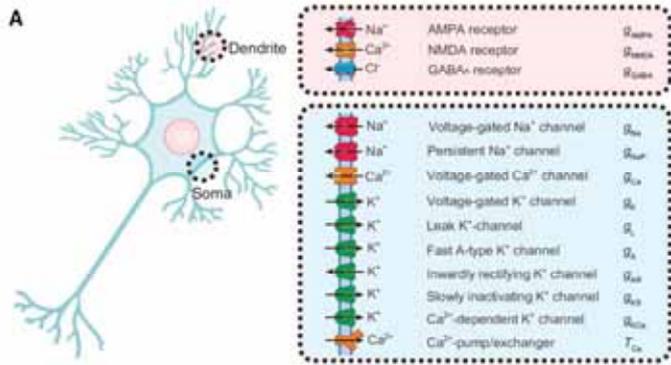
108

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



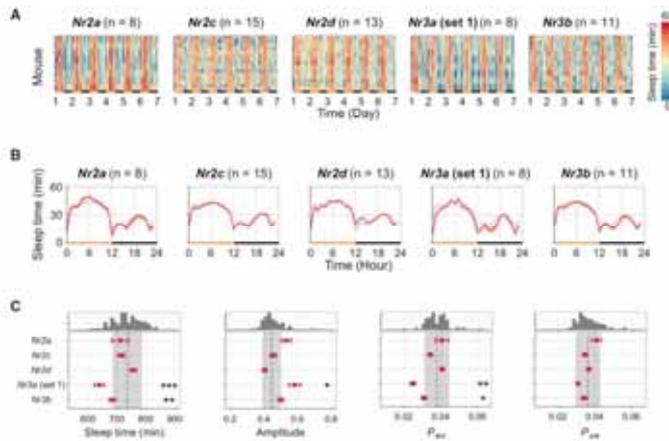
112

Average Neuron model

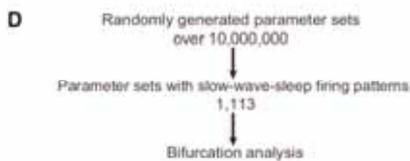
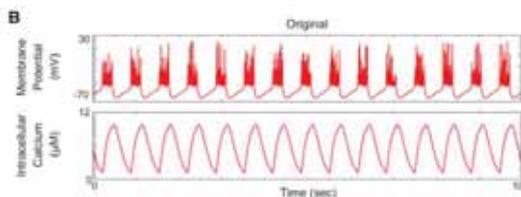


113

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!



114

睡眠にも、単一細胞レベルで記載できる部分がある!



118

モデルからの仮説:

細胞内[Ca²⁺]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



115

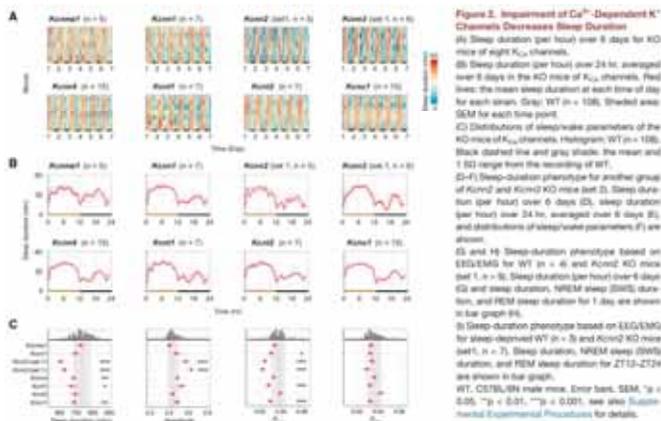
新規睡眠制御遺伝子

さらに、新発見が!



119

Ca²⁺依存性K⁺チャンネルが睡眠量制御



新規睡眠関連遺伝子の機能解析



120

時間があれば、ビデオ



ビデオ 8分50秒

121

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



126

新規睡眠制御遺伝子の発見



- 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)
睡眠量には大きな変化がないが、
レム睡眠量のみが減る

123

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
ニワトリ	EQSLLQPPTLQLLNGMPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGSPPLVTMTPT	100
トカゲ ^{爬虫類}	EQSLLQPPTLQLLNGMPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGSPPLVTMTPT	100
ゼブラ ^{魚類}	EQSLLQPPTLQLLNGMPLGRRASDGGANIQLHTQQLLKRPRGSPPLVTS ^{SPH}	90
ハエ	DQHLLKPP---VVMGASSFGRRASDGGANLHYYPATGTVVGPAQQQMD---	30
線虫	---KMLPVPKSE ^{RRAS} AGETLLPTNFD---	#

SIK3-SA = Serine(563) を Alanine に変換

同じ遺伝子がショウジョウバエにあり、
同じ機能をもつことも証明した。

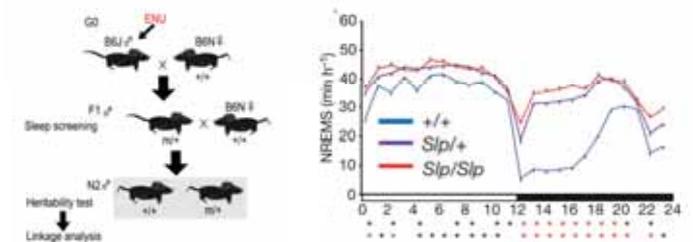
127

Mouse Sleepy1 gene cloning



Forward-genetics analysis of sleep in randomly mutagenized mice

Hironao Funato^{1,2}, Chika Miyoshi^{1,2}, Tomoyuki Fujiwara^{1,2}, Takeshi Kanda^{1,2}, Makoto Sato^{1,2}, Zhiqiang Wang¹, Bing Ma¹, Shin Nakama¹, Jun Teruya¹, Aya Ikkyu¹, Miyo Kakizaki¹, Noriko Hotta-Hirashima¹, Satoshi Karma¹, Haruna Kimura¹, Fuyuki Asano¹, Takato Honda¹, Sachi I. Kim¹, Kazuhiko Hatada¹, Hiroaki Muramatsu¹, Toshiya Yonemura¹, Setai Mizuno¹, Shinya Miyauchi¹, Linzi Connor¹, Vloek Kemas^{1,2}, Ruan Miao¹, Tomohiro Suzuki¹, Atsushi Watanabe¹, Masahito Aho¹, Fumihito Sugiyama¹, Satoru Takahashi¹, Kenji Sakimura¹, Yu Hayashi^{1,2}, Qinghua Liu^{1,2}, Kazuhiko Karne¹, Shigeharu Wakana¹, Joseph S. Takahashi^{1,2,3} & Masashi Yamaguchi^{1,2,3,4}



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

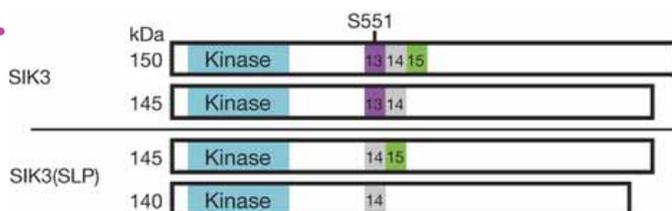
127

Mouse SIK3^{SLP}/Sleepy mutation



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

Truncated form is expressed in mutants.



124

SIK3 は優性に働く

リン酸化を高めている可能性がある

128

さらに、大きな発見が！

眠くなると、リン酸化レベルが上がる！

- 起きていると、グルタミン酸シナプスが盛んに働くことで、細胞内Ca²⁺の上昇を介して、品プスタンパク質のリン酸化などの変化が起きる
- この変化が、眠気を作り出す
- 睡眠中は、これらの変化を元に戻すような働きや、老廃物の排出などが行われる。
- シナプスの変化が、記憶の増強・固定・消去に関与する。

129

133

睡眠とタンパク質リン酸化

LETTER

Wang et al. Nature 558, 436 (2018)

Quantitative phosphoproteomic analysis of the molecular substrates of sleep need

Zhiqiang Wang¹, Jing Ma¹, Chika Miyoshi¹, Yunxiao Li², Makiko Sato¹, Yukino Ogawa¹, Tingting Lou¹, Chengyuan Ma³, Xue Gao¹, Chiyu Lee⁴, Tomoyuki Fujiyama⁵, Xiaojie Yang¹, Shuang Zhou¹, Noriko Hotta-Hirashima², Daniela Klewe-Nebenius⁶, Aya Ikkyu¹, Miyo Kakizaki¹, Satomi Kanno¹, Liqin Cao¹, Satoru Takahashi¹, Junmin Peng¹, Wenguo Yu¹, Hiromasa Funato^{1,7*}, Masashi Yanagisawa^{1,2,7*} & Qinghua Lu^{1,2,7,8*}

脳の全リン酸化タンパク質の定量解析で、

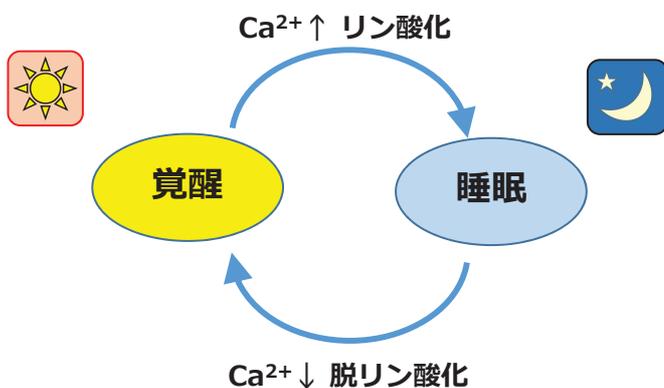
1. 断眠(Sleep deprivation)で、リン酸化が増える
2. Sleepy/Sik3 変異マウスで、リン酸化が増える。
3. 両者に共通するものは、睡眠要求性を示す可能性がある。



Sleepy/Sik3 変異は、睡眠要求（夜）を作り出す

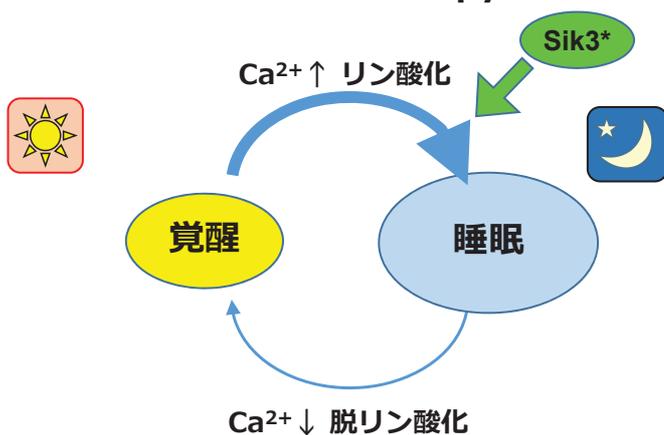
130

現在の仮説 正常



131

現在の仮説 Sleepy



132