広島大学統合生命科学研究科 大学院講義

睡眠制御研究の最前線

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

2019/11/22

睡眠障害相談室

http:// sleepclinic.jp

2000年12月開設

アクセス150万回

相談件数：
2000件以上

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
- 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
- 概日周期睡眠障害と睡眠相後退症候群の治療

睡眠(≒眠気)の制御因子

恒常性維持
睡眠負債が眠気↑

概日周期
昼間に眠気↓

睡眠 ←眠気

情動機構
ストレスが眠気↓

睡眠(≒眠気)の制御因子

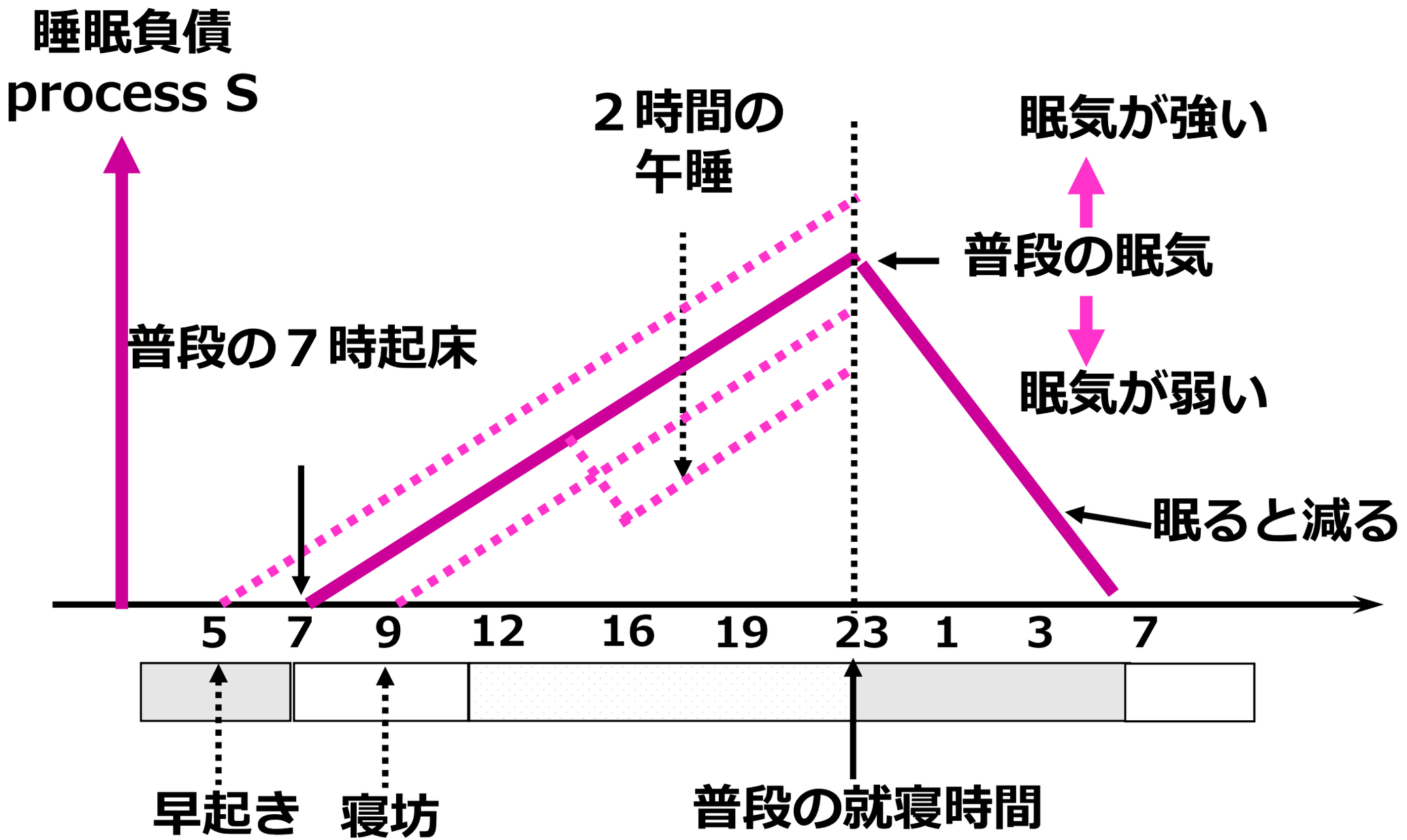
恒常性維持
睡眠負債が眠気↑

概日周期
昼間に眠気↓

睡眠 ←眠気

情動機構
ストレスが眠気↓

睡眠負債 sleep debt による眠気



睡眠(≒眠気)の制御因子

恒常性維持
睡眠負債が眠気↑

概日周期
昼間に眠気↓

睡眠 ←眠気

情動機構
ストレスが眠気↓

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

概日周期(サーカディアンリズム)とは

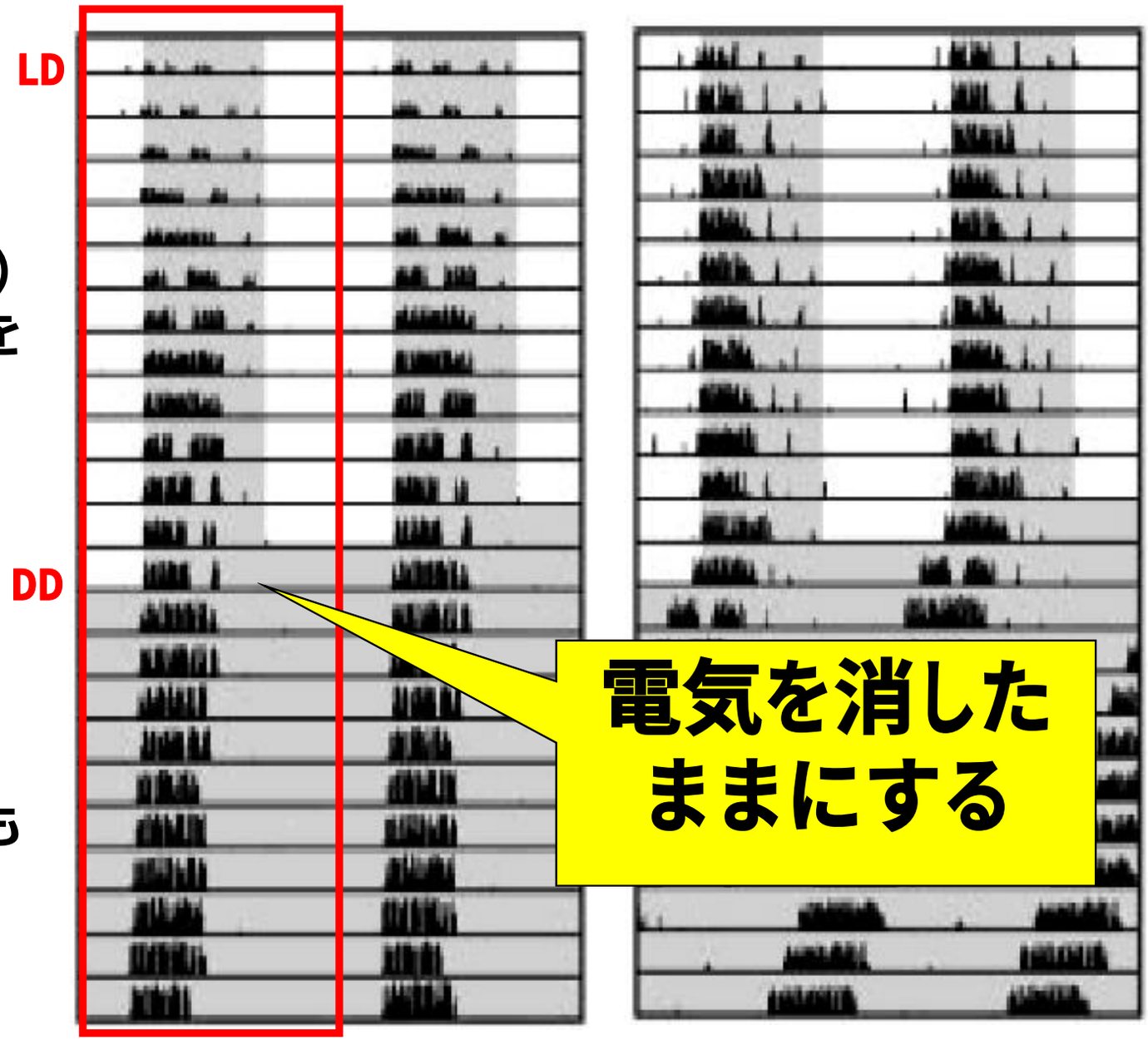
1. 約24時間周期
   サーカ　＝ 約（概）
   ディアン ＝ 1日＝24時間

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

2匹のマウス（夜行性）の運動リズム



概日周期(サーカディアンリズム)とは

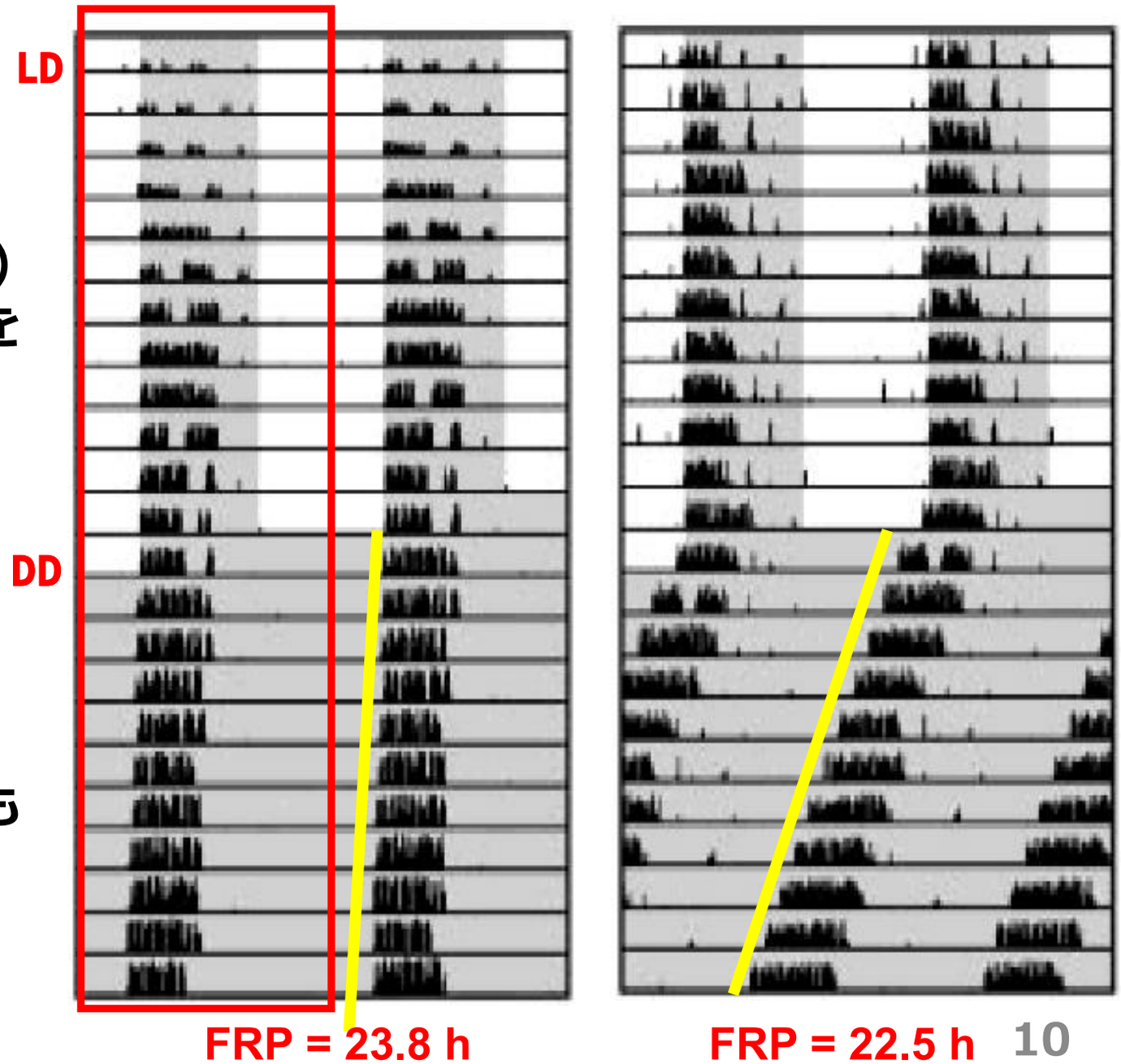
1. 約24時間周期
   サーカ　＝ 約（概）
   ディアン ＝ 1日＝24時間

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

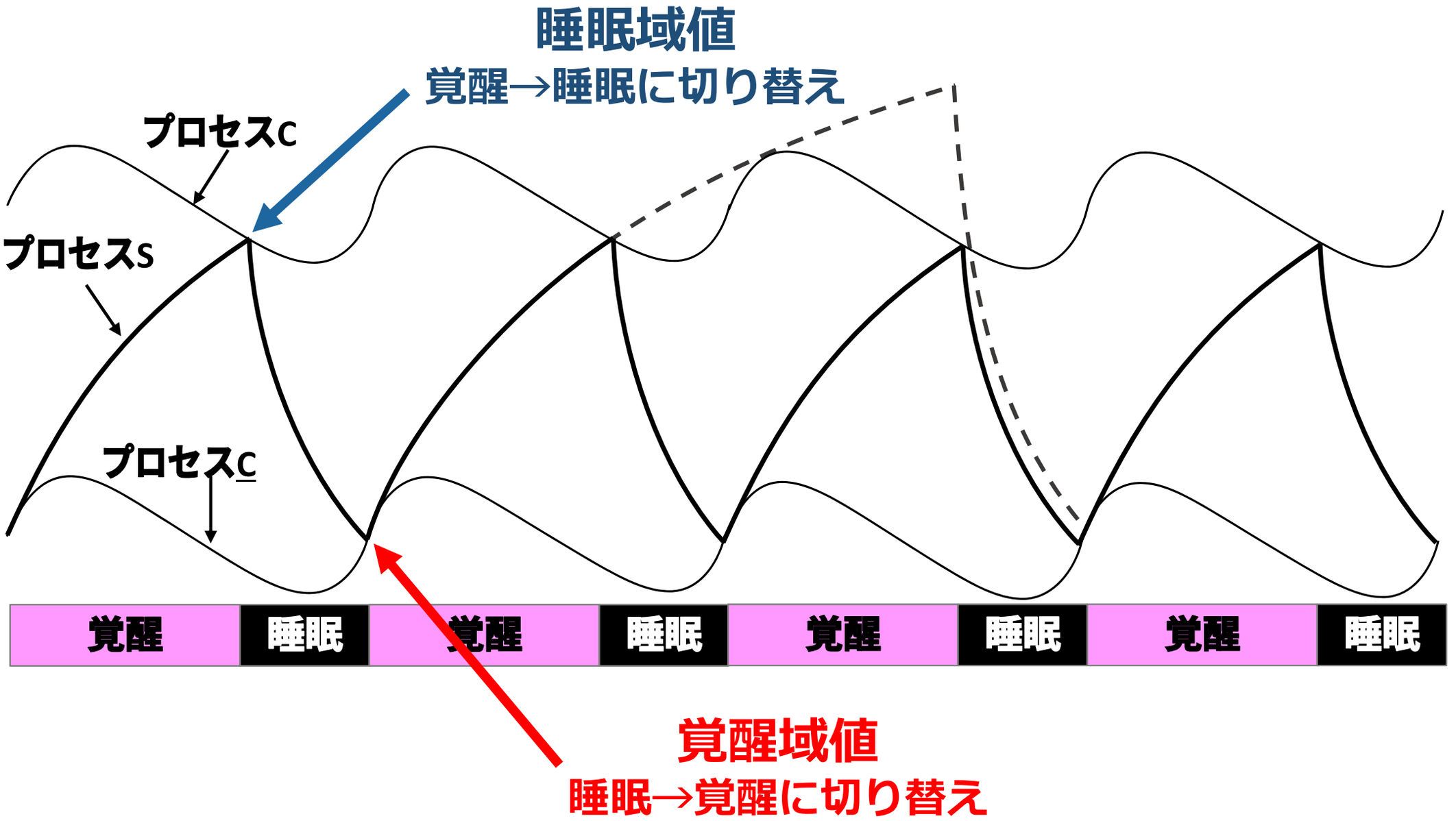
3. 自律性
   外部環境が一定でも、
   時を刻み続ける

4. 温度補償性
   体温・環境温が変わっても
   同じ周期を保つ

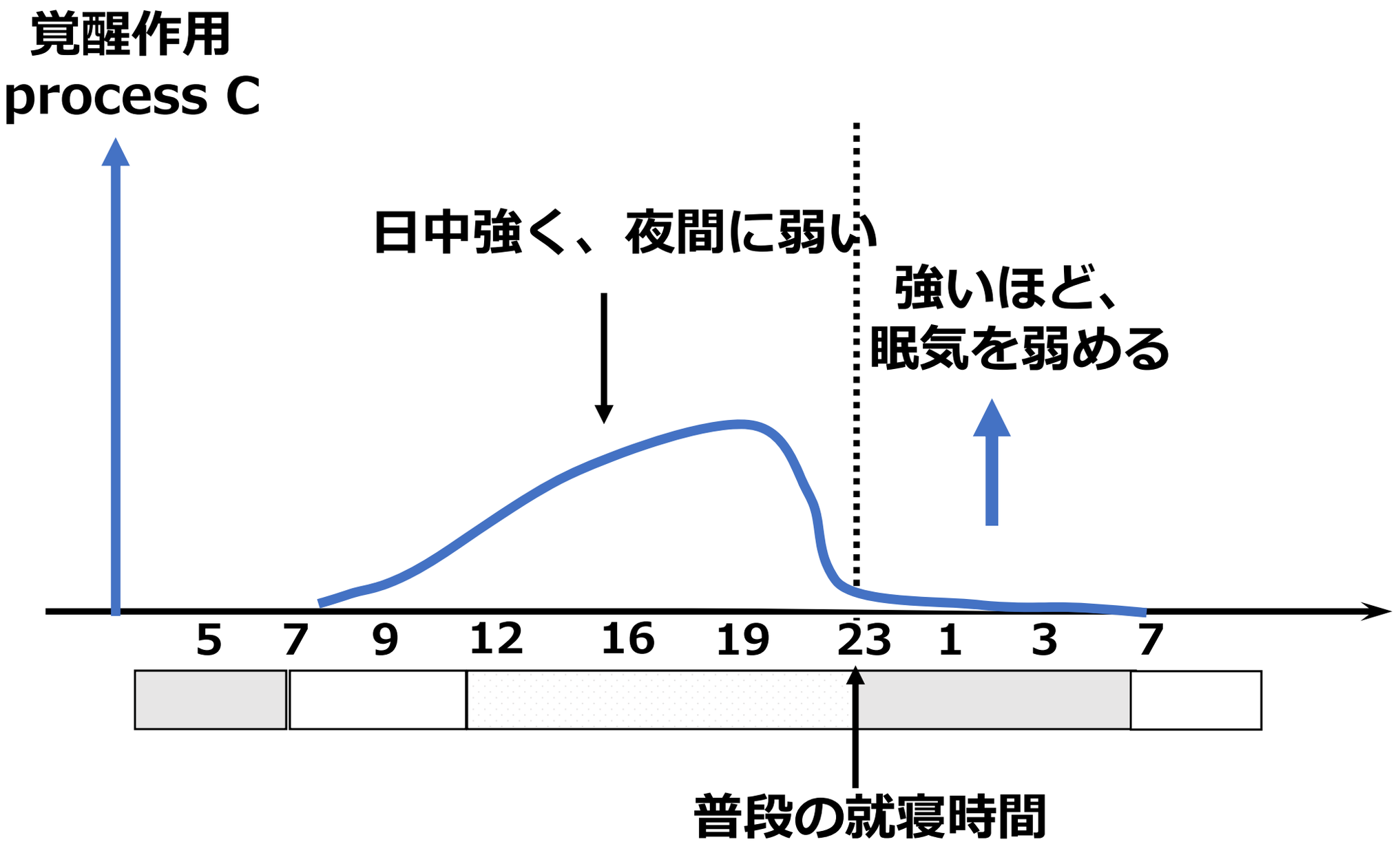
2匹のマウス（夜行性）の運動リズム



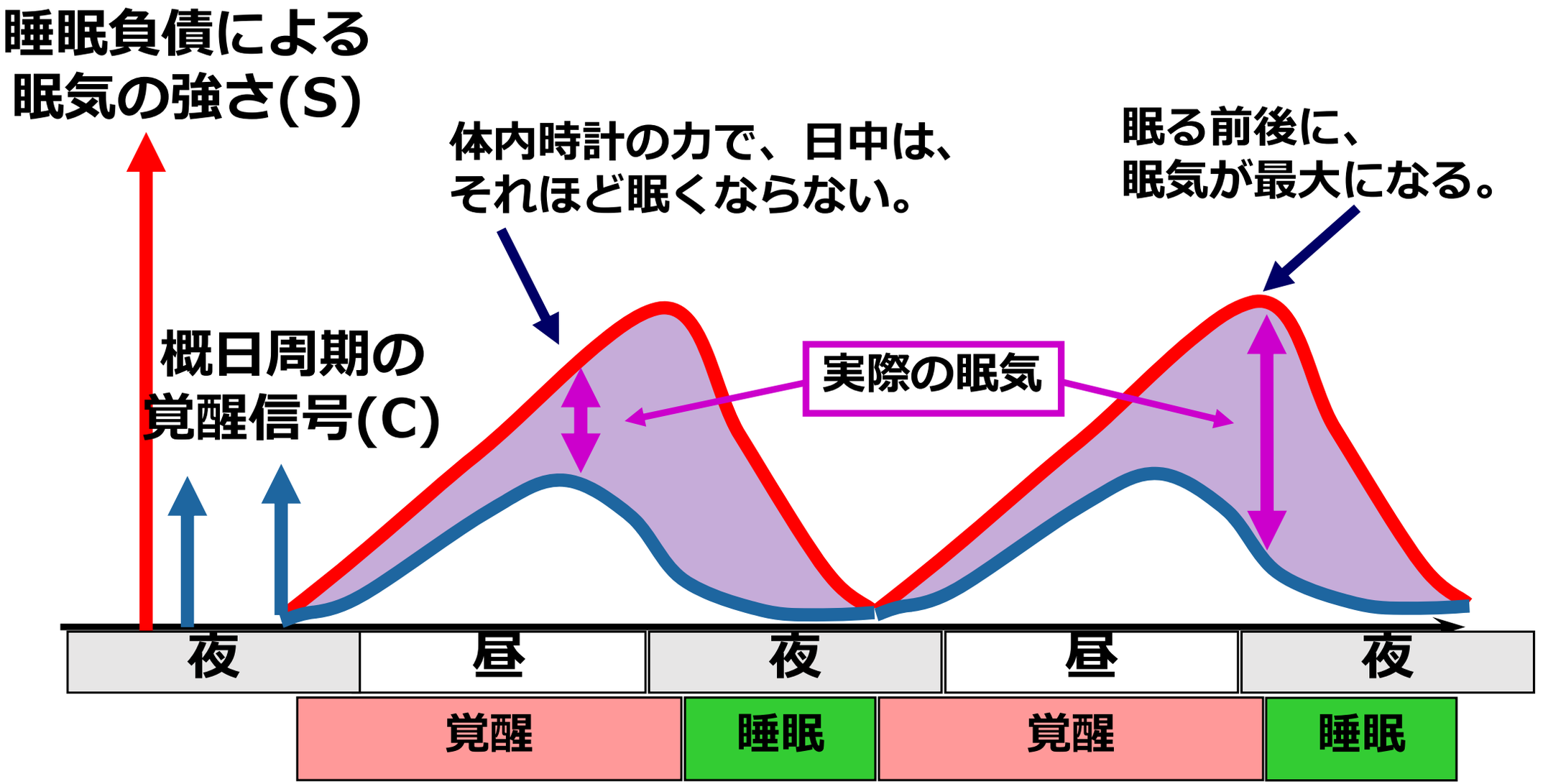
Two Process Model (Borbely, 1982)



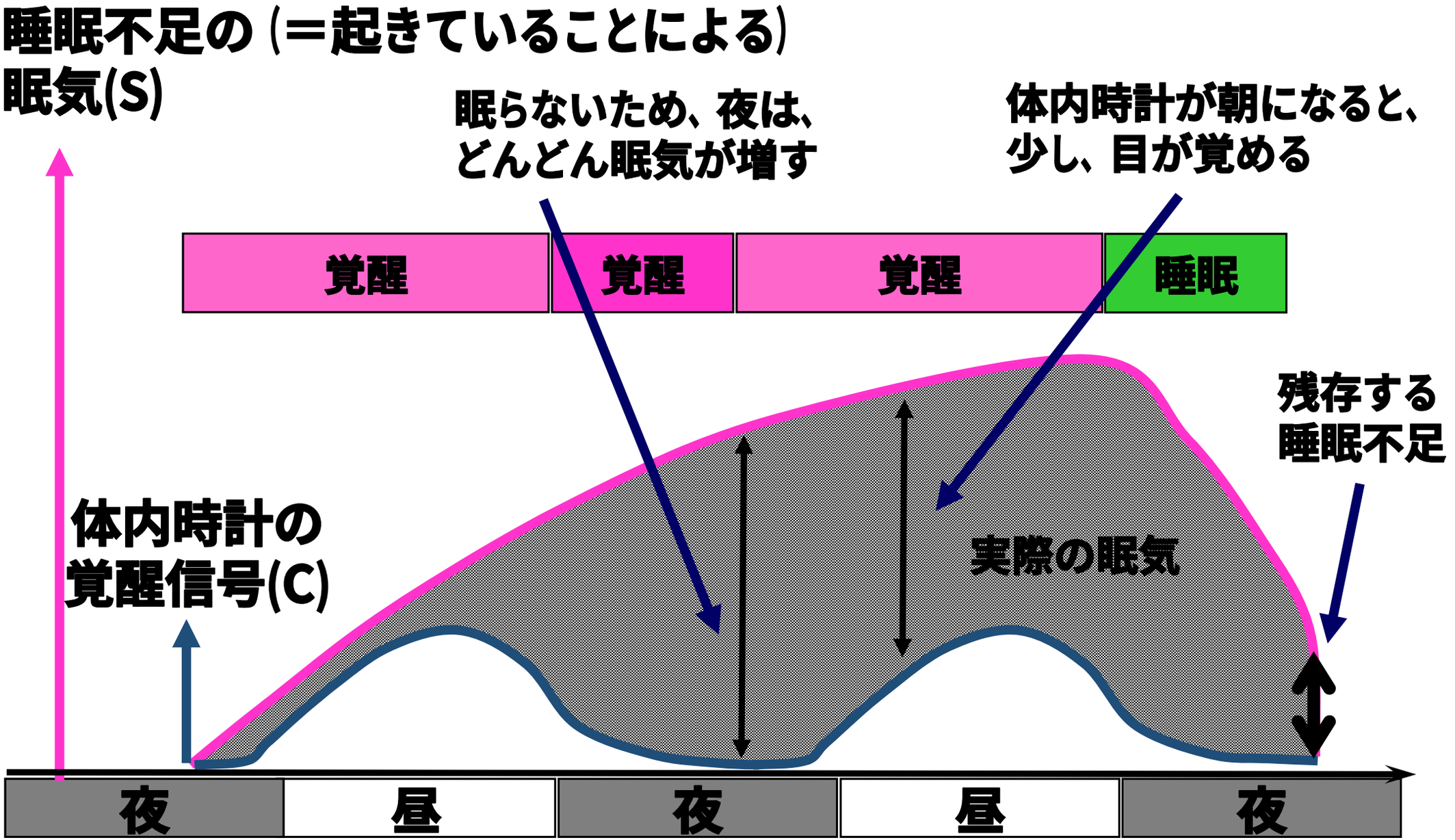
概日周期生物時計の覚醒作用



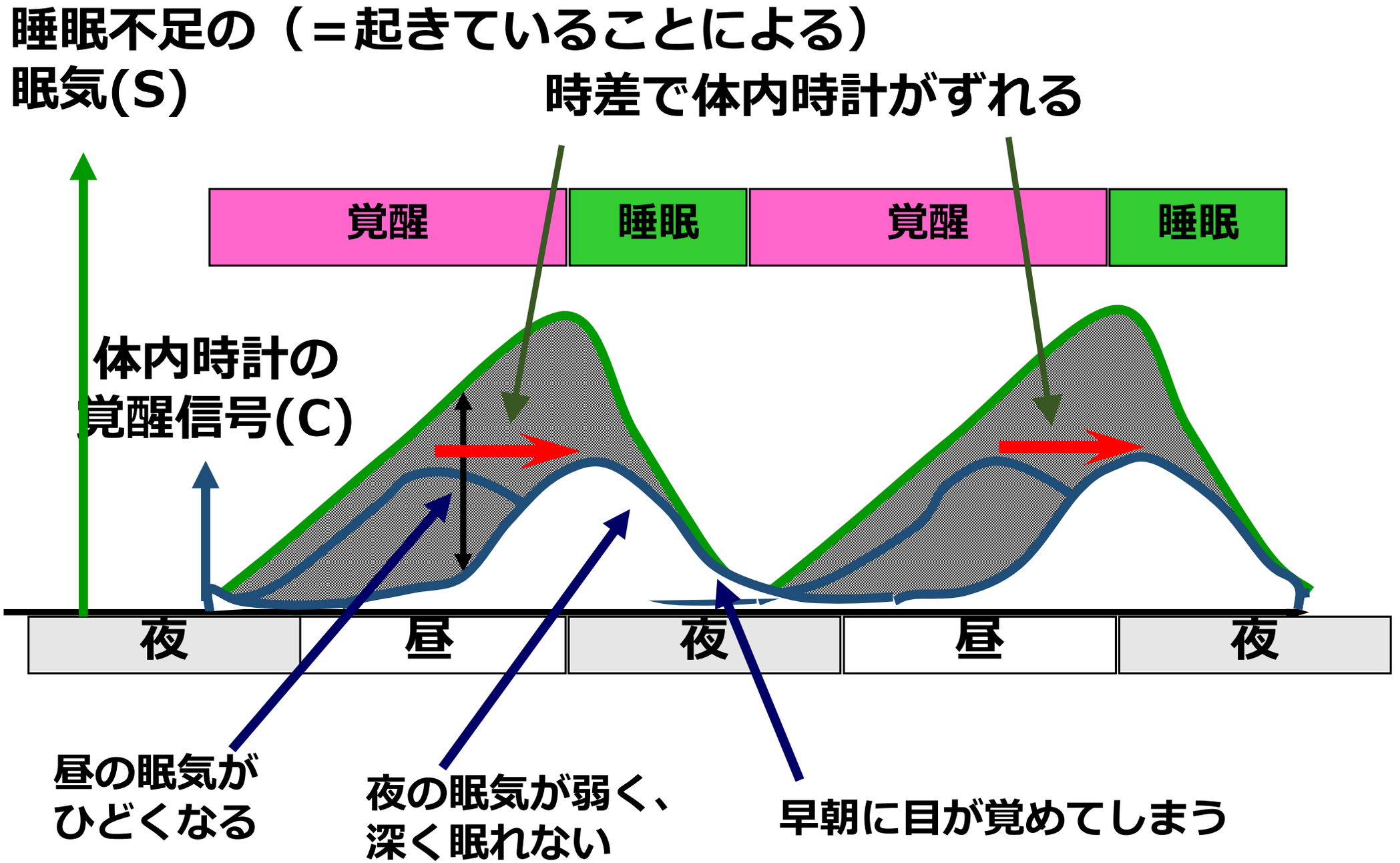
(簡易型) 二過程モデル


睡眠負債による
眠気の強さ(S)
体内時計の力で、日中は、
それほど眠くならない。
眠る前後に、
眠気が最大になる。
概日周期の
覚醒信号(C)
実際の眠気
夜
昼
夜
昼
夜
覚醒
睡眠
覚醒
睡眠

徹夜明けに、すっきりする理由



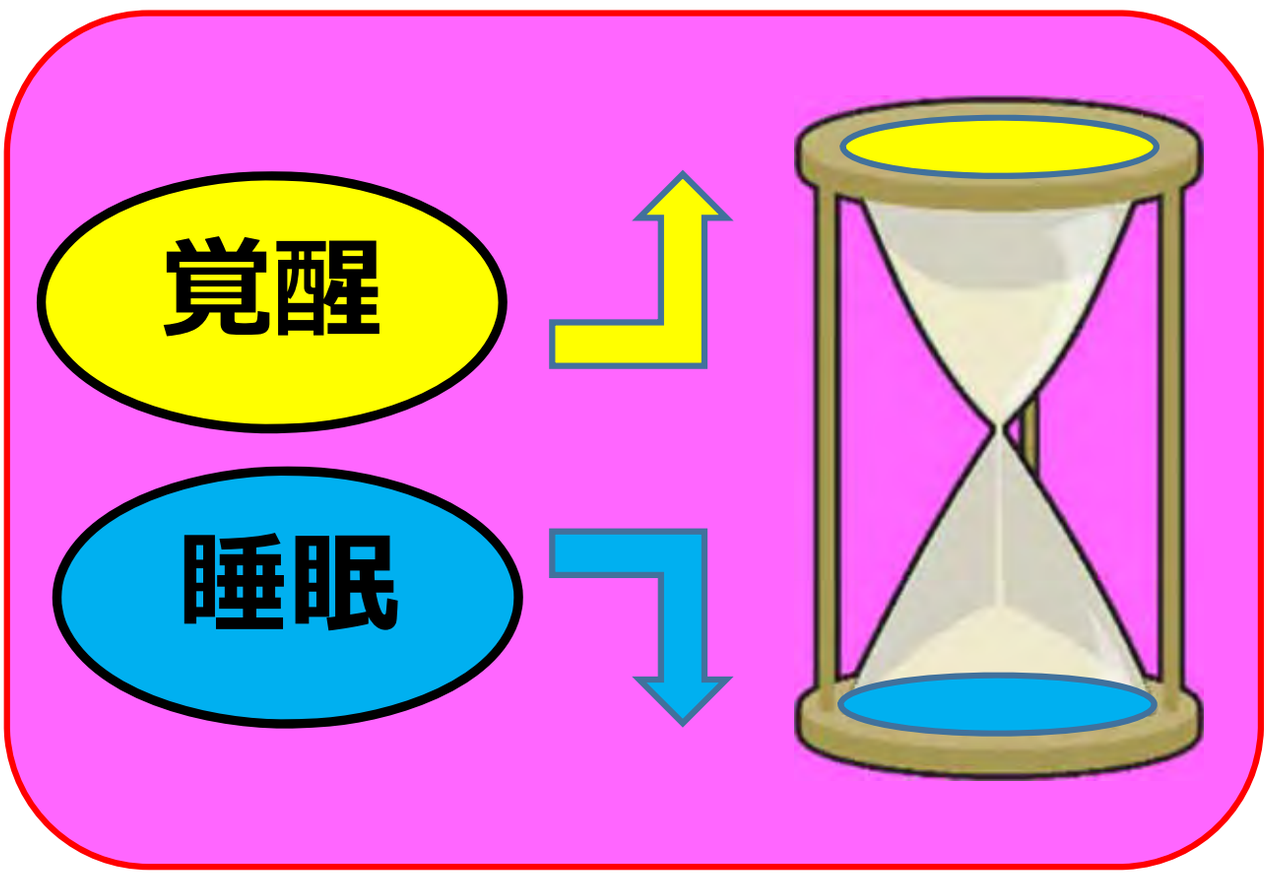
体内時計のずれ　＝　時差ぼけ



2種類の制御系：２過程モデル

概日周期機構

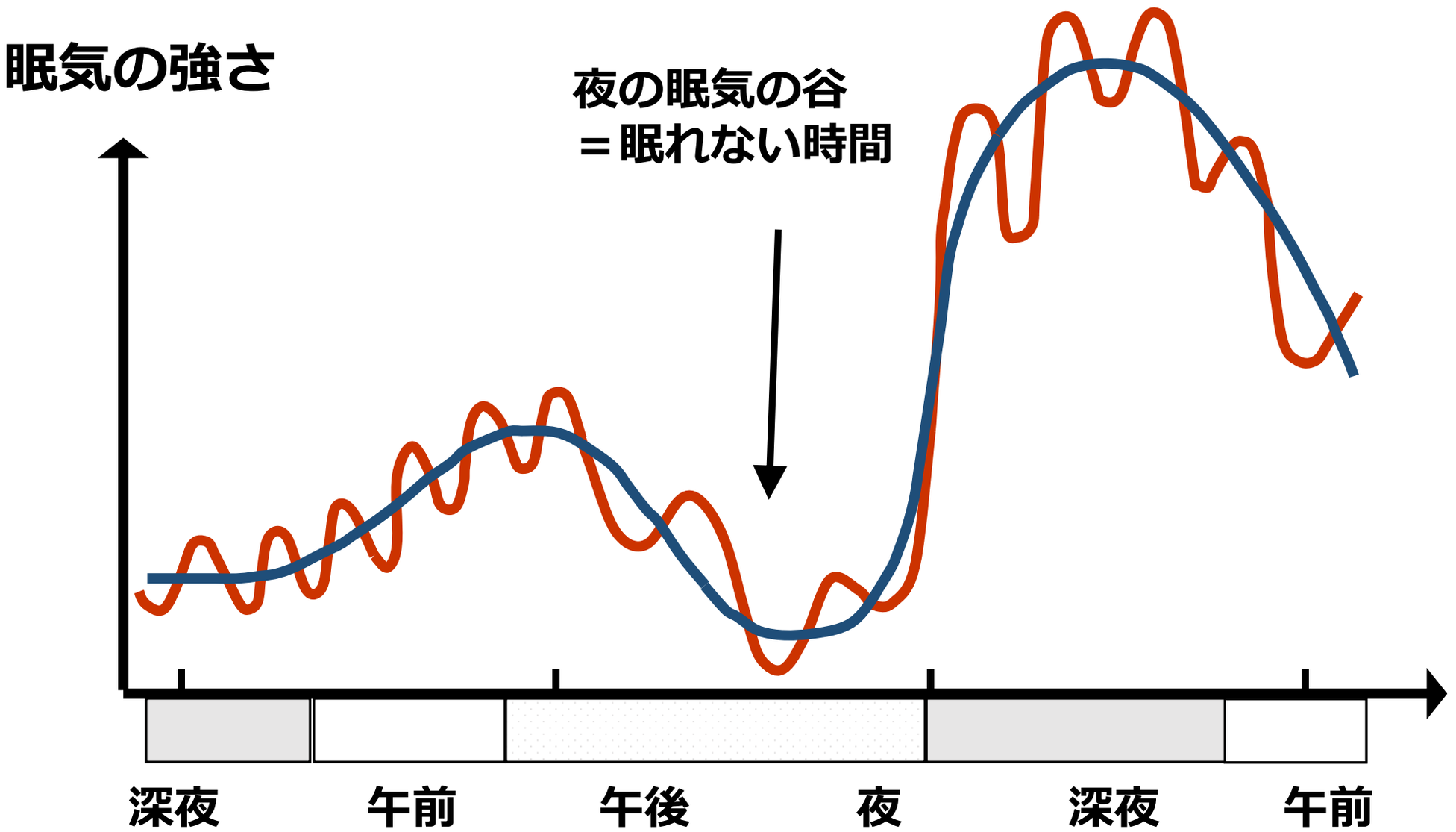
恒常性維持機構



二過程モデルの問題点＝波が1回

実際の眠気の変動は、もっと複雑

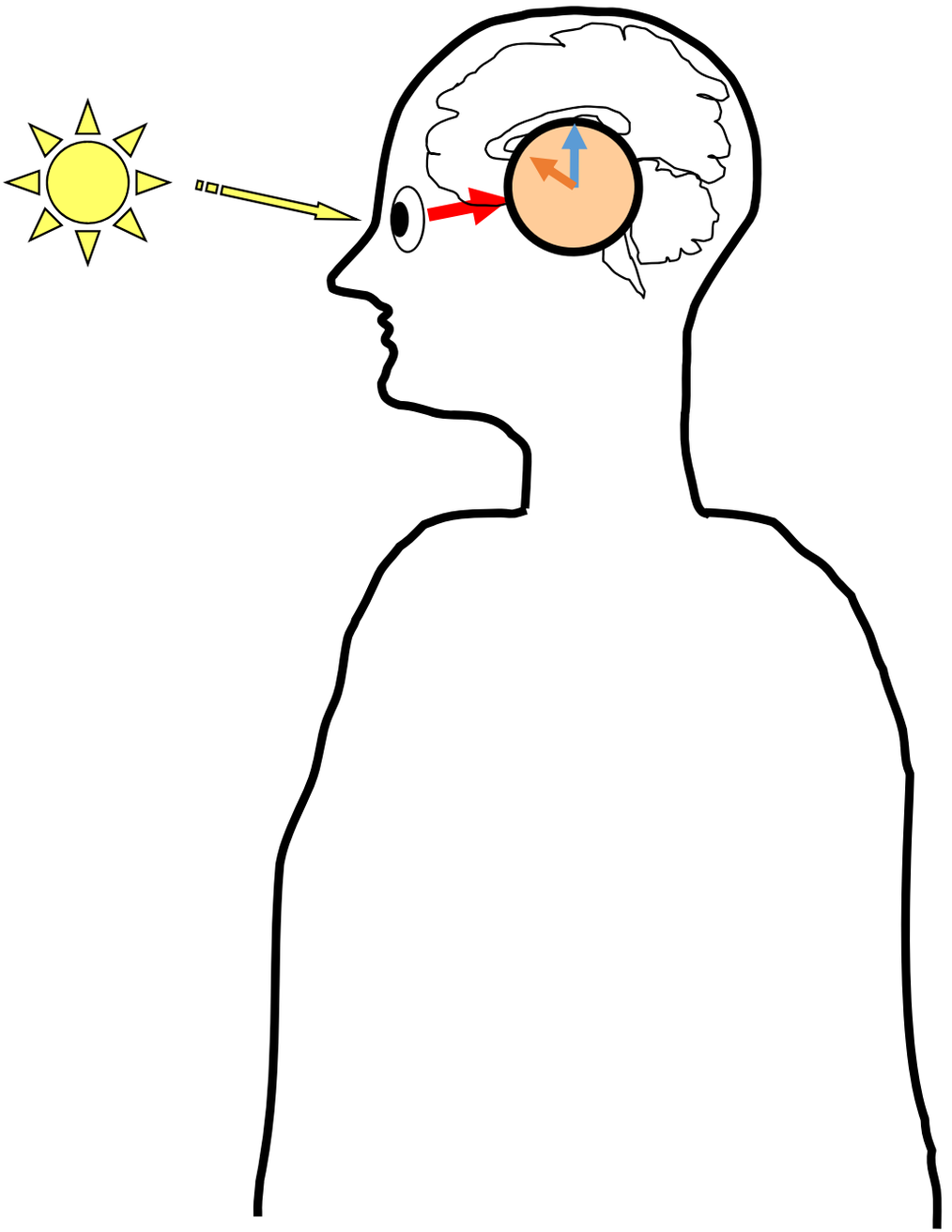
大波,中波, 小波…眠気の複雑な変化



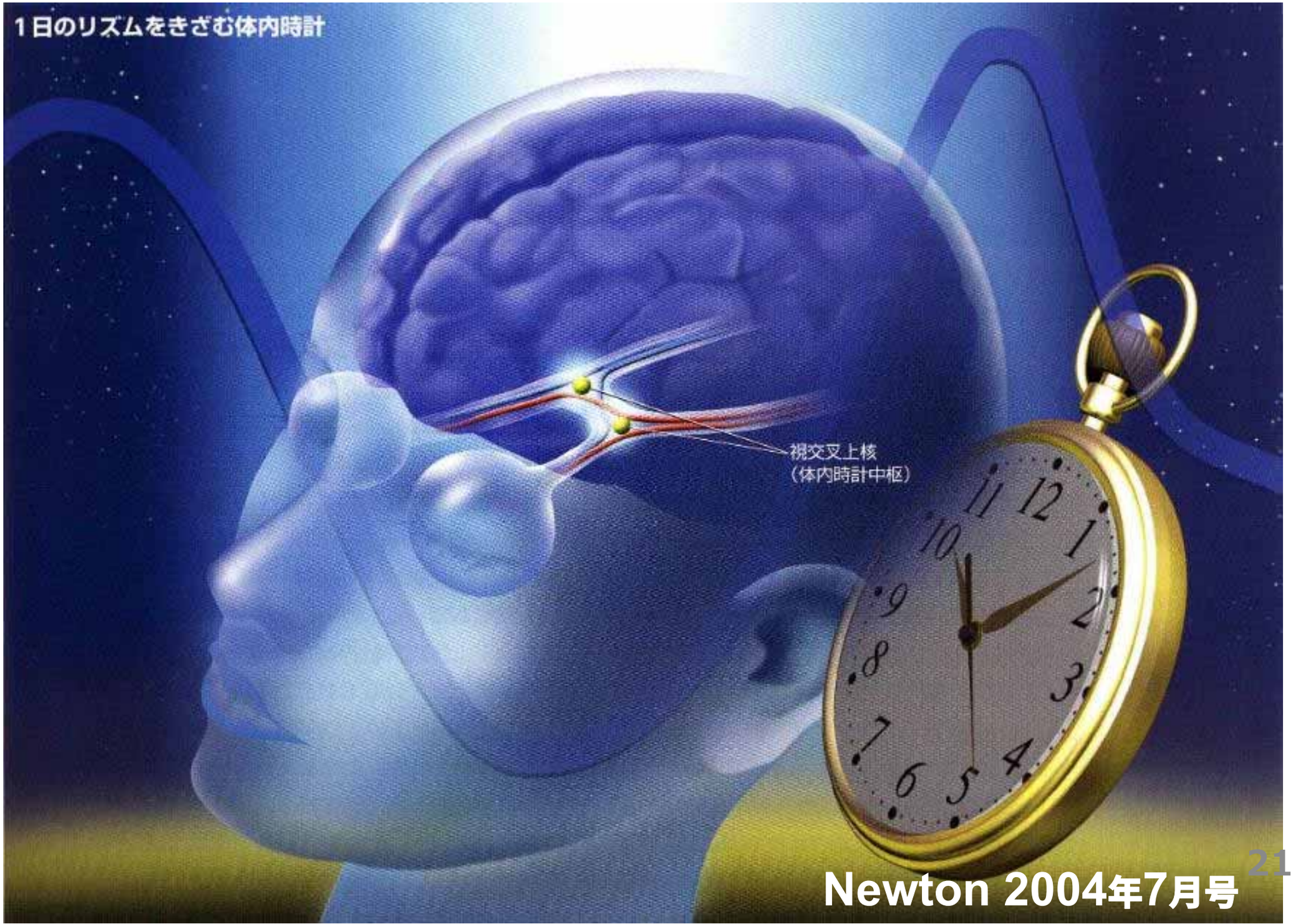
アウトライン

- 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
- 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
- 概日周期睡眠障害と睡眠相後退症候群の治療

脳の中に時計がある



体内時計の中枢

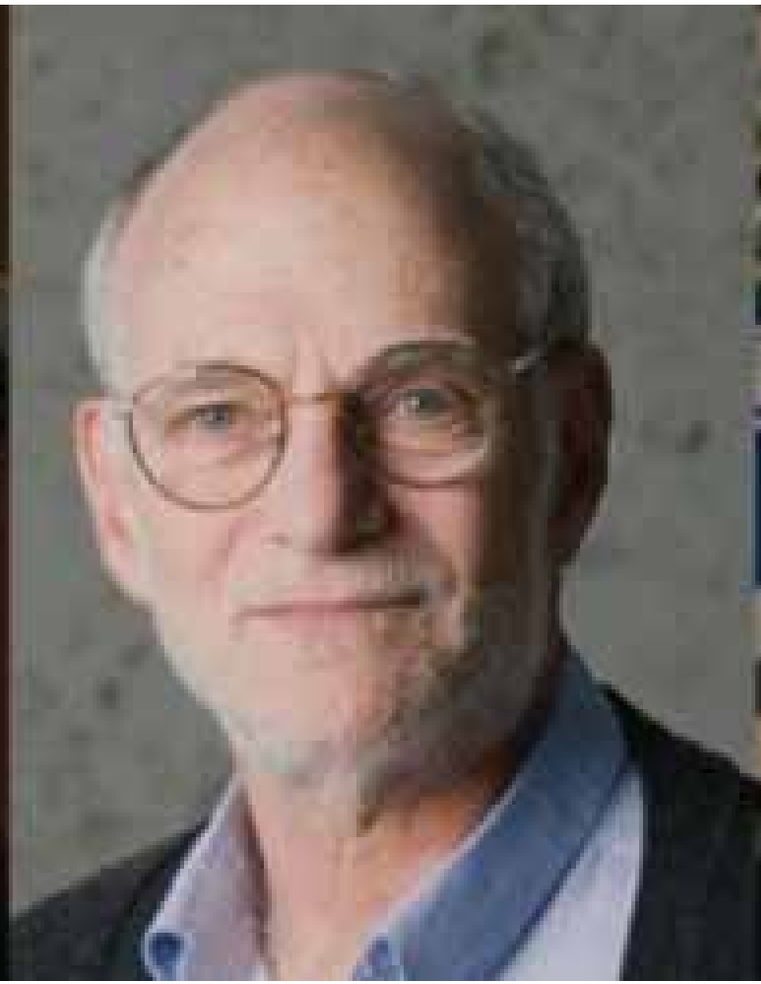


Newton 2004年7月号

時計は、個々の細胞レベルで作られる

その仕組みは？

ノーベル医学生理学賞 2017



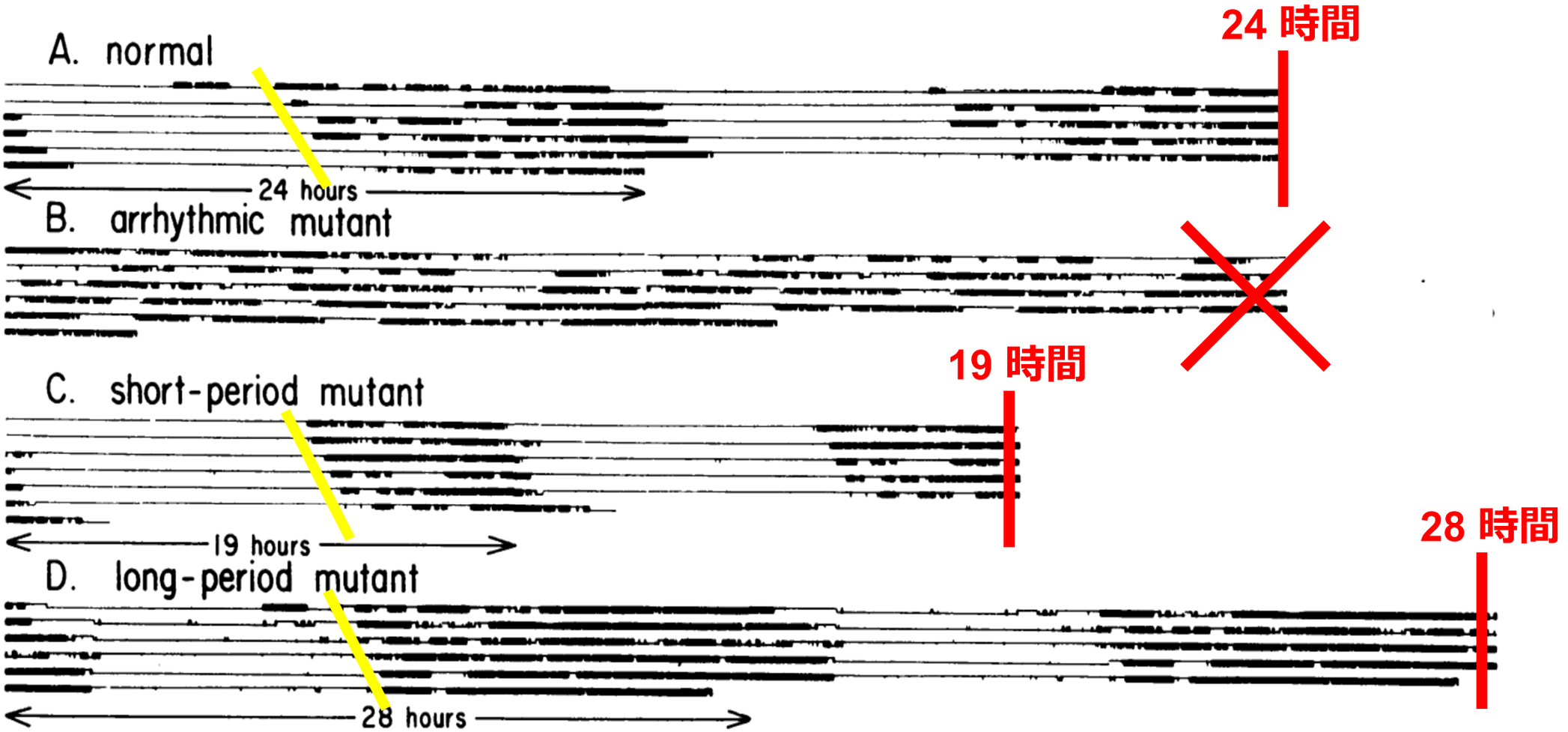
ジェフ・ホール
ボストン
ブランダイス大学

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

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

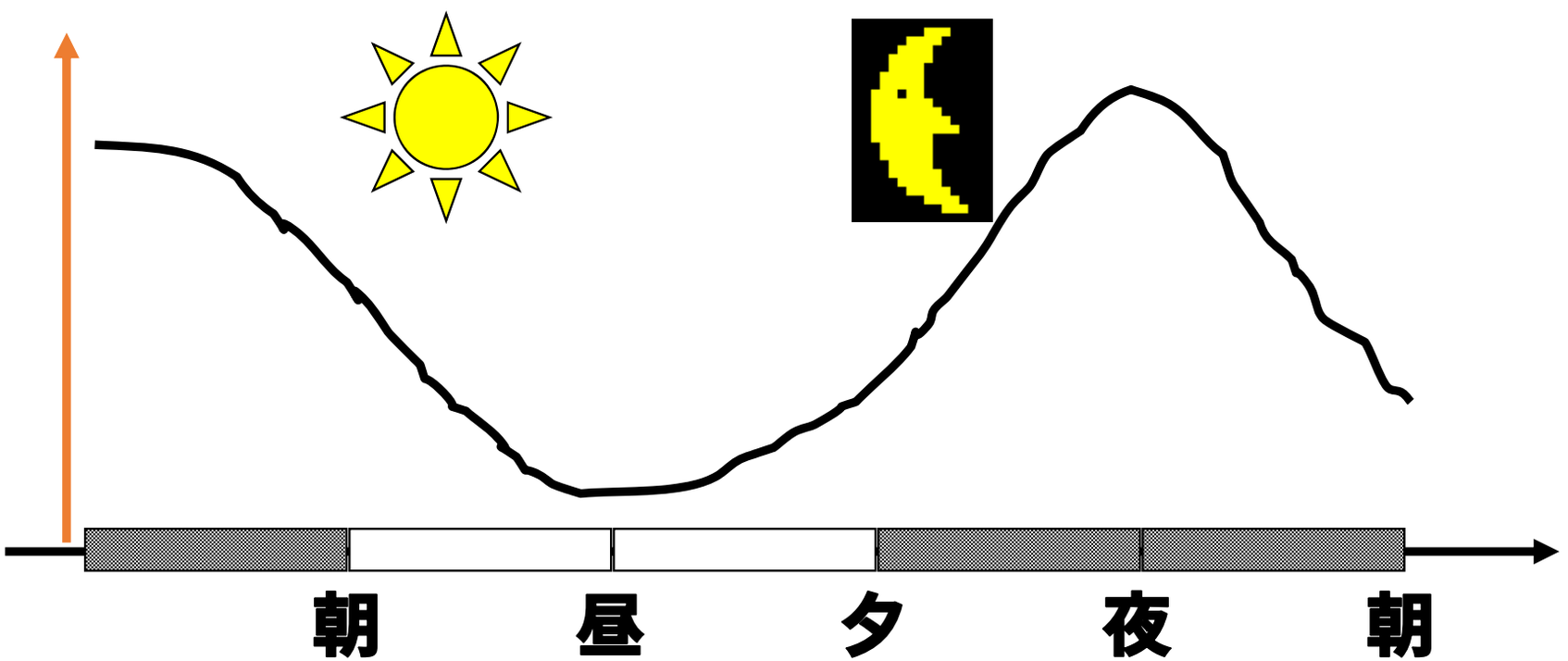


Konpka RJ & Benzer S, Proc. Nat. Acad. Sci. 68, 2112-6 (1971)

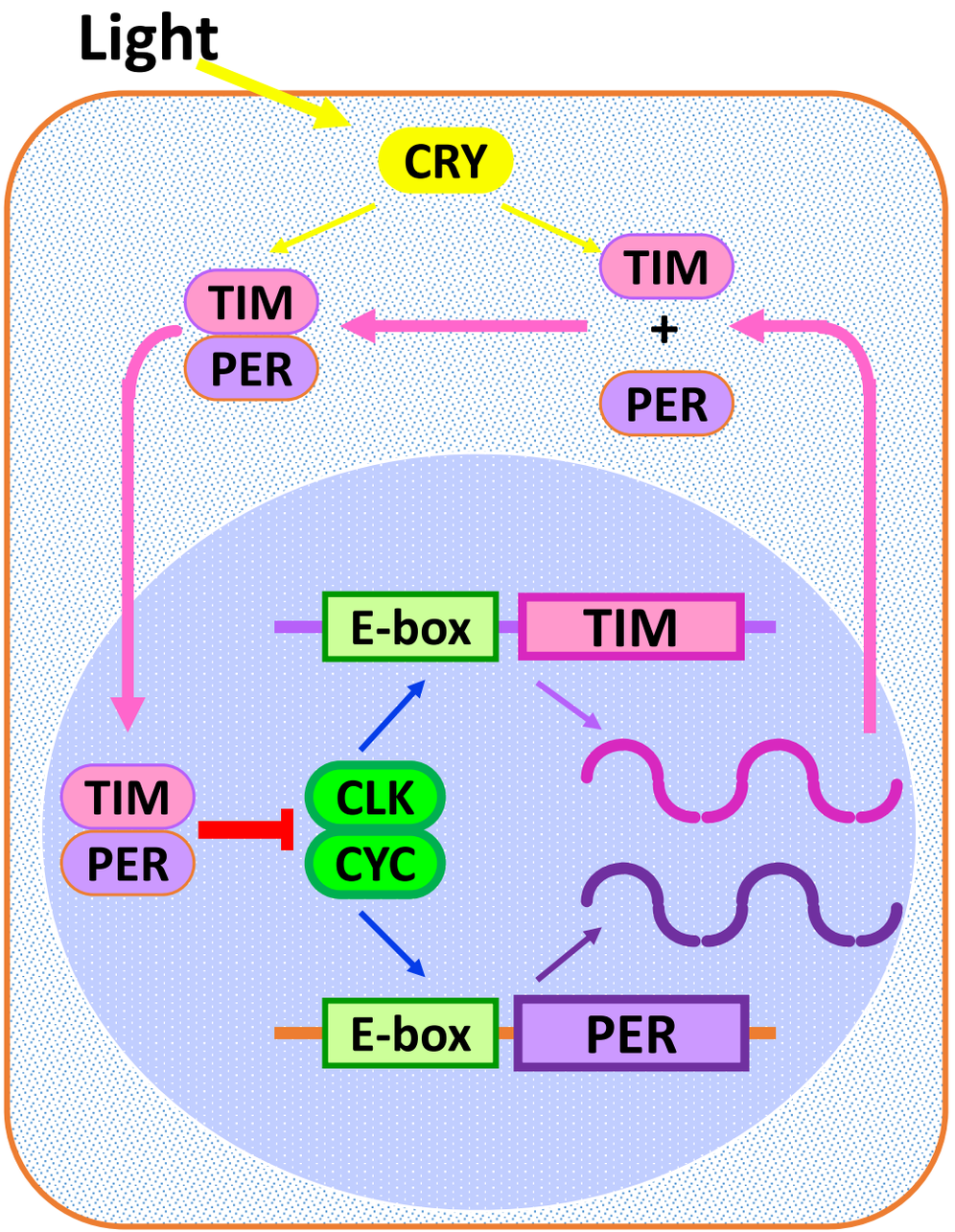
生物時計の時計の針

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



時計遺伝子が振動を作る



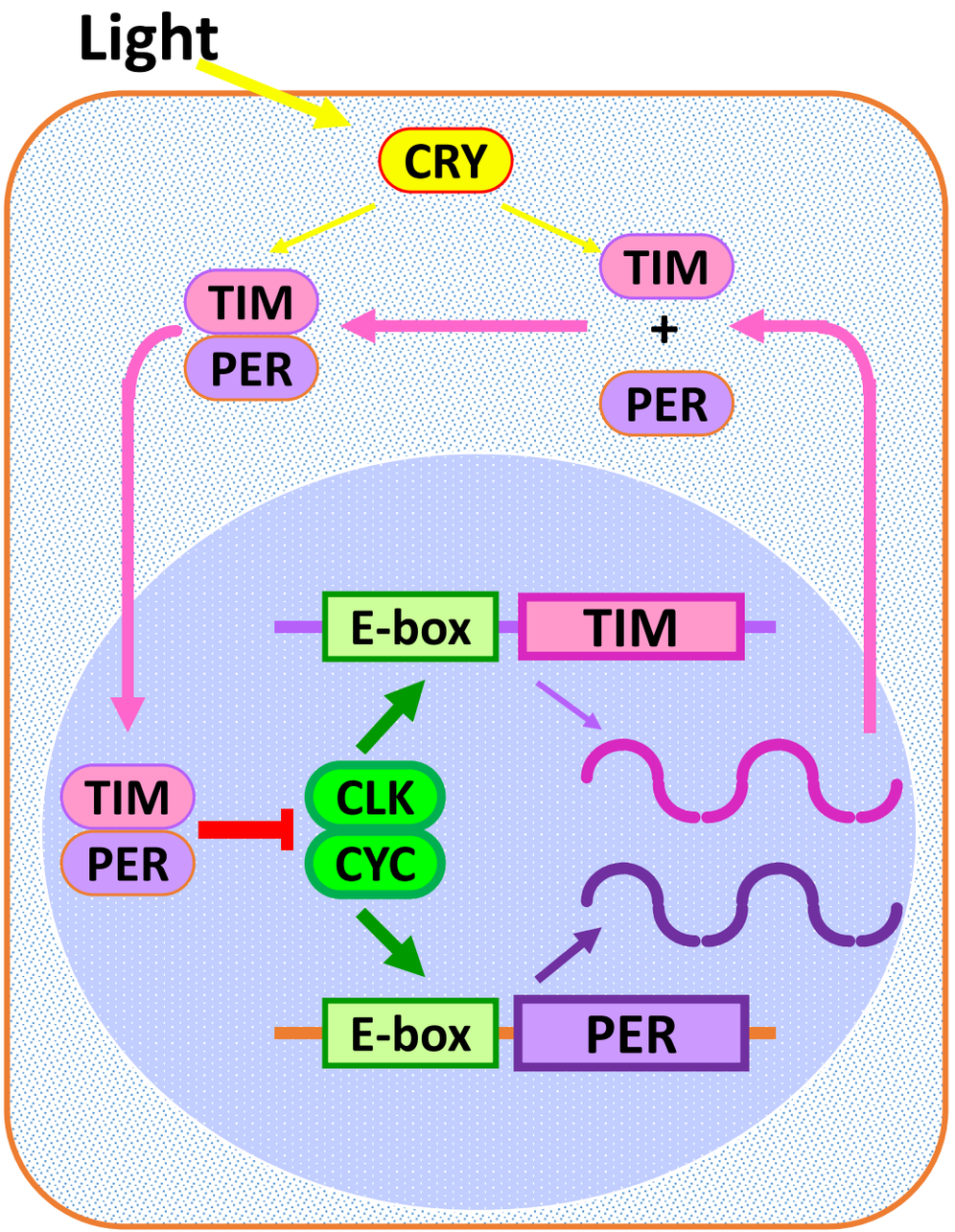
ショウジョウバエ

ノーベル賞につながる
4つの時計遺伝子

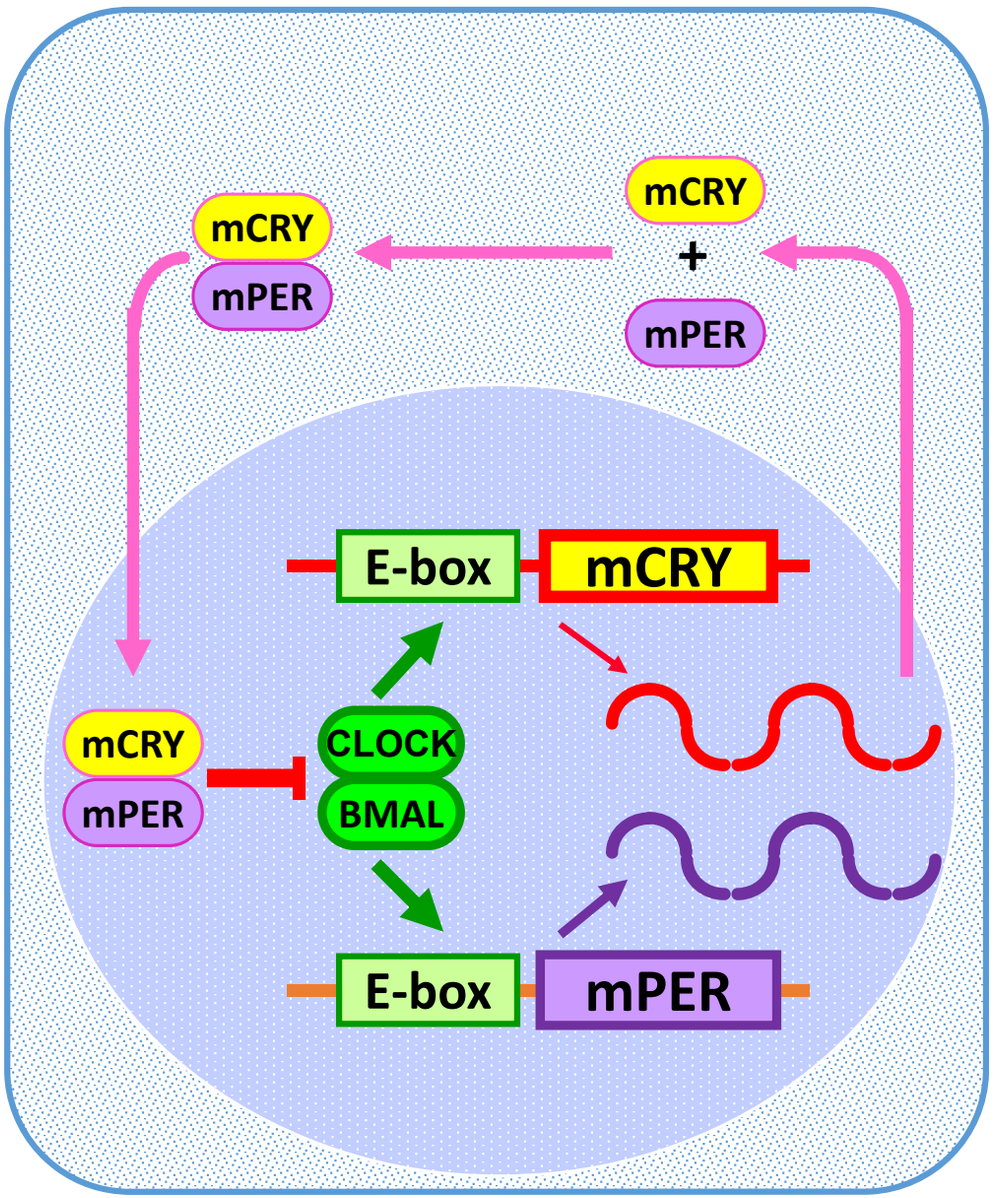
ポジティブ因子
CLK / CYC

ネガティブ因子
PER / TIM

昆虫もヒトも、ほぼ同じ仕組み

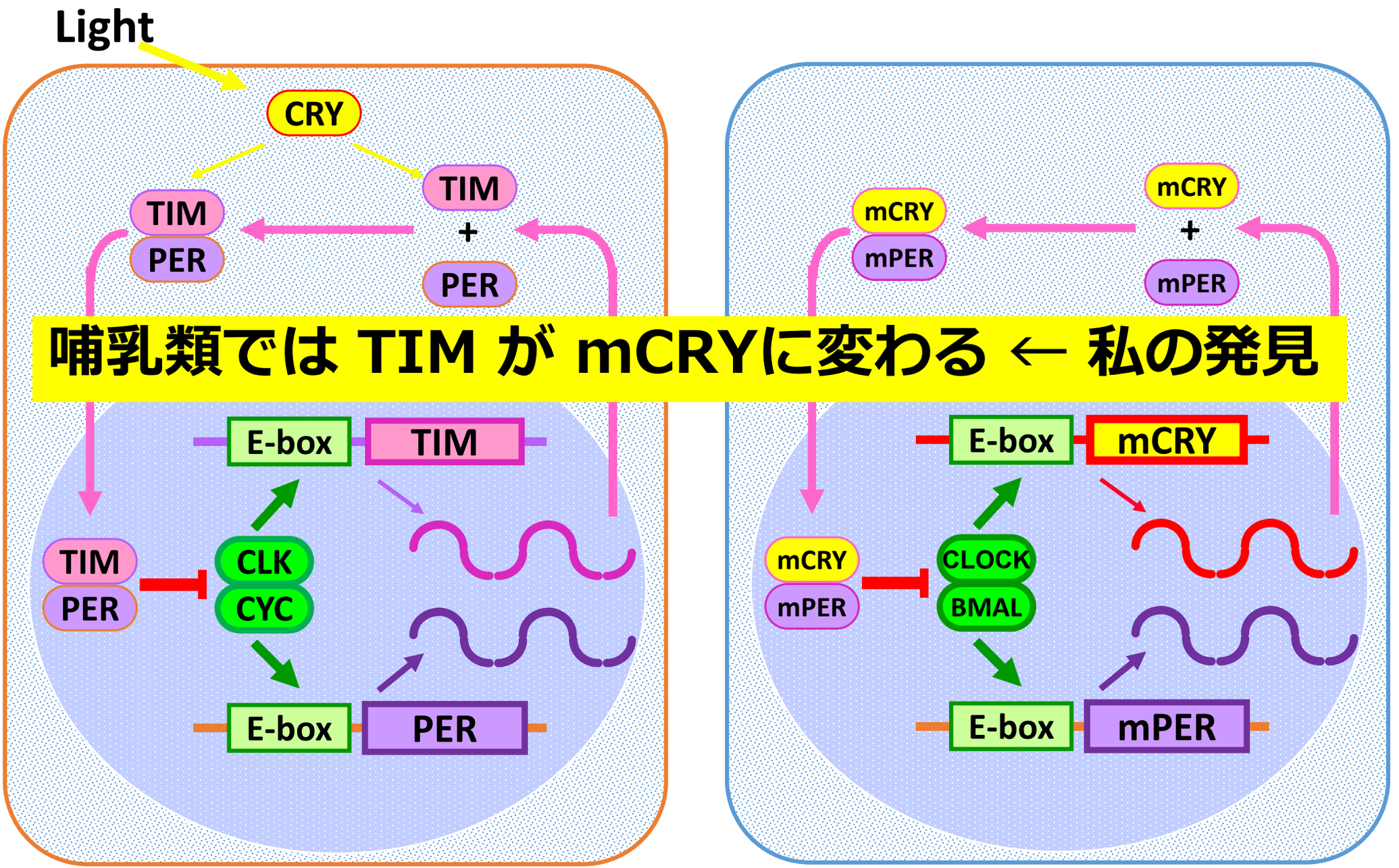


ショウジョウバエ



哺乳類

昆虫もヒトも、ほぼ同じ仕組み



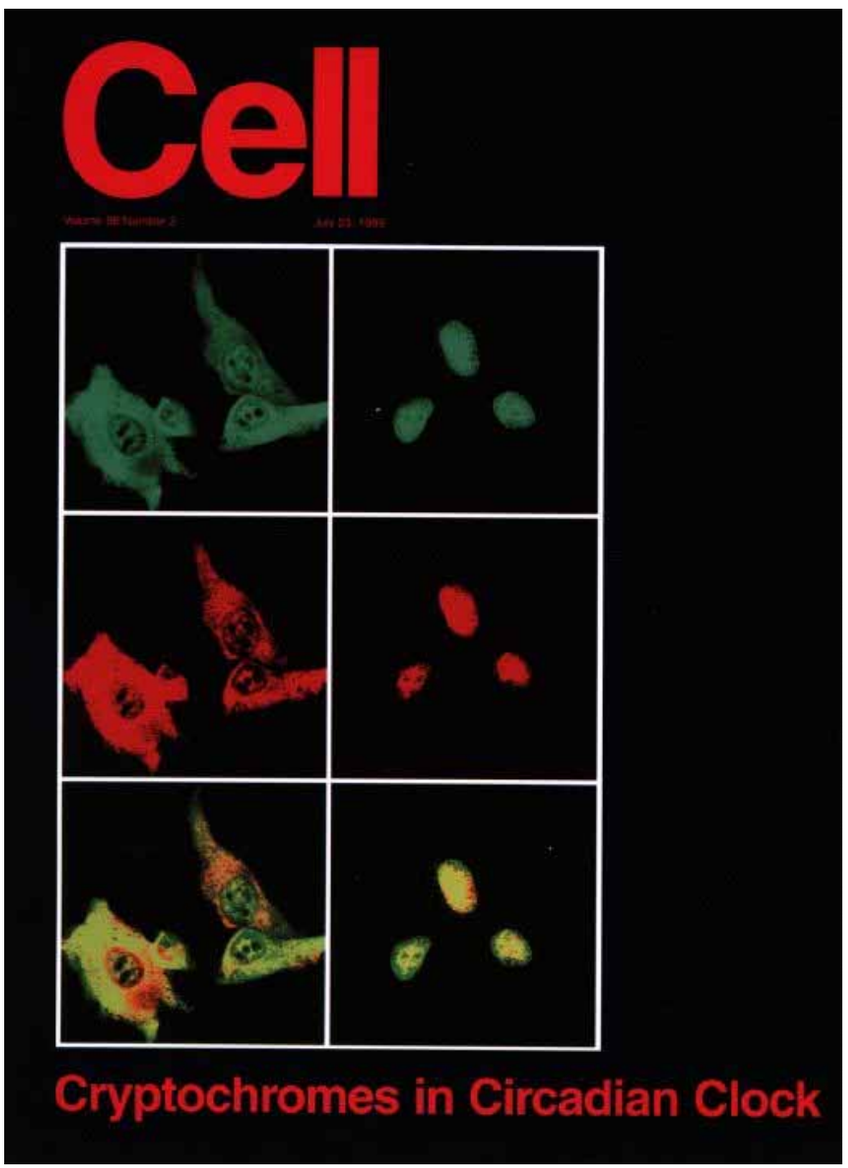
哺乳類では TIM が mCRYに変わる ← 私の発見

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)

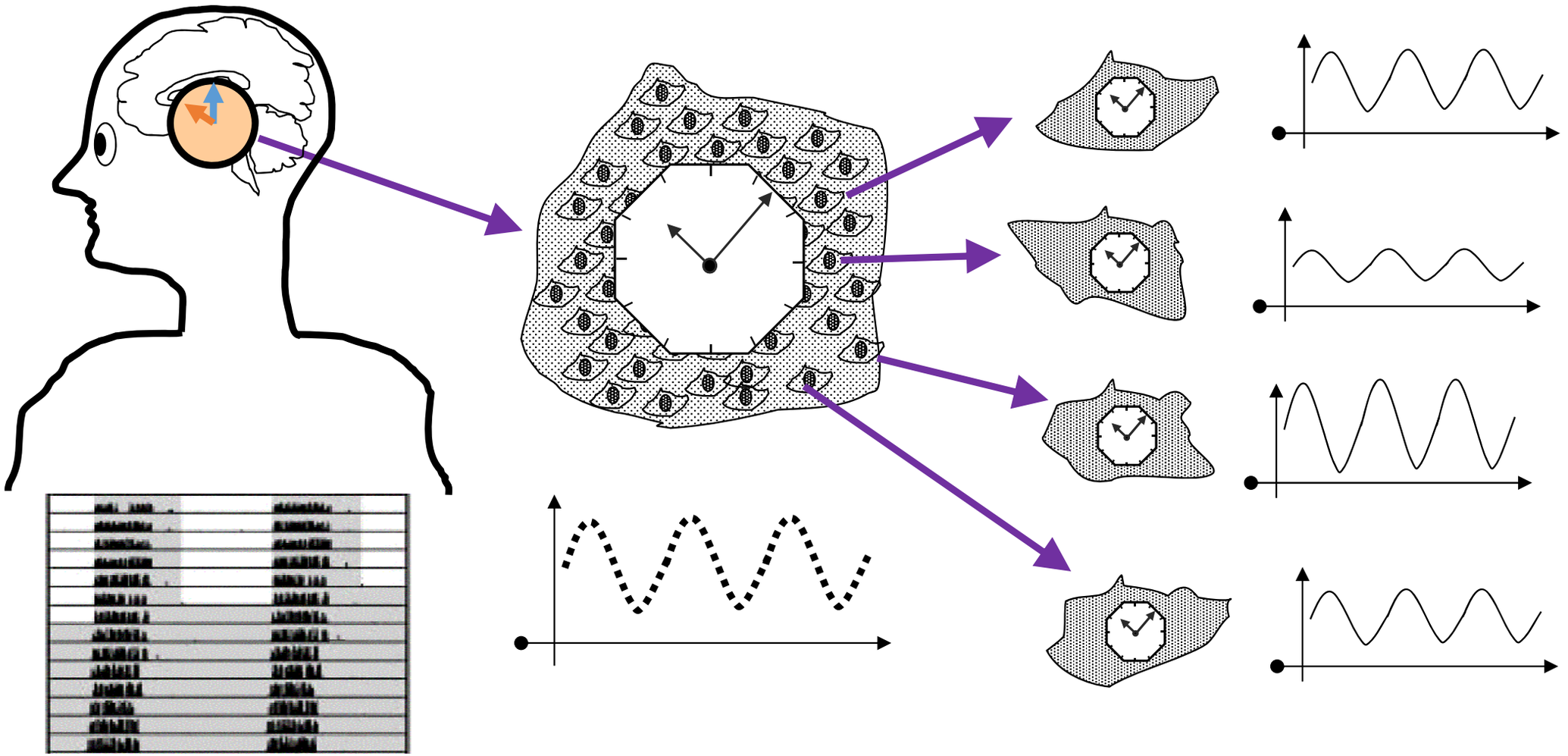


BMAL1がクリプトクロームと
反対位相で振動することを発見
(Shearmann et al. Science,2000)

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！

生物時計の構成



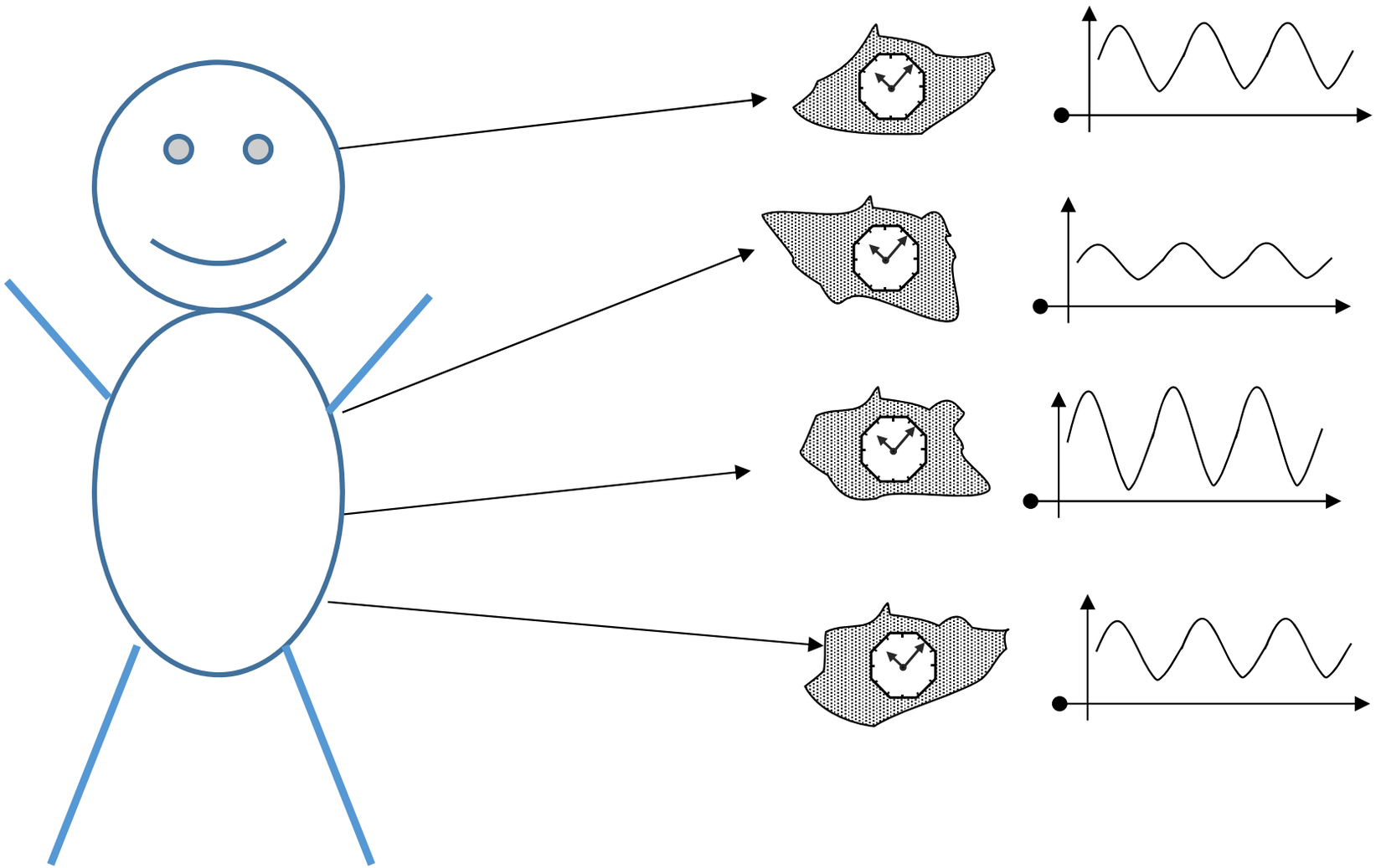
中心がSCN

SCN 全体が振動

個々の神経細胞も振動

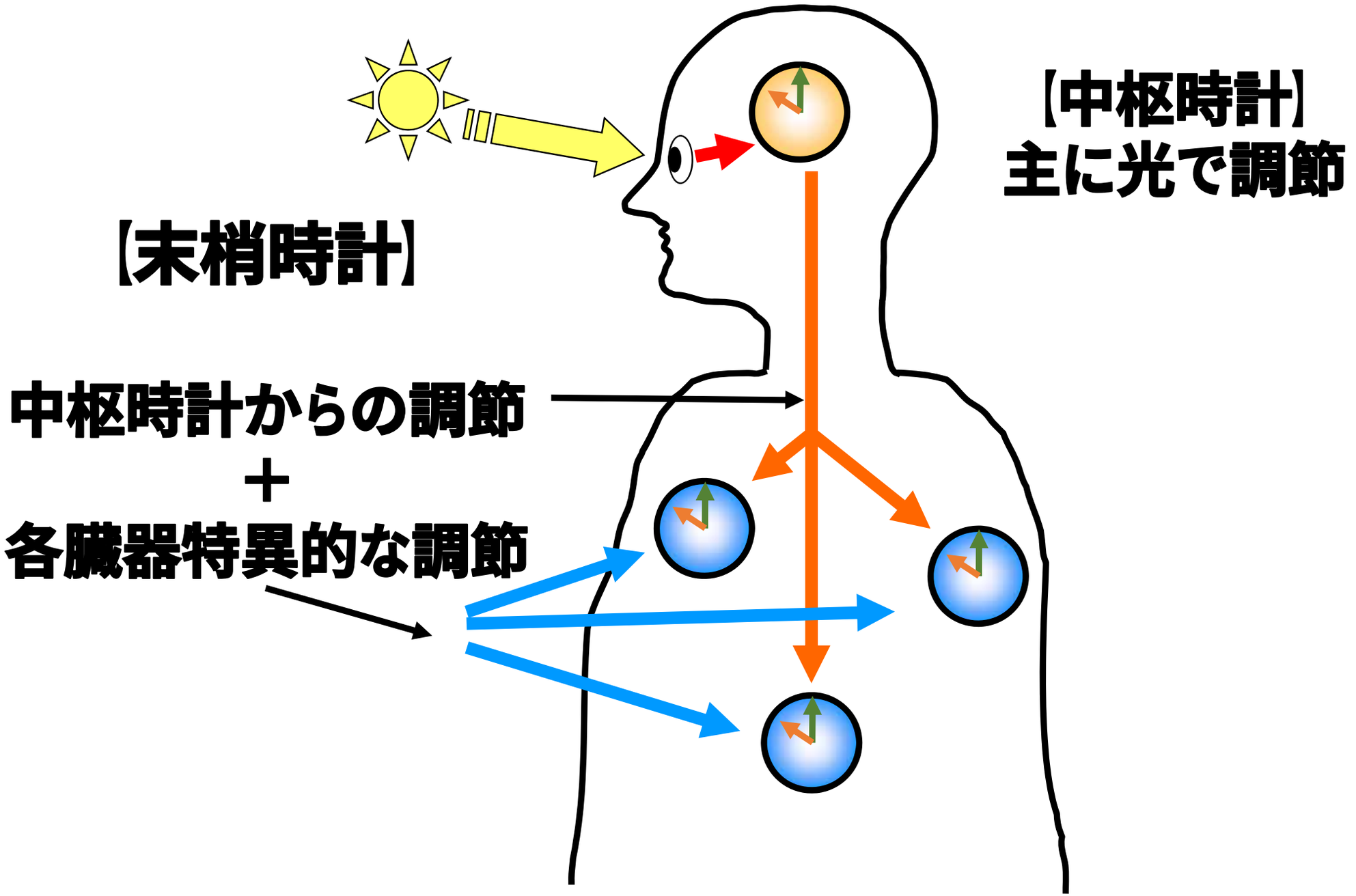
神経細胞1個にも、時計がある！

生物時計の構成



どんな細胞にも、時計がある！

中枢時計と末梢時計の関係



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？、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
- 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
- 概日周期睡眠障害と睡眠相後退症候群の治療

睡眠研究の進展

- 睡眠物質の発見
- 局所睡眠の発見
- 培養細胞の睡眠の発見
- 単一神経モデリングの成功
- 無脊椎動物との睡眠関連遺伝子の保存
- 睡眠サイクル依存的な

タンパク質リン酸化　←今、ココ！

睡眠研究の進展

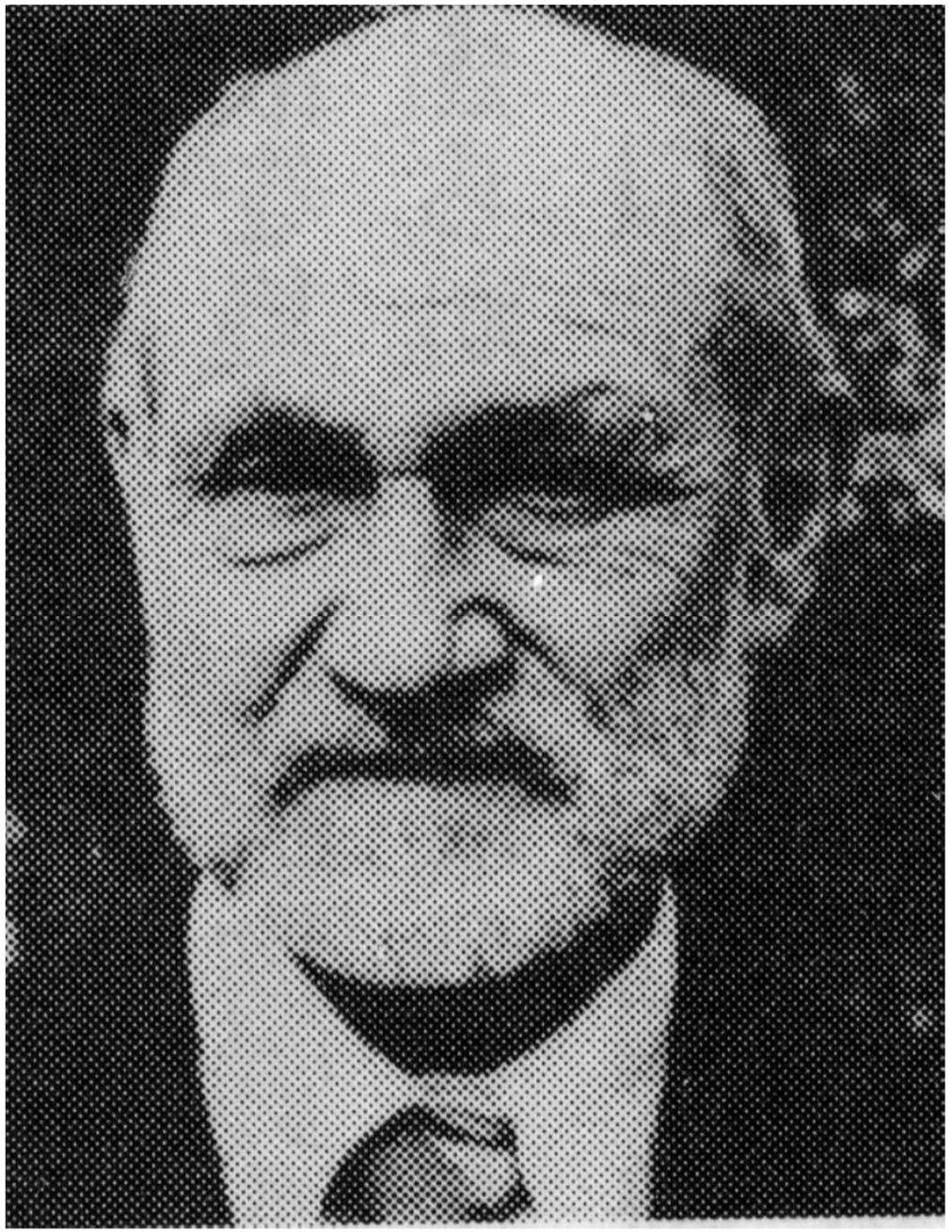
- **睡眠物質の発見**
- 局所睡眠の発見
- 培養細胞の睡眠の発見
- 単一神経モデリングの成功
- 無脊椎動物との睡眠関連遺伝子の保存
- 睡眠サイクル依存的な

  タンパク質リン酸化　←今、ココ！

歴史的背景：
睡眠物質の探求

100年前の名古屋発の研究

睡眠物質の発見



Pieron(仏), 1913

石森国臣(現・名大), 1909

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。

不眠動物ノ腦質中ニ證明シ得タル催眠性物質——睡眠ノ眞因

愛知縣立醫學專門學校生理醫化學教室
石森國臣

睡眠ノ源因ハ腦髓殊ニ大腦ノ疲勞ニ存スルコトハ、万人ノ等シク認ムル所ナリト雖、疲勞ハ如何ニシテ睡眠ヲ起スヤ、即「睡眠ノ直達源因ハ如何ン」ナル疑問ニ至リテハ、往古ヨリ、醫家ニヨリ、哲學家ニヨリ、前者ハ即、自己ニ常ニ逢遇セル、頑執難治ノ不眠症ヲ救濟シ得ベキ、生理的根據ヲ有スル必治療法ヲ發見センガ爲、後者ハ即、精神本態ノ攻究ニ當リ睡眠發因ノ智識ヲ要スルニヨリ、百方研究解明ヲ重ネシト雖、万人万說、唯其論調ヲ一ニセル所ハ、想像說ヲ迪ルノ一事ニ止マリ、尙未ダ、確固タル實驗的根底ニ築ケル定說ヲ缺ク、

睡眠ノ源因ニ對シ、現今吾人ニ識ラル、幾多ノ說明ノ內、最モ想像說ヲ離レ且最モ有望ナルモノハ、化學的根底ニ據レル解說ニシテ、此解說ハ自ラ二派ニ分レリ、

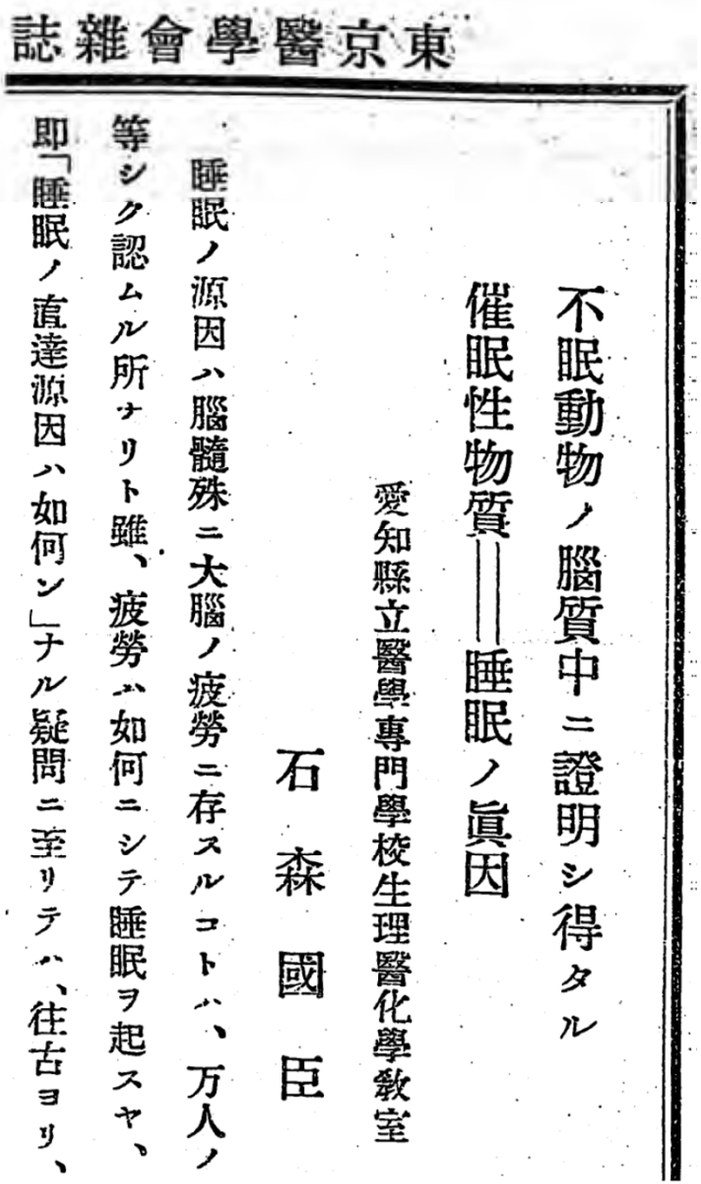
其一——ハ腦質內ノ酸素缺乏ヲ以テ、其因ヲ求メントセルモノニシテ、既ニ Alex v. Humbolt(1) ニヨリテ稱道セラレ、Joh. E. v. Purkinje(2) 氏亦此說ヲ採リ、睡眠狀態ヲ以テ血液中ニ於ケル酸素減量ノ徵象トナシ、E. Pflüger(3) 氏ニ至リ、此ヲ敷延シテ下ノ如ク說明セリ——元來吾人ノ腦質ヲ組成セル生活物質中ニハ、絕エズ化學的離解ヲ起シ、絕エズ炭酸ヲ製成セルモノニシテ、此時ニ於ケル炭酸製成ノ狀況ハ、甚ダ急頓、恰モ此ヲ爆發樣ニ喩フベク、爲ニ諸方ニ向ツテ波狀ニ傳走スル振動ヲ起シ、此振動ニ感觸セル物質ヲシテ、更ニ分解作用ヲ惹起セシム、如斯ノ分解作用ハ、醒覺時ノ腦質ニ於テ、諸多ノ感覺刺戟ニヨリテ催進セラル、ノ結果、特ニ旺盛ヲ極メ、其旺盛ニヨリテ、畢竟醒覺ノ狀態ヲ標章セリ、然ルニ、此狀勢ヲ以テハ永ク保續シ得ベキモノニ在ラズシテ、漸次生活物質中ニ於ケル酸素ノ缺乏ヲ來シ、物質ノ消燼ヲ招キ、延イテ炭酸製成ノ度ヲ減退セシメ、炭酸製成時ニ於ケル振動ヲ微弱ナラシメ、神識漸ク迷朦トナリ、所謂嗜眠狀態ヲ誘起シ各種ノ感覺機官ニ作用スル外來刺戟ノ斷絕ヲ待チテ、遂ニ眞

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

総説

石森國臣論文現代語訳　～睡眠物質研究の原典～（全文）

小林 里帆・粂 和彦✉
名古屋市立大学薬学部・大学院薬学研究科



東京醫學會雜誌

不眠動物ノ腦質中ニ證明シ得タル
催眠性物質――睡眠ノ眞因

愛知縣立醫學專門學校生理醫化學教室
石森國臣

睡眠ノ源因ハ腦髓殊ニ大腦ノ疲勞ニ存スルコトハ、万人ノ等シク認ムル所ナリト雖、疲勞ハ如何ニシテ睡眠ヲ起スヤ、即「睡眠ノ直達源因ハ如何ン」ナル疑問ニ至リテハ、往古ヨリ、

- **時間生物学会誌**
  2019年1号 36ページ

- **http://chronobiology.jp**

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、また哲学家が精神とは（こころとは）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、実験の根底を築くような確固たる説は存在しない。

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・・・

睡眠研究の進展

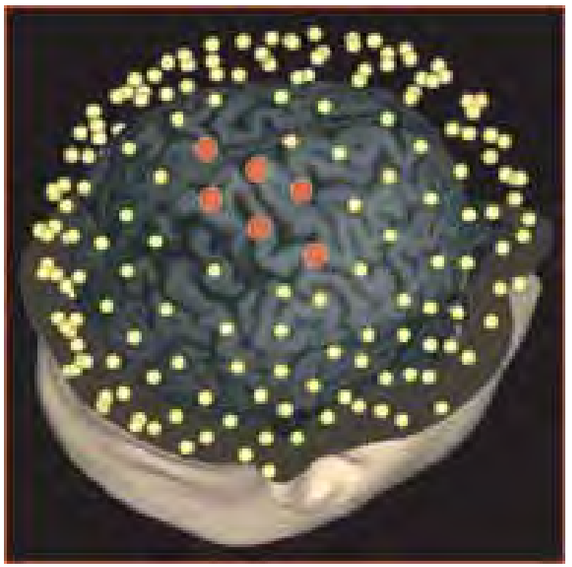
- 睡眠物質の発見
- **局所睡眠の発見**
- 培養細胞の睡眠の発見
- 単一神経モデリングの成功
- 無脊椎動物との睡眠関連遺伝子の保存
- 睡眠サイクル依存的な

  タンパク質リン酸化　←今、ココ！

イルカは、脳の半分ずつが、眠る

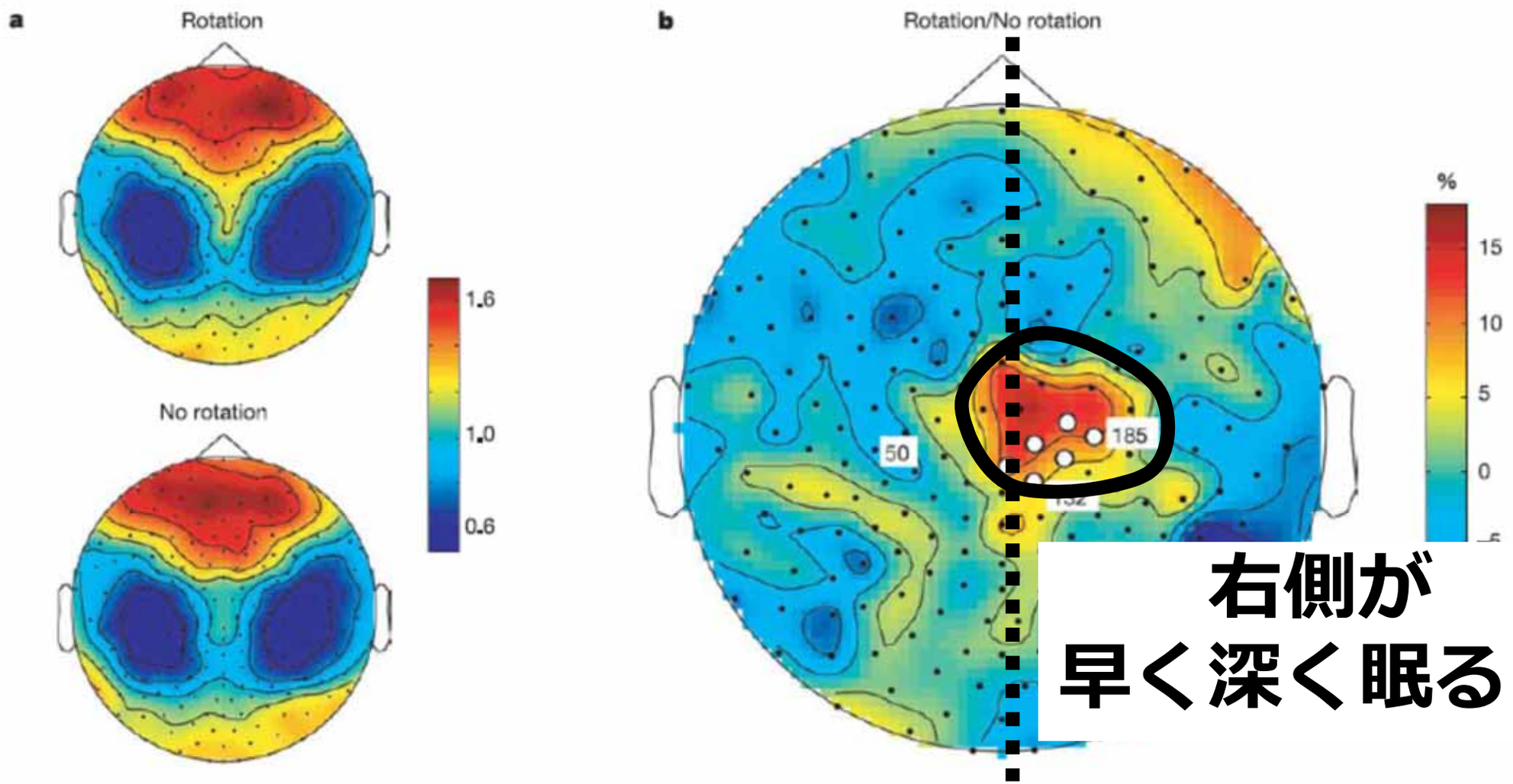
局所睡眠の概念

高密度脳波記録



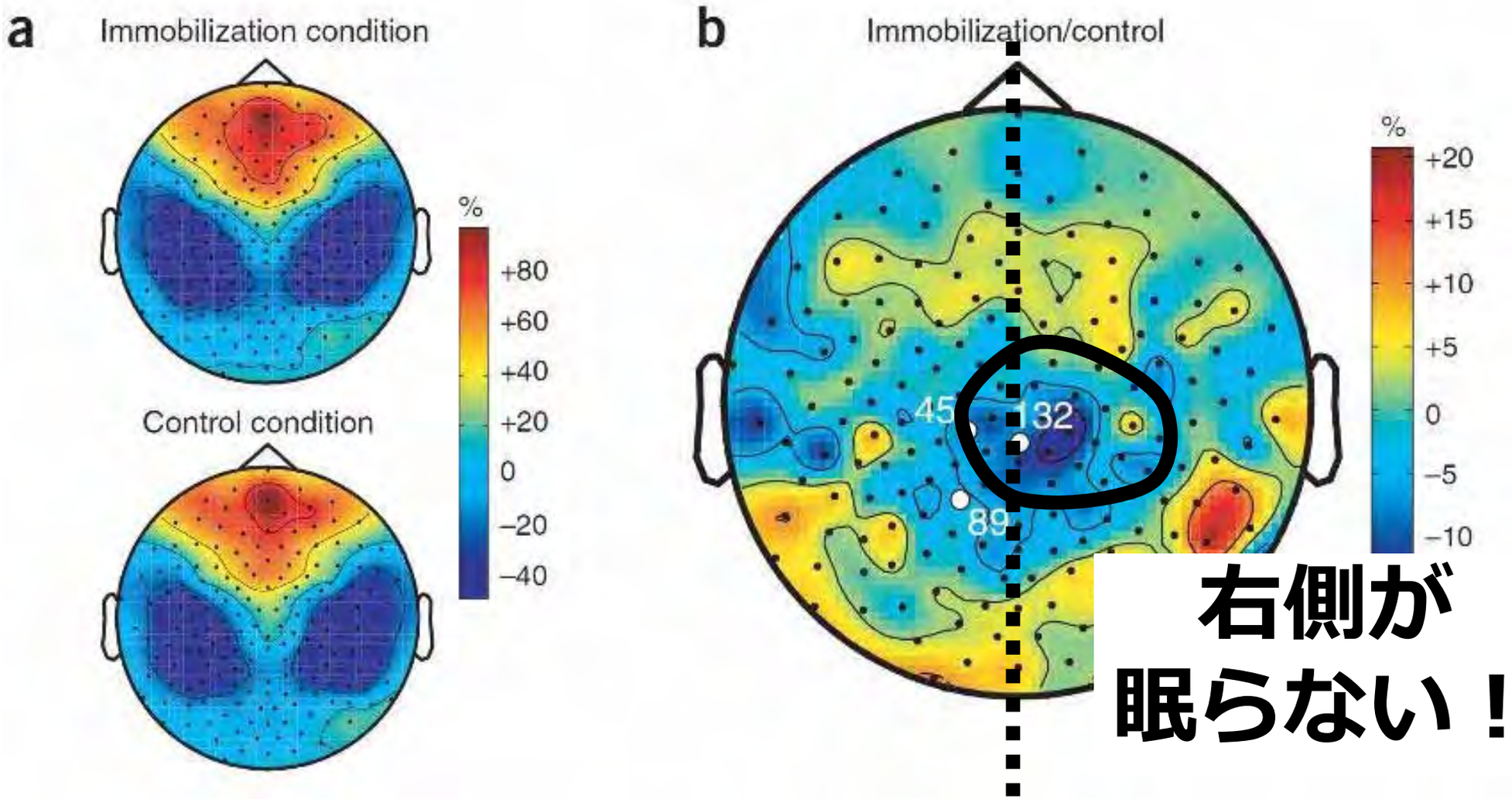
使った部分が、局所的に良く眠る

脳の右側ばかりを使う運動をする



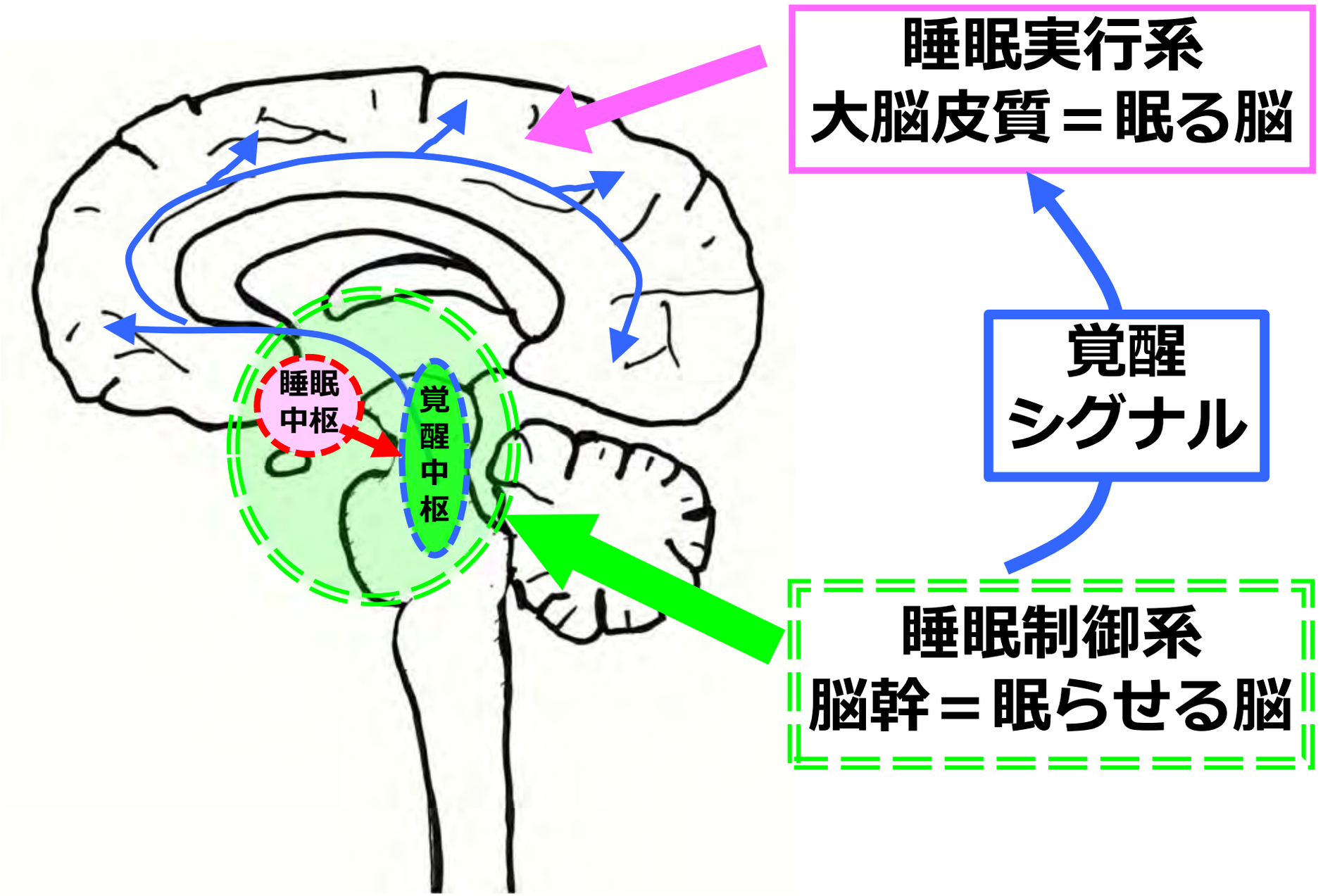
Huber *et al.* Nature 430, 78 (2004)

では、体を動かさないと・・・
左手を三角巾で、１２時間固定

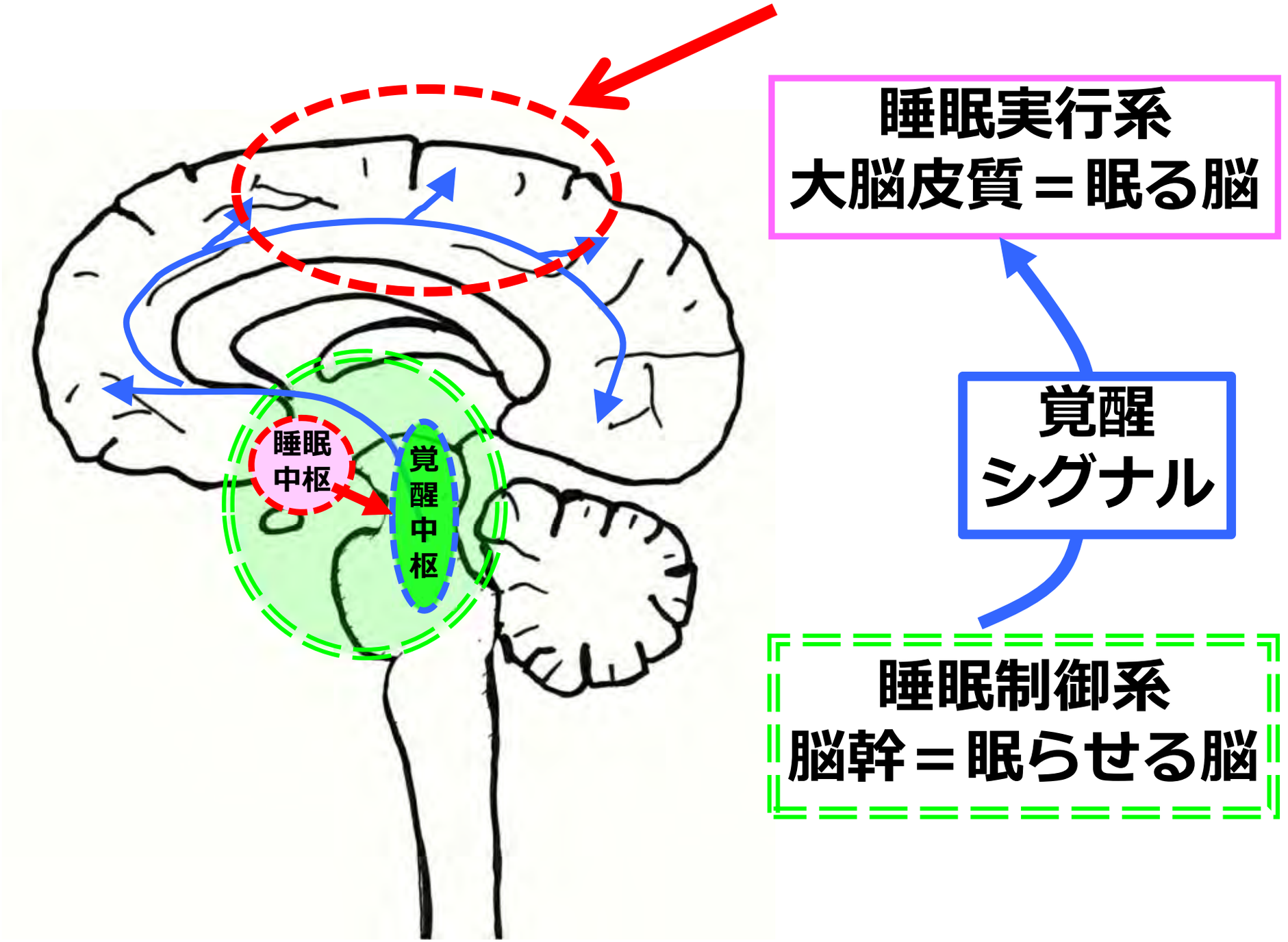


Huber *et al.*　Nature Neurosci. 9, 1169 (2006)

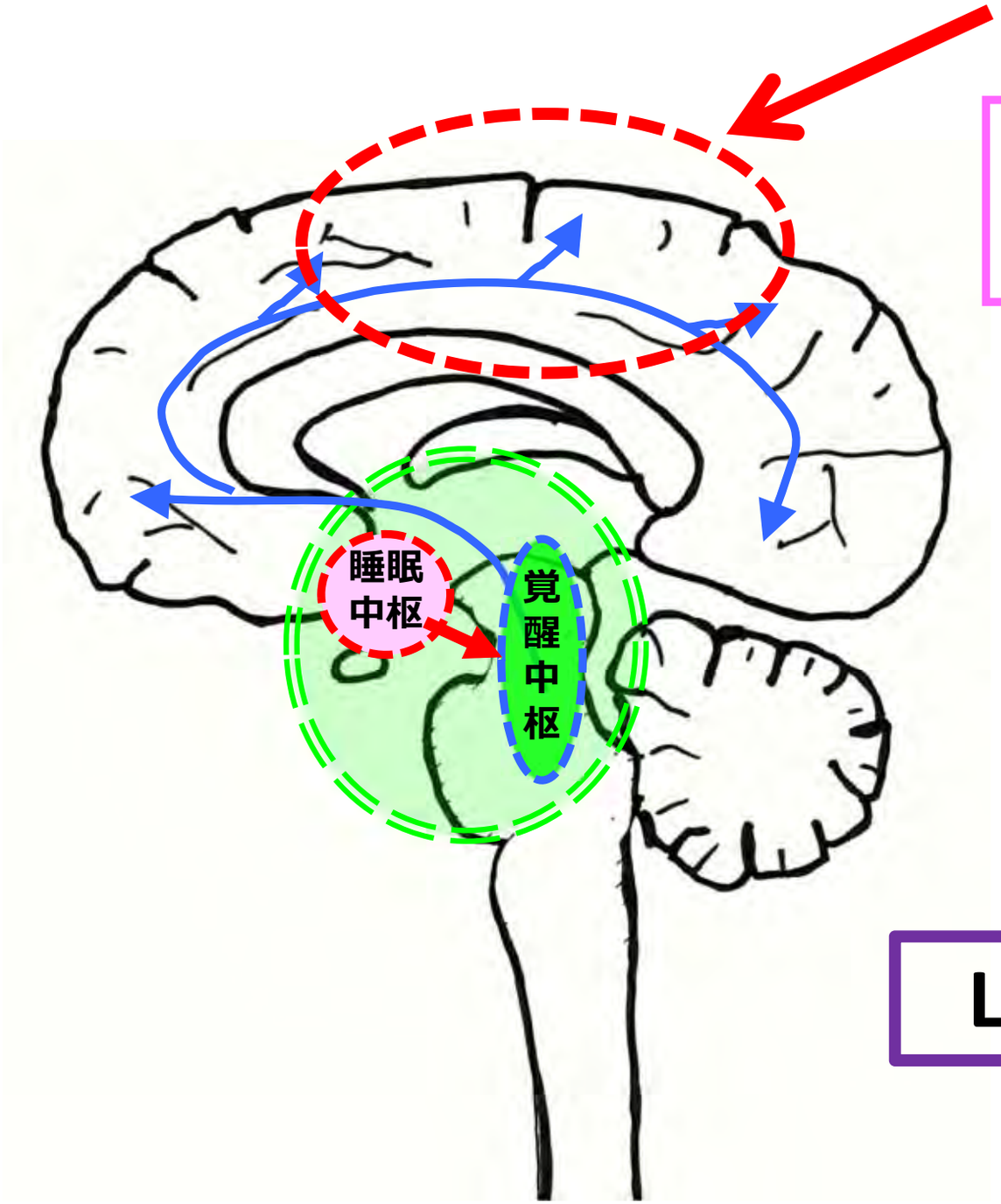
脳幹部網様体上行性賦活系による制御



睡眠の実行系側にも制御がある



睡眠の局所制御：局所睡眠



睡眠実行系
大脳皮質＝眠る脳

局所制御

Local (Focal) Sleep

局所睡眠は、睡眠の**恒常性**、

＝睡眠の**必要性**を考える上で重要

睡眠研究の進展

- 睡眠物質の発見
- 局所睡眠の発見
- **培養細胞の睡眠の発見**
- 単一神経モデリングの成功
- 無脊椎動物との睡眠関連遺伝子の保存
- 睡眠サイクル依存的な

  タンパク質リン酸化　←今、ココ！

細胞レベルの睡眠研究

睡眠時の同期性に着目

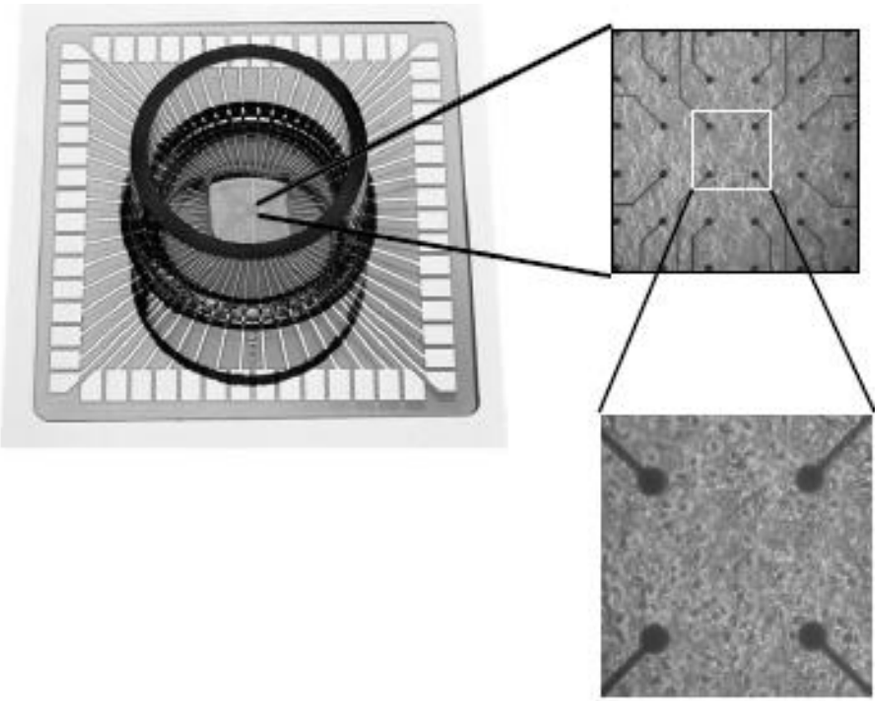
神経細胞レベルでの睡眠？

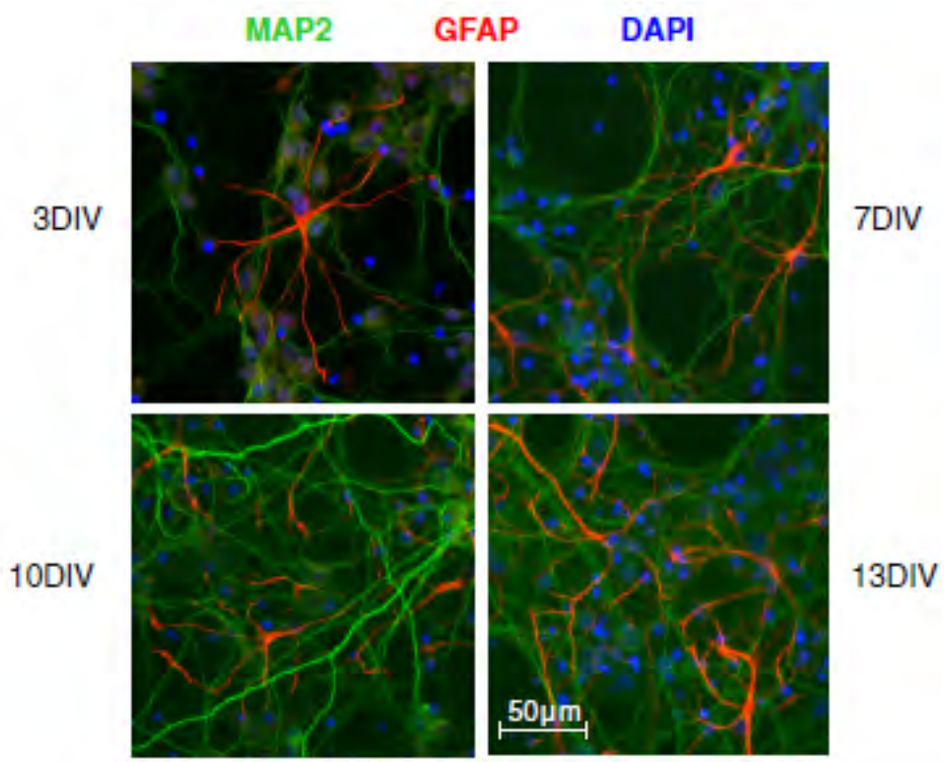
Key Electrophysiological, Molecular, and Metabolic Signatures of Sleep and Wakefulness Revealed in Primary Cortical Cultures

J. Neurosci. 32:12506 (2012)

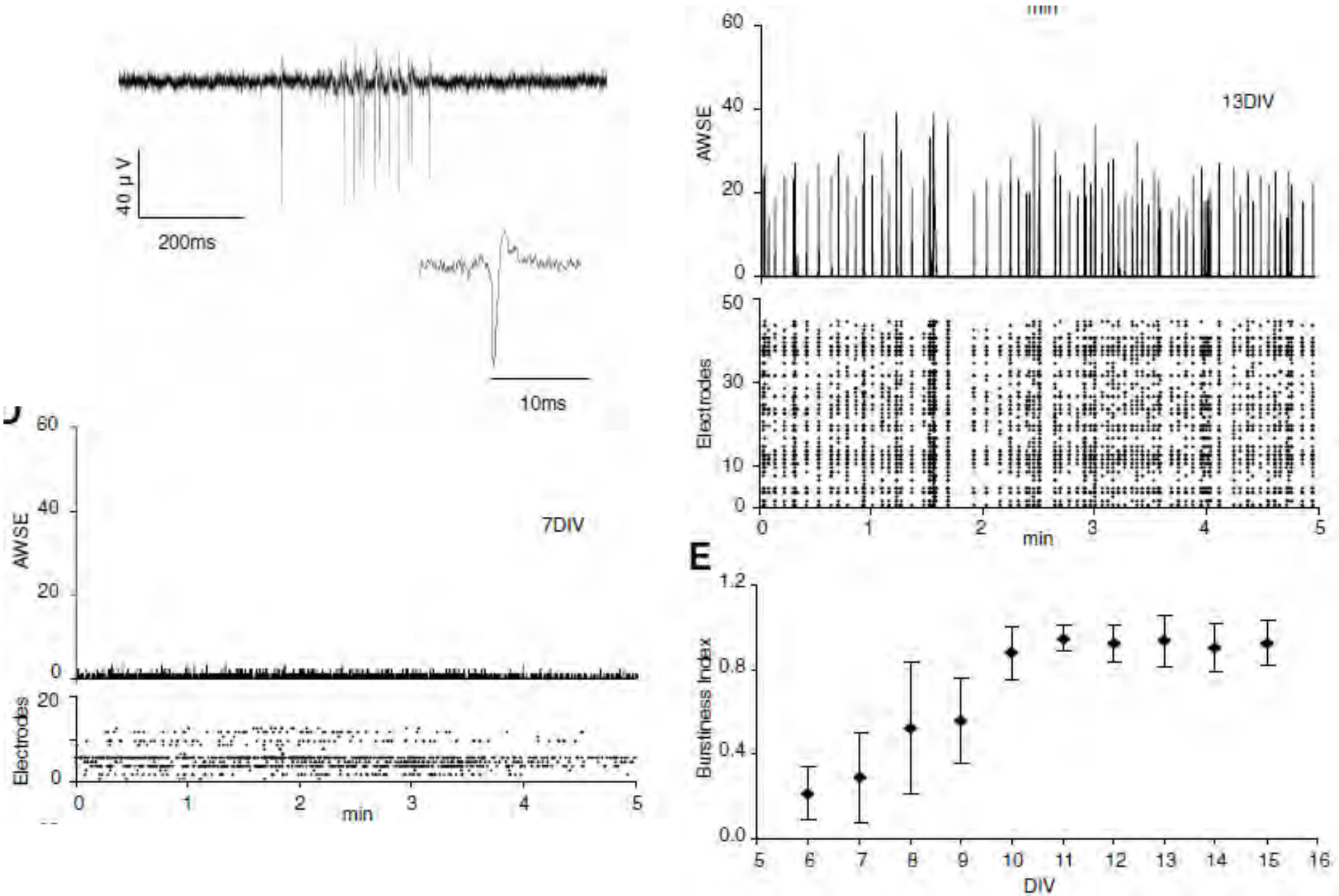
Valérie Hinard,[1] Cyril Mikhail,[1] Sylvain Pradervand,[2] Thomas Curie,[1] Riekelt H. Houtkooper,[3] Johan Auwerx,[3] Paul Franken,[1] and Mehdi Tafti[1]

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

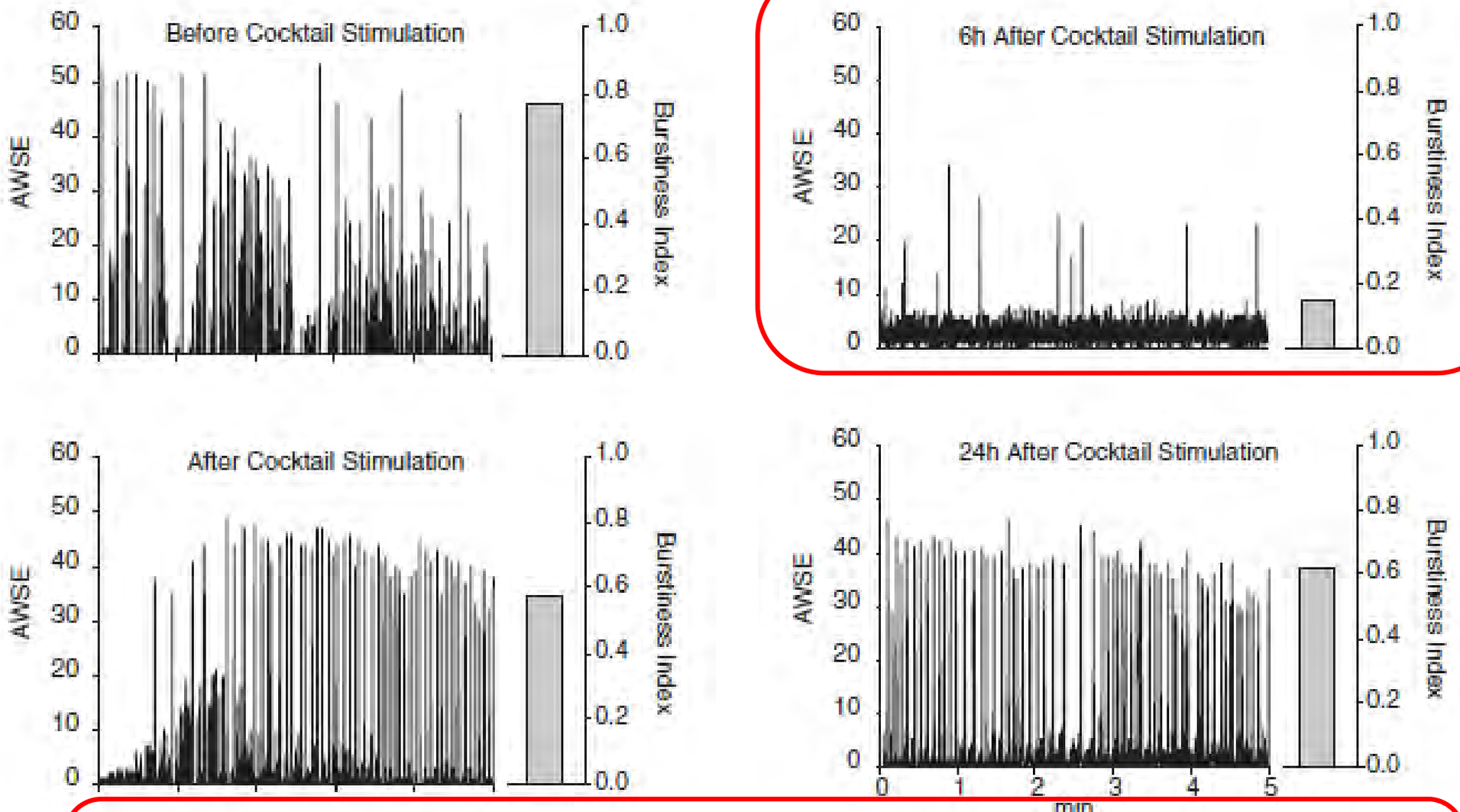




培養神経が同期発火を始める

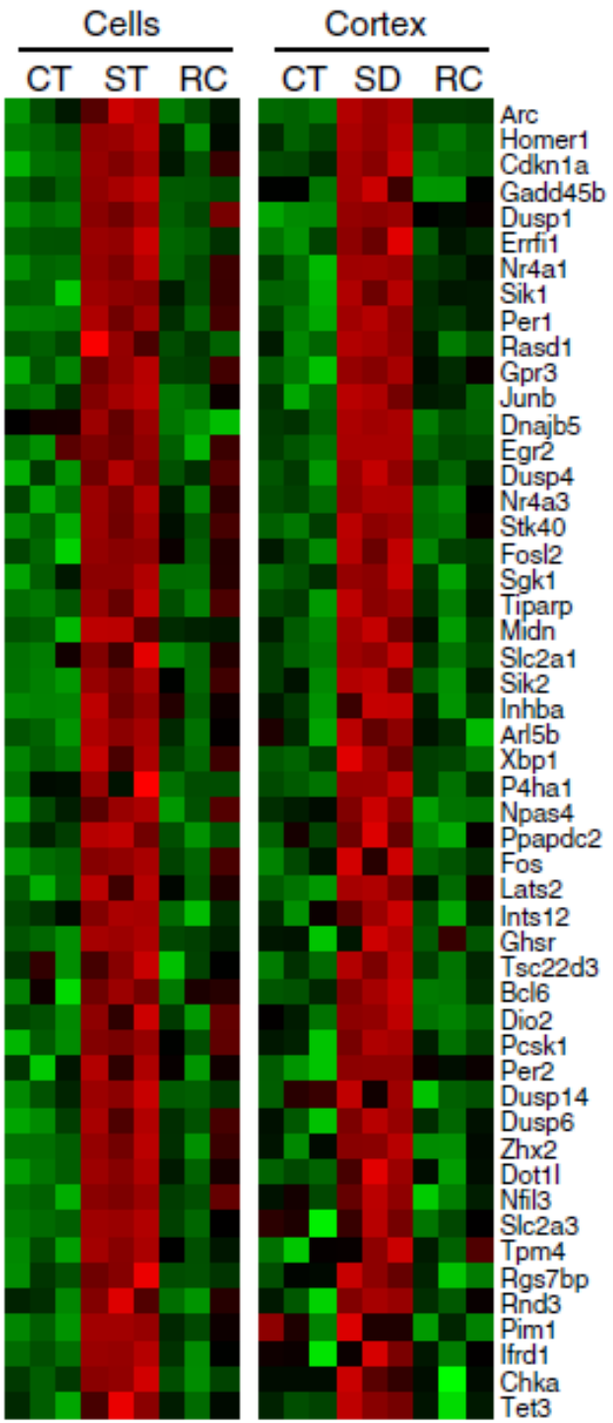


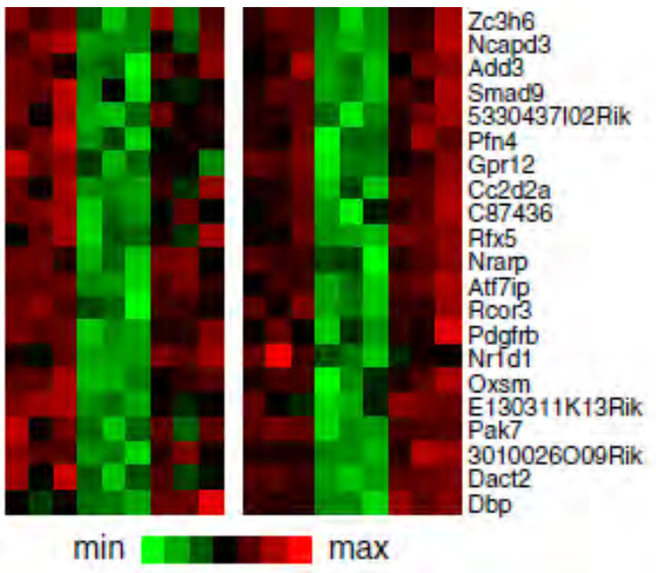
覚醒カクテル刺激？



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

断眠マウスの脳と遺伝子発現比較





CT　: Control
ST　: Stimulated
/SD　/Sleep Deprived
RC　: Recovery

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

睡眠研究の進展

- 睡眠物質の発見
- 局所睡眠の発見
- 培養細胞の睡眠の発見
- **単一神経モデリングの成功**
- 無脊椎動物との睡眠関連遺伝子の保存
- 睡眠サイクル依存的な

  タンパク質リン酸化　←今、ココ！

モデル細胞のシミュレーション研究

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

細胞内[Ca^{2+}]の増加が睡眠を作る

Involvement of Ca^{2+}-Dependent Hyperpolarization in Sleep Duration in Mammals

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

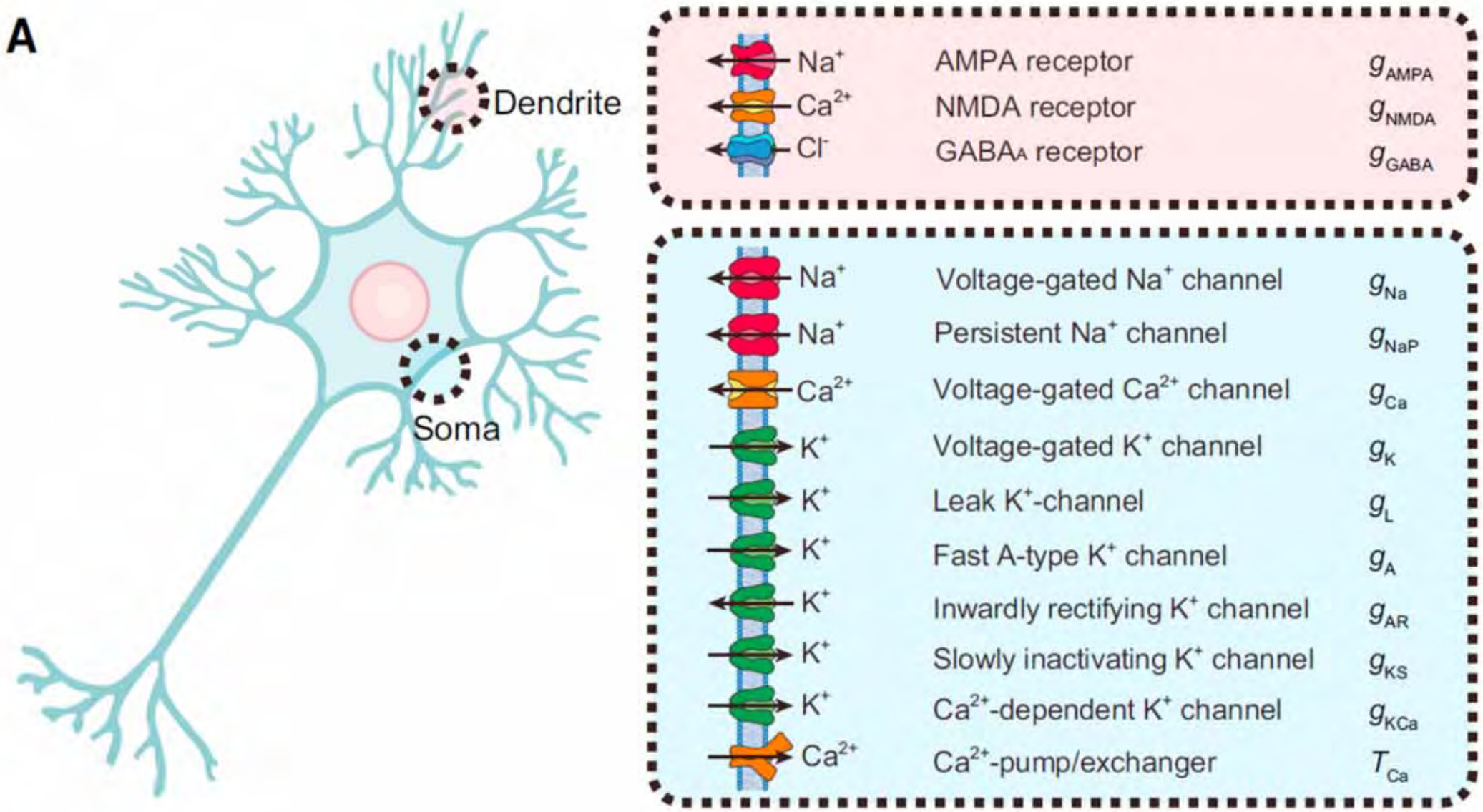
Genshiro A. Sunagawa,[1,8] Kenta Sumiyama,[2,8] Maki Ukai-Tadenuma,[1,8] Dimitri Perrin,[1,6,8] Hiroshi Fujishima,[1] Hideki Ukai,[1] Osamu Nishimura,[5] Shoi Shi,[3] Rei-ichiro Ohno,[3] Ryohei Narumi,[1] Yoshihiro Shimizu,[7] Daisuke Tone,[3] Koji L. Ode,[3] Shigehiro Kuraku,[5] and Hiroki R. Ueda[1,3,4,*]

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

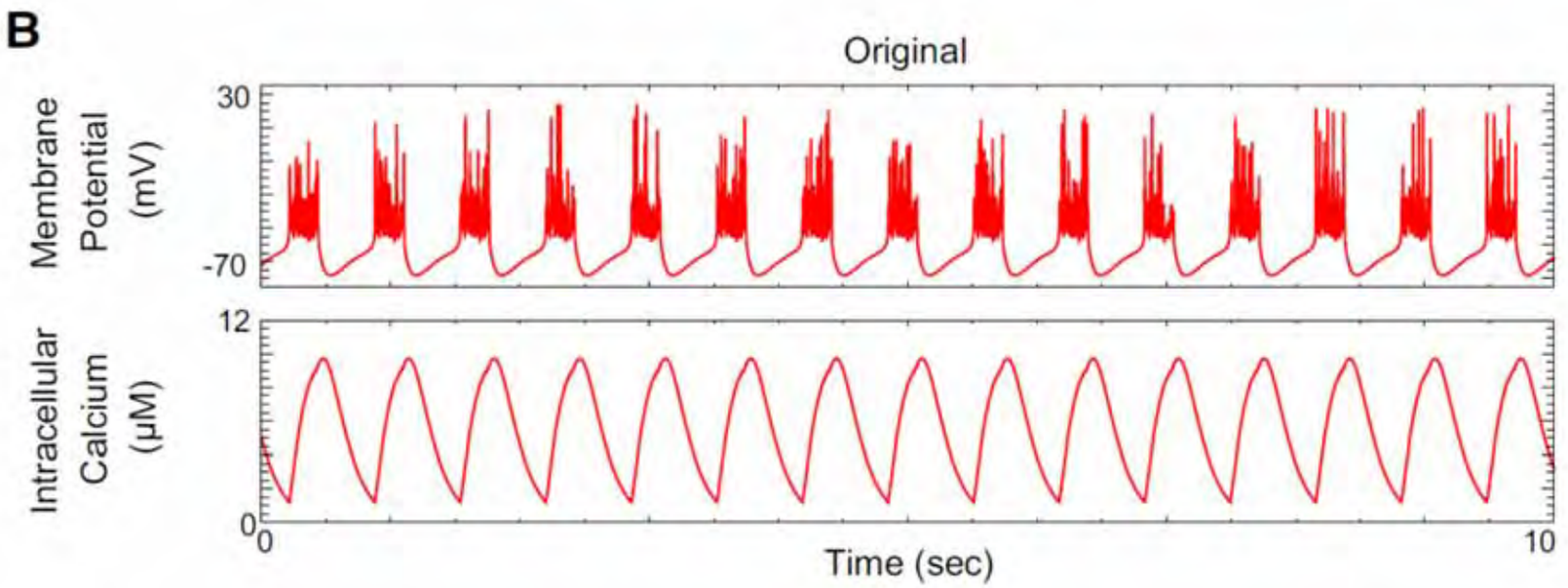
平均 neuron モデルを作り

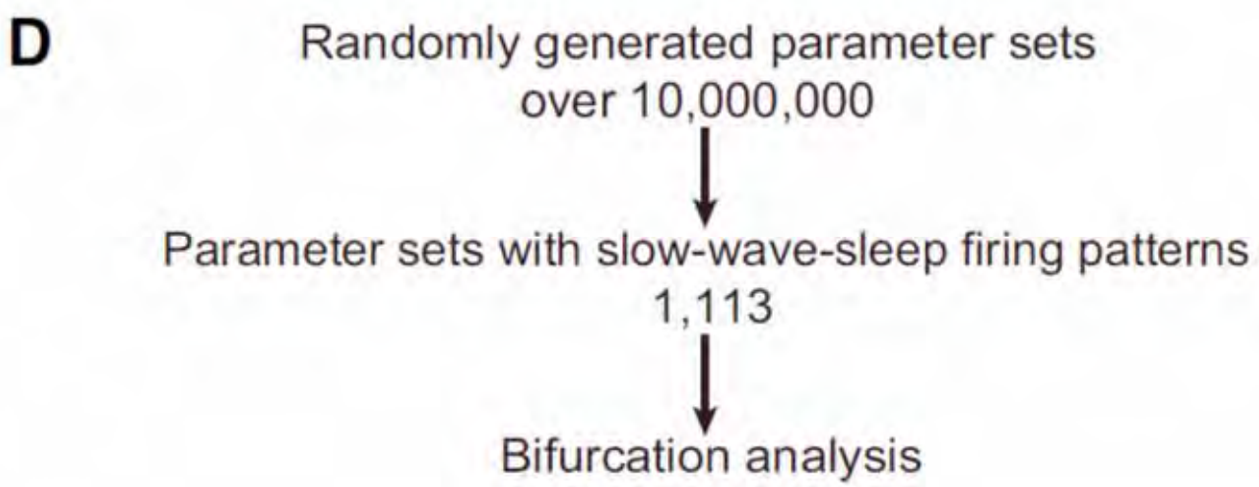
oscillation が出現する条件を探した

Average Neuron model



同期性の高まる状態を検索して発見！





モデルからの仮説：

細胞内[Ca^{2+}]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

Ca^{2+}依存性K^+チャンネルが睡眠量制御

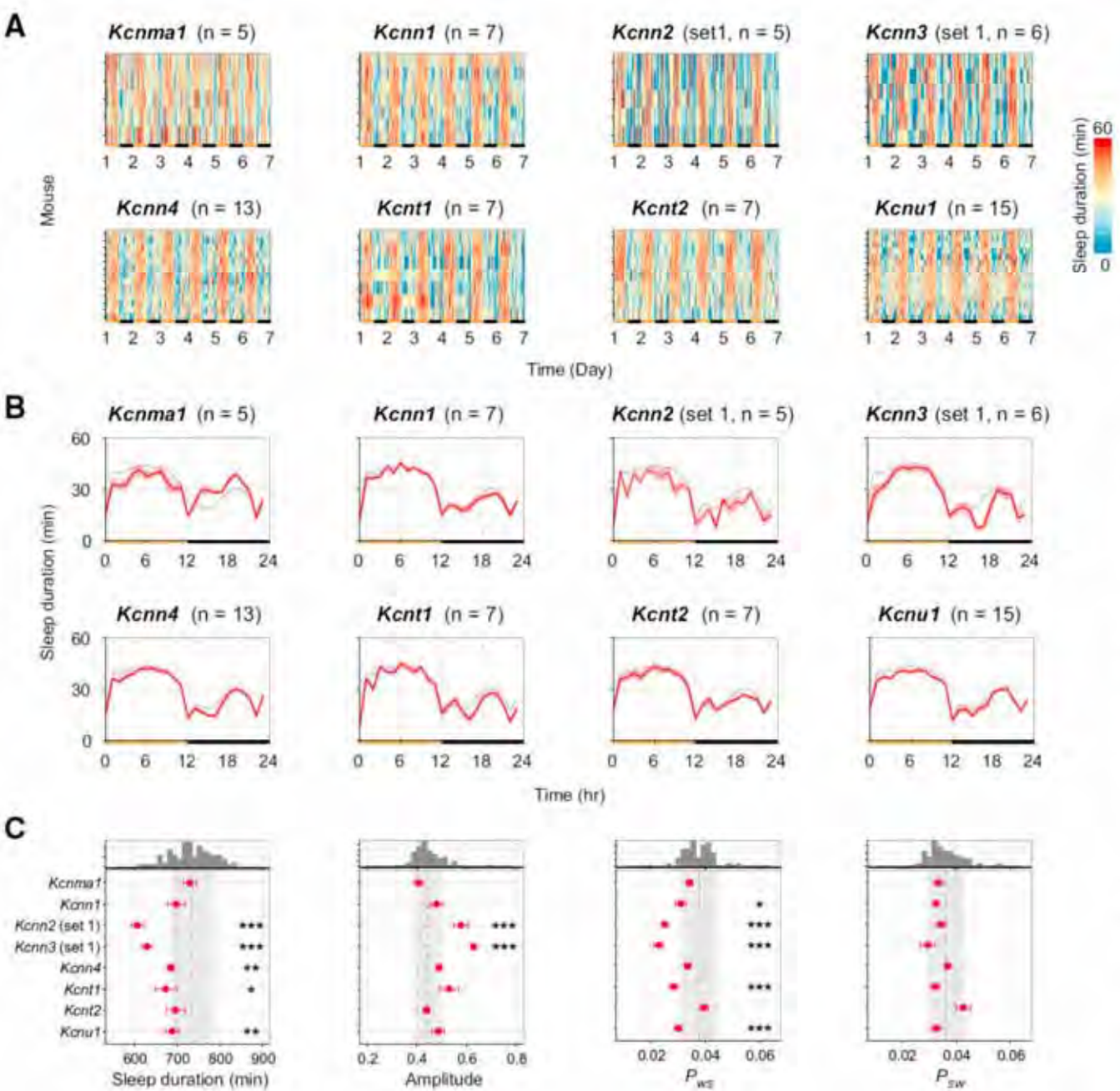


Figure 2. Impairment of Ca^{2+}-Dependent K^+ Channels Decreases Sleep Duration

(A) Sleep duration (per hour) over 6 days for KO mice of eight K_{Ca} channels.

(B) Sleep duration (per hour) over 24 hr, averaged over 6 days in the KO mice of K_{Ca} channels. Red lines: the mean sleep duration at each time of day for each strain. Gray: WT (n = 108). Shaded area: SEM for each time point.

(C) Distributions of sleep/wake parameters of the KO mice of K_{Ca} channels. Histogram: WT (n = 108). Black dashed line and gray shade: the mean and 1 SD range from the recording of WT.

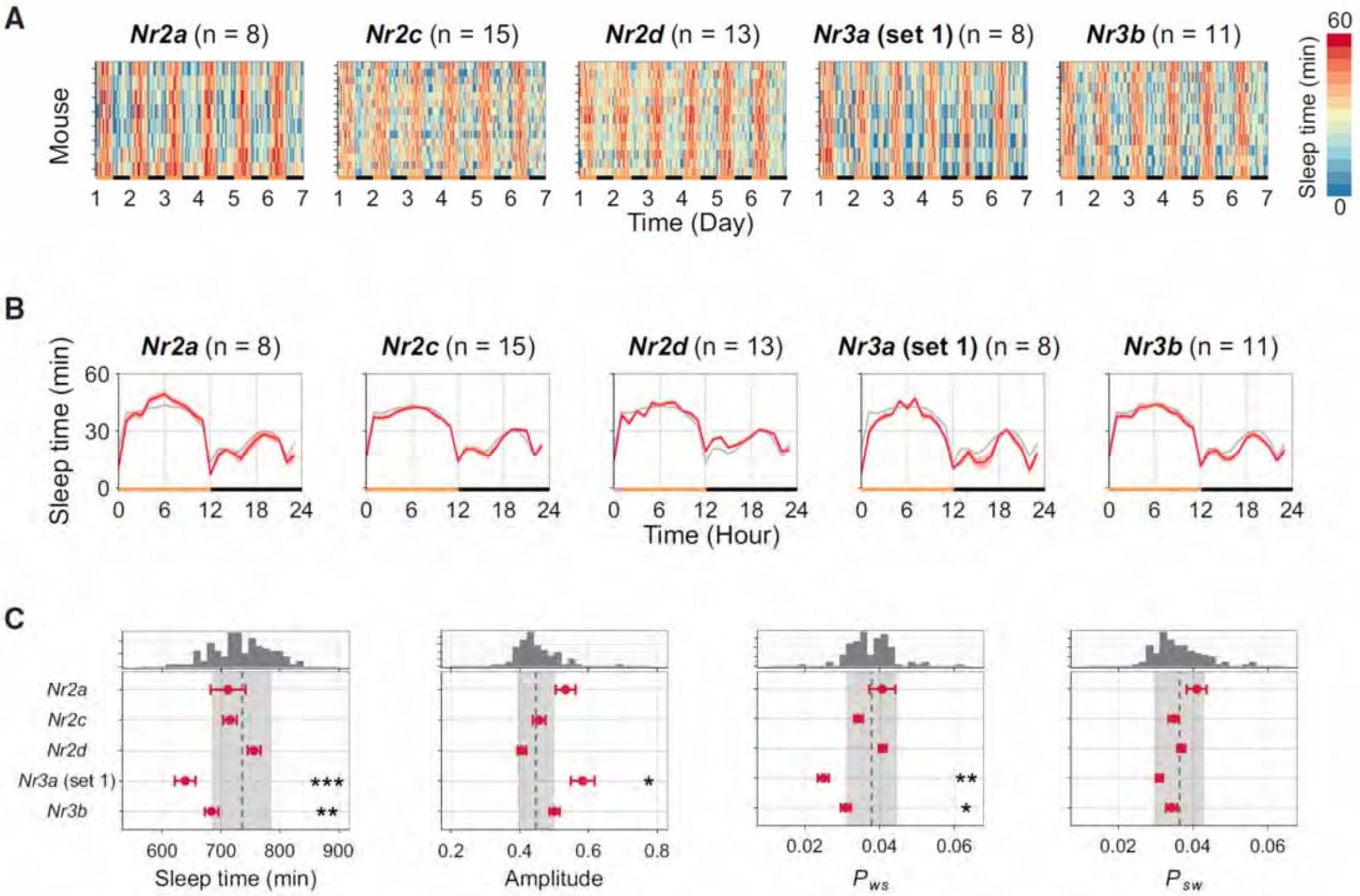
(D–F) Sleep-duration phenotype for another group of *Kcnn2* and *Kcnn3* KO mice (set 2). Sleep duration (per hour) over 6 days (D), sleep duration (per hour) over 24 hr, averaged over 6 days (E), and distributions of sleep/wake parameters (F) are shown.

(G and H) Sleep-duration phenotype based on EEG/EMG for WT (n = 4) and *Kcnn2* KO mice (set 1, n = 9). Sleep duration (per hour) over 6 days (G) and sleep duration, NREM sleep (SWS) duration, and REM sleep duration for 1 day are shown in bar graph (H).

(I) Sleep-duration phenotype based on EEG/EMG for sleep-deprived WT (n = 3) and *Kcnn2* KO mice (set1, n = 7). Sleep duration, NREM sleep (SWS) duration, and REM sleep duration for ZT12–ZT24 are shown in bar graph.

WT, C57BL/6N male mice. Error bars, SEM, $^*p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$, see also Supplemental Experimental Procedures for details.

NMDA受容体KOマウスで睡眠減少



睡眠にも、単一細胞レベルで記載できる部分がある！

睡眠研究の進展

- 睡眠物質の発見
- 局所睡眠の発見
- 培養細胞の睡眠の発見
- 単一神経モデリングの成功
- **無脊椎動物との睡眠関連遺伝子の保存**
- 睡眠サイクル依存的な

  タンパク質リン酸化　←今、ココ！

ショウジョウバエの睡眠研究

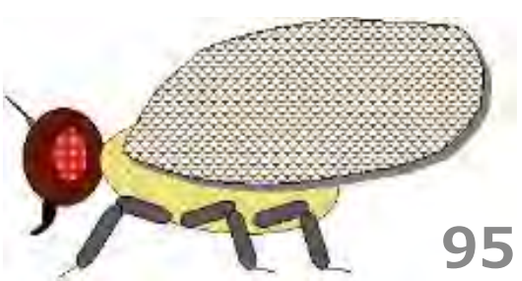
ハエは眠るのか？ Do flies sleep?

2000年～ タフツ大学

2002年～ 熊本大学

2013年～ 名古屋市立大学

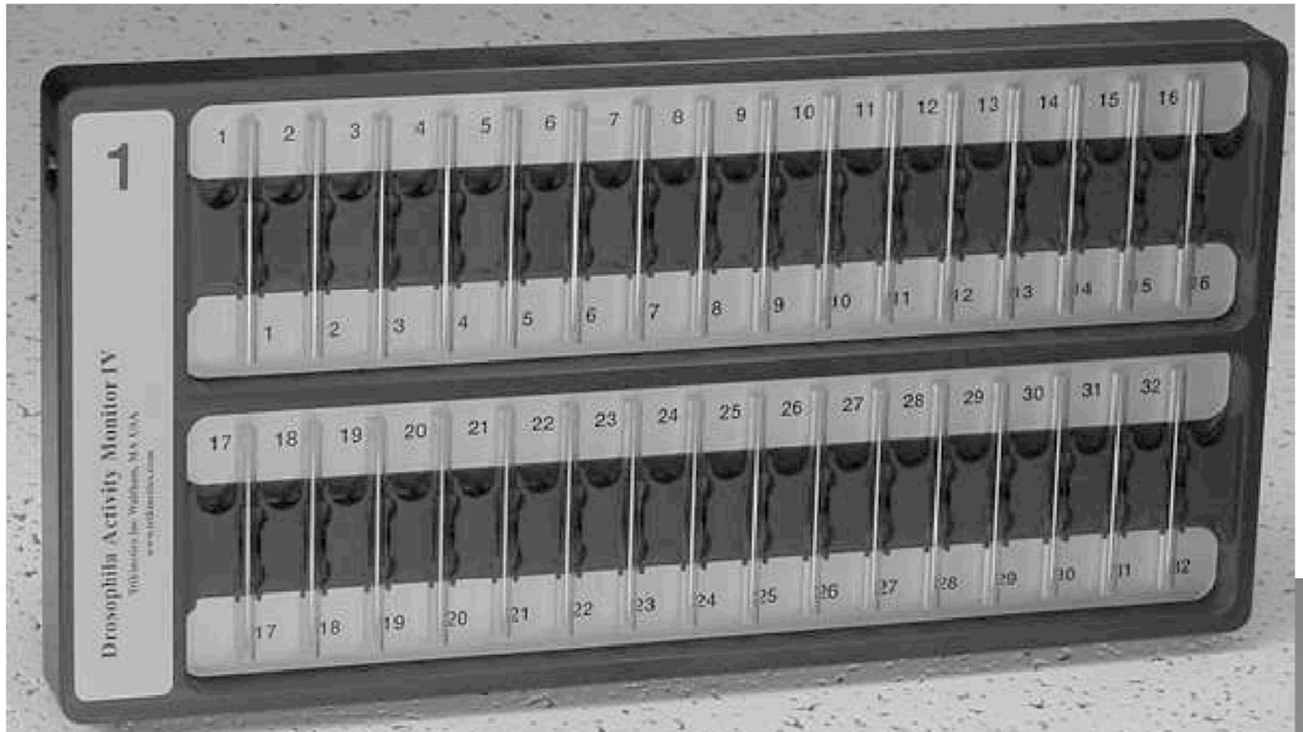
Rob Jackson

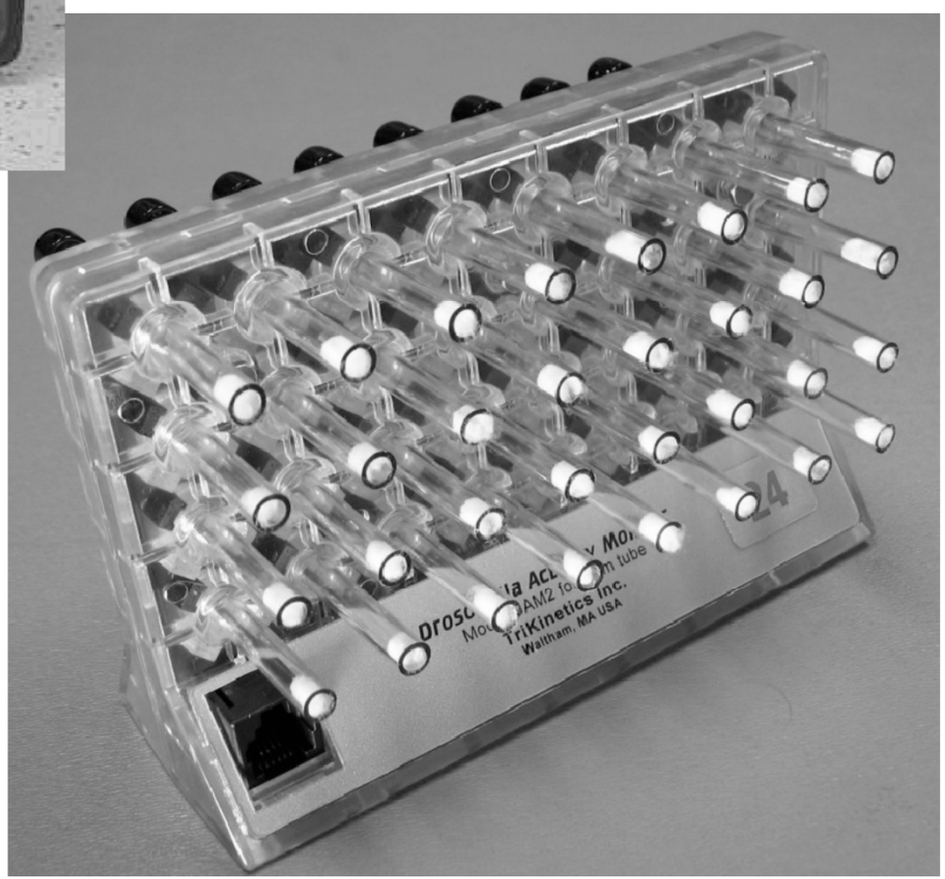


ショウジョウバエの活動計測法

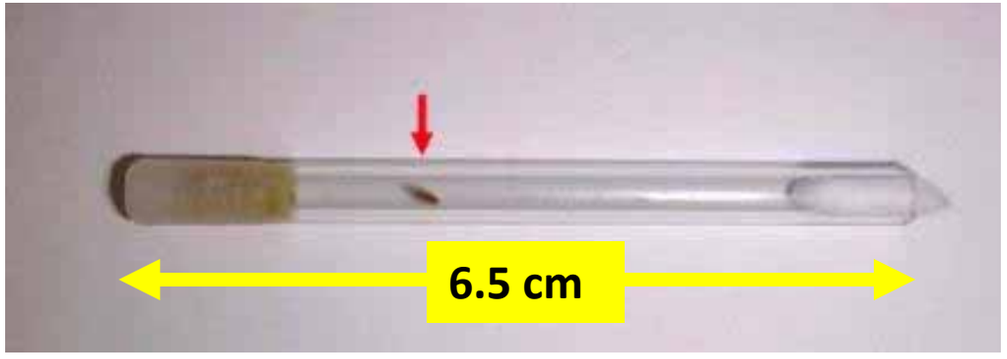
ガラス管の中で一匹ずつ飼育
赤外線ビームを横切る回数で計測

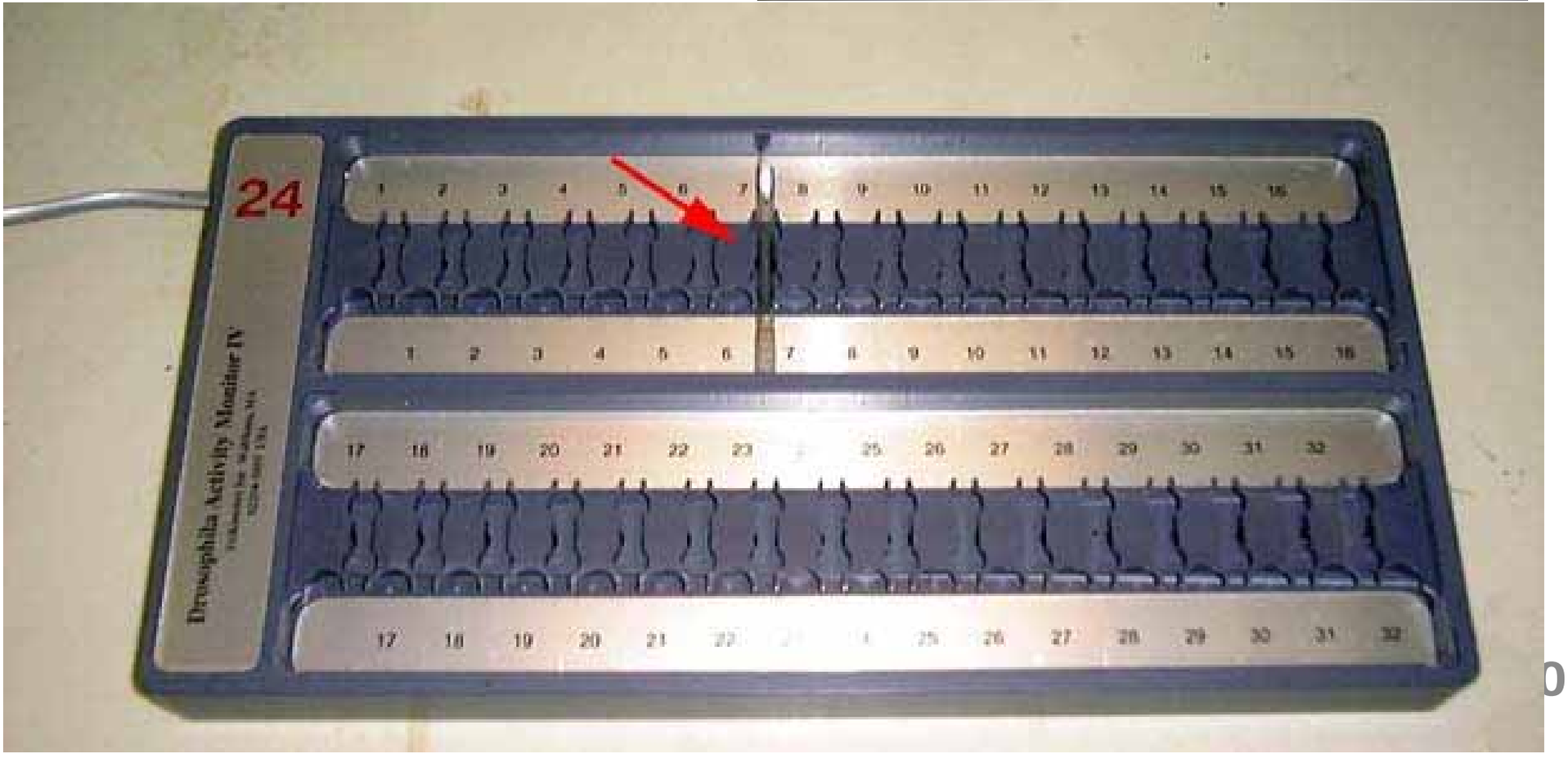
睡眠計測 Trikinetics 社 DAM



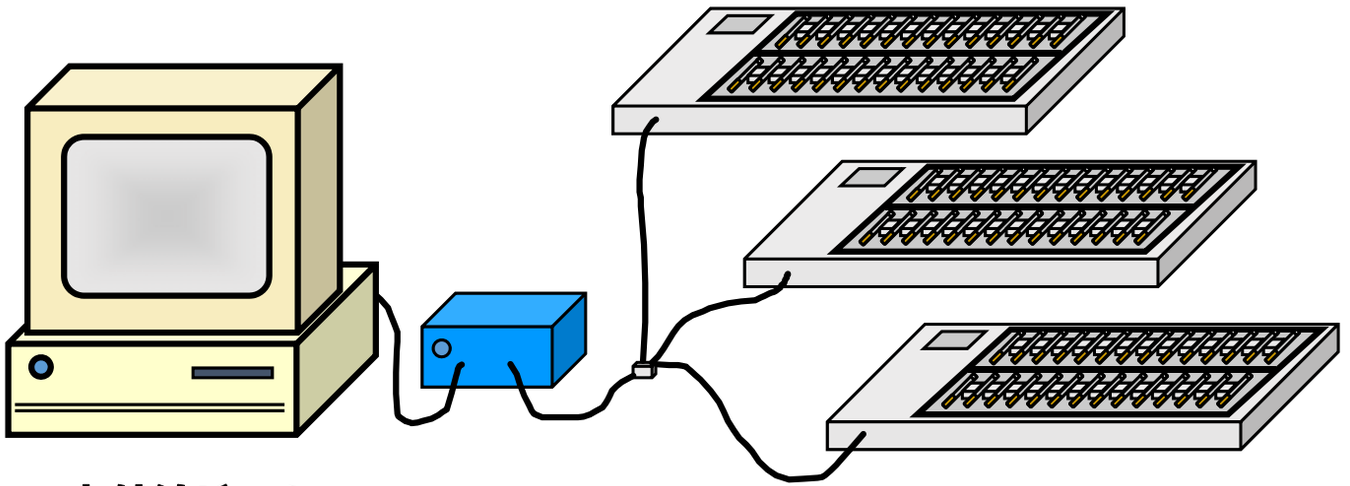


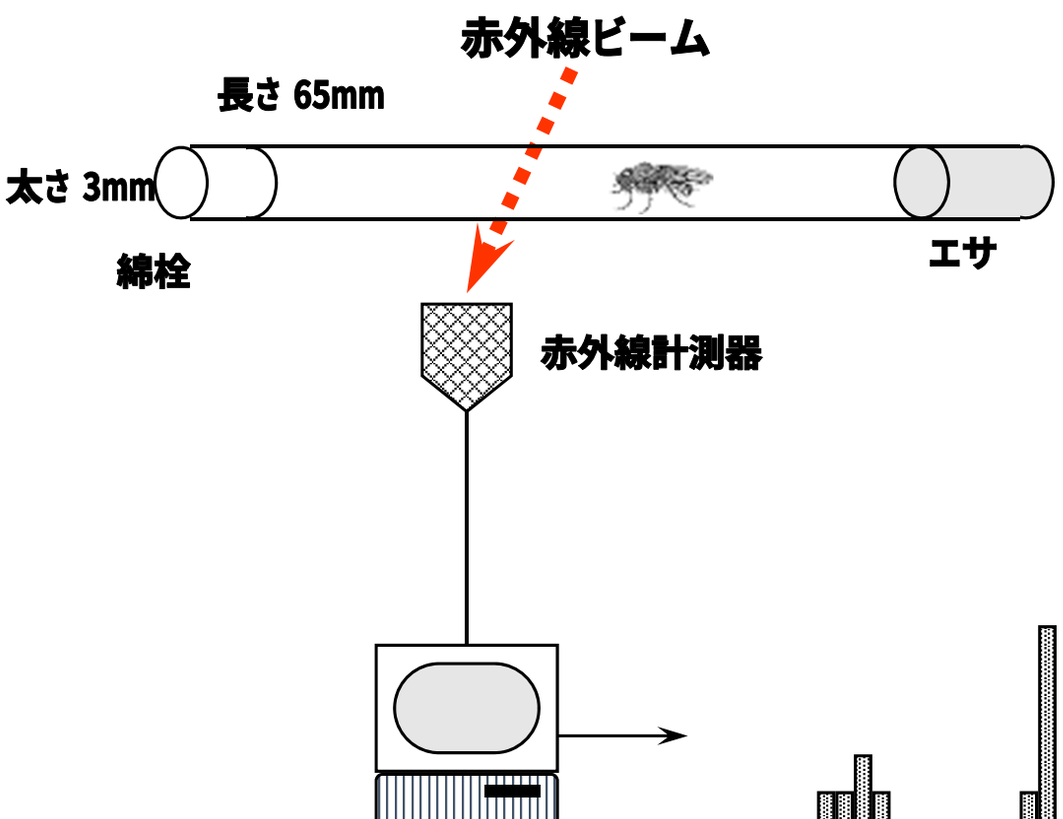
DAM 赤外線モニター活動計測器





ショウジョウバエの睡眠計測

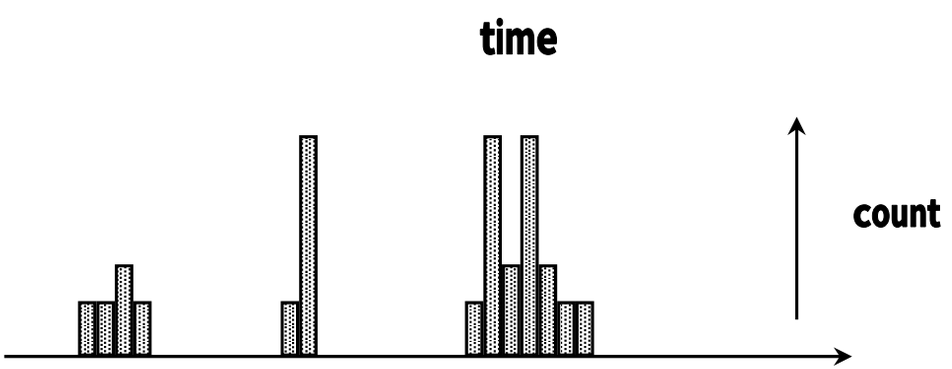




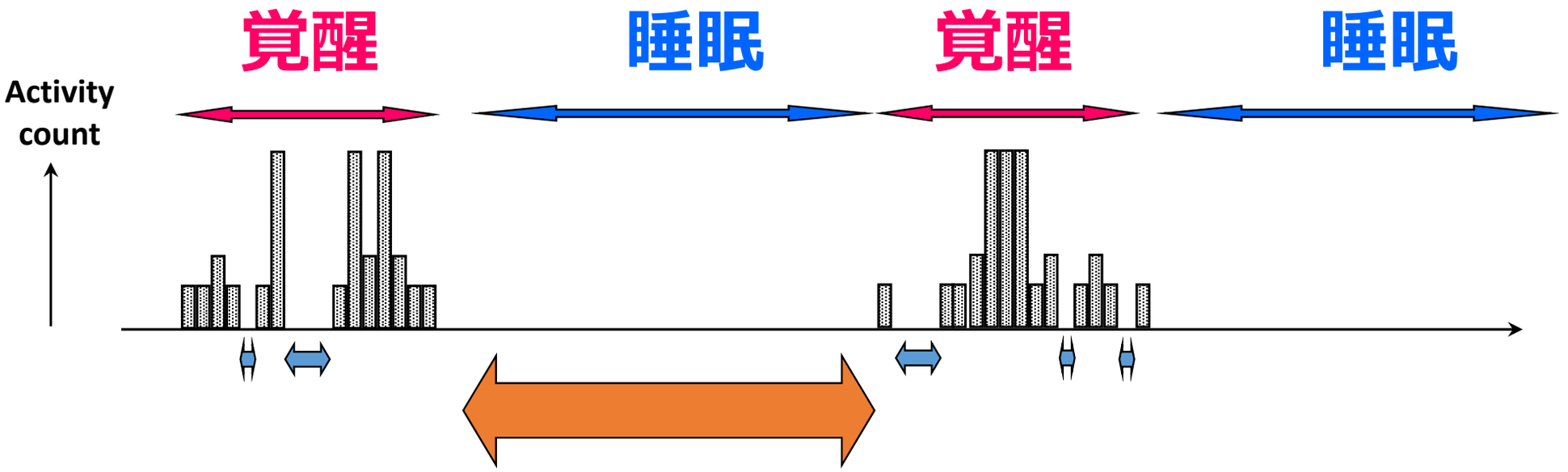
Data 取得 = 1 秒〜1時間単位

32 匹 / 台 x 120

→ **3840 匹同時観察**



ショウジョウバエの睡眠の定義



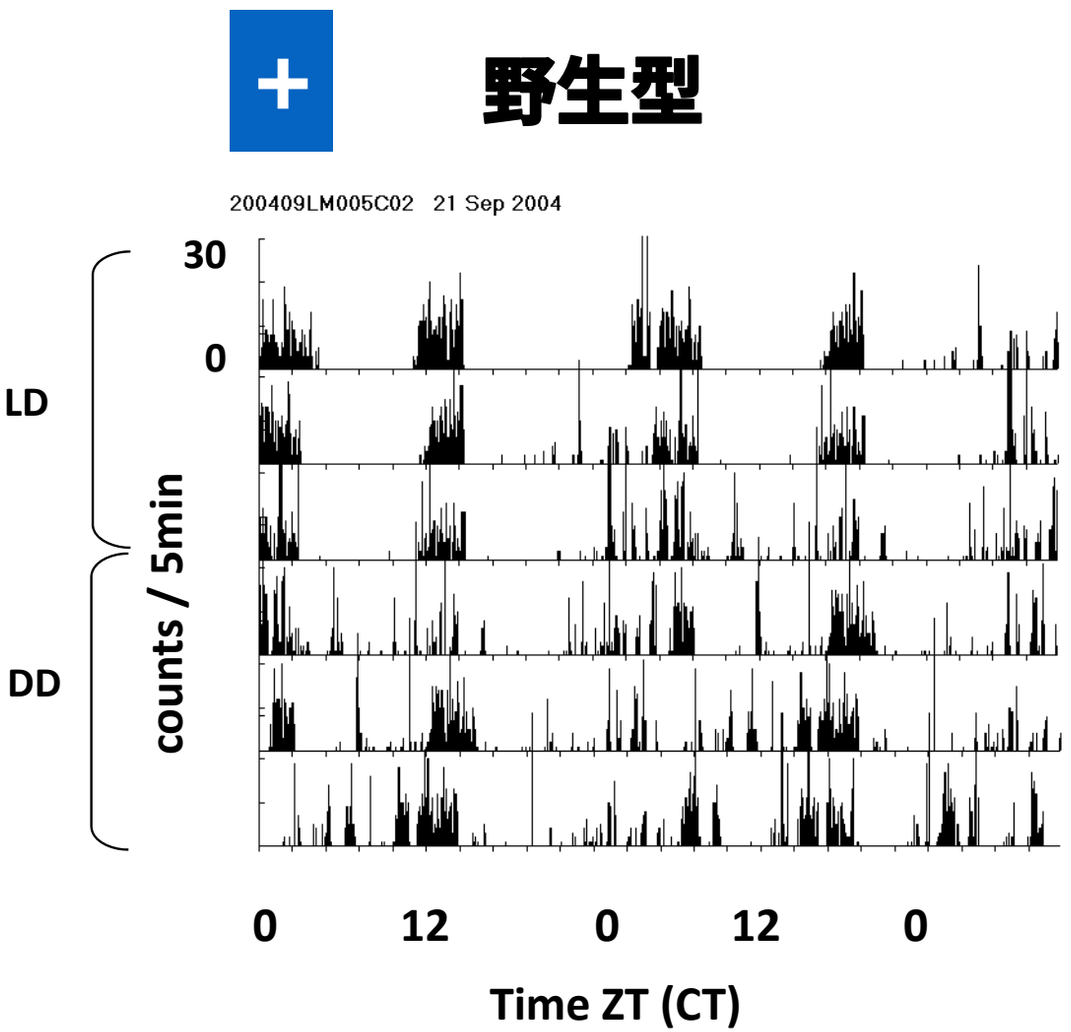
sleep = immobile period > 5 min

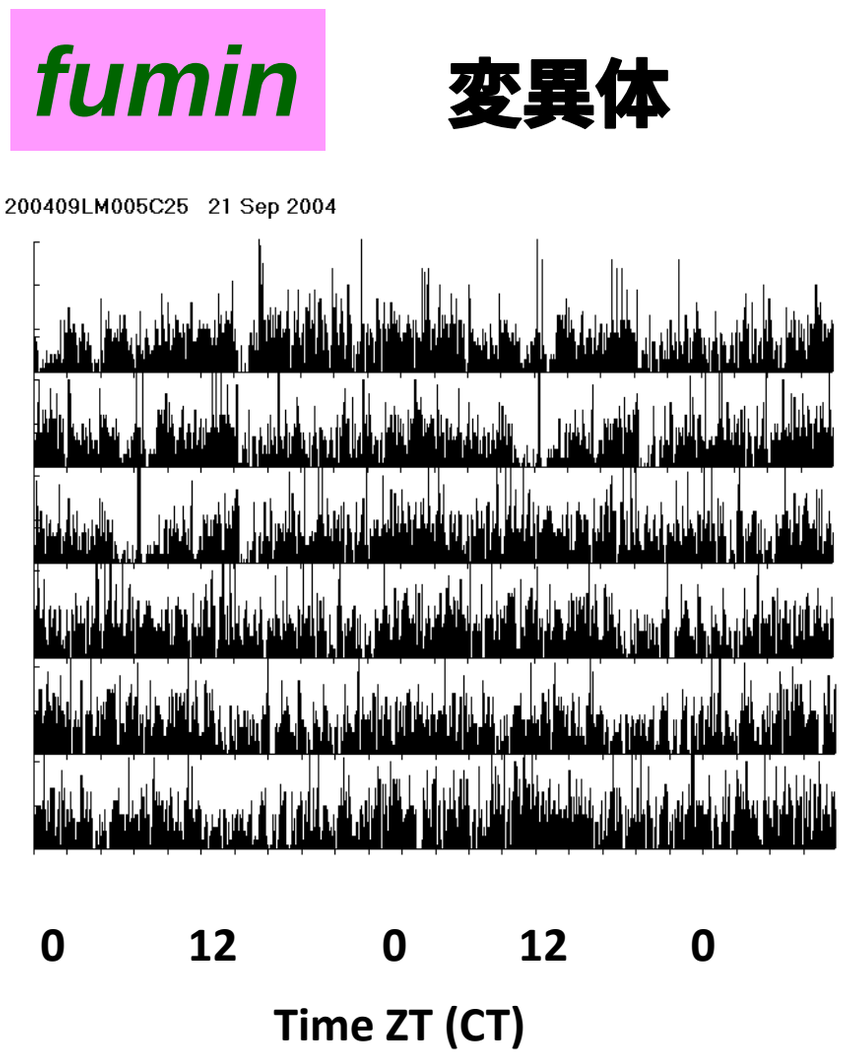
5分以上の不動状態を睡眠と定義

ショウジョウバエの睡眠制御

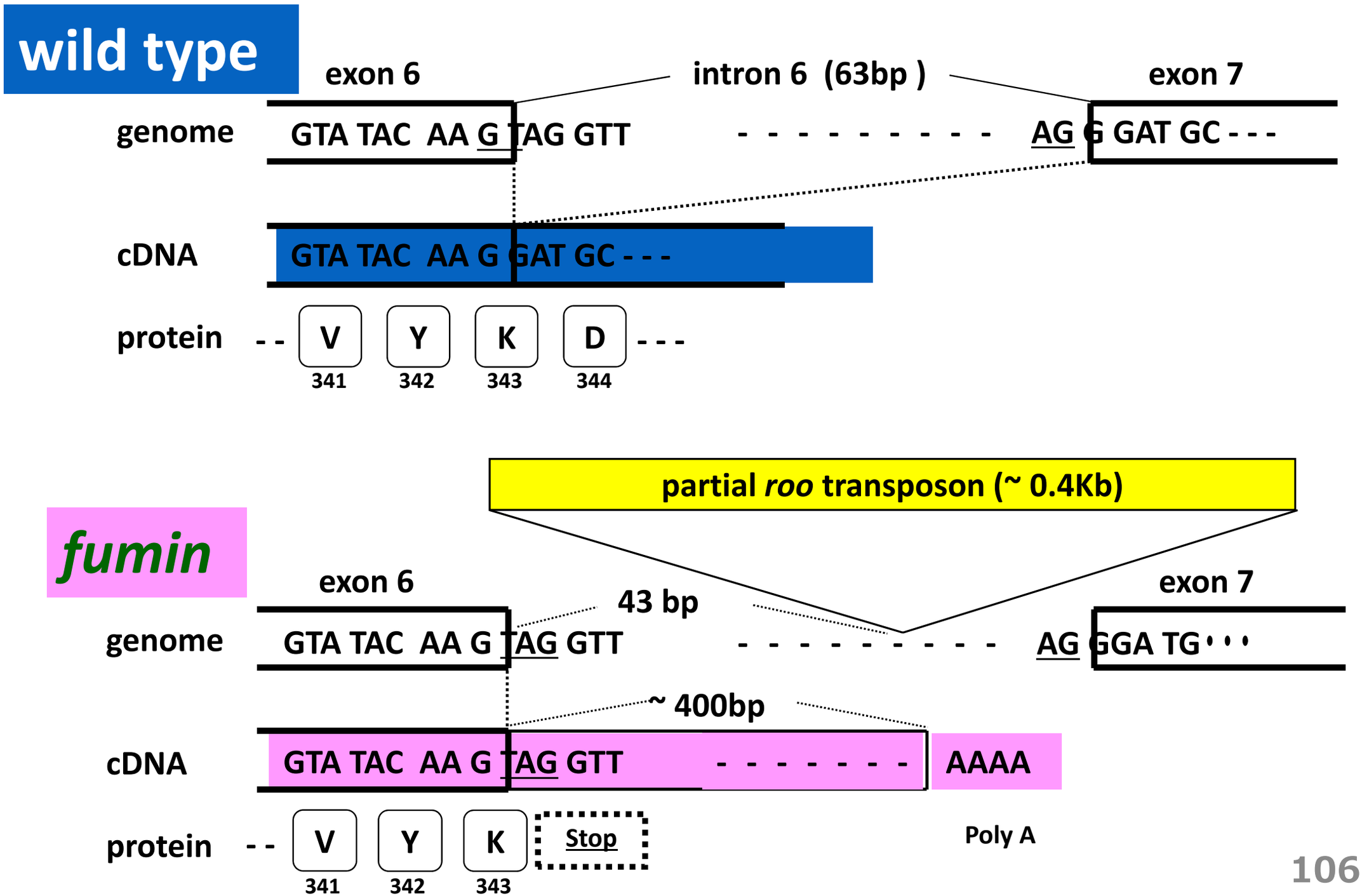
ドーパミンの関与の発見

fumin(不眠) 変異の発見

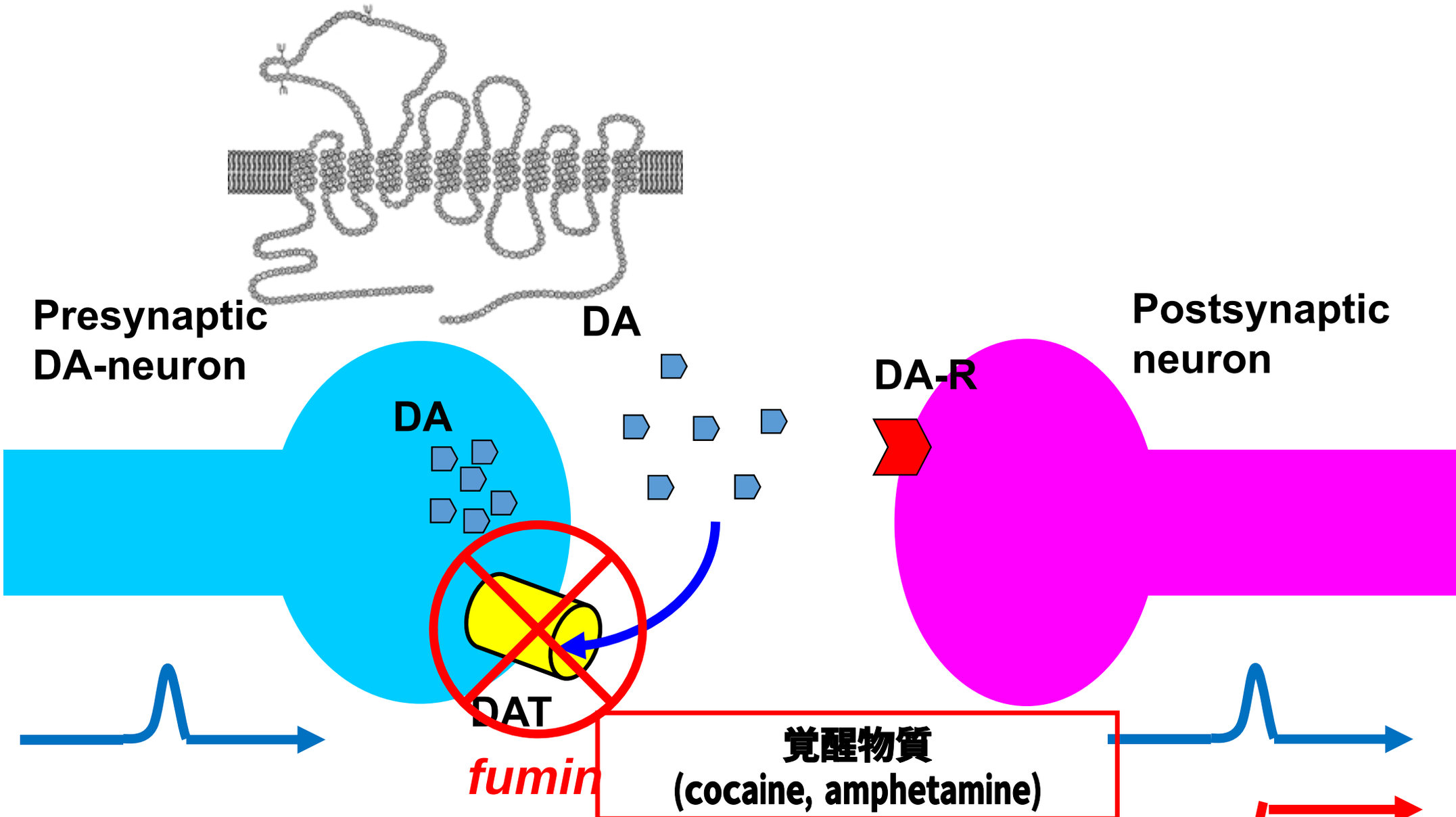




ドーパミントランスポーター遺伝子変異



ドーパミントランスポーターの機能



Kume *et al*, J. Neurosci. (2005)

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.

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[1,3], Taro Ueno[1,2], Madoka Mitsuyoshi[1], Shoen Kume[1], Kazuhiko Kume[1,3]*

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

新規睡眠関連遺伝子の機能解析

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

発見された変異の例

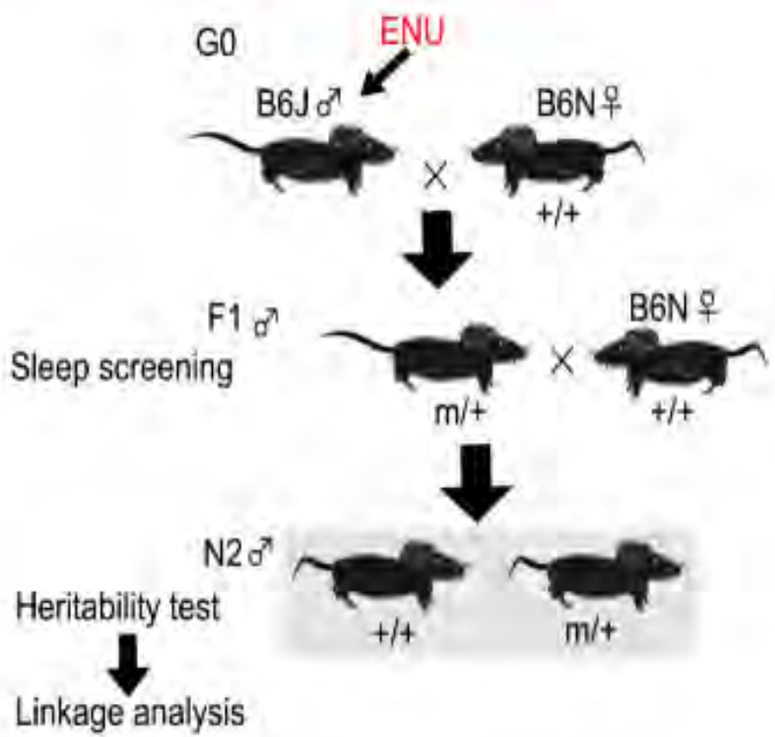
- ***Sleepy* (*SIK3*)**
  1日のNREM睡眠量が、大きく増える
  覚醒時の活動には、大きな異常はない

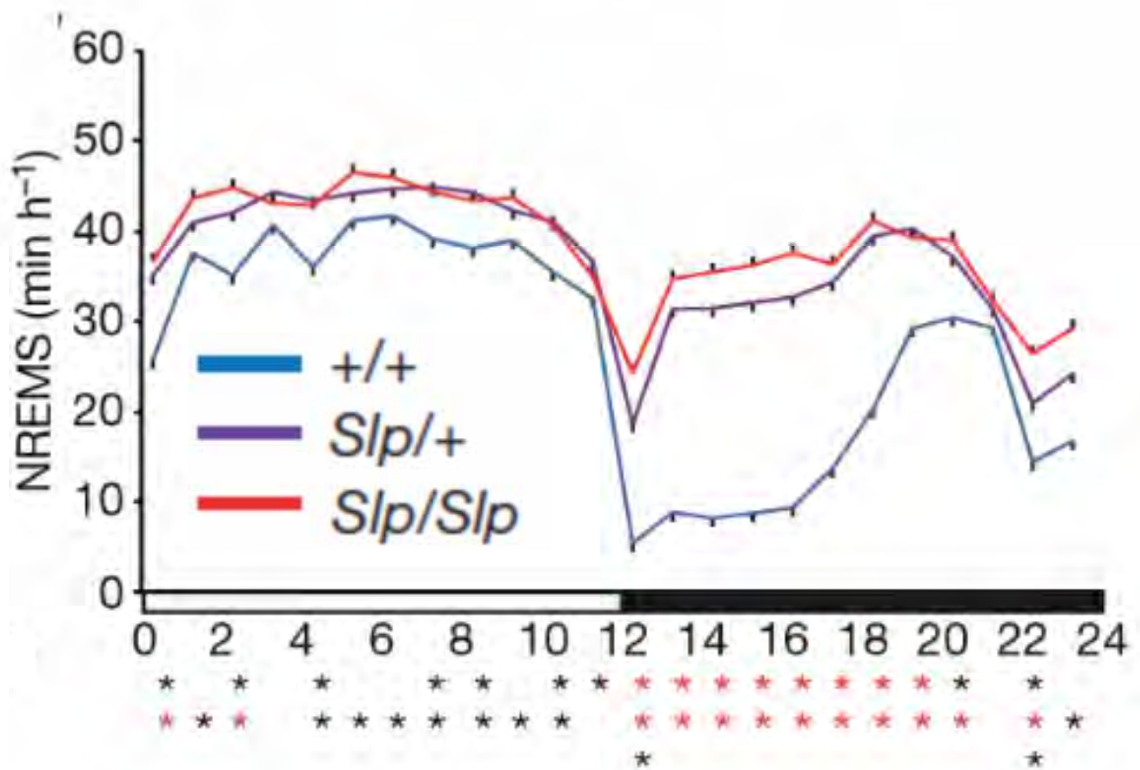
- ***Dreamless* (*NALCN*)**
  全体の睡眠量には大きな変化がないが、
  レム睡眠量のみが減る

Mouse *Sleepy1* gene cloning

Forward-genetics analysis of sleep in randomly mutagenized mice

Hiromasa Funato[1,2], Chika Miyoshi[1*], Tomoyuki Fujiyama[1*], Takeshi Kanda[1*], Makito Sato[1,3*], Zhiqiang Wang[1], Jing Ma[1], Shin Nakane[4], Jun Tomita[4], Aya Ikkyu[1], Miyo Kakizaki[1], Noriko Hotta-Hirashima[1], Satomi Kanno[1], Haruna Komiya[1], Fuyuki Asano[1], Takato Honda[1], Staci J. Kim[1], Kanako Harano[1], Hiroki Muramoto[1], Toshiya Yonezawa[1], Seiya Mizuno[5], Shinichi Miyazaki[1], Linzi Connor[1], Vivek Kumar[6,7], Ikuo Miura[8], Tomohiro Suzuki[8], Atsushi Watanabe[9], Manabu Abe[10], Fumihiro Sugiyama[5], Satoru Takahashi[5], Kenji Sakimura[10], Yu Hayashi[1,11], Qinghua Liu[1,12], Kazuhiko Kume[4], Shigeharu Wakana[8], Joseph S. Takahashi[1,6,13] & Masashi Yanagisawa[1,3,13,14]





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

Mouse *Sik3*^{SLP}/*Sleepy* mutation

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

  Truncated form is expressed in mutants.

-

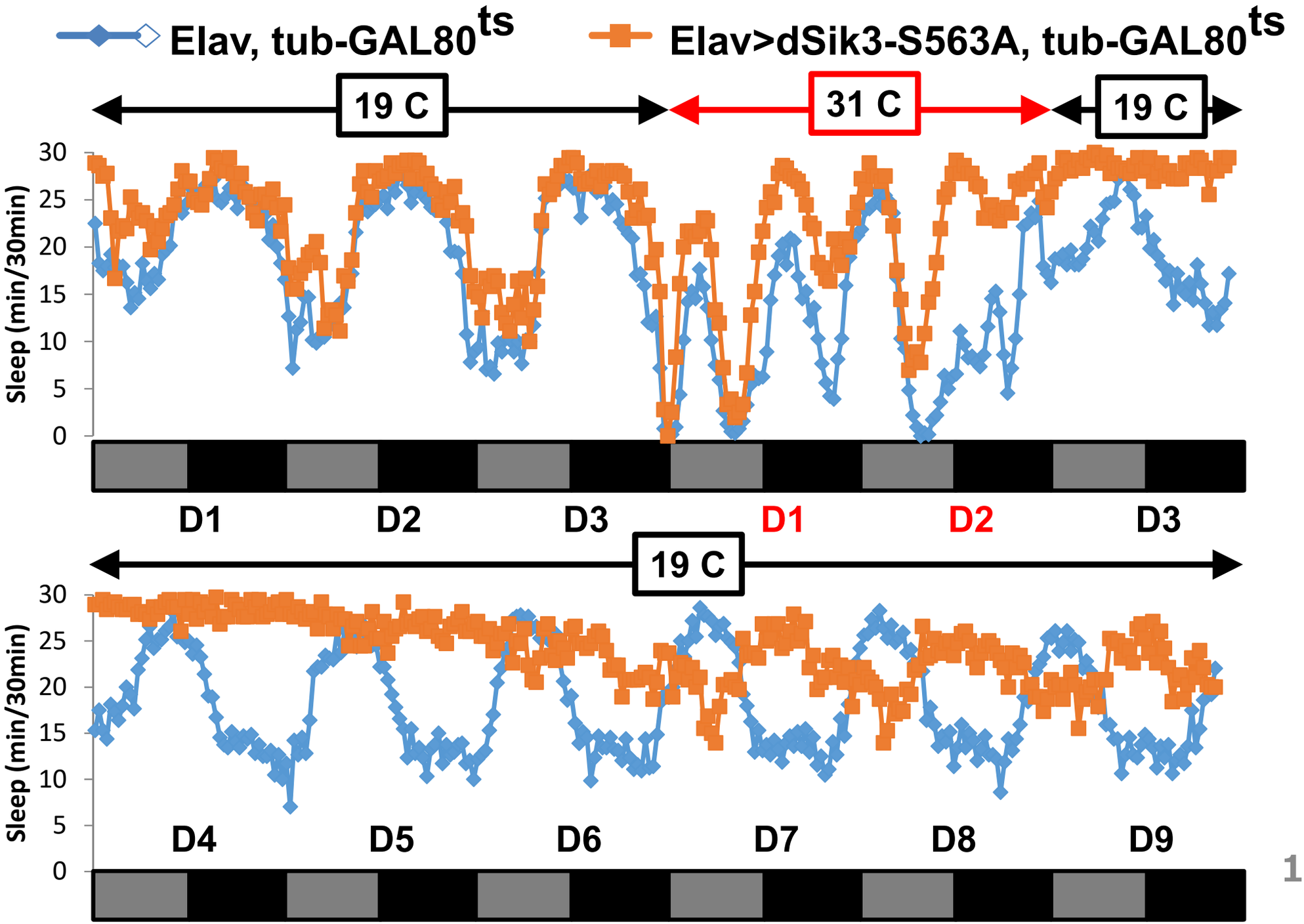
いろいろな動物でのSIK3遺伝子の比較

PKA site

ヒト	EQSLLQPPTLQLLNGMGPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGPSPLVTMTP	100
サル	EQSLLQPPTLQLLNGMGPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGPSPLVTMTP	100
マウス	EQSLLQPPTLQLLNGMGPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGPSPLVTMTP	100
ラット	EQSLLQPPTLQLLNGMGPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGPSPLVTMTP	100
イルカ	EQSLLQPPTLQLLNGMGPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGPSPLVTMTP	100
セイウチ	EQSLLQPPTLQLLNGMGPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGPSPLVTMTP	100
ニワトリ	EQSLLQPPTLQLLNGMGPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGPSPLVTMTP	100
トカゲ-爬虫類	EQSLLQPPTLQLLNGMGPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGPSPLVTMTP	100
ゼブラ- 魚類	EQSLLQPPTLQLLNGMGPLGRRASDGGANIQLHTQQLLKRPRGQSPLVTSPH	90
ハエ	DQHLLKPP---VVMGASSFGRRASDGGANLHIYYPATGTVVGPAQGQQMD--	30
線虫	---KMLPVPKSERRASAGETLLPTNFD----	#

SIK3-SA = Serine(563) を Alanine に変換

高温で誘導する TARGET system



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）

睡眠研究の進展

- 睡眠物質の発見
- 局所睡眠の発見
- 培養細胞の睡眠の発見
- 単一神経モデリングの成功
- 無脊椎動物との睡眠関連遺伝子の保存
- **睡眠サイクル依存的な**

  タンパク質リン酸化　←今、ココ！

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 Wang[1], Jing Ma[1], Chika Miyoshi[1], Yuxin Li[2], Makito Sato[1], Yukino Ogawa[1], Tingting Lou[1], Chengyuan Ma[3], Xue Gao[3], Chiyu Lee[1], Tomoyuki Fujiyama[1], Xiaojie Yang[1], Shuang Zhou[3], Noriko Hotta-Hirashima[1], Daniela Klewe-Nebenius[1], Aya Ikkyu[1], Miyo Kakizaki[1], Satomi Kanno[1], Liqin Cao[1], Satoru Takahashi[4], Junmin Peng[2], Yonghao Yu[5], Hiromasa Funato[1,6]*, Masashi Yanagisawa[1,7,8]* & Qinghua Liu[1,3,9,10]*

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

別のグループも同様の結果発表

RESEARCH Noya *et al.*, *Science* **366**, 200 (2019) 11 October 2019

RESEARCH ARTICLE SUMMARY

NEUROSCIENCE

The forebrain synaptic transcriptome is organized by clocks but its proteome is driven by sleep

Sara B. Noya, David Colameo, Franziska Brüning, Andrea Spinnler, Dennis Mircsof, Lennart Opitz, Matthias Mann, Shiva K. Tyagarajan*, Maria S. Robles*, Steven A. Brown*

まとめ

- 概日周期は、単一細胞でも認められる現象で、広く遺伝子が保存されている。
- 睡眠も、基本的に細胞レベルで規定される現象だが、細胞間のシナプス部の変化によるため、複数の細胞を必要とする現象である。
- 睡眠も、種々の遺伝子が、種を超えて保存されており、起源が古い現象である。
- 覚醒中には、シナプスでタンパク質リン酸化の亢進が起こり、睡眠中に脱リン酸化される。

謝辞

名古屋市立大学　薬学研究科・薬学部

大澤 匡弘	山本 昇平	冨田　淳	森　優作	林　里花	西口 友理
中根　伸	長谷川 達也	荒川 千暁	中川 寛之	坂　豪祐	長尾 柚香
山口　翔	小林 里帆	高　天翔	石﨑 千晶	藤本 真里奈	幡鎌　輝
原　純太	加藤 善章	鈴木 博子	小樋 翔太	羽鳥 聖七	松村 謙吾
李　佳億	酒井 皓祐	西　風花	三宅　遼	稲波 千尋	北村　葵
三木 裕之	山口 遥己	山本 菜緒	桝田 昂毅	難波 知尭	野口 公寛
小川 摩子	中森 瑞季	池島 智弥	川瀬 宗之	佐藤 寛之	中川 育磨
橋崎 将典	福井 文子	鈴木 麻理子	麸山 美香	永山 春菜	徐　波
佐々木 真希					