

令和元年6月24日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18358

研究課題名(和文) 生理学的アプローチによる新規睡眠制御ニューロンの機能発現の解明

研究課題名(英文) Physiological analysis of a novel sleep-regulatory neuron

研究代表者

上田 壮志 (Kanda, Takeshi)

筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・助教

研究者番号：00599821

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：睡眠は動物界において普遍的かつ必須の生理現象である。技術的発展もあり、睡眠・覚醒制御ニューロン群はいくつも同定されているが、それらの既知の構成要素の組み合わせでは睡眠・覚醒パターンの形成はまだ十分に説明できない。本研究では部位及びセルタイプ特異的なニューロン活動操作技術により、古典的な切断・破壊実験で見過ごされてきた脳部位を標的とし、新規の睡眠・覚醒制御ニューロンの無作為探索を試みた。標的としたセルタイプはグルタミン酸作動性、GABA作性、グリシン作動性などである。本研究では延髄の一部に覚醒～ノンレム睡眠～レム睡眠の遷移を制御する未知のニューロンが存在することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

睡眠は全身性の生理現象であり、その制御は脳が行う。そして、脳自体も睡眠の影響を受け、特殊な活動モードに入る。また、睡眠は脳の一部でなく全体が制御にも機能にも関わる。睡眠の制御と機能の実態は難解である。本研究はその難解なパズルを未知のピースを見つけることで、その解明を一歩進めた。睡眠は単に身体の休息でなく、代謝、免疫、精神状態にも深く影響する。そのため、睡眠の障害はこれらの機能障害、つまり疾患につながる。本研究の成果はこのような睡眠障害に伴う疾患の予防にもつながるはずである。

研究成果の概要(英文)：Sleep is a universal and essential physiological phenomenon in the animal kingdom. Although technological developments allow us to discover several sleep/wake-regulatory neurons in the brain, the combination of these known components cannot yet fully explain regulation of the sleep/wake cycles. In this study, I attempted to randomly search for a novel sleep/wake-regulatory neuronal population in the brain sites overlooked in previous research using site- and cell-type-specific neuron activity manipulation techniques. Targeted cell types were glutamatergic, GABAergic, and glycinergic neurons. I found that there were unknown neurons that controls the sleep/wake transitions in a part of the medulla.

研究分野：神経生理学

キーワード：睡眠

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

睡眠という生理現象は身体に休息をもたらすだけでなく脳機能、代謝、免疫、ひいては生命維持にも必須である。しかし、睡眠の制御にはいまだ不明な点が多い。睡眠の制御回路は広範な脳領域に散在する多様なニューロンが絡み合ったもので、あまりに複雑性が高いことが原因の一つである。古くから睡眠の制御はモノアミン、コリン、ペプチドなどのいわゆるモジュレーターが主軸であると考えられてきた。しかし近年、モジュレーターはあくまで睡眠・覚醒状態をつくる最終的な出力であり、その出力切り替えの基幹は高速かつ精緻化されたグルタミン酸や GABA ニューロンが構成する神経回路であることが分かってきた。ただし、既知のニューロンの投射と発火のパターンだけでは睡眠・覚醒の切り替えは十分に説明できない。そこで申請者は脳内の未知の睡眠制御ニューロンの探索を計画した。

2. 研究の目的

本研究では哺乳動物における新規睡眠制御ニューロンを探索し、さらにその神経回路と生理学的特性を徹底的に明らかにする。これは脳による睡眠・覚醒の切り替えメカニズムの全容解明を大きく前進させる。

3. 研究の方法

- (1) GABA ニューロンに焦点を絞り新規睡眠制御ニューロンを探索する。
- (2) 新規睡眠制御ニューロンの入出力回路と生理学的特性を精査する。
- (3) 多角的なアプローチを統合することで新規睡眠制御ニューロンの機能発現のメカニズムを明示する。

4. 研究成果

延髄の一部の GABA ニューロンの活動を薬理遺伝学的に抑制すると、睡眠時間が延長することが分かった。具体的には、Gad1-Cre マウスの延髄背側部に Cre 依存的に hM4Di-mCherry を発現するアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを注入し、脳波・筋電図電極を取り付けた。そのマウスの睡眠・覚醒パターンを記録し、解析したところ、hM4Di のアゴニストである CNO 投与により覚醒時間の短縮とノンレム睡眠時間の延長が見られた。これはこの GABA ニューロンが覚醒の維持に関与することを示唆する。さらに、ノンレム睡眠からレム睡眠への遷移にも影響があったことから、レム睡眠への遷移確率の制御への関与も示唆された。このニューロンの軸索投射パターンを Cre 依存的に順行性トレーサーを発現する AAV ベクターを使用して解析した。このニューロンには既知の機能があるが、その機能に関連する神経核への投射だけでなく、睡眠制御領域への投射も見出された。これはこのニューロン群が睡眠とそれと関連する別の機能への交差点であることを示唆する。また、このニューロン群の活動パターンをカルシウムイメージングで解析中である。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計6件)

#責任著者

+同等貢献

1. Ogawa Y., Kanda T., Vogt K., Yanagisawa M., 2017. Anatomical and electrophysiological development of the hypothalamic orexin neurons from embryos to neonates. *J. Comp. Neurol.* 525(18), 3809-3820. doi: 10.1002/cne.24261
2. Oishi, Y. #+, Suzuki, Y.#, Takahashi, K., Yonezawa, T., Kanda, T., Takata, Y., Cherasse, Y., Lazarus, M. +, 2017. Activation of ventral tegmental area dopamine neurons produces wakefulness through dopamine D2-like receptors in mice. *Brain Struct. Funct* 222(6), 2907-2915. doi:10.1007/s00429-017-1365-7
3. Kanda, T.#+, Ohyama, K.#, Muramoto, H., Kitajima, N., Sekiya, H.+, 2017. Promising techniques to illuminate neuromodulatory control of the cerebral cortex in sleeping and waking states. *Neurosci Res*, 118, 92-103. doi: 10.1016/j.neures.2017.04.009
4. Irukayama-Tomobe Y.#, Ogawa Y.#, Tominaga H.#, Ishikawa Y., Hosokawa N., Ambai S., Kawabe Y., Uchida S., Nakajima R., Saitoh T., Kanda T., Vogt K., Sakurai T., Nagase H., Yanagisawa M.+, 2017. A non-peptide orexin type-2 receptor agonist ameliorates narcolepsy-cataplexy symptoms in mouse models. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 114 (22), 5731-5736. doi: 10.1016/j.neures.2017.04.009
5. Funato, H.+, Miyoshi, C.#, Fujiyama, T.#, Kanda, T.#, Sato, M.#, Wang, Z., Ma, J., Nakane, S., Tomita, J., Ikkyu, A., Kakizaki, M., Hotta-Hirashima, N., Kanno, S., Komiya, H., Asano, F., Honda, T., Kim, S.J., Harano, K., Muramoto, H., Yonezawa, T., Mizuno, S., Miyazaki, S., Connor, L., Kumar, V., Miura, I., Suzuki, T., Watanabe, A., Abe, M., Sugiyama, F., Takahashi, S., Sakimura, K., Hayashi, Y., Liu, Q., Kume, K., Wakana, S., Takahashi, J.S.+, Yanagisawa, M.+, 2016. Forward-genetics analysis of sleep in randomly mutagenized mice. *Nature* 539, 378-383. doi:10.1038/nature20142
6. Kanda, T.+, Tsujino, N.+, Kuramoto, E., Koyama, Y., Susaki, E.A., Chikahisa, S., Funato, H., 2016. Sleep as a biological problem: an overview of frontiers in sleep research. *J. Physiol. Sci.* 66, 1-13. doi:10.1007/s12576-015-0414-3

[学会発表](計13件)

1. Kanda T., Miyazaki T, Nakatsuka D, Hino H, Yanagisawa M. Dynamics of local networks in the motor cortex during sleep and wakefulness. The 9th Federation of Asian

- and Oceanian Physiological Societies Congress: FAOPS2019. Mar 28-31, 2019, Kyoto, Japan
2. 上田壮志、宮崎峻弘、日野秀逸、柳沢正史 カルシウムイメージングとガウシアングラフィカルモデルで見る睡眠中の大脳皮質局所ネットワーク構造 第9回定量生物学の会、2019年1月13-14日 大阪大学
 3. 岩崎加奈子、上田 壮志、松田 道行、船戸 弘正、柳沢 正史 新規 FRET プローブを用いた SIK3 のキナーゼ活性の可視化 第41回日本分子生物学会年会 2018年11月28-30日 横浜
 4. Kanda T, Miyazaki T, Nakatsuka D, Hino H, Yanagisawa M. Sleep-state-dependent neural dynamics and network structure in the primary motor cortex. Cold Spring Harbor Asia conference on Latest Advances in Development & Function of Neuronal Circuits. Sep 25-28, 2018, Awaji, Japan
 5. Kanda T, Miyazaki T, Nakatsuka D, Hino H, Yanagisawa M. Micro-network structure in the cerebral cortex during sleep. International Symposium Toward Understanding INDIVIDUALITY. Jul 24-25, 2018, Kyoto, Japan
 6. 宮崎 峻弘、上田 壮志、辻野 なつ子、石井 亮、中司 大樹、笠木 靖弘、石川有紀子、村本 玄紀、日野 英逸、柳沢 正史 睡眠・覚醒中の大脳皮質ニューロン活動の時空間ダイナミクス 日本睡眠学会第43回定期学術集会 2018年7月11-13日 札幌
 7. Ohyama K, Kanda T, Miyazaki T, Grenier F, Makino Y, McHugh T, Yanagisawa M, Greene RW, Vogt K. Ensemble neuronal activity in the cerebral cortex during waking and slow wave sleep. The 6th Annual IIIS Symposium. Dec 14, 2017, Shinagawa, Japan.
 8. Ogawa Y., Kanda T., Vogt K., Yanagisawa M. Histological and electrophysiological development of the hypothalamic orexin neurons from embryonic to neonatal stages. 38th World Congress of the International Union of Physiological Sciences. Aug 1-5, 2017, Riocentro, Rio de Janeiro, Brazil.
 9. Yonezawa T, Fukuoka J, Kizuka M, Miyazaki T, Kanda T, Yanagisawa M. A novel inhibitory action of orexin B on noradrenergic neurons in the locus coeruleus. The 40th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. July 20-23, 2017, Makuhari, Japan.
 10. Yonezawa T, Fukuoka J, Kizuka M, Miyazaki T, Kanda T, Yanagisawa M. Orexin B induces GABAA receptor-mediated tonic inhibition in the locus coeruleus. The 94th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan. Mar 28-30, 2017, Hamamatsu, Japan
 11. Ohyama K, Miyazaki T, Kanda T, Makino Y, McHugh T, Yanagisawa M, Greene RW, Vogt K. Neuronal firing in the cerebral cortex during waking and NREM sleep. The 5th

Annual IIIS Symposium and the 32nd Wako Workshop. Dec 12, 2016, Shinagawa, Japan.

12. Yonezawa T, Fukuoka J, Kizuka M, Miyazaki T, Kanda T, Yanagisawa M. Orexin B plays an inhibitory role in noradrenergic neurons in the locus coeruleus. The 5th Annual IIIS Symposium and the 32nd Wako Workshop. Dec 12, 2016, Shinagawa, Japan.
13. 上田壮志、中司大樹、黒川達哉、石川有希子、柿崎美代、シェラス ヨアン、柳沢正史
延髄背側部に存在する新規睡眠・覚醒制御ニューロン群 日本睡眠学会第41回定期学術集会 2016年7月7-8日 京王プラザホテル 東京

〔図書〕(計1件)

1. Kanda T, Miyazaki T, Yanagisawa M. Imaging of sleep and wakefulness. Make life visible. 2019. Springer Nature. doi: 10.1007/978-981-13-7908-6

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。