



筑波大学
University of Tsukuba



東邦大学



国立研究開発法人
日本医療研究開発機構



2022年12月8日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学

東邦大学

国立研究開発法人日本医療研究開発機構

興奮性ニューロン内の分子シグナルが睡眠を制御する ～眠りの量と質が決まる仕組みを説明～

睡眠は誰にでも必要ですが、なぜ眠らなければならないのかは現在でも謎です。本研究チームは、この謎を解く鍵となる酵素（SIK3）に注目していました。この酵素は睡眠に関わる脳内の反応の連鎖を調節し、睡眠の質と量を調整する分子のシグナルを形成します。しかし、SIK3がどのような分子と連鎖を作ることによって睡眠を制御しているのか、どの細胞を介して睡眠の量や質を決めているのかは分かっていませんでした。本研究では、その連鎖（分子シグナル）の詳細と、この分子シグナルが調節する遺伝子群を、世界で初めて明らかにしました。

また、睡眠の質は脳皮質の興奮性ニューロンが制御し、量は視床下部の興奮性ニューロンが制御することを見いだしました。ウイルスベクターを用いて、後天的に睡眠の量と質を変化させることで、この分子シグナルをさらに検証することにも成功しています。

睡眠は、心身の健康に不可欠であり、睡眠障害は精神疾患や糖尿病、心疾患、アルツハイマー病などの認知症のリスクを高め、日中の脳のパフォーマンスを低下させます。我が国では多くの国民が睡眠負債（睡眠不足に伴う心身の不調）を抱えていると言われており、睡眠の量と質を制御する仕組みの理解を通じて、新しい睡眠制御方法や睡眠障害治療法の開発に貢献することが期待されます。

研究代表者

筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIIIS）

柳沢 正史 教授・機構長

東邦大学大学院医学研究科／筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構

船戸 弘正 教授／客員教授



研究の背景

睡眠は健康に必須の要素であり、睡眠の不足は日中の脳のパフォーマンスを低下させ、気分障害、メタボリック症候群、認知症などのリスクを高めます。また、どの動物も眠ることから、睡眠が個体の生存に必要であることが分かっています。また、睡眠は時間だけではなく質も重要であり、浅い眠りでは起床後に熟眠感が得られず、日中の眠気を生じてミスや事故のリスクを高めます。しかし、睡眠の必要性や、睡眠の量と質を制御する仕組みは明らかではありません。本研究チームは、2016年にランダム点変異マウス^{注1)}の睡眠スクリーニングに基づき、タンパク質リン酸化酵素^{注2)} SIK3が、脳の睡眠を要求する度合い（睡眠圧）に関わる重要な分子であることを見いだしました。その後の研究から、SIK3はニューロンで働いて睡眠を制御することも示されていました。そこで、今回、順遺伝学^{注3)}に加えてさまざまな手法を組み合わせて、SIK3がどのような分子カスケード^{注4)}を形成して睡眠を制御しているのか（論文Aおよび論文B）、さらにどのニューロン集団によって睡眠の量と質が制御されるかを検討しました（論文A）。

研究内容と成果

本研究チームは、ランダム点突然変異マウスの脳波に基づく睡眠スクリーニングにより、通常よりも睡眠時間の長いマウス家系 Sleepy2 を樹立しました。この Sleepy 2 変異家系ではヒストン脱アセチル化酵素^{注5)} HDAC4 遺伝子の変異があり、その発現が低下することが明らかになりました。HDAC4 と相同性^{注6)}の高い HDAC5 の発現が低下したマウスも睡眠の増加を示しました。SIK3 によってリン酸化される HDAC4 のセリン残基 (S245) をアラニンに置換したところ、睡眠が大きく減少しました。このことから、SIK3 は HDAC4 をリン酸化することで睡眠を増大することが分かります。SIK3 によりリン酸化を受けた HDAC4 は細胞質にとどまるため、核内で遺伝子制御に関わる HDAC4 が減少すると考えられます。実際に、マウスが眠る期間である明け方や、断眠後に核内の HDAC4 が減少することから、SIK3 は HDAC4 の核移行を抑制し、睡眠が促進されることが示されました。さらに線虫においても、SIK3 と HDAC4 が睡眠を制御していることが示され、この分子シグナルが幅広い動物種で睡眠を制御していることが分かりました。

SIK3 のリン酸化酵素活性は LKB1 という別のタンパク質リン酸化酵素によって制御されるため、LKB1 が減少する、もしくは SIK3 キナーゼ領域にあるスレオニン残基 (T221) をアラニン置換して LKB1 によるリン酸化を受けないようにすると、SIK3 のリン酸化酵素活性は低下します。実際に、ニューロン内の LKB1 発現を低下させたマウスや、SIK3 の T221 をアラニンに置換したマウスは睡眠が減少しました。このことは、LKB1 が SIK3 の上流で睡眠制御に関与していることを示します。全体としては LKB1-SIK3-HDAC4 および HDAC5 が睡眠制御の分子シグナル伝達経路として機能していることが示されました。

それではこの分子シグナルはどの細胞で働いているのでしょうか。先行研究において、ニューロンにおける Sleepy (Slp) 変異型 SIK3 発現によって睡眠の量と質が増大することが明らかになっています。しかし、脳は大腦、視床下部、脳幹などの部位によって、さまざまなタイプのニューロンから構成されているため、より具体的な部位やニューロンタイプを特定する必要があります。ニューロンは、神経伝達物質に基づいて分類されることが多く、代表的なものに、グルタミン酸を神経伝達物質とする興奮性ニューロン^{注7)} や GABA を神経伝達物質とする抑制性ニューロンがあります。DNA 組み換え酵素である Cre を特定のニューロンタイプのみで発現する多数のマウス系統と交配させて睡眠を検討したところ、大脳皮質等の興奮性ニューロンで Slp 変異型 SIK3 が発現すると、睡眠の質や深さの指標であるノンレム睡眠中の脳波の徐波成分^{注8)}が増大しますが、睡眠量は変わらないことが明らかになりました。一方、視床下部で Slp 変異型 SIK3 を発現させると、睡眠量は増加したものの、ノンレム睡眠中の脳波の徐波成分は変化しませんでした。Slp 変異型 SIK3 は核内の HDAC4 を減少させますが、興奮性ニューロンにおける HDAC4

を減少させると睡眠が増加しました。逆に、興奮性ニューロンで SIK3 を減少させると、睡眠が質、量ともに減少します。以上の結果から、睡眠の質は脳皮質の興奮性ニューロンが制御し、量は視床下部の興奮性ニューロンが制御することが示されました（参考図）。

脳皮質の興奮性ニューロンにおいて睡眠の質の調整に関与している遺伝子を同定するために、断眠後の野生型マウスの脳皮質と、アデノ随伴ウイルスによって Slp 変異型 SIK3 を発現させた脳皮質を用いて、1細胞 RNA シーケンシング^{注9}を行ったところ、断眠と Slp 変異型 SIK3 発現に共通した変化として、興奮性ニューロンでのシナプス機能に関する遺伝子群の変化が認められました。このことは、SIK3 シグナルによる興奮性ニューロンのシナプスレベルの変化が、睡眠の質の制御の背景にあることを示唆します。2018年に異なるアプローチで眠気の分子実体として同定したリン酸化タンパク質にも多くのシナプス関連分子が含まれていました。

また、アデノ随伴ウイルスやゲノム編集技術を用いて成体マウスの LKB1、SIK3、HDAC4/5 を操作することで、睡眠の質や量を制御できることも分かりました。

今後の展開

本研究チームは、睡眠の必要性や恒常性に関する分子機構の全容を解明することを目指しており、睡眠の質と量を制御する仕組みや、この SIK3 シグナルがどのようにニューロンレベルの性質を変化させ、睡眠覚醒状態の切り替えや維持を担うニューロンを介して、睡眠を制御しているのかを明らかにするべく、さらに研究を進めています。未解明な点が多い概日リズム^{注10}と睡眠との関係も今後の重要な課題です。SIK3 シグナルは睡眠や覚醒を促す新規医薬の標的となるだけでなく、睡眠の質や量を人為的に変化させるためのハブとなる可能性があります。睡眠を操作できるようになることは、ヒトのパフォーマンスを高めるとともに、気分障害や認知症等の疾患の新しい治療介入法の開発につながります。

参考図

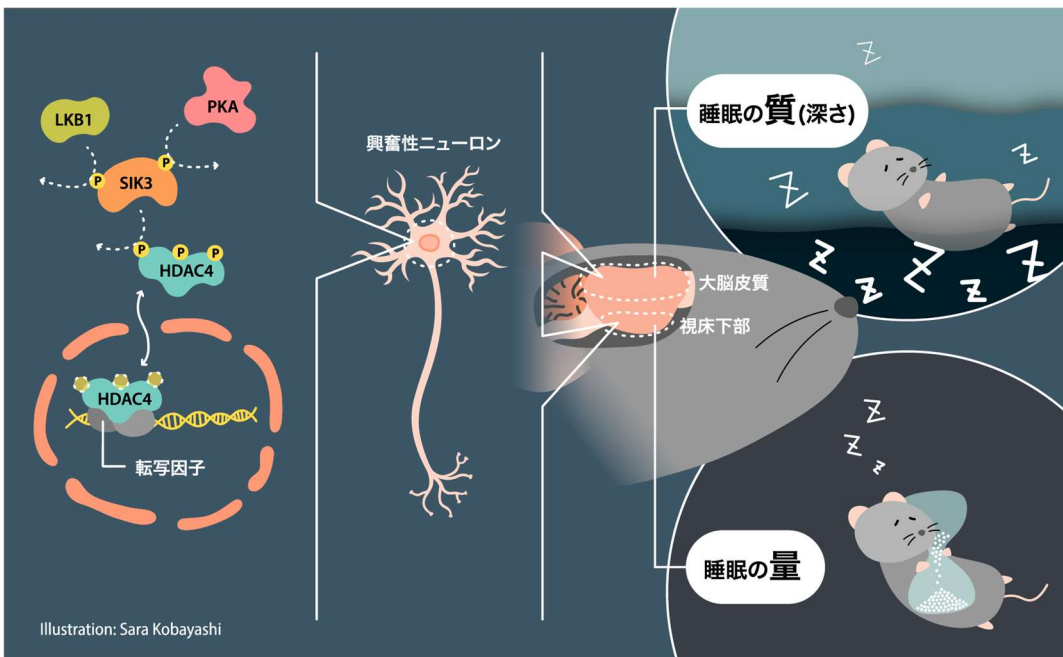


図 睡眠の量と質を制御する分子シグナル

興奮性ニューロン内における LKB1-SIK3-HDAC4 の分子シグナル伝達経路（左）が、脳皮質において睡眠の質を調節し、視床下部を介して睡眠の量を調整する（右）。

用語解説

注1) ランダム点変異マウス

薬剤の投与により遺伝子に変異を持つマウス。どの遺伝子にどのような変異を持つかはランダムであり、マウスごとに異なる。

注2) リン酸化酵素

アデノシン三リン酸 (ATP) からリン酸基を基質となる分子に転移する酵素。キナーゼともいう。SIK3 は蛋白質を基質とするプロテインキナーゼの一つである。

注3) 順遺伝学

個体ごとに評価可能な特徴に基づいて、その特徴をもたらしている遺伝子変異を同定する研究戦略のこと。本研究の場合は、睡眠が多いという特徴をもたらす遺伝子変異を探った。

注4) 分子カスケード

細胞内で生じたイベントが次のイベントを引き起こすような反応の連鎖を、分子カスケードやカスケードと呼ぶ。リン酸化酵素は基質をリン酸化することで、基質の性質を変え、この基質が次のイベントを起こす形でカスケードとなっている。

注5) ヒストン脱アセチル化酵素

ヒストン (染色体を構成するタンパク質) の脱アセチル化を担う酵素。しかし、HDAC4 や HDAC5 は脱アセチル化活性が低いため、ヒストン修飾よりも転写因子等との結合を介して転写調節を実行する。

注6) 相同性

この場合は HDAC4 と HDAC5 の遺伝子配列の似ている度合いを意味する。一般に、遺伝子の相同性が高いほど、機能的にも似た役割を果たすことが多い。

注7) 興奮性ニューロン

グルタミン酸を神経伝達物質とするニューロン。スパイン (興奮性ニューロンの樹状突起上に存在する突起様構造物) にあるグルタミン酸受容体を介して、スパインに接続するニューロンの働きを促進する。

注8) 徐波成分

脳波はさまざまな波長の波に分解することができるが、比較的長い波長成分を徐波成分という。断眠後の睡眠や深い睡眠では徐波成分が増えることから睡眠の質や必要度の指標と考えられている。

注9) 1細胞 RNA シーケンシング

1つ1つの細胞レベルで転写産物 (RNA) を解析する手法。脳細胞タイプごとに転写産物の傾向を調べるなど、従来の手法では得られなかった情報を得ることができる。

注10) 概日リズム

睡眠覚醒など 24 時間周期で繰り返される生理現象のことであり、内在的に稼働する体内時計の制御を受けている。

研究資金

論文 A: AMED ムーンショット型研究開発事業*、世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI)、JSPS 科研費、JST 戦略的創造研究推進事業 (CREST)、他の研究プロジェクトの一環として実施されました。

論文 B: 世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI)、JSPS 科研費、他の研究プロジェクトの一環として実施されました。

*AMED ムーンショット型研究開発事業は、我が国発の破壊的イノベーションを創出し、より大胆な発想に基づく挑戦的な研究開発を推進する国の大型プロジェクトです。AMED はムーンショット目標 7 である、2040 年までに、主要な疾患を予防・克服し 100 歳まで健康不安なく人生を楽しむためのサステイナブルな医療・介護システムの実現にむけ、研究開発

を推進しています。このAMED事業において、柳沢教授は「睡眠と冬眠：2つの「眠り」の解明と操作が拓く新世代医療の展開」のプロジェクトマネージャーを務めています。

掲載論文

(論文 A)

【題名】 Kinase signalling in excitatory neurons regulates sleep quantity and depth.

(興奮性ニューロンにおけるキナーゼシグナルが睡眠の量と質を制御する)

【著者名】 Staci J. Kim, Noriko Hotta-Hirashima, Fuyuki Asano, Tomohiro Kitazono, Kanako Iwasaki, Shinya Nakata, Haruna Komiya, Nodoka Asama, Taeko Matsuoka, Tomoyuki Fujiyama, Aya Ikkyu, Miyo Kakizaki, Satomi Kanno, Jinhwan Choi, Deependra Kumar, Takumi Tsukamoto, Asmaa Elhosainy Mohamed Mahmoud, Seiya Mizuno, Shinichi Miyazaki, Yousuke Tsuneoka, Fumihito Sugiyama, Satoru Takahashi, Yu Hayashi, Masafumi Muratani, Qinghua Liu, Chika Miyoshi, Masashi Yanagisawa, Hiromasa Funato

【掲載誌】 Nature

【掲載日】 2022年12月7日

【DOI】 10.1038/s41586-022-05450-1

(論文 B)

【題名】 A signaling pathway for transcriptional regulation of sleep amount in mice.

(マウスの睡眠量を調整するシグナルパスウェイと転写制御)

【著者名】 Rui Zhou, Guodong Wang, Qi Li, Fanxi Meng, Can Liu, Rui Gan, Dapeng Ju, Meimei Liao, Junjie Xu, Di Sang, Xue Gao, Shuang Zhou, Kejia Wu, Quanzhi Sun, Ying Guo, Chongyang Wu, Zhiyu Chen, Lin Chen, Bihan Shi, Haiyan Wang, Xia Wang, Huaiye Li, Tao Cai, Bin Li, Fengchao Wang, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa, Eric Erquan Zhang, Qinghua Liu

【掲載誌】 Nature

【掲載日】 2022年12月7日

【DOI】 10.1038/s41586-022-05510-6

問い合わせ先

【研究に関すること】

柳沢 正史 (やなぎさわ まさし)

筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIIS) 機構長・教授

TEL: 029-853-3301

Email: yanagisawa.masashi.fu@u.tsukuba.ac.jp

URL: <https://sleepymouse.jp>

船戸 弘正 (ふなと ひろまさ)

東邦大学大学院医学研究科 教授

筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIIS) 客員教授

TEL: 03-3762-4151 内線2321

E-mail: hiromasa.funato@med.toho-u.ac.jp

URL: <https://www.toho-funatolab.jp/>

【取材・報道に関すること】

筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIIS)

TEL: 029-853-5857

E-mail: wpi-iiis-alliance@ml.cc.tsukuba.ac.jp

学校法人東邦大学 法人本部経営企画部

TEL: 03-5763-6583

E-mail: press@toho-u.ac.jp

【AMED事業に関すること】

日本医療研究開発機構 (AMED)

研究開発統括推進室 基金事業課 (ムーンショット事務局)

E-mail: moonshot@amed.go.jp