

**名古屋大学大学院 基盤医学特論**

# **概日周期と睡眠制御**

**名古屋市立大学**

**大学院薬学研究科 神経薬理学**

**桑 和彦**

2018/04/17



# 自己紹介

## 【基礎医学】 生化学→分子生物学→神経科学

- 細胞周期・癌化の分子生物学：岡山博人／阪大
- 生理活性脂質と神経機能研究：清水孝雄／東大
- 概日周期と睡眠：S.Reppert, FR. Jackson  
→主にシヨウジヨウバエを用いた研究

## 【臨床医学・その他】

- 睡眠医療認定医：ナルコレプシーなど
- 脳神経倫理学・心の哲学：neuroethics

# 睡眠障害相談室

http:// sleepclinic.jp



睡眠障害相談室 Sleep Disorders Clinic

2000年12月開設

アクセス150万回

相談件数：  
2000件以上

Google 検索

睡眠で1位でした

ようこそ「眠りの悩みの相談室」へ！

ここでは眠りについて様々な悩みをもつ方のために作ったサイトです。人間は平均寿命の生涯では20年以上を眠って過ごします。この長い睡眠時間をより良いものにしましょう。睡眠の悩みに関するメール相談も受けています。7年目にして、大幅改訂しました！なお、作者は2006年に日本テレビの「[世界一受けたい授業](#)」にも出演しました。

**このサイトの紹介** =>詳細は、[こちら](#)へ！

4つのコーナーがあります。左のメニューから、進んで下さい。初めての方は、睡眠の基礎知識を学ぶ「[学習コーナー](#)」から、どうぞ眠りの悩みは、「[解説コーナー](#)」で、4つにわけて説明します。まずは、「[悩みの分類](#)」をお読み下さい。自分では解決できない時には、作者グループへの「[相談コーナー](#)」があります。作者の紹介や、参考書・リンクなどは「[その他のコーナー](#)」です。

**本もお読み下さい！** =>詳細は、[こちら](#)

「眠りの悩み相談室」(筑摩新書:2007年6月発刊、735円)  
眠りの悩みを詳しく説明し、典型的な相談をたくさん紹介しています。

**熊本の方へ** =>詳細は、[こちら](#)

熊本市の「[くわみず病院](#)」で、睡眠障害外来を開設しています。私の外来は毎週火曜日の午後です。

【このサイトの内容の著作権は作者に帰し、無断転用はお断りします。】

Special Thanks to [Y.Y.](#)

ちくま新書 『眠りの悩み相談室』 ~ぐっすり眠れた?~

桑和彦 著 ¥735 <好評 発売中!>

世界医師会 (WMA) 「患者の権利宣言」 (リスボン宣言)

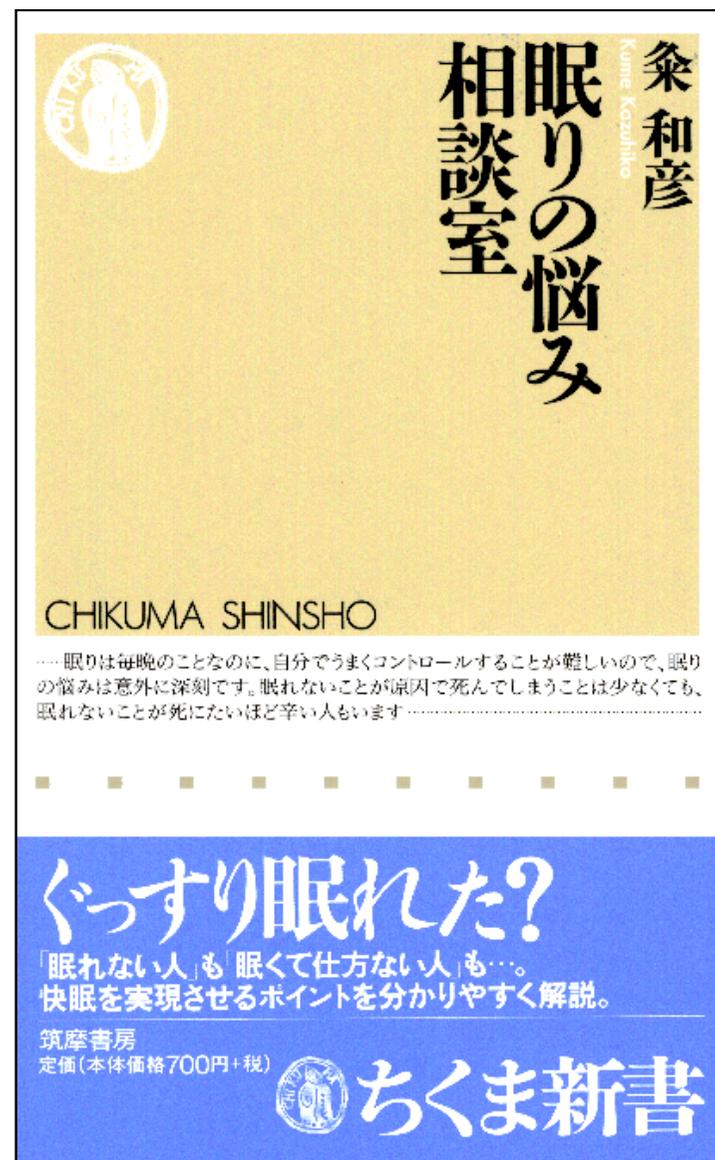
NO TERRORISM NO REVENGE NO WAR

KILLING MORE IS NOT THE ANSWER

# 基礎研究と臨床医学



講談社現代新書  
第35回 講談社出版文化賞



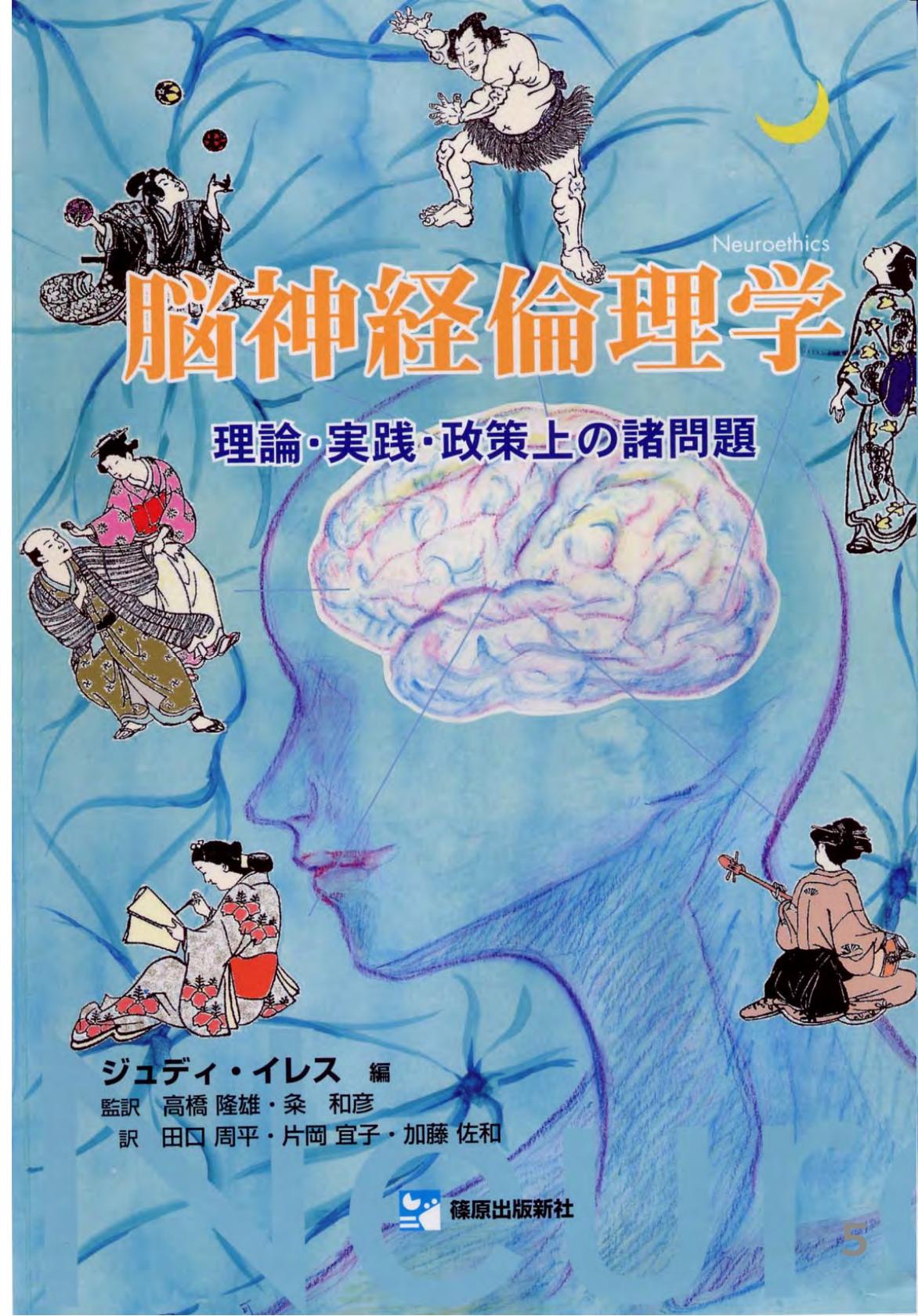
ちくま新書  
23の典型的な悩みを紹介

# 脳神経倫理学

ニューロエシックス  
(2002年にできた学問分野)

## 応用倫理学の一つ 脳神経科学の 倫理を考える

世界で最初の教科書  
文学部・高橋教授と共同監訳  
'06年原書 '08年訳書出版  
(21人の専門家=哲学、  
倫理学、法律家、社会学、  
教育学、神経科学、医学、  
などが執筆)



# 疫学研究

# 非接触型 睡眠モニター



## オムロン睡眠計

**HSL-101: 市販品**  
**HSL-102m: 医療用**

# 客観的で手軽な家庭での睡眠計測



	20	21	22	23	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	総就床時間	総起床時間			
9/17(土)																										6:21	4:55		
9/18(日)																											7:53	6:14	
9/19(月)																											7:15	5:42	
9/20(火)																											8:52	6:35	
9/21(水)																											7:01	5:09	
9/22(木)																											6:28	5:45	
9/23(金)																											6:58	4:53	
9/24(土)																											6:32	5:28	
9/25(日)																											6:46	5:35	
9/26(月)																											6:47	5:24	
9/27(火)																											6:58	4:52	
9/28(水)																											7:22	5:34	
9/29(木)																											6:16	4:25	
9/30(金)																											6:07	4:50	
																											平均	6:58	5:22

# 電波による体動検知と睡眠計測

30秒単位で、睡眠・覚醒・(不在)を判定



呼吸運動



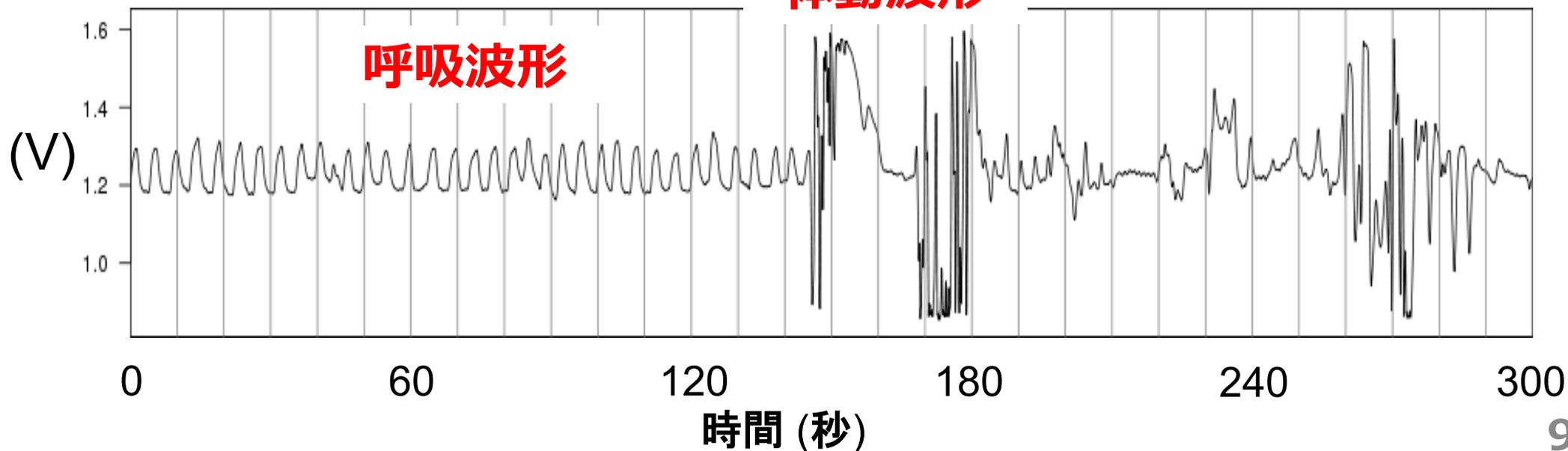
在・不在



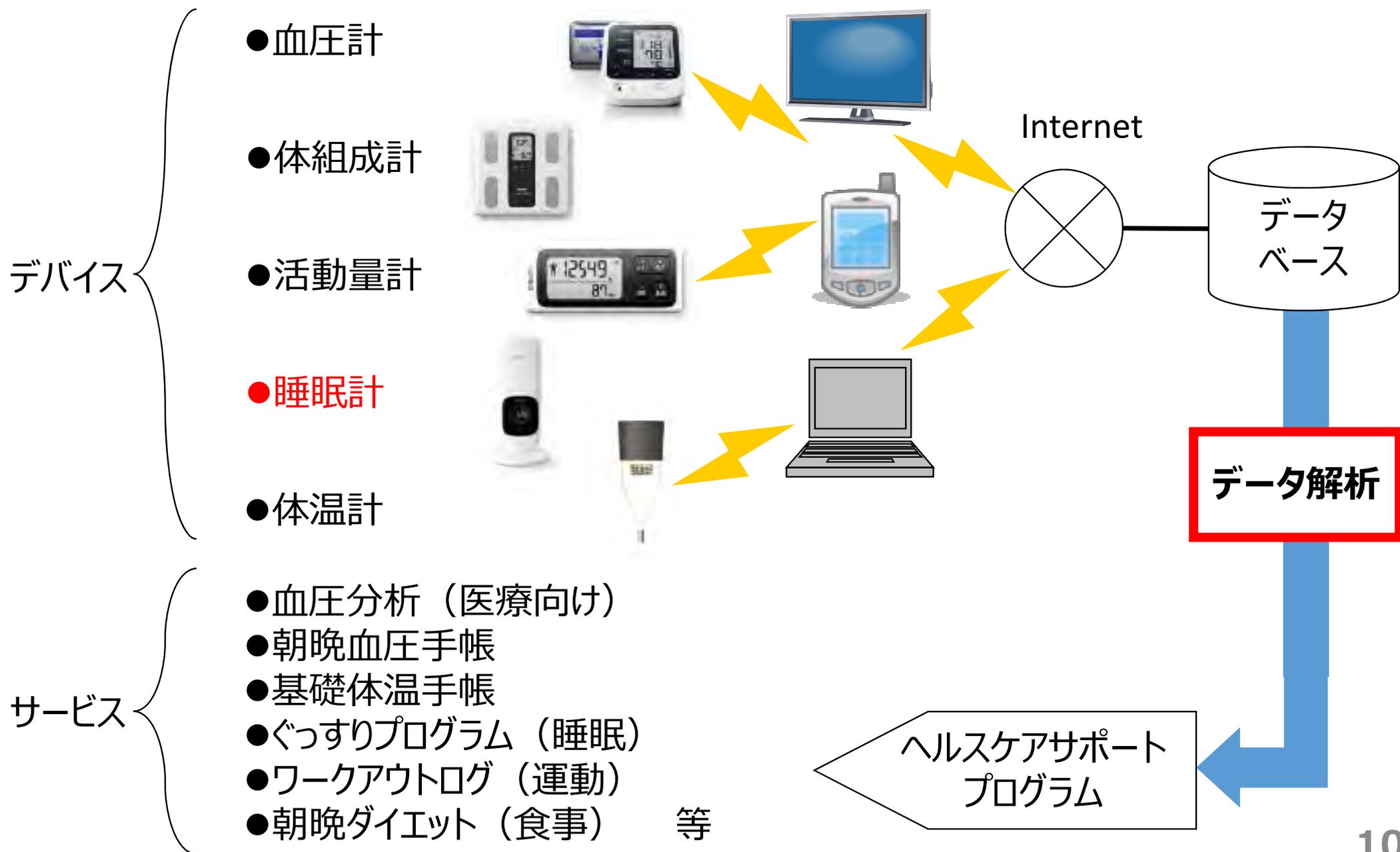
睡眠と、その深さ

体動

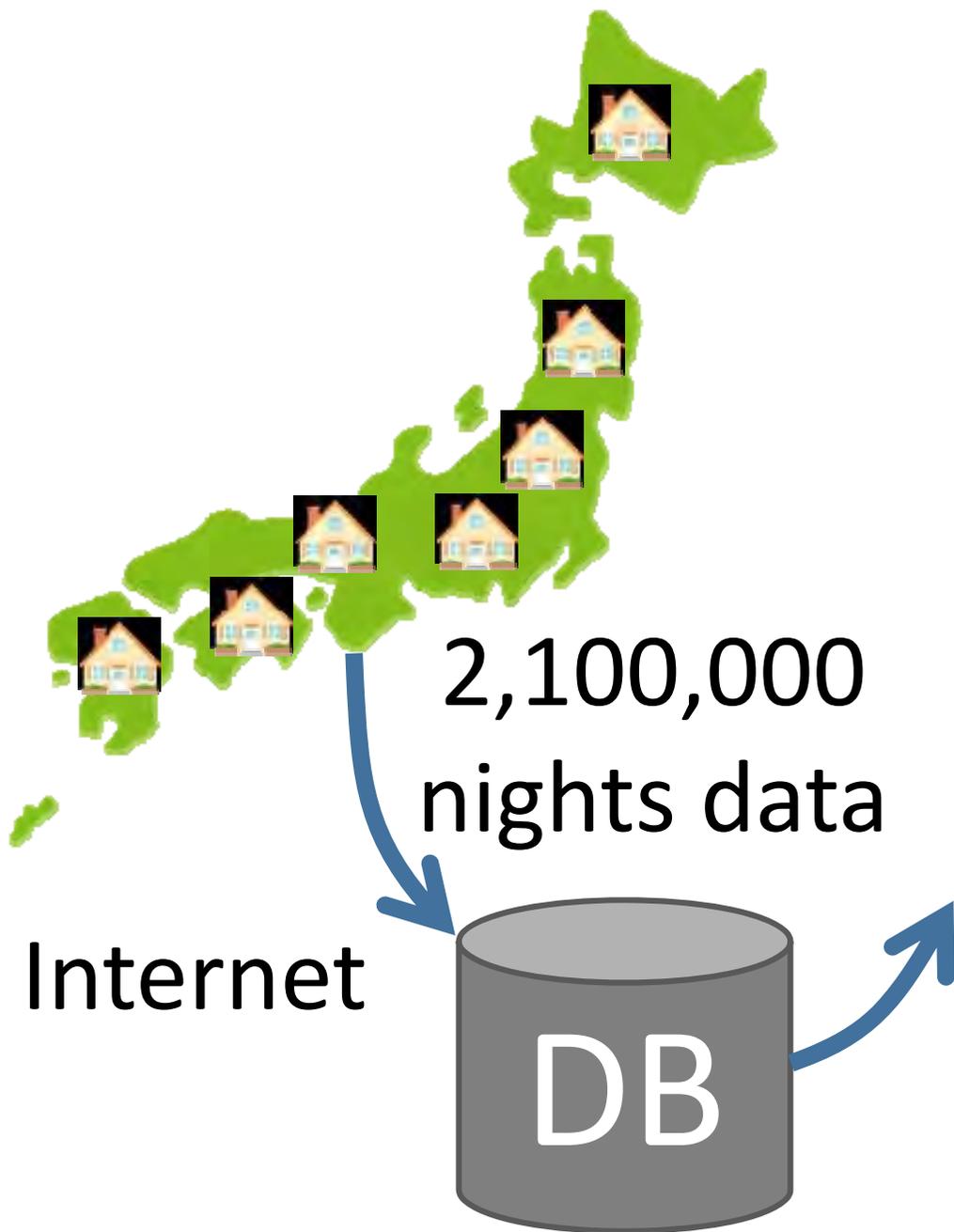
体動波形



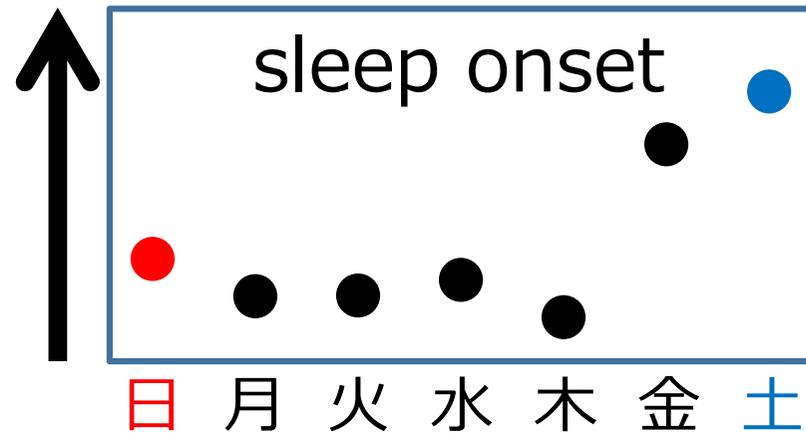
# インターネットを介したデータ収集



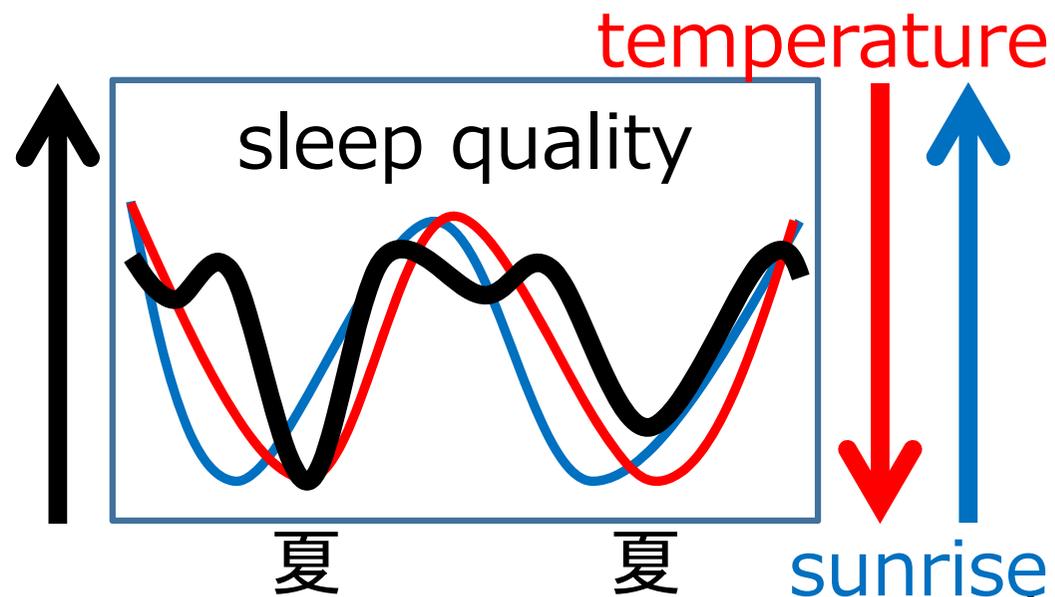
# 睡眠のビッグデータ解析



A. 週内変動(社会的時差)



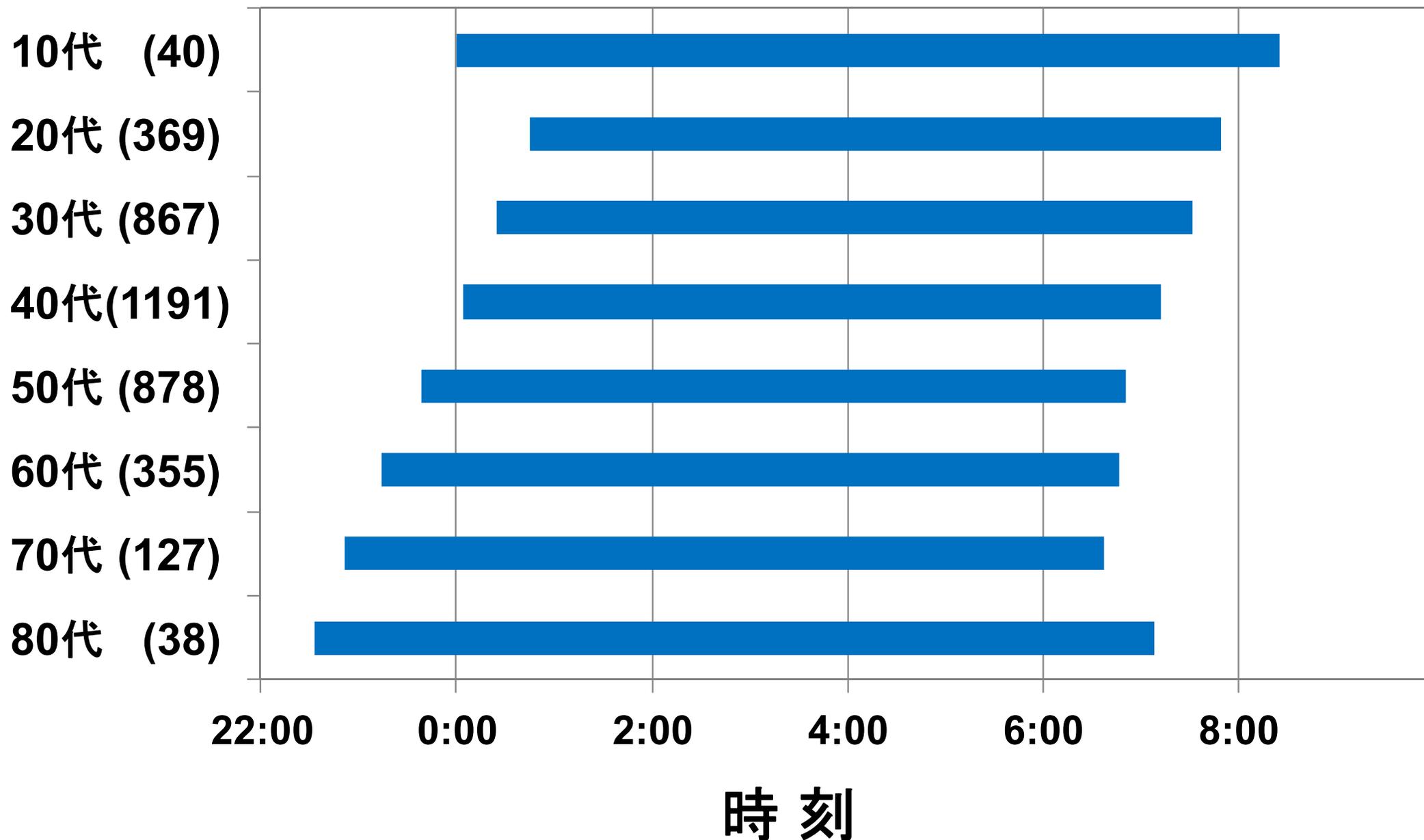
B. 季節変動



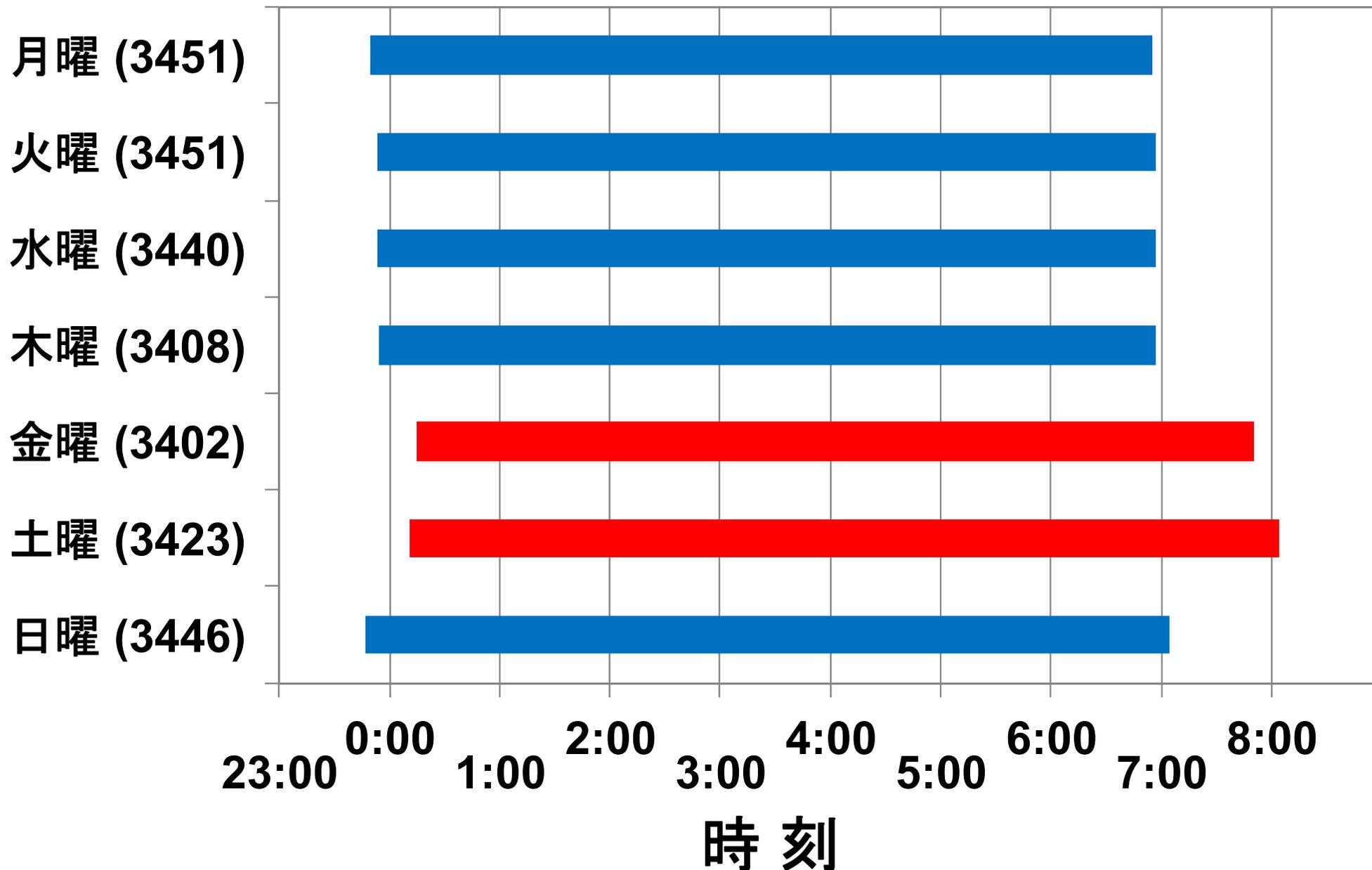
## A. 社会的時差（週内変動）

体内時計が現実の時計とずれること  
平日と週末の起床時刻にずれに、著明に現れる

# 就床時間：年代別に見ると…



# 就床時間: 曜日別に見ると...

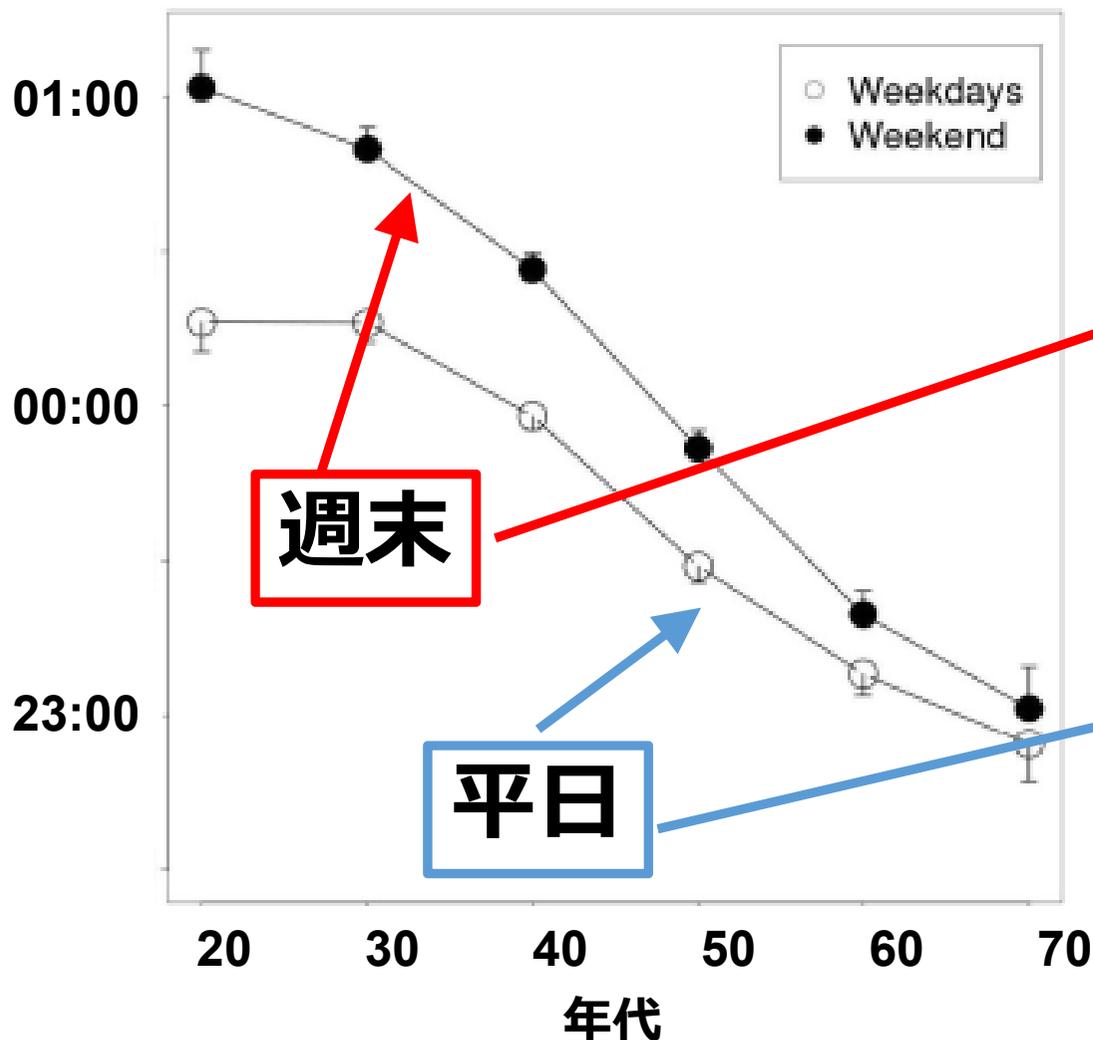


# 社会的時差 = 睡眠時間の週末と平日の差

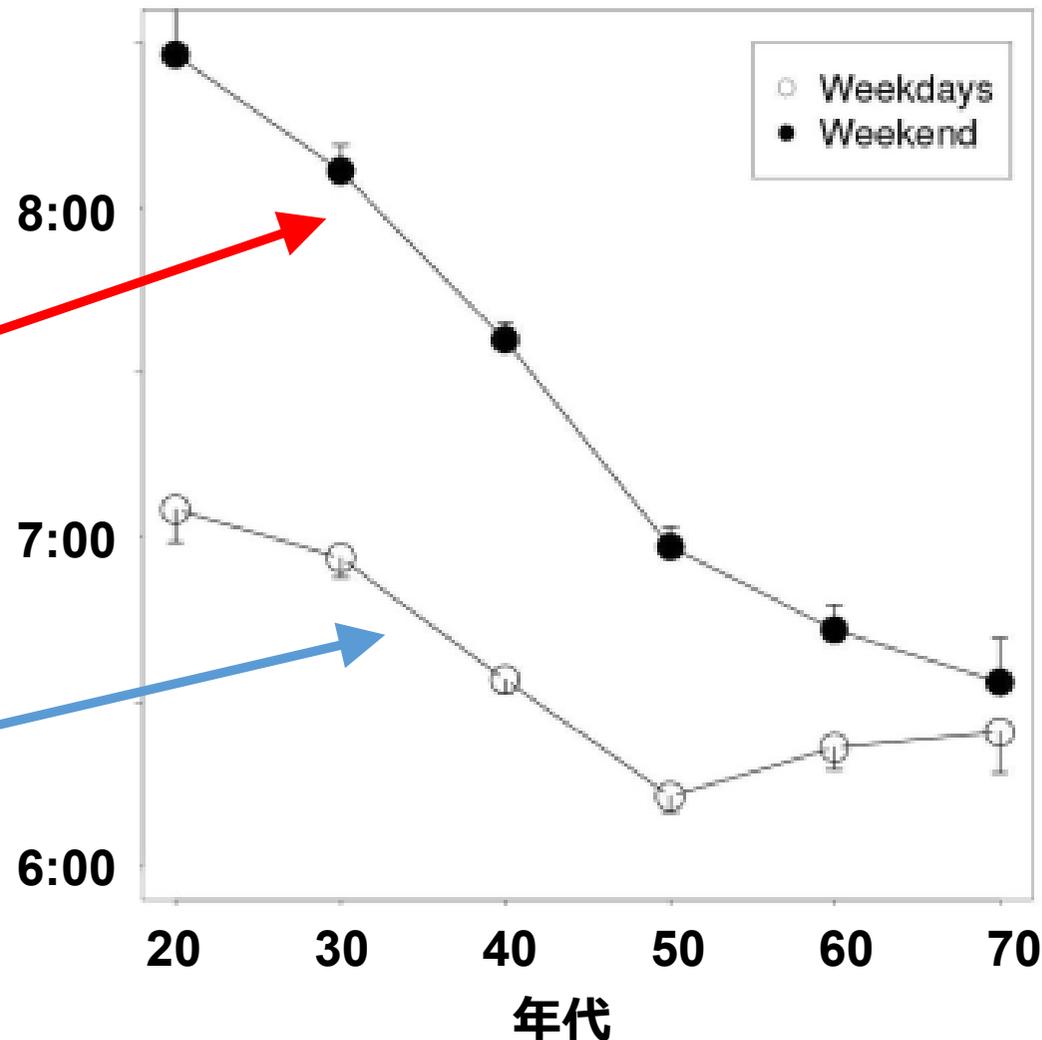
入床・起床時刻の差は、20歳代が最長で漸減。

最も早く起きるのは50歳代

## 入床時刻（上の方が遅い）



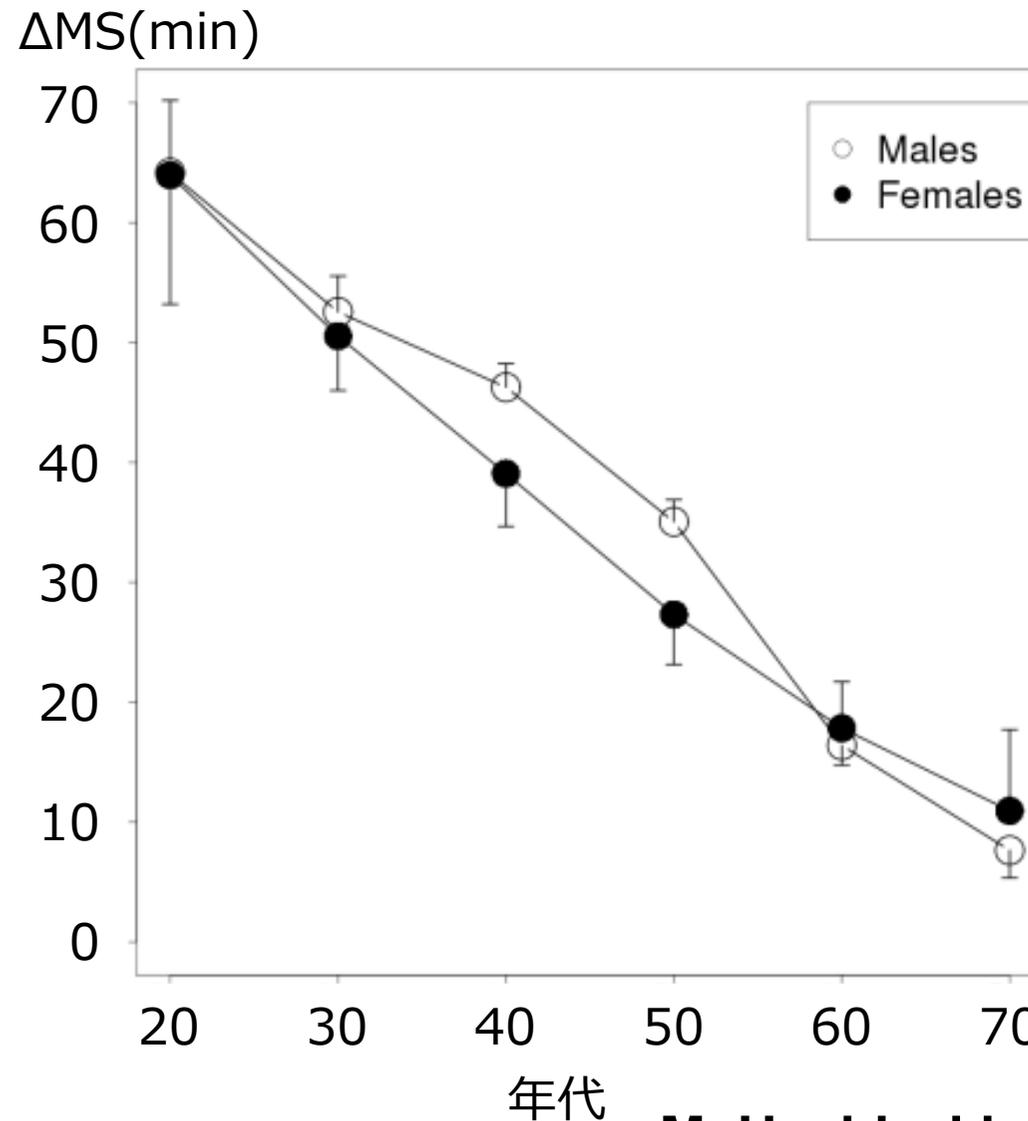
## 起床時刻（上の方が遅い）



# 社会的時差：年代別

20代が最長で、直線的に減少する

睡眠中央時刻の平日と週末の差



## **B. 睡眠の季節変動**

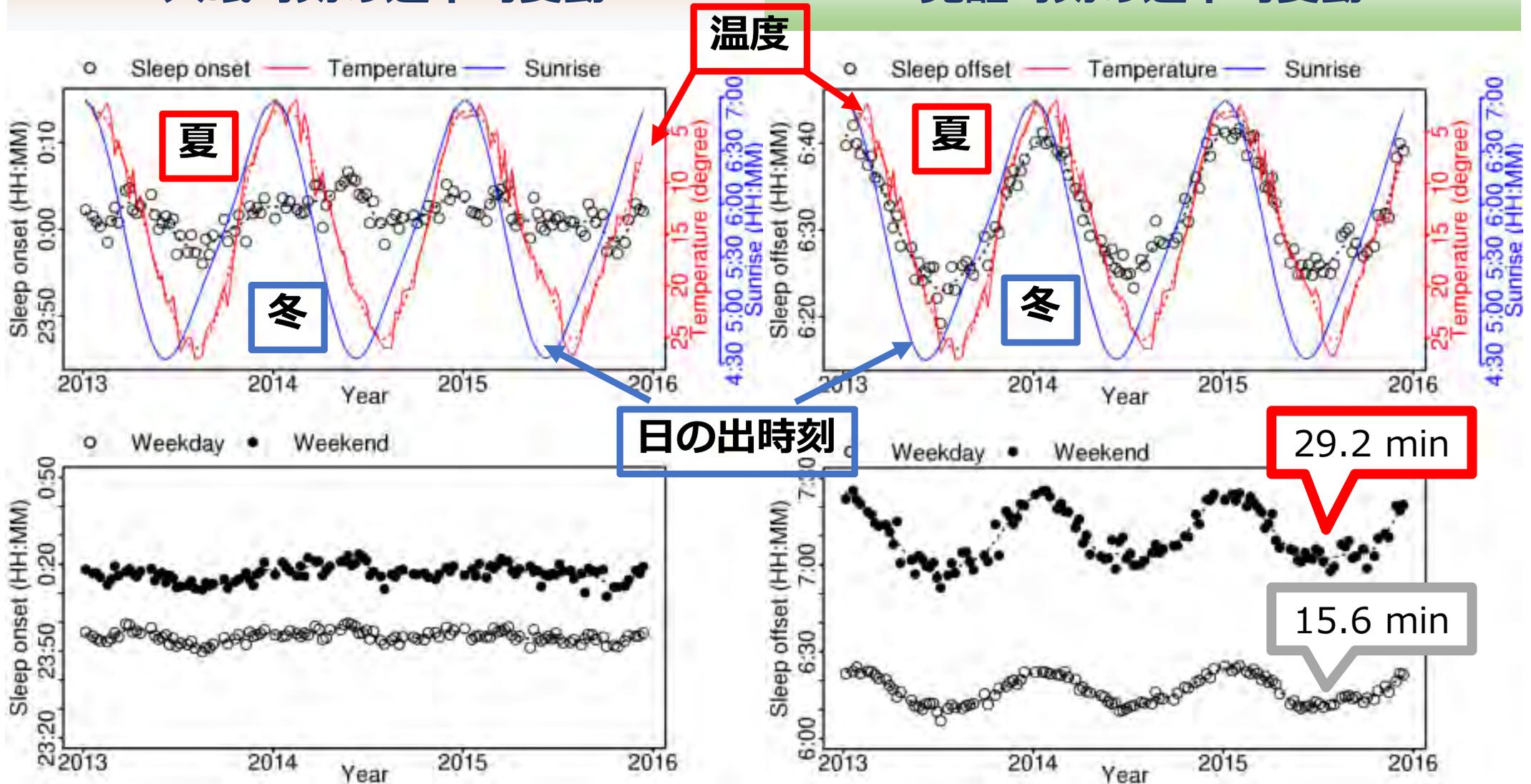
**「春眠暁を覚えず」の理由**

# 季節変動：入眠・覚醒時刻

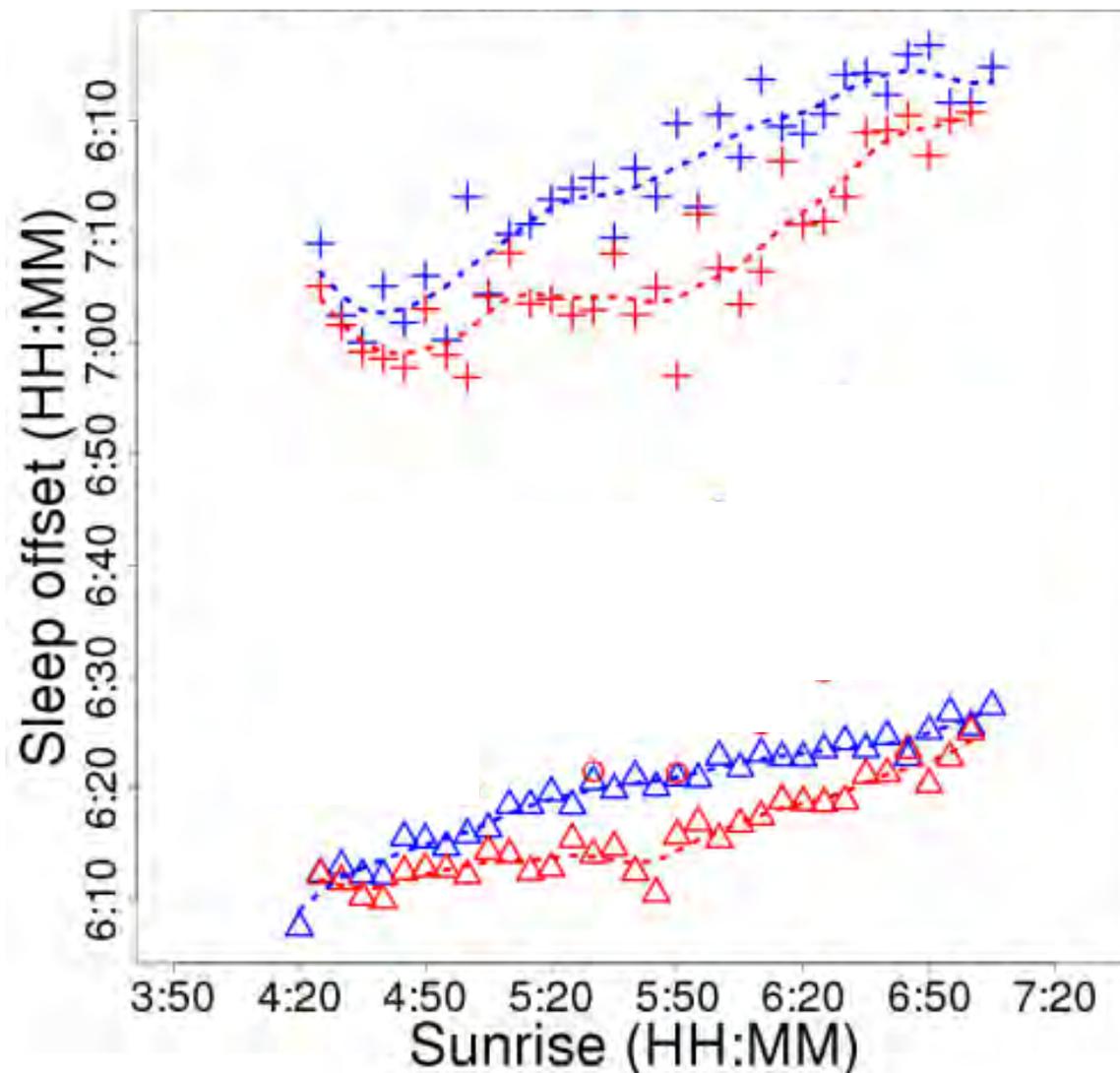
寝入り時刻より目覚め時刻の方が季節変動が大きい

入眠時刻の週平均変動

覚醒時刻の週平均変動



# 日の出時刻と覚醒時刻の関係



△ : 平日  
+ : 週末

赤 : 夏至~冬至 (気温高)

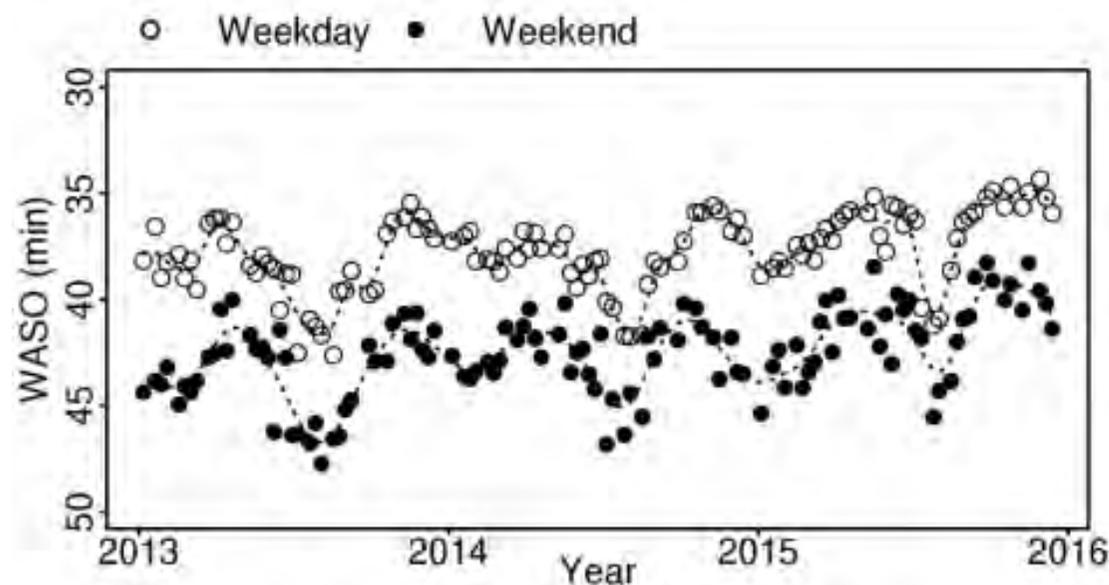
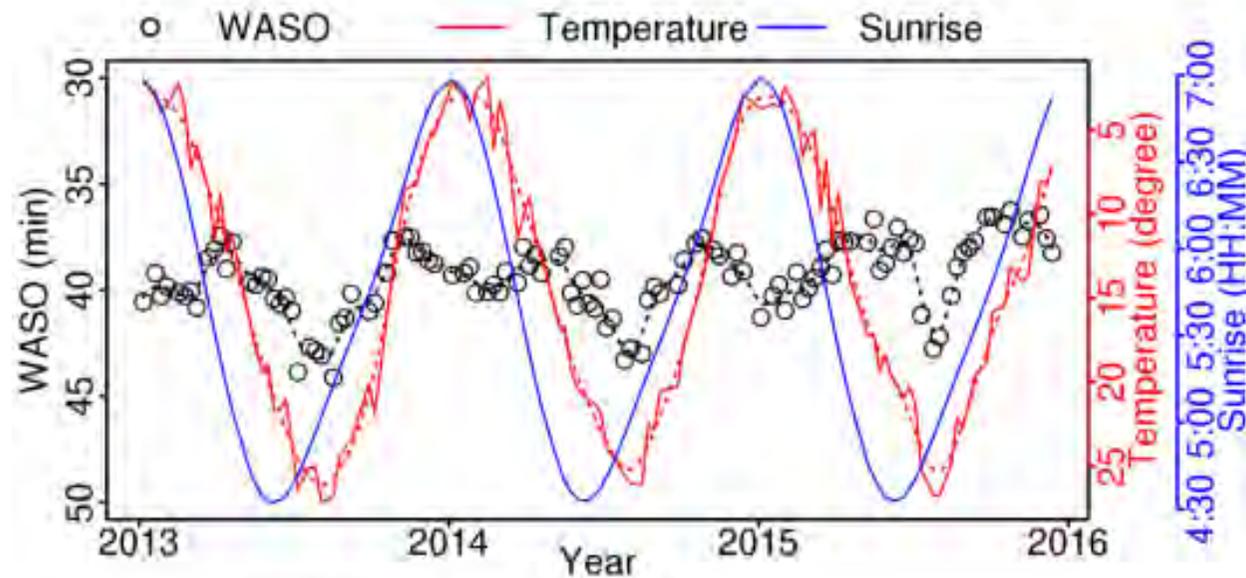
青 : 冬至~夏至 (気温低)

光刺激のみによって睡眠のタイミングが決まっているなら青と赤のラインは重なるはず

# 睡眠の質：気温に依存した季節変動

気温の最高点と最低点で、年に2回のピークがある

## 総中途覚醒時間の週平均変動

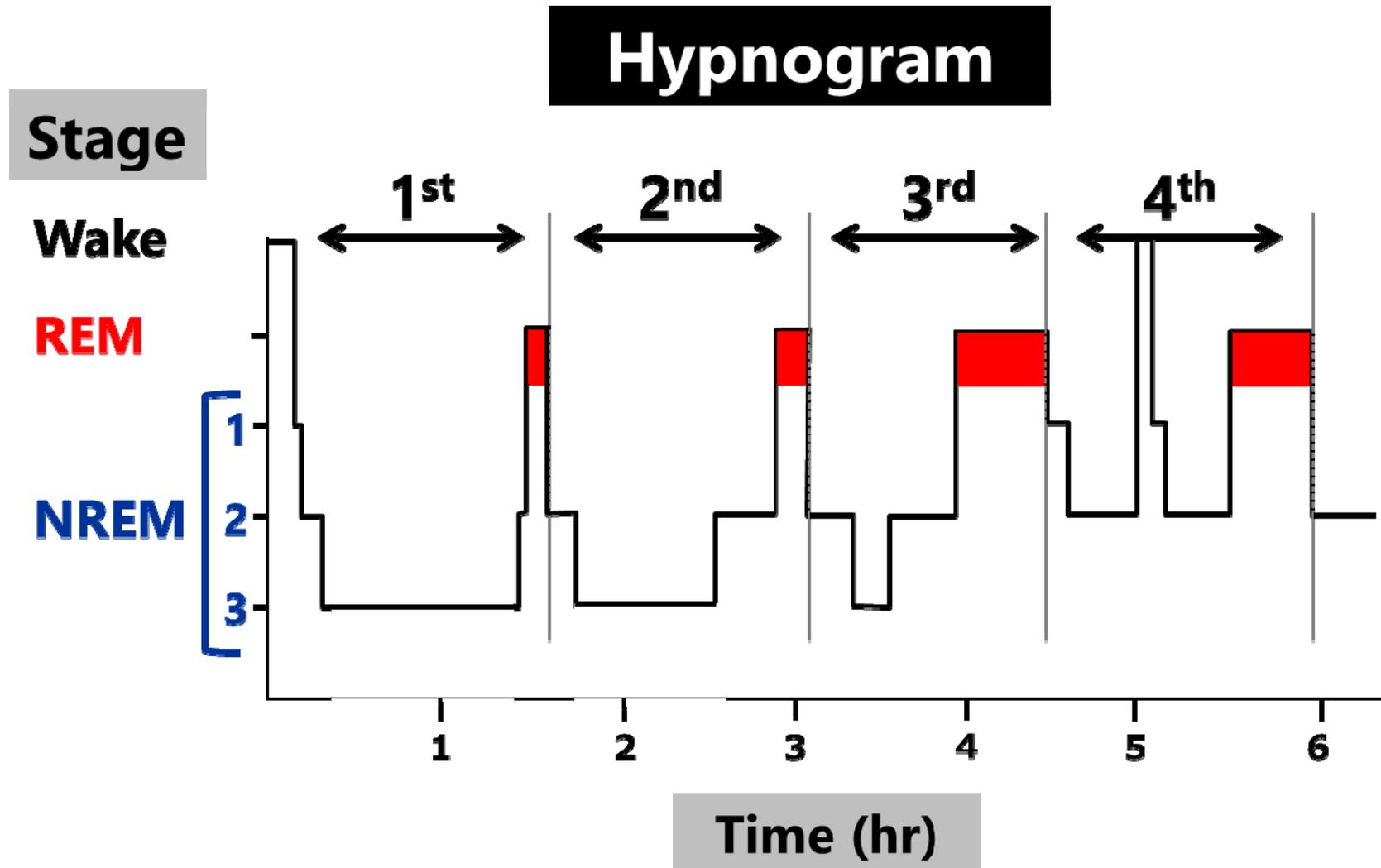


# 日本人の睡眠：疫学研究のまとめ

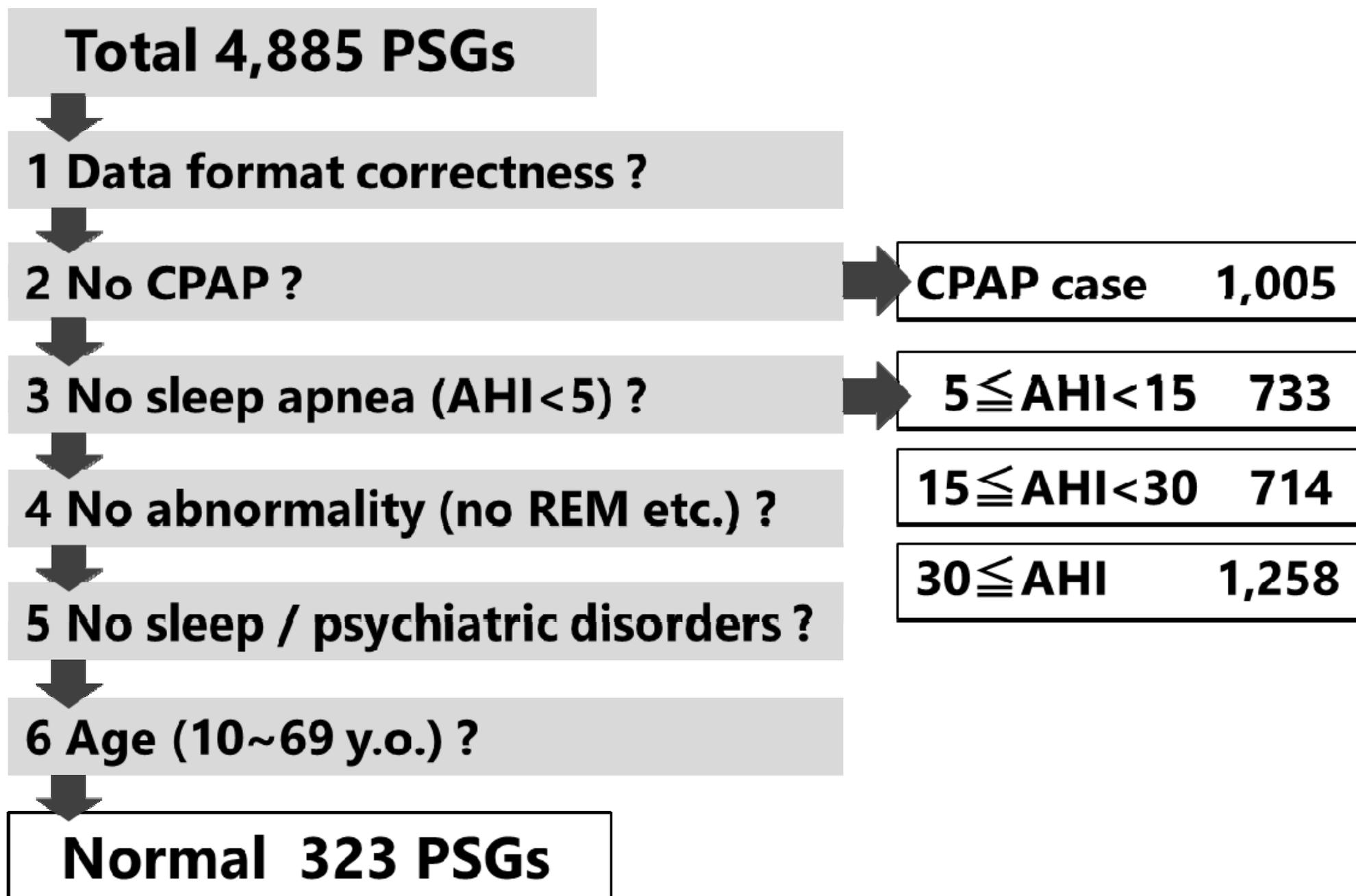
- **平均睡眠時間は、世界最短レベル**  
→週末を含めた客観データで証明
- **特に40~50代の働き盛りは短い**
- **若いほど、入眠時間・起床時間が遅い**  
→定年の年齢まで、年齢に線形相関
- **社会的時差：週末は、夜更かし・寝坊**
- **季節変動：休日の起床時間に大きく影響。**  
冬は夏より30分近く遅くなる  
入眠時刻は、季節変動が小さい

# 臨床データ解析

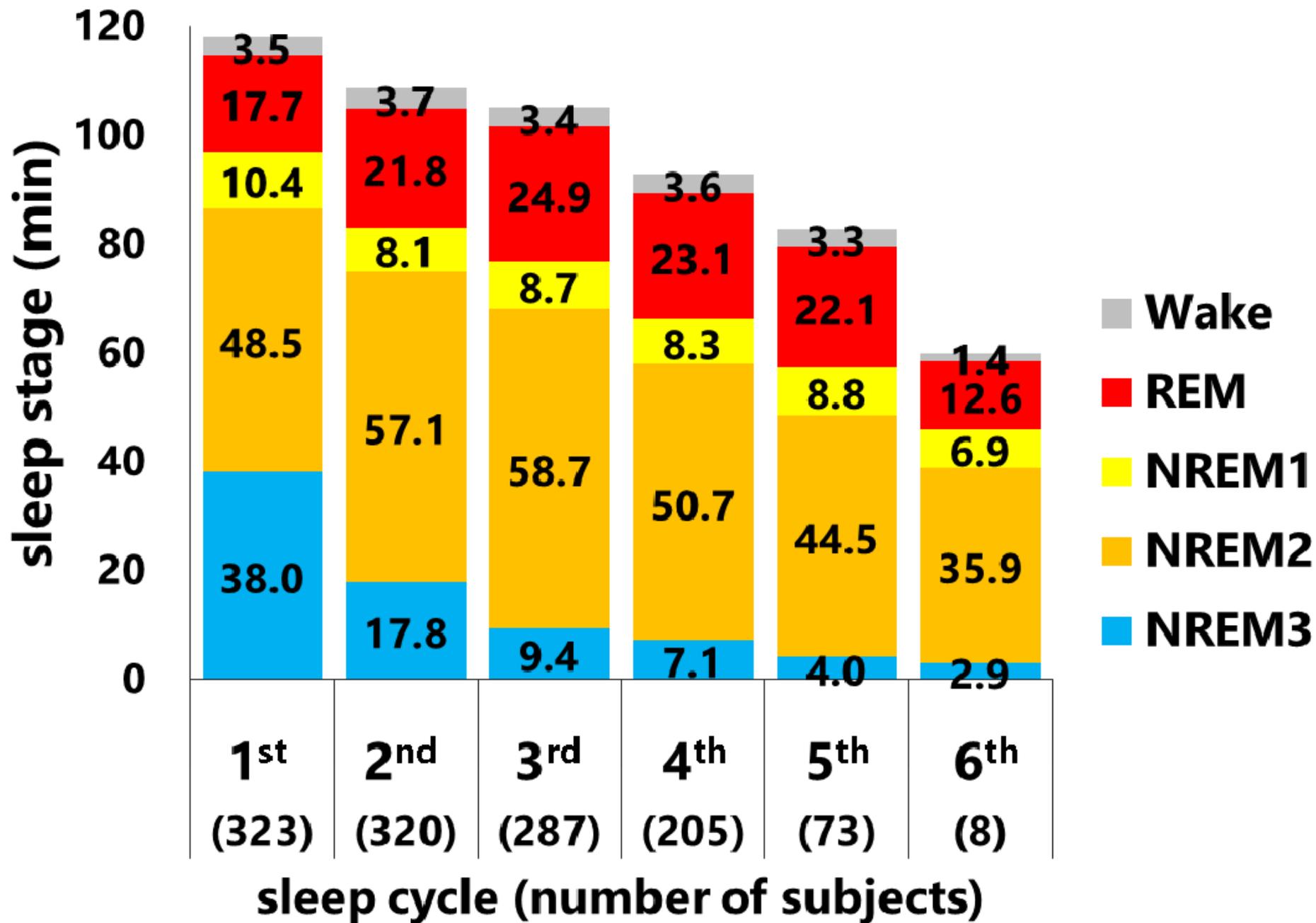
# Stereotypical Sleep



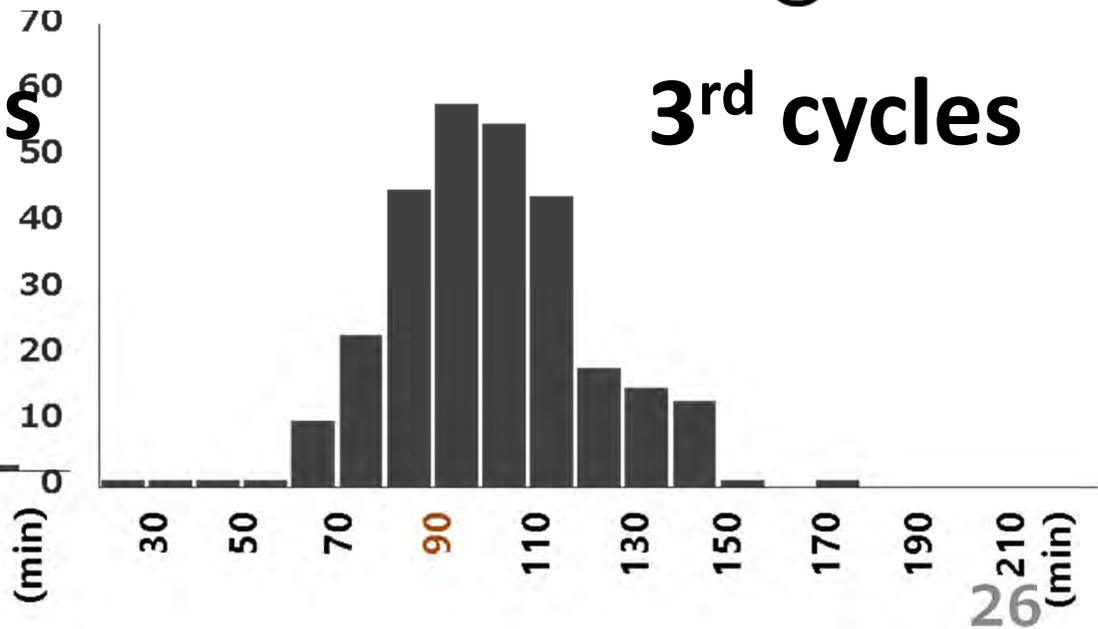
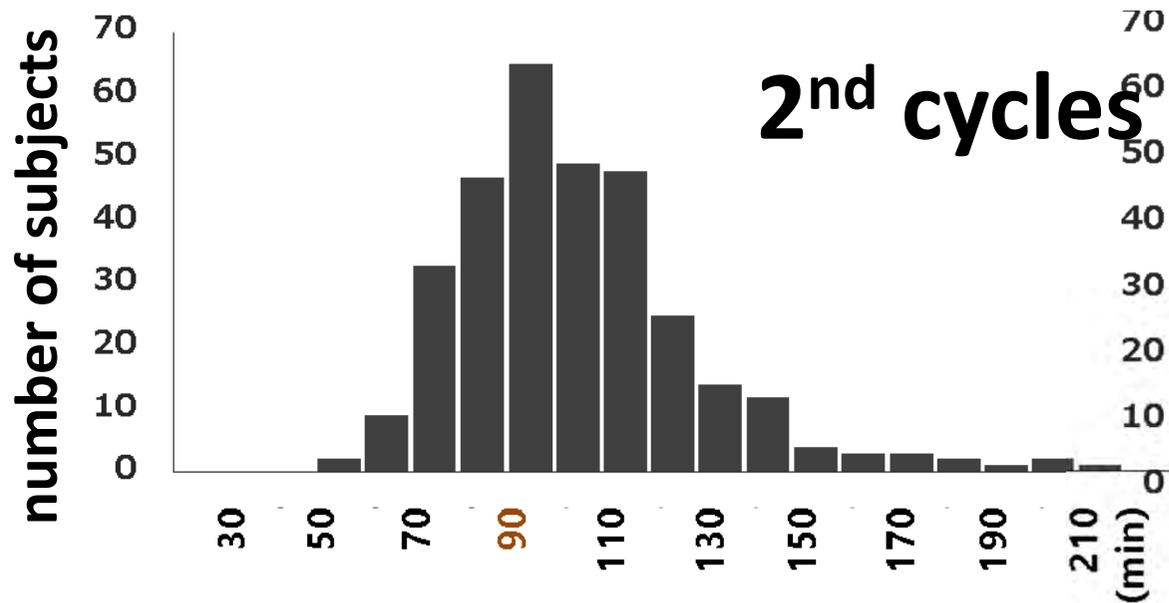
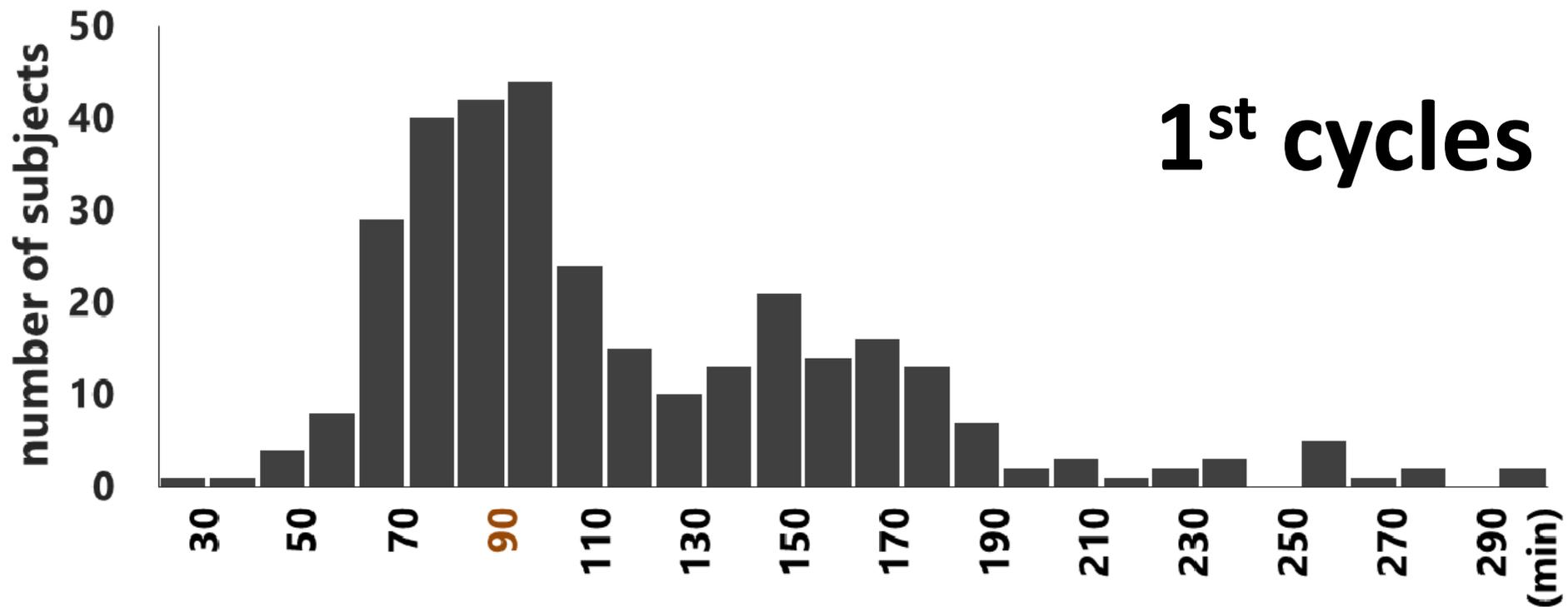
# くわみず病院のPSGデータ分類



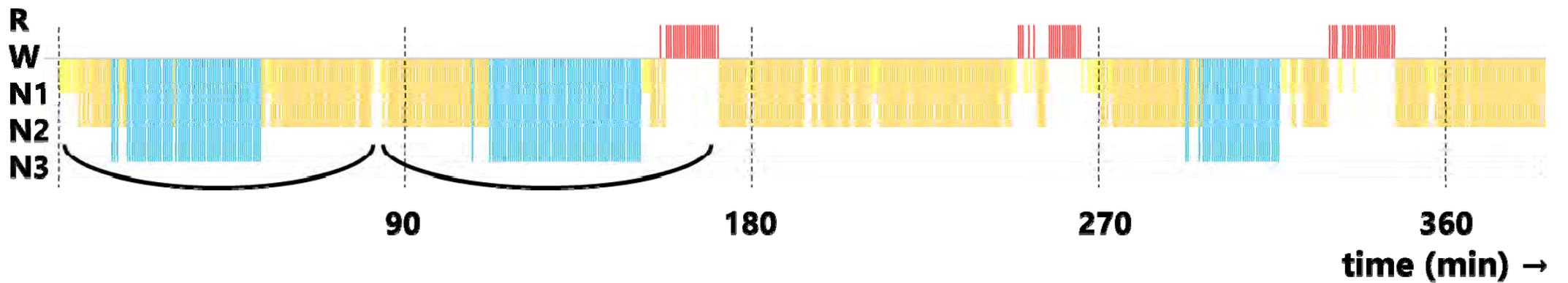
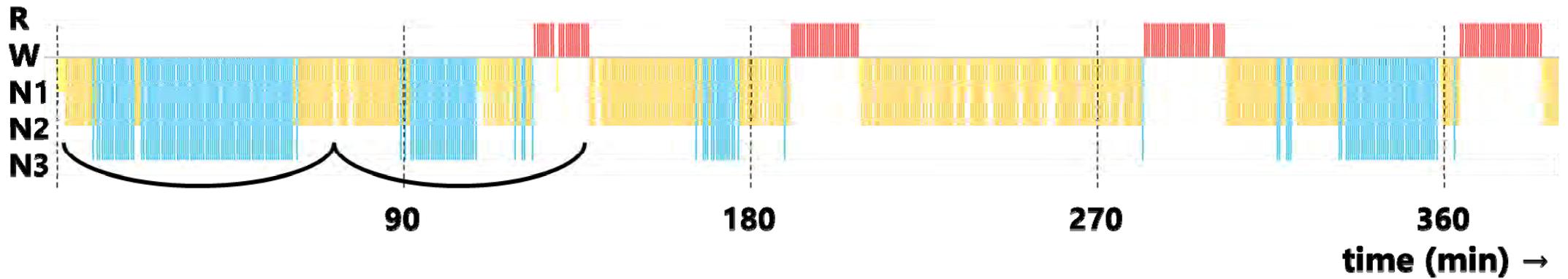
# 全部を平均すると...



# サイクルごとのヒストグラム

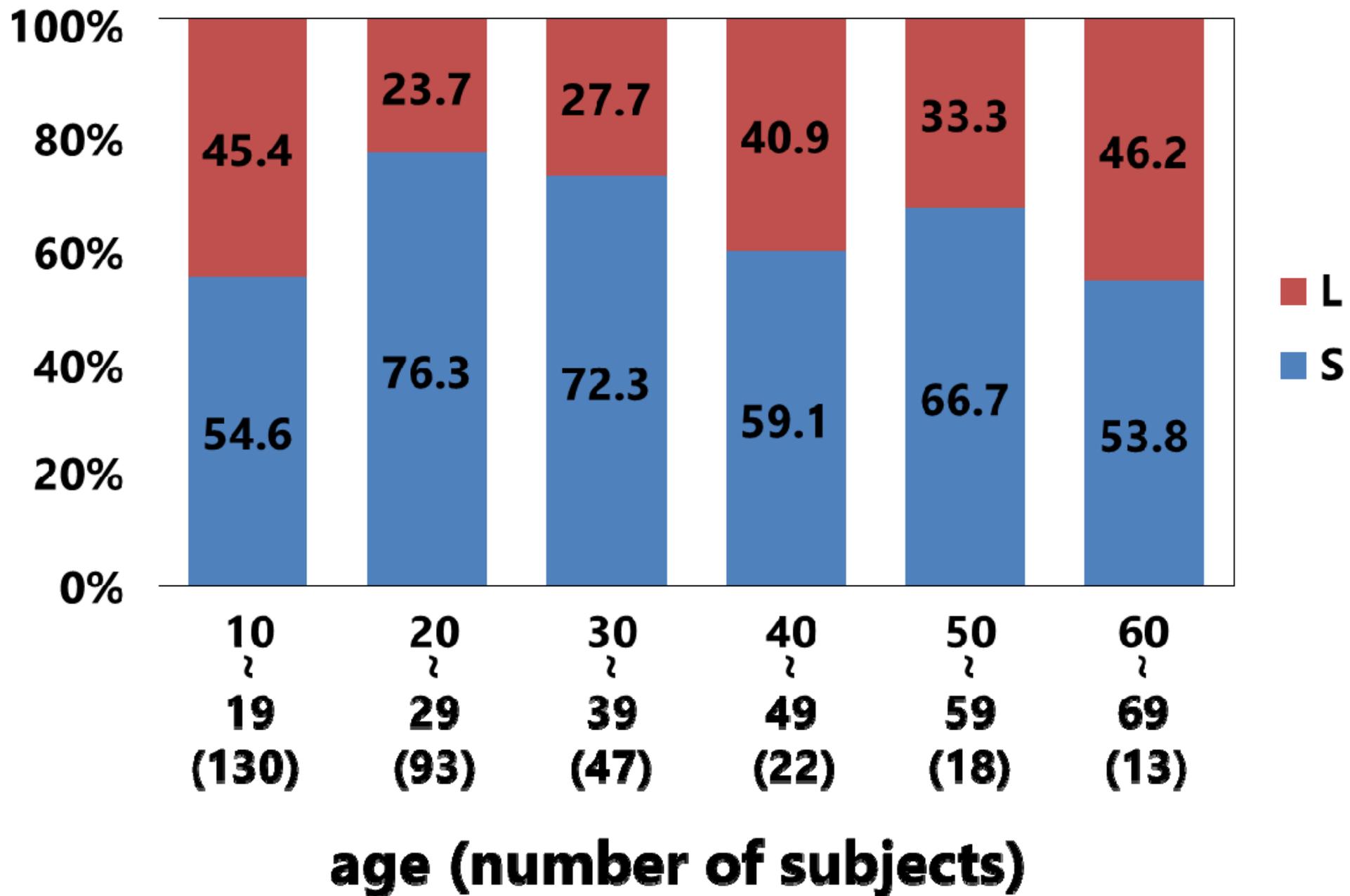


# 第1サイクルの長いヒプノグラム

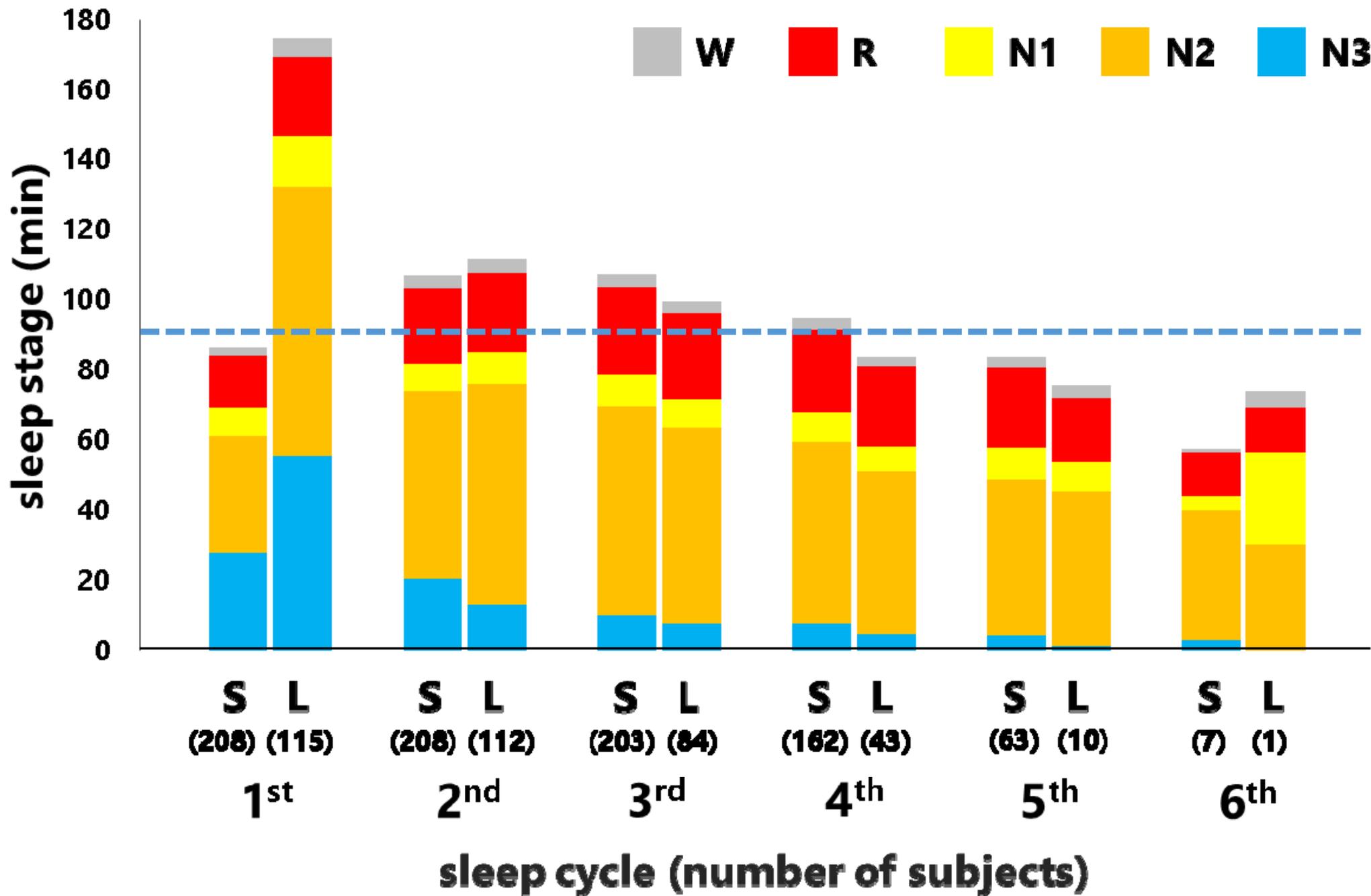


**First REM skip : 若年者に時々見られる**

# 年齢によらず、かなり多い

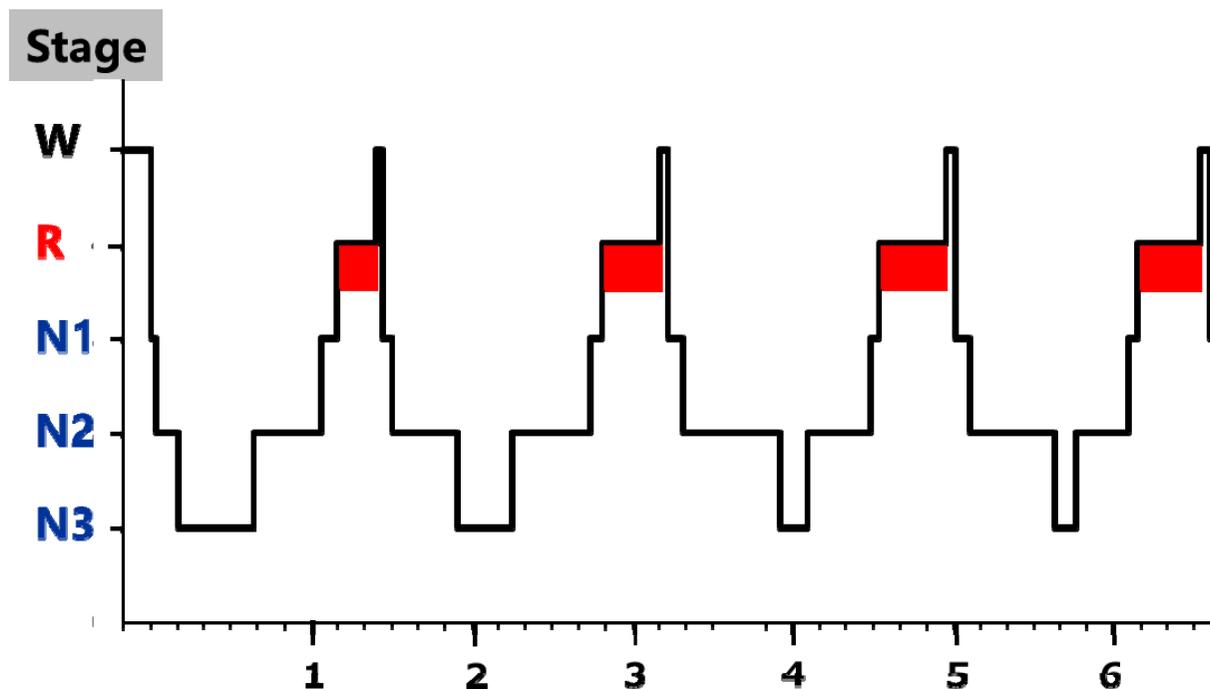


# 第1サイクルの長さで 2群に分類

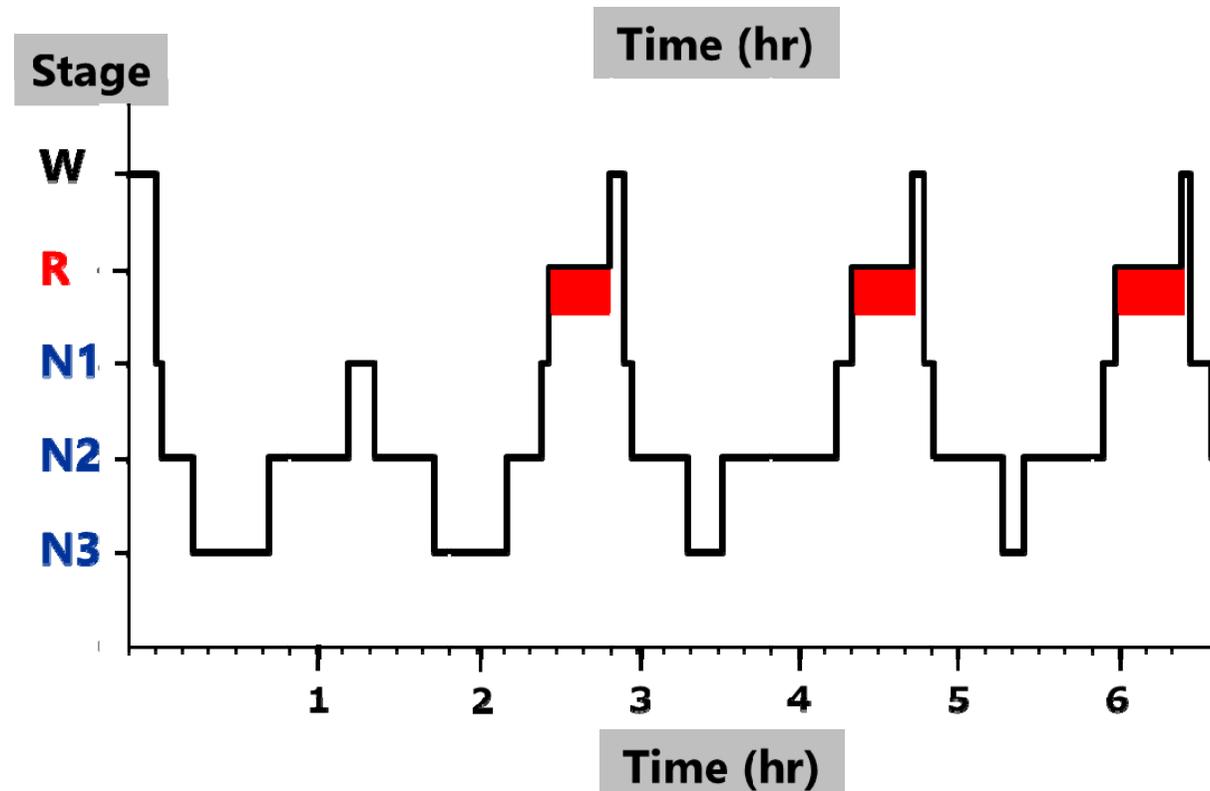


# 平均的なヒブノグラムの提案

S group



L group



# 睡眠サイクル解析：まとめ

- PSGデータの単純平均では、第1サイクルが最長で、徐々に短くなる
- 第1サイクルの分布は二峰性で、長いものは、最初のレムがスキップされていると考えられる
- 第1サイクルが120分以下のS群では、第1サイクルの平均長80分で、第2,3が少し長い。
- 第2サイクルが120分以上のL群は、第1サイクル以外の長さは、S群とほぼ同じである。
- いずれの群でも、90分の倍数が必ずしも浅い睡眠と一致するわけではない。

# 睡眠の量的制御機構

## 恒常性維持と概日周期 二過程モデル

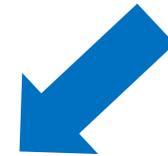
# 睡眠の制御：睡眠負債と概日周期

**1. 恒常性維持機構**  
睡眠量の維持

**2. 概日周期機構**  
睡眠相の位相

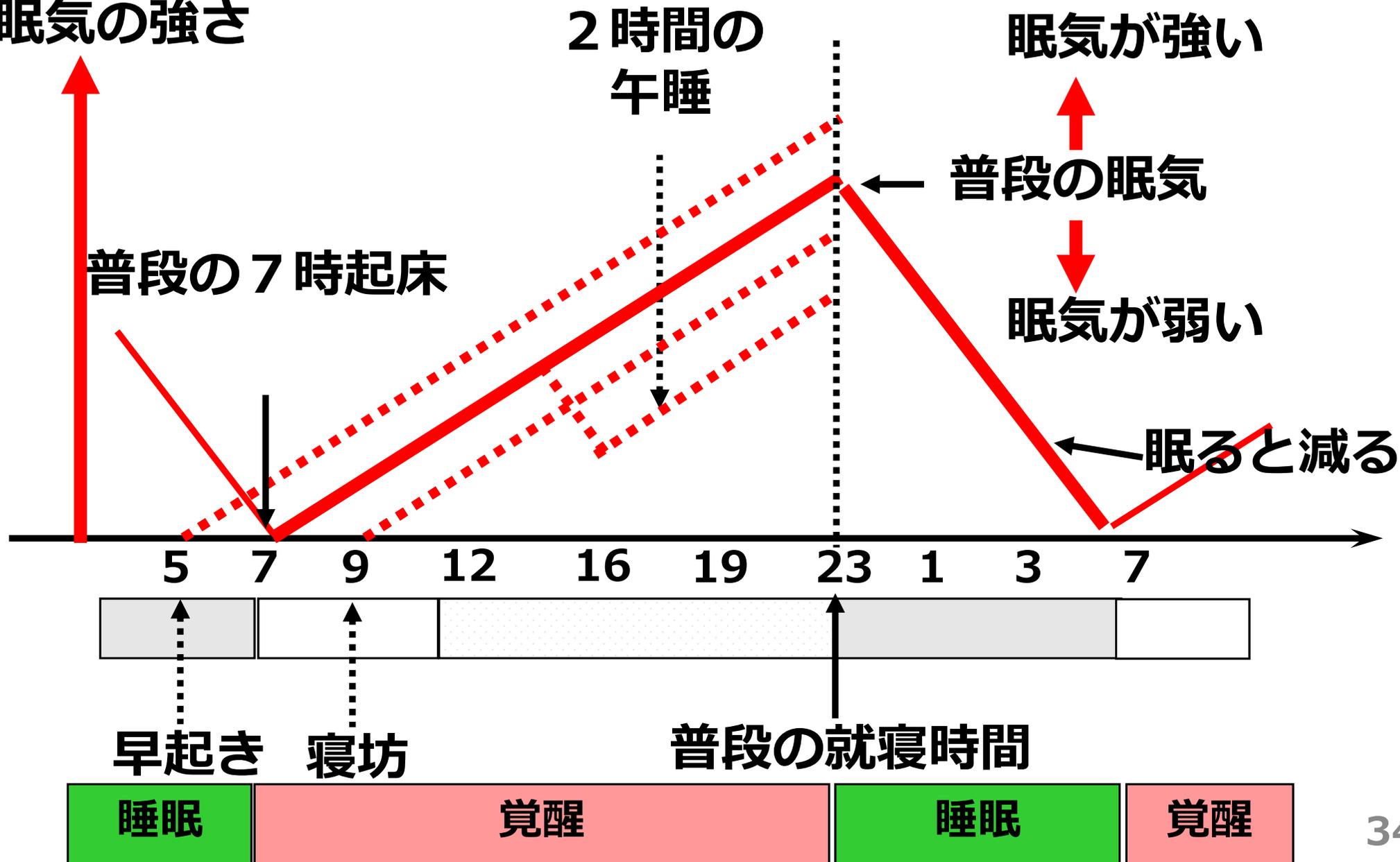
**睡眠制御**

**3. 情動機構**  
覚醒閾値の制御



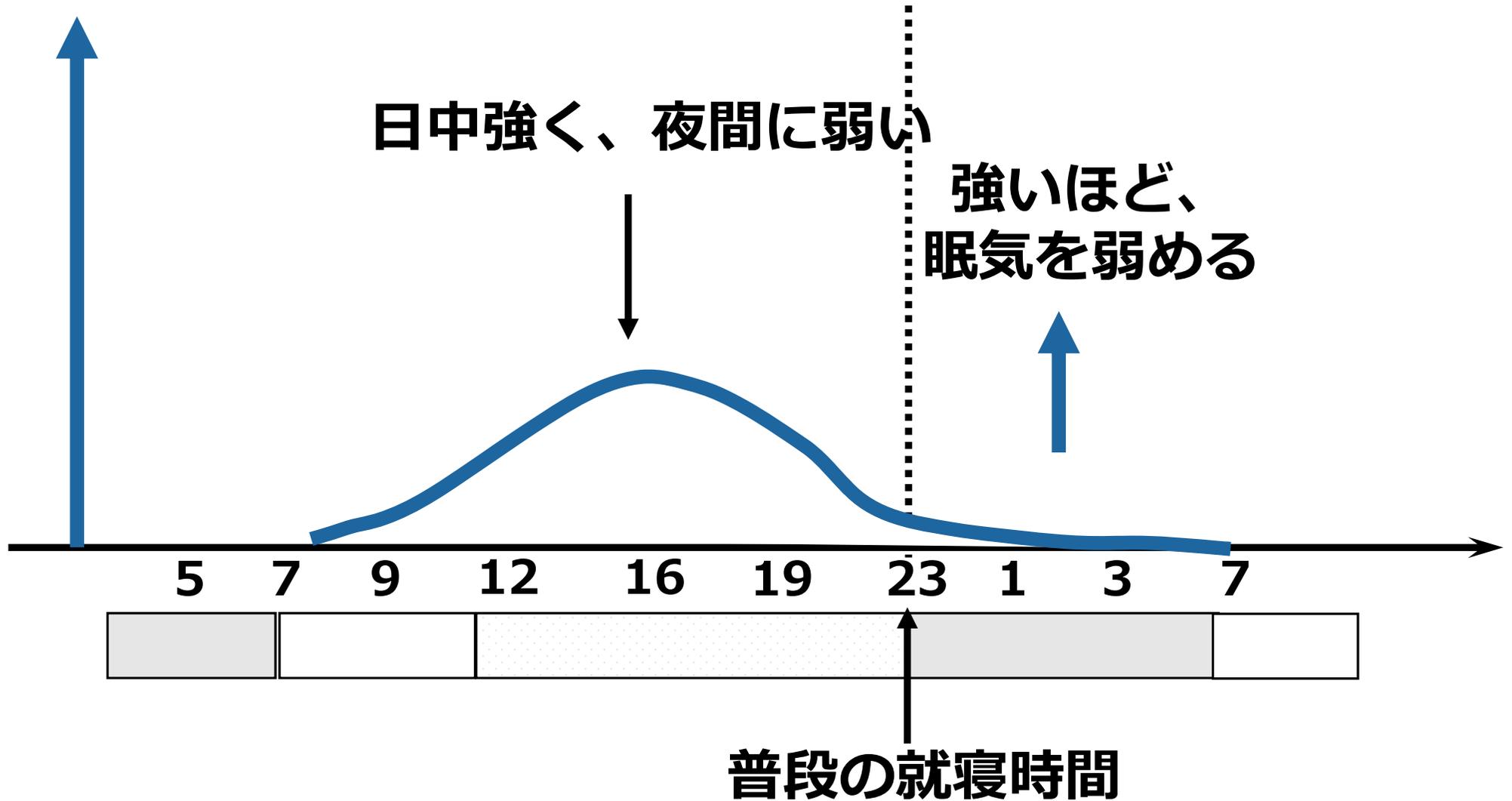
# 睡眠の恒常性維持機構

睡眠負債による  
眠気の強さ



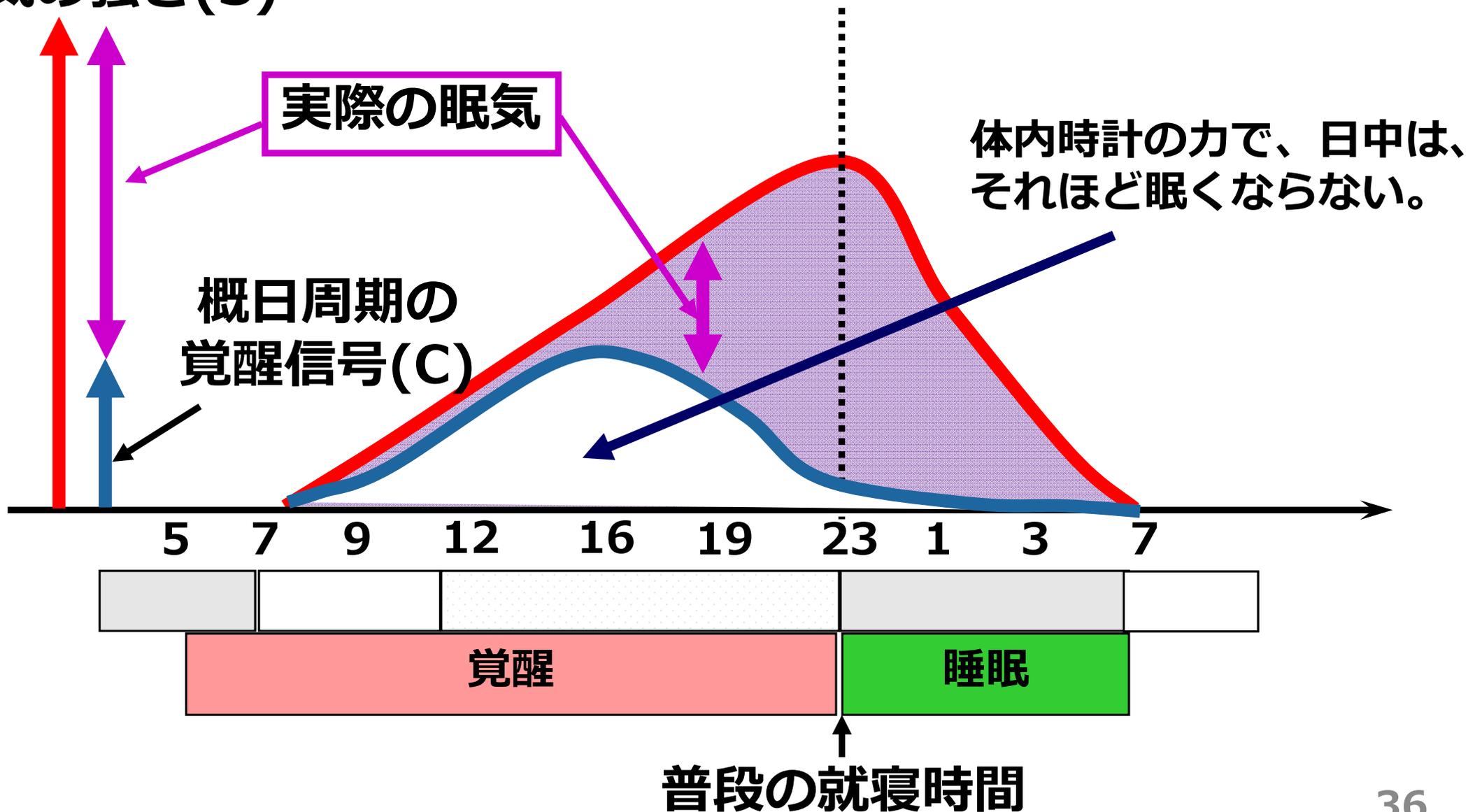
# 概日周期生物時計による覚醒作用

覚醒作用の強さ



# 二つの要素を合わせたモデル

睡眠負債による  
眠気の強さ(S)

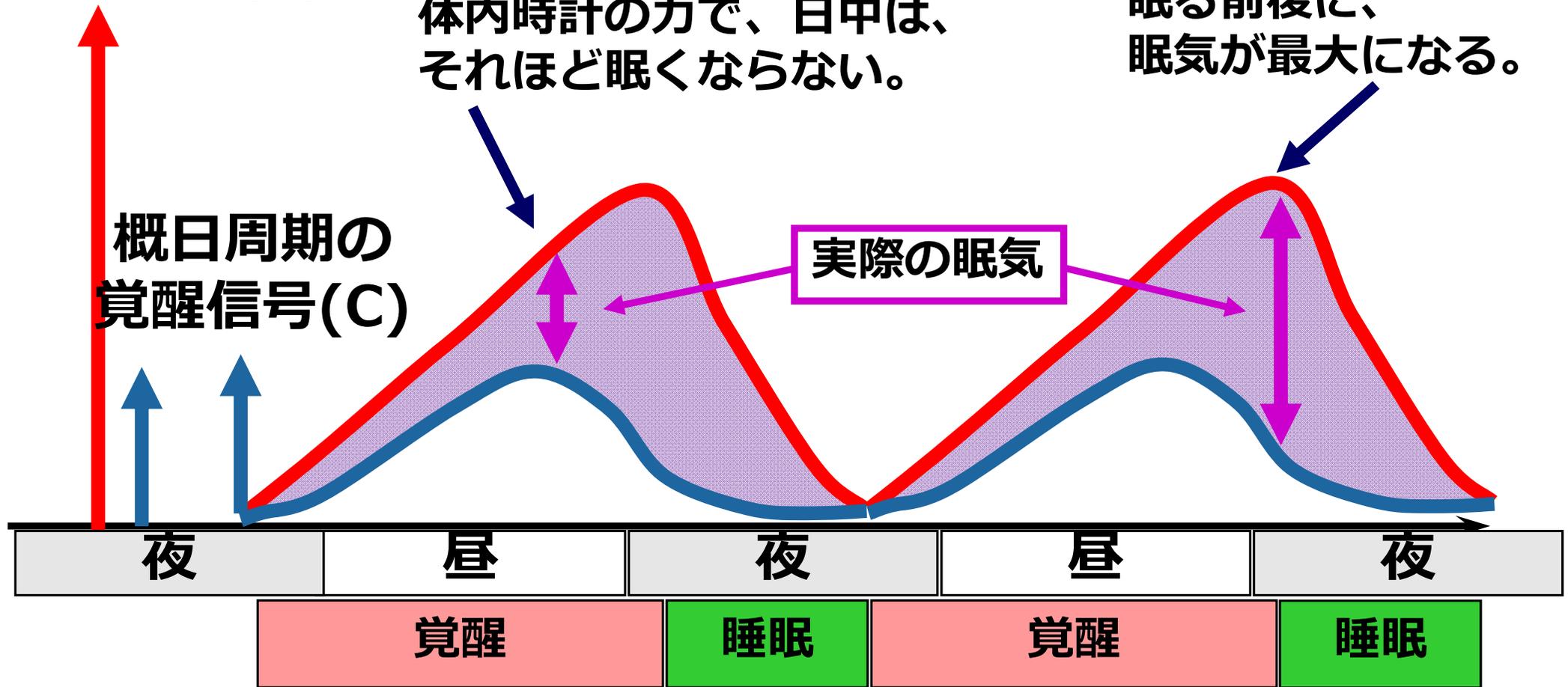


# 簡易型 二過程モデル

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。

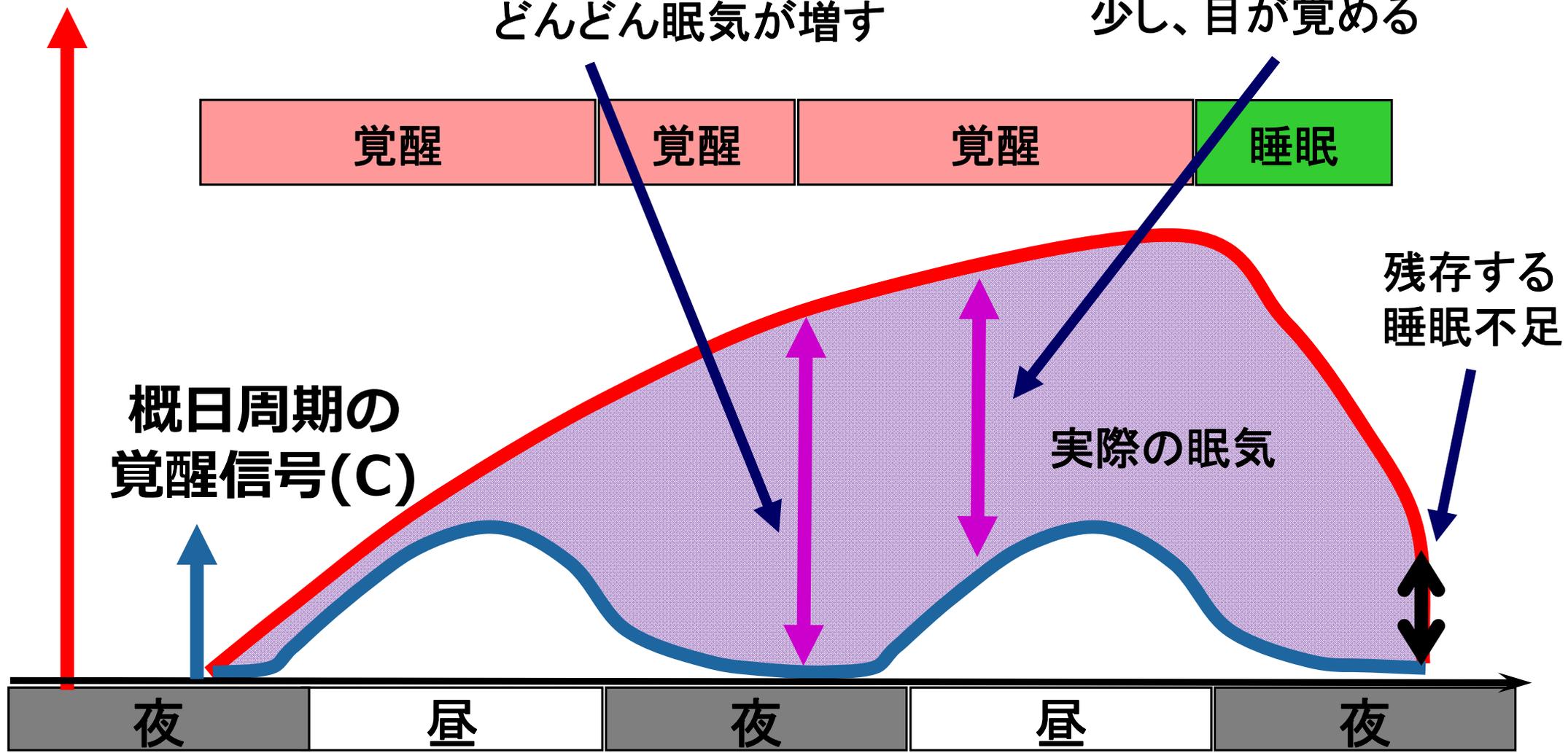


# 徹夜明けに、すっきりする理由

睡眠負債による  
眠気の強さ(S)

眠らないため、夜は、  
どんどん眠気が増す

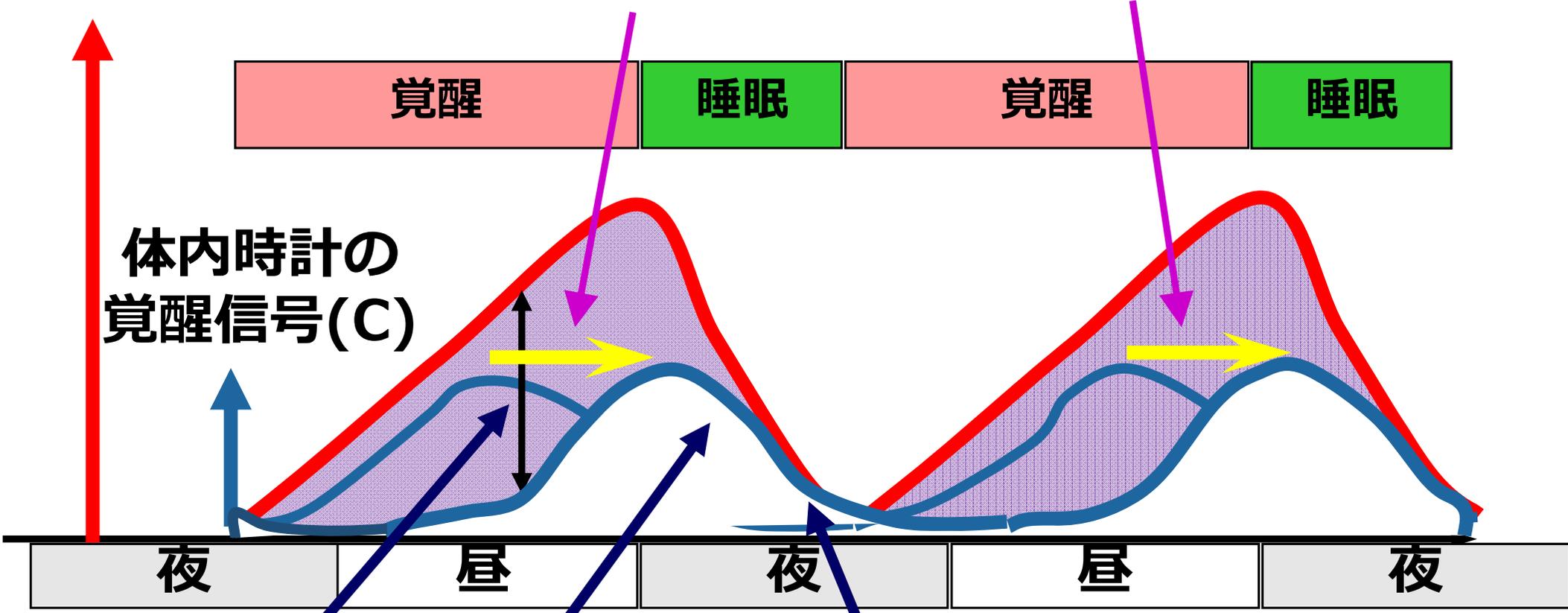
体内時計が朝になると、  
少し、目が覚める



# 体内時計のずれ = 時差ぼけ jet lag

睡眠負債による  
眠気の強さ(S)

時差で体内時計がずれる



体内時計の  
覚醒信号(C)

覚醒

睡眠

覚醒

睡眠

夜

昼

夜

昼

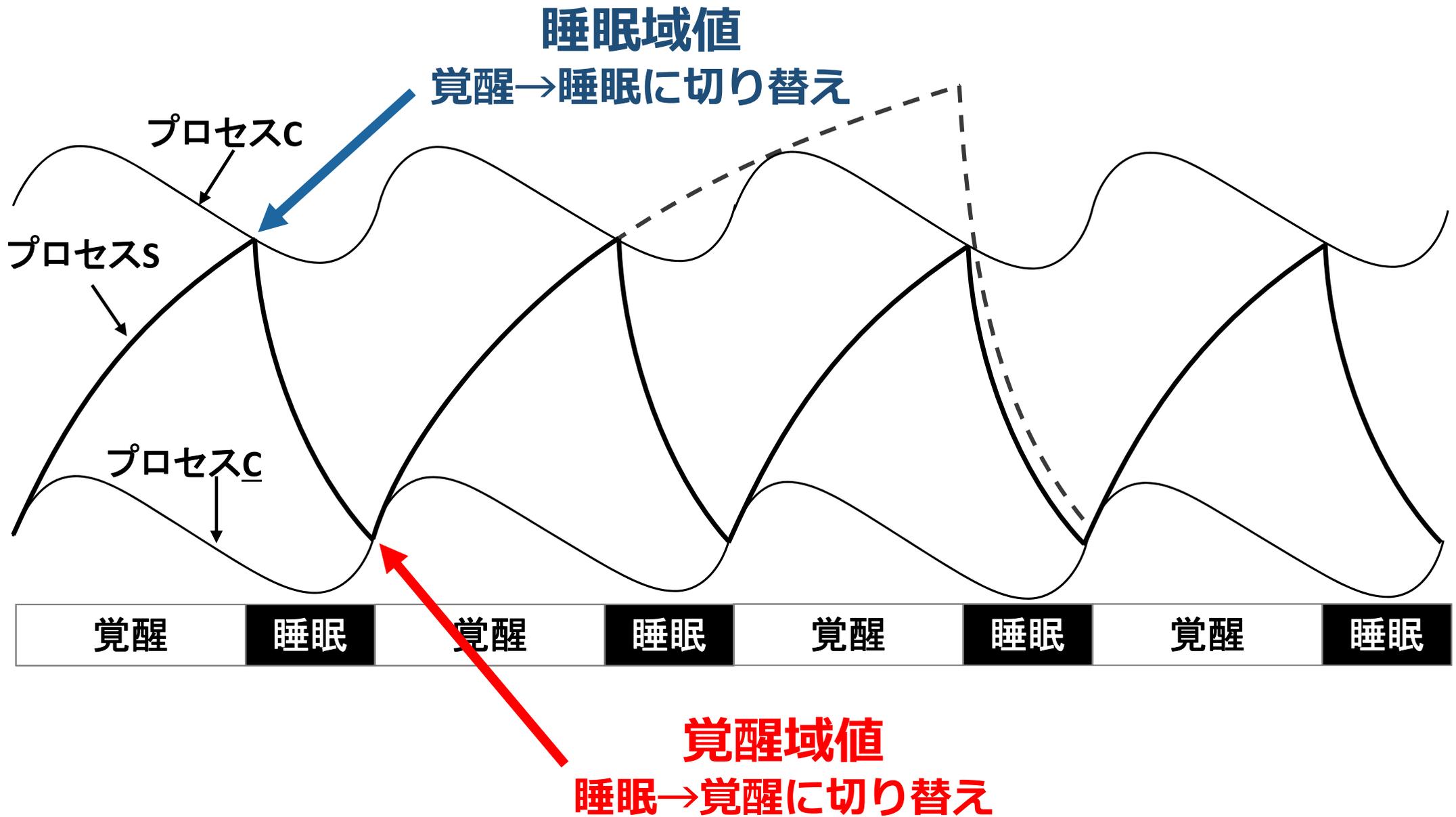
夜

昼の眠気が  
ひどくなる

夜の眠気が弱く、  
深く眠れない

早朝に目が覚めてしまう

# Two Process Model (Borbely, 1982)



# より複雑な眠気の波 (睡眠禁止帯)

眠気の強さ

夜の眠気の谷  
= 睡眠禁止帯



深夜

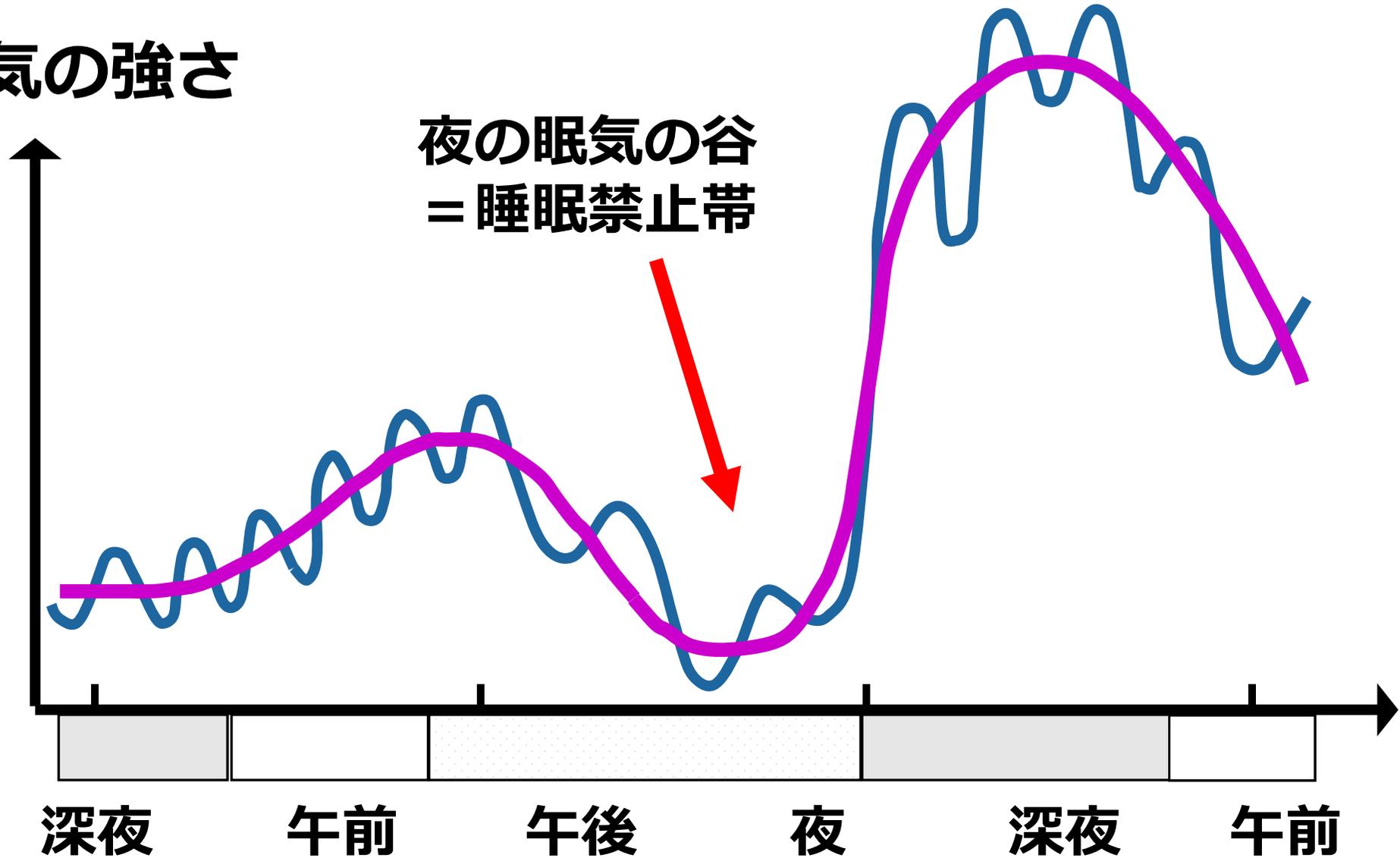
午前

午後

夜

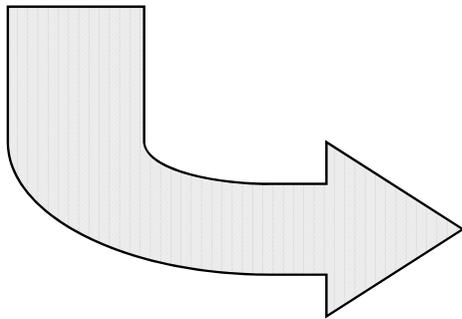
深夜

午前



# 二過程モデル = 2種類の独立制御系

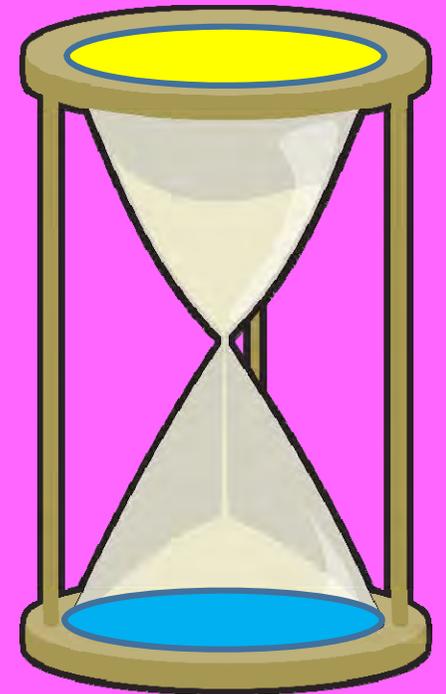
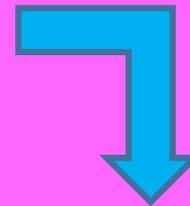
## 概日周期機構



## 恒常性維持機構

覚醒

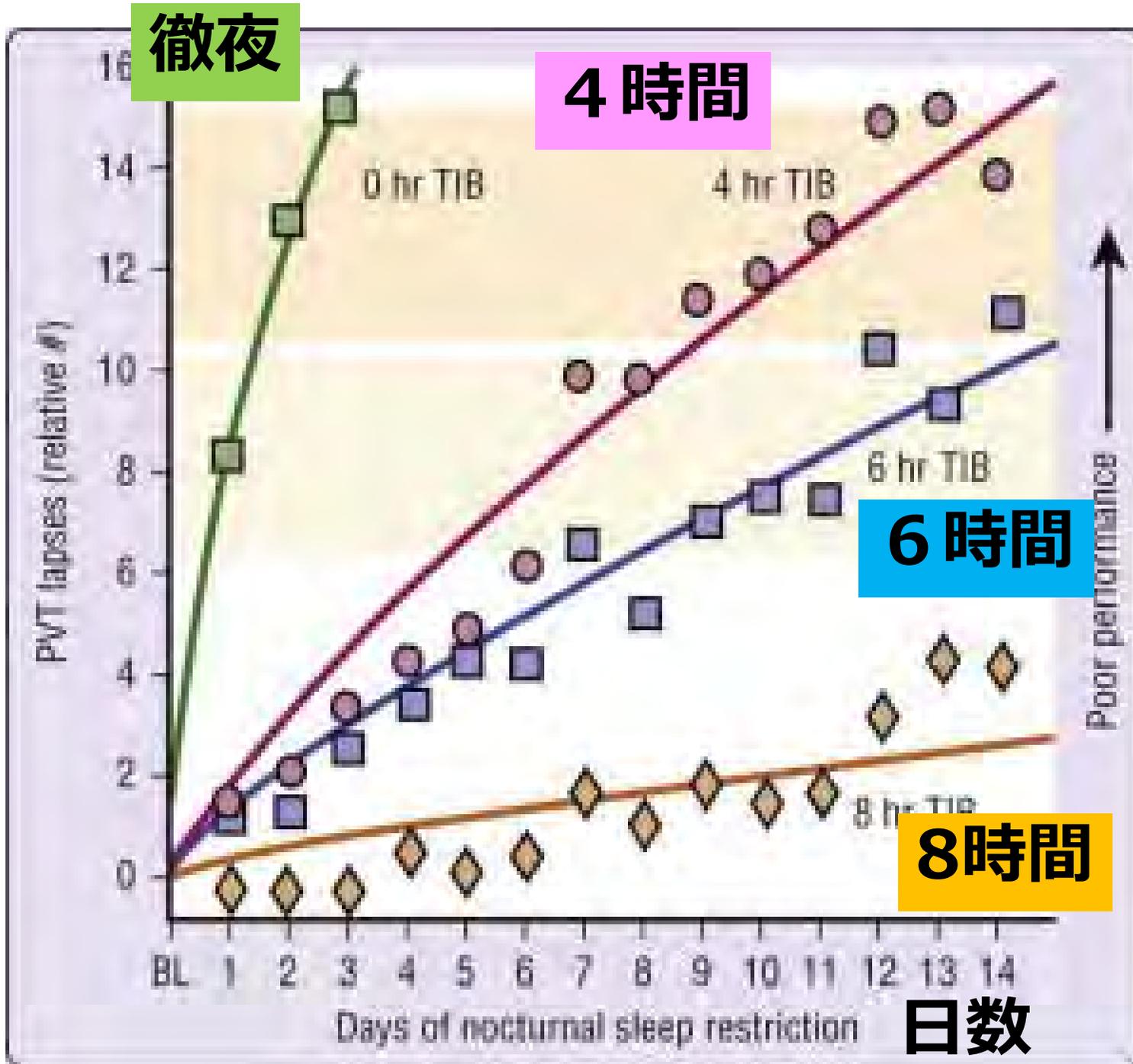
睡眠



# 睡眠負債（恒常性維持機構）

# 慢性睡眠不足（睡眠負債）

睡眠負債の蓄積

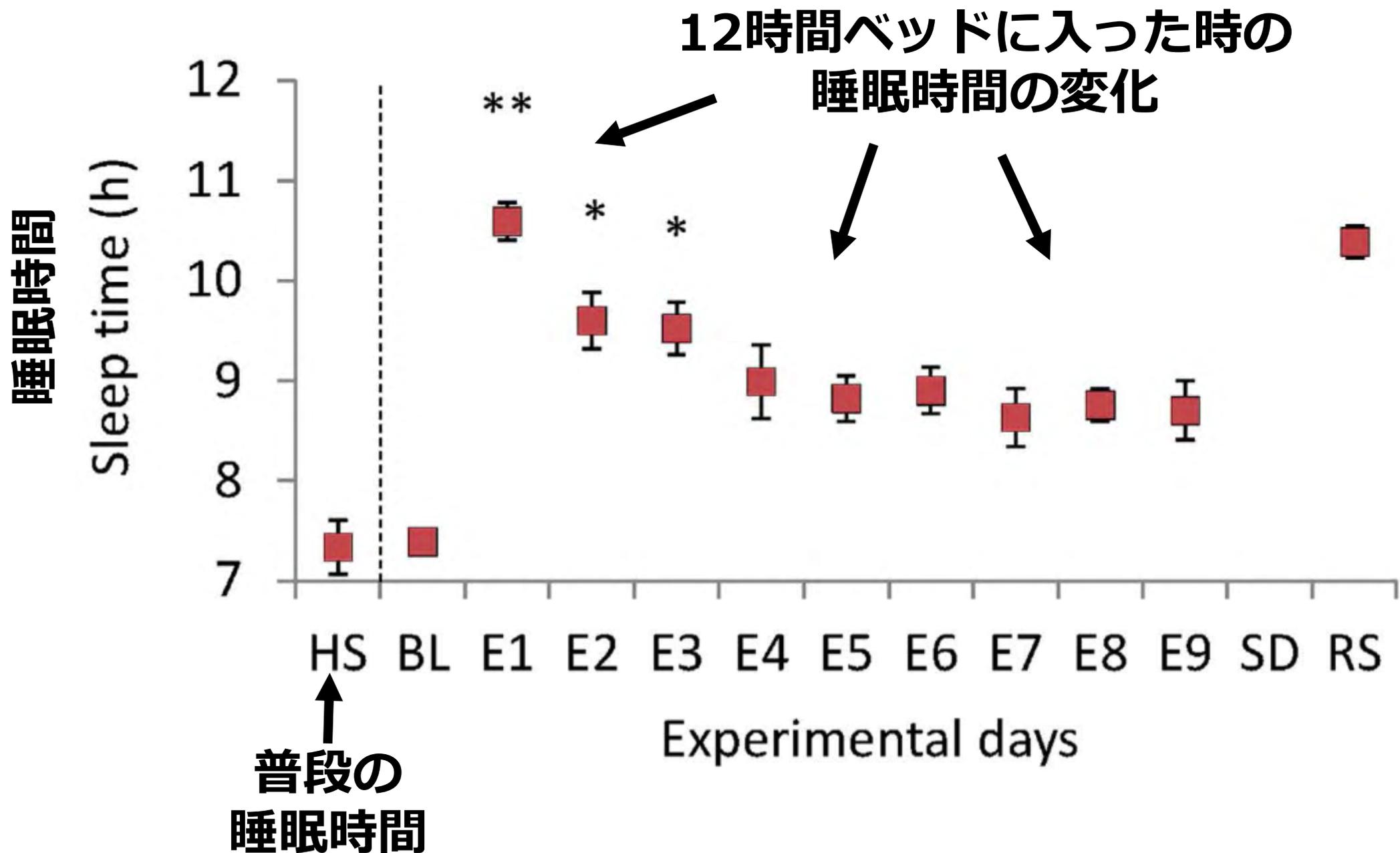


Differences among conditions  
 $P = .036$

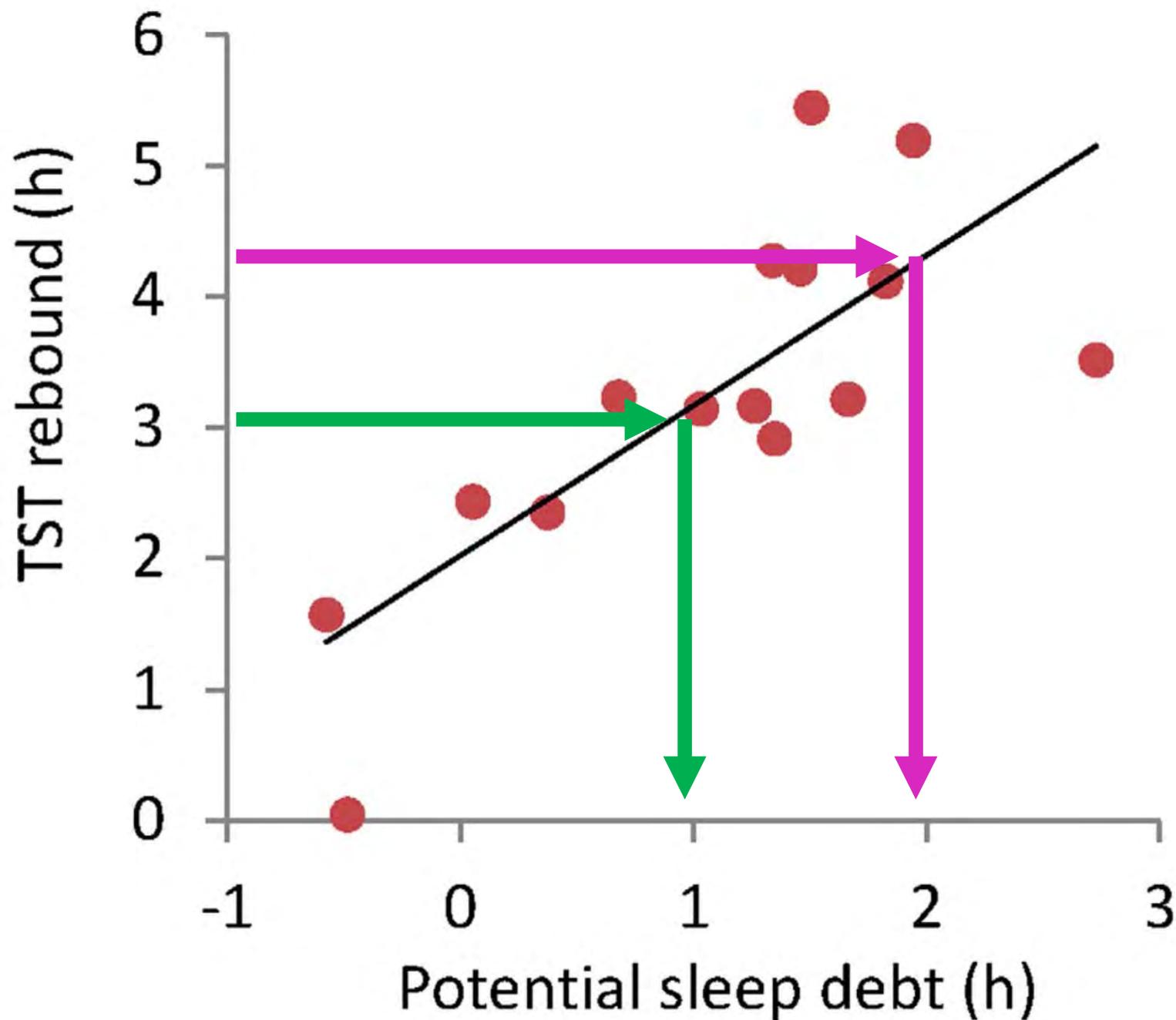
Curvature (SEM)  
 $\theta = 0.78 (0.04)$

Effect sizes  
4 hr vs. 8 hr: 1.45  
6 hr vs. 8 hr: 0.71  
4 hr vs. 6 hr: 0.43

# 睡眠負債を返すため3日以上、必要

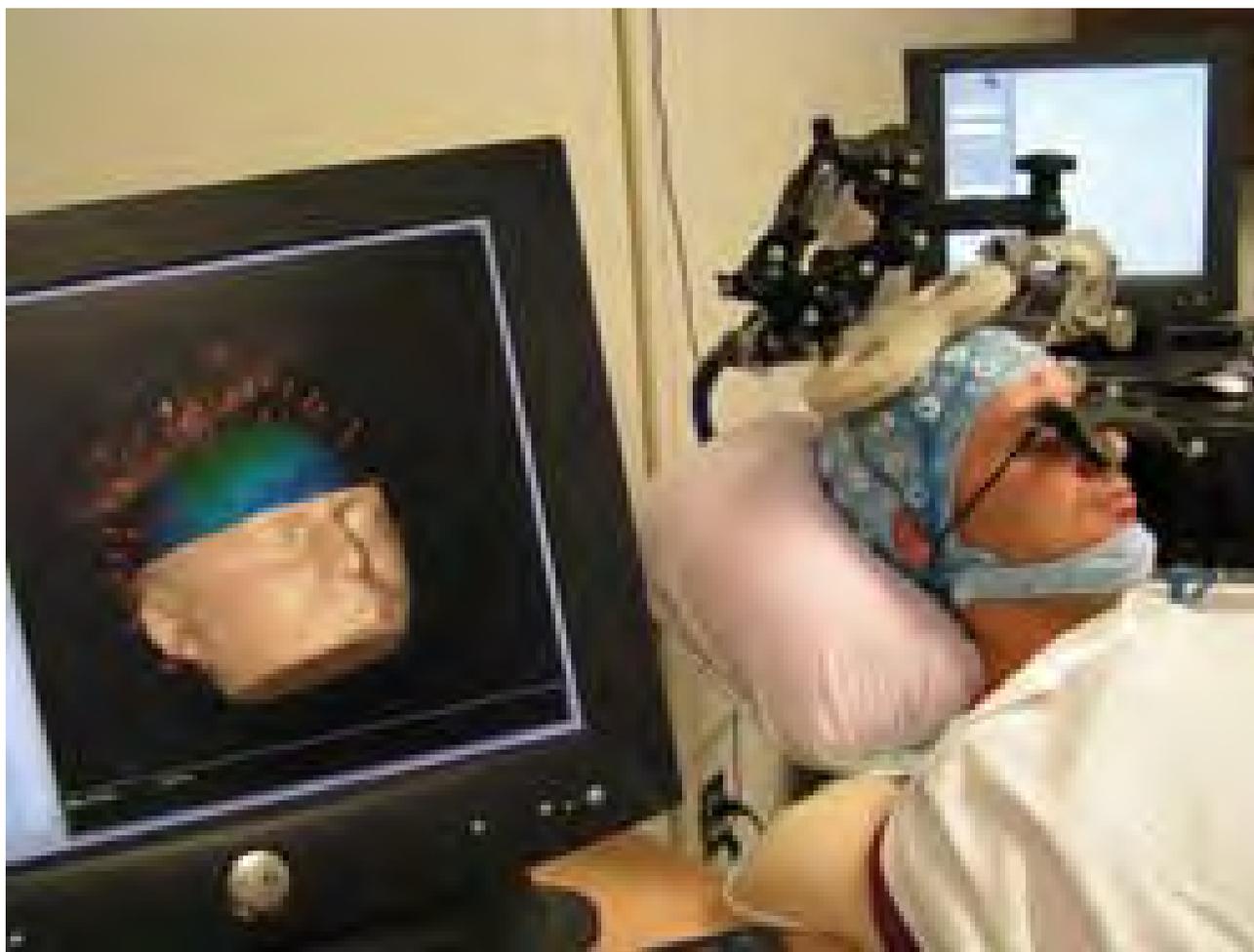
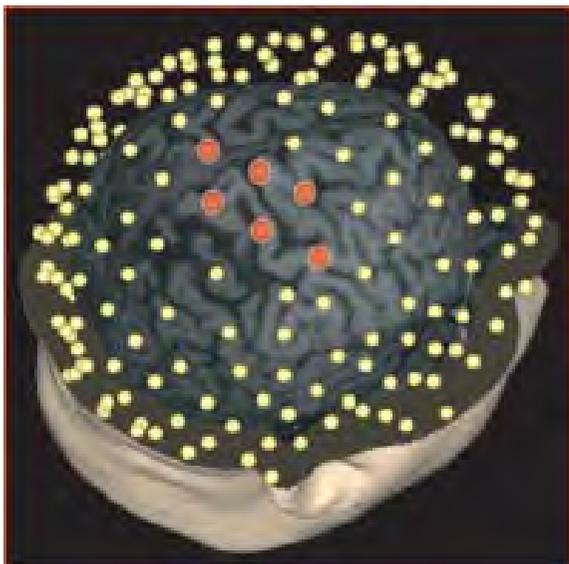


# 3時間寝坊→普段1時間寝不足



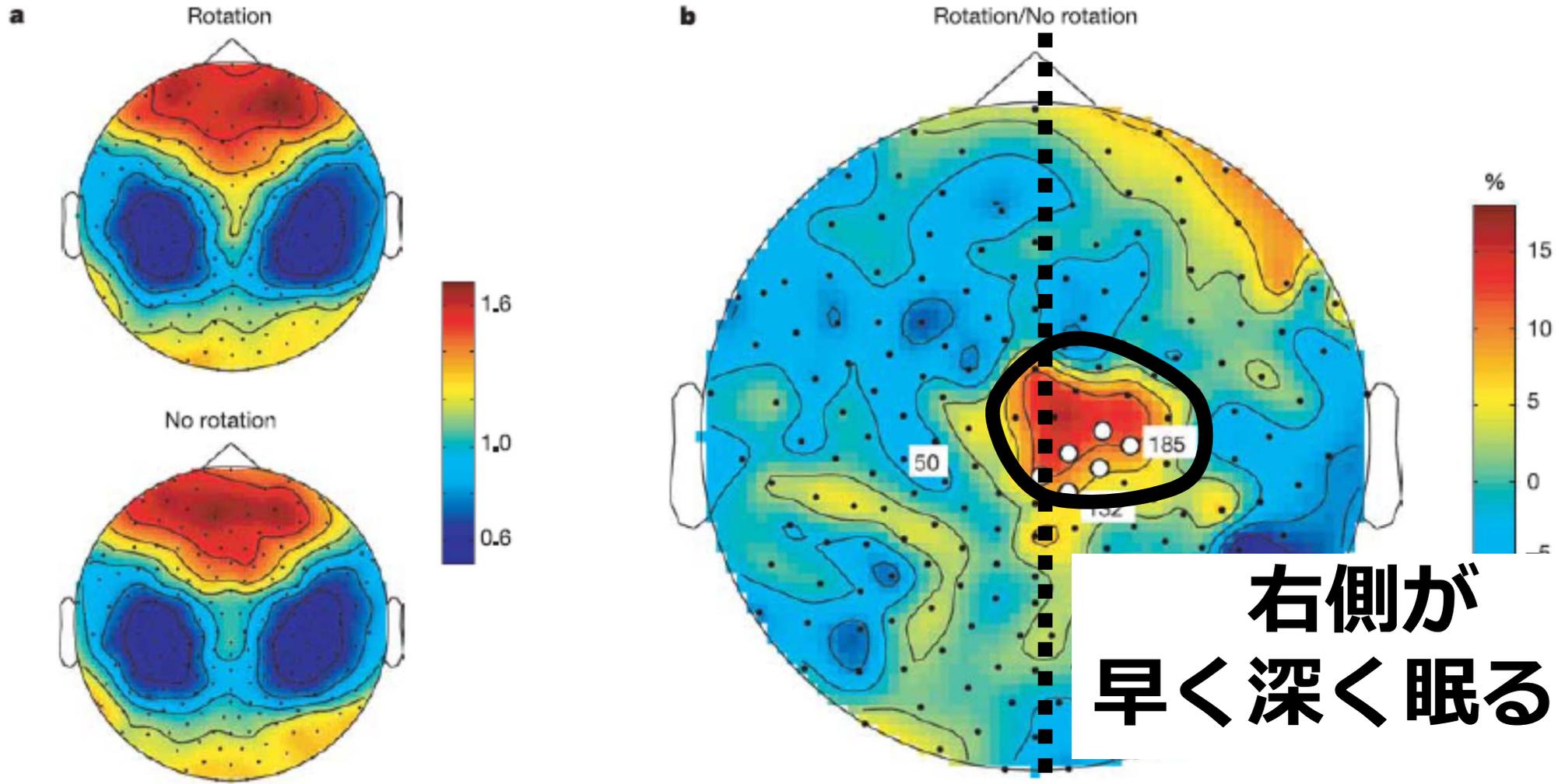
**睡眠負債量は、週末のリバウンド  
つまり「社会的時差」に比例**

# 高密度腦波記錄



# 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

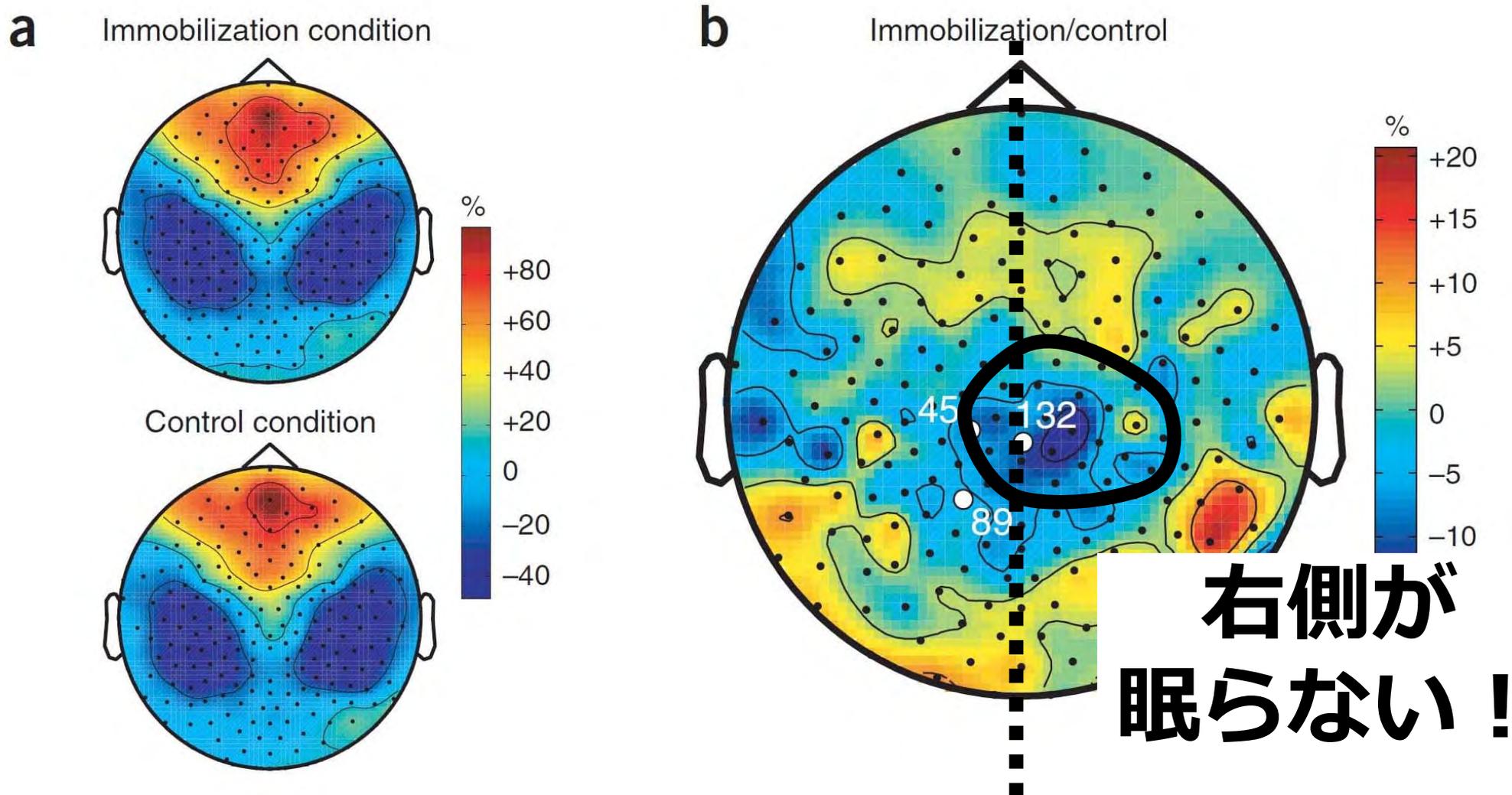


**右側が  
早く深く眠る！**

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)

# 概日周期（体内時計）

ショウジヨウバエがノーベル賞

# 概日周期運動の発見

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

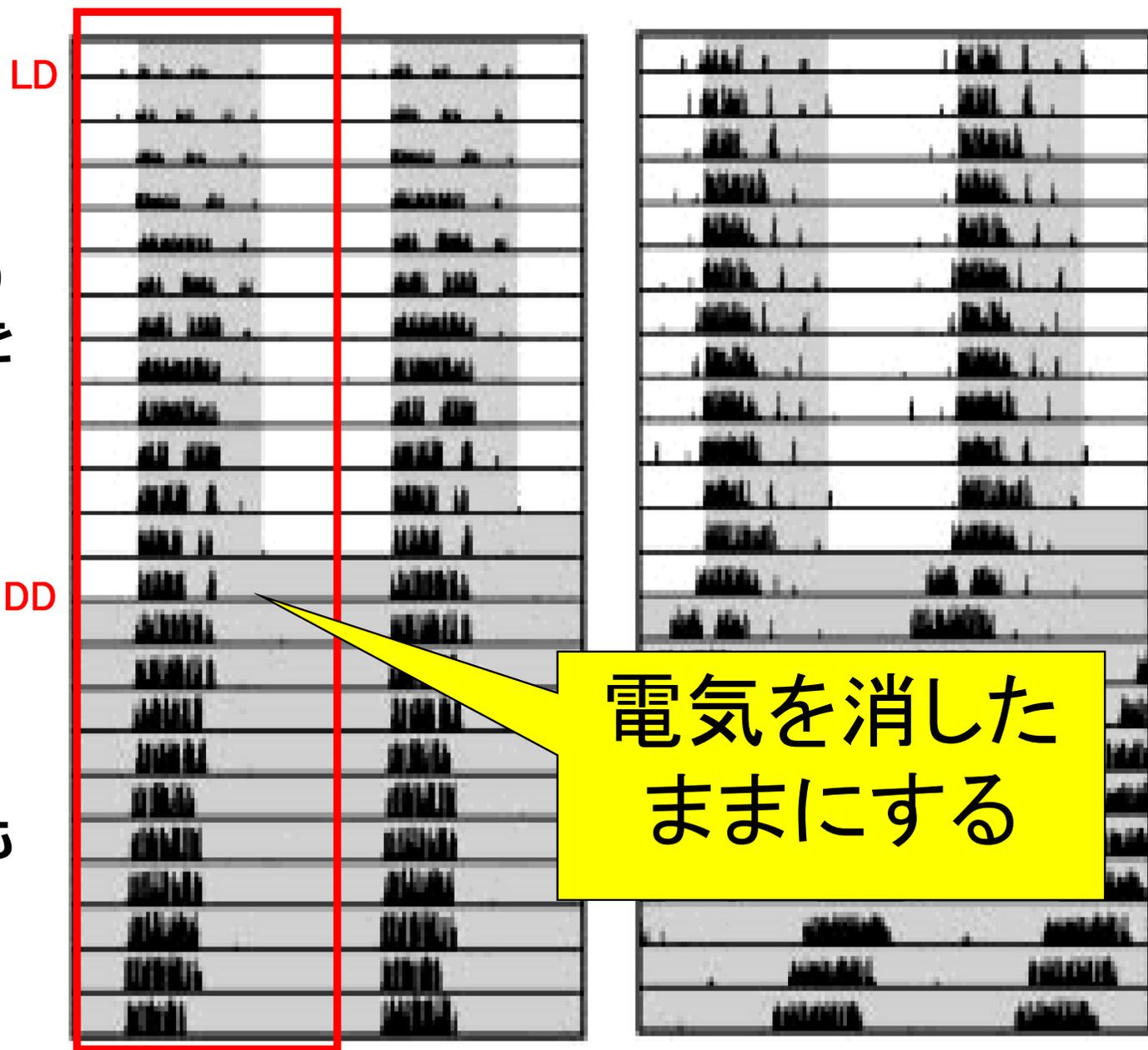
暗い箱に入れても、開閉する

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

2匹のマウス(夜行性)の運動リズム

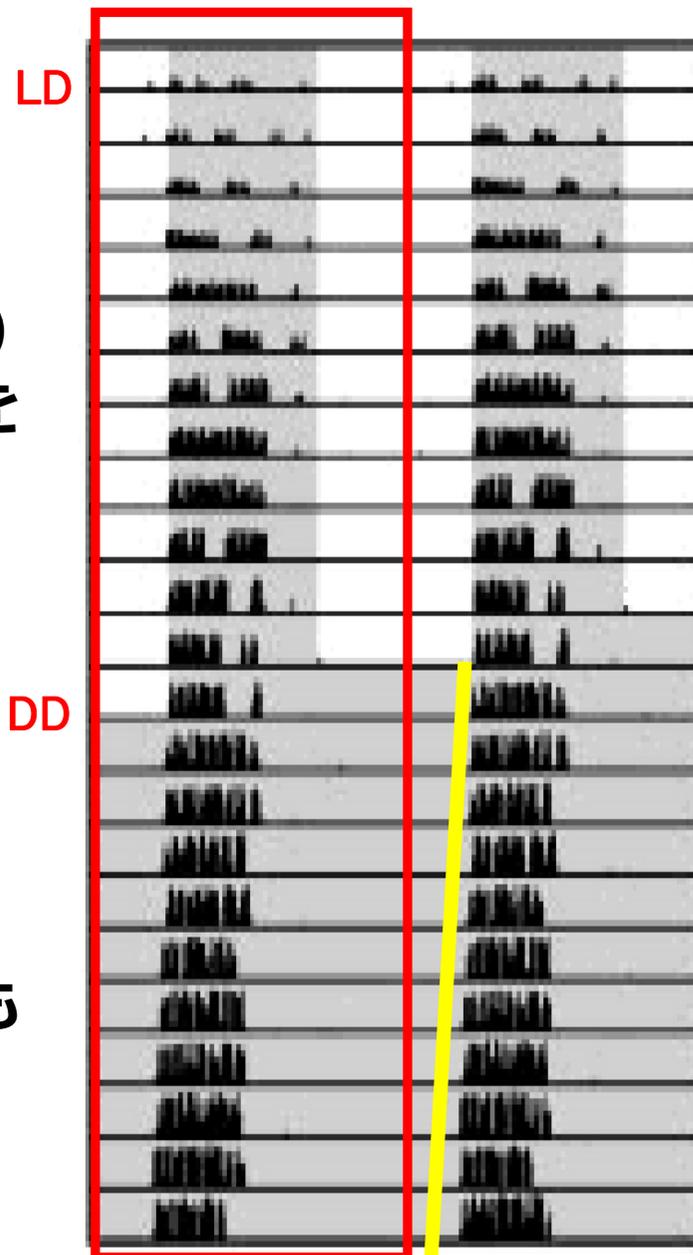
1. 約24時間周期  
 サーカ = 約 (概)  
 ディアン = 1日 = 24時間
2. 調節可能性 (環境に同期)  
 光などにより、進み遅れを調節できる
3. 自律性  
 外部環境が一定でも、  
 時を刻み続ける
4. 温度補償性  
 体温・環境温が変わっても  
 同じ周期を保つ



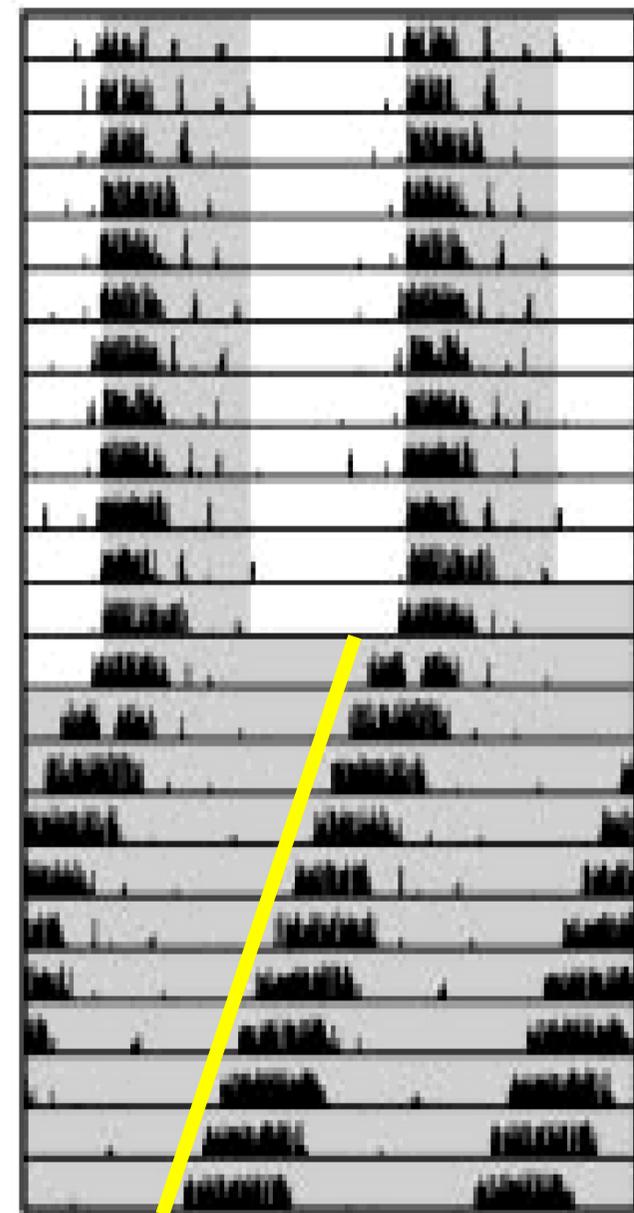
# 概日周期(サーカディアンリズム)とは

## 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



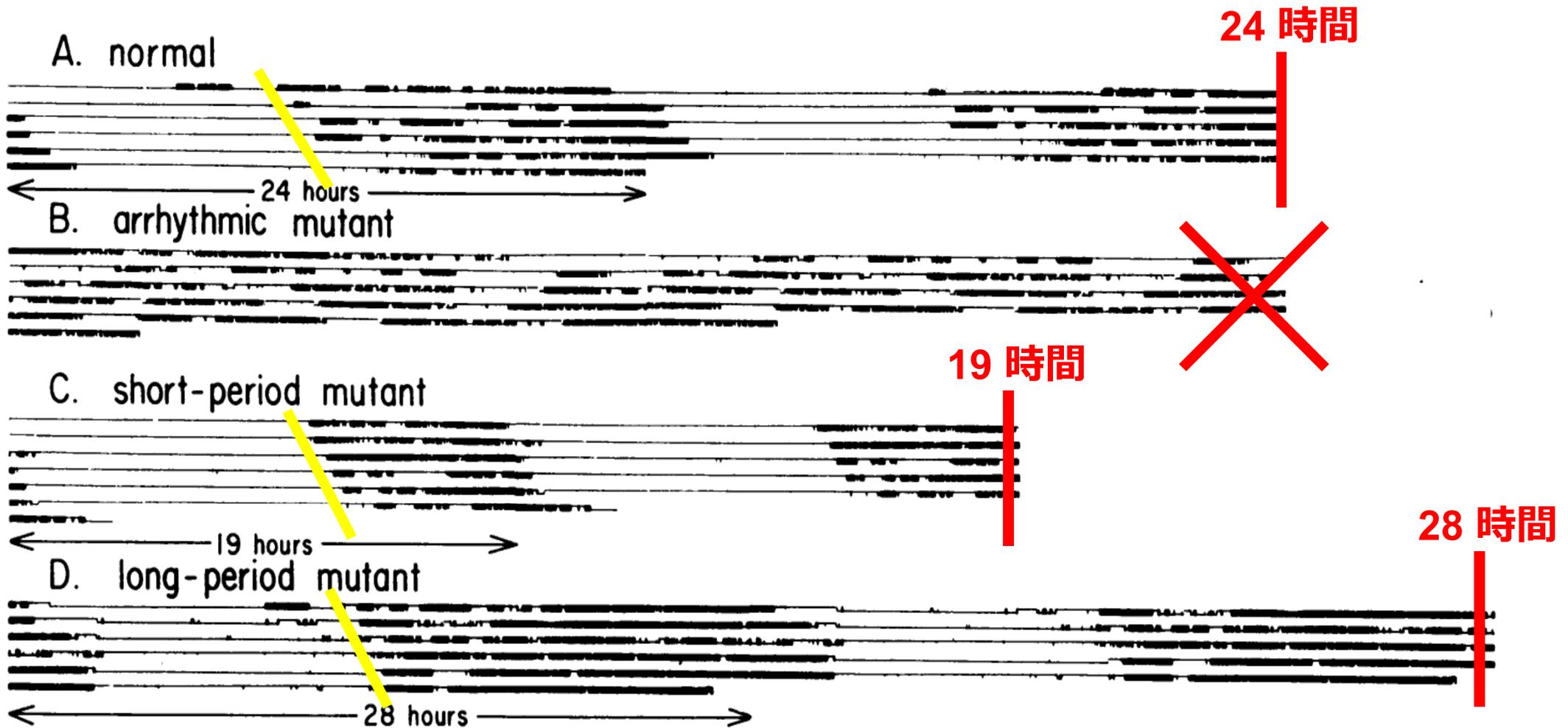
FRP = 23.8 h



FRP = 22.5 h 54

# 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



# 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

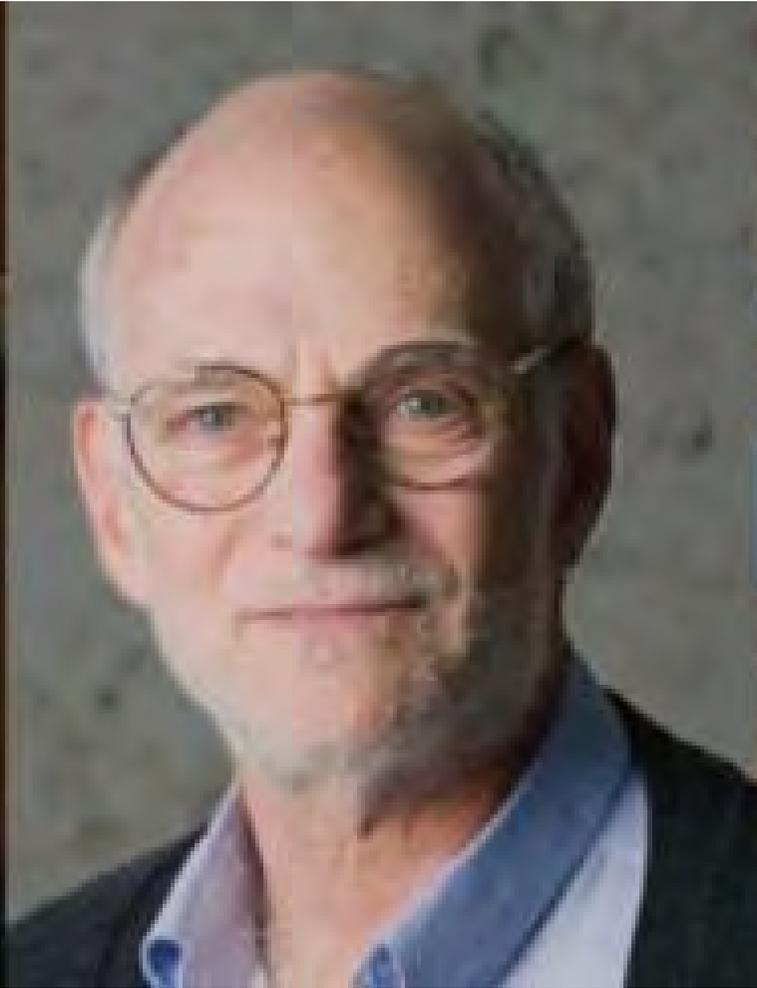
- シーモア・ベンザーの業績：
- 時間 => 概日周期 => 1970年
- 愛 => 交尾 (求愛) 行動
- 記憶 => 学習行動



# 概日周期時計遺伝子 (2017ノーベル賞)



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

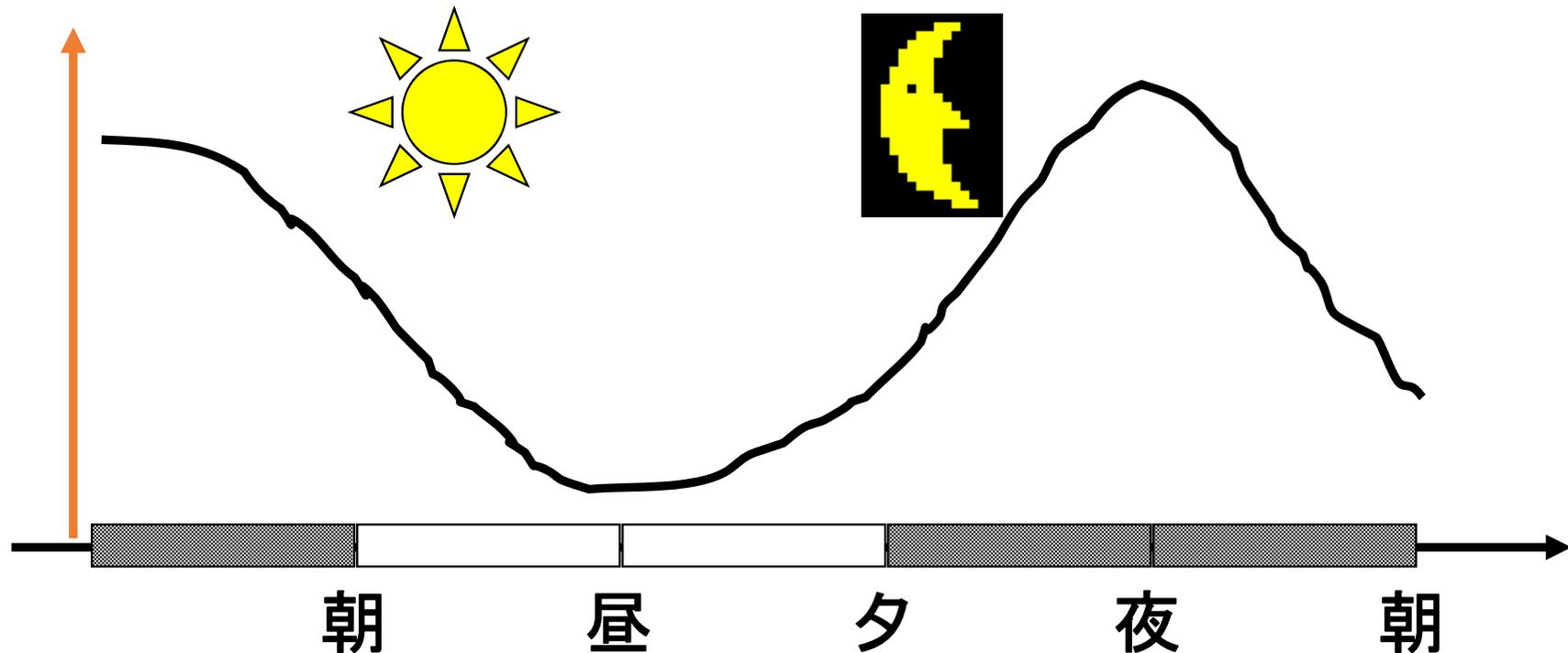


マイケル・ヤング  
ニューヨーク  
ロックフェラー大学

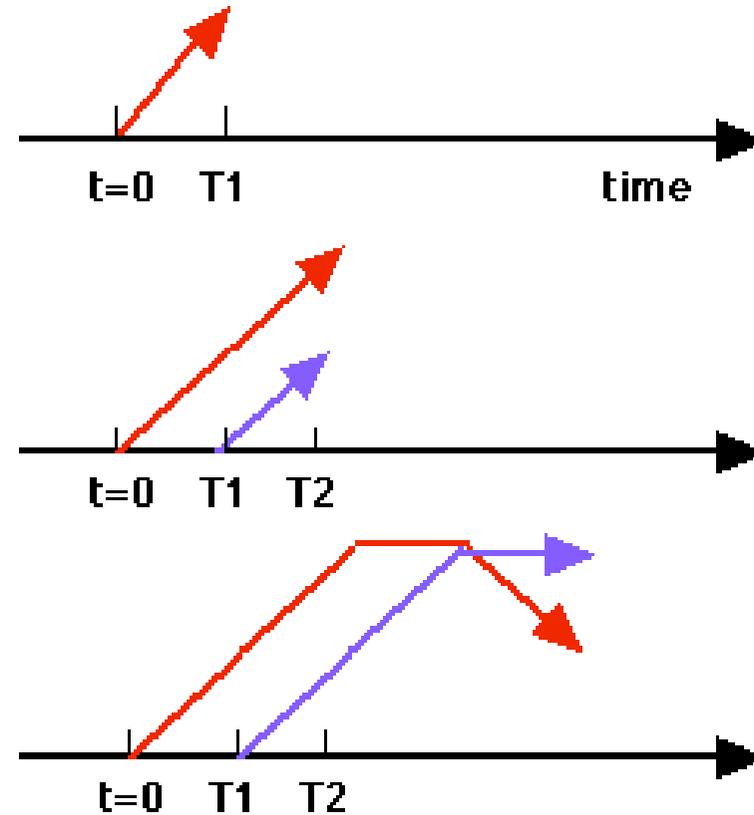
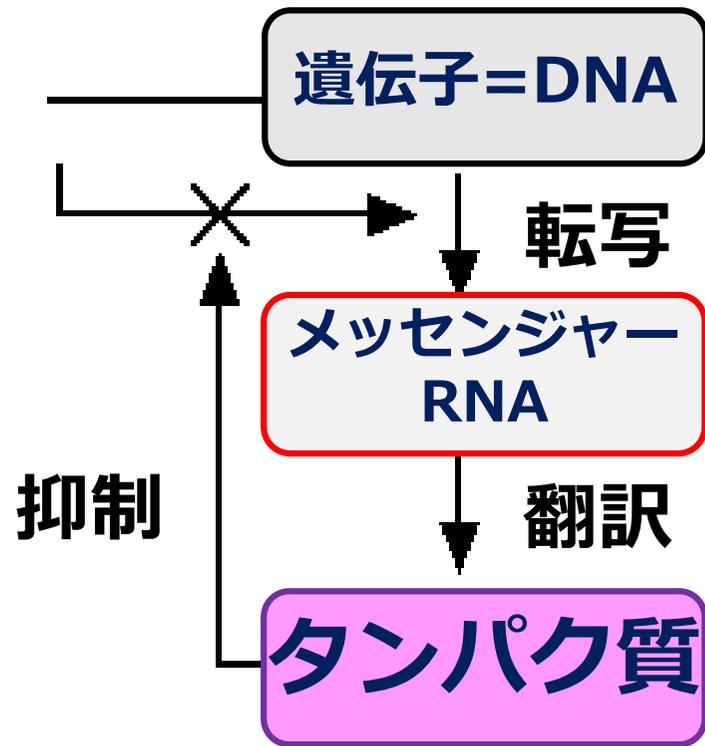
# 生物時計の時計の針

時計の針は、時計遺伝子のタンパク質の量！

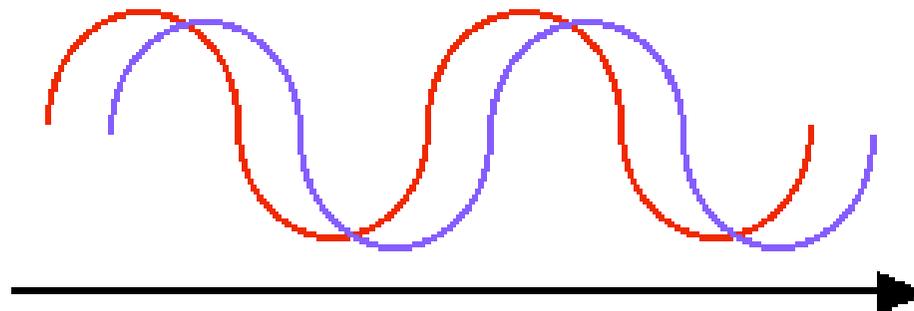
ピリオド遺伝子  
タンパク質量



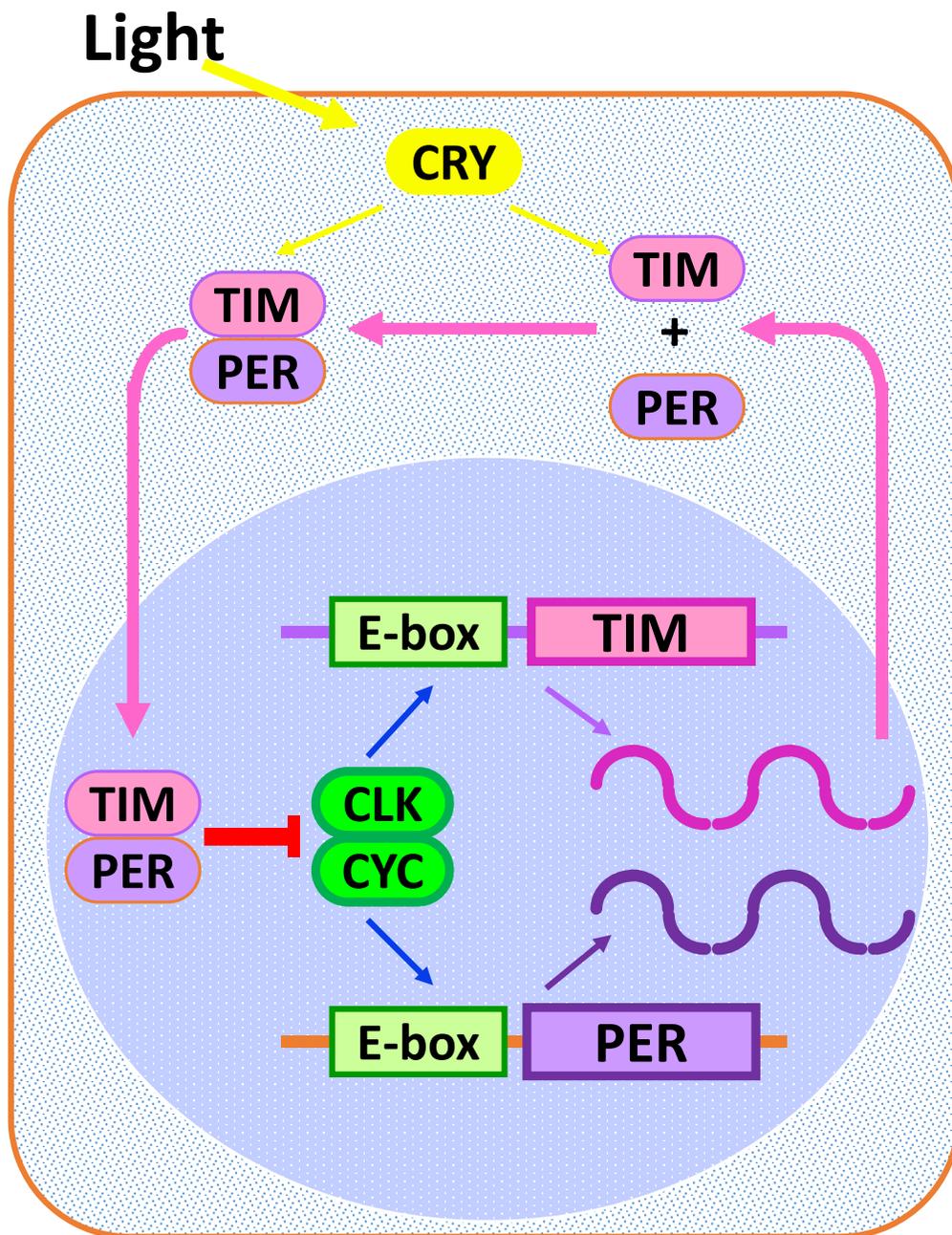
# ネガティブフィードバックによる発振機構



時計遺伝子のタンパク質は、自身の転写を抑制する



# 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

# 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

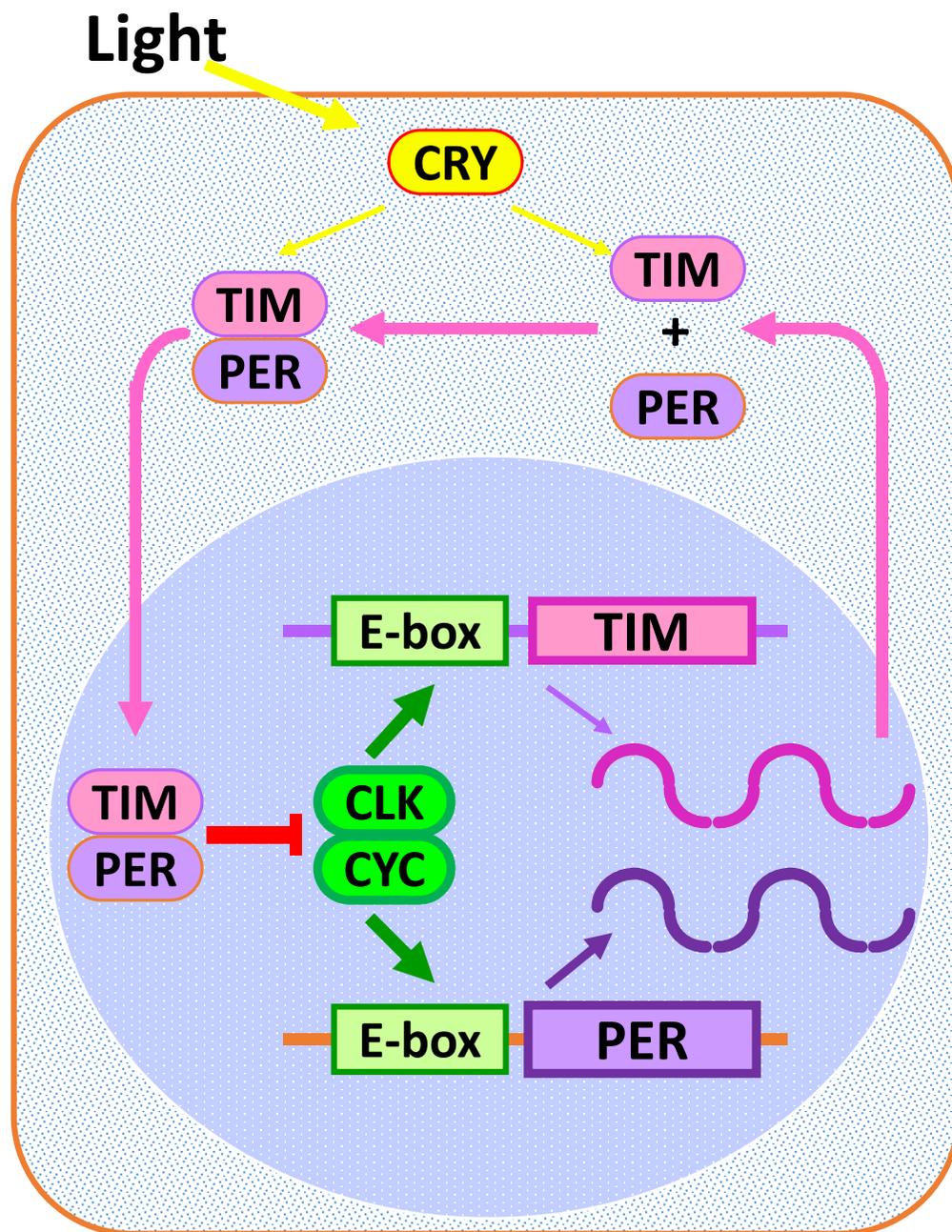
1995 ショウジョウバエ *Timeless* 遺伝子クローニング  
ヤング+セーガル

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

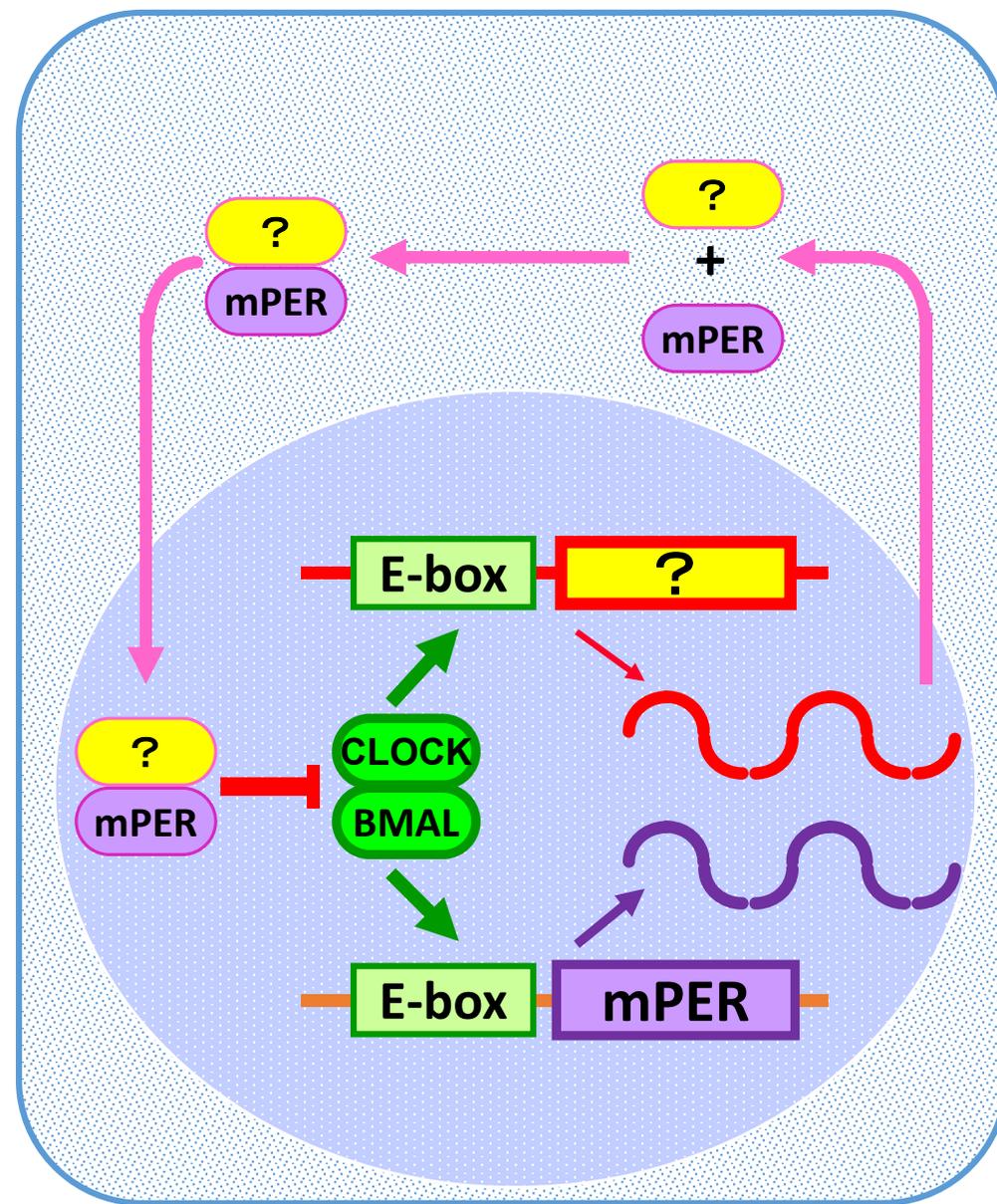
1998 ショウジョウバエ *Clock, Cycle* 遺伝子クローニング  
ホール+ロスバッシュ

1999 マウス *Cryptochrome* 遺伝子クローニング  
レツパート+糸

# 哺乳類のTIMが未発見だった

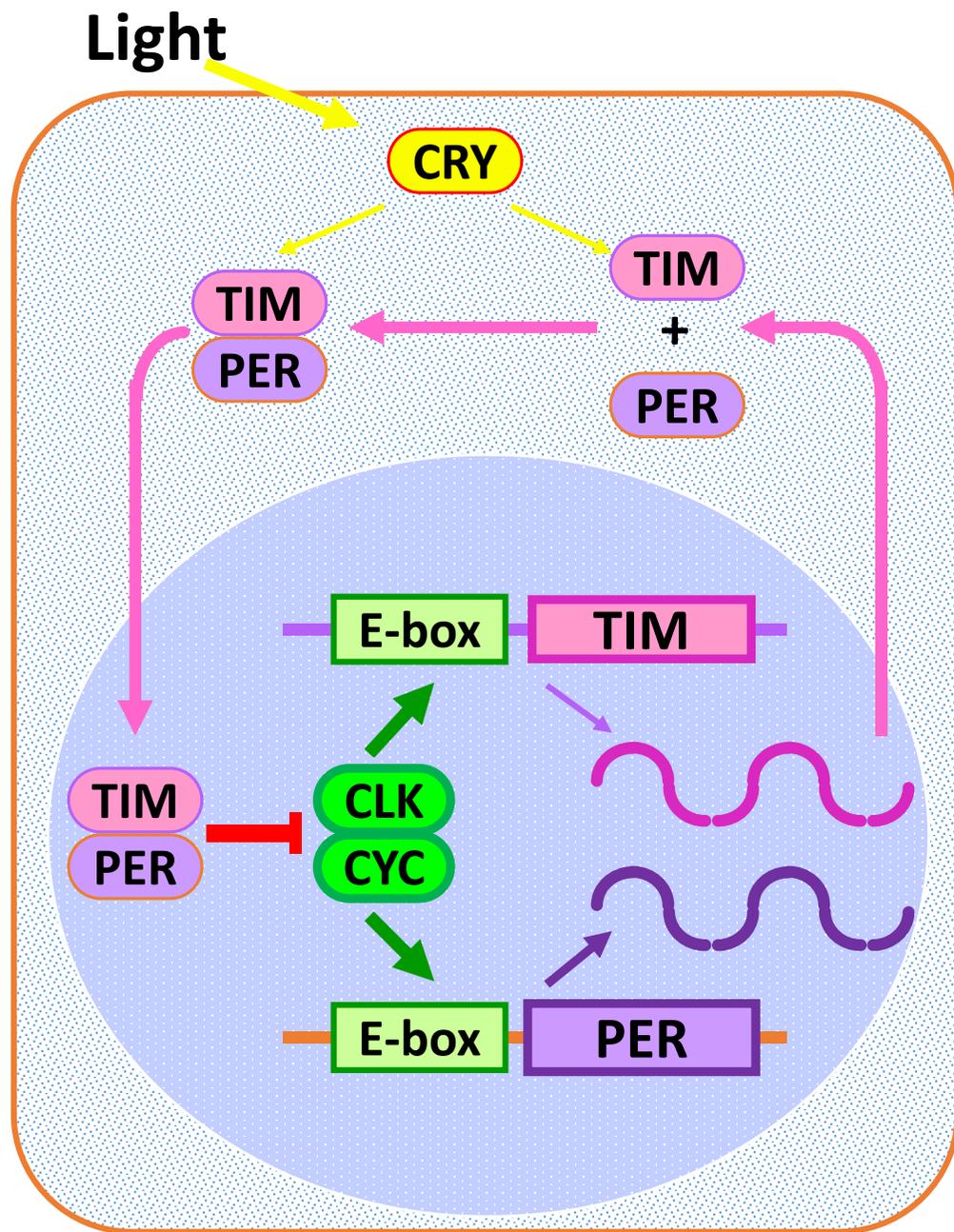


ショウジョウバエ

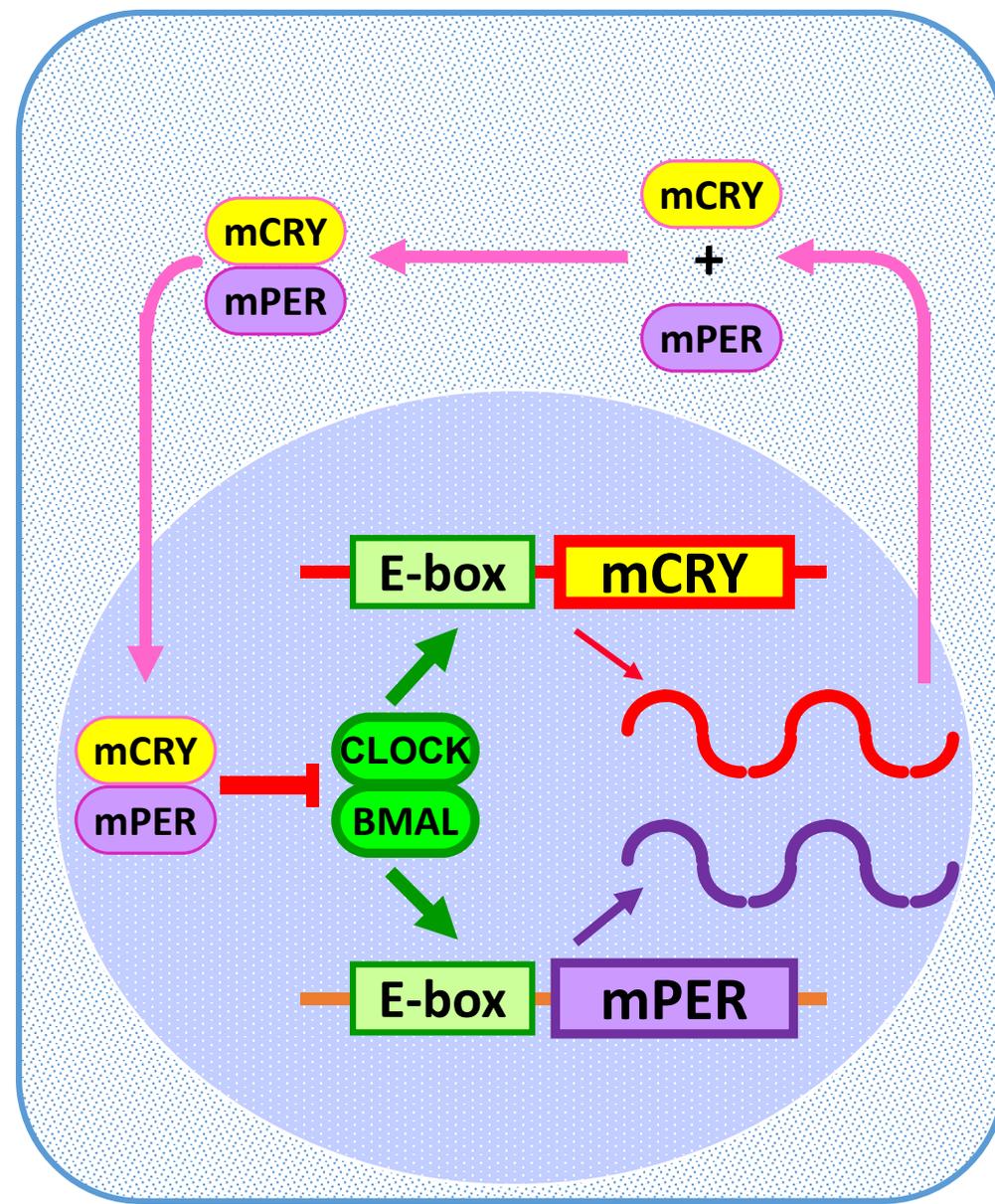


哺乳類

# 昆虫もヒトも、ほぼ同じ仕組み



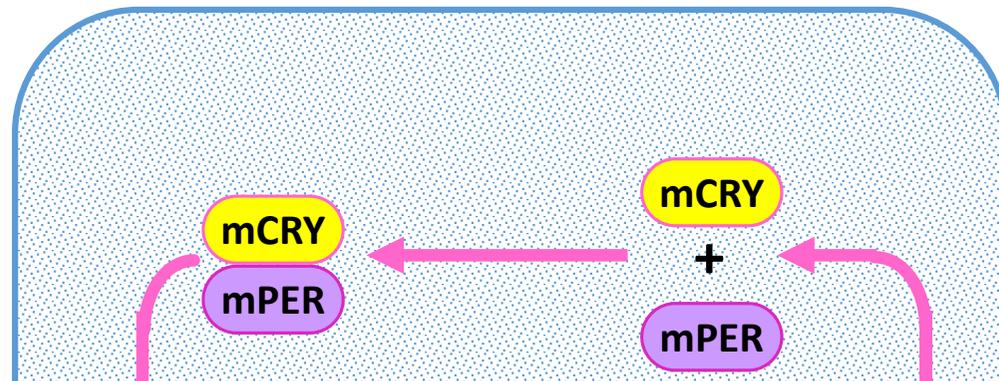
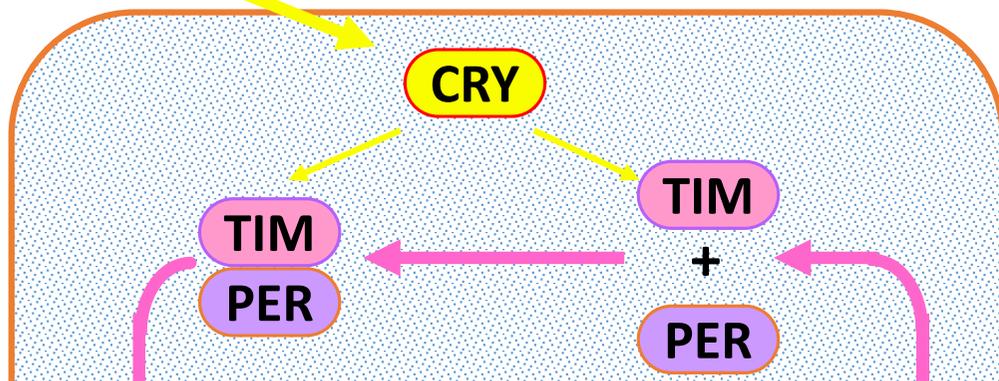
ショウジョウバエ



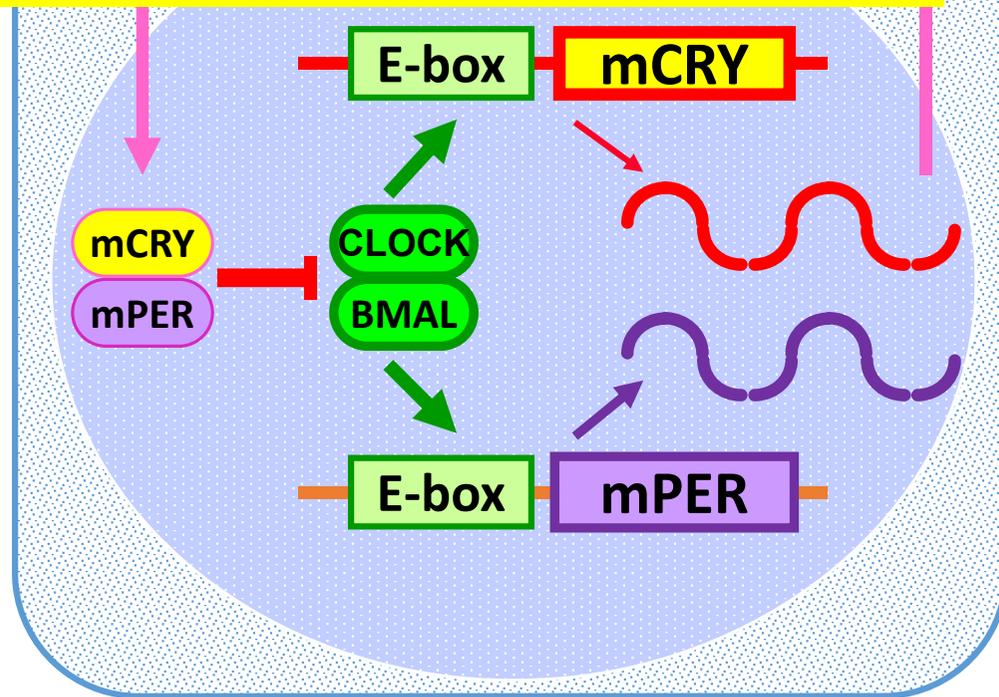
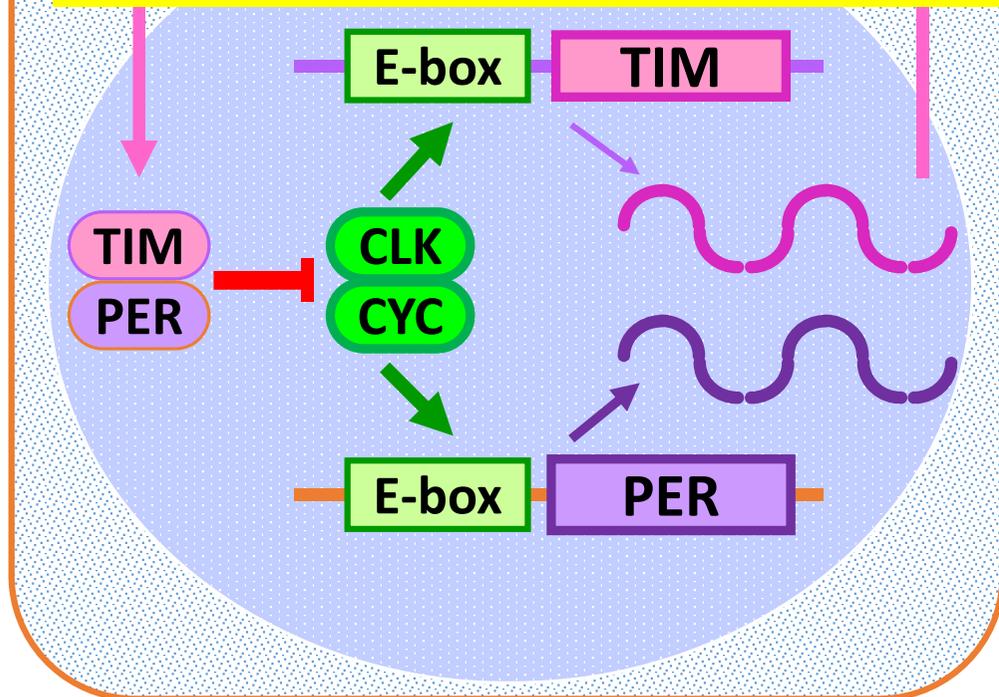
哺乳類

# 昆虫もヒトも、ほぼ同じ仕組み

Light



**哺乳類では TIM が mCRY に変わる ← 私の発見**

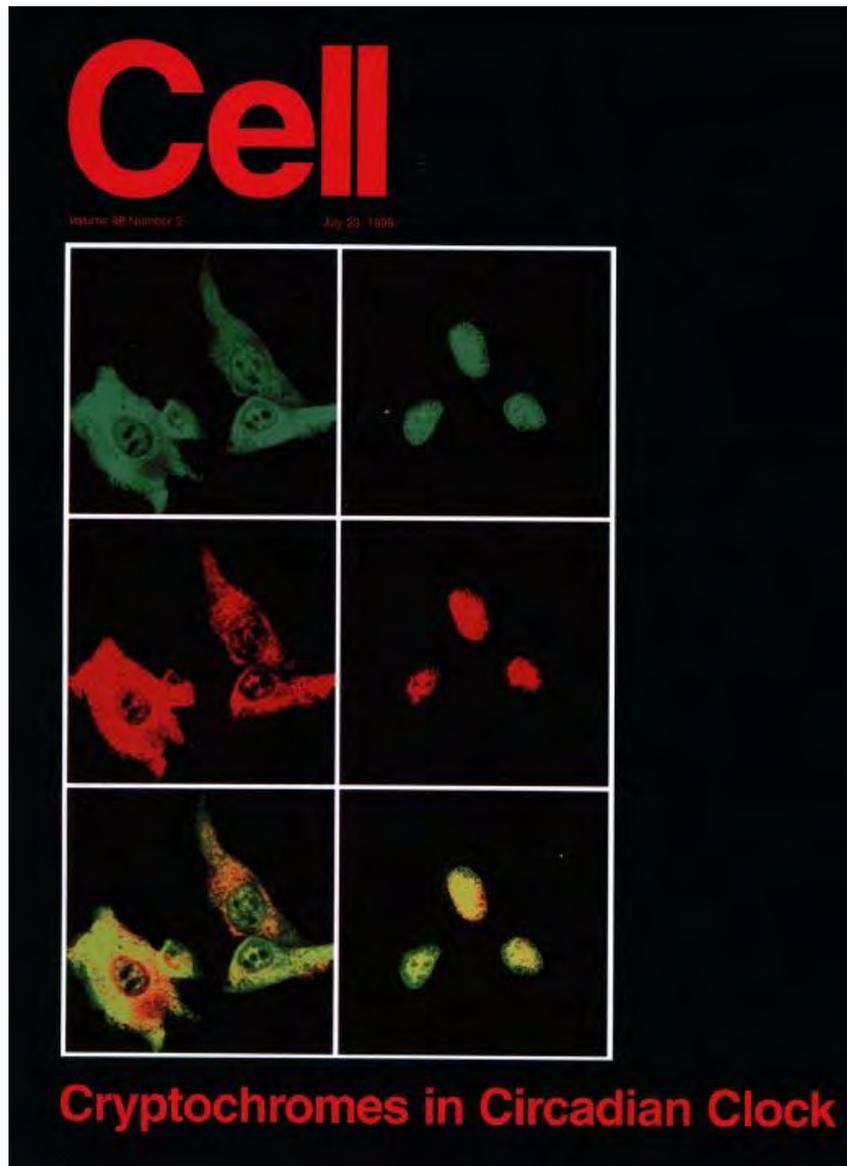


ショウジョウバエ

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)

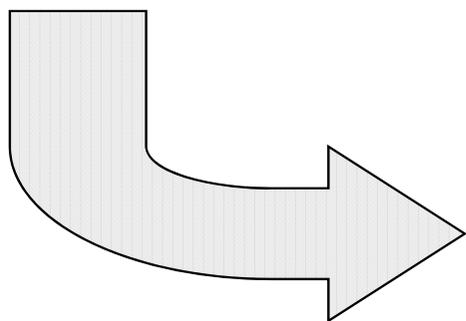
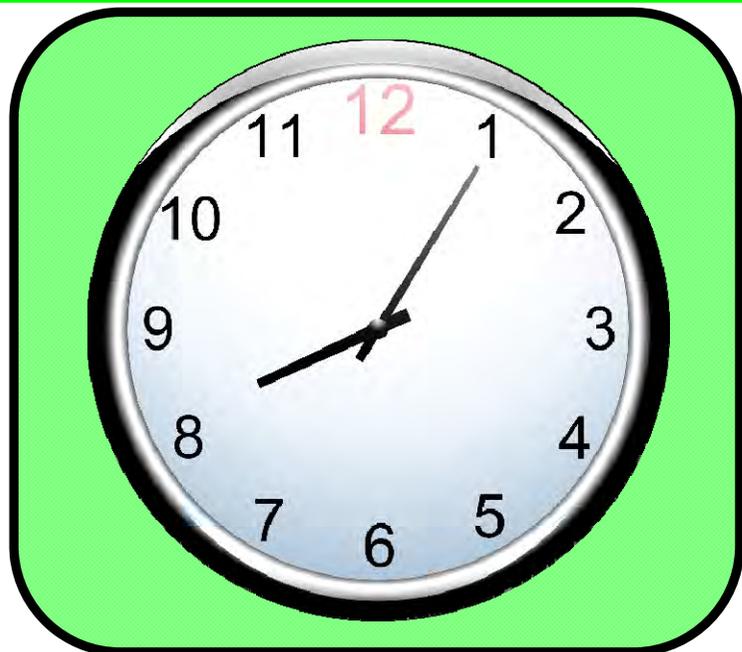


BMAL1がクリプトクロームと  
反対位相で振動することを発見  
(Shearman *et al.* Science, 2000)



# 2種類の制御系

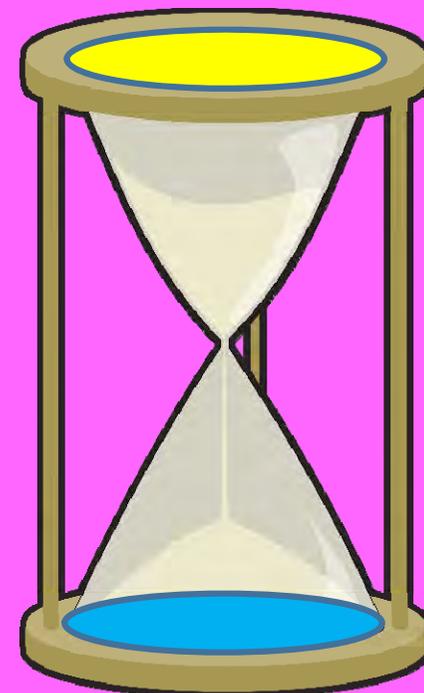
## 概日周期機構



## 恒常性維持機構

覚醒

睡眠

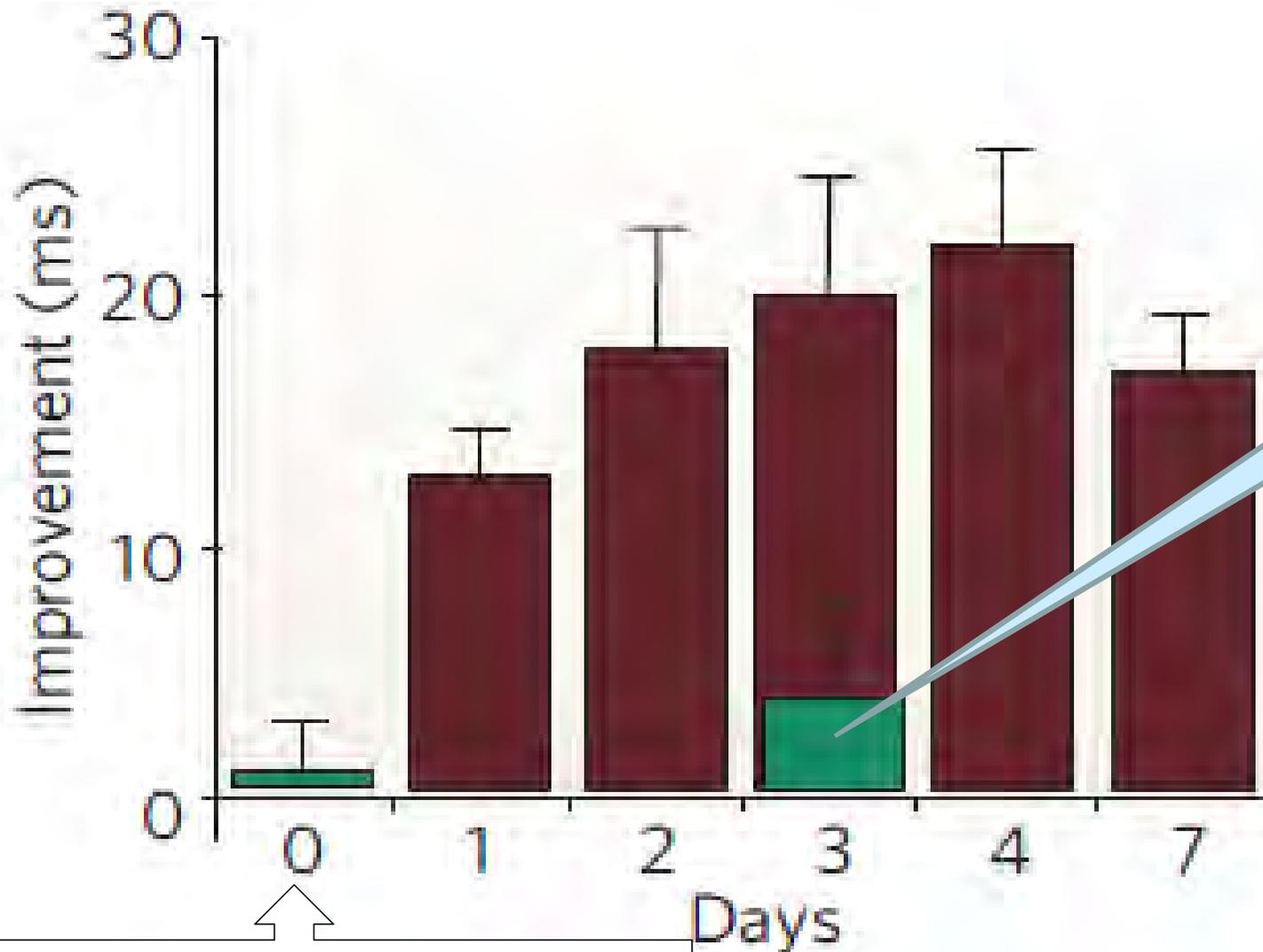


# 睡眠の生理機構

# 睡眠と学習・記憶

- **睡眠には、  
覚醒時に学習した種々の種類の記憶を、  
強化(consolidation)する働きがある**
- **この働きは、ノンレム睡眠・レム睡眠の  
両方にあるが、役割・特徴は異なる**

# 睡眠が記憶を増強する



学習当日  
に断眠

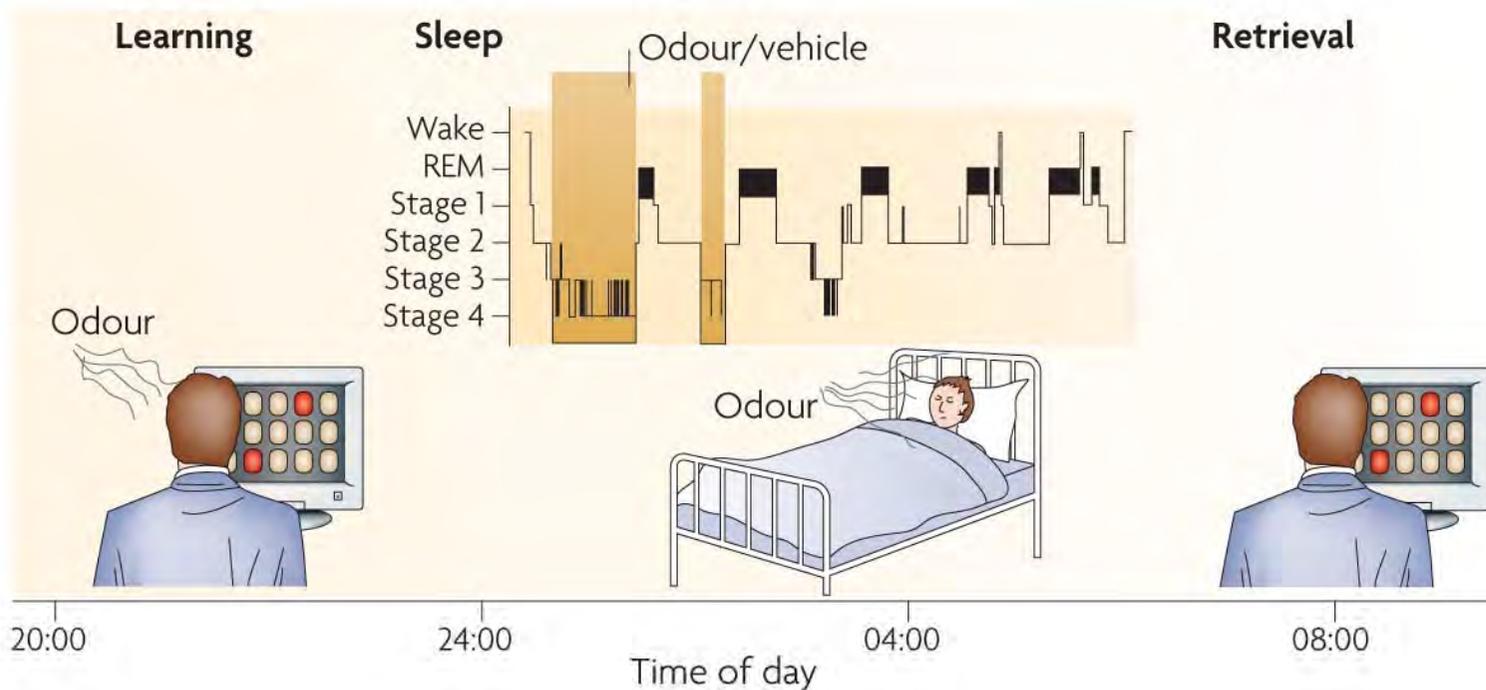


記憶定着  
阻害！

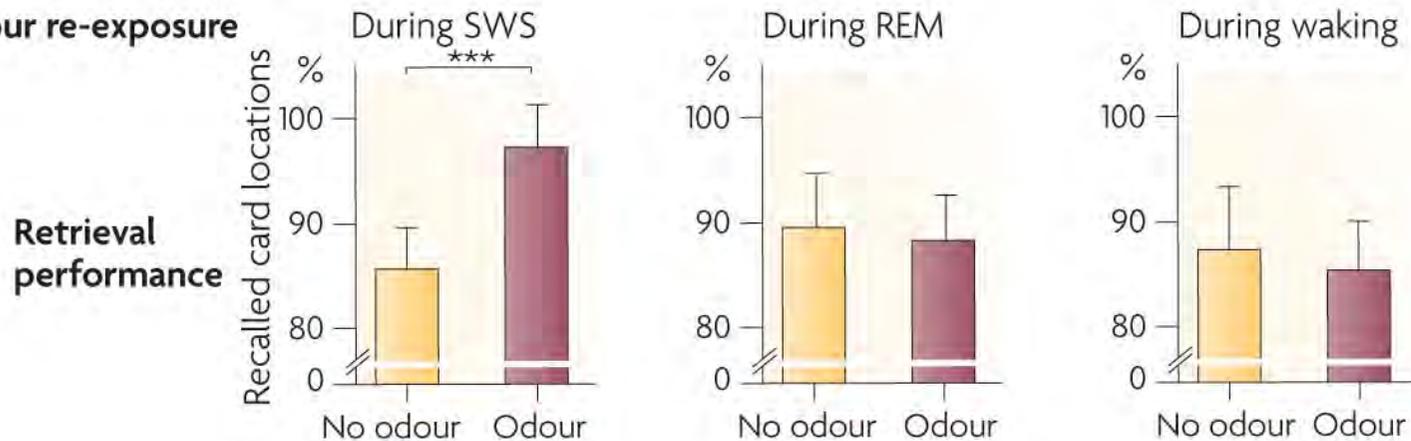
初日に1日だけトレーニング

Visual texture discrimination task (procedural skill)  
(R. Stickgold *et al.* Nat.Neurosci., 2000)

# 匂い刺激によるノンレム睡眠中の記憶想起



## Odour re-exposure

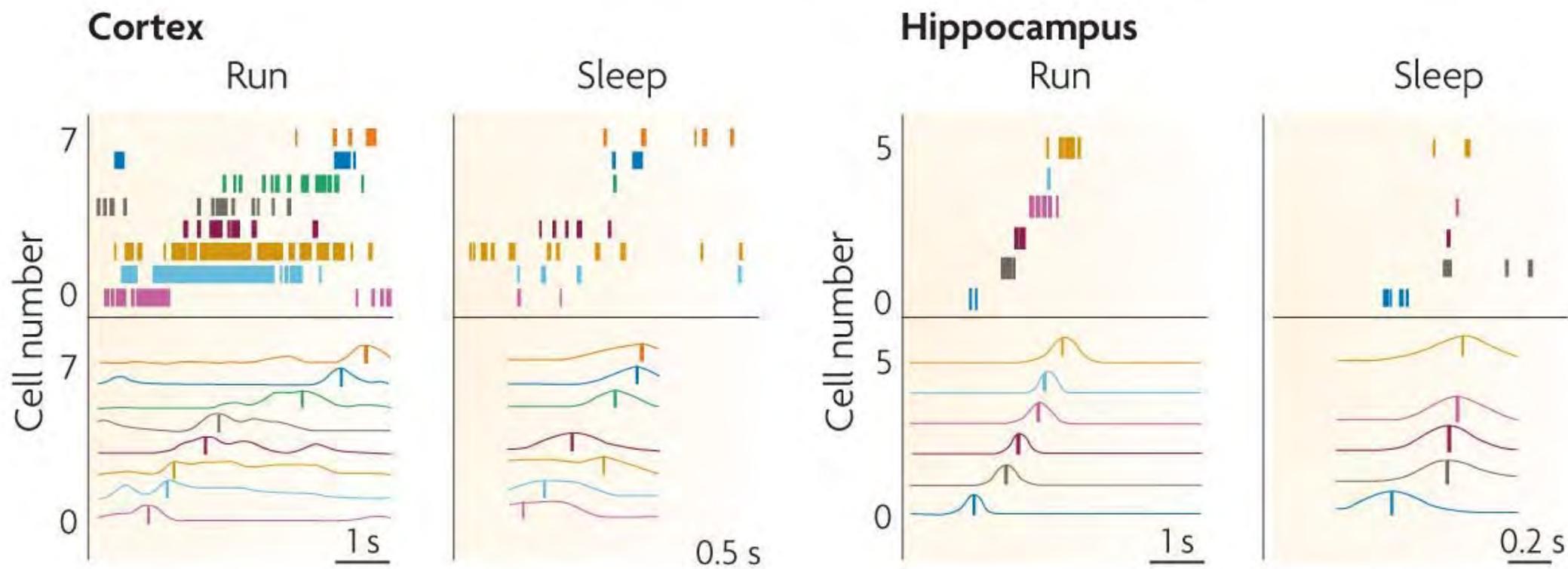


# 大脳皮質（前頭葉）と海馬でのリプレイ

→ノンレム睡眠中、海馬 5~10倍、大脳皮質 2~5倍のスピードで、学習情報が再生される（早送り）

大脳皮質

海馬



Susanne Diekelmann and Jan Born

# 睡眠の生理機能研究の最新の進歩

特異的神経操作系による生理機能研究

# 学習後の睡眠中にシナプスが増える

SLEEP AND LEARNING

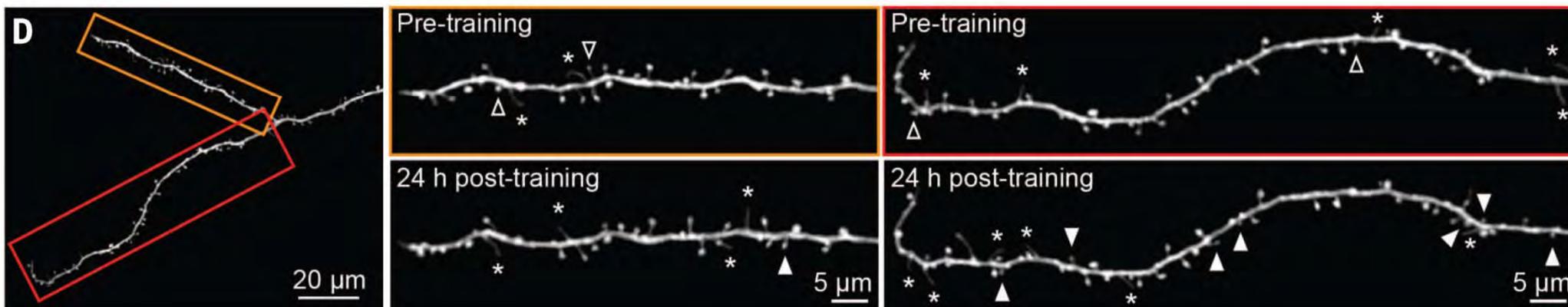
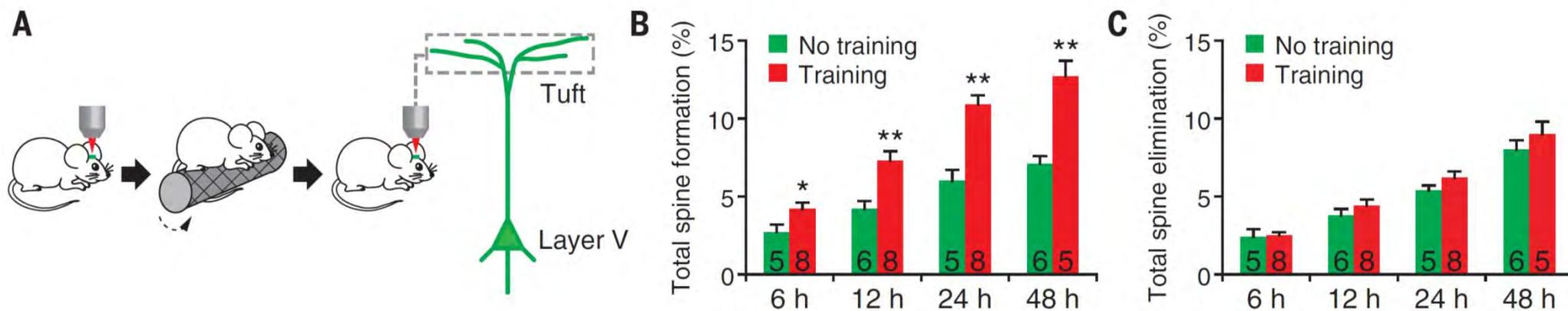


## Sleep promotes branch-specific formation of dendritic spines after learning

Guang Yang,<sup>1,2</sup> Cora Sau Wan Lai,<sup>1</sup> Joseph Cichon,<sup>1</sup> Lei Ma,<sup>1,3</sup>  
Wei Li,<sup>3</sup> Wen-Biao Gan<sup>1\*</sup>

*Science* **344**, 1173 (2014)

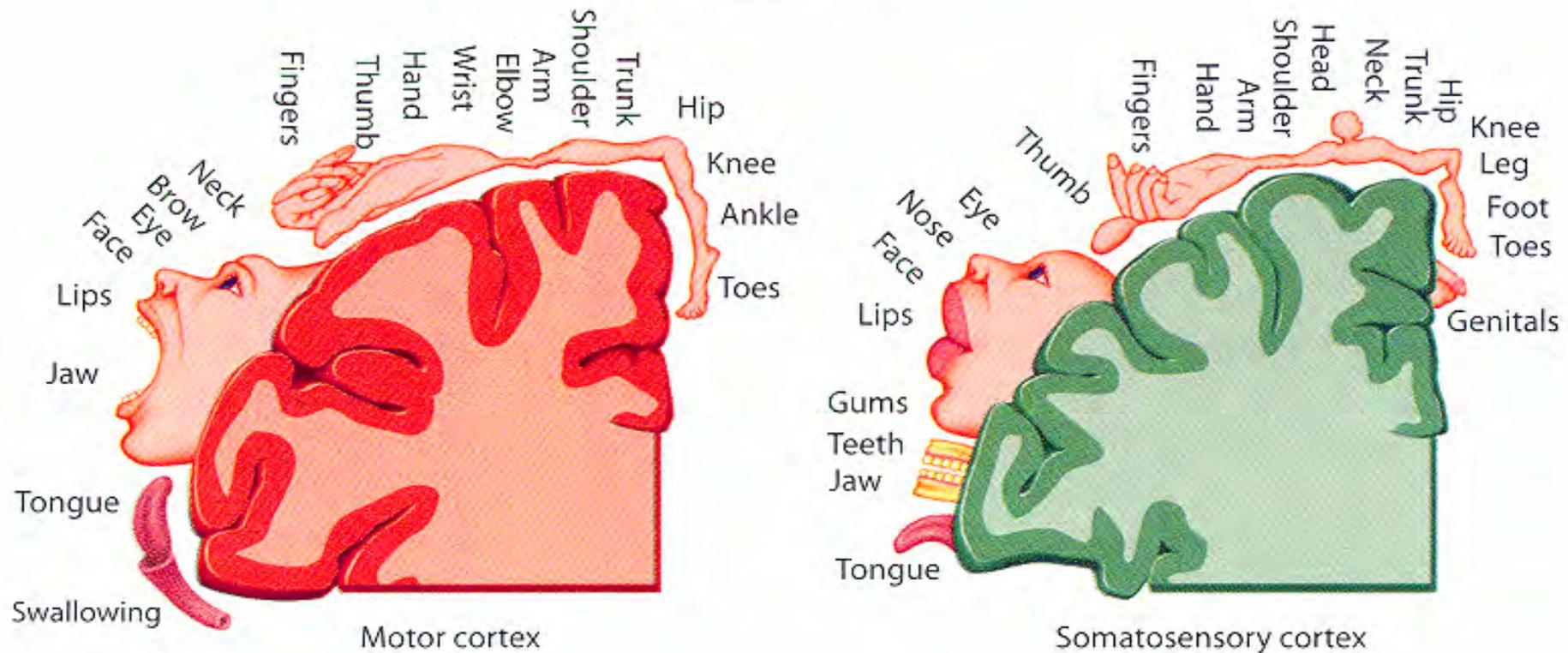
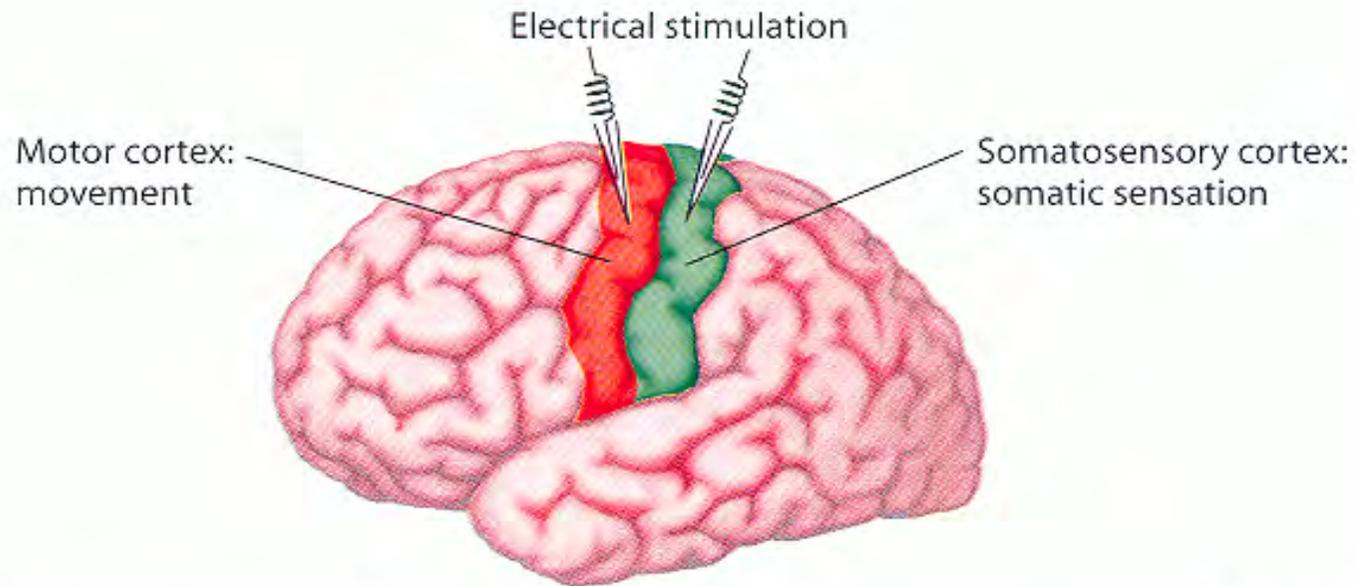
# 睡眠中に dendritic spine が増加



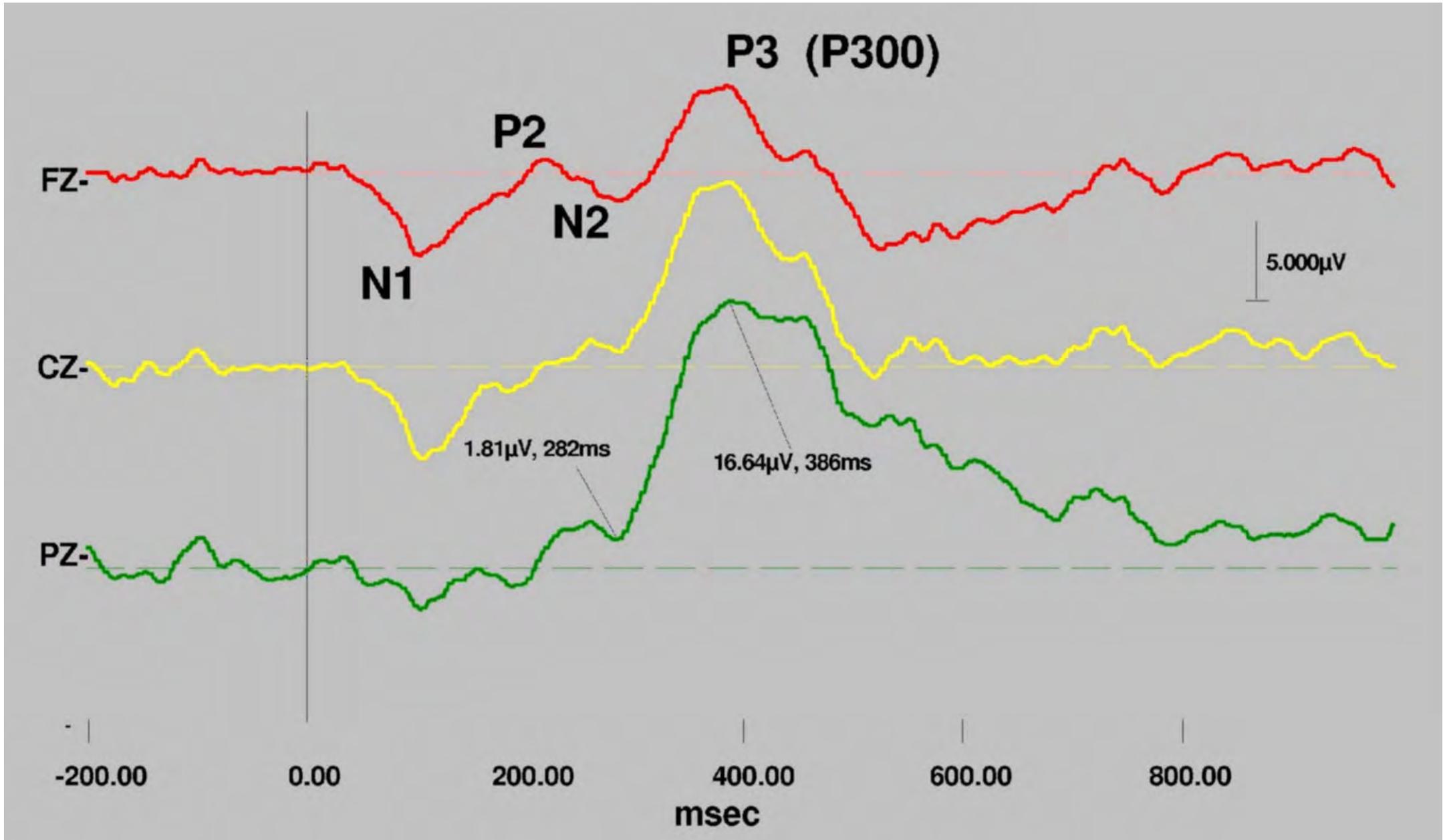
**睡眠研究は、意識の研究でもある**

**睡眠は、意識がない状態  
(意識の定義は・・・)**

# ペンフィールドの実験・再考



# 体性感覚誘発電位・事象関連電位(ERP)



## A Top-Down Cortical Circuit for Accurate Sensory Perception Manita *et al.* Neuron 86, 1304, 2015

- 体性感覚が意識に上る(知覚される)ためには、感覚野(S1)への入力が運動野(M2)との間でループが作られることが必要。
- これはペンフィールドが見つけた皮質刺激が、意識に上るために0.5秒かかるという古典的な発見を回路レベルで解明し、意識の仕組みの、根源に迫る発見

# ノンレム睡眠の必要性

高振幅徐波による同期が  
記憶の増強に役立つ

# NREM睡眠中の入力が記憶強化に必要



Science

REPORTS

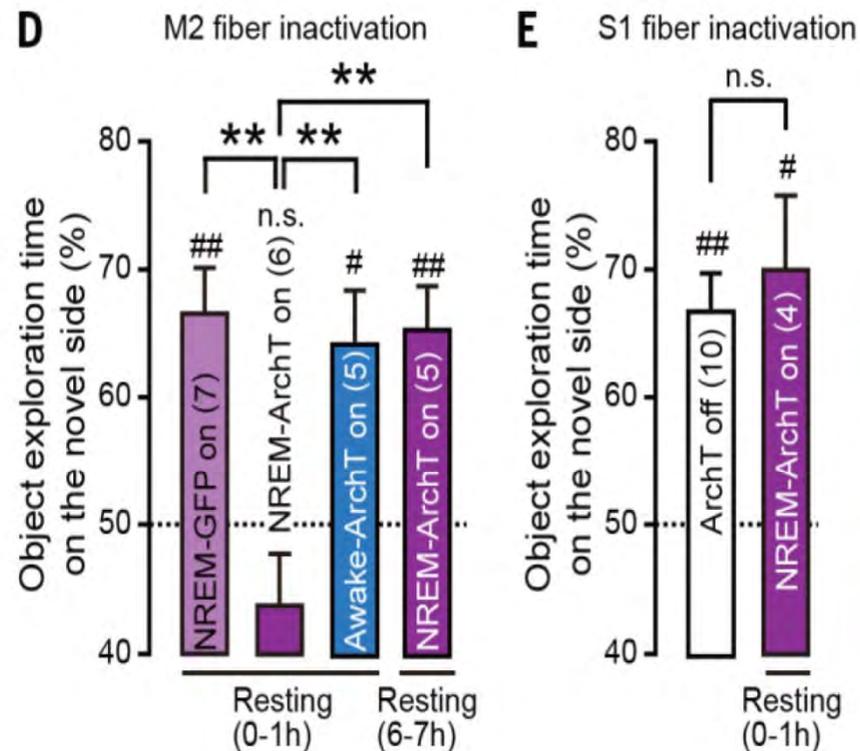
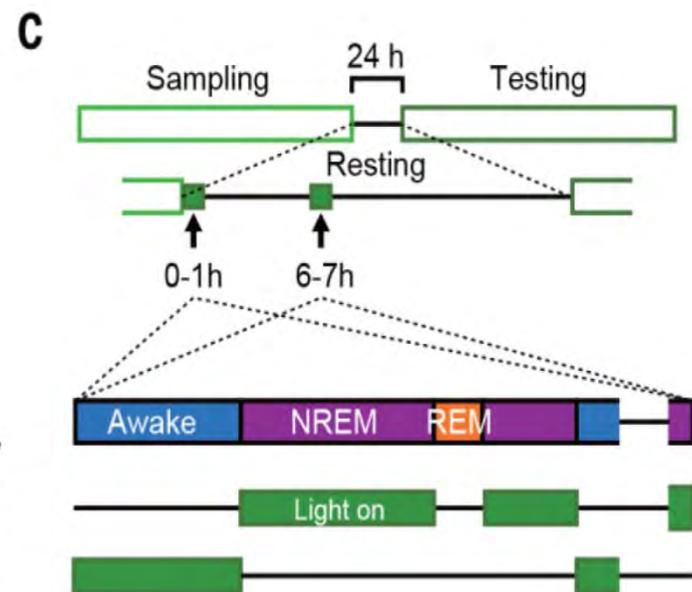
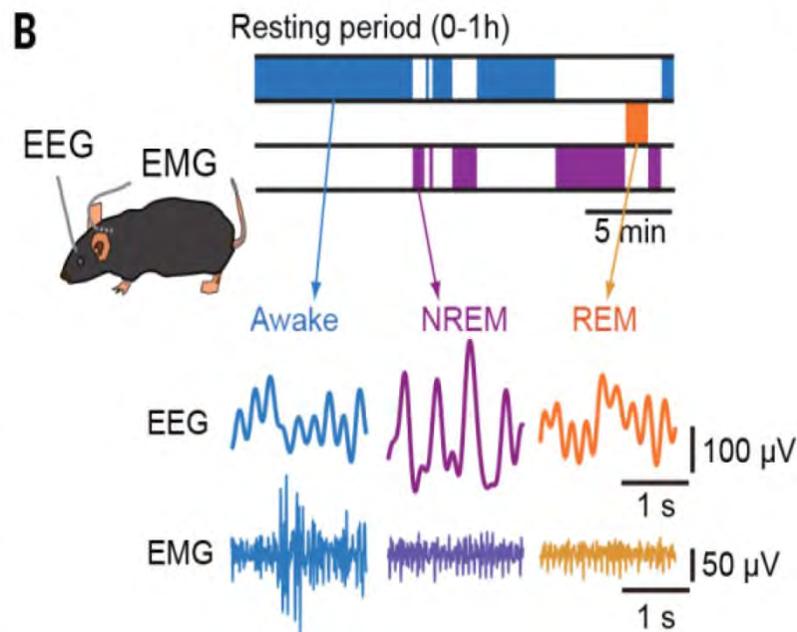
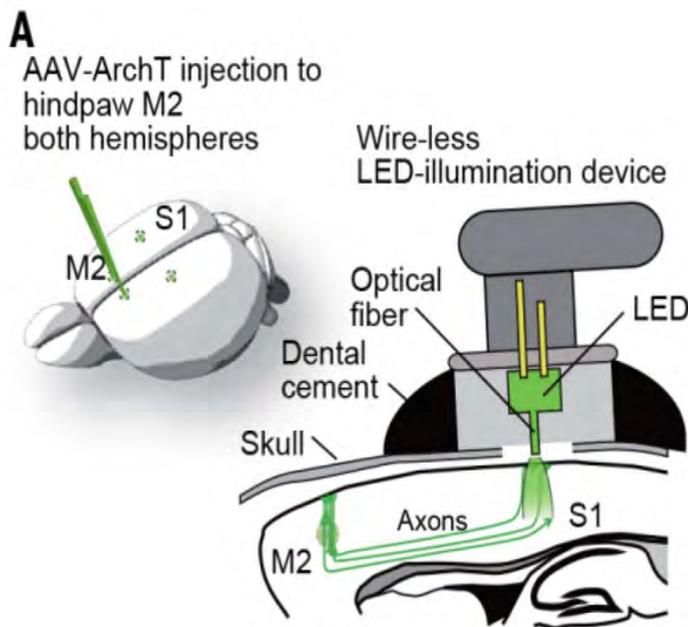
Cite as: D. Miyamoto *et al.*, *Science*  
10.1126/science.aaf0902 (2016).

## Top-down cortical input during NREM sleep consolidates perceptual memory

D. Miyamoto,<sup>1,2,3,4</sup> D. Hirai,<sup>1</sup> C. C. A. Fung,<sup>5</sup> A. Inutsuka,<sup>2</sup> M. Odagawa,<sup>1</sup> T. Suzuki,<sup>1</sup> R. Boehringer,<sup>6</sup> C. Adaikkan,<sup>6</sup> C. Matsubara,<sup>1</sup> N. Matsuki,<sup>3</sup> T. Fukai,<sup>5</sup> T. J. McHugh,<sup>6</sup> A. Yamanaka,<sup>2</sup> M. Murayama<sup>1\*</sup>

Miyamoto *et al.* *Science* 352, 1315, 2016

# 運動野M2から感覚野S1への入力を斜断

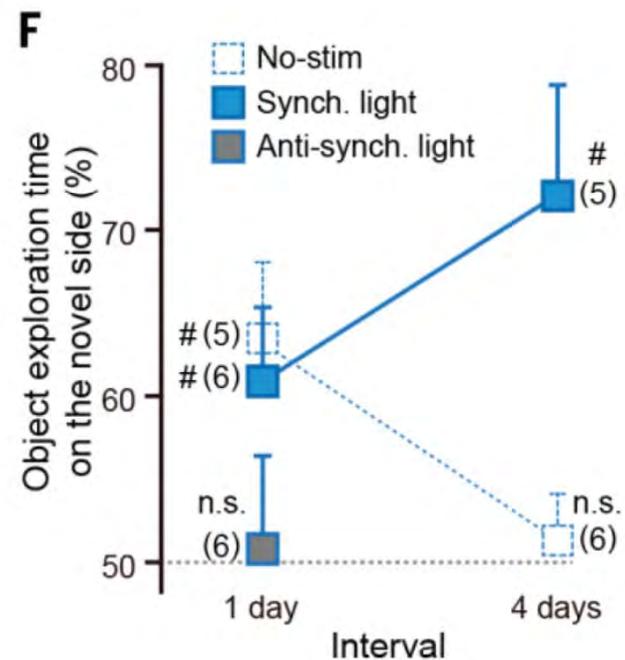
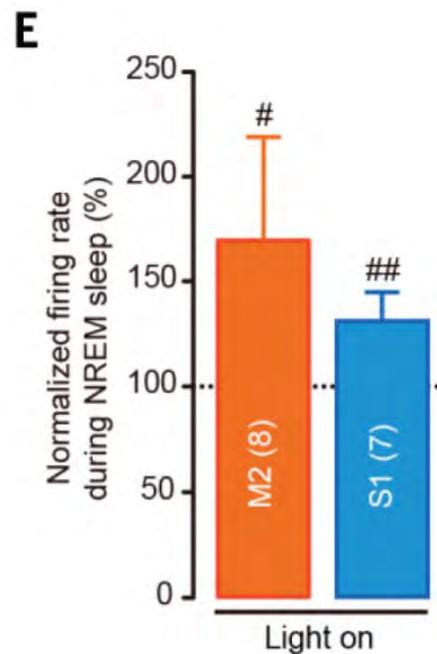
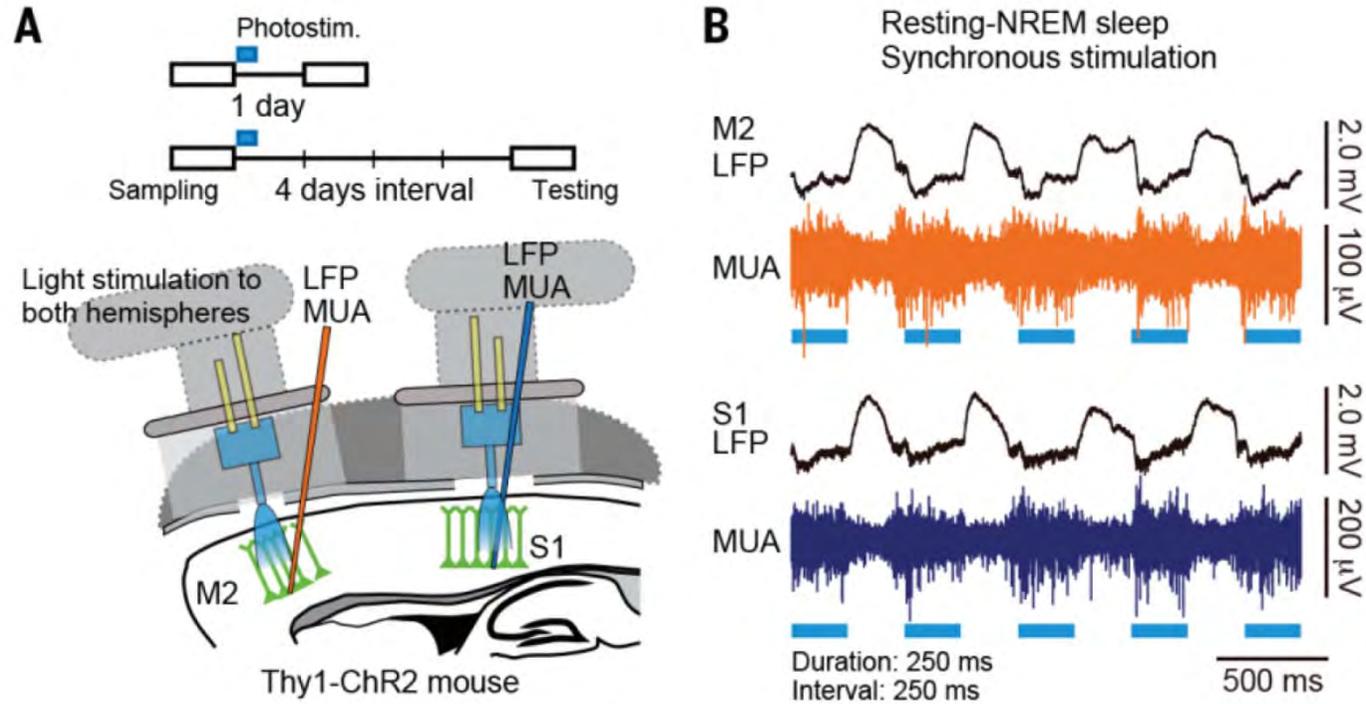


## 参考

### A Top-Down Cortical Circuit for Accurate Sensory Perception

Manita *et al.* Neuron 86, 1304, 2015

# M2-S1 の同時活性化で記憶増強



**レム睡眠の必要性**

**θ波による記憶の増強**

# レム睡眠も記憶強化に重要である



**SCIENCE**

**SLEEP RESEARCH**

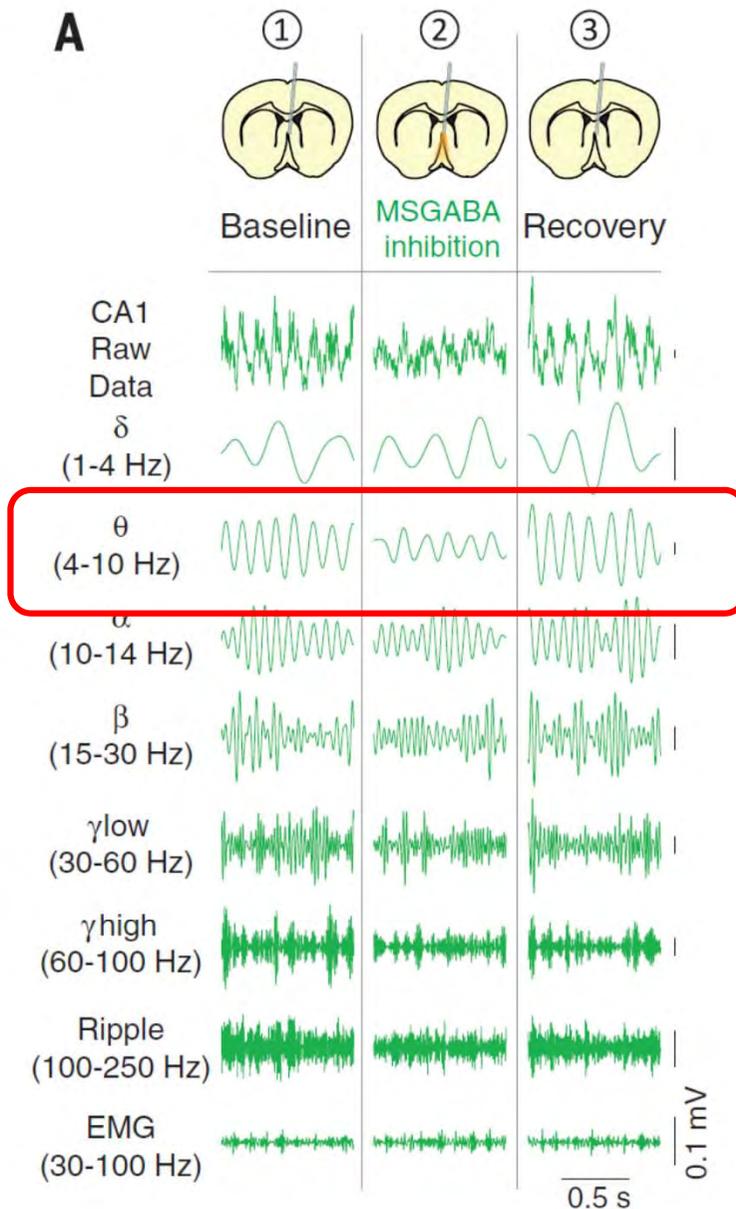
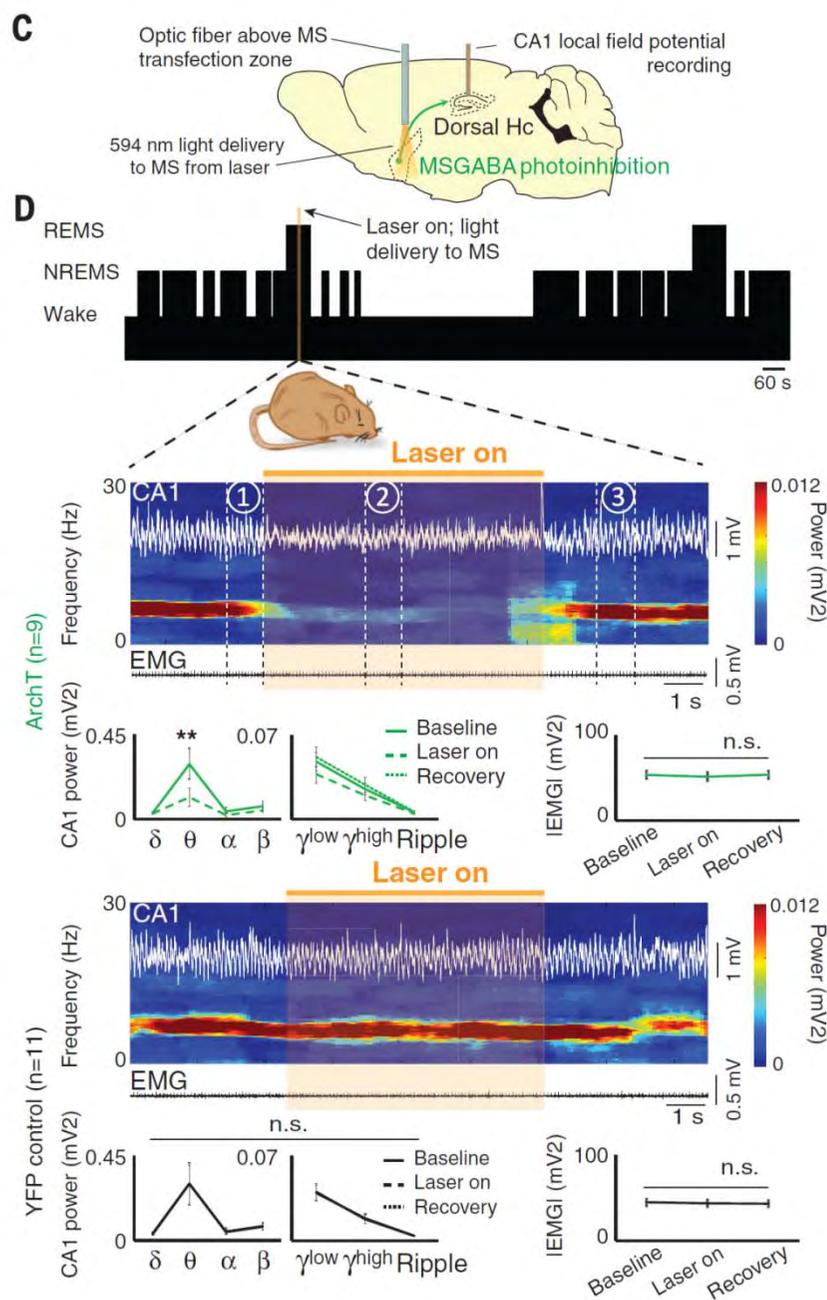
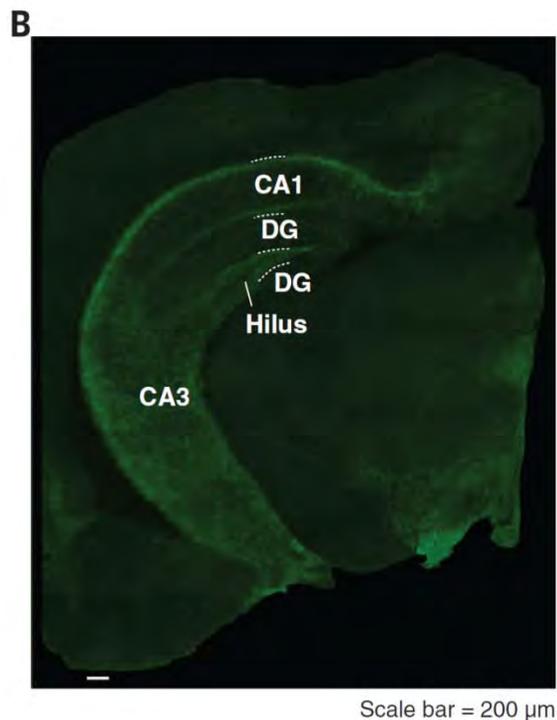
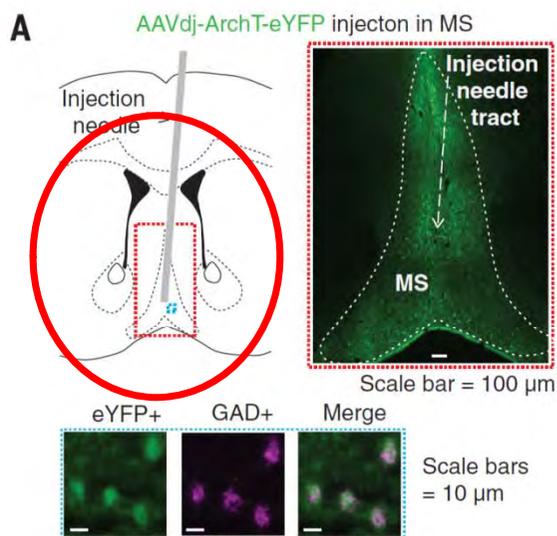
**812** 13 MAY 2016 • VOL 352 ISSUE 6287

## Causal evidence for the role of REM sleep theta rhythm in contextual memory consolidation

Richard Boyce,<sup>1</sup> Stephen D. Glasgow,<sup>2</sup> Sylvain Williams,<sup>2\*†</sup> Antoine Adamantidis<sup>2,3\*†</sup>

**Boyce et al. Science 352, 812, 2016**

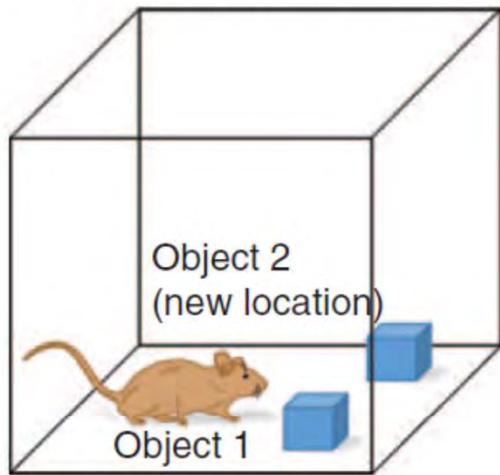
# 中隔のGABA神経活性化でREM-θ波に変化



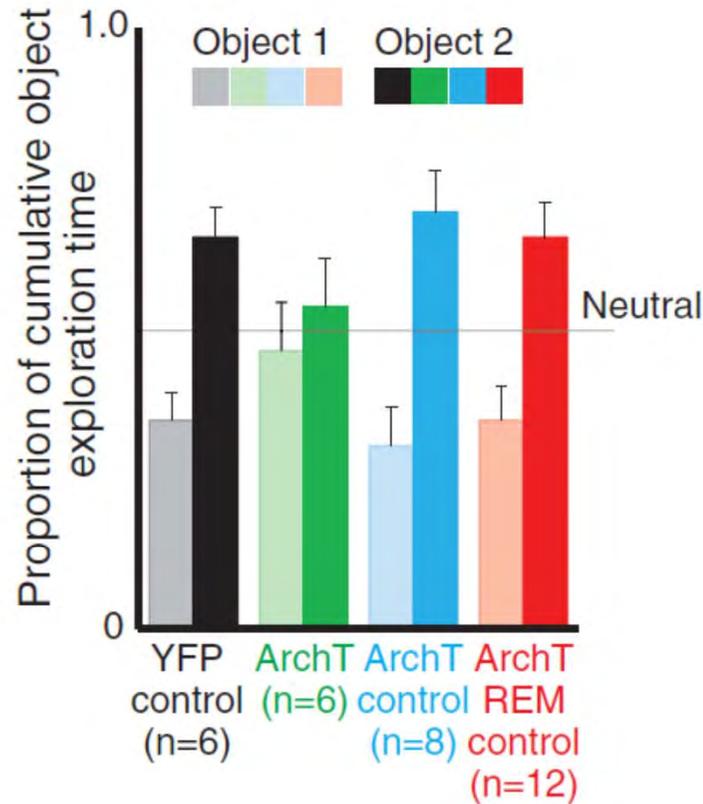
# REM theta波の抑制で記憶障害

## D Day 2 NOPR test

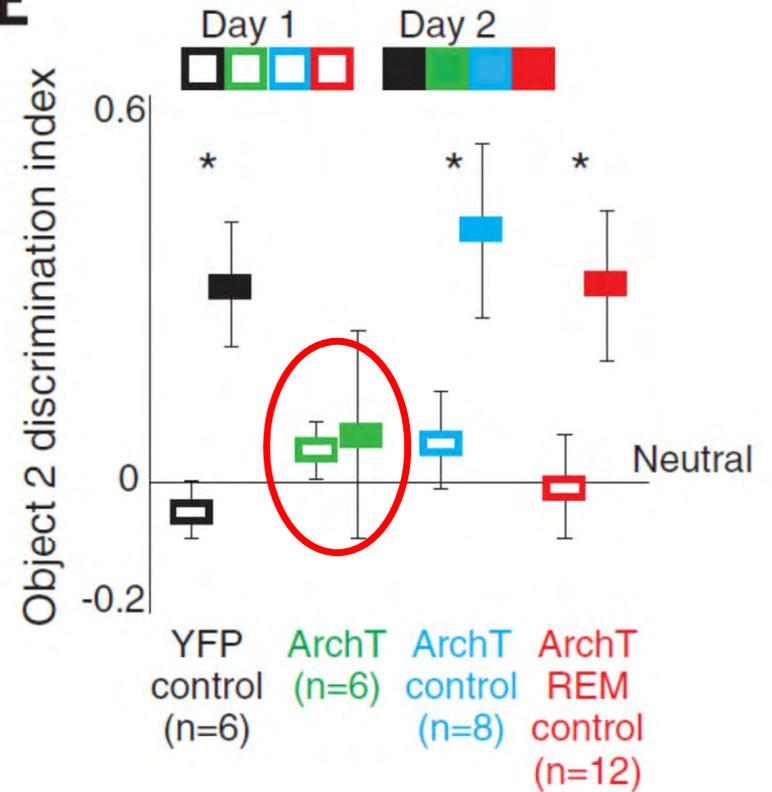
Novel object place recognition



8:30 AM - 8:40 AM



## E



# 睡眠の生理機能

ノンレム・レムともに記憶に重要

# 恒常性維持機構の基盤の研究

# 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、断眠して、その脳脊髄液を採取して、分析した。**
- **その脳脊髄液を、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**

## **睡眠物質の追及（多数の研究）**

**単独の睡眠物質で説明できるほど、  
単純ではなかった**

**覚醒シグナルは大脳皮質に何をするか？**

**脳幹の覚醒物質の神経細胞への作用**

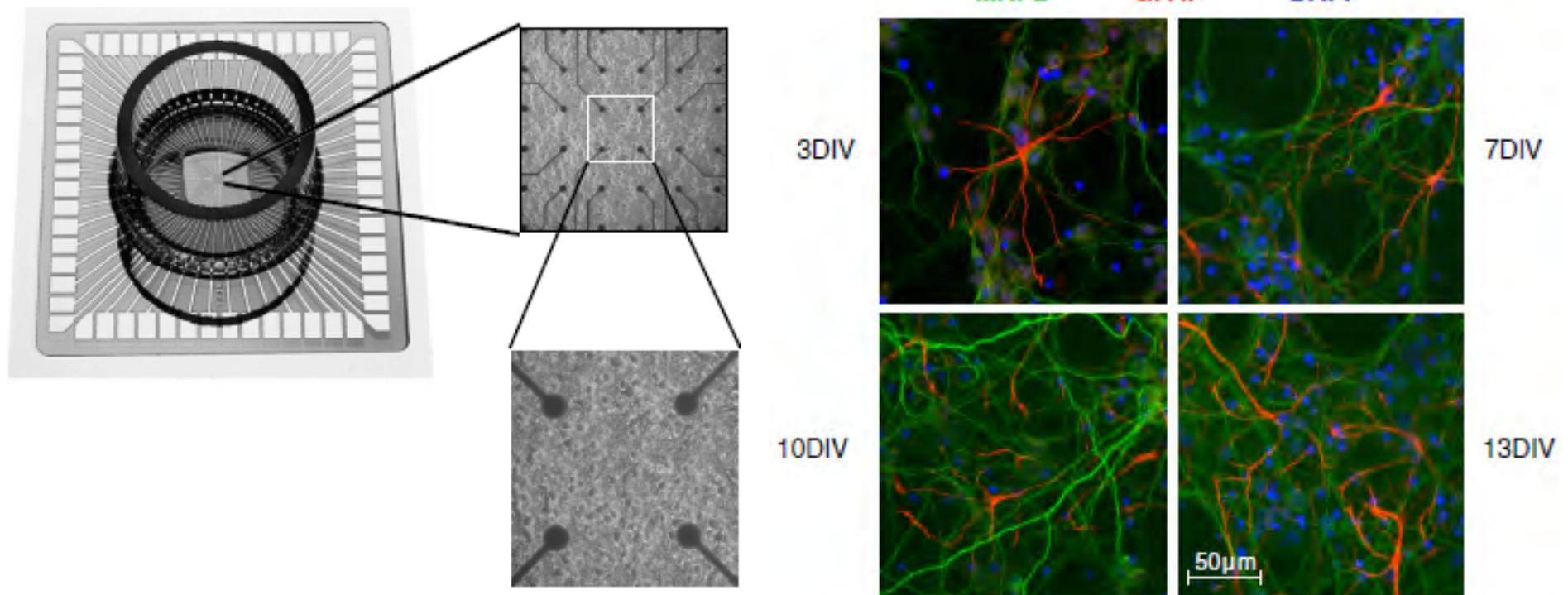
# 神経細胞レベルでの睡眠？

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

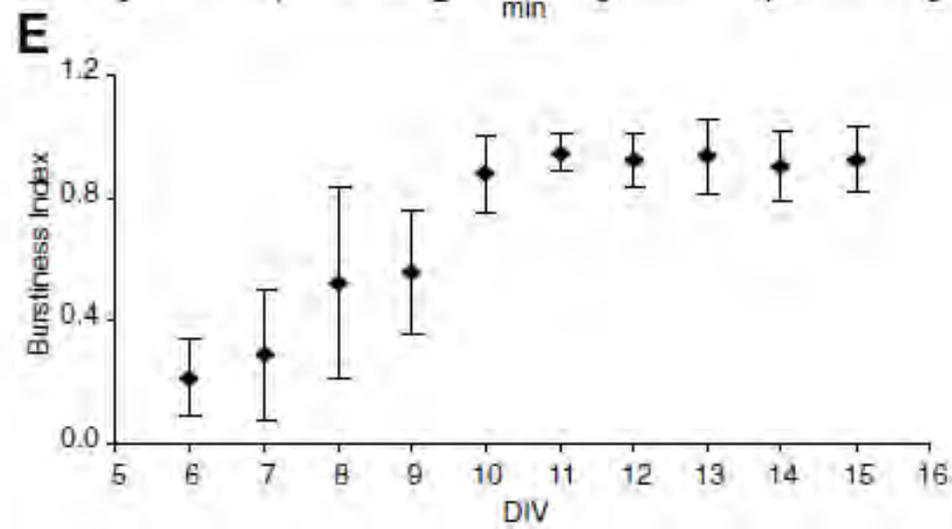
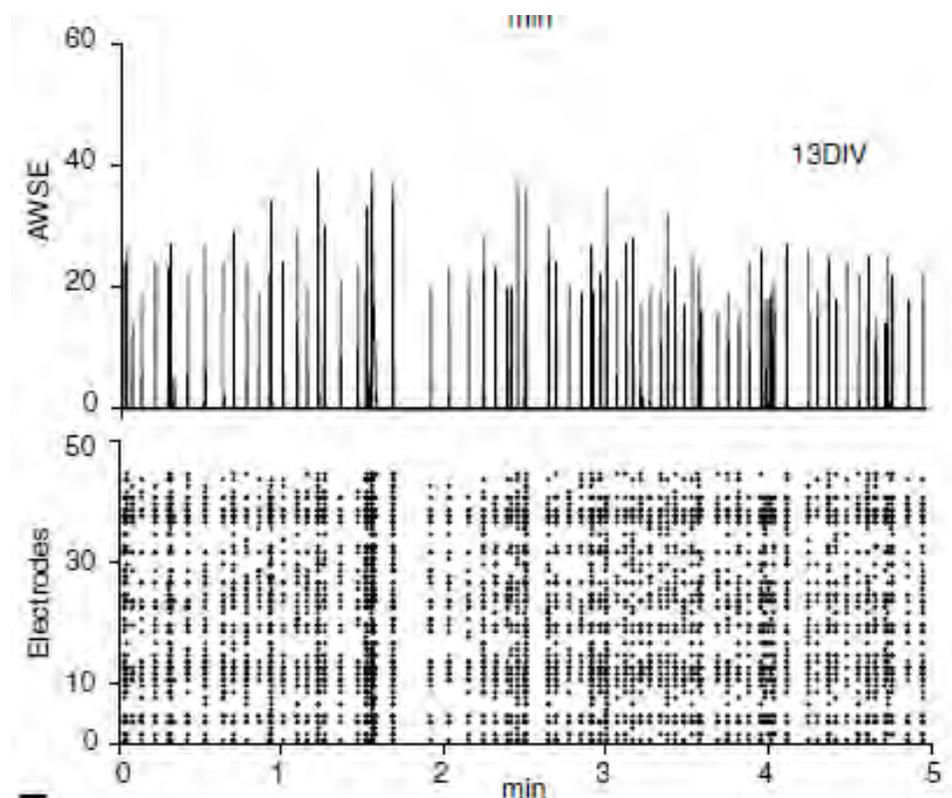
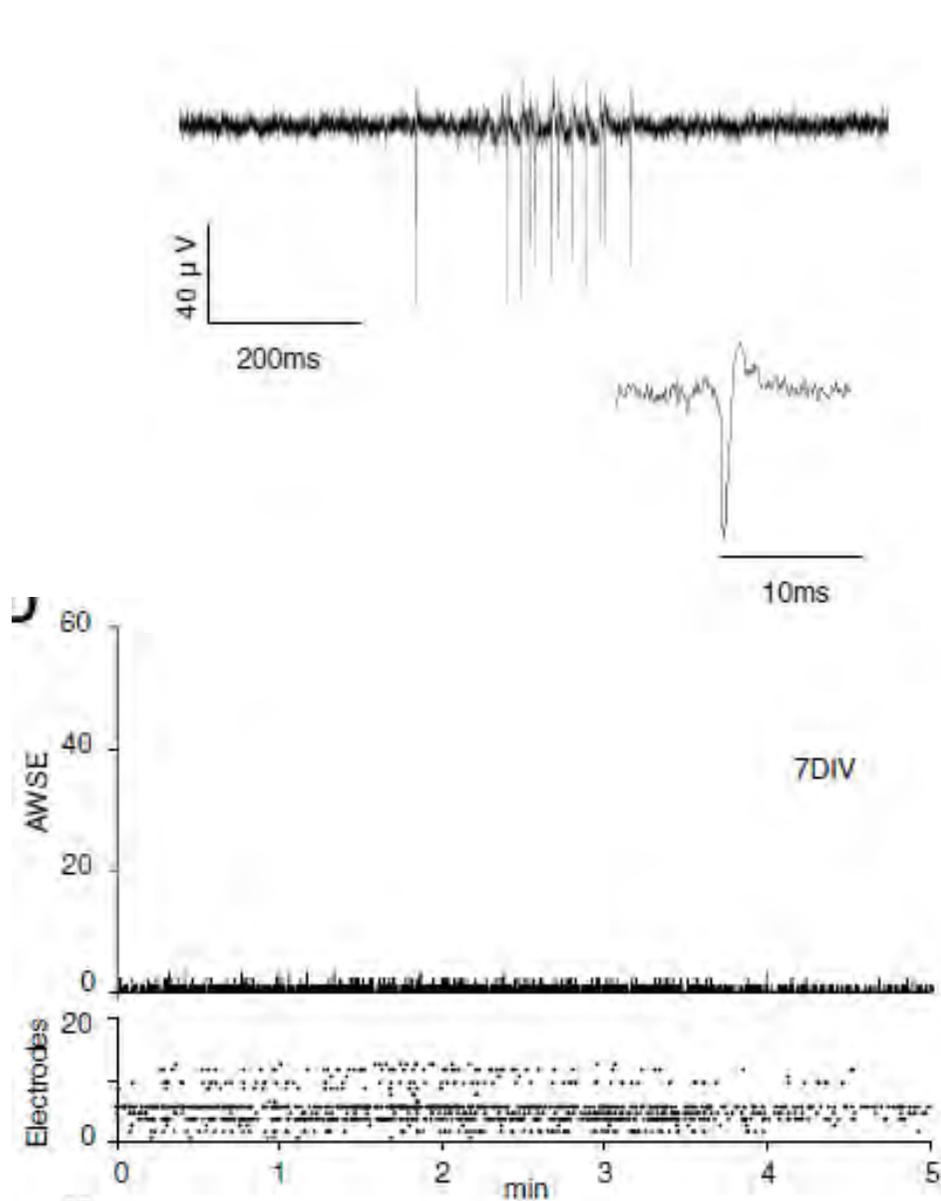
**J. Neurosci. 32:12506 (2012)**

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

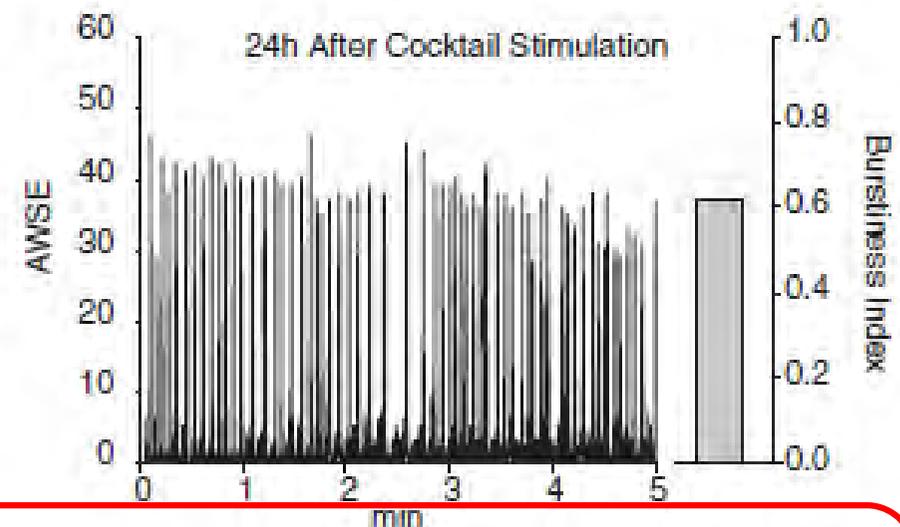
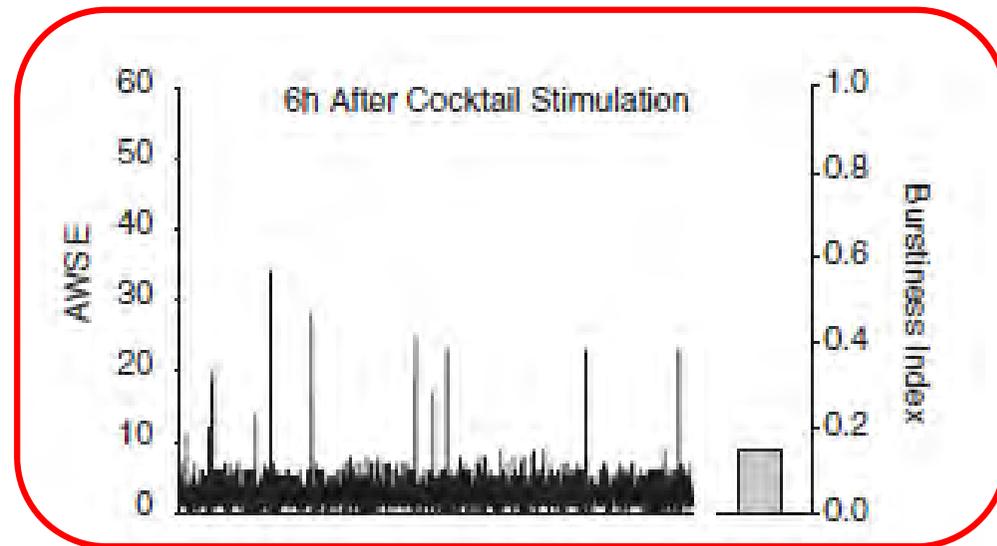
<sup>1</sup>Center for Integrative Genomics and <sup>2</sup>The Genomic Technology Facility, University of Lausanne, and <sup>3</sup>Laboratory for Integrative and Systems Physiology, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, CH-1015 Lausanne, Switzerland



# 培養神経が同期発火を始める

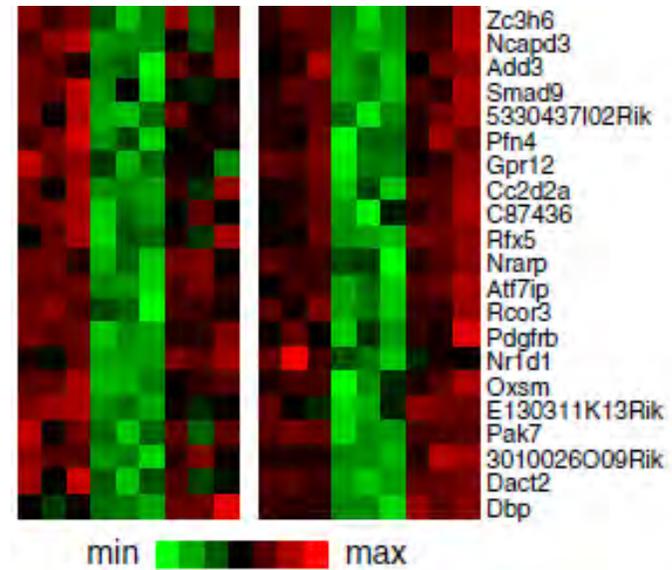
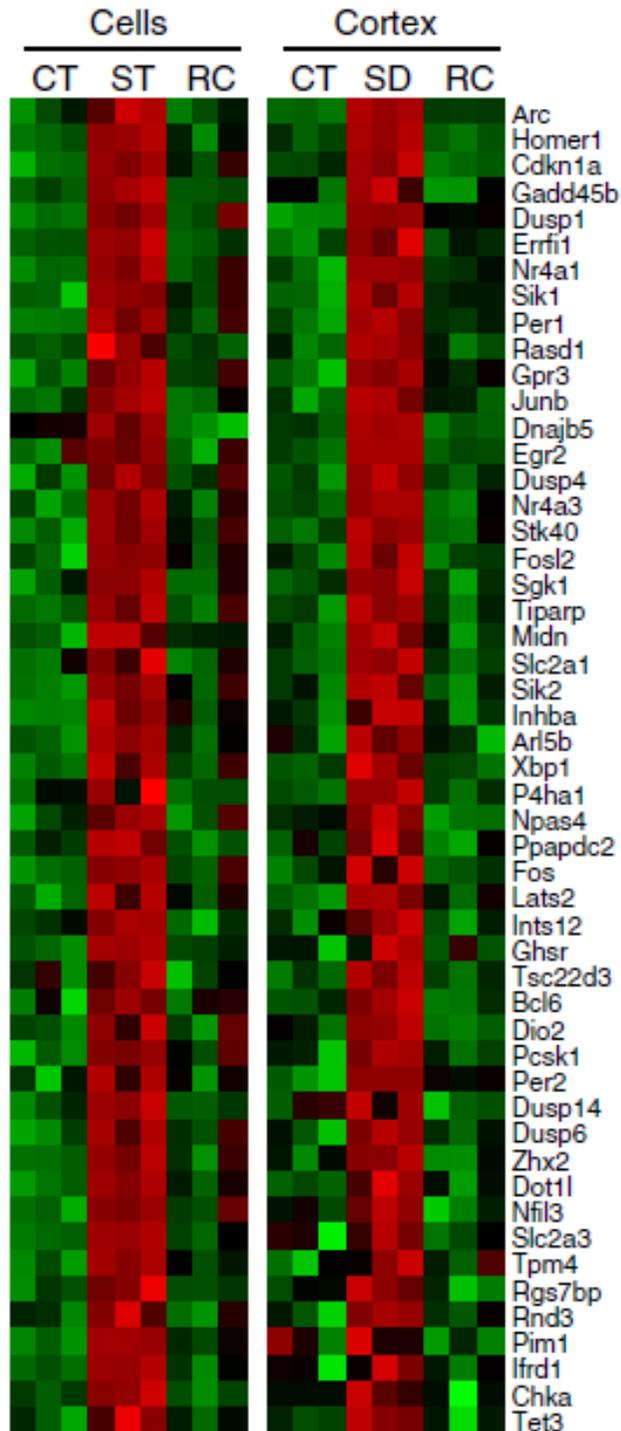


# 覚醒カクテル刺激？



**1  $\mu\text{M}$  NMDA, AMPA, kainate, ibotenic acid, serotonin, histamine, dopamine, noradrenaline, 10  $\mu\text{M}$  carbacol, 0.01  $\mu\text{M}$  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**

# より生理的条件下での研究

# 細胞外のイオン濃度の変化

細胞の活性化状態に影響

# 睡眠中、脳内の細胞外液環境も変化

よく考えてみれば、当然かも知れませんが…

# 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

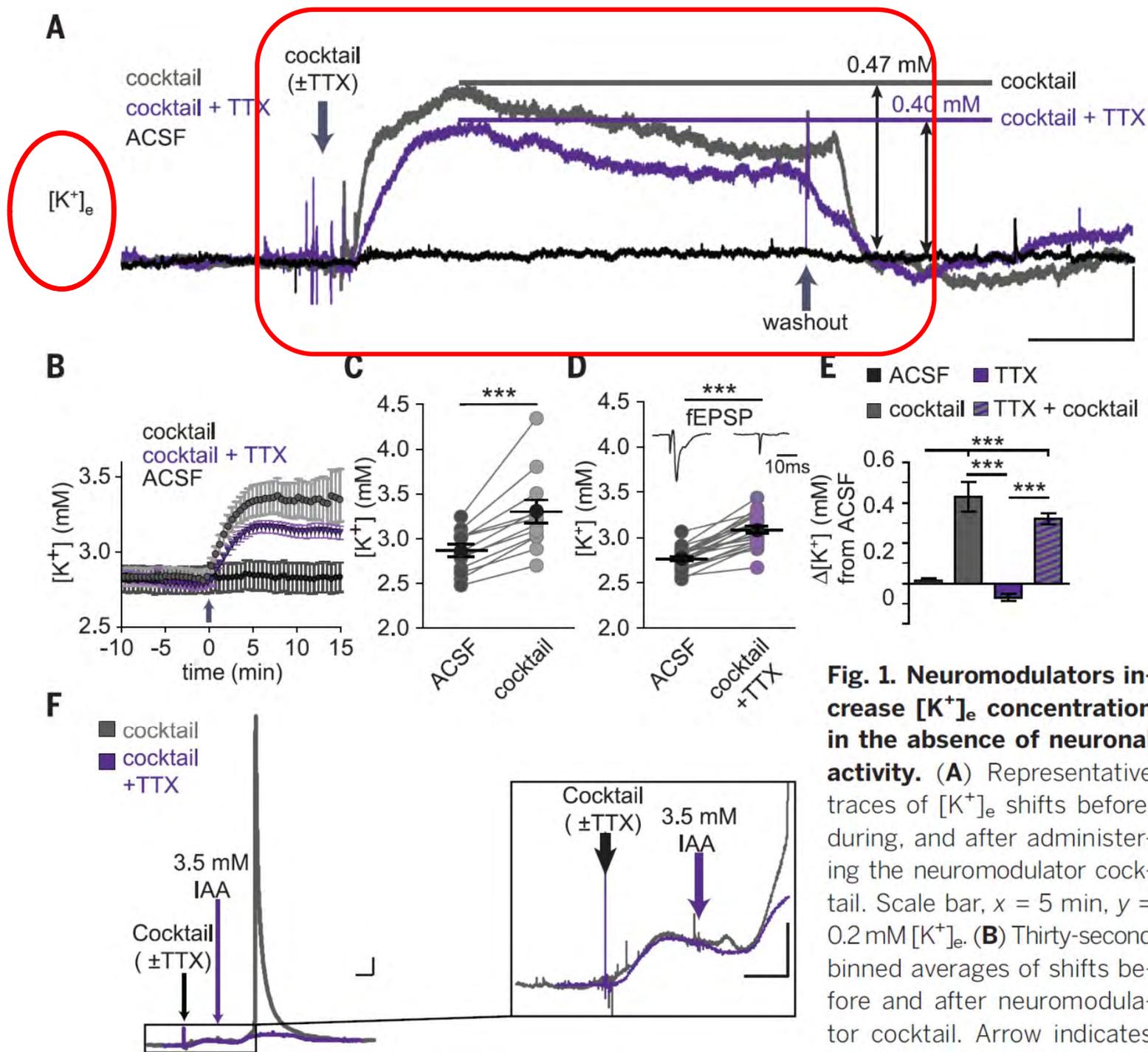
Fengfei Ding,<sup>1,2\*</sup> John O'Donnell,<sup>1\*</sup> Qiwu Xu,<sup>1</sup> Ning Kang,<sup>1</sup>  
Nanna Goldman,<sup>1</sup> Maiken Nedergaard<sup>1,3†</sup>

**Ding *et al.* Science 352, 550, 2016**

# Changes in $K^+$ , $Ca^{2+}$ in CSF

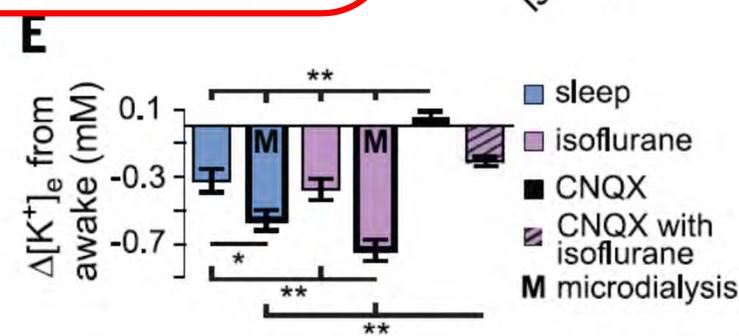
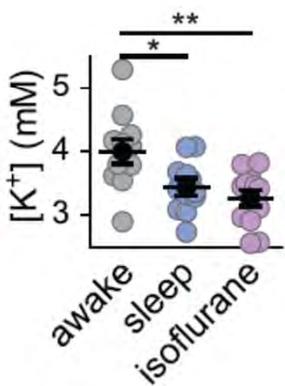
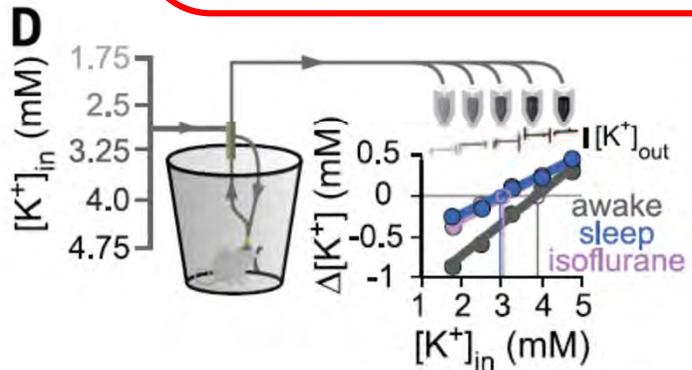
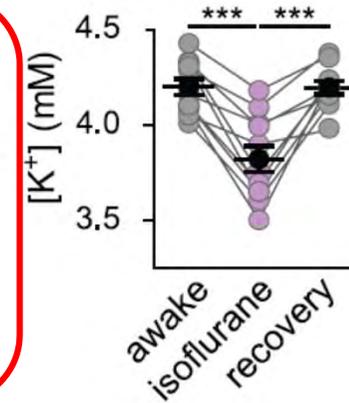
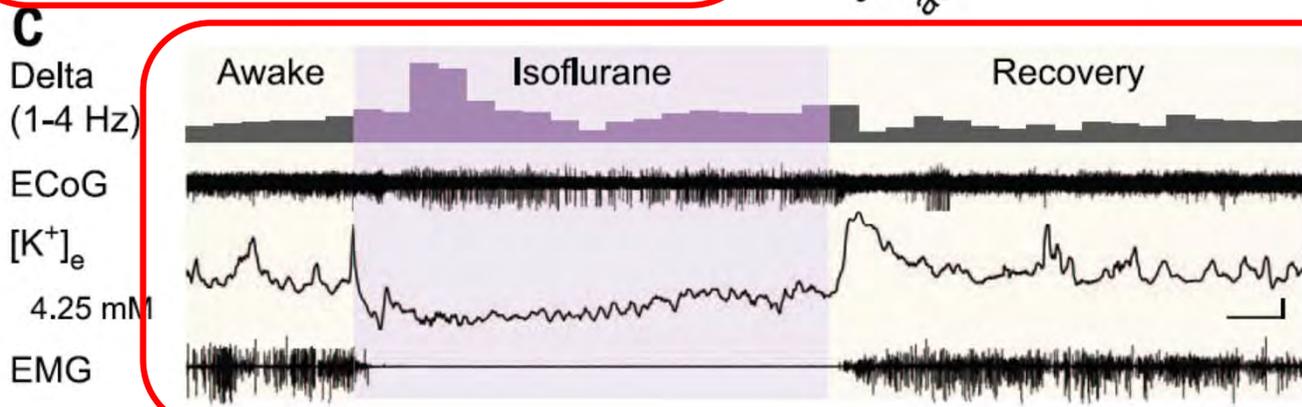
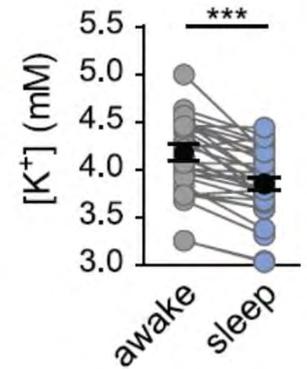
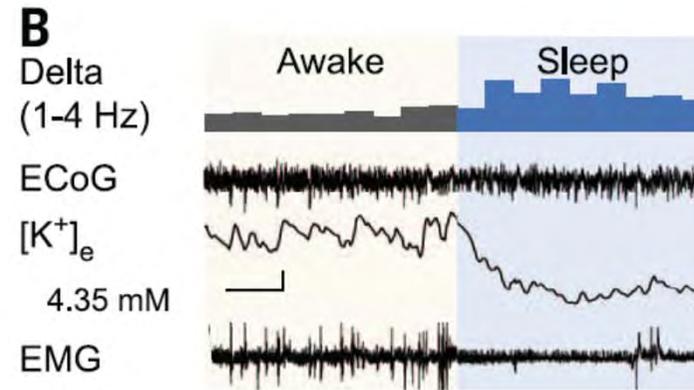
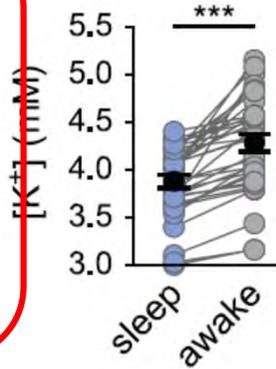
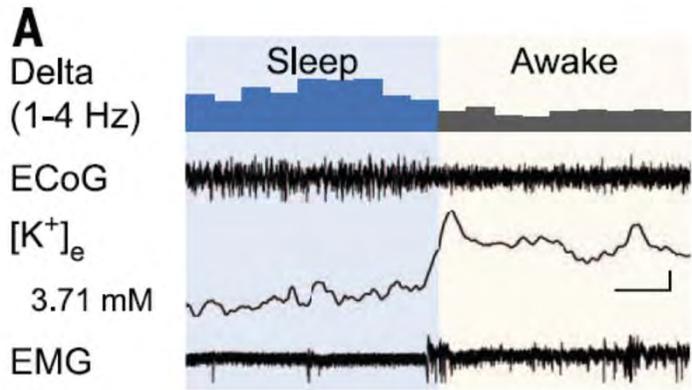
**Arousal cocktail:  
NE, ACh, DA, Orexin, His**

# 覚醒物質が細胞外 $[K^+]_e$ を増加

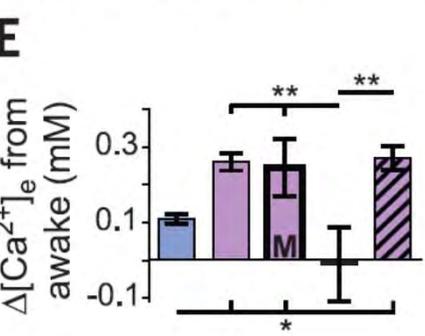
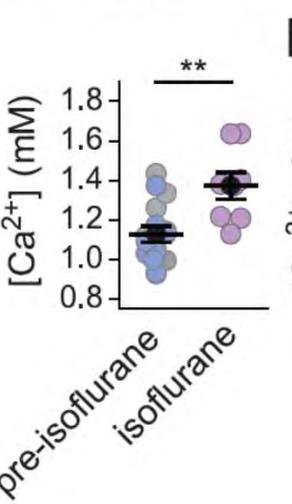
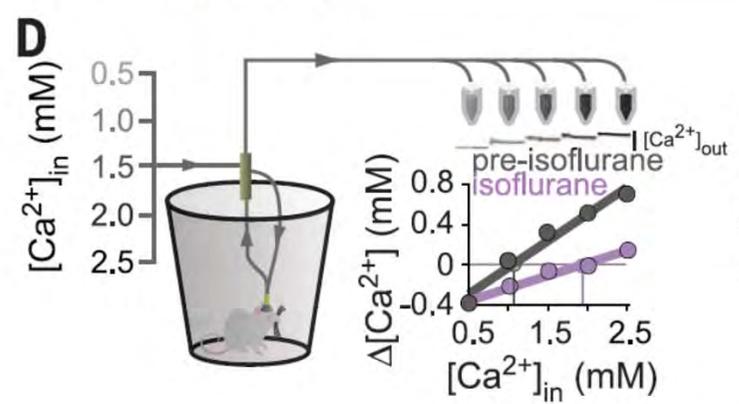
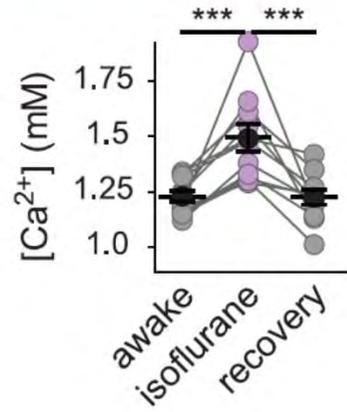
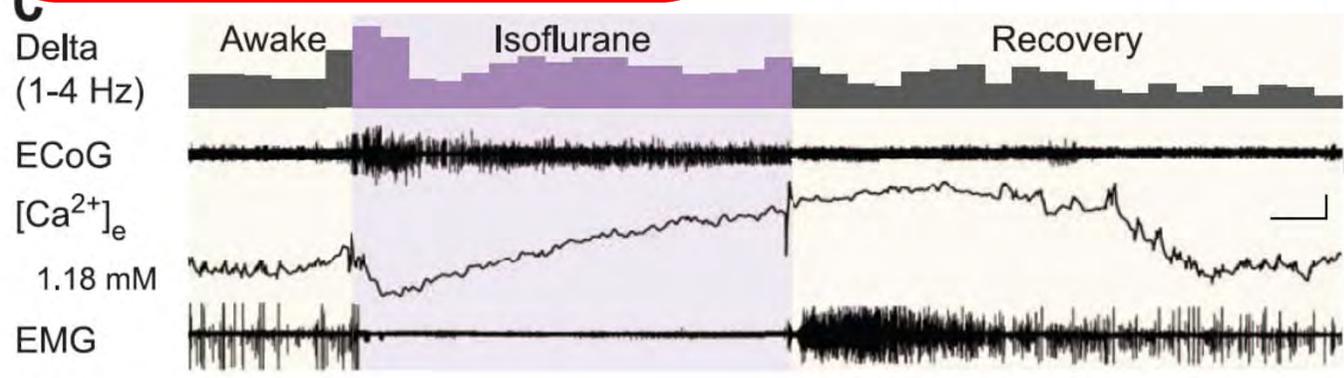
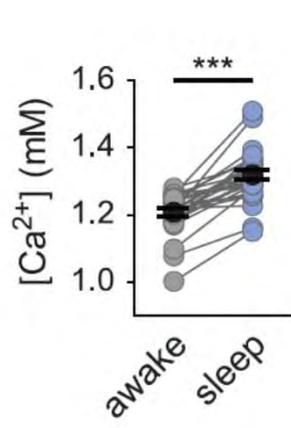
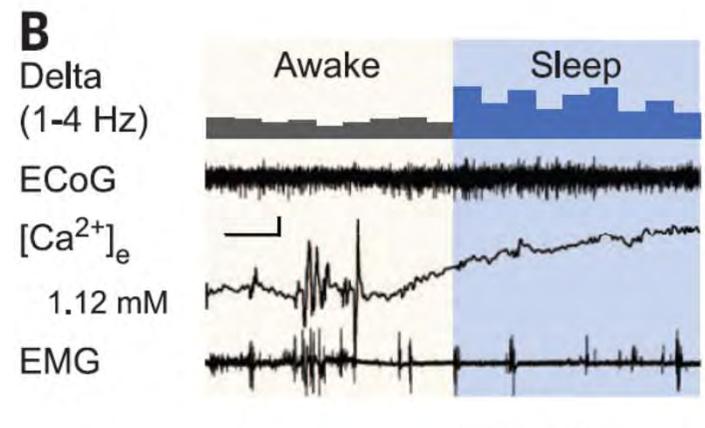
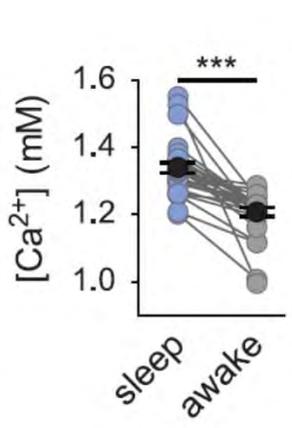
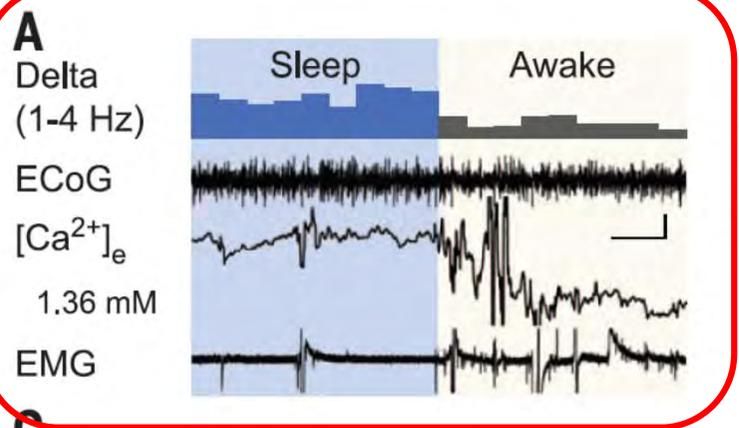


**Fig. 1. Neuromodulators increase  $[K^+]_e$  concentration in the absence of neuronal activity.** (A) Representative traces of  $[K^+]_e$  shifts before, during, and after administering the neuromodulator cocktail. Scale bar, x = 5 min, y = 0.2 mM  $[K^+]_e$ . (B) Thirty-second binned averages of shifts before and after neuromodulator cocktail. Arrow indicates time of cocktail administration.

# 覚醒中は、個体内でも[K<sup>+</sup>]が増加

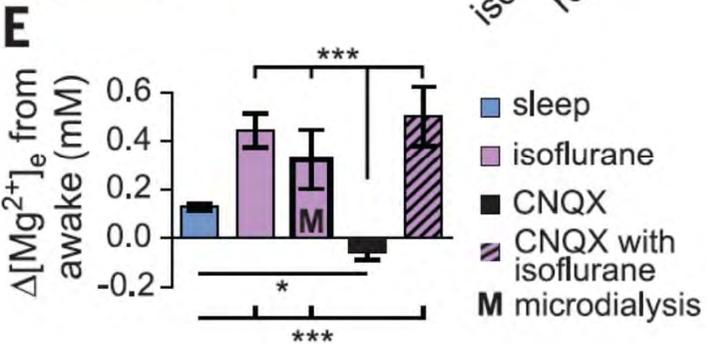
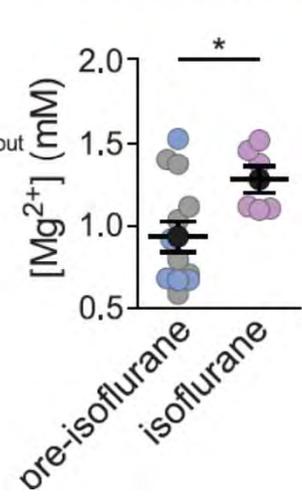
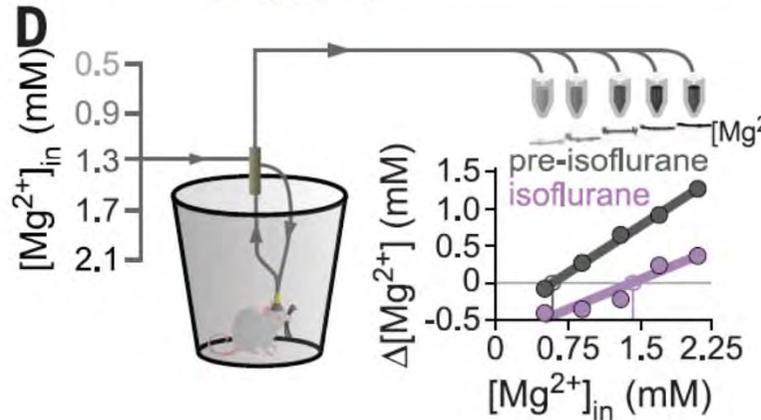
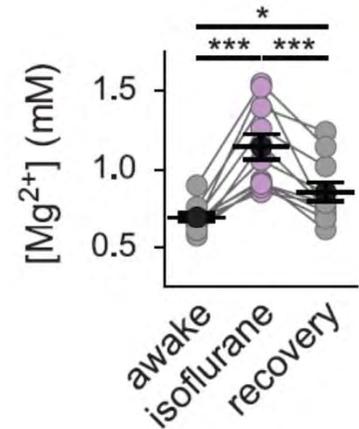
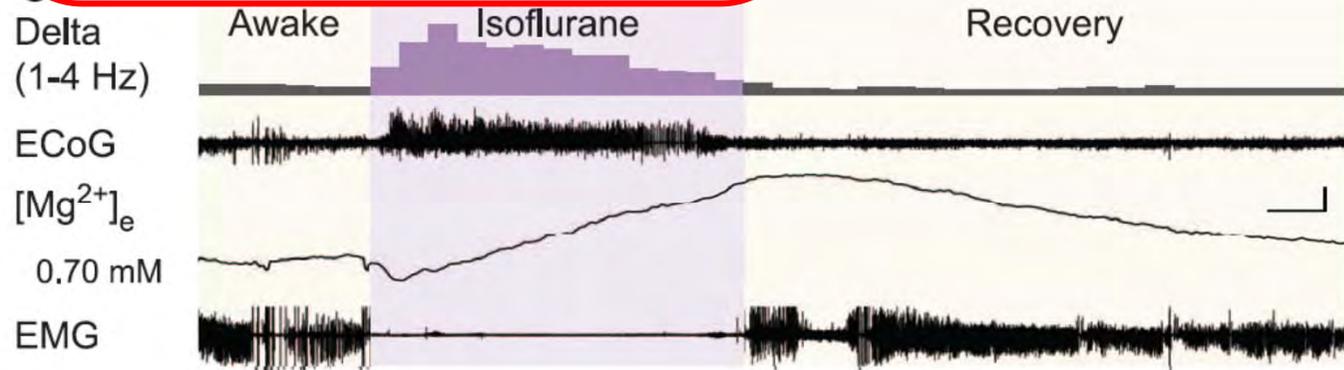
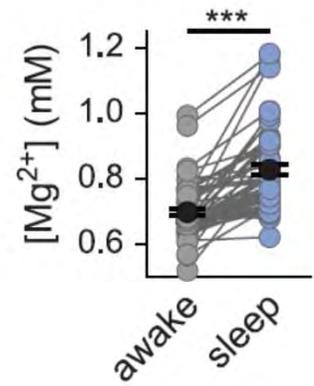
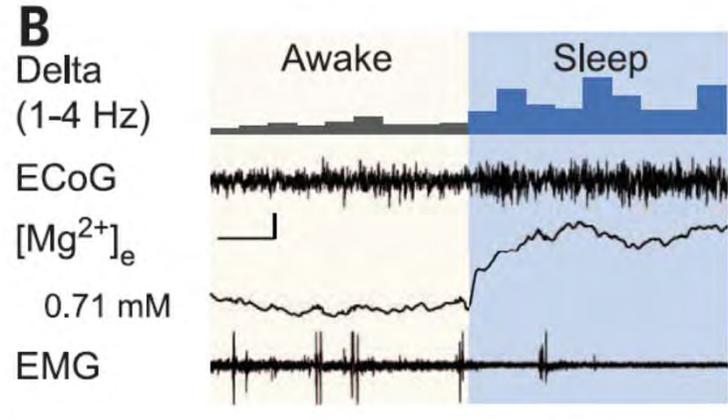
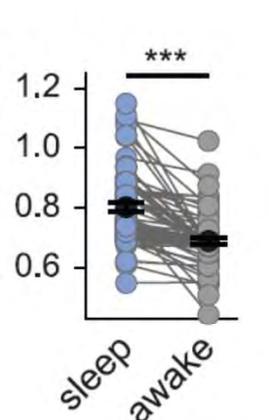
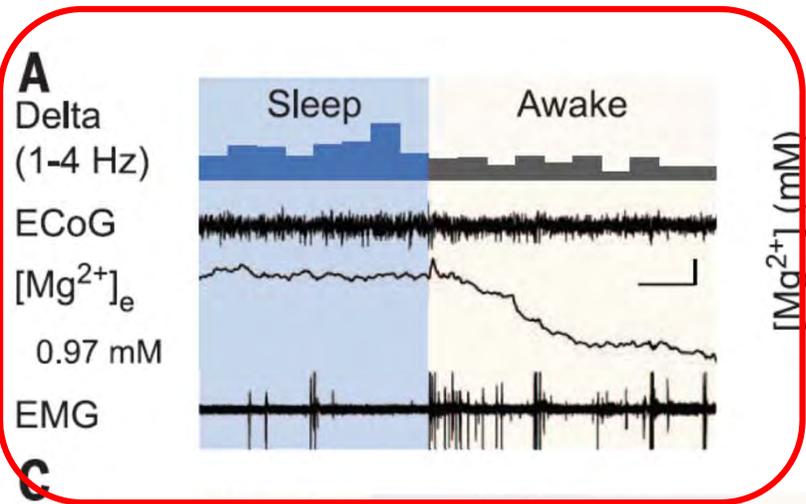


# 覚醒中は、細胞外[Ca<sup>2+</sup>]が減少



- sleep
- isoflurane
- CNQX
- CNQX with isoflurane
- M microdialysis

# 覚醒中は、細胞外[Mg<sup>2+</sup>]も減少



transitions (A) and 5  
One-way ANOVA,  $F($   
hoc Tukey test, \*\*\* $P$   
0.05 mM [Mg<sup>2+</sup>]<sub>e</sub>, 0.3  
ative awake-to-isofl  
and summary of cha  
peated measures AN  
Post-hoc Tukey test,  
 $x = 5$  min,  $y = 0.25$  r  
(D) Schematic of m  
summary. Represent  
calculation are show  
(gray) are pooled an  
awake, 8 sleep, and  
 $t$  test of isoflurane

# 細胞内のカルシウムイオンの役割

カルシウムが高まると眠い？

東大・上田研の研究から

# 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,\*</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

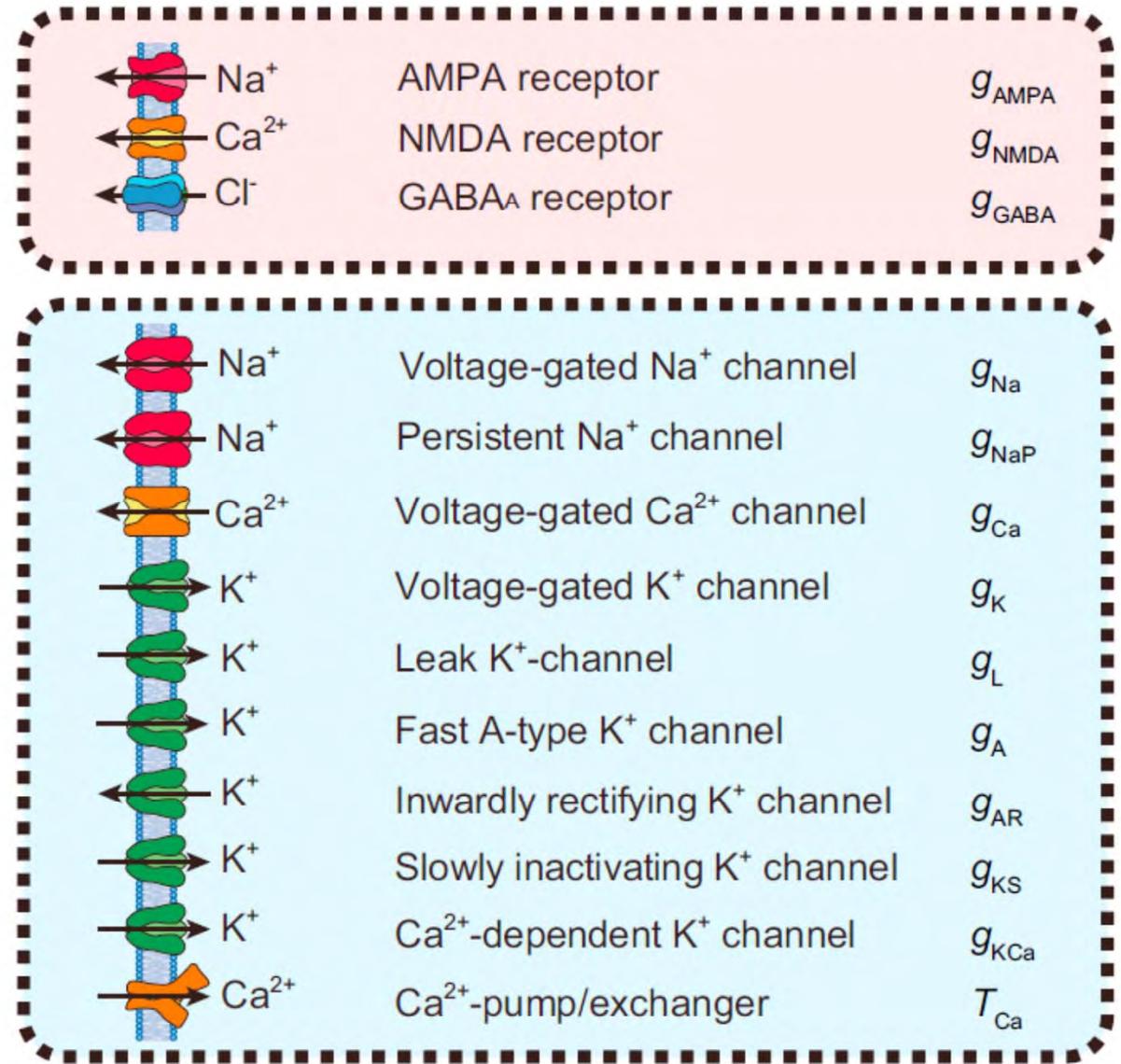
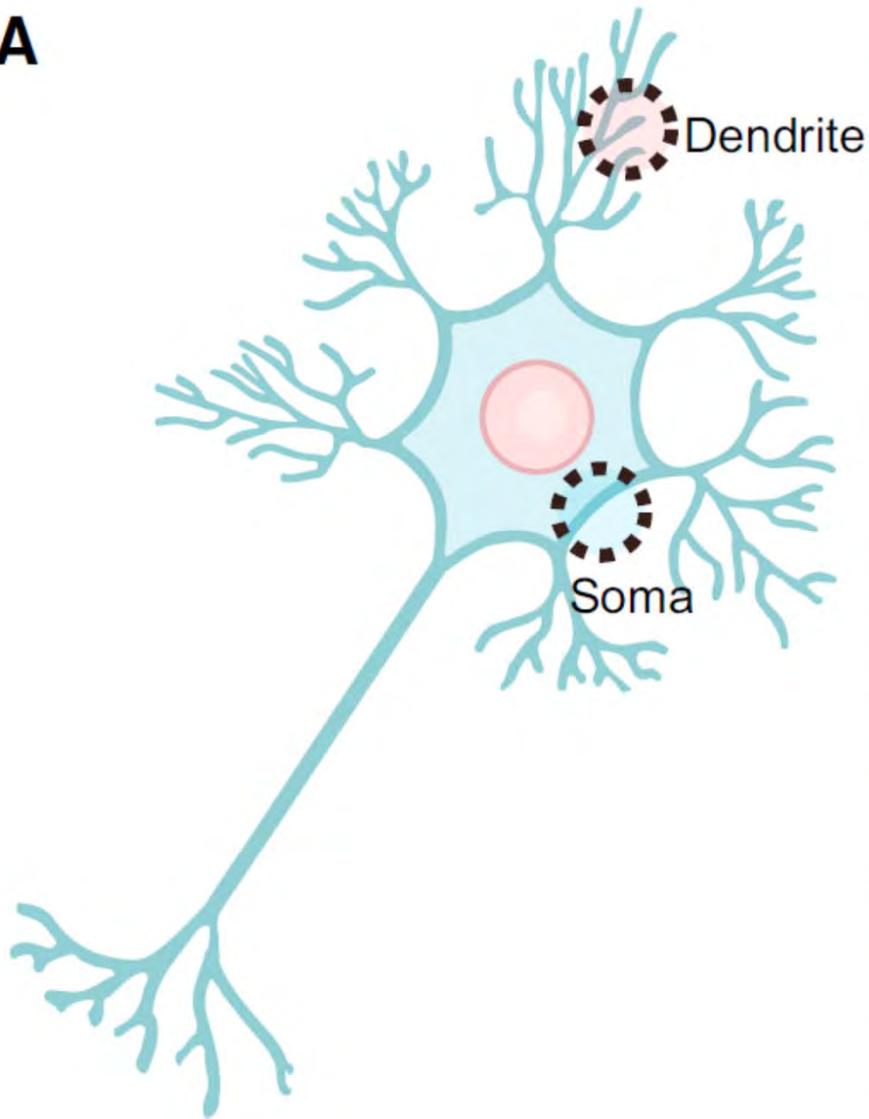
Genshiro A. Sunagawa,<sup>1,8</sup> Kenta Sumiyama,<sup>2,8</sup> Maki Ukai-Tadenuma,<sup>1,8</sup> Dimitri Perrin,<sup>1,6,8</sup> Hiroshi Fujishima,<sup>1</sup> Hideki Ukai,<sup>1</sup> Osamu Nishimura,<sup>5</sup> Shoi Shi,<sup>3</sup> Rei-ichiro Ohno,<sup>3</sup> Ryohei Narumi,<sup>1</sup> Yoshihiro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

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

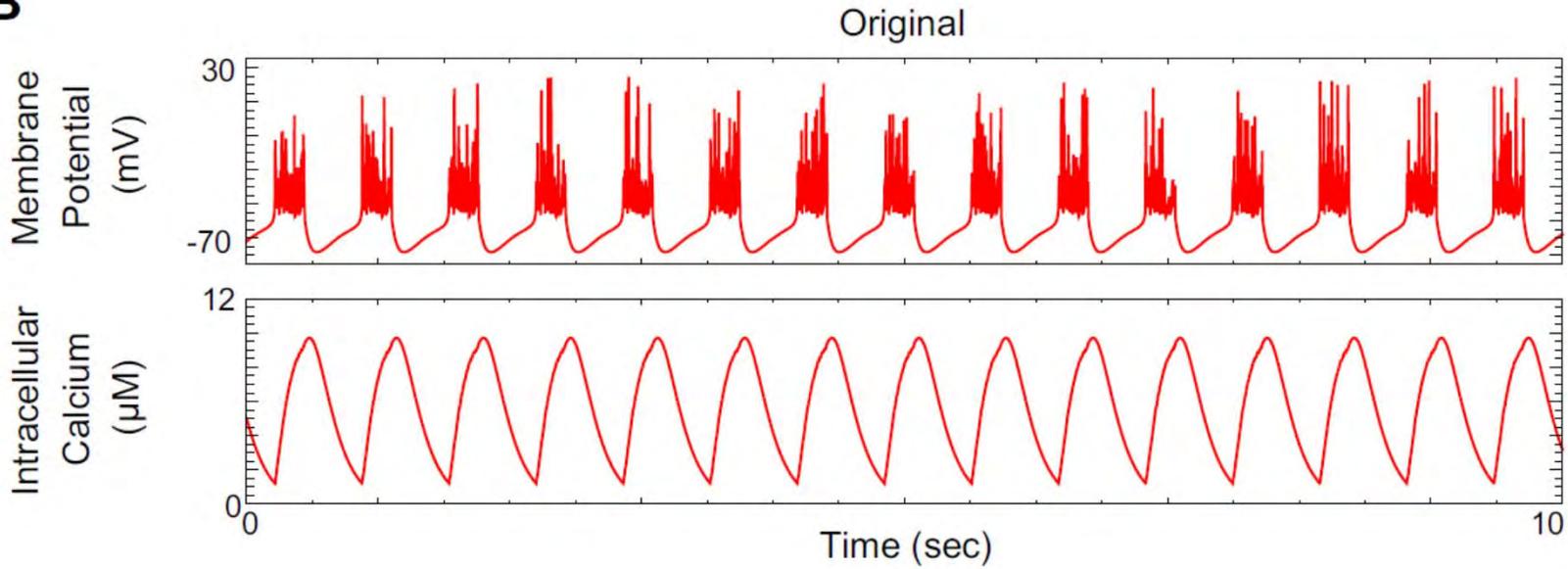
**平均 neuron モデルを作り  
oscillation が出現する条件を探した**

# Average Neuron model

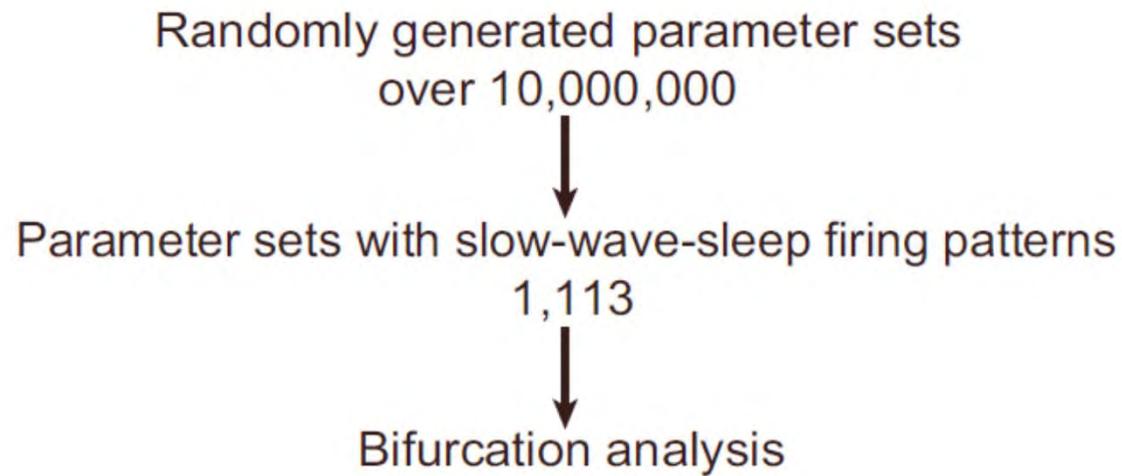
A

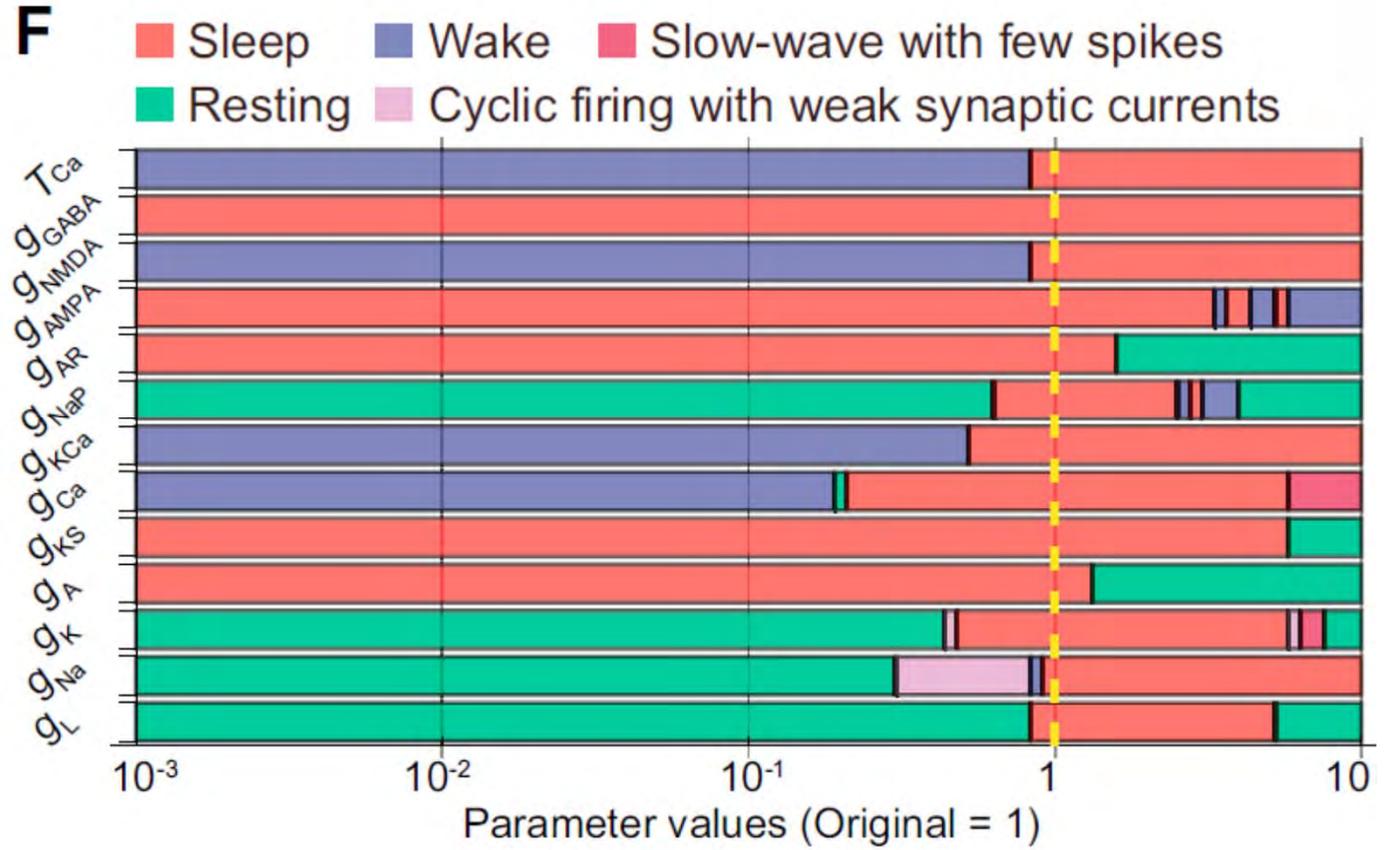
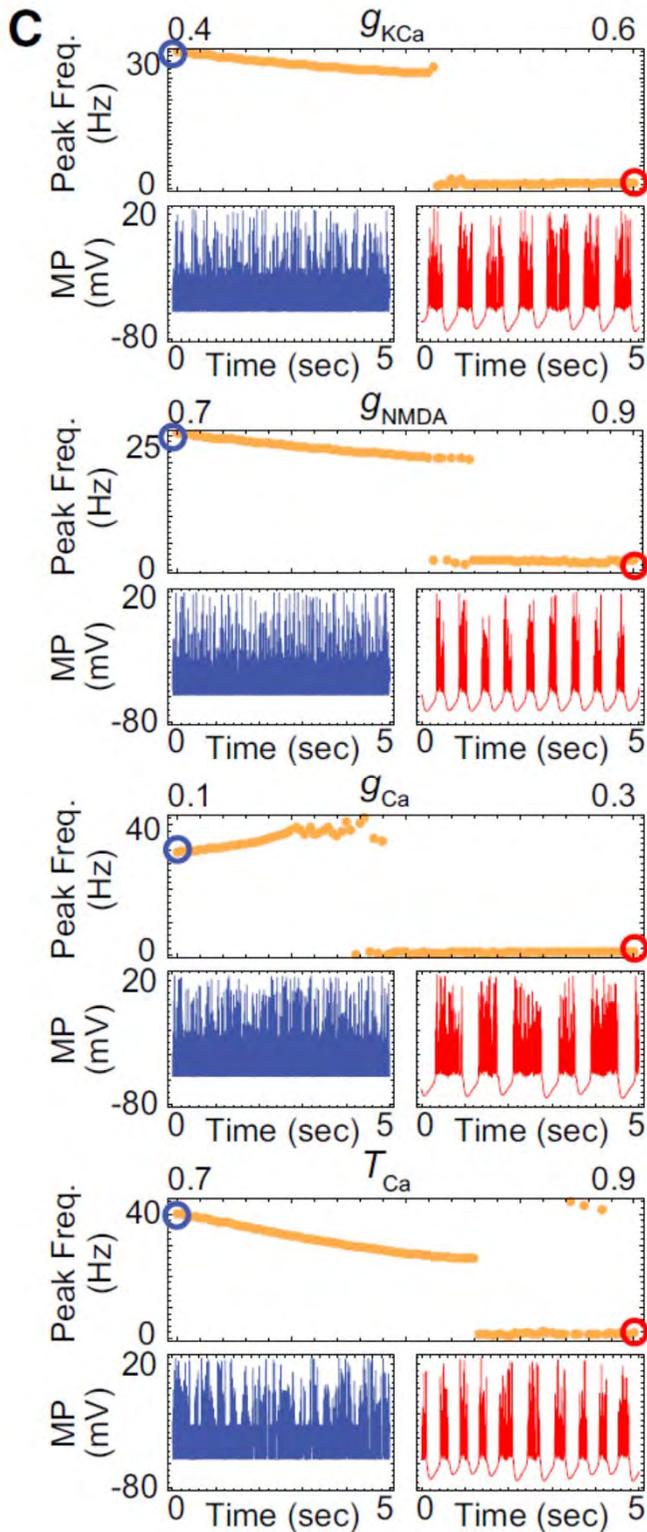


**B**



**D**





$$I = g(E - E_{rev})$$

**モデルからの仮説：**

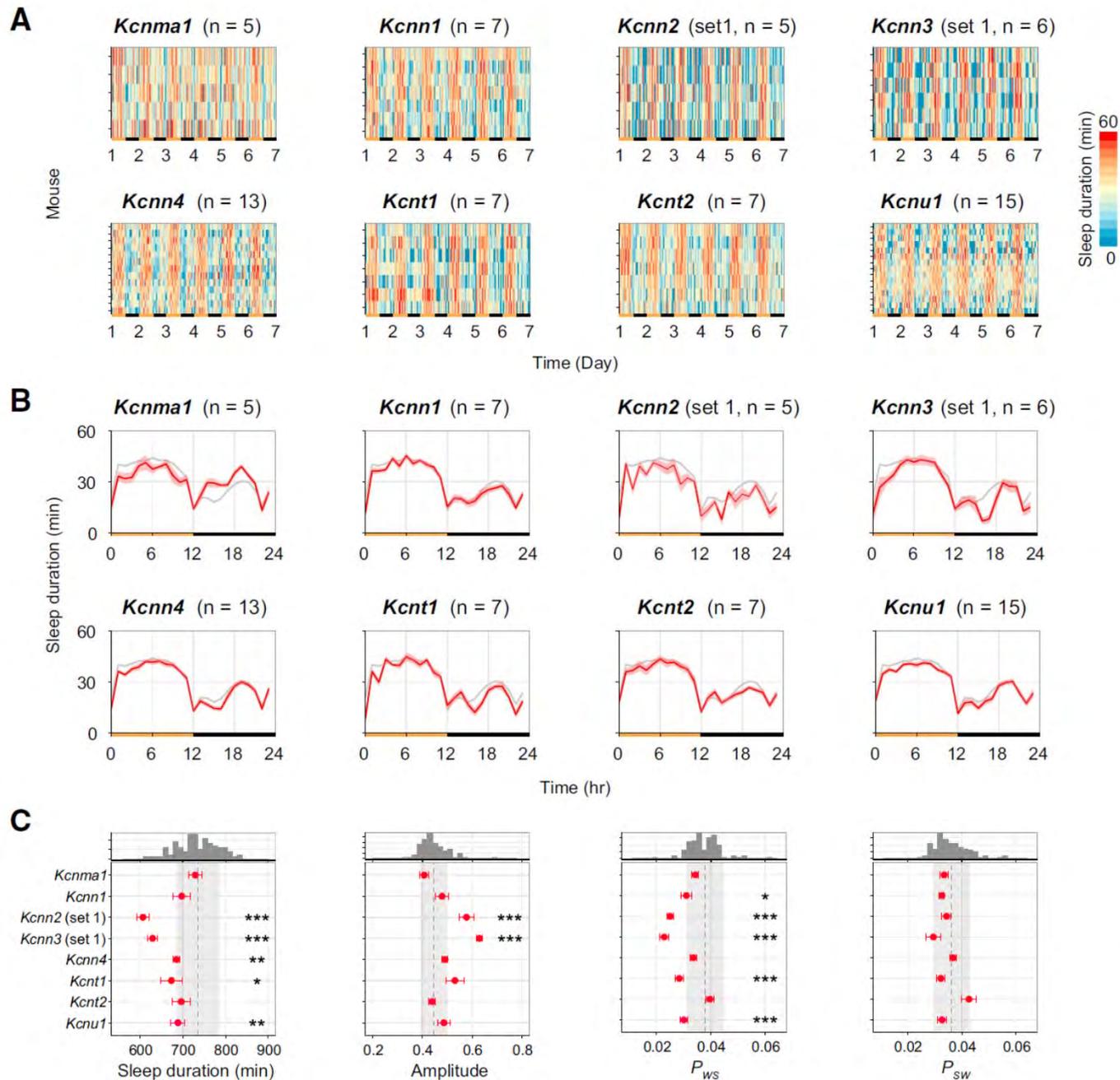
**細胞内[Ca<sup>2+</sup>]依存的な過分極による**

**神経細胞抑制が睡眠を増加する**



**ウェットの系で証明**

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



**Figure 2. Impairment of Ca<sup>2+</sup>-Dependent K<sup>+</sup> Channels Decreases Sleep Duration**

(A) Sleep duration (per hour) over 6 days for KO mice of eight K<sub>Ca</sub> channels.

(B) Sleep duration (per hour) over 24 hr, averaged over 6 days in the KO mice of K<sub>Ca</sub> 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<sub>Ca</sub> channels. Histogram: WT (n = 108). Black dashed line and gray shade: the mean and 1 SD range from the recording of WT.

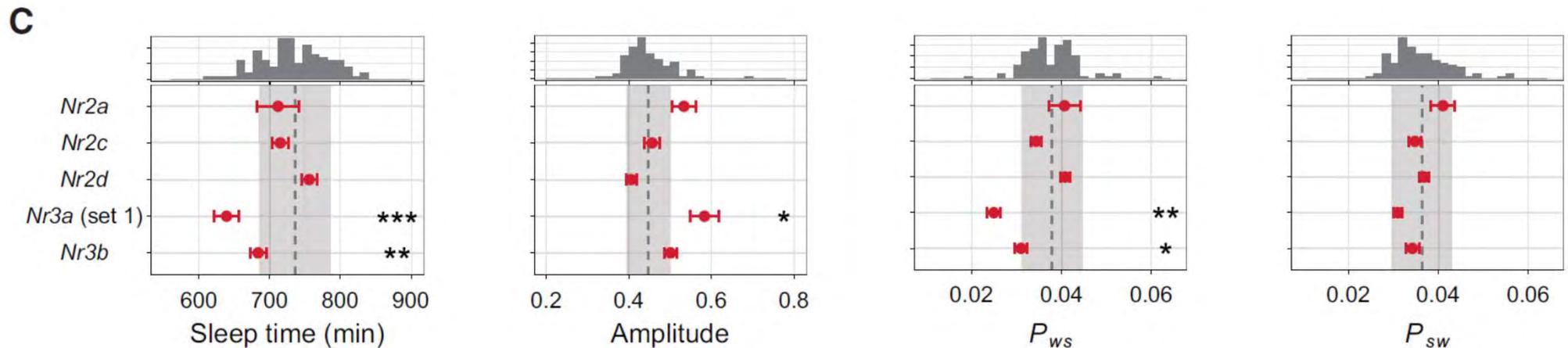
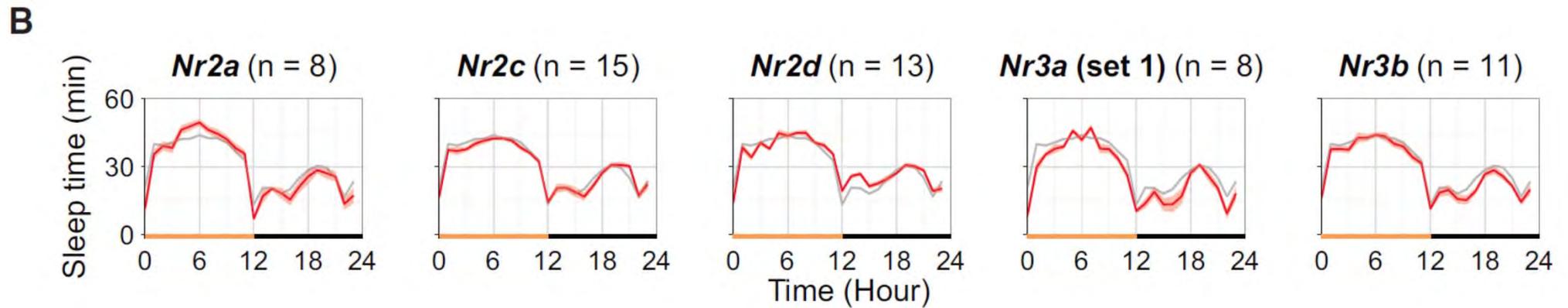
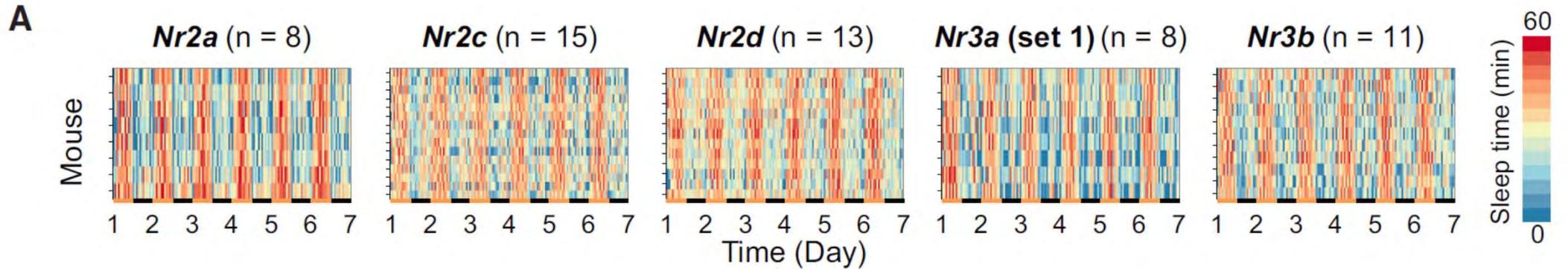
(D–F) Sleep-duration phenotype for another group of *Kcnn2* and *Kcnn3* KO mice (set 2). Sleep duration (per hour) over 6 days (D), sleep duration (per hour) over 24 hr, averaged over 6 days (E), and distributions of sleep/wake parameters (F) are shown.

(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.

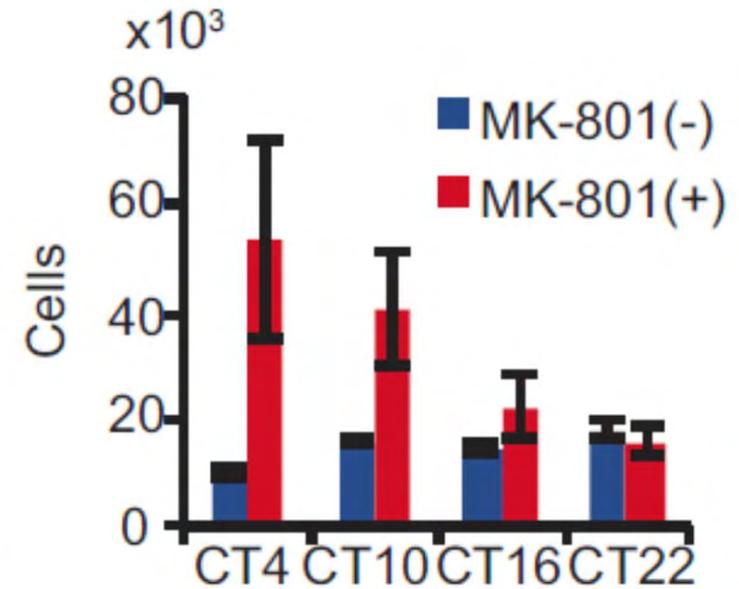
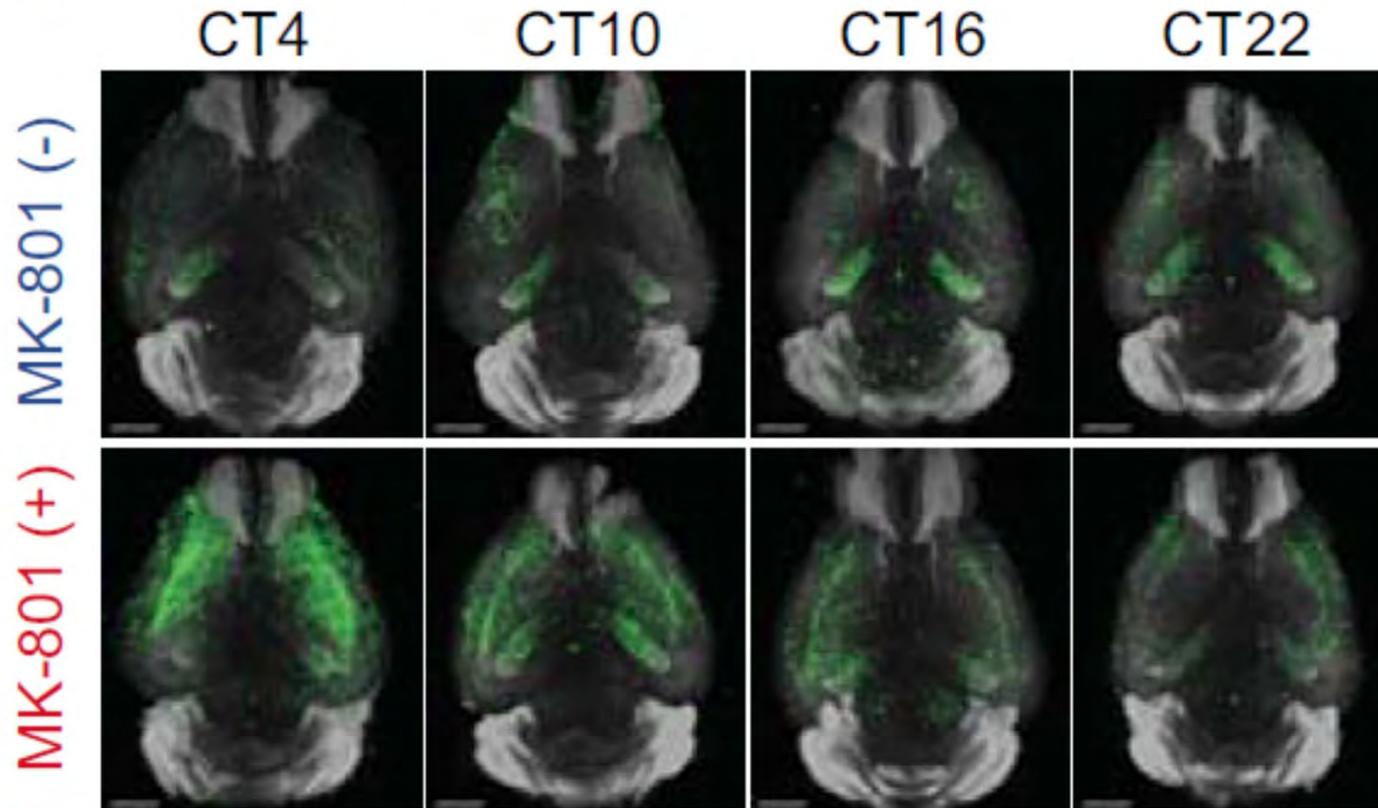
# NMDA受容体KOマウスで睡眠減少



# NMDA拮抗薬MK801が神経活動活性化

Arc-dVenus mice

**A** Whole brain



## DISCUSSION

**Ca<sup>2+</sup>-Dependent Hyperpolarization Pathway as a Possible Molecular Target for Process S**

# ポイント

- 覚醒物質(モノアミン類)は、神経細胞を活性化して、細胞内外に変化を引き起こす
  - NMDAグルタミン酸受容体活性化は、細胞内 $[Ca^{2+}]$ 増加を引き起こし、神経細胞を不活化
  - これらの変化が睡眠状態(睡眠負債)を作り出す
- NMDA受容体の活性化は、記憶を作り出す。記憶を作る現象そのものが、睡眠の必要性も生み出す。この仕組みは種を超えて保存。

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

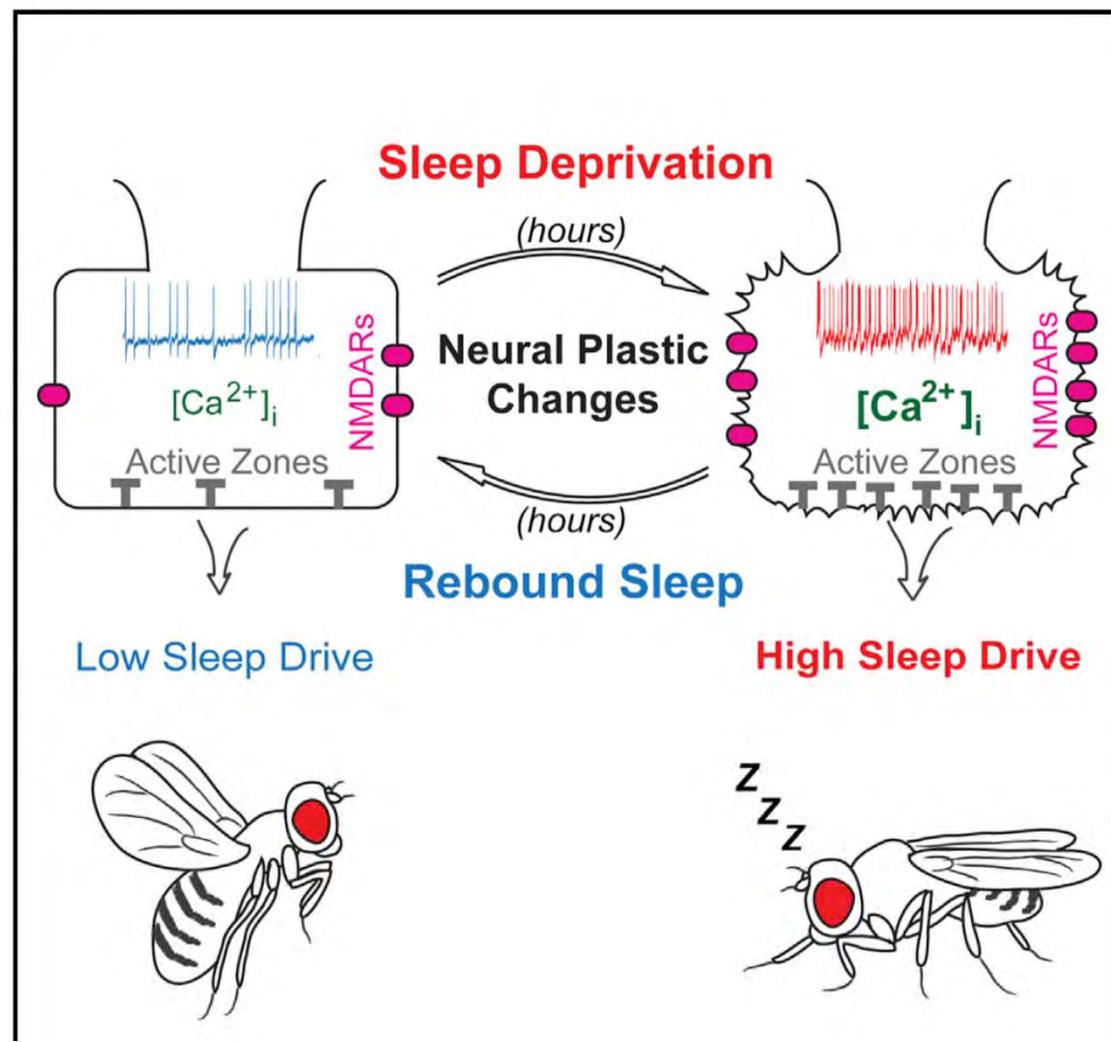
# 睡眠制御回路の可塑的変化が睡眠量を規定

Article

Cell

## Sleep Drive Is Encoded by Neural Plastic Changes in a Dedicated Circuit

Graphical Abstract



Authors

Sha Liu, Qili Liu, Masashi Tabuchi,  
Mark N. Wu

Correspondence

marknwu@jhmi.edu

In Brief

Synaptic plasticity within a dedicated neural circuit encodes sleep pressure in *Drosophila* and provides a mechanistic explanation for the generation and persistence of sleep drive.

# グリーンファティック システム

# 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。

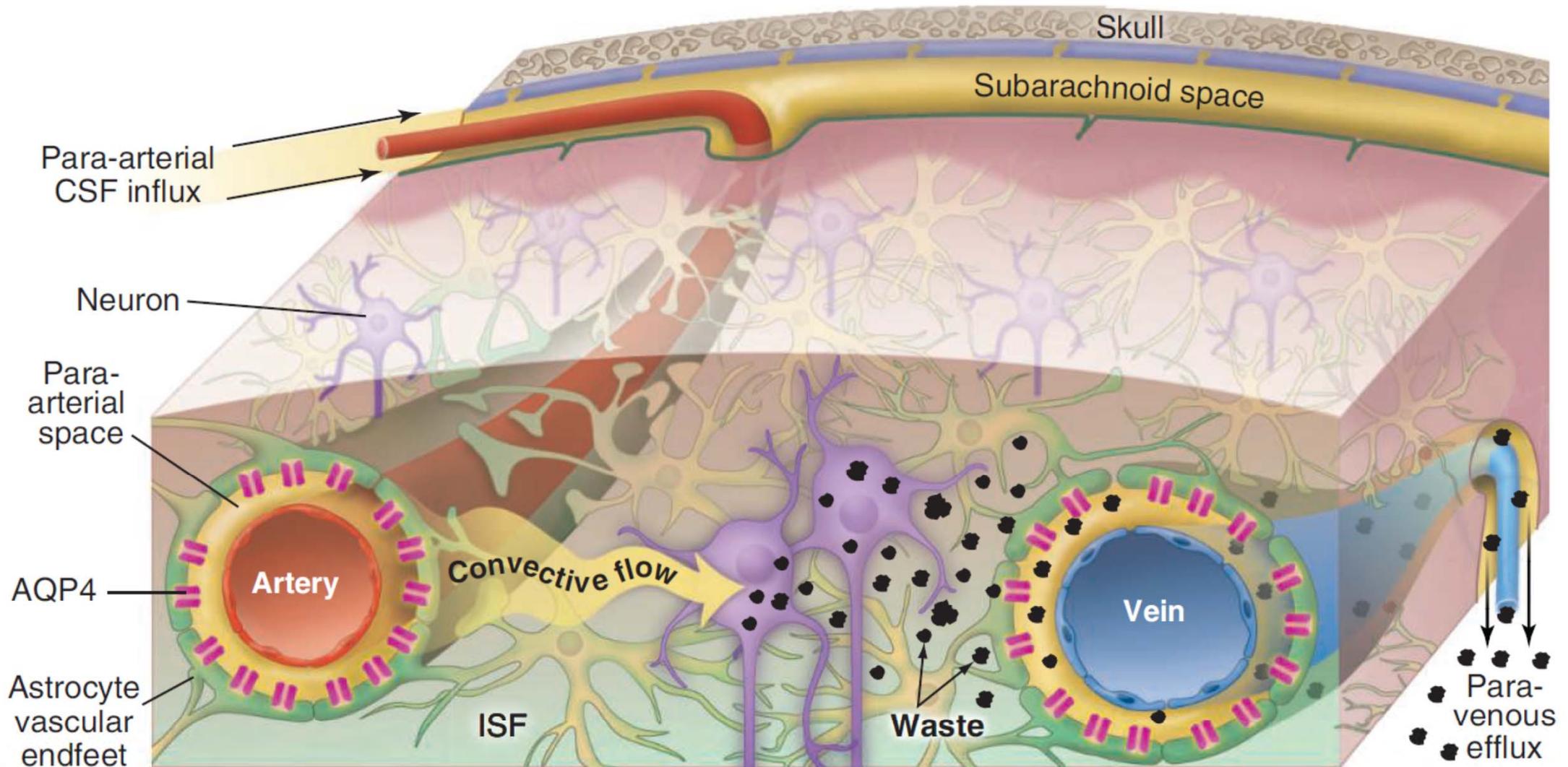
→グリアが作るリンパ系 = **グリンファティック** と命名

SCIENCE VOL 342 18 OCTOBER 2013

## Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain

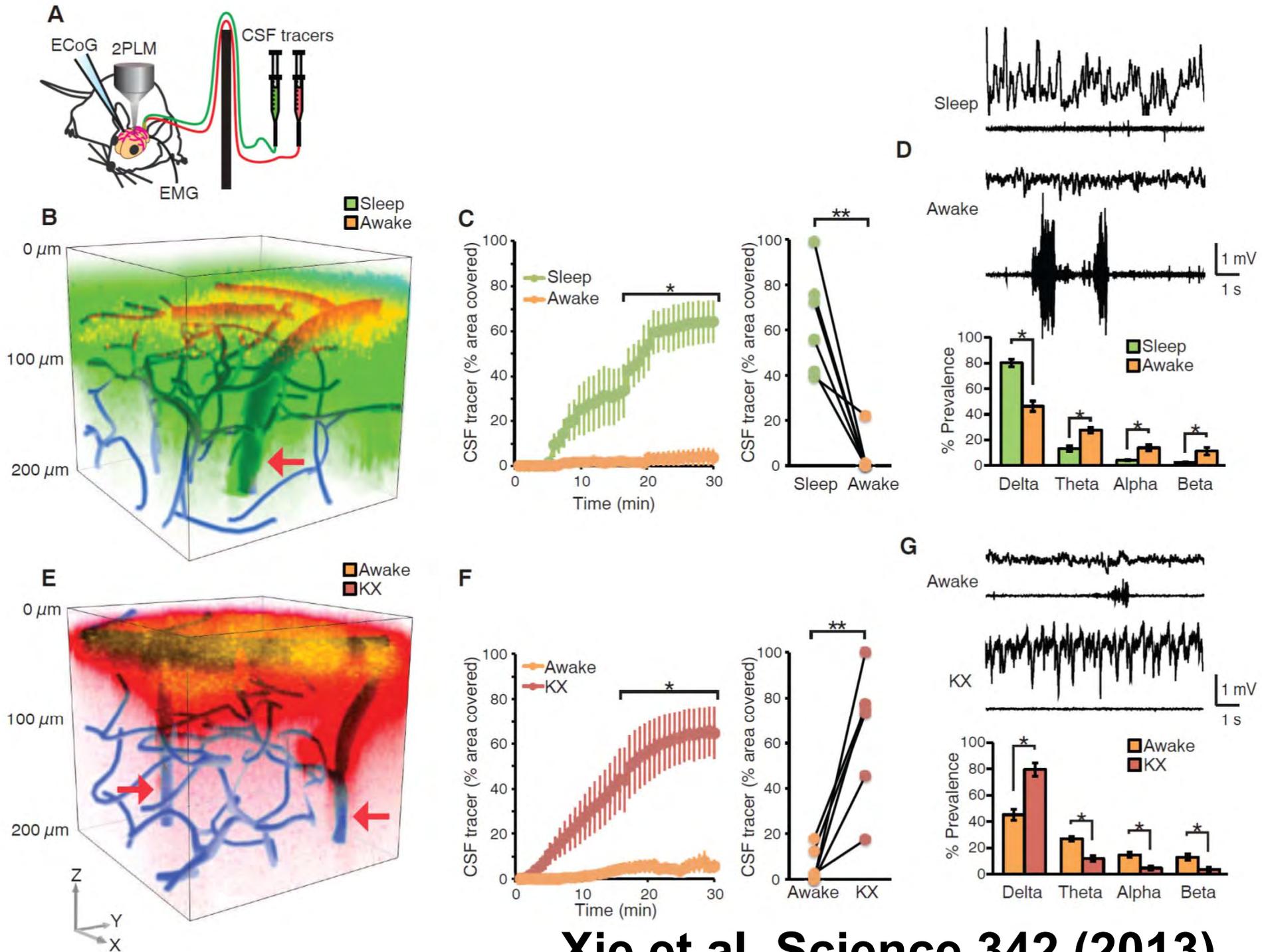
Lulu Xie,<sup>1\*</sup> Hongyi Kang,<sup>1\*</sup> Qiwu Xu,<sup>1</sup> Michael J. Chen,<sup>1</sup> Yonghong Liao,<sup>1</sup> Meenakshisundaram Thiyagarajan,<sup>1</sup> John O'Donnell,<sup>1</sup> Daniel J. Christensen,<sup>1</sup> Charles Nicholson,<sup>2</sup> Jeffrey J. Iliff,<sup>1</sup> Takahiro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

# 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.

# CSF→脳内の物質移行が睡眠中増加

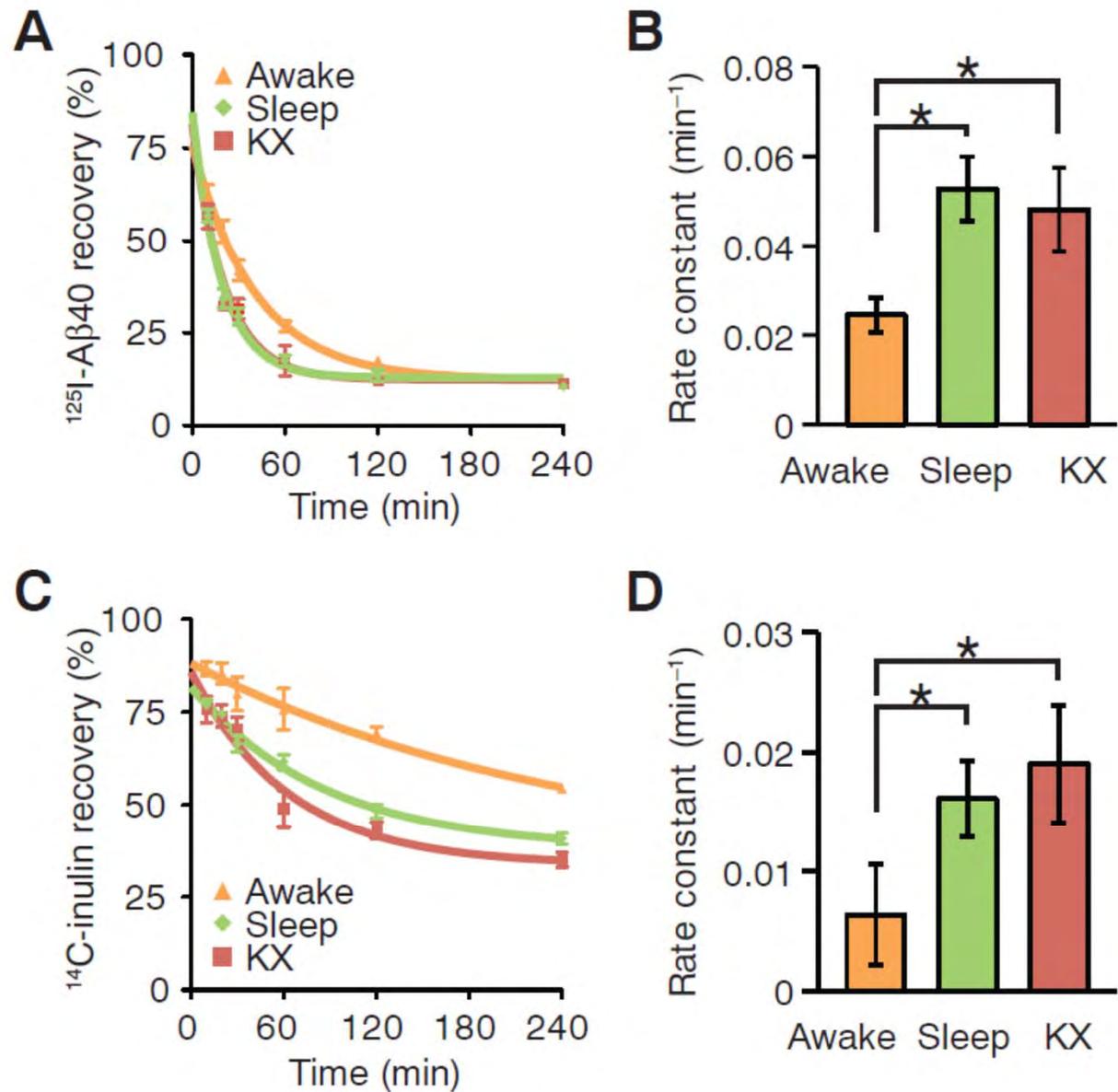


Xie et al. Science 342 (2013)

# A $\beta$ のクリアランスが睡眠で増加

## Fig. 3. Sleep improves clearance of A $\beta$ .

(A). Time-disappearance curves of  $^{125}\text{I}$ -A $\beta_{1-40}$  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  $^{14}\text{C}$ -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.



# 新規睡眠制御遺伝子と今後の展望

時間があれば

# 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



# 発見された遺伝子の例

- **Sleepy (SIK3)**  
睡眠量が  $2\sigma$  近く増えている  
覚醒時の活動量や、普通健康には異常がない
- **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  
他の問題はない

# 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.

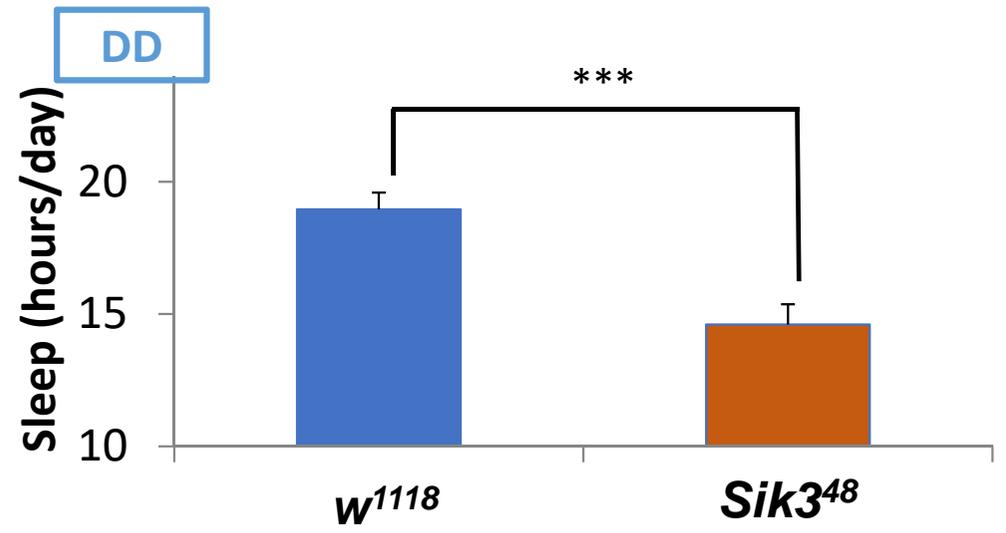
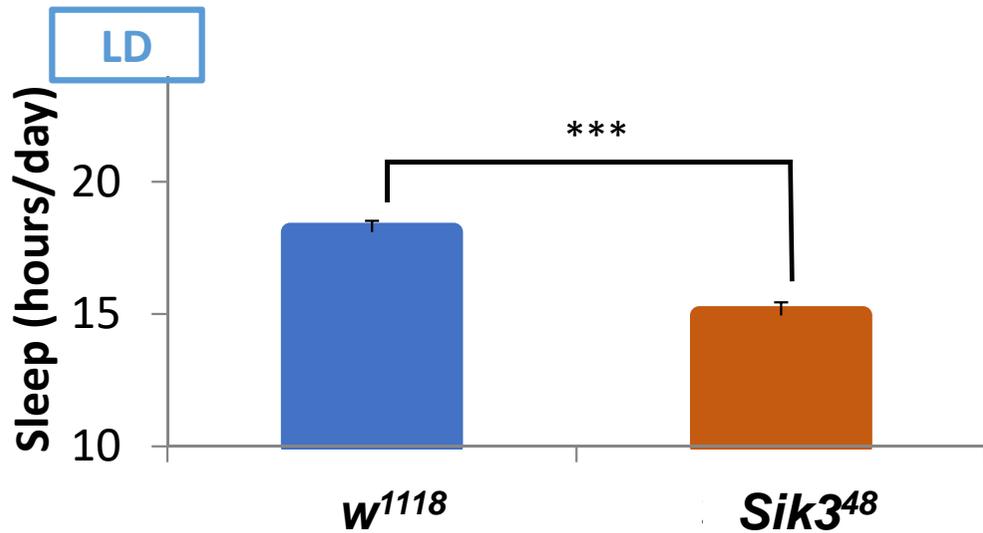
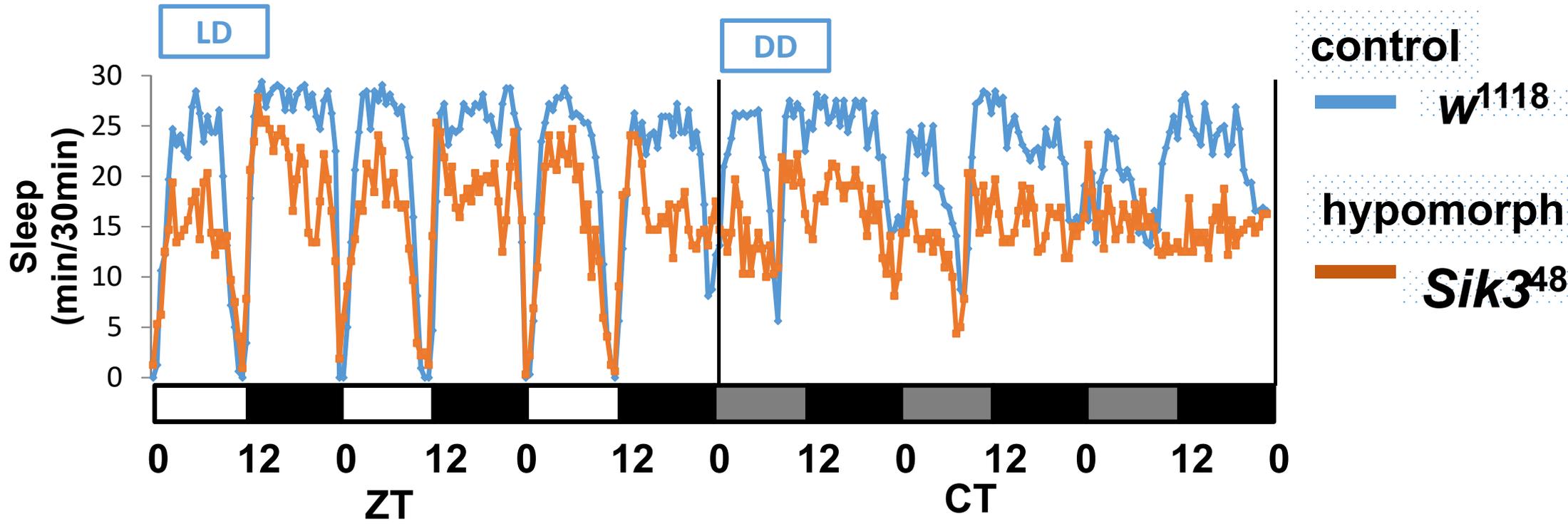


# いろいろな動物でのSIK3遺伝子の比較

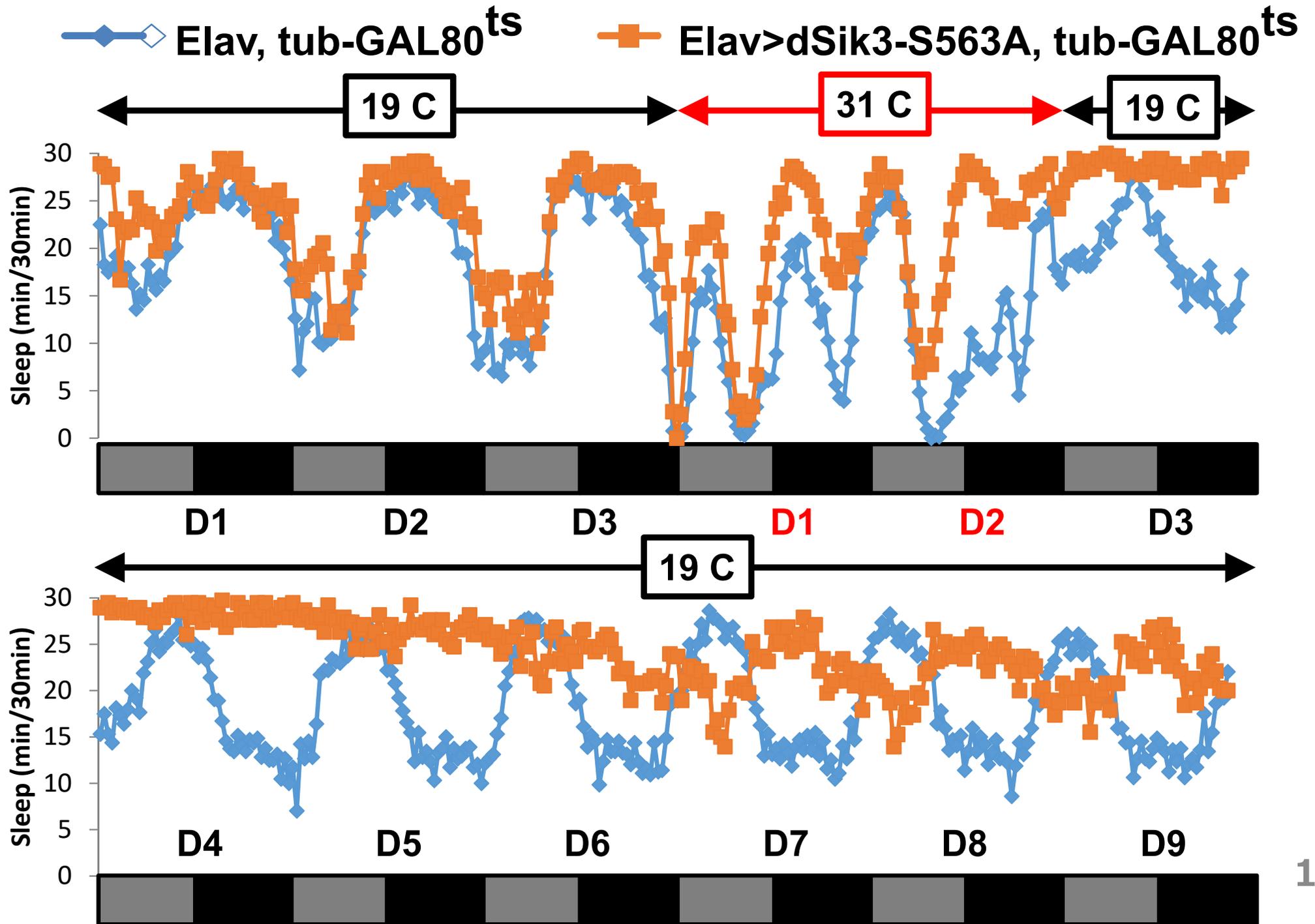
PKA site

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	EQSLLQPPTLQLLNGMGPLGRRASDGGANIQLHAQQLLKRPRGPSPLVTMTP	100
ゼブラ-魚	EQSLLQPPTLQLLNGMGPLGRRASDGGANIQLHTQQLLKRPRGQSPLVSPH	90
ハエ	DQHLLKPP- -VVMGASSFGRRASDGGANLHIYYPATGTVVGPAQQQMD	25

# *Sik3* hypoeexpression reduced sleep



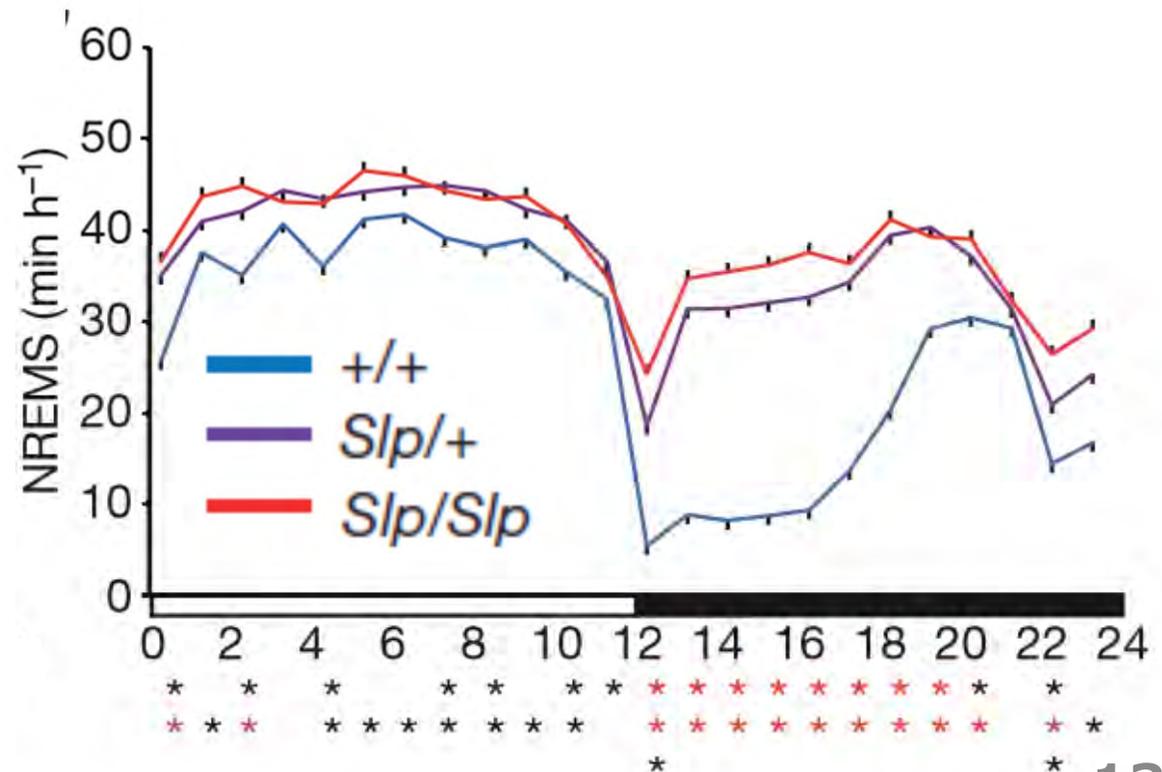
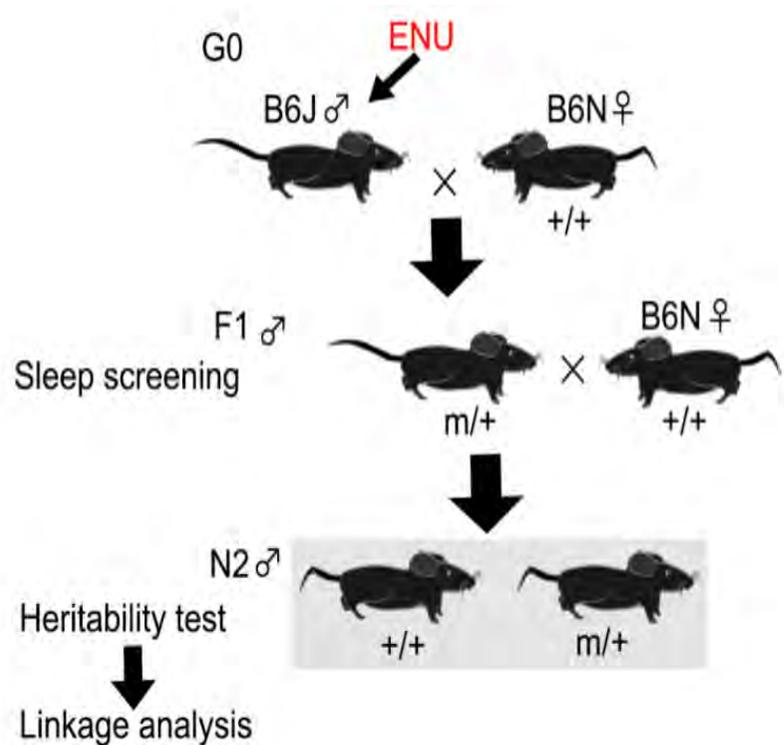
# 高温で誘導する TARGET system



# Mouse *Sleepy1* gene cloning

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

Hiromasa Funato<sup>1,2</sup>, Chika Miyoshi<sup>1\*</sup>, Tomoyuki Fujiyama<sup>1\*</sup>, Takeshi Kanda<sup>1\*</sup>, Makito Sato<sup>1,3\*</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>5</sup>, Shinichi Miyazaki<sup>1</sup>, Linzi Connor<sup>1</sup>, Vivek Kumar<sup>6,7</sup>, Ikuo Miura<sup>8</sup>, Tomohiro Suzuki<sup>8</sup>, Atsushi Watanabe<sup>9</sup>, Manabu Abe<sup>10</sup>, Fumihiko Sugiyama<sup>5</sup>, Satoru Takahashi<sup>5</sup>, Kenji Sakimura<sup>10</sup>, Yu Hayashi<sup>1,11</sup>, Qinghua Liu<sup>1,12</sup>, Kazuhiko Kume<sup>4</sup>, Shigeharu Wakana<sup>8</sup>, Joseph S. Takahashi<sup>1,6,13</sup> & Masashi Yanagisawa<sup>1,3,13,14</sup>

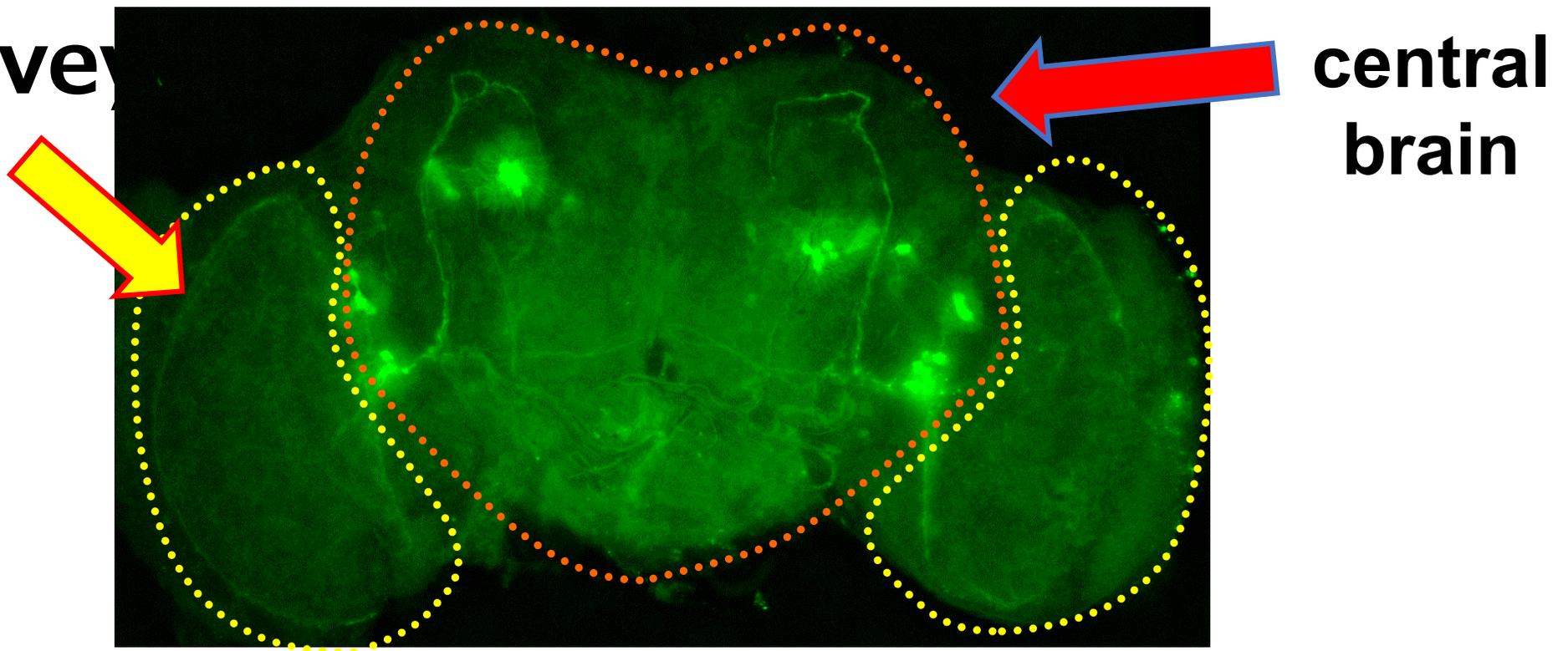


# マウスでは

- **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)**

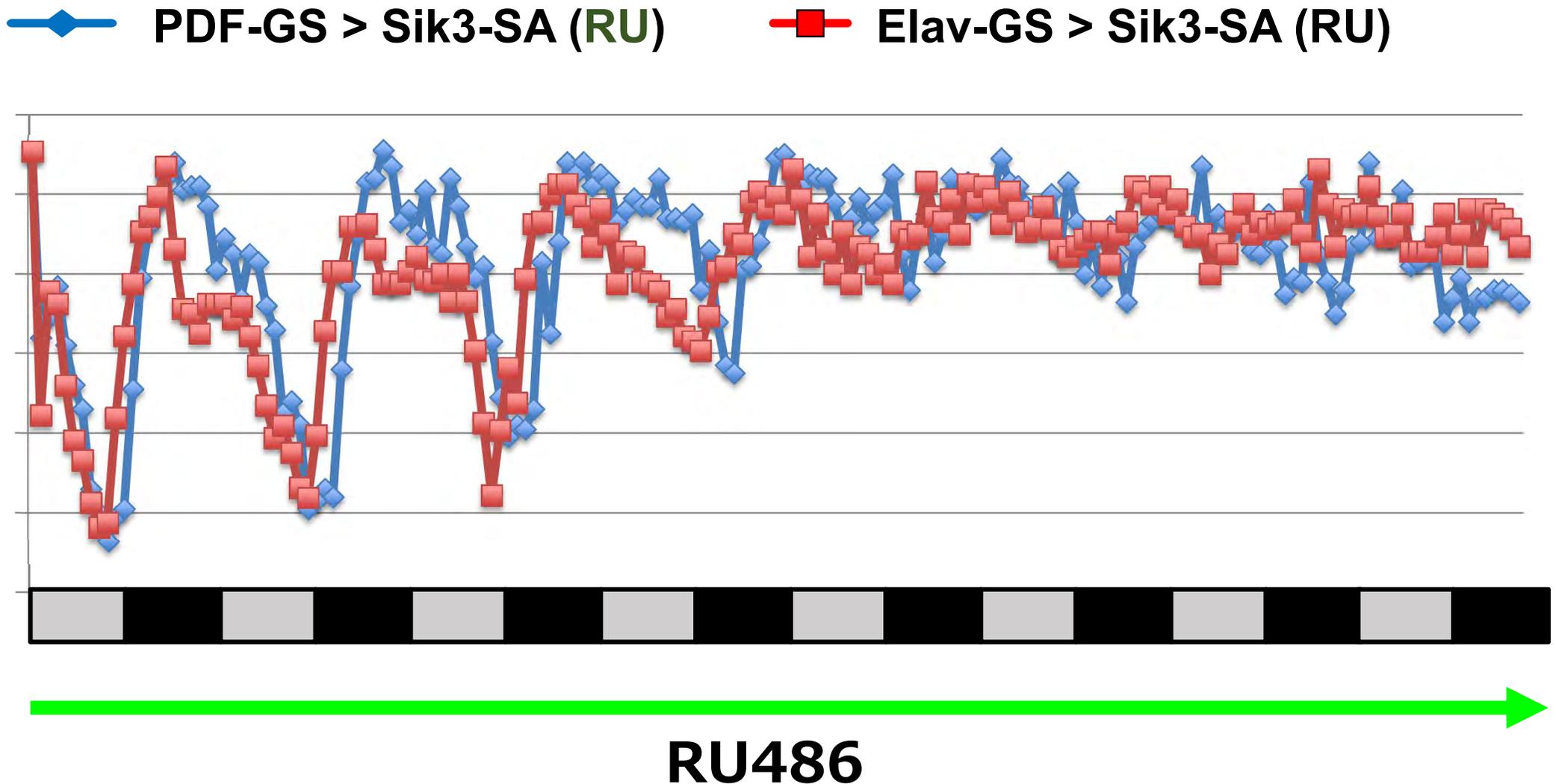
# PDF neurons

- are the center of circadian rhythm regulation
- locate between optic lobe & central brain
- convey

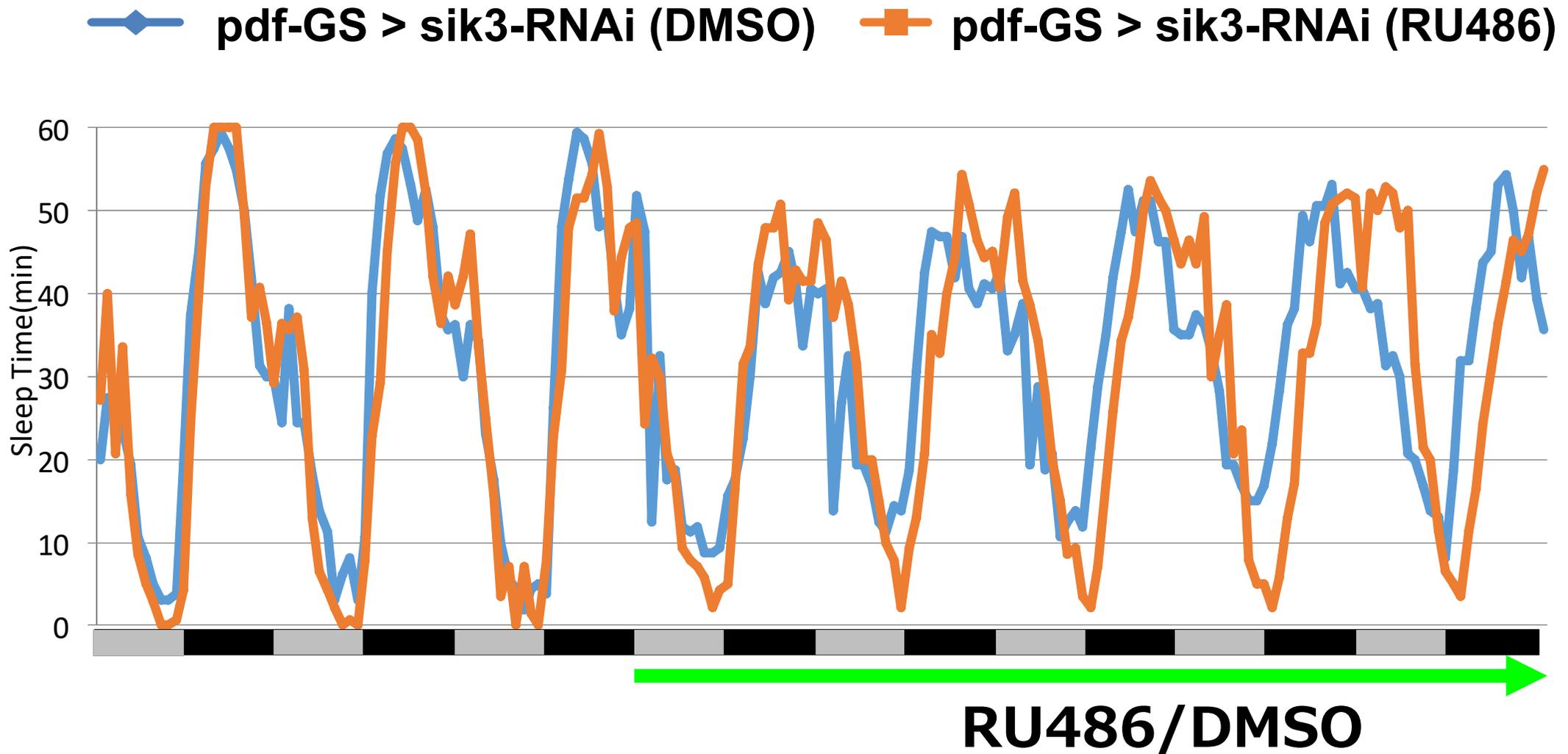


*PDF-Gal4* x *UAS-mCD4-GFP*

# Sik3-SA expression only in PDF neuron mimicked panneuronal expression.

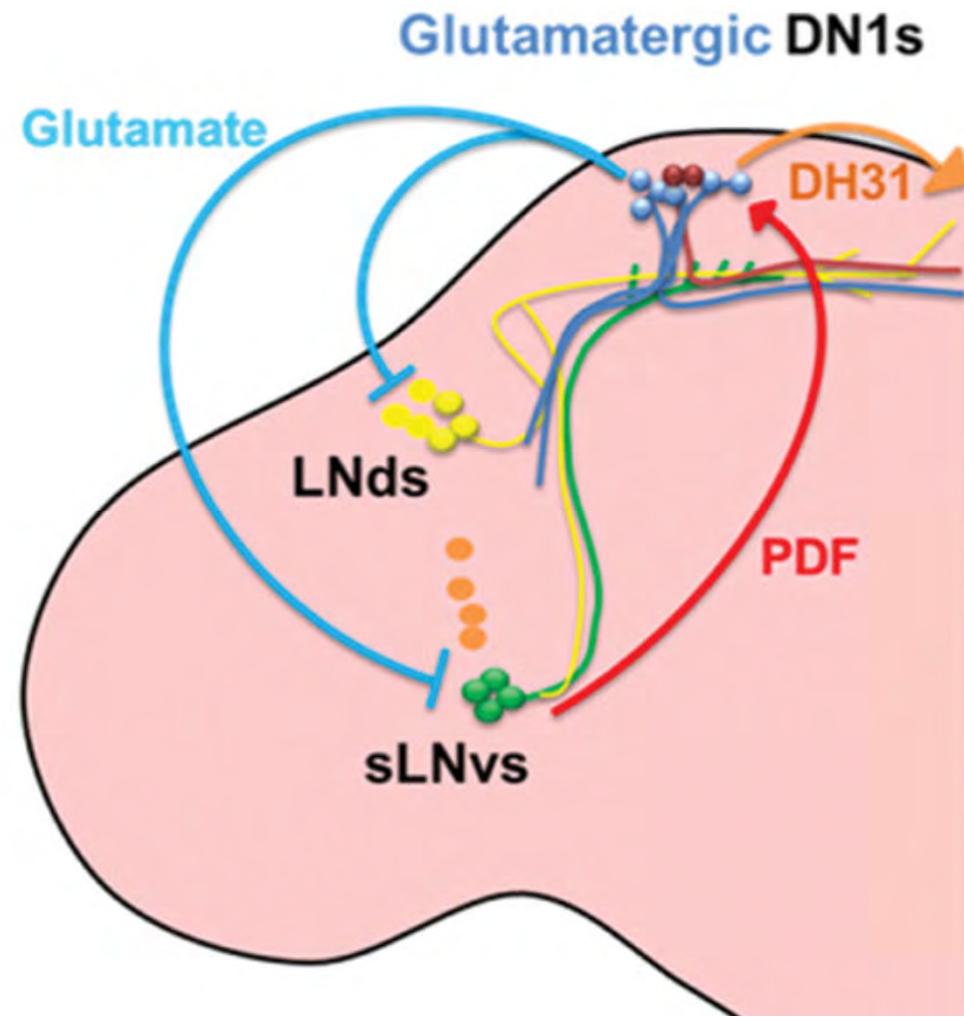


# Sik3-RNAi expression in PDF neuron delayed the circadian rhythm.

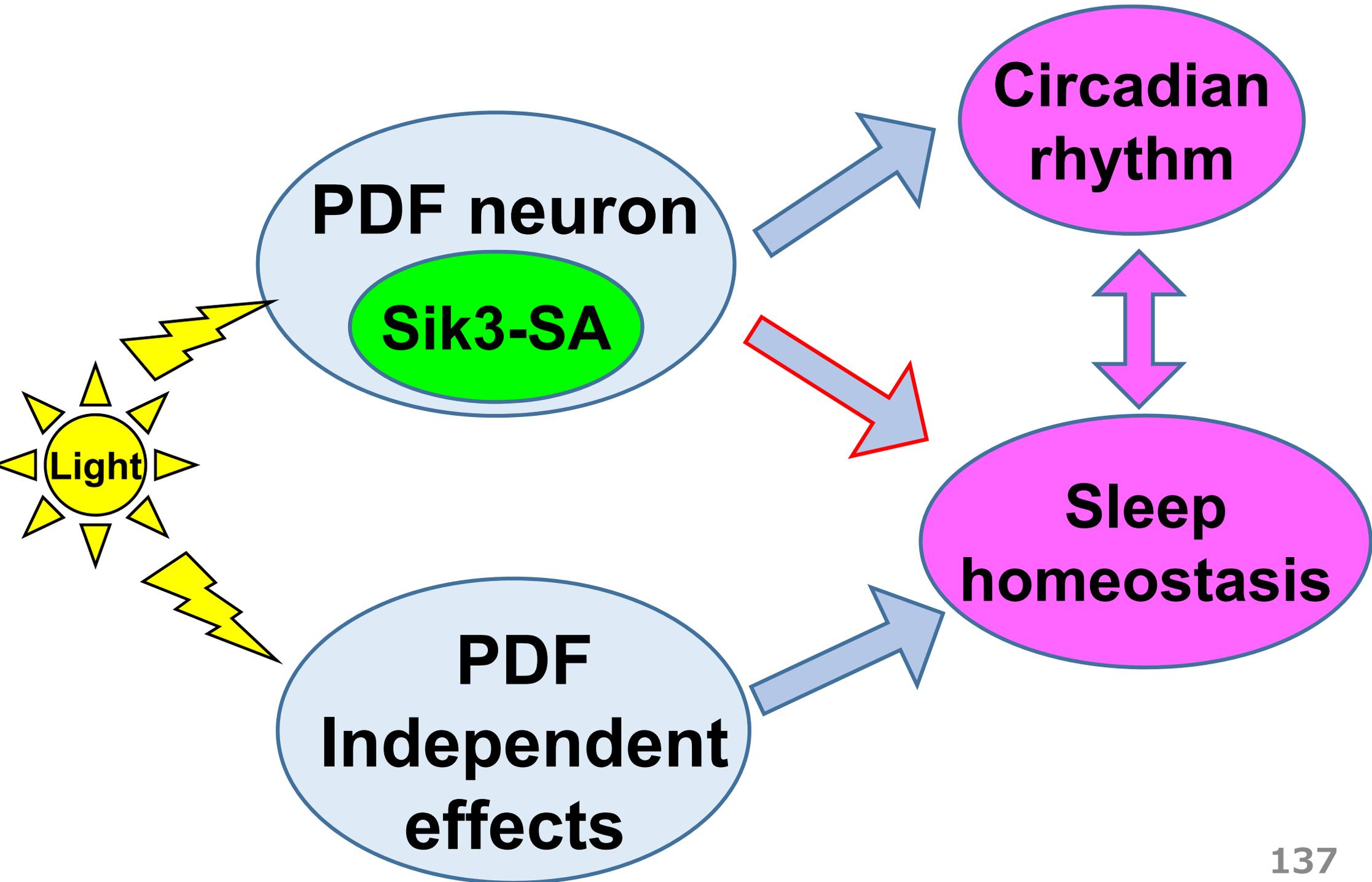


# Circadian neuron feedback controls the *Drosophila* sleep–activity profile

Fang Guo<sup>1,2</sup>, Junwei Yu<sup>2</sup>, Hyung Jae Jung<sup>1,2</sup>, Katharine C. Abruzzi<sup>1,2</sup>, Weifei Luo<sup>1,2</sup>, Leslie C. Griffith<sup>2</sup> & Michael Rosbash<sup>1,2</sup>



# Working hypothesis



# まとめ

- **睡眠の必要性を決める因子は未同定**
  - **単純な物質ではなく、細胞レベルの変化？**
  - **まだまだ研究が必要**
- **睡眠の生理的意義の研究は進んでいる**
  - **シナプス機能、意識・記憶との関係**
- **ショウジョウバエの脳や、単離神経細胞レベルでも、睡眠のある面の研究は可能**