

課題番号	LS048
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成25年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	覚醒制御システムのコネクティクス:睡眠・覚醒制御系の全解明
研究機関・ 部局・職名	金沢大学・医学系・教授
氏名	桜井 武

1. 当該年度の研究目的

- ①オレキシン産生ニューロン特異的に各受容体、あるいは神経伝達物質を欠損させたマウスの睡眠覚醒状態を検討することにより、オレキシンニューロンの入出力系の睡眠覚醒制御における生理的役割を解明する。
- ②オレキシンニューロンへの入力系の機能を光遺伝学により、組織学的・機能的に解明する。
- ③非選択性オレキシン受容体拮抗薬(DORA)、オレキシン2受容体特異的拮抗薬(2-SORA)をもちいて、モノアミン系の核の活動にあたるそれぞれの受容体の役割を明らかにする。
- ④オレキシンニューロン下流の系の役割を明らかにする。
- ⑤脳幹のモノアミン・コリン作動性ニューロン核のそれぞれの睡眠覚醒制御への役割をさらに明確にするとともに、睡眠覚醒以外の機能についても検討をする。
- ⑥ナルコレプシーの病態におけるオレキシン作動部位の慢性的変化を明らかにする。

2. 研究の実施状況

- ①オレキシンニューロン特異的な 5HT1A 受容体欠損マウスを作成し、睡眠覚醒状態を調べたところ、レム睡眠の増加と覚醒の低下が観察された。この仕事は、ほぼ完成して論文執筆中である。オレキシンニューロン特異的なグリシン受容体、vGluT2、OX2R 欠損マウスが完成し現在表現系の検討中である。
- ②セロトニンニューロンの光刺激により、5HT1A 受容体を介して直接オレキシンニューロンが抑制されることを確認した(投稿準備中)。視索前野の GABA ニューロンの光操作により、直接オレキシンニューロンに投射し、強力に抑制することが明らかにした(Saito, et al. Front. Neurosci., 2014)。
- ③DORA および 2-SORA をマウスに投与して睡眠覚醒状態にあたる影響を調べ、主に OX2R 受容体が覚醒の維持に、両方の受容体がレム睡眠の抑制に関与していることを見出した。また脳幹のモノアミン神経核の活動における DORA と 2-SORA の作用を明らかにした(Etori, et al. Front. Neurosci., 2014)。
- ④オレキシン受容体欠損マウスの各部に OX1 受容体および OX2 受容体を局所的に発現させオレキシンニューロン下流の系の役割を検討し青斑核と縫線核の役割を明らかにした(Hasegawa et al. JCI, 2013)。
- ⑤OX1R 受容体欠損マウスをもちいて、青斑核の OX1 受容体が情動記憶の成立に重要な働きをしていることを見いだした(Soya et al. J. Neurosci, 2013)。
- ⑥ナルコレプシーモデルマウスのモノアミン作動性ニューロンから細胞外記録を行い、青斑核 NA ニューロンの睡眠覚醒状態に伴う活動変化に異常を見いだした(Tsujino et al. PLoS one 2013)。

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計 14 件
計 16 件	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Etori, K., Saito, Y.C., Tsujino, N., <u>Sakurai, T.</u> Effects of a newly developed potent orexin-2 receptor-selective antagonist, compound 1 m, on sleep/wakefulness states in mice. <i>Front. Neurosci.</i>, 31 January 2014   doi: 10.3389</li> <li>2. Saito, Y.C., Tsujino, N., Hasegawa, E., Akashi, K., Abe, M., Mieda, M., Sakimura, K., <u>Sakurai, T.</u> GABAergic neurons in the preoptic area send direct inhibitory projections to orexin neurons. <i>Front. Neural Circuits</i>, 02 December 2013, 7:192   doi: 10.3389</li> <li>3. Hasegawa, E., Yanagisawa, M., <u>Sakurai, T.</u>, Mieda, M. Orexin neurons suppress narcolepsy via 2 distinct efferent pathways. <i>J. Clin. Invest.</i> 2013, 124(2):604-16.</li> <li>4. Harada, H., Warabi, E, Matsuki, T., Yanagawa, T., Okada, K., Uwayama, J., Ikeda, A., Nakaso, K., Kirii, K., Noguchi, N., Bukawa, H., Siow, R., Mann, G., Shoda, J., Ishii, T., <u>Sakurai, T.</u> Deficiency of p62/Sequestosome 1 causes hyperphagia due to leptin resistance in the brain. <i>J. Neurosci.</i> 2013 Sep 33(37): 14767-14777</li> <li>5. Soya S, Shoji H, Hasegawa E, Miyakawa T, Hondo M, Mieda M, <u>Sakurai T</u> Orexin Receptor-1 in Locus Coeruleus plays an Important Role in Cue-Dependent Fear Memory Consolidation <i>J Neurosci.</i> 2013 Sep 4;33(36):14549-57.</li> <li>6. Takahashi Y, Zhang W, Sameshima K, Kuroki C, Matsumoto A, Sunanaga J, Kono Y, Sakurai T, Kanmura Y, Kuwaki T. Orexin neurons are indispensable for prostaglandin E2-induced fever and defence against environmental cooling in mice. <i>J Physiol.</i> 2013 Sep 23. [Epub ahead of print]</li> <li>7. Tsujino N, Tsunematsu T, Uchigashima M, Konno K, Yamanaka A, Kobayashi K, Watanabe M, Koyama Y, Sakurai T. Chronic alterations in monoaminergic cells in the locus coeruleus in orexin neuron-ablated narcoleptic mice. <i>PLoS One.</i> 2013 Jul 29;8(7):e70012.</li> <li>8. Nisimaru N, Mittal C, Shirai Y, Sooksawate T, Anandaraj P, Hashikawa T, Nagao S, Arata A, Sakurai T, Yamamoto M, Ito M. Orexin-neuromodulated cerebellar circuit controls redistribution of arterial blood flows for defense behavior in rabbits. <i>Proc Natl Acad Sci U S A.</i> 2013 Aug 27;110(35):14124-31</li> <li>9. Furutani N, Hondo M, Kageyama H, Tsujino N, Mieda M, Yanagisawa M, Shioda S, <u>Sakurai T.</u> Neurotensin co-expressed in orexin-producing neurons in the lateral hypothalamus plays an important role in regulation of sleep/wakefulness States. <i>PLoS One.</i> 2013 Apr 19;8(4):e62391. doi: 10.1371/journal.pone.0062391. Print 2013.</li> <li>10. Yang L, Zou B, Xiong X, Pascual C, Xie J, Malik A, Xie J, <u>Sakurai T</u>, Xie XS. Hypocretin/Orexin neurons contribute to hippocampus-dependent social memory and synaptic plasticity in mice. <i>J Neurosci.</i> 2013,33(12):5275-84. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3200-12.2013.PMID: 23516292</li> <li>11. Tsuneki H, Tokai E, Sugawara C, Wada T, <u>Sakurai T</u>, Sasaoka T. Hypothalamic orexin prevents hepatic insulin resistance induced by social defeat stress in mice.</li> </ol>

	<p><i>Neuropeptides</i>. 2013 Mar 16. doi:pii: S0143-4179(13)00023-1. 10.1016/j.npep.2013.02.002. [Epub ahead of print] PMID: 23510906</p> <p>12. Sakurai T. Orexin deficiency and narcolepsy. <i>Curr Opin Neurobiol</i>. 2013 Oct;23(5):760-6.</p> <p>13. Mieda M, Tsujino N, Sakurai T. Differential roles of orexin receptors in the regulation of sleep/wakefulness. <i>Front Endocrinol (Lausanne)</i>. 2013 May 16;4:57. doi: 10.3389/fendo.2013.00057. Print 2013.</p> <p>14. Tsujino N, Sakurai T. Role of orexin in modulating arousal, feeding, and motivation. <i>Front Behav Neurosci</i>. 2013 Apr 18;7:28. doi: 10.3389/fnbeh.2013.00028. Print 2013.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 2 件</p> <p>15. 桜井 武 睡眠覚醒制御におけるオレキシン受容体の機能とオレキシン受容体拮抗薬の作用 内分泌・糖尿病・代謝内科 38 (1), 60-68, 2014</p> <p>16. 桜井 武 最新臨床睡眠学—睡眠障害の基礎と臨床— II 基礎研究 睡眠覚醒調節の液性機構「オレキシン」 p.91-98, 日本臨床 71 巻増刊号 5 2013 年 10 月 20 日発行</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 21 件</p>	<p>専門家向け 計 18 件</p> <p>1. Sakurai, T. Role of orexin in the sleep/wake regulation, Keynote Lecture at The First North East Asia Sleep and Breathing in Okinawa, Hotel Nikko Alivila Okinawa, Okinawa, Japan, 11<sup>th</sup>-12<sup>th</sup> Jan, 2014.</p> <p>2. Soya S, Shoji H, Hasegawa E, Hondo M, MIyakawa T, Yanagisawa M, Mieda M, <u>Sakurai T</u>. Orexin receptor-1 in licus coeruleus plays an important role in cue-dependent fear memory consolidation. SfN meeting, SanDiego, CA, USA, November 9-13, 2013</p> <p>3. Takeshi Sakurai Distinct and Overlapping Roles of Two Orexin Receptors in Sleep/Wake Regulation BHI 2013 Invited Special Sessions. Brain and Health Informatics (BHI 2013) , Gunma, Japan, 29-31<sup>st</sup> , Oct, 2013.</p> <p>4. Sakurai, T. The orexin system. S25: Hypocretin/orexin as a Therapeutic Target for Sleep Disorders. World Congress on Sleep Medicine, Valencia, Spain, 28th Sept-2<sup>nd</sup> Oct, 2013</p> <p>5. Hasegawa E, Yanagisawa M, Roth B, SakuraiT, Mieda M. Restoration of orexin signaling in the dorsal raphe and locus coeruleus differentially ameliorate symptoms of narcoleptic mice. World Congress on Sleep Medicine, Valencia, Spain, 28th Sept-2<sup>nd</sup> Oct, 2013</p> <p>6. Saito Y, Tsujino N, Mieda M, Abe M, SakimuraK, SakuraiT GABAergic transmission by POA neurons to orexin neurons. World Congress on Sleep Medicine, Valencia, Spain, 28th Sept-2<sup>nd</sup> Oct, 2013</p> <p>7. Etori K, Saito Y, Tsujino N, Sakurai T Effects of a newly developed orexin-2</p>

- receptor-selective antagonist on the sleep/wake states in mice. World Congress on Sleep Medicine, Valencia, Spain, 28th Sept-2<sup>nd</sup> Oct, 2013
8. Takeshi Sakurai Roles of newly identified lateral hypothalamic peptides in the regulation of feeding behavior and body weight homeostasis. The 36<sup>th</sup> Naito Conference on Molecular Aspects of Energy Balance and Feeding Behavior. September10-13, 2013, Sapporo, Japan.
  9. 櫻井 武『睡眠の意義と睡眠・覚醒状態の制御機構』第5回泌尿器抗加齢医学研究会 2014年3月22日(土) 沖縄県名護市万国津梁館
  10. 櫻井 武「睡眠覚醒状態の制御機構とオレキシンの役割」第24回東海睡眠呼吸障害研究会2013年9月7日 名古屋 エーザイ株式会社 6階ホール
  11. 征矢晋吾、長谷川恵美、昌子浩孝、宮川剛、三枝理博、桜井 武「恐怖記憶形成におけるオレキシンの役割」Neuro2013、京都、国立京都国際会館 2013年6月20日-23日
  12. 三枝理博、長谷川恵美、岡本仁、櫻井武「概日ペースメーカー・視交叉上核神経ネットワークにおけるAVP産生ニューロンの役割」Neuro2013、京都、国立京都国際会館 2013年6月20日-23日
  13. 齊藤夕貴、辻野なつ子、三枝理博、明石馨、阿部学、崎村建司、櫻井武「視索前野のGABA作動性ニューロンによるオレキシンニューロンの制御」Neuro2013、京都、国立京都国際会館 2013年6月20日-23日
  14. 餌取慶史、齊藤夕貴、辻野なつ子、山崎真弥、阿部学、崎村建司、櫻井武「セロトニン5HT1A受容体によるオレキシンニューロンの抑制性制御は正常な睡眠覚醒維持において重要である」Neuro2013、京都、国立京都国際会館 2013年6月20日-23日
  15. 長谷川恵美、柳沢正史、櫻井武、三枝理博「オレキシン神経は、2つの異なる経路を介して覚醒状態を強化しカタプレキシーを抑制する」Neuro2013、京都、国立京都国際会館 2013年6月20日-23日
  16. 櫻井 武「睡眠・覚醒の制御機構とオレキシンの働き」第13回日本抗加齢医学会総会  
シンポジウム ベーシックサイエンス4「睡眠とアンチエイジング」パシフィコ横浜2013年6月28日-30日
  17. 櫻井 武 「GABA作動性ニューロンとオレキシンニューロンの機能的関連」  
第38回日本睡眠学会定期学術集会 シンポジウム9 GABA 作動性ニューロンによる  
睡眠・覚醒調節 秋田キャッスルホテル 秋田 2013年6月27日-28日
  18. 桜井 武 新規神経ペプチドの機能と構造からみた分子進化 第86回日本内分泌学会総会 仙台 2013年4月25日-27日

一般向け 計3件

1. 櫻井 武 「眠りと覚醒をあやつる脳のしくみ」金沢大学まちなかサイエンスセ

様式19 別紙1

	<p>ミナー 2014年3月2日 本多の森ホール 金沢市</p> <p>2. 櫻井 武「睡眠・覚醒の制御機構とオレキシンの働き」日本抗加齢医学会専門医・指導士認定委員会主催研修用講習会 応用実践編/東京 大手町サンケイプラザ 2013年12月15日</p> <p>3. 櫻井 武「睡眠のメカニズム」「覚醒のメカニズム」2013年度 睡眠健康指導士上級講座 2013年7月6日 滋賀県草津市 草津市市民交流プラザ 大会議室</p>
図書 計1件	<p>小澤 潤司（監修），福田 康一郎（監修），本間 研一（編集）標準生理学(第8版)「睡眠・覚醒と意識」の項執筆 2014年刊 総ページ数1140 ISBNコード:9784260017817</p>
産業財産権 出願・取得状況  計0件	<p>(取得済み) 計0件  (出願中) 計0件</p>
Webページ (URL)	<p>金沢大学医学系分子神経科学・統合生理学分野公式ホームページ <a href="http://drc.w3.kanazawa-u.ac.jp/">http://drc.w3.kanazawa-u.ac.jp/</a></p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<p>2013年7月30日、金沢大学医学系分子神経科学・統合生理学分野研究室にて金沢市泉が丘高校の医学志望者10名に研究室紹介と案内</p>
新聞・一般雑誌等掲載 計5件	<p>2014年1月3日毎日【朝刊】24面 睡眠障害「ナルコレプシー」仕組み解明 2014年1月6日～9日「病に勝てる身体づくり」日刊スポーツ 講談社「With」2013年9月号(7月28日発売)特集タイトル／最新科学が解明！ 「食べすぎる」理由と対策方法(全8ページ) 週刊新潮 2013年10月24日号取材協力 人はなぜ眠らねばならないのか p.40-46 専門家9人が明かす「不眠撃退」最新理論 文藝春秋 2013年10月号取材協力 p.326-331「医療の最前線」で起こっていること 科学者連続インタビュー 後編 緑 慎也</p>
その他	<p>2013年4月8日 平成25年度 文部科学大臣表彰科学技術賞 研究部門「オレキシンの発見とその作用の解明の研究」を受賞 TBS ラジオ夢夢エンジンにゲスト出演 2013年4月27日 日本テレビBS 2014年2月2日コージ魂に出演</p>

4. その他特記事項

特になし

## 実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	125,000,000	99,866,000	25,134,000	0	0
間接経費	37,500,000	29,959,800	7,540,200	0	0
合計	162,500,000	129,825,800	32,674,200	0	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	3,275,944	25,134,000	0	28,409,944	28,409,944	0	0
間接経費	16,481,248	7,540,200	0	24,021,448	24,021,448	0	0
合計	19,757,192	32,674,200	0	52,431,392	52,431,392	0	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	14,699,695	保冷库、実験試薬、実験器具、液体窒素等
旅費	3,572,355	研究打ち合わせ旅費等
謝金・人件費等	1,352,325	実験補助者謝金
その他	8,785,569	論文投稿料、実験動物研究施設利用料等
直接経費計	28,409,944	
間接経費計	24,021,448	
合計	52,431,392	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
テレメリーシステム送信器	DSI PA-C10 TA11PA-C10 Exchange	4	149,625	598,500	2013/5/14	金沢大学
水平ロータ	ベックマン・コー ルター 369696 SW32.1Ti(6× 17ml)	1	2,213,400	2,213,400	2013/8/6	金沢大学
水平ロータ	ベックマン・コー ルター 342196 SW55Ti(6×5ml)	1	2,097,375	2,097,375	2013/8/20	金沢大学
Space Saver Tip Rack Refills	RAININ GPS- 10GX10 10ul 960本×10包	10	53,760	537,600	2013/9/10	金沢大学
Custom Fiber Optic Cannula.BFH48- 200-200um 0.48NA MM Fiber	ソーラボジヤパン BFH48-200-SP- CANNULA-SP- JP	100	5,221.65	522,165	2013/10/16	金沢大学
保冷库	日本フリーザー NRG-400EC	2	595,000	1,190,000	2013/10/17	金沢大学
データ取得装置	Molecular Devices Digidata1550	1	1,368,360	1,368,360	2013/10/18	金沢大学