

世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI)

平成25年度拠点構想進捗状況報告書

ホスト機関名	筑波大学	ホスト機関長名	永田 恭介
拠 点 名	国際統合睡眠医科学研究機構	拠 点 長 名	柳沢 正史

拠点構想進捗状況概要

平成25年度は、国際統合睡眠医科学研究機構 (IIIS) にとって、初年度から引き続いて拠点の体制を確立し研究活動を軌道に乗せるための重要な年度であった。

1. 拠点体制の構築

機構長のもとに、コア研究グループ (8研究室)、学内連携グループ (5研究室)、国内サテライト (1研究室)、海外サテライト (4研究室)、事務部門の拠点体制を構築した。

2. 主任研究者・研究者の招聘および採用

本格的な研究実施体制へ向け、教授2名、客員教授4名、准教授5名 (若手PI3名)、助教7名 (若手PI1名)、ポスドク9名を新たに採用し、主任研究者13名、その他の研究者28名 (主任研究者以外の教員とポスドク)、技術職員9名、大学院・学部学生32名、計82名の体制 (事務部門を除く) となった。

3. 睡眠研究の体系

発足時の三つの研究達成目標のうち「睡眠覚醒機構の解明」を分子・細胞レベルでの解明と神経回路・システムレベルでの解明に分けて、以下の四つの研究達成目標に再編し、それぞれの主任研究者の研究を達成目標に基づいて体系化した。

- 1) 睡眠覚醒制御物質・制御遺伝子の解明
- 2) 睡眠覚醒制御回路と睡眠機能の解明
- 3) 睡眠障害および関連する疾患の分子病態連関の解明
- 4) 睡眠障害治療法の開発

4. 研究成果

平成25年度はIIISから73編の原著論文が発表された。*PNAS*や*Cell*、*Nature Commun*等のハイインパクトな国際誌に多くの成果が報告された。また、4名のPIが研究功績に対して受賞した。

5. 競争的研究資金の確保

平成25年度にIIISの研究者によって獲得された競争的研究資金は総額で4億5,756万円であった。

6. 連携機関

秋田大学大学院医学研究科と共同研究契約を締結し、清水徹男をPIとするサテライトを構築した。また、テキサス大と共同研究契約を締結し、Q. LiuをPIとするサテライト研究室を開設するとともに、R. Greeneを客員教授 (PI) として招聘した。

7. 研究支援

民間企業の研究部門で所長職経験を持つ事務部門長による指揮のもと、グローバル体制を目指して、副事務部門長と4チーム (総務企画、財務会計、研究企画、広報連携) からなる体制を確立した。

8. アウトリーチ・研究集会および活動

平成26年1月20日につくば国際会議場において第2回IIIS国際シンポジウムを開催、国内外から招待した著名研究者とサテライトのPIを含む約150名が参加した。

NHK総合「堂本光一のちょこっとサイエンス」やTBS「夢の扉+」等のテレビ番組に柳沢機構長が出演し、睡眠研究への取り組みと成果が紹介されて、大きな反響があった。

国内外の睡眠・神経科学分野の研究者を講師として招聘して「IIISセミナーシリーズ」を15回開催し、人財獲得やネットワークの拡大に貢献した。

9. 環境整備

平成25年11月に新研究棟 (6階建て総床面積8,000m²) の設計が完了し、入札により平成26年1月に工事担当会社が決定され、2月に準備工事が着工された。

研究設備については共通機器として質量分析器 (Orbitrap Fusion) や実験動物用3DマイクロX線CT、多光子励起顕微鏡等の最先端の機器を購入して世界トップレベルの研究環境の整備に注力した。

1. 拠点構想の概要

【発足時】

睡眠は高等動物に普遍的に認められる現象であり、その異常は心身の健康を損なう。しかし、睡眠の意義や制御機序は未だ不明であり、睡眠機能の解明は現代神経科学の最重要課題である。本拠点は、睡眠覚醒の神経科学および関連領域の世界トップレベル研究者を集結し、睡眠覚醒制御機構を解明するとともに、睡眠調節に介入する方法を開発し、睡眠障害および関連の深い代謝疾患や精神疾患の診断・治療のための新しい戦略を開発する。

【平成 25 年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】

拠点構想の概要に変更はなく、以下のように国際的な睡眠医科学研究のハブを形成するための基盤構築を着実に進めている。

国内研究者招聘の取り組みとして、① 本機構の設置以前から共同研究を行っていた長瀬博（IIIS教授、元北里大学）をリーダーとする医薬品化学グループを機構に招聘、② 睡眠物質研究などで優れた業績を持つ裏出良博（IIIS教授、元大阪バイオサイエンス研究所）と同研究所の分子行動生物学部門の研究者を機構に誘致、③ 卓越した研究業績をあげている若手研究者三名（坂口昌徳IIIS准教授、M. Lazarus IIIS准教授、林悠IIIS助教）をJunior PIとして招聘した。

海外研究者招聘の取り組みとして、テキサス大学サウスウエスタン医学センター（UTSW）からR. Greene（客員教授）を、さらにバーゼル大学からK. Vogt（IIIS准教授）を、それぞれPIおよびJunior PIとして招聘し、Greene/Vogt研を開設した。

また、UTSWからQ. Liuを新たに導入された混合給与制度によりIIIS教授として招聘し、機構に研究室を設置した。

さらに平成26年1月20日に開催された国際シンポジウムで基調講演を行った卓越した女性研究者、Yang Dan教授（カリフォルニア大学バークレー校）をサテライトPIとして採択することを決定した。

金沢大から櫻井武を昨年10月に招聘して坂口准教授と共同で櫻井／坂口研究室を設置する計画であったが、残念ながら、家庭および金沢大の事情により異動を遅延することになった。新たな異動時期については交渉中である。

2. 対象分野

【発足時】

睡眠医科学分野

領域としては神経科学、医学、薬学、化学、生物学の融合である。睡眠に焦点を当てながらも、睡眠覚醒状態の変動や睡眠の破綻と関連の深い気分障害や代謝・内分泌系の病態も統合して研究していくなど研究対象にも融合的性質がある。

【平成 25 年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】

対象分野自体に変更はなく、以下のように着実に進めている。

神経科学、生化学、細胞生物学、薬理学、化学等の異分野を専門とする主任研究者が連携してオレキシン作動薬のプロジェクトを実施し、リード化合物の創出に成功した（特許申請済）。また、その構造最適化を行った結果、水溶性を向上させた2つの化合物、およびオレキシン2型受容体選択性を飛躍的に向上させた化合物を得ることに成功した。今後さらに有機的に連携してプロジェクト運営を強化することを計画している。

基盤的な研究としては、マウスの分子遺伝学的研究（フォワード・ジェネティクス）により、睡眠覚醒に異常のある家系が複数得られ、その中からレム睡眠異常をもたらす*Dreamless*変異と覚醒時間の短縮をもたらす*Sleepy*変異を同定することに成功した。これまでに得られている家系の解析をさらに進めることで、睡眠覚醒のネットワークにおいてきわめて重要な役割を果たす制御遺伝子の発見が期待される。

また、神経活動可視化、薬理遺伝学（DREADD）やオプトジェネティクスの研究が順調に進展しており、睡眠覚醒制御や記憶に重要な神経細胞のネットワークの解明に向けて研究を進めている。最近、レム睡眠の制御を担う脳部位の同定に成功し、その活動を人為的に制御することにより世界初のレム睡眠遮断マウスの樹立に成功した。

さらに、大脳基底核の側坐核が、アデノシンA2A受容体の活性化を介して睡眠を促進する重要な脳部位であることを見出した。この予想外の発見により、動機づけ、認知機能、もしくは感情に関する行動による睡眠覚醒制御に腹部線条体が関与する可能性が提示された。

3. 研究達成目標

【発足時】

研究達成目標は、1) 睡眠覚醒機構の解明、2) 睡眠障害と関連する病態の解明、および3) 睡眠障害治療法の開発である。

1) 睡眠覚醒機構の解明

【平成 25 年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】

発足時の三つの研究達成目標、1) 睡眠覚醒機構の解明、2) 睡眠障害と関連する病態の解明、および3) 睡眠障害治療法の開発のうち、1) の睡眠覚醒機構の解明を分子・細胞レベルで解明する目標と神経回路・システムのレベルで解明する目標の二つに分けて、以下のような四つの研究達成目標と

[実施期間終了時の研究達成目標]

- **新規睡眠覚醒制御遺伝子の同定**
- **睡眠覚醒制御神経回路の動作原理解明**

現時点で、睡眠覚醒制御機構について明らかなことは、覚醒維持にオレキシン神経が重要であること、睡眠導入に視索前野のGABA作動性神経が重要であること、および睡眠覚醒制御の実行システムが概日リズムや恒常性維持機構により支配されていること等に限られている。睡眠と覚醒、レム睡眠とノンレム睡眠の制御に関わる新しい遺伝子の同定および睡眠覚醒制御を司る神経回路の神経生理学的機能解析を通じて睡眠覚醒機構の理解を深める。概日リズムや睡眠物質による睡眠覚醒制御機構の分子機構を明らかにする。

- 2) 睡眠障害および関連する疾患の分子病態連関の解明

[実施期間終了時の研究達成目標]

- **睡眠覚醒制御における脳一末梢臓器連関の解明**
- **細胞内イベントと個体の睡眠覚醒行動の分子連関解明**

不規則な睡眠覚醒や不眠はメタボリック症候群や気分障害のリスクファクターとなるが、この機序は不明である。遺伝子改変マウス等を用いて、睡眠覚醒制御機構と気分障害や代謝制御機構の分子連関を明らかにする。

- 3) 新規睡眠障害治療法の開発

[実施期間終了時の研究達成目標]

- **臨床試験段階に進む睡眠障害治療薬候補物質開発**
- **基礎的および臨床的研究に基づいた睡眠障害予防のための、薬物を用いない多面的「グッドスリープ」プログラム開発**

既存の睡眠薬と異なるファースト・イン・クラスの睡眠覚醒制御薬となる睡眠制御物質を開発する。

睡眠、運動、栄養やストレス対処法により、睡眠障害や関連する疾患への効果的な早期介入法や予防方法を開発する。これらの薬剤や介入プログラムは、睡眠だけではなくメタボリック症候群や気分障害にも効果を示す可能性が高いことから、これらの背景にある睡眠覚醒と気分・代謝をつなぐ分子機構解明へと展開していく。

して再編した。

- 1) 睡眠覚醒制御物質・制御遺伝子の解明
- 2) 睡眠覚醒制御回路と睡眠機能の解明
- 3) 睡眠障害および関連する疾患の分子病態連関の解明
- 4) 睡眠障害治療法の開発

各研究達成目標に対して、実施期間終了時のゴールを以下のように設定した。

- 1) 睡眠覚醒制御物質・制御遺伝子の解明

- **新規睡眠覚醒制御遺伝子の同定**
- **睡眠覚醒制御物質の解明**

- 2) 睡眠覚醒制御回路と睡眠機能の解明

- **睡眠覚醒制御神経回路の動作原理解明**
- **睡眠の機能の解明**

- 3) 睡眠障害および関連する疾患の分子病態連関の解明

- **睡眠覚醒制御における脳一末梢臓器連関の解明**
- **細胞内イベントと個体の睡眠覚醒行動の分子連関解明**

- 4) 新規睡眠障害治療法の開発

- **睡眠障害治療薬候補物質開発**
- **基礎的および臨床的研究に基づいた睡眠障害予防のための、薬物を用いない多面的「グッドスリープ」プログラム開発**

各ゴールに対する平成25年度までの実績／進捗状況および今後の方針については、別紙に記載する。

4. 運営

【発足時】

① 事務部門の構成

1. 事務部門の構成

事務部門は、研究内容と国立大学法人 (national university corporation) 運営業務の両方を熟知している事務部門長の指揮のもと、事務部門長を補佐する副事務部門長及び下記の3係を設置する。

・総務係 (5名)

法務、庶務、人事、雇用、出張、勤務管理、広報 (アウトリーチ活動)、シンポジウム、会議、国際等の業務を行う。筑波大学内から総務関係に精通した大学常勤職員1名を優先的に充てる。

外国人を受け入れる際のサポート等については、つくばの地の利を生かし、Japan International Science and Technology Exchange Center (JISTEC: 社団法人 科学技術国際交流センター) に委託する。

・経理係 (4名)

予算管理・執行、物品購入、国内外の資金・物品の移動その他の業務を行う。筑波大学内から予算・経理関係に精通した大学常勤職員1名を優先的に充てる。

・研究資金係 (3名)

競争的研究資金に関する情報収集、申請支援、管理運営、報告書作成支援などに関する幅広い業務を担当する。筑波大学内から研究資金確保関係業務に堪能で、日本国政府等のシステムにも精通した大学常勤職員1名を優先的に充てる。

2. 英語の公用語としての使用

拠点では英語を公用語とする。IIS職員は、他者には代えられない特別なスキルを有する者を除き、高い英語力を有することが必須である。特別な理由がない限り、拠点内での書類作成は英語、もしくはバイリンガルで行う。

3. 職員の雇用とその後の質の向上

【平成25年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】

① 事務部門の構成

1. 事務部門の構成

事務部門は、製薬会社の研究部門でマネジメント経験があり、研究管理と研究戦略を熟知している新事務部門長の指揮のもと、グローバル体制を目指して事務部門長を補佐する副事務部門長1名 (一身上の都合により10月末に退職) および下記の4係に改変した。

・総務企画 (4名)

庶務、人事、雇用、出張、勤務管理等の業務を行なった。筑波大学内から総務関係に精通した大学常勤職員1名を優先的に充てた。

外国人を受け入れる際のサポート等については、英語が堪能な研究企画および広報連携チームのメンバーが支援を行ったが、国際研究都市であるつくばの地の利を生かし、Japan International Science and Technology Exchange Center (JISTEC: 社団法人 科学技術国際交流センター) への委託も活用した。

・財務会計 (5名)

予算管理・執行、物品購入、国内外の資金・物品の移動その他の業務を行なった。筑波大学内から予算・経理関係に精通した大学常勤職員2名を優先的に充てた。

・研究企画 (3名)

予算計画、人員計画、競争的研究資金申請支援、研究支援、契約締結、特許対応、報告書作成支援などに関する幅広い業務を担当した。チームリーダーとして、製薬会社の研究部門での経験を持ち、契約締結や特許関連業務に精通した博士号取得者を採用した。

・広報連携 (3名)

広報 (取材・プレスリリース対応、アウトリーチ活動)、学内セミナー、PI会議、国際シンポジウム開催、報告書作成支援等の業務を行なった。チームリーダーとして、民間企業での研究経験および海外経験を持つ博士号取得者を採用した。

2. 英語の公用語としての使用

拠点での公用語としての英語使用が徹底され、約60%の職員 (他者には代えられない特別なスキルを有する者を除く) がバイリンガルという環境を整えた。PI会議やラボミーティングなども全て英語で実施している。海外サテライトメンバーと高頻度でコミュニケーションを取るため、会議室にSkype等のシステムを完備させた。拠点内での書類作成は、特別な理由がない限り英語または日英併記で行った。

3. 職員の雇用とその後の質の向上

IIISは、英語が堪能な海外経験者をもつものを優先的に雇用する。その際、TOEIC/TOEFLスコア、さらにライティングやスピーキングの能力を重視する。採用後は、定期的に語学向上のためのトレーニングを職員に課す。職員には二年に一度程度、海外においてトレーニングを積む機会を与え、文化交流の基盤および外国人研究者受け入れに対する心構えを習得させる。これらの経験により、拠点に属する外国人研究者が快適に過ごし、一段と研究に専念できる環境を整える。

② 拠点内の意志決定システム

拠点内の効率的かつ弾力的な運営を担保するために、拠点長に人事、運営に関する決定権を集約させる。拠点長は、拠点内での運営全般に関し、自身の解任・給与決定以外の全ての権限を有する。本拠点に招へいされる主任研究者、客員研究者、ポスドク等の採用と契約更新、給料、研究スペース配分等の権限を有する。サテライト機関との契約やサテライト機関のPIの雇用に関して拠点側の決定権を持つ。また、事務部門についても筑波大学常勤職員を除き事務系職員の採用や契約更新の権限を有する。

外部アドバイザーボードを設置し、テレビ会議等を利用して拠点運営について拠点長の意思決定を助言する。

事務部門長は、事務部門を統括し、研究者が研究に専念できる環境を提供する。主任研究員は、各研究室でのポスドクや技術補佐員等の雇用を拠点長に提案することができる。本拠点に参画するものは職位にかかわらず拠点長に運営や待遇等に関して直接拠点長に意見を具申することができる。

③ 拠点長とホスト機関側の権限の分担

本拠点を本学の独立した一部局としての研究機構として位置づけることにより、人事、環境整備、予算執行を含めた幅広い独立運営を担保する。これにより、本拠点は、拠点長の強いリーダーシップにより、機動的かつ迅速な組織運営が可能となる。具体的には、学長は、拠点長の選・解任の決定の権限のみを有し、拠点長は、拠点内の管理運営全般に関し、幅広い権限を有する。本拠点に招へいされる主任研究者、ポスドク等の研究者の採用と契約更新、給料決定、研究スペース配分、評価、処遇決定等の権限を有する。また、事務部門についても筑波大学職員を除き事務系職員の採用や契約更新の権限を有する。このような仕組みは、アメリカのトップクラスの研究機関では当然のことであり、拠点長候補者のアメリカにおける研究経験が最大限に活かされるものである。さらに、学長、研究担当副学長等との緊密な連携体制を構築することにより、本センターの運営に必要な重要事項が発生した場合には、学長のトップマネジメントにより、現行制度の改正、補正、補足を検討するとともに、迅速かつ柔軟に対応できる仕組みを不断に検討する。

IIISでは、海外経験のある、高い語学力をもつ者を数多く雇用した。採用にあたってはネイティブスピーカーによるスピーキング能力判定も実施した。今年度新規に採用された事務部門スタッフはいずれも英語が堪能であり、外国人研究者とのスムーズなコミュニケーションを助けている。多くの事務職員がPI会議にも参加し、英語でのディスカッションを精力的に行っている。さらに、研究成果を発表するラボミーティングにも積極的に参加することで、科学的な知識の増強と情報共有に努めている。このような経験により、職員の語学力は日々訓練されている。

② 拠点内の意志決定システム

拠点内の運営については、全て拠点長のトップダウン体制により決定した。拠点長の意思が迅速に反映されるよう、部局細則等関係規程の整備を継続している。

外部顧問(元事務部門長)の後藤勝年・筑波大学名誉教授と契約を結び、拠点長の意思決定に際し拠点運営について助言を受けた。

事務部門主導でPI会議を設置、定期的にPIが拠点長に意見を具申し相互に議論をする機会を設けた。PI会議は月一回、国外サテライトPIもTV会議形式で参加する形で行い、既に機構内に設置していた運営委員会(機構内の組織・運営、研究計画等を審議する)の機能も取り込んだ。若手PIもこの会議に参加でき、独立研究者として自らの研究室が運営できる制度となっており、有能な若手研究者に高いモチベーションを与えている。

事務部門長は、事務部門を統括し、拠点長の方針に基づき人員計画、予算計画案を作成して拠点長を補佐し、研究者が研究に専念できる環境の提供に努めた。

③ 拠点長とホスト機関側の権限の分担

拠点内部の人事に関しては機構独自の人事委員会を設置しスピーディーに研究者を採用できる任用制度を整備した。

ホスト機関側の権限である拠点長の選・解任の決定の権限に関し、筑波大学学長は、これまでハワードヒューズ医学研究所研究員であり筑波大と直接的な雇用関係がなかった拠点長に対してジョイントアポイントシステム(仮称)を設置し、2014年4月1日以降の正式雇用を確約した。

5. 拠点を形成する研究者等

○ホスト機関内に構築される中核

主任研究者

	発 足 時	最 終 目 標 (平成27年3月頃)	平成25年度実績	平成26年4月末
ホスト機関内からの研究者数	7	7	7	7
海外から招聘する研究者数	0	4	2	2
国内他機関から招聘する研究者数	0	4	4	4
主任研究者数 合計	7	15	13	13

全体構成

	発 足 時	最 終 目 標 (平成27年3月頃)	平成25年度実績	平成26年4月末
研究者 (うち<外国人研究者数, %> [女性研究者数, %])	41 <1, 2%> [8, 20%]	115 <35, 30%> [35, 30%]	41 <9, 22%> [12, 29%]	41 <10, 24%> [11, 27%]
主任研究者 (うち<外国人研究者数, %> [女性研究者数, %])	7 <1, 14%> [0, 0%]	15 <5, 33%> [1, 7%]	13 <3, 23%> [0, 0%]	13 <3, 23%> [0, 0%]
その他研究者 (うち<外国人研究者数, %> [女性研究者数, %])	34 <0, 0%> [8, 24%]	100 <30, 30%> [34, 34%]	28 <6, 21%> [12, 43%]	28 <7, 25%> [11, 39%]
研究支援員数	17	40	9	10
事務スタッフ (うち(英語を使用可能なもの)の人数, %)	14	14	20 (9, 45%)	17 (10, 59%)
合 計	72	169	70	68

学生

	平成25年度実績	平成26年4月末
大学院学生	12	20
学群学生	20	16
学 生 数 合 計	32	36

○サテライト機関

【発足時】

機関名①テキサス大学サウスウェスタン医学センター (UTSW)

<役割>

ENUプロジェクト（分子遺伝学的研究）および生物学的リズムと睡眠覚醒制御との関係に関する共同研究

<人員構成・体制>

Carla Green、Joseph Takahashi

<協力の枠組み>

拠点長柳沢正史の20年以上に渡る研究拠点でもあるUTSWにサテライトを設置する。サテライトPIとして概日リズム分野で活躍するJoseph TakahashiおよびCarla Greenが参画しそれぞれのラボでポスドクを雇用する。すでにTakahashiとはENUプロジェクトにおいて共同研究体制ができ上がっており、プロジェクト推進に不可欠である。TakahashiとGreenの存在によって本拠点のvisibilityが格段に向上する。

機関名②秋田大学

<役割>

トランスレーショナルリサーチ等における共同研究

<人員構成・体制>

清水徹男、神林崇

<協力の枠組み>

日本の臨床オレキシン研究の唯一、最大の拠点である秋田大学にサテライトを設置する。サテライトPIである秋田大学精神科学講座清水徹男は、ナルコレプシーを含めた睡眠障害の臨床研究において患者および医療機関にネットワークを有しておりトランスレーショナルリサーチ等において本拠点活動を支える。毎週オンラインビデオ会議を行う他、定期的に本拠点中核を訪問し、中核とサテライトとの密接な関係に基づいた研究の進捗をはかる。

【平成25年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】

機関名①テキサス大学サウスウェスタン医学センター (UTSW)

<役割>

生物学的リズムと睡眠覚醒制御との関係およびENUプロジェクト（分子遺伝学的研究）に関する共同研究

<人員構成・体制>

Qinghua Liu, Robert Greene, Carla Green, Joseph Takahashi

<協力の枠組み>

柳沢正史拠点長の20年以上に渡る研究拠点でもある、UTSWにサテライトを設置した。サテライトPIとして、概日リズム分野で活躍するJoseph TakahashiおよびCarla Greenに加え、アデノシン研究で活躍するRobert GreeneとRNA干渉分野で活躍するQinghua Liuが参画した。

平成25年度4月にUTSWよりLiuを客員教授として招聘し、学内に研究室を設置した。その後、約半年の交渉を経て12月に共同研究契約を締結した。この契約に基づき、テキサス大学のラボでポスドクを雇用した。また、人事課が新たに導入する予定のジョイントアポイントシステム（仮称）により筑波大学教授として2014年4月1日以降の正式雇用も約束している。

一方、Liuと同時期にGreeneも客員教授として招聘したが、Greeneのラボ設置はやや遅れて平成26年2月となった。Greeneについても契約を締結し、より強固な連携体制をUTSWと構築していく計画である。

米国サテライトのTakahashi、Green、Greene、Liuらの存在によって本拠点のvisibilityの向上が期待できる。

機関名②秋田大学

<役割>

トランスレーショナルリサーチ等における共同研究

<人員構成・体制>

清水徹男、神林崇

<協力の枠組み>

今年度から秋田大学大学院医学系研究科医学専攻・病態制御医学系精神科学講座の臨床医である清水と共同研究契約を締結してIISのサテライトを設置した。ナルコレプシーを中心とする睡眠障害患者の臨床情報および検体からなるバイオリソースを構築し、分子遺伝学的研究を目的とした異常家系の探索や診断用マーカーの探索を目指す。将来的には現在IISで実施中のオレキシンアゴニストの臨床研究も共同で行っていく計画である。

○連携先機関

【発足時】

機関名①理化学研究所バイオリソースセンター

<役割>

ENUスクリーニングにおける共同研究

<人員構成・体制>

若菜茂晴

<協力の枠組み>

バイオリソースセンターマウス表現型解析開発チーム (Technology and Development Team for Mouse Phenotype Analysis, RIKEN Bioresource Center) の若菜茂晴はマウスENUスクリーニングによっていくつもの病理性遺伝子変異を同定しており、国際マウス表現型解析コンソーシアム (IMPC :International Mouse Phenotyping Consortium) の国内代表でもある。現在、FIRSTプロジェクトの柱となっている新規睡眠制御遺伝子同定のためのENUスクリーニングでは密接な共同研究体制をとっている。本拠点活動においても連携機関となりマウス個体レベルの睡眠覚醒異常解析のためのリソースとして本拠点の研究活動を支える。

機関名②

【平成25年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】

機関名①理化学研究所バイオリソースセンター

<役割>

ENUスクリーニングにおける共同研究

<人員構成・体制>

若菜茂晴

<協力の枠組み>

理研バイオリソースセンターマウス表現型解析開発チームは、連携機関となりマウス個体レベルの睡眠覚醒異常解析のためのリソースとして本拠点の研究活動を支えてきたが、FIRSTプロジェクトの終了に伴い、双方合意のうえ委託契約を終了した。

機関名②新潟大学

<役割>

遺伝子改変マウス作製における共同研究

<人員構成・体制>

崎村健司、阿部学

<協力の枠組み>

新潟大学脳研究所の崎村教授のグループとは、フォワードジェネティクスにより発見された新規睡眠覚醒制御遺伝子の検証を目的とした遺伝子改変マウスの作製に関して共同研究を実施している。Cre依存的に遺伝子組換えの生じるSleepyおよびDreamless 遺伝子改変マウスの作製を新潟大学で進めており、種々のCreドライバーマウスと交配させて、変位型の睡眠覚醒制御遺伝子を部位特異的あるいは神経細胞特異的に発現させた効果を検討する。

6. 環境整備

【発足時】

①研究者が研究に専念できる環境

世界トップレベルの研究拠点に相応しく、世界最高峰の学術研究拠点として、世界トップレベルの研究者を惹き付ける魅力ある優れた研究環境及び生活環境を整備する。

1. 事務部門による支援

研究者の事務的業務を削減し、研究者が研究に専念できる支援組織を築く。また、拠点長の運営の意向が即時に浸透するような体制を整備する。事務部門は、研究内容と国立大学運営業務の両方を熟知している事務部門長の指揮のもと、独立した事務部門を整備・充実する。具体的には、法務、庶務、人事、雇用、出張、勤務管理、広報（アウトリーチ活動）、シンポジウム、会議、海外連携、研究アライアンス、外国人の受け入れ、予算管理・執行、物品購入、国内外の資金・物品の移動、競争的研究資金に関する情報収集、申請支援、プロジェクト管理、報告書作成支援、安全衛生管理など、研究の遂行に必要な支援を全面的に実施する。

2. 研究者の職務の減免及び関連部局支援

本学に在籍し世界をリードする研究者が本拠点に参加するとともに、所属部局と連携して本拠点で更なる学術研究を展開することを可能とする。その際、当該研究者の管理業務等を減免する。なお、このことによる教育研究活動への影響を少なくするため、当該部局に対して、当該研究者にかかる人件費等の支援を行う。

3. 生活支援

筑波大学は文部科学省のグローバル30の採択機関として「国際性の日常化」に取り組んでいるとともに、つくば市は国際的な研究学園都市というメリットがある。このつくば市にあるJISTEC（社団法人 科学技術国際交流センター）が運営する生活支援システムを利用することも含め、ビザの申請、外国人登録等の各種手続き、口座開設、保険の加入、住居の手配等の生活のセットアップをサポートする。また、筑波大学は、本拠点に招へいされた外国人研究者を含め本拠点に参画する研究者、事務職員等が居住できる大学の宿舎または近隣の良好な宿舎を提供するとともに、セミナー開催や共同研究

【平成25年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】

①研究者が研究に専念できる環境

1. 事務部門による支援

研究者が研究に専念できるように、製薬会社の研究部門でマネジメント経験があり、研究管理や研究戦略を熟知している新事務部門長の指揮のもと、グローバル体制を目指して事務部門長を補佐する副事務部門長1名と4チーム（総務企画、財務会計、研究企画、広報連携）の体制で、それぞれのチームが研究の遂行に必要な支援を全面的に実施した。更に特徴的なのは、事務部門に事務部門長を含め医学・生物学領域での博士号を有し、機構の研究内容に精通したスタッフが3名従事しており、全機構レベルでの研究費獲得業務、インターナル・グラント審査業務、各種報告業務など、高度なサイエンスの知識が求められる業務を事務部門が独立して行うことが出来ることである。事務部門の主導により、国際シンポジウムおよびIISセミナーの開催や様々なアウトリーチ活動は、研究者の手を煩わせることなくスムーズに行うことが出来た。

2. 研究者の職務の減免及び関連部局支援

規模の大きい研究室には事務スタッフ（秘書）が配置されPIの秘書業務やグループ内の事務的業務を専任で行っている。定期的に秘書会議を開催し、情報共有やPI会議の議事の報告等を行い事務部門との連携を図っている。

3. 生活支援

学内には外国人研究者及びその家族のための生活支援を行う部署（春日プラザ国際交流コーナー）があり、そこでは日常的な生活情報の提供・相談、学内外の外国人向けの宿泊施設等の情報提供、日本語クラスの実施をはじめ、在留資格認定証明書（ビザ）の代理申請や各種手続きの説明、書類作成補助などの業務を行っており、IISの外国人研究者もサポートを受けている。

立地的にも利便性の高い筑波大学キャンパス内の外国人職員専用宿舎を利用している研究者もあり、大学からのサポート体制も整っている。また、

等のために本拠点を訪問する国内外の研究者に対し、筑波大学の宿泊施設を利用可能とする。

②スタートアップのための研究資金提供

ホスト機関以外から招へいする研究者には、米国での経験豊富な拠点長の判断により適切なスタートアップ資金を提供する。また、当該研究者については事務部門のサポートにより、競争的研究資金の獲得を支援する。

③ポストドク国際公募体制

10年後にも目に見える拠点として存続していくためには、優秀な若手研究者の確保が重要である。以下を通じて国際公募を行い、優秀な若手ポストドクを雇用する。

1. Nature、Scienceなどの国際誌、2. 科学技術振興機構が運営する人材データベースJREC-IN (Japan Research Career Information Network)、3. 神経科学学会等の学会ホームページ、4. 大学ホームページ (4カ国語)、5. 部局ホームページ、6. 筑波大学海外事務所、7. 海外サテライト (テキサス大学での広報、公募告知)、8. その他拠点長および主任研究者の国際ネットワーク

本学では、全学的な若手研究者育成について多様なキャリア・生活支援サポート体制が整備されており、これらの経験を生かし、外国人研究者や女性研究者を含めたポストドクの積極的な登用・参画に努める。

また、拠点長は、有望な若手研究者のリクルートや、研究結果の社会への発信を積極的に行うことにより、拠点の認知度を上げ、良い人材が集まる環境づくりに努める。

④英語を使用言語とする事務スタッフ機能

公用語は英語とし、余人を持って代えがたい能力を持った者以外は全て英語に堪能な者を充てるとともに、可能な限りドキュメントの英語化を進める。

それと並行して社団法人科学技術国際交流センター (JISTEC) と外国人研究者支援業務に関する契約を更新し、より手厚いサポートを継続して行っている。

②スタートアップのための研究資金提供

研究立ち上げのために筑波大学以外から招聘されたPIおよび、若手PIに対してスタートアップ経費を提供した。研究資金の提供は事務部門長が立案し、拠点長が決定した予算計画に基づき行っている。競争的研究資金の獲得に関しては、その業務に精通した専任スタッフを配置し、事務部門が主導で情報の収集や応募情報の提供を行った。また応募関連のセミナーへの参加を促すなど、積極的に研究者の支援を行った。科研費応募の際は権利を有する全ての研究者が応募するよう拠点長から指導があり、コア研究グループから34件の申請が行われた。

③ポストドク国際公募体制

WPI-IIISのホームページをはじめ、Naturejobs、Federation of European Neuroscience、Sleep Research Society-job board、Society For Neuroscience-Neurojobs、jREC-IN、American Society for Neurochemistryなどのサイトに求人広告を掲載し国際公募を行っている。平成25年度の応募者総数は172件に及び、応募者の98%は外国人研究者であった。しかしながら機構の考えている水準に満たないため応募者のほとんどは採用には至っていないが、その内1名は26年度中の採用が決定している。また、サテライトPIの国際ネットワークにより外国人研究者 (スイス人1名/ドイツ人1名/カナダ人1名) のリクルートに成功した。また平成26年度には海外サテライトであるテキサス大学からポストドク1名を採用予定である。それ以外にも国際会議などの場でも積極的にリクルート活動を行なうほか、外部より講演者を定期的に招聘してセミナー (IIISセミナーシリーズ) を実施し、その中からPI (特に若手PI) 候補者を探す活動も継続中である。

拠点長をはじめその他のPIは積極的に科学情報番組等に出演し、WPI-IIISと研究内容や成果について解説し大きな反響を呼んだ。また複数の情報誌にも記事が掲載され認知度アップに貢献した。

④英語を使用言語とする事務スタッフ機能

英語を使用言語とする事務スタッフ機能を整備した。具体的には機構内での公式会議 (PIミーティング等) は公用語として英語を用い、スカイプで海外サテライトとつないで定期的を実施する体制を整えた。また、各個ラボミ

TOEICスコアだけではなくwritingやspeaking能力も判断材料とする。職員に対する英語研修を定期的に行う。事務職員に対しても、2年に1度は海外研修に行くことを推奨し、多様な文化が混ざり合ったメルティングポットの雰囲気や外国人を受け入れる姿勢を直接学び、その研修体験を拠点形成に生かす。

⑤研究成果評価システムと能力連動型俸給制度の導入

学長により、拠点長の採用および給料は決定される。

研究者の評価は、外部アドバイザリーボードにより、論文引用数、国際会議の招待講演、学際的な論文、外部資金獲得状況等により厳格に毎年1回実施する。拠点長はこの評価結果を参考に、研究者の給料等を決定する。

事務職員の給料は、事務部門長の意見をふまえた上で拠点長により決定される。

ホスト機関外から研究者を招へいする際は、研究業績および前職給与額に応じて、給与を決定する。

⑥世界トップレベルに見合う施設・設備環境の整備

「世界から目に見える研究拠点」として世界のトップクラスの研究者が物理的に集結することを可能とし、是非そこで研究したいと思える程度の中核的研究拠点として専用の中核的研究スペースを確保する。

また、研究設備について、既存の拠点では、大規模脳波測定装置や実験動物用ファイバー直結型共焦点顕微鏡などの大型共通機器の設備を整えている。当該拠点においても、最先端の共通機器を計画的に整備していく。

また、研究基盤総合センターが今年度中の提供を予定しているオープンファシリティ機能を利用した学内外の設備の利用について便宜を図る。具体的には、マスメクトル、小動物用超音波イメージングシステム、小動物用発光・蛍光イメージング装置などである。当該センターのオープンファシリティ機能は、順次拡大され、つくば地区の最先端の研究設備の利用も計画されている。

⑦世界トップレベルの国際的な研究集会の開催

ーティング、複数のジャーナルクラブ、IIISセミナーシリーズ、Science Lounge等の主要なミーティングは全て英語で実施している。

実験計画申請書をはじめ各種申請書類や採用、人事、総務に関わる書式等を英語化し、必要に応じて他の書式も適宜英語化を進めている。大学から発信される通知メールも和文のものは事務部門で英訳して所属研究者に配信するなど、機構内はもとより、学内情報の外国人研究者への周知を図るためのサポートも行っている。

⑤研究成果評価システムと能力連動型俸給制度の導入

現在アドバイザリーボードメンバーの候補者の人選を進めているが、本年度、研究者の評価の実施に至らなかった。しかし、アドバイザリーボードの目的は科学的評価を主たるものと考えているので、アドバイザリーボードの評価を研究者の能力連動型俸給制度にどのように反映させるかは慎重に考えてゆく。

事務職員の給料は、事務部門長の意見をふまえた上で拠点長により決定された。

ホスト機関外から招聘された研究者の給与は、研究業績および前職給与額に応じて、給与が決定された。

⑥世界トップレベルに見合う施設・設備環境（含実験室スペース）の整備

平成25年11月に新研究棟の設計が完了し、入札により平成26年1月に工事担当会社が決定され、2月に準備工事が着工された。これに伴い、新研究棟の工事監理を目的に工事関係業者、設計業者、施設部、本機構で構成する「国際統合睡眠医科学研究棟工事連絡協議会」と、この連絡協議会の実務的な運営、予算等の連絡調整を図るための事務連絡会を設置した。さらに、現場レベルの進捗報告や作業確認のため毎週定例会を実施し平成27年3月の竣工に向け円滑な連絡体制を整えた。

研究設備については、今年度最先端の共通機器としてマスメクトル (Orbitrap fusion)、実験動物用3DマイクロX線CT (R_mCT2-SP)、小動物用発光・蛍光イメージング装置 (IVIS)、多光子励起イメージングシステム (Zeiss Axio)、FACS (BD 4LS)、スライドスキャナー (NanoZoomer-XR)などを購入して環境を整備した。

新研究棟が完成するまでの間は、引続き現在の研究拠点である健康医科学イノベーション棟を中心に、プロジェクト研究棟、TARAセンターや付属病院旧病棟Eのラボを活用し、研究活動を展開している。

⑦世界トップレベルの国際的な研究集会およびシンポジウムの開催

拠点長が世話人となって、平成23年度最先端研究開発戦略的強化費補助金（最先端研究開発支援プログラム公開活動）により、国際シンポジウム“Frontiers in Behavioral Brain Science ~Solving the Mystery of Sleep~”を開催した実績を持つ。ノーベル賞受賞者を含む、併せて16名のトップクラス研究者（9名米国、3名欧州、4名日本）を招待することに成功した。講演および運営は全て英語で行われた。「目に見える拠点」を形成していくために、今後も同様のシンポジウムを年に一度、セミナーを月に二回程度、定期的で開催する。また、リトリートを年に一度開催し、学生や若手研究者の育成や共同研究の推奨に努めると共に拠点全体（＝ファミリー）の一体感を高める。

また、海外サテライトで、ワークショップ等を開催することで海外での拠点のvisibilityを高める。

⑧その他取組み

文部科学省からリサーチ・アドミニストレーター（URA）整備に係る「世界的研究拠点整備」事業として位置づけられた筑波大学URA本部（本部長：研究担当副学長）が、研究戦略、国際連携、コンプライアンス等についてノウハウを提供する。

また、大学院生を採用する際は、基本的に全員をリサーチ・アシスタント（RA）として雇用する。第3期及び第4期科学技術基本計画の趣旨を踏まえ、給与水準は生活費相当額程度とする。相応の報酬を与えることで、当該大学院生にその研究活動をプロフェッショナルの仕事として専念してもらい、拠点長が大学院在学時にエンドセリンを発見したように、若く柔軟で自由な発想を持った大学院生とのディスカッションを通じて、独創的な研究を推進する。

1) 国際シンポジウム

平成26年1月20日につくば国際会議場にて国際シンポジウム「第二回IIISシンポジウム ~睡眠の謎に挑む~」を開催した。国内および海外から招聘した著名研究者とサテライト機関の主任研究者を含む約150名が参加し、盛況のうちに終了した。

2) 公開セミナー

本機構主催のIIISセミナーを定期的で開催し、現時点で通算28回を数えた。優秀な人材獲得の機会や人的ネットワークの拡大に大きな役割を果たしている。

⑧その他取組み

機構の連携PIとともに文部科学省の「卓越した大学院拠点形成支援補助金」の交付を受けることができた。この補助金を原資とし、RAの新制度を利用して、大学院博士課程の学生の支援を行った。また、これとは別に、医学群学生に対してFIRSTの研究資金を利用して短期雇用の経済的支援を実施した。

一方、キャリア支援の一環として、IIISセミナーにおいてサイエンス誌のエディターを招き、学生とポスドクを対象にキャリアデベロップメントセミナーを開催した。

7. 世界におけるレベルを評価する際の指標・手法

【発足時】

1. 中長期的な論文の被引用数

オレキシン発見論文の被引用数は2,668であり、ナルコレプシー様症状を示すオレキシン欠損マウス論文の被引用数は1,660である。この非常に高い被引用数からもこれら論文が他の研究者の活動に大きな影響を与えた画期的な報告であったことがわかる。

2. 研究拠点出身者のポジションや科学的達成

本拠点自体の評価は現時点では不可能であるが、拠点長である柳沢正史研究室について言えば、主にポスドクとしてトレーニングを受けた多数の研究者が国内外の大学で教授、准教授となり、さらに研究所や企業で責任ある立場に付いている。このような人的ネットワークのもつ価値は大変大きく共同研究や研究資源に関する情報提供・技術供与などによって速やかな研究の推進を可能としている。また、この事実は、本拠点に優秀な大学院生やポスドクを惹きつける大きな魅力となる。

3. ファンディング

拠点長である柳沢正史はFIRST projectの中心研究者として5年間で18億円の大型グラントを獲得している。これに加えて、柳沢は年平均\$1,260,556の研究費をUSで得ている。

【現状評価】

①論文掲載の状況

平成25年度（平成26年3月末時点）で、IIISからは73編の原著論文が発表された。Suzukiらによる*PNAS* (2013, 18:110(25):10288-93)、Ikedaらによる*Cell* (2013, 5:155(6):1323-36)、Hamadaらの*Nature Communications* (2014, 20:5:3147)等、インパクトファクターの高い国際誌に数多くの成果が報告されたことは特筆すべき点である。さらに、最先端研究開発支援プログラム（FIRST、18億円/5年間）で積み重ねた成果が形となって表れ始め、睡眠覚醒を制御する遺伝的基盤について非常に重要な知見が得られつつある。これらが公表された暁には、睡眠覚醒のメカニズム解明において世界的に見ても大きな進歩となり、パラダイムシフトを起こす大発見になると期待できる。

②主な受賞等

平成25年度は、PIのこれまでの功績が認められ、下記のような数々の賞を受賞した。

柳沢 正史、第17回高峰譲吉賞

長瀬 博、全国発明表彰の発明賞

櫻井 武、科学技術分野の文部科学大臣表彰の科学技術賞（研究部門）

林 純一、第24回つくば賞

③研究拠点としての認知度の上昇

平成26年度のIIISによる国際シンポジウム（WPIとして年1回の開催を義務付けているもの）は、理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター/東京大学の上田泰己教授およびノースウェスタン大学Joseph Bass教授より共同開催のオファーを受け、睡眠・体内時計・食欲/肥満に関する合同シンポジウムとして実施することとなった。このことはIIISが睡眠研究におけるトップランナーとして認識されていることを明確に示している。シンポジウム開催にあたってIIISにも事務局を設置し、企画段階から精力的に関わっている。

④若手PIおよび研究員ポストへの応募状況

平成25年度は若手PIポジションへの応募が15件、ポスドクドクトラルフェローへの応募が約160件であった。このことは、本拠点が若手研究者にとって魅力的な存在であると映っていると理解できる。IIISが定める基準に達する優秀な人材が現れなかったため、本年度は採用に至っていないが、引き続き人材確保に努める。

	<p>⑤研究費獲得に向けた取り組み 拠点長の柳沢が獲得したFIRSTが今年度で終了することもあり、後継プログラムの獲得がIIISとしての急務である。そのため、CREST、ImPACT、COI Stream等の大型グラントの獲得を目指し、研究者・事務部門で協動的に申請を進めた。また、科学研究費は若手研究者を中心に34件を申請した。これは有資格者のほぼ全員である。</p>
--	--

8. 競争的研究資金等の確保

<p>【発足時】 平成23年度：899,239千円(11,240,486ドル) (為替レート 1ドル=80円) 主任研究者による過去5年間の競争的研究資金調達の総額は3,545,336千円(44,316,704ドル)、過去5年間の平均は、709,067千円(8,863,341ドル)である。</p>	<p>【平成25年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】 平成25年度筑波大学IIIS研究者による平成25年度の獲得外部資金の総額は457,560千円であった。平成26年度以降もさらなる競争的資金の獲得を目指す。</p>
---	--

9. その他の世界トップレベル拠点の構築に関する重要事項

<p>【発足時】 柳沢機構長は採択後速やかにハワードヒューズ医学財団(HHMI)を退職する予定。</p>	<p>【平成25年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】 左記の柳沢機構長のHHMI退職に関する予定に対し、平成25年11月11日に文部科学省より受けた「国際研究拠点形成促進事業費補助金の執行に関する指示」に対応して筑波大学として以下のように検討を進め、解決した。 筑波大学は、平成25年10月30日のヒアリング結果を踏まえたWPIプログラ</p>
--	--

ム委員会からの要請を真摯に受け止め、大学として柳沢拠点長が関与する知的財産権問題を解決するため、三明康郎・筑波大学副学長（研究担当）をリーダーとし、弁理士および弁護士を含めたタスクフォースを結成した。11月以降、10回の会議を行ない、12月には副学長、IIS事務部門長、技術移転マネージャーからなる交渉団が渡米してUTSW副学長との直接交渉を行なった。なお本検討は、その経過及び結果を広く公開できる形で透明にして進めるよう努めた。

筑波大学は、① 柳沢の発明による知的財産権を筑波大学に帰属させるため、② 柳沢の発明か否かに関わらず、筑波大学とUTSWとの共同研究により発生する知的財産権について貢献の度合いに応じて筑波大学に帰属させるため、UTSWと鋭意交渉を行った。UTSWは、両大学の発展のために筑波大学との共同研究を進めることに重要な意義があることを認め、知的財産権の帰属問題がこれを阻害しかねないことについて理解を示した。両大学の副学長が、協力してこの問題を解決することで基本的合意に至った。具体的には、柳沢の知的財産権を筑波大学へ帰属させることについては、パイドール法や各機関の規則、雇用契約によって制限されるために、困難であるとの回答であった。しかしながら、これに代わる解決法として、特許の実施許諾が成立して許諾収益が上がった場合に筑波大学の貢献に応じて収益を適切に配分するという提案があった。知的財産権の帰属にかかわらず許諾収益を両大学の貢献に応じて配分するという現実的な解決法であったため、これを評価して原則的な合意に至った。

一方、柳沢が直接関与しない筑波大学とUTSWとの共同研究の一つ（Liuの共同研究）について、研究成果から生じる知的財産権を貢献の度合いに応じて筑波大学に帰属させることを定めた共同研究契約をすでに締結した。柳沢および他の共同研究者（R. Greene、C. Green）の共同研究契約も順次締結する予定である。

柳沢のHHMI退職時期については、三明副学長のリーダーシップのもと研究推進部の支援を得て鋭意検討を行うと共に、柳沢自らがUTSWおよびHHMIとの調整を進め、最終的に永田学長との相談によって、平成26年3月31日付でのHHMI退職、平成26年4月1日からの筑波大学での雇用が決定された。HHMI退職後もUTSWとは部分的な雇用関係を維持できるよう、筑波大学に新たに導入された混合給与制度を利用し、UTSWと筑波大学でのエフォート率をそれぞれ5%と95%にすることが合意された。

10. ホスト機関からのコミットメント

【発足時】

○中長期的な計画への位置づけ

筑波大学の「中期目標」（2010.4-2016.3）には、「幅広い学問分野において、深い専門性を追求するとともに、学際的な領域を積極的に開拓し、国際的に卓越した水準の研究成果を達成する。」とされている。

この目標に対する「中期計画」では、「学術の長期的展望に立った質の高い基礎研究を推進するとともに、既存の学問分野を超えた共同を必要とする領域を積極的に開拓する。」「国際的に高い成果の期待される分野、学際融合を先導する萌芽的な分野など、本学の特色ある分野における研究を学長のリーダーシップの下で重点的に実施する。」ことが明記されている。

したがって、世界トップレベル研究拠点プログラム（WPI）は、本学の中期目標及び中期計画に完全に一致している。

また、「中期計画」に研究実施体制等に関する目標を達成するための措置として、「優れた研究成果を上げることが期待される研究グループや研究組織等に対し、研究資源の配分や研究支援者の配置、組織再編など、拠点形成のための適切な支援を重点的に行い、国際的な拠点形成を積極的に推進する。」と明記されている。

この中期計画に従い、当該拠点を本学が取り組むべき最重要事項として位置づけ、学長の下に筑波大学「国際統合睡眠医科学研究機構（仮称）」創設準備検討会を設置し、世界トップレベルの国際研究拠点形成に向け全学を挙げて取り組んでいる。

○具体的措置

① 拠点の研究者が獲得する競争的資金等研究費、ホスト機関からの現物供与等

本学は、拠点運営及び拠点における研究活動のために、本プログラムからの支援額と同等以上の支援を下記に示す内容で提供する。また、当該拠点の基盤となる最先端研究開発支援プログラム（FIRST Program）「高次精神活動の分子基盤解明とその制御法の開発」が終了した後も、人件費、研究スペースおよび当該拠点に参画する研究者の外部資金により同程度以上のリソースを提供する。

- 1) 当該拠点は、本学研究戦略イニシアティブ推進機構（学長及び副学長で構成）が新たな研究領域を開拓する国際的な拠点を対象に支援する戦略イニシアティブとして位置づける。
- 2) 研究費の支援、競争的資金獲得のための申請支援を併せて実施する。
- 3) 研究者にかかる人件費として、当該拠点へ参画する本学の教員の人件

【平成25年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】

○中長期的な計画への位置づけ

左記の記載の通り世界トップレベルの国際研究拠点形成に向け全学を挙げた取り組みを継続している。

○具体的措置

① 拠点の研究者が獲得する競争的資金等研究費、ホスト機関からの現物供与等

筑波大学は、拠点運営及び拠点における研究活動のために、本プログラムからの支援額と同等以上の支援（FIRST Program基金含む）を下記に示す内容で提供した。

- 1) 戦略イニシアティブとして位置づけ、FIRST Program基金に加えて大学から運営費交付金として1,000万円の支援を行った。
- 2) 研究費の支援、競争的資金獲得のための申請支援を併せて実施した。
- 3) 研究者にかかる人件費として、当該拠点へ参画する研究員7名および技術職員7名の計14名分を措置した。
- 4) 事務部門に参画する事務職員の人件費として、総務・経理・研究戦略等の主要業務に契約職員10名、大学常勤職員3名の計13名分を措置した。

費を措置する。

- 4) 事務部門に参画する事務職員の人件費として、総務・経理・研究資金等の主要業務に大学職員を3名程度配置する。
- 5) 研究スペースの提供による支援
当該拠点が「目に見える拠点」として計画している6,000 m²を超える研究施設に関し便宜を図る。
- 6) 研究設備の使用に係る支援
下記⑤で示す設備の利用について便宜を図る。

② 人事・予算執行面での拠点長による判断体制の確立

当該拠点は、世界最高水準の拠点の形成に資する特別な部局として、他の研究組織と区別された独立した研究機構として位置づける。

また、当該拠点は拠点長のリーダーシップが発揮される仕組みとし、拠点長は拠点を運営する権限を有し、人事や予算等の重要事項を決定できる権限を与えられる。そのため、必要があれば関係規程を改正するなどの措置を行う。

③ 機関内研究者集結のための、他部局での教育研究活動に配慮した機関内における調整と拠点長への支援

学長の下に研究担当、総務人事担当、財務・施設担当、国際担当、企画評価・情報担当の各副学長及び各部長、並びに関係部局長による「筑波大学「国際統合睡眠医科学研究機構(仮称)」創設準備検討会」を設置し、当該拠点の制度設計を行うに当たり大学内で必要な調整を行った。

また、拠点設置後、学内他部局から当該拠点に主任研究者等として集結する場合、「研究戦略イニシアティブ推進機構」の支援対象研究拠点として、関係部局における調整を積極的に実施・支援する。

具体的には、当該部局の教育研究活動に支障が生じないよう、代替人員の確保等の支援、教育・マネジメント業務の減免措置を含めた調整・支援を行う。また、当該拠点の研究者に対し、交流の場を設けることにより、優秀な人材の育成に資する。

④ 従来とは異なる手法による運営(英語環境、能力に応じた俸給システム、トップダウン的な意志決定システム等)の導入に向けた機関内の制度整

5) 研究スペースの提供による支援として、今年度は健康医科学イノベーション棟、附属病院E棟、プロジェクト研究棟、TARAセンターに分かれた形で支援した。現時点では4か所に分かれており5,000 m²に満たないが、来年度には一つにまとめる形で8,000 m²の下記⑤記載の新研究棟を竣工予定である。

6) 研究設備の使用に関わる支援として下記⑤で示す設備の利用について便宜を図った。

② 人事・予算執行面での拠点長による判断体制の確立

IIISに人事委員会を設置し、研究者の任用制度を整備した。この任用制度は従前の人事制度と異なり、審査のステップが集中討議によって迅速化されており(人事委員会および本部任用審査会の二段階)、機構長のリーダーシップによる速やかな判断と任用が可能となっている。これまでのところ、4名の若手研究者が若手Principal Investigator(主任研究者)として認定されている(准教授3名および助教1名)。

予算執行面では、事務部門長のリーダーシップの下で事務組織の体制を見直し、研究者への十分なサポートも含め効率の良い運用を図っている。

③ 機関内研究者集結のための、他部局での教育研究活動に配慮した機関内における調整と拠点長への支援

本機構の主任研究員を含む8名(柳沢正史、長瀬博、沓村憲樹、坂口昌徳、Michael Lazarus、船戸弘正、Qinghua Liu、裏出良博)が人間総合科学研究科生命システム医学専攻の教員認定を受け、大学院学生の研究指導を担当する体制を整えた。現在、特論、演習、実験実習等の各課目を含むシラバスを作成中である。また、グローバル教育院ヒューマンバイオロジー学位プログラムにおいても主任研究者5名(柳沢、裏出、Liu、坂口、Lazarus)が人間総合科学研究科フロンティア医科学専攻(修士課程)で主任研究者4名(長瀬、船戸、Lazarus、沓村)が教員認定を受けており、着実に教育体制を整えている。さらに、理工学分野では数理物質科学研究科化学専攻にて教員認定の申請準備を進めている。このように将来的にグローバルな環境で活躍できる人材の育成を目指した取り組みを実施中である。

④ 従来とは異なる手法による運営(英語環境、能力に応じた俸給システム、トップダウン的な意志決定システム等)の導入に向けた機関内の制度整

備

世界最高水準の拠点の形成に資する特別な部局として、他の研究組織と区別された独立した研究機構として位置づけ、学内制度の柔軟な運用、改正、整備が可能とする。

また、拠点長のマネジメントによる能力に応じた俸給システム、年俸制、研究者業績評価、給料の査定と契約更新の導入などが可能となるよう支援する。

⑤ インフラ（施設（研究スペース等）、設備、土地等）利用における便宜供与

第一線の研究者が是非そこで研究したいとして世界から多数集まってくるような、優れた研究環境と極めて高い研究水準を誇る「目に見える拠点」として当該拠点が計画している施設に関し最大限の便宜を図る。具体的には、平成25年1月に新病棟に全面移転するE棟を当該拠点のために割り当てる。また、既存の拠点である健康医科学イノベーション棟を引き続き使用する。併せて5,000 m²を超える研究スペースを提供する。

⑥ その他

本学では、政府の進める最先端研究開発支援プログラム（FIRST Program）の2拠点が進められており、さらに大学の国際化のためのネットワーク形成推進事業（グローバル30）の拠点校（全国13拠点）として、「国際性の日常化」を推進し、「知の世界拠点」となっている。また、文部科学省からリサーチ・アドミニストレーター（URA）整備に係る「世界的研究拠点整備」事業として位置づけられた筑波大学URA本部（本部長：研究担当副学長）が、研究戦略、国際連携、コンプライアンス等についてノウハウを提供する。

備

機構内での公式会議（主任研究者ミーティング等）は公用語として英語を用い、スカイプで海外サテライトとつないで毎月定期的実施する体制を整えた。また、ラボごとに研究進捗報告や情報共有を行なうラボセミナー、外部から研究者を招いて行なうIIISセミナー、およびIIIS全体でインフォーマルな雰囲気のもと研究紹介と情報共有をするサイエンスラウンジ等の主要なミーティングでも英語で実施しており、機関内の制度整備を行っている。

⑤ インフラ（施設（研究スペース等）、設備、土地等）利用における便宜供与

研究グループの誘致にともないTARAセンターに創薬化学の実験施設、附属病院病棟Eとプロジェクト研究棟に動物実験／遺伝子組換え実験施設および動物飼育施設などを新設し、研究環境の整備を行った。

平成25年11月に新研究棟の設計が完了したが、アベノミクスや震災復興の影響による資材費、人件費、建築費の高騰により、建設予算が当初の計画を約6億円上まわることが判明した。これに対し、学長および財務・施設担当理事のリーダーシップにより、財務部からの融資という形で解決が図られることになった。

入札により平成26年1月に新研究棟の工事担当会社が決定され、2月に準備工事が着工された。これに伴い、新研究棟の工事監理を目的に工事関係業者、設計業者、施設部、本機構で構成する「国際統合睡眠医科学研究棟（仮名）工事連絡協議会」と、この連絡協議会の実務的な運営、予算等の連絡調整を図るための事務連絡会を設置し、円滑な連絡体制を整えた。

平成27年3月の竣工へ向けて、今後、毎週定例会を実施して、トップレベルの研究施設の構築をめざす。

⑥ その他

文部科学省から平成25年11月11日付で国際研究拠点形成促進事業費補助金の執行に関する指示を受け、柳沢機構長のHHMI退職時期および知的財産権の帰属問題に、筑波大学として対応して解決した。

1.1. 審査結果における改善を要する点への対応とその結果

○改善を要する点

指摘①：最先端技術として次世代シーケンサーや可視化技術を取り上げているが、一般的な技術を睡眠研究に使用しただけとも思える。ブレークスルーのためには独自の技術開発が必要なのではないか？

指摘②：次世代シーケンサーとインフォマティクスを組み合わせたバイオインフォマティクス研究コアの早期設立が必要ではないか？

指摘③：IIISで行っている動物実験の結果をヒトに用いるためには臨床の研究者との連携が必要ではないか。

○平成25年度における対応とその結果

対策①：独自の技術開発を行うことはもちろん重要でありIIISもその重要性を認識しているが、技術開発そのものに重きを置くよりも、利用可能な最新技術をどのように活用して生物学的な発見や機構解明、新規化合物の発見を行なうかがより重要であると捉えている。（独自に開発したものではないが）我々は次世代シーケンシング、神経活動可視化技術、定量的質量分析技術、新規蛍光プローブなど複数の最先端技術を駆使し、睡眠研究に活かしている。

例として、以下のような神経活動可視化技術をマウスの自由行動下（特に自然睡眠下）で用いているのは世界中でIIISだけであり、最新技術の活用方法として最先端であると自負している。

- ・ファイバー型顕微内視鏡を用いる神経活動のライブイメージング
- ・多光子励起顕微鏡を用いる覚醒・睡眠マウスの神経活動のライブイメージング

機構として独自の技術開発を行った例としては、SONY等のメーカーと協力して開発したヒト用の世界最小レベルのポータブル脳波計（睡眠解析用）が挙げられる。現在、ワイヤレス化に向けて開発を継続している。

対策②：ランダム変異導入マウスの睡眠スクリーニングを実施するために膨大な脳波・筋電図データを自動処理するためのソフトウェアやデータベースシステムをすでに構築済みであり、バイオインフォマティクスには既に注力している。ただし、マウスエクソーム解析のDNA配列解析のためのインフォマティクスは現在構築中である。

UTSWの次世代シーケンスコアの機能を国内に移転するため、国内での連携先候補として、2013年11月に豊橋科学技術大学を柳沢が訪問し、現在シーケンスデータの精度を確認するためのフィージビリティスタディーを実施中である。また、シーケンスデータ解析のインフォマティクスに対応するため、UTSWにて博士課程を修了した研究者をIIISで6月に雇用する予定である。さらに、平成27年度の概算要求として次世代シーケンスコアの研究組織構築を筑波大学に提案するために準備中である。

対策③：筑波大学の連携PIの二名（松崎、島野）は臨床医であり、常に学内でコミュニケーションを行っている。平成25年度からは秋田大学大学院医学系研究科医学専攻・病態制御医学系精神科学講座の臨床医である清水と共

指摘④：理研脳科学総合研究センター（BSI）は立地が筑波に近く、利根川進所長は米国風のリーダーシップで運営している。脳研究と睡眠研究は分野も近いので、さらに連携を深めたらよいのではないかと？

指摘⑤：これまでのところ、UTSWとのつながりを利用して拠点形成を促進できているが、今後どのように優秀な研究者を採用していくかあまり議論されていない。

指摘⑥：真に世界トップレベルの研究拠点を築くためには核となる研究グループに女性PIを雇用すべきである。

指摘⑦：拠点の発展のためにさらに1~2名のシニアの神経科学者、特にシステム神経科学にフォーカスした研究者を採用したらどうか？睡眠研究に特化した研究者でなくても、現存の研究者の研究成果にシステム神経科学の

同研究契約を締結し、睡眠覚醒異常の臨床検体を用いて、異常家系の探索及び診断用マーカーの探索を目指している。将来的には現在IIISで実施中のオレキシニアゴニストの臨床研究も共同で行っていきたいと考えている。また、臨床医である連携PIの松崎の協力により、宇宙飛行士に投与可能な睡眠導入剤の臨床研究などを視野に入れたJAXAとの共同研究を、平成26年度より開始するため検討中である。

対策④：二人の若手PI（坂口昌則、林悠）は理研BSI出身であり、既に密接な関係にある。2014年1月20日にIIISが主催した国際シンポジウム（The 2nd Annual IIIS Symposium）には理研BSIから二人の研究者（Thomas J. McHugh、内匠透）を招聘して情報交換を行なった。これを契機としてT. McHughと共同研究を開始し、柳沢研からポスドク一名を四か月BSIに派遣し、現在も共同研究を継続している。

対策⑤：機構として常に高い水準の候補者を探しており、平成25年度中に新たにカナダ、フランス、ドイツ、中国、米国から研究者を雇用した。

採用活動としては、無料サイト（10サイト）での募集広告継続に加えて、有料サイト（Federation of European Neuroscience、Society for Neuroscience Neurojobs）に募集広告を掲載している。これらの広告の結果、これまでに172名のポスドク及び若手PIへの応募があったが、応募者が機構の考えている水準に満たないため採用には至っていない。

それ以外にも国際会議などの場でも積極的にリクルート活動を行なうほか、外部より講演者を定期的に招聘してセミナー（IIISセミナーシリーズ）を実施し、その中から候補者を探す活動も継続中である。

対策⑥：IIISとしても女性PIの重要性を認識し、雇用を常に検討しているが、睡眠研究の分野ではそもそも女性研究者が非常に少ない。女性だからとハードルを下げるのではなくあくまでも能力優先で、今後も女性PI候補者を探していく。上記のIIISセミナーシリーズにおいてもこれまで女性研究者が多数招聘されており、門は常に開かれた状態である。平成26年度は、2014年1月20日に開催された国際シンポジウムで基調講演を行った女性研究者、Yang Dan教授（カリフォルニア大学バークレー校）と協議してサテライトPIになる承諾を得、将来的に筑波にセカンドラボを開く可能性を検討している。

対策⑦：IIISとしてもシステム神経科学者の採用には積極的に取り組んでおり、IIISセミナーシリーズに候補となるような研究者を招待して、良い人材を探している。

知識を応用できる候補者であれば、検討に値しよう。

指摘⑧：サテライトとのコミュニケーションは重要であり、TV会議等により改良すべきである。

指摘⑨：拠点の存在価値を高めるため、若手研究者の短期滞在プログラムのような拠点としての新しい道が必要なのではないか。

対策⑧：サテライトとのコミュニケーションについては、これまでも必要に応じてSkypeや電話会議等でコミュニケーションをとってきた。この連携をさらに強化すべく、主任研究者が全員参加するPI会議の開催時間を変更して、サテライトの主任研究者にも参加できるようにした。

対策⑨：海外からの学生の長期滞在プログラムについては、今後若手研究者向けのワークショップ等の短期プログラムについても理研等と連携して取り組みたいと考えている。平成26年度は若手研究者の育成や睡眠研究のネットワーク、共同研究プロジェクトの形成等を目的とした、短期滞在ワークショッププログラム創設の検討を開始することとなった。

12. 事業費

○拠点活動全体

(単位：百万円)

経費区分	内訳	事業費額
人件費	・拠点長、事務部門長	25
	・主任研究者 12人	67
	・その他研究者 21人	102
	・研究支援員 9人	42
	・事務職員 9人	40
	計	276
事業推進費	・招へい主任研究者等謝金	1
	・人材派遣等経費	6
	・スタートアップ経費	63
	・サテライト運営経費	12
	・国際シンポジウム経費	5
	・施設等使用料	3
	・消耗品費	15
	・光熱水料	4
	・その他	25
	計	134
旅費	・国内旅費	2
	・外国旅費	6
	・赴任旅費	7
	計	15
設備備品等費	・建物等に係る減価償却費	34
	・設備備品に係る減価償却費	91
	計	125
研究プロジェクト費	・寄付金による事業	40
	計	40
合計		590

(単位：百万円)

平成25年度WP I 補助金額

平成25年度施設整備額

・病院E棟改修 253㎡

平成25年度設備備品調達額

・基盤整備費（部門共通）

・スライドスキャナ

・一方向気流式マウス飼育装置

34

34

91

58

21

12

○サテライト等関連分

(単位：百万円)

経費区分	内訳	事業費額
人件費	ポスドク研究者	7
	計	
事業推進費		1
旅費		0
設備備品等費		4
研究プロジェクト費		0
	合 計	12

研究達成目標およびゴールに対する平成 25 年度までの実績／進捗状況および今後の方針

1. 研究達成目標

IIIS 発足時の三つの研究達成目標、1) 睡眠覚醒機構の解明、2) 睡眠障害と関連する病態の解明、および3) 睡眠障害治療法の開発のうち、1) の睡眠覚醒機構の解明を分子・細胞レベルで解明する目標と神経回路システムのレベルで解明する目標の二つに分けて、以下のような四つの研究達成目標として再編した。

- 1) 睡眠覚醒制御物質・制御遺伝子の解明
- 2) 睡眠覚醒制御回路と睡眠機能の解明
- 3) 睡眠障害および関連する疾患の分子病態連関の解明
- 4) 睡眠障害治療法の開発

2. 実施期間終了時のゴール

各研究達成目標に対して、実施期間終了時のゴールを以下のように設定した。

- 1) 睡眠覚醒制御物質・制御遺伝子の解明
 - **新規睡眠覚醒制御遺伝子の同定**
 - **睡眠覚醒制御物質の解明**
- 2) 睡眠覚醒制御回路と睡眠機能の解明
 - **睡眠覚醒制御神経回路の動作原理解明**
 - **睡眠の機能の解明**
- 3) 睡眠障害および関連する疾患の分子病態連関の解明
 - **睡眠覚醒制御における脳-末梢臓器連関の解明**
 - **細胞内イベントと個体の睡眠覚醒行動の分子連関解明**
- 4) 新規睡眠障害治療法の開発
 - **睡眠障害治療薬候補物質開発**
 - **睡眠障害予防のための薬物を用いない多面的「グッドスリープ」プログラム開発**

3. 各ゴールに対する平成 25 年度までの実績／進捗状況および今後の方針

- 1) 睡眠覚醒制御物質・制御遺伝子の解明

- **新規睡眠覚醒制御遺伝子の同定**

- a) 睡眠覚醒を制御する新規遺伝子の同定（柳沢／船戸研）

脳波筋電を用いた ENU (エチルニトロソウレア) 変異マウスの大規模睡眠異常スクリーニングによって、睡眠覚醒に異常のある家系が現時点で 10 家系得られており、その中から、連鎖解析およびエクソーム解析によって、覚醒時間の短縮をもたらす *Sleepy* 変異とレム睡眠異常をもたらす *Dreamless* 変異を同定することに成功した。

[今後の方針] これまでに得られている家系の解析をさらに進めることで、睡眠覚醒のネットワークにおいてきわめて重要な役割を果たす制御遺伝子の発見が期待される。

b) *Sleepy* 変異家系の遺伝子変異の同定 (柳沢/船戸研)

Sleepy ヘテロ変異マウスは、24 時間中の覚醒時間が約 20-30%減少し、暗期の覚醒時間が 30%減少した。覚醒時間減少の原因として、覚醒反応の鈍化と睡眠必要量の増加が考えられる。予備的検討では、*Sleepy* 変異マウスは外部からの刺激に適切に反応することから、*Sleepy* 変異マウスは睡眠必要量が増加していると示唆される。

Sleepy 変異マウスの覚醒時間減少をもたらす染色体領域をマップするため、C57BL/6J を C57BL/6N と戻し交配して得られた N2 マウスを用いて連鎖解析を行った。24 時間中の覚醒時間を指標に QTL 解析をしたところ、LOD スコアが 20 を超える単一ピークを認めた。*Sleepy* 変異マウスと野生型同腹仔の全エクソームシーケンスにより、LOD スコアでピークが認められた染色体領域に、*Sleepy* 変異マウス特異的な遺伝子変異を認めた。

その遺伝子変異はある遺伝子 (以下 *Sleepy* 遺伝子) のスプライスドナーサイトのコンセンサスを破壊するものであった。*Sleepy* 変異マウスと野生型マウスの脳及び肝臓の mRNA を用いて RT-PCR を行ったところ、*Sleepy* 変異マウスだけに短いバリエントが認められた (図 1)。この短いバリエントをダイレクトシーケンスしてスプライスドナーサイトの変異によるエクソンスキップを確認した。エクソンスキップは読み枠がずれないイン・フレーム変異であり、*Sleepy* タンパク質は中間部分の約 50 アミノ酸が欠失すると考えられる。欠失部位の一部を抗原とする *Sleepy* タンパク質の抗体を作成した。作成した抗体は、野生型 *Sleepy* タンパク質を認識するが、変異型 *Sleepy* タンパク質は認識しなかった。同定した遺伝子変異の、*Sleepy* 変異マウスの睡眠異常への因果関係を証明するために、ZFN や CRISPR 技術を用いて遺伝子変異を導入したマウスを作成中である。

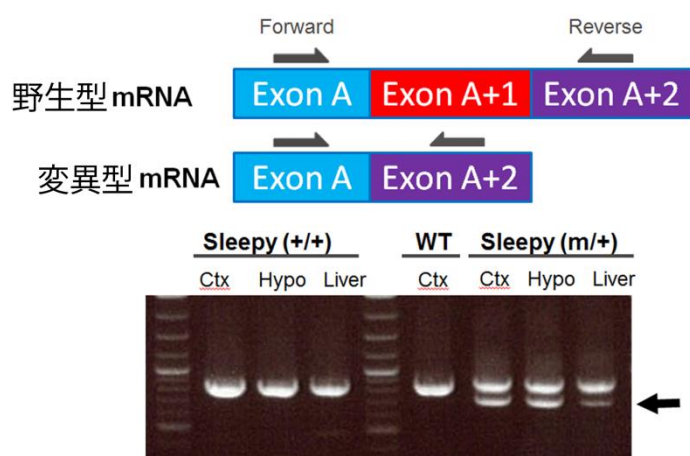


図 1. RT-PCR of *Sleepy* mRNA

短い PCR 産物 (矢印) が *Sleepy* ヘテロマウスだけに認められる。2 本のバンドサイズの違いは、ExonA+1 のサイズと適合している。Ctx: 大脳皮質、Hypo: 視床下部

[今後の方針] これまで *Sleepy* ヘテロ変異マウスの検討に留まっているため、*Sleepy* ホモ変異マウスの睡眠覚醒行動を検討し、ホモ変異マウスの覚醒時間がヘテロ変異マウスよりも減少するかどうか明らかにする。ホモ変異マウスの脳をプロテオミクス解析または RNA-Seq などのゲノミクス解析に用いることにより、発現量の変化したタンパク質や mRNA を同定することができる。

c) *Dreamless* 変異家系を引き起こす遺伝子変異の同定 (柳沢/船戸研)

ENU 変異マウスの大規模スクリーニングを通じて樹立した睡眠異常マウス家系のなかには、レム睡眠エピソード時間短縮および全レム睡眠時間減少を示す家系がある (図 2)。夢と関連の深いレム睡眠が減少することから、我々はこれを *Dreamless* 変異家系と呼んでいる。*Dreamless* 変異家系の N2 マウスを用いて連鎖解析を行ったところ、LOD スコアが 10 を超える単一の QTL ピークを認めた。この染色

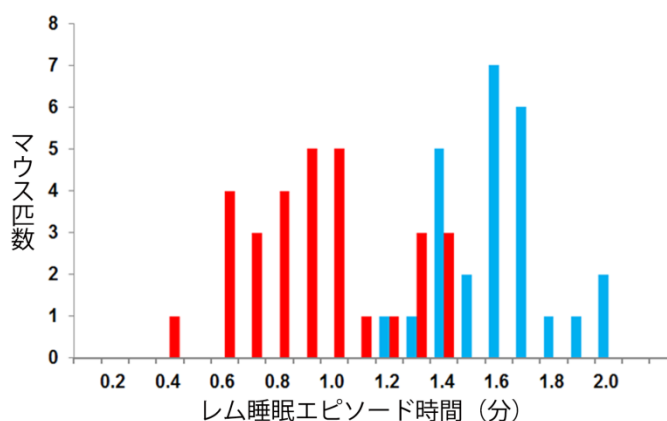


図 2. *Dreamless* 変異マウス (赤) は野生型 (青) に比べてレム睡眠エピソード時間が短い。

体領域にある候補遺伝子をダイレクトシーケンスしたところ、*Dreamless* 変異マウスに限定した一塩基変異が認められた。全エクソームシーケンスによって、この遺伝子 (以下、*Dreamless* 遺伝子) の変異がマップされた領域に認められた唯一のエクソン変異であることを確認した。同定された塩基置換は電荷の異なるアミノ酸置換をもたらすが、このアミノ酸は、脊椎動物から哺乳動物までの *Dreamless* タンパク質で保存されていることから、機能的に重要な役割を持つと考えられる。同定した遺伝子変異の、レム睡眠異常への因果性を証明するために、ZFN や CRISPR 技術を用いて *Dreamless* 遺伝子改変したマウスを作成中である。

[今後の方針] 現状 *Dreamless* ヘテロ変異マウスの検討を進めているが、今後さらに *Dreamless* ホモ変異マウスの睡眠覚醒行動を検討し、ホモ変異マウスがより強い REM 睡眠異常を示すか検討する。*Sleepy* 変異と同様に、CRISPR 法を用いて *Dreamless* 遺伝子に点突然変異を導入し、*Dreamless* 遺伝子変異の睡眠異常における因果性を証明する。*In vivo* および *in vitro* の研究によって *Dreamless* タンパク質の機能と、遺伝子変異による機能変化を明らかにし、*Dreamless* タンパク質が睡眠覚醒を制御する機構を明らかにする。

d) 睡眠覚醒制御に重要な転写因子の同定 (裏出研)

我々は、睡眠時 (10:00) または覚醒時 (22:00) に取得した mRNA を GeneChip cDNA マ

マイクロアレイで解析することにより、マウス脳内において睡眠覚醒制御に関与する転写ネットワークを明らかにした。遺伝子プールから概日リズム関連遺伝子を区別したのち、GeneChip と定量的 PCR 解析により、mRNA レベルが睡眠中に上方制御される 55 個の遺伝子を見出した。転写因子 SOX5 の mRNA が明期の初期 4 時間に依存的に増加しており、さまざまな SOX 遺伝子群の中でも SOX5 だけが睡眠中に上方制御されていることを明らかにした。また、SOX5 のエクソン 2 の一部が欠損した新規プライシングアイソフォーム (SOX5-t2) の存在を確認した。ヒト神経細胞株 SH-SY5Y 細胞に Sox5t2 を過剰発現させると、神経突起の分岐や spine 形成が有意に誘導された。また SOX5-t2 が成体大脳皮質のニューロン核において強く発現していることを免疫染色によって確認した。これらの結果から、マウス脳の神経細胞に発現する Sox5t2 が睡眠制御に関与する可能性が高いと考えられた。

[今後の方針] Sox5 はオリゴデンドロサイトの分化や新皮質の投射ニューロンの発達に関与することが知られており、その変異は様々な疾患を引き起こすと予測される。近年、ヒトにおいて Sox5 のハプロ不全が多動性障害や知的障害に関与するとの報告もある。そこで、Sox5 のノックダウンマウスの行動実験を行い、疾患との関連について検討する。

1) 睡眠覚醒制御物質・制御遺伝子の解明

● 睡眠覚醒制御物質の解明

a) PGD2 の睡眠調節メカニズムの解明 (裏出研)

我々は長年プロスタグランジン D2 (PGD2) が睡眠を誘導する分子機構について注目して研究を行ってきた。PGD2 は、ほ乳類の脳内において産生される主要なプロスタグランジンであり、nM レベルの PGD2 脳室内投与は投与量・時間依存的な睡眠効果を示す。PGD2 の誘起する睡眠は生理的な睡眠と区別できない。

PGD2 は、2 種類の異なる PGD 合成酵素 (リポカリン型 PGD 合成酵素; L-PGDS、および造血器型 PGD 合成酵素; H-PGDS) の触媒によって合成されるが、睡眠調節に関与する PGD2 は L-PGDS によって産生されることを両遺伝子欠損マウスの解析によって証明した。一方、L-PGDS は脳内では主として、オリゴデンドログリア (OD)、脈絡叢 (CP) および脳膜 (LM) に分布する。そこで、睡眠調節に関与する PGD2 の産生部位を特定することを目的として、Cre-loxP システムによる部位特異的遺伝子組み換え技術を用い、以下のように特異的に L-PGDS の発現を欠く遺伝子改変マウスを作成した。

- Flox-LPGDS マウスと Nestin-Cre マウスの交配による、神経細胞のみで (軟膜は除く) 完全に LPGDS がノックアウトされた OD-LPGDS KO マウス
- アデノ随伴ウイルス (AAV) セロタイプ 5 注入によって第三脳室に Cre レコンビナーゼ (AAV5-Cre) を発現する CP-LPGDS KO マウス

- AAV セロタイプ 8 注入によって脳室内に Cre レコンビナーゼ (AAV8-Cre) を発現する LM-LPGDS KO マウス

我々はこれらの LPGDS を特異的にノックアウトした 10 週齢のマウスについて脳波、筋電図、自発運動を記録した。PGDS のインヒビターである四塩化セレンを用いると、OD-LPGDS および CP-LPGDS マウスでは睡眠が阻害されたのに対し、LM-LPGDS では阻害されなかった。このことより、睡眠を誘起する PGD2 の発生源は OD や CP ではなく脳膜細胞であると考えられる。

[今後の方針] 脳膜は、硬膜、くも膜、軟膜の少なくとも 3 層からなるが、これらのうち睡眠調節に関与する L-PGDS の詳細な発現部位は明らかになっていない。さらに、PGD2 は前脳基底部クモ膜細胞に存在する DP1 受容体に結合して、局所でアデノシンを遊離させて睡眠情報を伝達すると考えられるが、その分子機構も不明である。我々は今後もこれらの問題の解決を目指していく。

b) アデノシンおよびその受容体による睡眠調節メカニズムの解明 (Lazarus 研)

外部刺激により確実に眠りを促進する神経細胞群を発見するのが難しいため、睡眠において鍵となる神経物質は未だわかっていない。ラザルス研究室では 2013 年度、側坐核 (NAc) におけるアデノシン A2A 受容体 (A2AR) ニューロンの光遺伝学的・薬理遺伝学的刺激、および NAc 特異的な A2AR ノックアウトマウスと A2AR アゴニストの投与により、NAc での A2AR ニューロンとアデノシン受容体の活性化が睡眠を強く促進することを明らかにした (Xu *et al.*, 投稿準備中)。これは、NAc におけるアデノシンと A2AR ニューロンが行動学的な不活性を促進する (動作を阻害する) のに関与しているだけでなく、睡眠そのものの制御において重要な役割を果たしていることを示す、初めての直接的な証拠である。

[今後の方針] NAc を含め、中脳から線条体に至る中脳辺縁系のドーパミン系はこれまで精力的に研究されてきたが、アデノシンがどこで、どの細胞成分で生成されるかは未だにわかっていない。アデノシンは NAc の星状細胞、内側前頭前皮質ニューロン、扁桃体、あるいは NAc に突出した腹側被蓋領域から放出されている可能性がある。ラザルスおよび裏出ラボでのこれまでの研究により、カフェインは NAc において A2AR へのアデノシンの効果を阻害し、覚醒を誘導することが明らかとなった (Lazarus M, *et al.*, *J Neurosci* 2011, 31: 10067-10075; Lazarus M, *et al.*, *Trends Neurosci* 2012, 35: 723-731)。カフェインがアンタゴニストとして効力を発揮し覚醒を引き起こすためには、細胞外のアデノシンにより A2AR が持続的に活性化されなければならない。このことから我々は、神経系のアデノシン源 (星状細胞またはニューロン) が欠失すると、細胞外アデノシンが欠乏するため、カフェインによる覚醒効果が減衰するのではないかと、という仮説を立てている。さまざまな cre マウスと、アデノウイルスベクターの定位マイクロインジェクションの組み合わせにより、潜在的な神経系のアデノシン源を条件的に阻害もしくは損傷することで、この仮説を検証していく。

2) 睡眠覚醒制御回路と睡眠機能の解明

● 睡眠覚醒制御神経回路の動作原理解明

a) 二光子顕微鏡を用いた、睡眠・覚醒時の大脳皮質の *in vivo* カルシウムイメージング (柳沢/船戸研)

睡眠・覚醒時の大脳皮質ニューロンがどのような活動パターンを示すかを詳細に調べるため、我々は二光子顕微鏡を用いた *in vivo* カルシウムイメージングシステムを確立し、無麻酔マウスを観察できる体制を整えた。このシステムではマウス頭部を対物レンズ下に固定しながらも、トラックボールシステムによりマウスは自由に動くことができる。これにより視野ブレが回避できるほか、拘束ストレスが大きく緩和されるためマウスは顕微鏡観察下で容易に睡眠に入る (図 3)。このシステムを用いて、自然な睡眠覚醒行動を示すマウス大脳皮質のカルシウムダイナミクスを細胞レベルの分解能で記録することが可能となった (図 4)。



図 3. *In vivo* 二光子イメージングシステム
視野ブレをなくし、無麻酔マウスのストレスを大幅に軽減できる。

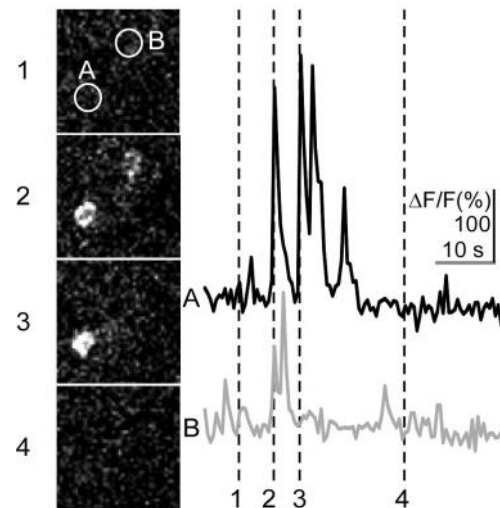


図 4. 無麻酔 Thy1-GCaMP7 トランスジェニックマウス錐体細胞の Ca^{2+} イメージング

左: 錐体細胞の二光子タイムシリーズのフレーム画像。1、2、3、4は右図の1、2、3、4時点で取得したフレームである。

右: 蛍光強度変化の時間経過。AおよびBは左図のAおよびBで示した領域にある神経細胞体の蛍光強度変化をプロットしたものである。

[今後の方針] 大脳皮質の神経細胞は興奮性と抑制性に分けられ、抑制性はさらに複数のポピュレーションに分けられる。各神経細胞ポピュレーションは睡眠覚醒ステージごとに異なる行動を示すと考えられる。Cre-loxP 系を利用して特定の細胞集団のカルシウム濃度を可視化できるマウスと、われわれの構築した *in vivo* カルシウムイメージングを組み合

わせて、大脳皮質神経細胞のサブpopulationごとに、睡眠覚醒状態の変に応じたカルシウムダイナミクスを検討する。

b) オレキシン産生ニューロンの入出力系の解析 (櫻井/坂口研)

睡眠覚醒の制御に重要な働きをもつオレキシン産生ニューロンの入力系の解析の結果、オレキシンニューロンは、脳幹からグリシン作動性ニューロンによる抑制性制御を受けていること (Hondo *et al.*, *PLoS One* 2011)、またオレキシンニューロンにはニューロテンシンが共存しており、オレキシンニューロンに発現する *Ntsr2* を介してオートクリン的な制御を受けていることを明らかにした (Furutani *et al.*, *PLoS One*, 2013)。また、視索前野の GABA 作動性ニューロンがオレキシンニューロンに直接投射しており、オレキシンニューロンの抑制と睡眠の誘導に関与することをオプトジェネティクスと薬理遺伝学 (DREADD) をもちいて証明した (Saito *et al.*, *Front Neurosci*, 2014)。出力系の解析としては、まず、二つのオレキシン受容体の細胞レベルでの分布を睡眠覚醒制御にかかわるモノアミン・コリン作動性神経が局在する神経において明らかにした (Mieda *et al.*, *J Neurosci*, 2011)。また、オレキシン産生ニューロンを、DREADD をもちいて特異的に刺激または抑制することにより覚醒時間または NREM 睡眠が増えることを見出した (Sasaki *et al.*, *PLoS One*, 2011)。オレキシンニューロンはグルタミン酸作動性でもあり、グルタミン酸による速い情報伝達とオレキシンによる持続的な情報伝達を使っていることを明らかにした (Schone *et al.*, *J Neurosci*, 2012; Schone *et al.*, *Cell Rep*, 2014)。さらに、ナルコレプシーにおける慢性的なオレキシン欠損状態では、オレキシンが作用する出力系のニューロンに GABA 入力の減少を主とした代償的变化が起こっており病態を修飾していることを見出した (Tsuji no *et al.*, *PLoS One*, 2013)。また、青斑核のノルアドレナリンニューロンに発現する OX1 受容体は、情動記憶の成立に重要な役割をしていること (Soya *et al.*, *J Neurosci*, 2013)、青斑核ノルアドレナリンニューロンの OX1 受容体および縫線核のセロトニンニューロンにおける OX2 受容体がそれぞれ覚醒の制御およびレム睡眠の発現の制御に関与しており、ナルコレプシーにおいてはそれぞれの機能の欠損が、覚醒の分断化とカタプレキシーの発現に関わっていることを見出した (Hagegawa *et al.*, *J Clin Inv*, 2013)。また、新規 OX2 受容体特異的拮抗薬の作用を非選択的拮抗薬と比較し、両者は同等の睡眠導入効果をもっているが、レム睡眠に対する作用が大きく異なることなどを見出した (Etori *et al.*, *Front Neurosci*, 2014)。

- ① [今後の方針] 今後、AAV と組換え狂犬病ウイルスベクターを用いた順行/逆行性ラベリングを組み合わせるにより、睡眠/覚醒状態を制御する神経経路のコネクトーム解析を行う。さらに、電気生理学とイメージングを用いて、これらの神経回路を構成するニューロンの機解析を行う。我々はその他にも、これらのニューロンの活動に影響を与

えるペプチドや小分子物質など、内因性物質を探索することを計画している。

c) 野生型・*s/eepy*変異型マウス脳プロテオームの定量的マススペクトル解析 (Liu 研)

タンパク質化学分野において実績のある Zhigiang Wang を 2013 年 3 月 1 日付でポスドクとして雇用した。次に、マススペクトロメトリ分野で輝かしい成果を挙げている Yonghao Yu (本年度テキサス大学サウスウェスタン医学センターに着任) との密な連携を開始した。Wang は Yu のラボにおいて定量的マススペクトル解析の最新技術を習得している。この技術を IIIS での研究活動に導入し、2015 年に完成する IIIS の新研究棟にはマススペクトル施設を確立する計画である。

我々はテキサス大学において、柳沢/船戸研究室より提供された野生型及び *s/eepy* 変異型マウス脳サンプルにつき TMT と呼ばれるプロテオーム解析により比較した。本解析法は 6 つの脳サンプル (野生型 3 + *s/eepy* 変異型 3) を同時に解析できるため、統計的な信頼性が高いことが大きな利点である。パイロット実験として、本法により脳内に比較的多量に存在する 4500 種のタンパク質を同時解析したところ、野生型と変異型の脳ではこれらのタンパク質のうち 99% には統計的に有意な差は見られなかった。一方、10 種類以下のタンパク質が上方/下方制御されていることが明らかとなった。このパイロット試験で得られた脳組織のデータ (~4500 種のタンパク質) は培養細胞株のそれ (~5000 種) とよく一致しており、本試験が高精度で行われたことを示している。

[今後の方針] 睡眠・覚醒異常を示すその他の変異型の脳についても引き続き解析を進める。さらに、ホスホプロテオームのような、翻訳後修飾 (PTM) についても解析を開始する。これらの種類の異なるマススペクトロメトリを相互比較することにより、睡眠・覚醒を制御している分子ネットワークを明らかにすることができると期待される。

我々のプロテオーム解析の弱点は、脳内に比較的多量に存在する 4500 のタンパク質のみ対象としていることである。この問題を解決するため、視床下部のような脳の周辺領域や、膜タンパク質にも注目する必要があると考えている。柳沢の尽力により、現状で最速かつ最も強力な Thermo 社の最新型マススペクトロメトリ装置 (Orbitrap Fusion) を 2014 年 3 月に IIIS に導入することができた。これを用いて対象のタンパク質を 9000 種類まで拡張し、さらに詳細なプロテオーム解析を行う。

d) オレキシン神経ペプチドの下流シグナリング経路の精査 (Liu 研)

1988 年に柳沢と櫻井はオレキシン (ヒポクレチンとしても知られる) を同定し、覚醒の維持において鍵となる制御因子であることを明らかにした。オレキシンあるいはその受容体の欠乏は、ナルコレプシーと呼ばれる病気を引き起こす。ナルコレプシーはマウス、犬、ヒトで知られており、ヒトでは昼間、マウスでは夜間に頻繁に強い眠気に襲われるのが特徴である。本疾病については精力的な研究が行われてきたが、オレキシン/オレキシン受容体の下流シグナリング経路についてはほとんどわかっていない。Wang はオレキシン受容体

である OX1R または OX2R を発現する培養細胞株 (HEK293 及び視床下部細胞株) を用い、オレキシンが細胞増殖や代謝の制御において中心的な役割を果たす mTOR 経路を活性化することを明らかにした。オレキシンを介した mTOR の活性化には細胞外カルシウム流入が必須であり、Erk や Akt のようなこれまでに知られていた上流のキナーゼとは独立の新規な経路があると考えられる。

[今後の方針] 我々は現在、オレキシンが覚醒およびエネルギー恒常性を促進する効果を示す際に、mTOR が中心となって仲介するという仮説のもとに、オレキシン/G タンパク質共役受容体 (GPCR) -依存の mTOR 活性化について検討を進めている。これらを明らかにし、2014 年秋には論文としてまとめる予定である。

e) レム睡眠とノンレム睡眠を生み出す神経基盤の解明 (林研)

睡眠覚醒の制御に加え、哺乳類の睡眠はレム (急速眼球運動) 睡眠とノンレム睡眠から構成される。レム睡眠は夢を生じ、一方、ノンレム睡眠は徐波と呼ばれる同調的な神経活動を生じる。レム睡眠の割合の低下は

様々な発達障害や精神疾患に共通して見られる症状である。しかしながら、レム睡眠とノンレム睡眠を生じる神経回路に関しては不明な点が多い。古典的な生理学的実験から、脳幹橋にレム睡眠を開始させる部位と停止させる部位の存在が示唆された。その一方で、脳幹では、多様な機能のニューロンが明確な神経核構造を形成することなく混在するため、どの細胞種がこうした役割を担うかは不明であった。これまで主に、次の2つの仮説が提唱され論争となってきた (図5): ①レム睡眠促進ニューロンとノンレム睡眠促進ニューロンがそれぞれコリンとモノアミン作動性ニューロンであるとする相反的相互作用説 (Hobson, *Nat Rev Neurosci*, 2009) と、②どちらも GABA 作動性とするフリップ・フロップ・スイッチ説 (Lu *et al.*, *Nature*, 2006) である。しかしながら、どちらも決定的な証拠を欠

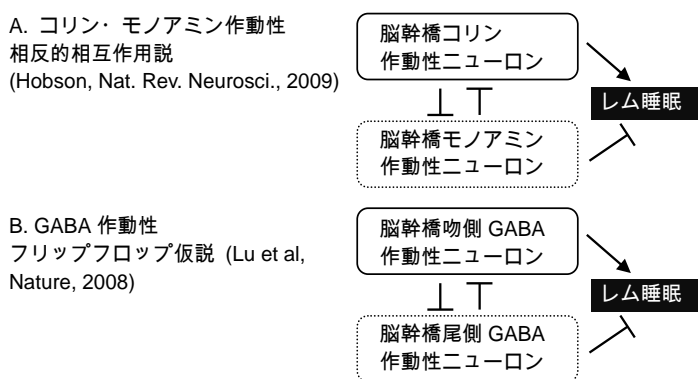


図5. レム-ノンレム睡眠スイッチに関する諸説

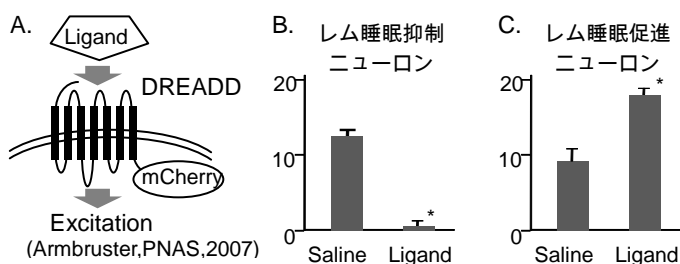


図6. レム睡眠制御ニューロンの同定 (Hayashi *et al.*, unpublished data)

- A. DREADD 受容体の発現およびリガンド投与による人為的な神経活動誘発の模式図。
 B. DREADD による橋被蓋野吻側域のグルタミン酸作動性ニューロンの刺激による3時間にわたるレム睡眠の阻害。
 C. DREADD による橋被蓋野尾側域のグルタミン酸作動性ニューロンの刺激による2時間にわたるレム睡眠の促進。
 *P<0.01 (Welch's test).

いた。我々は、脳幹橋のようなヘテロな細胞集団において、特定の機能を担うニューロン群だけを特異的に操作できる手法の確立を目指してきた。そこで我々は、神経機能が発生学的起源や細胞系譜と密接に関連することに着目し、細胞系譜特異的にニューロンの活動を操作できる手法を確立した (Hayashi *et al.*, unpublished)。この手法により、脳幹橋の二つの部位において、それぞれレム睡眠を促進および抑制するグルタミン作動性ニューロン群を同定することに成功した (図 6、Hayashi *et al.*, unpublished)。

さらには、同じ部位に存在する GABA 作動性の投射型ニューロンも同様の機能を担うことを発見した (Hayashi *et al.*, unpublished)。これらの GABA 作動性ニューロンは相互に軸索を投射し合った。従って、レム睡眠を促進または抑制する 2 種類のグルタミン酸作動性ニューロンが存在し、それぞれが GABA 作動性の投射型ニューロンを介して相互に抑制しあうことで、レム睡眠とノンレム睡眠のバランスが決まることを見出した (Hayashi *et al.*, unpublished)。われわれの成果はレム・ノンレム睡眠の中枢回路に関して flip-flop 仮説を支持し、さらには別の種のニューロンの関与も示し、長年の論争を解決するものである。さらには「進化の砂時計モデル」によると、発生学的起源や細胞系譜は進化に関しても貴重なヒントを与える。レム睡眠やノンレム睡眠は鳥類や哺乳類に固有の生理状態だが、これらが進化の過程でどう生じたかは全く分かっていない。我々の細胞系譜特異的なアプローチにより、上記のレム睡眠とノンレム睡眠を制御するグルタミン酸作動性ニューロンは、覚醒を促進するニューロンと同じ発生学的起源に由来することを見出した。従ってレム睡眠は、覚醒を制御するニューロンの一部が、進化の過程で、睡眠中に大脳を活性化する機能を獲得したことで出現したのかもしれない (Hayashi *et al.*, unpublished)。

[今後の方針] 我々はレム睡眠とノンレム睡眠を生じるニューロン群を同定することに成功した。これらのニューロンの細胞種を解明し、さらには、これらのニューロンが覚醒を司るニューロン群と近い細胞系譜であることを発見した。しかし、同一の発生学的起源に由来する細胞群が機能の全く異なるニューロン群を生み出すメカニズムは不明である。そこで我々は、マイクロアレイ解析により各ニューロン群に特異的に発現する遺伝子を探索し、既に複数の候補遺伝子を同定した。今後これらの候補遺伝子の Cre-knock-in マウスを作成し、候補遺伝子および候補遺伝子発現細胞のレム睡眠やノンレム睡眠の制御への関与を検証する。

さらには、レム睡眠やノンレム睡眠を制御するニューロン群を同定したことで、任意のタイミングでレム睡眠を遮断することに成功した。我々はこのアドバンテージを活かし、睡眠科学における大きな謎であるレム睡眠の意義についても追及する。

f) 低周波睡眠脳波の制御メカニズムの解明 (Greene/Vogt 研)

近年、我々は神経ネットワークと樹状突起の統合の際の異なる介在ニューロンの役割を研究している。加えて、我々は神経発達段階の障害の際の、シナプスの可塑性の役割についても研究している。我々は光遺伝学と電位感受性色素イメージング技術を、*in vivo*での応

用の前段階としてスライス切片で組み合わせて実験を行えるようにした。また、開放系の生理学プロジェクトによりハードとソフトを整備し脳波測定を実施した。

〔今後の方針〕 我々は、睡眠に関係する大脳皮質のネットワークを研究するために高解像度のイメージング技術と光遺伝学の一つである designer receptors exclusively activated by designer drugs (DREADD) 技術を使用する予定である。覚醒から睡眠への移行において、大脳皮質の神経ネットワークの活動は高レベルで同期しない活動状態から低レベルで同期した活動状態に劇的に変化する。この変化は、0.5~4.5 Hz の範囲で表層脳波の増強に反映される。この徐波睡眠は睡眠と生命の維持のために重要であるが、徐波睡眠の根底となる神経ネットワークやその制御についてはほとんど判っていない。

最初のプロジェクトで、我々は、大脳皮質局所の現象としてそのホメオスタシスの性質（睡眠遮断の後の睡眠徐波の増強）を研究する。我々は、アデノ随伴ウイルスベクターを用いた神経細胞への遺伝子導入により、大脳皮質の限られた局所の活性化レベルを制御することができる。我々は、表面脳波と局所での神経細胞膜電位を記録することで、この活性化が徐波睡眠をどのように変化させるかを解析する。以下のような疑問に答えを与えることが目的である。覚醒時に活性化をしないとその後、徐波の活性の低下に結びつくのだろうか？ GABA 作動性ニューロンの活性化を介した減衰と、直接的に主要な神経を減衰させることは等しいか？睡眠時に徐波の活動を妨げた場合、その後の睡眠時にリバウンドを引き起こすのか、徐波を妨げても徐波睡眠の代わりになるのか？

第2のプロジェクトでは、我々は遺伝的に改変した受容体を利用して、*in vivo*におけるカルシウムや電位のイメージングにより睡眠時、覚醒時、睡眠覚醒移行時の異なるニューロンの活動を研究する。受容体は選択的にニューロンのサブタイプで発現させることができるし、そのニューロンの活動は近傍での神経細胞膜電位と関係づけられる。

第3のプロジェクトでは、我々は光遺伝学の技術を用いて、大脳皮質の局所に周期的変動を誘起し、この変動が徐波睡眠をミミックすることができるかどうか、ミミックできるのであればどんな変動パラメータを必要とするかについて調べる。

g) 睡眠必要度と低周波睡眠脳波との関係の解明 (Greene/Vogt 研)

恒常性により睡眠必要度は、覚醒時は増加して睡眠時は減少する。脳の徐波活動 (SWA、睡眠必要度の指標)、がマウスにおいて徐波睡眠 (SWS) の間に指数関数的に減衰すること、そしてその減衰が重要であり、断眠 (SD) 量に比例して減衰量が減ってしまうことを示してきた (図 7)。ニューロンのアデノシン A1 受容体の条件つきノックアウトの解析結果は、この受容体が減衰に必要であることを示す。また、グリアのアデノシン・キナーゼ (アデノシン代謝酵素) の発現を減少させたマウスにおいて、その減衰率は、6 時間の SD によって誘導される減衰率と同じ程度であった。徐波睡眠 (SWS、睡眠の必要性のためのもう一つの指標) は、ニューロンのアデノシン A1 受容体欠損で減少し、グリアのアデノシン・キナーゼ欠損で増加した。

これらの結果は細胞外アデノシンの量によって介在されるグリアと神経細胞の相互作用によって、睡眠必要度が制御されていることを示している。グリアの代謝状態によって高親和性低活性のアデノシン・キナーゼは制御されており、それはさらに神経細胞の睡眠必要度に影響を与える（図8）。

[今後の方針] 睡眠の必要性と深い関わりがある SWA の減衰と蓄積を考慮して、我々は最初に SWS 時の SWA の生成に関する局所回路のメカニズムを、そして、第二に以前の覚醒(W)時間の長さの影響を調べる。

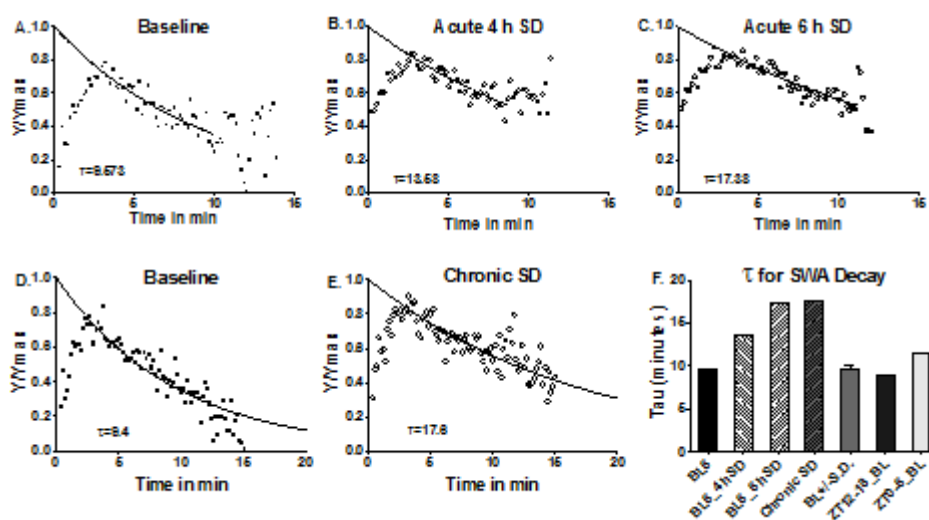


図7 野生型マウスにおいてSWA減衰速度定数は睡眠要求量と相関する断眠 (SD) 量を変化させた野生型マウスにおける平均SWSエピソード中のSWA減衰の時定数 (τ) を、単一相指数回帰により決定している。C57BL6マウスを用いて、A: ベースライン、B: 4時間SD、C: 6時間SD ($n=4$) の条件で試験を行った。別のグループでD: ベースライン、E: 慢性的なSD (4時間のSD+2時間の復帰期間を8連続サイクル) ($n=24$) を施した。SWSエピソード時間 (10秒毎のプロット; X軸) と標準化SWA (Y軸) をプロットしている。F. それぞれのSD条件下のSWSエピソードのSWA減衰 τ を示す棒グラフのように、強制的なW持続に比例して段階的に遅延を示す。「BL+/-S.D.」は慢性的なSDを加えた野生型系統をプールしたもので、標準偏差は1.1分であった。

その発生を制御する局所回路のメカニズムは、我々が特定したニューロンとグリア回路でのアデノシン濃度のような局所因子と、WからSWSへの移行に際してSWAの大きな増加を誘発するモノアミン作動性およびコリン作動性覚醒中枢の両方の影響を受けていると考えられる。

このように、SWAの生理的局所およびシステムの影響 (長い範囲での効果を含む) を解明するために、局所回路の活動を、遺伝子改変技術を用いることにより次世代のCalciumや電位感受性色素を用いて二光子イメージング技術で解析する。これにより、同調した複数のニューロンならびにグリアのモニタリングを行い、睡眠の必要性と関連した徐波の活動生成に関係している局所回路を明らかにする。

細胞内、細胞間で、SWAの修飾に関する睡眠必要度を理解することは、睡眠の機能の謎を

解くことに欠かせない。

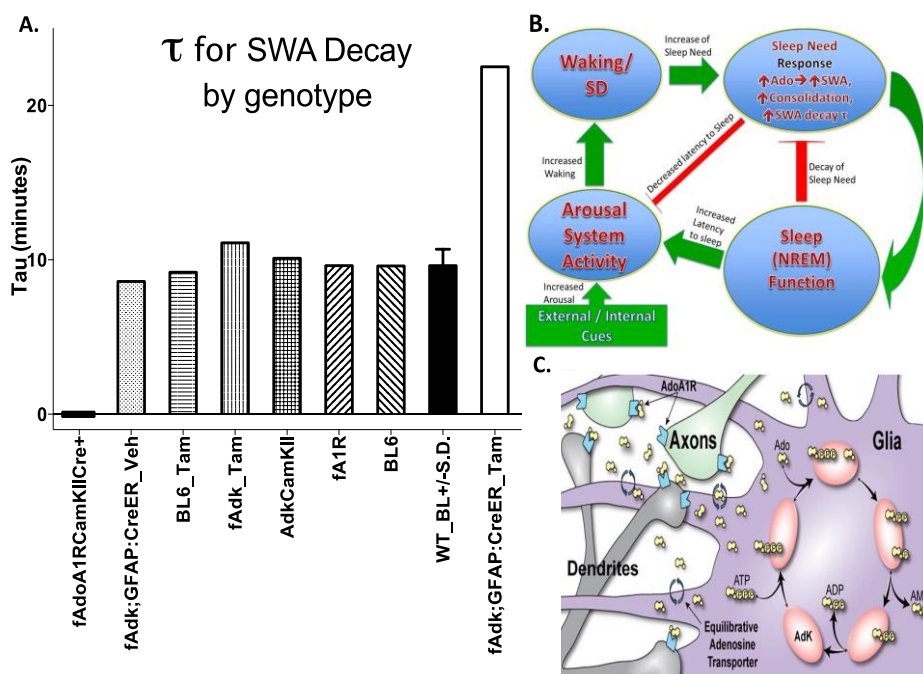


図8 SWS中のSWA減衰速度定数は、アデノシンA1受容体・アデノシンキナーゼの発現を制御する遺伝子（それぞれAdorA1・Adk）によって影響される

A. ベースライン条件における、遺伝子型が異なる個体の平均SWSエピソード時間中のSWAの減衰速度定数 (τ) を示す棒グラフ。ニューロンのAdorA1を欠失 (fAdoA1RCamKIIICre+) させると減衰がなくなり、Adkの発現が減少 (fAdk;GFAP:CreER_Ta) すると τ が10倍以上増加する。(標準偏差=1.1分)

B. システムの模式図。覚醒による断眠により、睡眠必要度が増加する。徐波睡眠により睡眠必要度が減少し、覚醒が強化される。

C. 局所回路の模式図。睡眠要求度はニューロンのアデノシンがアデノシン A1 受容体を介して作用しており、強制的な断眠に応じて SWA のリバウンドが起こりやすくなる。SWS の間、アデノシンはグリアにおけるトランスポーターにより濃度勾配ができ、さらにアデノシン・キナーゼによって代謝されてゆく。ニューロンのアデノシン A1 受容体の活性化は SWA 減衰率を負に制御する。

2) 睡眠覚醒制御回路と睡眠機能の解明

● 睡眠の機能の解明

a) 睡眠が記憶に果たす役割の解明 (櫻井/坂口研)

脳全体にわたるニューロンの活動は、最初期遺伝子 (IEG) Arc/Arg3.1 を用いた catFISH 法によってレトロスペクティブに可視化することができる (Guzowski et al., Nat Neurosci, 1999)。活性に制御された IEG Arc は、シナプス活性部位に急速に蓄積する。我々は、1 つもしくは 2 つの密な核内 foci を形成するニューロン (神経活動が 5 分以内のもの)、細胞

質のみでの発現（神経活動が 30 分程度）、その両方について、Arc の発現プロファイルを睡眠の各ステージで比較した。これを用いて、睡眠中の海馬の神経活動は覚醒中のそれとはかなり異なるという予備実験結果を得た（図 9）。

また、恐怖記憶学習に睡眠記録を組み合わせ、睡眠と記憶学習の相関を検討するための一連の実験プロトコルを完成させた（図 10）。これを用いて、睡眠に与える影響について予備実験結果を得た。

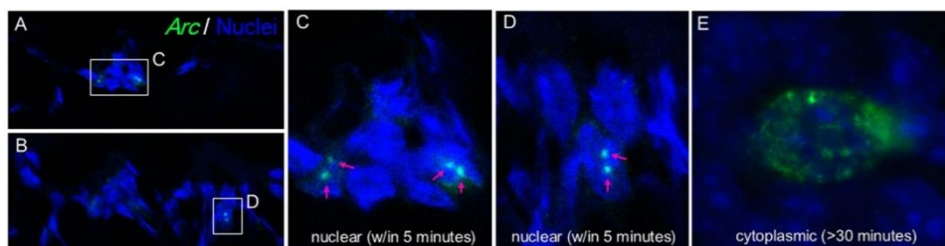


図 9. CAT-FISH 法

A, B. 脳切片における Arc RNA signal の例、C, D. A, B 内の Box の拡大図。いずれにおいても、核内（青）に複数 (Allelic) の Arc シグナルが認められる。これらの神経細胞は、発火後 5 分以内であることが分かっている。E. 発火後 30 分程度の神経細胞では Arc RNA シグナルが核外へと移行する。

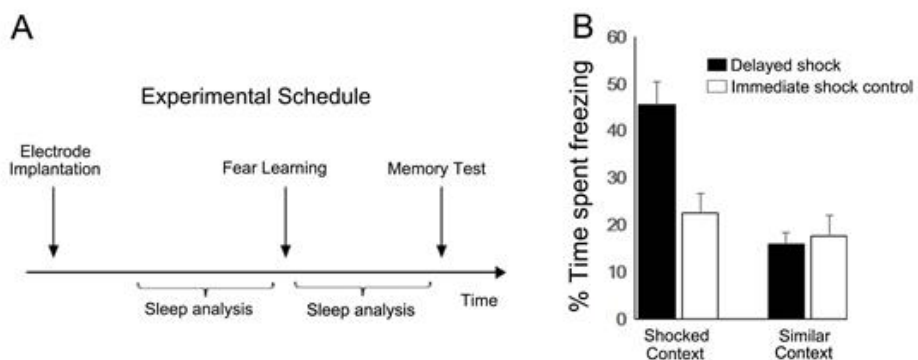


図 10. 睡眠と記憶の相関を検討するための実験プロトコル

A. 実験スケジュール。脳電極埋め込み後に基準となる睡眠測定を行った後、恐怖記憶学習課題を与える。その後に睡眠測定を行うことで、睡眠への影響を測定する。この際、学習群に加え、電気ショックなどの全ての操作を行うが、電気ショックのタイミングを変えることで、学習が成立しない対照群 (Immediate shock control) を置く。直後より睡眠解析を 24 時間行う。その後、学習をさせたコンテキストおよびそれと似て非なるコンテキストでの記憶テストを行う。B. 記憶テストの結果。学習群にのみ記憶が成立しており、かつ似て非なるコンテキストでは非特異的な記憶想起（フリージング）が起きないことが示された (n=8 in each group)。

成体で新生するニューロンの睡眠中の活動について調べるため、nestin プロモータによって Cre リコンビナーゼを発現し、その活性は tamoxifen によって制御されているマウス（nestin-promoter-CreERT2）の脳内のニューロンを可視化した。このマウスを CAG-flox-stop-flox-eNpH3.0YFP マウスと交配し、ハロロドプシンと YFP が成体で新生するニューロンで選択的に発現するようにした（図 11）。これらにより、catFISH と光遺伝学の技術を組み合わせてニューロンを追跡・操作することが可能になった。

光遺伝学を、これらの研究に応用にするに当たり、特定の睡眠ステージ、特に短い REM 睡眠の期間選択的に光照射を行うためのシステムが必要である。昨年度 BIOTEX 社（京都）との共同開発により、睡眠測定をリアルタイムでモニターしながら、狙った時間でのみ光を照射するシステムの構築に成功した。

心的外傷後ストレス障害（PTSD）の患者はしばしばトラウマと非トラウマの記憶を一般化し、結果として QOL を低下させている。我々の研究により、トラウマ的なコンテキストと非トラウマ的コンテキストの記憶の一般化には時間依存的な脆弱性がある可能性が見出された。この発見は英国 Edinburgh 大学の Szu-Han Wang 氏との共同研究によってなされたもので、今後睡眠との関係についてさらに追求していく。

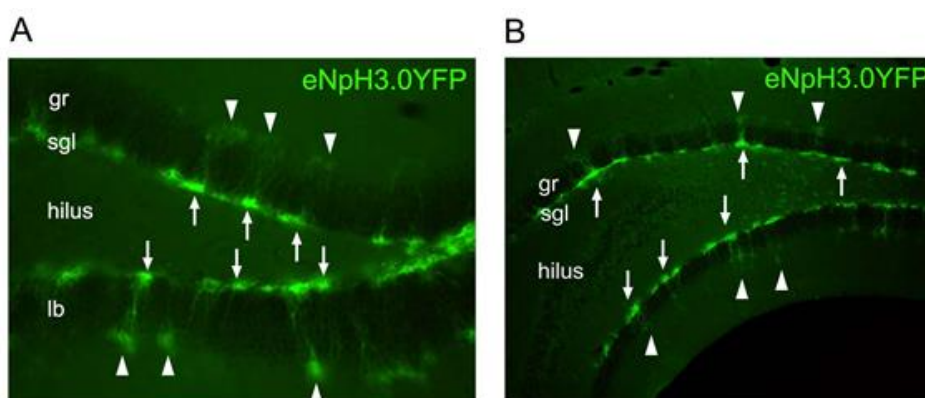


図 11. 成体脳で新生したニューロンに選択的な光受容体タンパク質の発現誘導

タモキシフェンという化学物質を投与するタイミングを調整することで、神経前駆細胞選択的に狙ったタイミングで Cre 酵素活性を誘導できるマウス pNestinCreERT2 がある。本マウスに、Cre 酵素依存的に光受容体タンパク質 HaloRhodopsin (eNpH3.0) を発現できるマウスを交配させ、そのマウスが成熟した後にタモキシフェンを投与した。その後、神経前駆細胞の成熟を誘導した。A. 成体脳内で神経前駆細胞が存在する歯状回において、神経前駆細胞およびその子孫が高密度に存在する Sub-granular Layer (sgl) に eNpH3.0 の発現が誘導された。A は歯状回前部 B は後部を示す。矢印は細胞体の位置、矢尻印は分子層に伸びたニューロンの樹状突起を指す。gr, granular cell layer, lb, lower blade.

[今後の方針] 研究達成目標に向けて、上記の実験をさらに前進させる。これらの実験は全て有機的な関連が有るため、本年度より研究に携わる人員を増やすことで効果的な連携が見込まれる。発表に値する知見は積極的に国内外の学会等で発表の機会を持つ。

b) レム睡眠の生理的意義の解明 (林研)

睡眠を奪われたラットは、極端な体重の減少や深刻な皮膚の損傷などの劇的な症状を示し、2~3 週間のうちに死に至った (Rechtschaffen *et al.*, *Sleep*, 1989; Rechtschaffen and Bergmann, *Sleep*, 2002)。しかしながら、未だになぜ睡眠が生命維持に必須であるかはよく分かっていない。近年の研究から、睡眠が記憶の固定化、成長ホルモンの分泌、脳内の代謝物の除去に関わることが示唆されたが、これらは全てノンレム睡眠時に起きると示唆された (Takahashi *et al.*, *J Clin Inv*, 1968; Rasch *et al.*, *Science*, 2007; Xie *et al.*, *Science*, 2013)。一方、レム睡眠の役割は全く不明であった。

我々はレム睡眠制御ニューロンの同定に基づき、レム睡眠を任意のタイミングで遮断または増加できるモデルマウスを確立した (Hayashi *et al.*, unpublished)。このようなシステムは、レム睡眠の機能を検討する絶好の機会を与える。

[今後の方針] 将来的には、レム睡眠の遮断もしくは増加時に *in vivo* イメージングによってスパインや軸索のダイナミクスを観察し、脳内で睡眠中に何が起きているか、レム睡眠がどのように関わっているのかを直接的に精査することを目指す。

3) 睡眠障害および関連する疾患の分子病態連関の解明

● 睡眠覚醒制御における脳-末梢臓器連関の解明

a) ミトコンドリア遺伝子疾患モデルマウスの睡眠覚醒行動解析 (林純一/中田研)

ミトコンドリア遺伝子 ND6 (NADH デヒドロゲナーゼサブユニット 6) に点突然変異を持つ Mito-MiceND6^M の睡眠覚醒行動を検討している。このマウスは変異の影響で活性酸素の産生量が増加しており、加齢に伴って耐糖能低下や腫瘍形成を示す。睡眠覚醒行動の検討内容は、1) 基礎的・定常的な睡眠覚醒行動、2) 4 時間睡眠遮断後の睡眠覚醒行動、3) 24 時間絶食中および再栄養時の睡眠覚醒行動である。これまでの検討では、若い成獣 Mito-MiceND6^M の基礎的脳波は野生型と比べて顕著な違いを示していない。

[今後の方針] Mito-MiceND6^M は加齢によって糖代謝異常などを示す (Hashizume *et al.*, *PNAS*, 2012) ことから、脳波測定が可能であるかぎり、睡眠覚醒行動を半年ごとに評価し加齢に伴う変化を検討していく。

b) 脂質代謝制御異常の睡眠覚醒行動への影響の解明 (島野研)

長鎖脂肪酸伸長酵素 Elongation of long chain fatty acid member 6 (*Elovl6*) 遺伝子欠損マウスの睡眠覚醒行動の検討を続けている。

オレキシン遺伝子は全身組織の中で脳視床下部外側野の一群の神経細胞のみが強い発現を示すが、限局した転写制御の仕組みは不明である。矢作准教授の作成した TFEL, transcription factor expression library を利用し、オレキシン遺伝子を制御する転写因

子の同定を進めている。

[今後の方針] 脂質代謝異常のモデルマウスの睡眠覚醒行動を検討していく。

Transcription factor expression library を用いた転写因子同定を、オレキシン以外の睡眠制御遺伝子にも展開する。

3) 睡眠障害および関連する疾患の分子病態連関の解明

● 細胞内イベントと個体の睡眠覚醒行動の分子連関解明

a) 痙攣後に起きる過剰睡眠の分子機構の解明 (裏出研)

てんかんは痙攣を特徴とする神経疾患であり、しばしば睡眠を伴う。プロスタグランジン (PG) D₂ は、造血 (H-) またはリポカリン型 PGD 合成酵素 (L-PGDS) によって生成され、生理的な睡眠の調節に関与する。我々は、H-PGDS、L/H-PGDS または DP1 受容体 (DP1R) をノックアウトしたマウスにおいて、ペンチレンテトラゾール (PTZ) 誘発痙攣、全身性強直・間代発作の持続時間、痙攣スパイクが増大することを明らかにした。発作は野生型マウスにおける脳の PGD₂ 含量を著しく増加させた。PTZ 誘発性の PGD₂ の産生は、L-または H-PGDS 欠損マウスでは減少し、L/H-PGDS 欠損マウスでは完全に消失した。発作後ノンレム睡眠は、野生型、H-PGDS または DP2R 欠損マウスで観察されたが、L/L/H-PGDS または DP1R 欠損マウスでは観察されなかった。以上の結果は、H-PGDS/DP1 系が痙攣の抑制に関与し、L-PGDS/PGD₂/DP1R 系が痙攣後の過剰ノンレム睡眠の誘発に関与することを示している (図 12)。

[今後の方針] 脳内で H-PGDS はミクログリアに、L-PGDS はくも膜、脈絡叢とオリゴデンドログリアに、DP1 受容体はくも膜やグリアリミタンスの一部の細胞や活性化アストログリアに局在している。H-PGDS、L-PGDS、DP1 の flox マウスを作製したので、各種の細胞特異的な欠損マウスを作製して、抗痙攣作用と痙攣後の過剰ノンレム睡眠の誘発に関与する細胞を同定する。PTZ 投与による脳内濃度が数千倍に上昇する PGD₂ の排泄および分解機構を調べる。

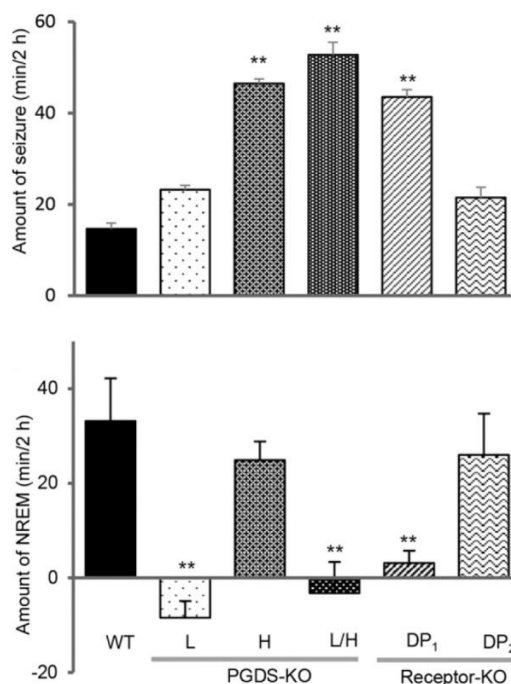


図 12

b) 臨床バイオリソースの構築 (秋田大、清水研)

サテライトとしての秋田大学の役割は、IIIS 本体が生み出す成果を医療・医学に橋渡しするためのハブとして機能することである。どのような成果が IIIS 本体からもたらされるかは

全く予想できないことなので、それに対応するためにはフットワークの軽い機動的な組織、たとえば、臨床研究の実績が豊富な少数の研究者で構成される秋田大学大学院医学系研究科精神科学講座のチームが有用である。

まず、橋渡し研究の第一歩として、IIIS の成果をヒトにおいて実証するためのバイオリソースの構築を開始した。

(i) 我々はすでにナルコレプシーなどの過眠症を中心とする睡眠障害患者の臨床情報を含むヒト髄液、血液、DNA からなるバイオリソースを立ち上げており、検体の集積を継続している。

(ii) このバイオリソースは、我々がオレキシンなどの測定を無償で行うことを通じて共同研究の一環として提供されているものである。ナルコレプシー以外に特発性過眠症、反復性過眠症（クラインレビン症候群）、パーキンソン病や筋緊張性ジストロフィーに伴う過眠症、ニーマンピック病 C 型などの検体が含まれている。

(iii) 今後、抗 NMDA 受容体抗体など、測定項目を増加させることで、資料の提供はさらに増えるものとする。このバイオリソースは IIIS 本体の成果をヒトにおいて実証するために大きな力を発揮することが予想される。

[今後の方針] 実験研究から得られた知見に基づいて、実際の人でのサンプルでその成果を検証するために、様々な睡眠疾患の生体試料を集積してきている。今後はより迅速で適切な提供を行って、bench to bed を適確に実践できるように努めていきたい。

また短時間睡眠の人々の検体を集める準備を整えたので、検体を集中的に集める予定である。

4) 新規睡眠障害治療法の開発

● 睡眠障害治療薬候補物質開発

a) オレキシン受容体作動薬の創薬研究（長瀬研）

長瀬グループでは、テキサス大学のスクリーニングライブラリーで発見されたヒット化合物の構造を基に、独自の分子デザインから 1,500 を超えるサンプルを合成し、評価を行った。その結果、EC₅₀ 値 28 nM でオレキシン 2 型受容体に作動活性を示す化合物 YNT-185 を見出した。YNT-185 は、オレキシン 2 型受容体選択性を示し (OX1R/OX2R=96.2)、高い水溶性を有していた (>1.3 M in saline)。更に、オレキシン産生細胞ノックアウトマウスを用いた脳室内投与下での *in vivo* 実験において、YNT-185 は顕著な覚醒時間の延長効果を示した。また、オレキシン受容体ノックアウトマウスを用いた同様の実験は、優位な効果は見られなかったことから、脳室内投与においてオレキシン受容体を刺激することで覚醒を誘発出来ることが示された。以上のように、長瀬グループではこれまでに例の無いオレキシン 2 型受容体選択的作動物質の創製に成功し、*in vitro*、*in vivo*での薬理評価において有意な

薬理活性を示すことを明らかにした (図 13)。

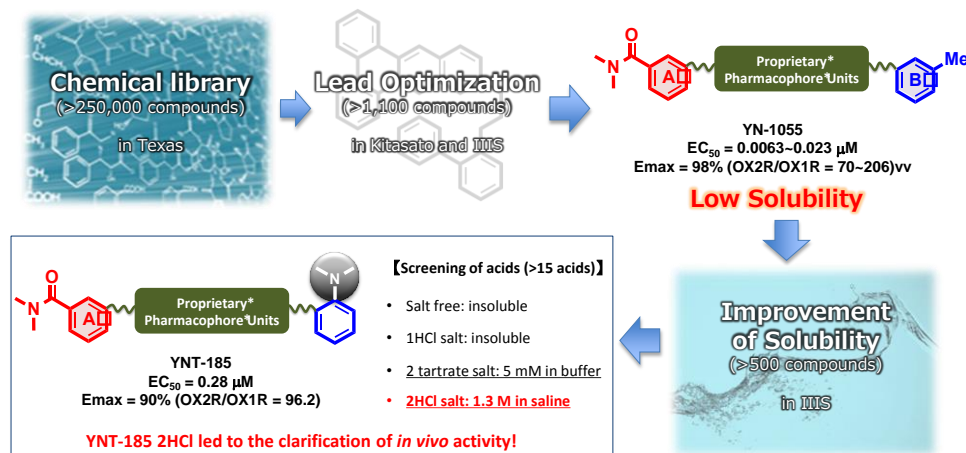


図 13

〔今後の方針〕 オレキシン受容体作動薬のナルコレプシーの治療薬としての有用性を示すことは、本セクションの重要なミッションである。そのため、ナルコレプシーに特徴的な症状である、SOREM (入眠時レム睡眠) への影響を、薬物の脳室内投与下および腹腔内投与下で調査を行う。また、より強力な活性を有し、血液脳関門透過性に優れた誘導体の合成化学的探索も鋭意行っていく。

b) アデノシン受容体作動薬の創薬研究 (Lazarus 研)

特異的な A2AR アゴニストによって NAc における A2AR を活性化することで、マウスではノンレム睡眠が誘起されることを我々は明らかにした。このことは、A2AR の薬理的な刺激が不眠症治療の新規戦略となりうること、そして A2AR アゴニストまたはアゴニスト様化合物は全く新規の機序による睡眠薬となりうることを示唆している。

〔今後の方針〕 脳透過性の低さや低血圧症などの副作用から、現存の A2AR アゴニストは安全かつ効果的な睡眠薬としては機能していない。覚醒時にアデノシン量が大幅に上昇する脳における A2AR の薬理的な活性化においては、自由透過型アロステリックエンハンサーが内因性のアデノシンによる睡眠誘導効果を効果的に増大させる可能性がある。しかし、このような A2AR のアロステリックエンハンサーは未知であり、開発する必要がある。ラザルス研究室ではこのエンハンサーを開発し、新規の機序による睡眠薬を創るための挑戦を開始している。当面は、培養細胞を用いたバイオアッセイによりヒト A2AR に対してアロステリック効果を示す化合物を幅広く試験し、続けて化合物ライブラリ (例えば東京大学やテキサス大学のライブラリ) のスクリーニングを行い、リード化合物を見出す。

c) 天然物由来の睡眠障害治療薬候補の研究 (裏出研)

クロセチンとクロシンは、サフランのカロテノイド色素であり、どちらも薬理的な作用を示すことが知られている。我々は、クロセチンとクロシンの睡眠促進作用を検証す

るため、これらの化合物を投与したマウスの行動と脳波をモニタリングした。クロシンを明期の終了時（20:00）に腹腔内投与すると、その後4時間におけるノンレム睡眠の総時間が増大したが、レム睡眠の量は変化せず、睡眠誘発後に反跳性不眠のような不都合な効果を示さなかった。クロシンによって誘発される睡眠の分子基盤を理解するため、アデノシン、ヒスタミンまたはドーパミン受容体欠損マウスを用いて検証したところ、ヒスタミンH1受容体欠損マウスではノンレム睡眠誘発効果が減弱することが判明した。これらの結果より、クロシンのノンレム睡眠誘発効果はヒスタミン或いはコリンによる覚醒系を間接的に抑制していることが示唆された。

[今後の方針]

クロシンがヒスタミン・アセチルコリン覚醒系にどのように影響するのか引き続き調べていく。カロテノイド色素は一般的に安定性が低いため、今後、グリコシル基転移によりクロシンの安定化とADMEの改善を試み、睡眠への影響を検討する。

4) 新規睡眠障害治療法の開発

● 睡眠障害予防のための薬物を用いない多面的「グッドスリープ」プログラム開発

平成25年度において本ゴールに向けた大きな進捗はなかった。簡易脳波測定デバイスとスマートフォン、クラウドコンピューティングからなる睡眠診断システムを開発することを目的に、3月末に競争的資金の申請を行った。