

世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI)

平成26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26年度は、国際統合睡眠医科学研究機構（IIIS）にとって、引き続き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

機構長は平成26年3月末をもってハワード・ヒューズ医学研究所を退職し、4月1日からテキサス大学とのjoint appointmentとして筑波大学に雇用された。筑波大とテキサス大における機構長の職務エフォート率は95:5であり、機構長がIIISにおける研究や運営にほぼ専念できる体制が確立された。

2. 主任研究者・研究者の招聘および採用

サテライト主任研究者（PI）としてYan Dan教授を任用し、IIISの女性PIはC. Greenと併せて二名となった。また、基礎生物学研究の成果を臨床医学的な応用へ発展させるためにトランスレーショナル研究の充実を計り、臨床研究者である佐藤誠教授のPI任用準備を進めた。その結果、主任研究者20名、その他の研究者26名（主任研究者以外の教員とポスドク）、技術職員13名、事務スタッフ16名、大学院・学部学生41名、計116名の体制となった。

3. 研究達成目標と研究体制

研究達成目標は発足時のもの、すなわち、1) 睡眠覚醒制御機構の解明、2) 睡眠障害と関連する疾患の病態の解明、および3) 睡眠障害治療法の開発、を堅持している。これらの目標と基礎生物学、臨床医学、創薬科学の三つの研究領域が融合する研究体制との関係を整理して、目標達成に向けたロードマップや研究成果物を明確にした。

4. 研究成果

平成26年度はIIISから126編の原著論文が発表され、昨年度の約1.7倍となった。*Cell Metab.* や *PNAS*、*Neuron* 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26年度にIIISコアグループの研究者によって獲得された競争的研究

資金は総額で1億9,606万円であった。

6. 連携機関

テキサス大との連携は、Q. LiuとR. GreeneがIIISコアグループ内に研究室を開設し、J. TakahashiとC. Greenがサテライトにおいて共同研究を進めるという体制として確立した。J. TakahashiとUC BerkeleyのY. Danとは、さらに人材交流の計画を進めている。理研バイオリソースセンターおよび新潟大学との連携研究は、目的を達成して完了した。

7. 研究支援

スタートアップ支援として、科研費等の競争的資金を獲得できなかった研究者を対象にインターナル・グラント制度を導入した。IIIS内で研究計画の申請を募り、審査の中立性を担保するために3名の事務部門在籍教員が審査して、優先順位をつけて研究資金を提供した。

8. アウトリーチ・研究集会

第3回IIIS国際シンポジウムは、平成26年9月24日に東京大学伊藤国際謝恩ホールにおいて、上田泰己教授（理研発生・再生科学総合研究センター／東大）とJoseph Bass教授（ノースウェスタン大）との共催により、合同シンポジウム「体内時計、睡眠、代謝における動的恒常性維持機構」として開催した。参加者は230名を越え盛況のうちに終了した。

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26年度は29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26年2月に着工した新研究棟（6階建て総床面積8,000 m²）新営工事は、工事資金（補助金と大学自己資金）によって二つの工事区分に別けられているが、補助金の工事区分が平成27年3月末に完了した。自己資金の工事区分は6月末に竣工の予定。

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 26 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い。

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 26 年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】

対象分野に変更はなく、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（PI）が連携してオレキシン受容体作動薬プロジェクトを実施し、リード化合物の創出、その構造最適化を行った結果、水溶性を向上させた化合物、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て動物試験により薬効を確認した（特許申請済）。今後さらに製薬企業とも有機的に連携してプロジェクトを加速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 *Sleepy1* 変異および *Sleepy2* 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_{A_{2A}}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

[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定されている。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-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

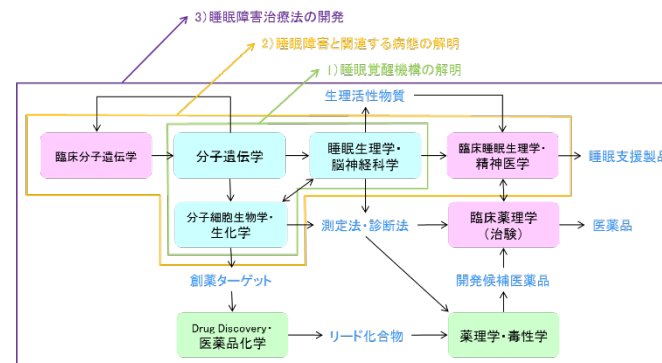
【平成26年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】

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

1. 研究達成目標と研究体制

これらの研究達成目標とIIISの組織や各研究室の研究活動とのつながりを分かりやすくするため、IIISおよび共同研究先を含む研究体制の全体像を以下に図示する。

研究体制は、基礎生物学、臨床医学、創薬科学の三つの研究領域が融合するものとなっており、基礎生物学の領域における研究の目標が1) 睡眠覚醒制御機構の解明で、2) 睡眠障害と関連する病態の解明



のためには、基礎生物学領域に加えて臨床分子遺伝学や臨床睡眠生理学・精神医学の分野との連携が必要である。さらに3) 睡眠障害治療法の開発のためには、創薬科学の領域および臨床薬理学の分野を含めたトランスレーショナル研究（TR）の充実が必須である。研究体制中に青字で示した成果物は睡眠障害治療法の開発に向けて必要な研究成果物であるが、いくつかの項目に関しては初期的な成果があがりつつあり、トランスレーショナル研究の体制が整いつつある。

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。

2. 各研究室の研究分野

IIISの各研究室が担当する研究分野は一つだけでなく以下のように複数の分野をカバーしている。

		Liu	Tak	櫻/ 坂	林	Laz	RGr/ Vok	CGr	Dan	裏	柳/ 船	長	佐	清
基礎生物学	分子遺伝学	✓	✓								✓			
	生化学	✓	✓							✓	✓			
	分子細胞生物学	✓	✓	✓	✓					✓	✓			
	睡眠生理学		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			
	脳神経科学		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			
創薬科学	薬理学									✓	✓	✓		
	Drug discovery										✓	✓		
	医薬品化学											✓		
臨床医学	臨床睡眠生理学												✓	✓
	臨床薬理学												✓	✓
	精神医学													✓
	臨床分子遺伝学													✓

Tak: Joseph Takahashi 櫻: 櫻井 武 坂: 坂口 昌徳 林: 林 悠
 Laz: Michael Lazarus RGr: Robert Greene Vog: Kaspar Vogt CGr: Carla Green
 裏: 裏出 良博 柳: 柳沢 正史 船: 船戸 弘正 長: 長瀬 博
 佐: 佐藤 誠 清: 清水 徹男 Liu: Qinghua Liu Dan: Yang Dan

睡眠を研究テーマの中心とする研究機関はIIISの他にもあるが、そのほとんどが臨床的な研究を主としており、基礎研究に注力する研究拠点は、IIISが世界的に見ても唯一の存在である。そのため、基礎生物学の領域内の分野で研究を実施している研究室が最も多い。今後、基礎生物学的な研究成果があがるにつれ、臨床医学領域の研究室や研究機関との研究連携を強化する予定である。一方、創薬科学領域の研究においては、a) 製薬会社やb) 医療研究開発機構、医薬基盤研創薬支援戦略室等の政府機関、c) 筑波大学次世代医療研究開発・教育統合センター等の医師主導治験を推進する医療機関との連携を深める方針である。

3. 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) 睡眠覚醒機構の解明

- 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
- 睡眠覚醒制御神経回路の動作原理解明
- 睡眠の生理的機能の解明

	<p>2) 睡眠障害と関連する疾患の病態の解明</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 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 <p>3) 睡眠障害治療法の開発</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 睡眠障害治療薬の開発候補物質の創製 ● 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 <p>上記のゴールを達成するためには、各研究室単独の研究で可能な場合と不可能な場合があり、不可能な場合は複数の研究室によってプロジェクトを組織して領域融合的な研究を展開する。これまでに組織されたプロジェクトは以下の通りである。</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 運動の睡眠への効果とその作用機序の解明（柳沢・船戸、佐藤、清水） ● オレキシン作動薬の開発（柳沢・船戸、長瀬、裏出） ● オレキシン拮抗薬の評価（柳沢・船戸、裏出、佐藤） ● 神経活動可視化法の開発（柳沢・船戸、Lazarus、櫻井・坂口、Greene・Vogt、林） ● 神経回路解析・同定法の開発（柳沢・船戸、Lazarus、櫻井・坂口、Greene・Vogt、林） <p>4. 各ゴールに対する平成26年度までの実績／進捗状況および今後の方針 各ゴールに対する平成26年度までの実績／進捗状況および今後の方針については、補遺に記載する。</p>
--	---

4. 運営

<p>【発足時】</p> <p>①事務部門の構成</p> <p>1. 事務部門の構成</p> <p>事務部門は、研究内容と国立大学法人 (national university corporation) 運營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。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・総務係（5名） <p>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。</p> <p>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:</p>	<p>【平成26年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】</p> <p>① 事務部門の構成</p> <p>1. 事務部門の構成</p> <p>事務部門は、製薬会社の研究所長職の経験があり、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、大学本部課長職の経験があり、大学事務の作業手順を熟知した、学内の事情に詳しい新副事務部門長1名を配置して、下記の4係で運営した。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・総務企画（3名） <p>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2名（副事務部門長兼任）を優先的に充て、副事務部門長がチームリーダーを兼務した。</p> <p>外国人を受け入れる際のサポート等については、英語が堪能な職員を新た</p>
--	--

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

IIS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、定期的に語学力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

に雇用して対応するとともに、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)への委託も継続した。

・ 財務会計 (3名)

予算管理・執行、物品購入、国内外の資金・物品の移管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1名をチームリーダーとして充当した。

・ 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。製薬会社の研究部門での企画・渉外経験を持ち、契約締結や特許関連業務に精通した博士号取得者がチームリーダーを担当した。

・ 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、国際シンポジウム企画・開催、報告書作成支援等の業務を行なった。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がチームリーダーを担当した。

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%の事務職員(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した。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

IIS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。今年度新たに機構で採用した事務職員は英語が堪能であり、外国人研究者とのスムーズなコミュニケーションが可能である。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改善されている。

② 拠点内の意志決定システム

拠点内の運営に関する重要事項については、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。

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。

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案、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

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が担保されている。拠点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が整備された。

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、筑波大学学長は混合給与制度を新たに設置し、この制度に基づいて拠点長を2014年4月1日からテキサス大学とのjoint appointmentとして筑波大学に正式雇用した。筑波大学とテキサス大学における拠点長の職務エフォート率は95:5であり、拠点長の職務発明の知的財産権持分は、この比率に従って両大学に承継される。

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26年度末実績	平成27年4月末
ホスト機関内からの研究者数	7	7	7	8
海外から招聘する研究者数	0	4	7	7
国内他機関から招聘する研究者数	0	4	6	6
主任研究者数 合計	7	15	20	21

全体構成

	発 足 時	最 終 目 標	平成26年度末実績	平成27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%>	115 <35, 30%>	46 <15, 33%> [13, 28%]	48 <16, 33%> [14, 29%]
主任研究者 (うち<外国人研究者数, %> [女性研究者数, %])	7 <1, 14%>	15 <5, 33%>	20 <8, 40%> [2, 10%]	21 <8, 38%> [2, 10%]
その他研究者 (うち<外国人研究者数, %> [女性研究者数, %])	34 <0, 0%>	100 <30, 30%>	26 <7, 27%> [11, 42%]	27 <8, 30%> [12, 44%]
研究支援員	17	40	13	12
事務スタッフ (うち(英語を使用可能なものの人数, %))	14	14	16 (10, 63%)	16 (10, 63%)
合 計	72	169	75	76

○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トドクを雇用する。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。

臨床との連携の新たな取り組みとして、睡眠時無呼吸症候群に詳しい臨床医の佐藤誠と交渉を行い、平成27年4月1日開始の茨城県立こころの医療センター共同研究事業によりPIとして招聘した。

金沢大から櫻井武を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、金沢大の混合給与制度が導入されておらず異動を遅延することになった。新たな異動時期について交渉中である。

【平成26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＞

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＞

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、平成25年12月に共同研究契約および委託研究契約を締結した。この契約に基づき、平成26年度も委託研究契約を延長しテキサス大学の研究室でポストドクを継続して雇用した。筑波大学はLiuを混合給与制度により筑波大学教授として2014年4月1日に正式雇用した。

一方、Liuと同時期にGreeneも客員教授として招聘したが、Greeneの研究室設置はやや遅れて平成26年2月となった。現在Greeneの共同研究契約およびGreenの委託研究契約について平成27年度開始を目指した交渉を実施している。

Takahashiと柳沢は共同研究を継続しており、平成26年度にはNeuron誌に共著による論文発表を行っている。さらなる連携強化を目指して、文部科学省「頭脳循環を加速する若手研究者戦略的海外派遣プログラム」に応募し、人材交流を進めることで合意している。

これらUTSW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。

<p><u>機関名②秋田大学</u> <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。</p>	<p><u>機関名② 秋田大学</u> <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> 前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研究委託契約を締結して共同研究を実施している。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睡眠異常家系の探索や診断用マーカーの探索を実施中である。将来的には、運動が睡眠に与える効果の機序解明や、オレキシン受容体作動薬の臨床研究も共同で行っていく計画である。</p> <p><u>機関名③ カリフォルニア大学バークレイ校</u> <役割> 睡眠覚醒制御の脳内神経回路解析に関する共同研究 <人員構成・体制> Yang Dan <協力の枠組み> 平成25年度の当拠点主催の国際シンポジウムにおける講演を契機に研究連携に合意し、平成26年度からサテライトPIに採用した。現在、神経細胞ネットワークの解析に威力を発揮するオプトロード法等の解析技術開発における提携を進めているが、平成27年度はさらに連携を強化するため、「頭脳循環を加速する戦略的国際研究ネットワーク推進プログラム」に応募して、人材交流を進めていく。</p>
<p>○連携先機関 【発足時】 <u>機関名①理化学研究所バイオリソースセンター</u> <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</p>	<p>【平成26年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】 <u>機関名① 理化学研究所バイオリソースセンター</u> <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</p>

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原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

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、平成25年度を持って双方合意のうえ委託契約を終了した。平成26年度は「ENUスクリーンで得られた突然変異マウスの遺伝子マッピング解析」に焦点を絞った共同研究を実施した。今後も関係は維持し、研究進捗に合わせて焦点を絞った連携を行う予定である。

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きた。5種の遺伝子改変マウスの作製に成功する等、研究目標を充分達成する成果をあげたが、連携PIの高橋との共同研究によりCRISPR/Cas法で速やかに遺伝子改変マウスを作製する体制が確立されたため、平成26年度を持って双方合意のうえ委託契約を終了した。

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

【平成26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

昨年度に引き続き、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、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、支援を実施した。総務企画チームは大学本部課長職の経験を有する副事務部門長がリーダーを兼任して人事課や総務課との折衝にあたり、大学本部との調整が必要な様々な問題解決に努めている。研究企画チームは、研究内容を理解するとともに契約や特許に精通した教員（准教授）がリーダーとして、共同研究契約や特許出願等の案件を担当し、法律事務所や特許事務所と連携して迅速に処理を行っている。広報連携チームは、アウトリーチに精通した教員（助教）がリーダーをつとめ、国際シンポジウムやIIISセミナーの開催、プレスリリース、メディア対応等様々な活動を積極的にリードし、研究者の手をわずらわせることなくスムーズに行っている。

さらに、IIISの複数の研究室を横断するプロジェクトの研究推進、大型研究費獲得業務、インターナル・グラント審査業務等についても事務部門が主導した。

2. 研究者の職務の減免及び関連部局支援

昨年度に引き続き、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作業を専任で支援している。定期的に秘書会議を開催し、情報共有やPI会議の報告等を行い、事務部門との連携を図っている。今年度より、ホスト期間である筑波大学からURAを1名IIISに配置して、外部資金獲得や獲得後のプロジェクト管理業務等の支援を開始したが、URAが退職したため後任を募集している。

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（春日ブ

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。

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、IIISの外国人研究者もサポートを受けている。立地的に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おり、大学からのサポート体制が整いつつある。また、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いる。今年度は総務企画チームに英語が堪能な事務職員を新たに採用し、外国人支援業務を強化した。

② スタートアップのための研究資金提供

スタートアップ支援としてインターナル・グラント制度を導入した。これは主に、科研費等の競争的資金を獲得できなかった研究者を対象に、IIIS内で研究計画の申請を募り、研究資金を提供するものである。審査の中立性を担保するため、事務部門長を筆頭に、医学・生物学領域で学位を有する3名の事務部門在籍教員が審査し、優先順位をつけて研究資金を提供した。その他、新たに招へいした研究者に対しては積極的な支援を行い、科研費（研究活動スタート支援）の獲得等の成果をあげることができた。

③ ポスドク国際公募体制

WPI-IIISのホームページをはじめ、Naturejobs、Federation of European Neuroscience、Sleep Research Society-job board、jREC-IN、Japan Neuroscience Society、The Molecular Biology Society of Japan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。さらに、筑波大学URAの協力により、Science誌にIIISの紹介記事が掲載され、その中でジュニアPIとポスドクの公募も行った。

平成26年度のポスドクの応募者総数は116件に及び、応募者の97%は外国人研究者であった。しかしながら機構が求めている水準に満たないため応募者のほとんどは採用に至っていないが、そのうち1名（カナダ国籍）が採用となり着任した。また、海外サテライトであるテキサス大学からポスドク1名を採用し、6月に着任した。それ以外にも国際会議などの場で積極的にリクルート活動を行うほか、外部より講演者を定期的に招へいして行うIIISセミナーシリーズも継続し、その中から特に若手PI候補を探す活動も行っている。

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。

TOEICスコアだけでなく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。

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の整備を継続した。

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

引き続き外部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、予算の制約のためメンバーの選定およびボードメンバー会議の開催に至らなかった。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が、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検討してゆく。

事務職員の給与は、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が、予算の制約から昇給は見送られている。

ホスト機関外から招へい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、拠点長により決定された。

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26年2月に睡眠医科学研究棟新営工事着工に伴い、進捗管理と詳細な仕様決定、意見交換を目的に、施工者、設計業者、工事監理者、施設部、IIISで構成する「連絡協議会」と、現場レベルの進捗報告や作業確認、課題解決のため「定例会議」を設置した。現在までに15回の連絡協議会と50回の定例会議が開催された。これらの会議には事務部門の職員をはじめ、研究者も積極的に参加し、よりよい研究環境づくりを目指して一丸となって取り組んだ。

新研究棟の5階および6階部分には、大型オートクレーブ、ケージ洗浄機、自動給水システム、RO水製造装置などの動物飼育施設が完備され、世界トップレベルの研究拠点にふさわしい研究環境の整備がハード面からも進められている。また、筑波大学芸術系とのコラボレーションにより、新研究棟内に内装と融合したアート作品を展示することで、研究者の知的好奇心を刺激し、インスピレーションを与えられるような空間を創造すべく、多方面の関係者と密に連携をとってアートプロジェクトを推進しており、平成27年9月

⑦世界トップレベルの国際的な研究集会の開催

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

の開所式までに作品の取付工事を完了する予定である。

補助金による工事は平成27年3月末に完了したが、自己資金による工事が継続されており、同年7月10日に引き渡しの予定である。引越終了の間は、引き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センターや附属病院旧病棟Eの研究室を活用し、研究活動を展開する。

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

1) 国際シンポジウム

第3回国際シンポジウムは、理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター／東京大学の田上泰己教授およびノースウェスタン大学Joseph Bass教授との共同開催により、睡眠・体内時計・食欲／肥満に関する合同シンポジウム「体内時計、睡眠、代謝における動的恒常性維持機構」と題して、平成26年9月24日に東京大学伊藤国際学術研究センター 伊藤謝恩ホールにて開催した。参加者は約230名を数え、盛況のうちに終了した。これは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の証となった。

さらにシンポジウム終了後、招待講演者、理研／東大上田研究室の若手研究者、IIISのPIおよび若手研究者を集めて合宿形式のリトリートを開催した。未公表の研究成果も含めたクローズドのワークショップとなったが、早朝から深夜に及ぶまで白熱した議論が展開され、特に若手研究者にとっては、見識を深め自らをアピールできる絶好の機会であったと考えられる。

2) 公開セミナー

IIISセミナーシリーズは、本年度は29回開催され、IIIS発足以来の通算で56回を数えた。また新たな試みとして、一部のセミナーを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やライフイノベーション学位プログラム、人間総合科学研究科次世代健康スポーツ科学学位プログラム等の学内組織と共同で開催した。これにより多くの学生の参加があり、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た。

⑧ その他取組み

第3回国際シンポジウムの開催において、理研／東大上田研究室と協力しておよそ230万円の協賛金や寄附金を集めることができた。新研究棟の建設に関する寄附募集は、拠点長や事務部門長の努力により、1,000万円を超える寄附金を集めることができた。この取り組みは来年度以降も引き続き継続する予定である。

また、短期滞在研修制度の確立を目的に、数名の研修生・インターンを来

<p>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。</p>	<p>年度より受け入れるための準備を進めている。</p>
---	------------------------------

7. 世界におけるレベルを評価する際の指標・手法

<p>【発足時】</p> <p>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。</p> <p>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。</p> <p>3. ファンディング</p>	<p>【現状評価】</p> <p>① 論文掲載の状況 IIISからは2014年に128編の原著論文が発表された。これは昨年の約1.7倍の数であり、研究が順調に進捗し確実に成果が現れつつあることを反映している。Weiらによる <i>Cell Metab.</i> (3;19(6):927-40) ほか、<i>PNAS</i>、<i>Neuron</i> 等の高インパクトファクター誌に定期的に論文が掲載されている。IIISでは、オレキシン作動薬の開発や神経活動可視化法の開発等、分野横断的なプロジェクトを一段と加速させてきており、これらの成果も間もなく論文発表できる予定である。</p> <p>② 主な受賞等 平成26年度はIIISのPIがこれまでの功績を認められて以下の賞を受賞した。 ・柳沢 正史、The Walter B. Cannon Memorial Award, American Physiological Society ・長瀬 博、山崎貞一賞 ・Joseph Takahashi、Election to Institute of Medicine (IOM), National</p>
--	--

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。

Academy of Sciences

・ 林 悠、筑波大学若手教員奨励賞

③ 研究拠点としての認知度の上昇

平成26年度は国際シンポジウム Tokyo Translational Therapeutics Meeting “Homeodynamics in Clocks, Sleep and Metabolism” を開催した。本シンポジウムは、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 教授との共同開催であり、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された。IIIS は睡眠研究において世界をリードする研究機関として中心的役割を果たし、若手を含む多数の研究者が講演・発表を行った。

さらに、柳沢らが発見した睡眠・覚醒を制御する神経ペプチド、オレキシンをターゲットとした医薬品が世界に先駆けて日本で販売承認が得られたことは、IIIS の認知度向上に大きく貢献した。柳沢はオレキシンの発見者として本医薬品開発に一部携わり、発売に際して多数の講演を行ったほか、国内外のメディアでも大きく取り上げられた。

④ 若手 PI および研究員ポストへの応募状況

平成26年度は若手 PI ポジションへの応募が27件、ポストドクトラルフェローへの応募が約120件であった。応募者の9割以上は外国人であり、国際的な研究拠点として海外へのアピール度が高いことを表している。特に若手 PI では女性研究者の採用を目指した公募を行い、昨年度よりも女性の応募数が増加した。残念ながら 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、若手 PI、ポストドクともに公募からは採用に至っていないが、外国人研究者増加のためにも、レベルを下げることなく引き続き人材確保に努める。

⑤ 研究費獲得に向けた取り組み

ImPACT、さきがけに応募した他、JAXA などと連携し科研費の新学術領域研究に申請中である。

科研費は柳沢の基盤Sを筆頭に12件が採択され、継続課題を含めると19件、総額97,843千円であった。平成27年度の科研費申請に対し、昨年同様全ての有資格者に申請を奨励し、34件を申請した。

8. 競争的研究資金等の確保	【発足時】	【平成26年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】 平成26年度の筑波大学IISコア研究者による獲得外部資金の総額は196,060千円であった。平成27年度以降もさらなる競争的資金の獲得を目指す。
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	【発足時】 柳沢拠点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。	【平成26年度実績／進捗状況／発足時からの変更点】 柳沢拠点長の知財権の取り扱いや、HHMI退職を困難にしていたエクソーム解析の問題解決を目的として、筑波大学は平成25年11月に三明康郎・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て対処した。同年12月に、三明副学長を含むタスクフォース代表3名がテキサス大学を訪問し、知財権の取り扱いについて原則的に合意を得た。これを受けて柳沢拠点長は平成26年3月31日付でHHMIを退職し、平成26年4月1日から筑波大学での雇用となった。HHMI退職後もUTSWの次世代シーケンス施設を使用できるように、UTSWと部分的な雇用関係を維持するため、筑波大学に新たに導入された混合給与制度を利用し、筑波大学およびUTSWのエフォート率をそれぞれ95:5とする joint appointment とした。これにより、柳沢拠点長の知的財産権持分については大部分が筑波大学に帰属することとなった。UTSWのサテライトPIに対する委託研究から生じる知的財産権に関しては、権利はUTSWに承継されるが、権利の帰属にかかわらず特許の許諾収益が上がった場合、両大学の貢献に応じて配分するという現実的な解決が合意に至り、それを盛り込んだ共同研究契約を締結した。

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26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

平成25年度に引き続き、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、大学から運営費交付金として3,500万円の支援を行った。
- 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は措置しなかった。プログラム終了後の事業の自立に向けて、複数のPIに関する将来のテニュア化について学長と合意し、ホスト機関での検討が開始された。
- 4) 事務部門に参画する事務職員の人件費として、総務・経理等の主要業務に大学常勤職員3名分を措置した。
- 5) 耐震工事等で施設が不足する中、研究スペースの提供による支援とし

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

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5,000 m²を提供した。現時点では4か所に分かれており、研究スペースが6,000 m²に満たないが、来年度には総床面積が8,000 m²の下記⑤記載の新研究棟を開設予定である。

- 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に相当)、拠点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主任研究者(ジュニアPI)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、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

学内からIIISに招へいされたPIは連携PIとして、コアグループのPIとは異なる関係で研究連携をしている。すなわち、各連携PIとコアグループのPIが共同研究を実施する形を基本として、連携PIの所属する部局での教育研究活動に配慮している。共同研究の規模が大きくなって連携PIの支援が必要な場合、IIISで教員または研究員を採用して当該連携研究者の研究室に配置している。

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

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、

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。

スカイプで海外サテライトとつないで毎月定期的実施している。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も英語で実施している。学内の諸制度の申請書や連絡文書の英語化も積極的に進めている。

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たが、さらに研究環境の整備を継続している。

平成25年11月の新研究棟の設計完了、平成26年2月の工事着工、平成27年9月の開所へ向けて、新研究棟の工事関係業者、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（毎月開催）と定例会（毎週開催）を実施して緊密な連絡体制を整え、トップレベルの研究施設の構築をめざしている。また、震災復興、東京オリンピック等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7億円上まわることが判明したが、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、財務部からの融資および、競争的資金の間接経費の返済への充当という形で解決が図られた。

⑥ その他

平成26年5月から11月までURA主管1名派遣による筑波大学URA本部の支援を得た。平成27年度は7月よりURAの支援が予定されている。

11. 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

IIISの研究結果をどのようにヒトの臨床につなげてゆくのか示してほしい。

指摘②

IIISの研究はもっと睡眠研究にフォーカスすべきである。

指摘③

雇用に関して女性PIのコアグループへの採用、櫻井のエフォート率増加、外国人比率の増加を行うべきである。

<平成26年度における対応とその結果>

対策①

オレキシン受容体アゴニストのシーズを患者の治療に結びつける創薬研究は、平成27年度以降グローバル製薬企業と共同研究を行って加速する。また、既に実施中の秋田大学との共同研究の目的の一つは短時間睡眠者のヒト分子遺伝学的な解析であり、すでに成果として短時間睡眠者数名についてアクチグラフのレベルでの短時間睡眠の確認がとれており、研究を継続する。平成27年度からは、茨城県立こころの医療センター共同研究事業により臨床医の佐藤をIIISのPIとして迎え、ヒトの睡眠の新たな診断法の開発を目的とした研究や、筑波大学体育系の連携PI・徳山と共同して「寝具が睡眠に及ぼす影響」に関する研究を進める。さらに宇宙航空研究開発機構（JAXA）等と連携しながら「超ストレス環境・宇宙を見据えた新規睡眠覚醒制御手法の開発」新学術領域に応募して、トランスレーショナル研究に注力する。

対策②

学内の5名の連携PIとの共同研究についても睡眠関係に絞って行う。高橋とは睡眠異常モデルマウス作出の共同研究を継続、松崎とはストレスが睡眠に与える影響に関する共同研究を継続、島野とは代謝と睡眠に関する共同研究を継続する。深水とは、妊娠と睡眠に焦点を絞った共同研究を開始する。連携PIであった林（純）の定年退職に伴い、新たに筑波大学体育系の徳山教授を連携主任研究員に採用し、運動と睡眠に関する共同研究を開始する。

また、機構内部での睡眠研究の出口を見据えた取り組みとして、複数の研究室（シニアPIの3グループ）が連携するオレキシン受容体アゴニストプロジェクトを立ち上げ、合成研究者と薬理研究者が常に情報を共有して創薬研究を行う体制を築いた。本プロジェクトについては、製薬企業との連携により平成27年度から研究をさらに加速する。

対策③

女性PIのコアグループへの雇用については、女性限定のPIの募集広告を複数のサイトに平成26年10月から掲載し、すでに2名の候補者のジョブセミナーを実施した。現時点では採用に至っていないが、今後も募集を継続する。櫻井のエフォート率の改善については混合給与制度を活用し、徐々に筑波大学のエフォート率を増やしていく方向で検討を開始している。現時点では金沢大学に混合給与制度がないため実施は平成27年度以降となる。外国

指摘④

現地視察時の情報開示の際に遺伝子名の匿名化等を行わず、十分な評価が行えるように改善すること。

指摘⑤

若手研究者の海外との交流（出張、派遣など）を積極的に行い、鼓舞する体制を強化すべきである。

指摘⑥

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⑦

拠点の存在価値を高めるため、若手研究者の短期滞在ワークショップ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。

人比率について平成26年度末の時点で33%であり、文科省から要求されている30%以上を達成している。

対策④

機構としても、できる限り情報を開示したいと考えている。しかし、遺伝子名だけでなく企業との共同研究の対象となる新規特許出願中の化合物の情報も含まれているため、現地視察時の情報開示については慎重な対応が必要となる。貝淵P0と相談し、現地視察出席者と機密保持契約を結び、プレゼンテーション資料に機密情報と明示したうえで開示をする方向で検討している。

対策⑤

平成26年度の機構の海外出張実績30件のうち若手研究者は半数の15件である。来年度も若手研究者に対して積極的に海外との交流を行うことを推奨している。海外への派遣については、平成27年度「頭脳循環を加速する戦略的国際研究ネットワーク推進プログラム」等に応募して、海外サテライトであるカリフォルニア大学バークレイ校やテキサス大学へ若手研究者を派遣したいと考えている。

対策⑥

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に、国内での連携先候補機関である豊橋科学技術大学を柳沢が訪問し、シーケンスデータの精度やデータの二次解析能力を確認するためのフィージビリティスタディーを実施した。しかし、残念ながら豊橋科学技術大学の技術は我々が要求する水準に達していなかったため、提携を断念した。学内で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バイオインフォマティクス研究者をIIISで6月から雇用し、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している。

対策⑦

若手研究者の短期滞在ワークショッププログラムの実施に向けた第一段階として、平成26年9月に開催した第3回IIIS国際シンポジウムにてアンケートを実施し、実際にワークショップ開催の要望があるかどうかを調査した。アンケートに回答した外国人研究者と学生の80%が参加したいと回答し、習得したい技術は何かの問いに対して一番多かった回答は、光遺伝学と薬理遺伝学的プローブを用いた神経回路の解析で、次いで筋電図と脳波

	<p>測定、<i>in vivo</i>での多電極測定と続き、多くの人が短期滞在ワークショッププログラムを利用して技術を習得したいと考えていることが分かった。この結果を踏まえ、短期滞在ワークショッププログラムの創設と実施に向け検討中である。</p> <p>また、学部学生および大学院生を対象とするインターン制度を検討している。来年度数名の学生をインターンとして受け入れる計画であり、受け入れのための査証取得や滞在費支援等の課題を解決すべく検討を進めている。</p>
--	--

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	39
	・ 主任研究者 11人	64
	・ その他研究者 30人	191
	・ 研究支援員 10人	40
	・ 事務職員 14人	69
	計	403
事業推進費	・ 研究者等謝金	0
	・ 人材派遣等経費 2人	9
	・ スタートアップ経費 11人	36
	・ サテライト運営経費 2ヶ所	18
	・ 国際シンポジウム経費等	3
	・ 施設等使用料	12
	・ 消耗品費	12
	・ 光熱水料	9
	・ その他	6
	計	105
旅費	・ 国内旅費	1
	・ 外国旅費	8
	・ 赴任旅費	2
	計	11
設備備品等費	・ 建物等に係る減価償却費	0
	・ 設備備品に係る減価償却費	229
	計	229
研究プロジェクト費	・ 運営費交付金等による事業	0
	・ 受託研究等による事業	64
	・ 科学研究費補助金等による事業	89
	計	153
合計	合計	901

(単位：百万円)

平成26年度WPI補助金額	492
平成26年度施設整備額	860
・ 研究棟新営 8,000㎡	860
平成26年度設備備品調達額	155
・ リサイクル分取HPLCシステム 1式	6
・ データプロジェクター (アダプタ付)	1
・ 動物実験用自動ラック洗浄機 1式	47
・ フロアー型高圧蒸気滅菌機 1式	97
・ その他	4

○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 1人	/
	計	
事業推進費		2
旅費		1
設備備品等費		2
研究プロジェクト費		
合	計	18

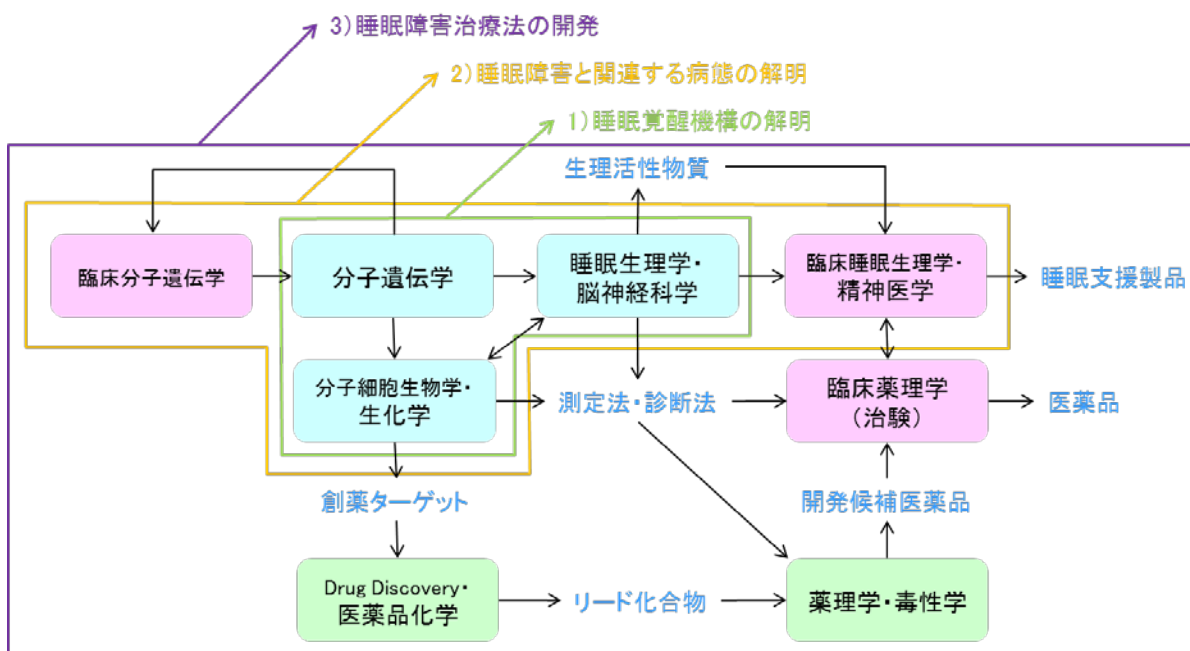
研究達成目標およびゴールに対する平成 26 年度までの実績／進捗状況および今後の方針

1. 研究達成目標

IIIS の研究達成目標は、以下の三点である。

- 1) 睡眠覚醒制御機構の解明
- 2) 睡眠障害と関連する疾患の病態の解明
- 3) 睡眠障害治療法の開発

これらの研究達成目標へ向けた工程と、異なった研究領域あるいは研究分野間の研究の流れや連携を分かりやすくするため、IIIS および共同研究先を含む研究体制の全体像を以下に図示する。



研究体制は、基礎生物学、臨床医学、創薬科学の三つの研究領域が融合するものとなっており、基礎生物学の領域における研究の目標が 1) 睡眠覚醒機構の解明である。2) 睡眠障害と関連する病態の解明のためには、基礎生物学領域に加えて臨床分子遺伝学や臨床睡眠生理学・精神医学の分野との連携が必要である。さらに 3) 睡眠障害治療法の開発のためには、創薬科学の領域および臨床薬理学の分野を含めたトランスレーショナル研究 (TR) の充実が必須である。研究体制中に青字で示した成果物は睡眠障害治療法の開発に向けて必要な研究成果であるが、いくつかの項目に関しては初期的な成果があがりつつあり、トランスレーショナル研究の体制が整いつつある。

IIIS の各研究室が担当する研究分野は一つだけでなく以下のように複数の分野をカバーしている。

		Liu	Tak	櫻/ 坂	林	Laz	RGr/ Vok	CGr	Dan	裏	柳/ 船	長	佐	清
基礎生物学	分子遺伝学	✓	✓								✓			
	生化学	✓	✓							✓	✓			
	分子細胞生物学	✓	✓	✓	✓					✓	✓			
	睡眠生理学		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			
	脳神経科学		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			
創薬科学	薬理学									✓	✓	✓		
	Drug discovery										✓	✓		
	医薬品化学											✓		
臨床医学	臨床睡眠生理学												✓	✓
	臨床薬理学												✓	✓
	精神医学													✓
	臨床分子遺伝学													✓

Tak: Joseph Takahashi

Laz: Michael Lazarus

裏: 裏出 良博

佐: 佐藤 誠

櫻: 櫻井 武

RGr: Robert Greene

柳: 柳沢 正史

清: 清水 徹男

坂: 坂口 昌徳

Vog: Kaspar Vogt

船: 船戸 弘正

Liu: Qinghua Liu

林: 林 悠

CGr: Carla Green

長: 長瀬 博

Dan: Yang Dan

睡眠を研究テーマの中心とする研究機関は IIIS の他にもあるが、そのほとんどが臨床的な研究を主としており、基礎研究に注力する研究拠点は、IIIS が世界的に見ても唯一の存在である。そのため、基礎生物学の領域内の分野で研究を実施している研究室が最も多い。今後、基礎生物学的な研究成果があがるにつれ、臨床医学領域の研究室や研究機関との研究連携を強化する予定である。

一方、創薬科学領域の研究においては、a) 製薬会社や b) 医療研究開発機構、医薬基盤研創薬支援戦略室等の政府機関、c) 筑波大学次世代医療研究開発・教育統合センター等の医師主導治験を推進する医療機関との連携を深める方針である。

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) 睡眠覚醒機構の解明

- 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
- 睡眠覚醒制御神経回路の動作原理解明
- 睡眠の生理的機能の解明

2) 睡眠障害と関連する疾患の病態の解明

- 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

3) 睡眠障害治療法の開発

- 睡眠障害治療薬の開発候補物質の創製
- 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

上記のゴールを達成するためには、各研究室単独の研究で可能な場合と不可能な場合があり、不可能な場合は複数の研究室によってプロジェクトを組織して領域融合的な研究を展開する。これまでに組織されたプロジェクトは以下の通りである。

- 運動の睡眠への効果とその作用機序の解明（柳沢・船戸、佐藤、清水）
- オレキシン作動薬の開発（柳沢・船戸、長瀬、裏出）
- オレキシン拮抗薬の評価（柳沢・船戸、裏出、佐藤）
- 神経活動可視化法の開発（柳沢・船戸、Lazarus、櫻井・坂口、Greene・Vogt、林）
- 神経回路解析・同定法の開発（柳沢・船戸、Lazarus、櫻井・坂口、Greene・Vogt、林）

3. 各ゴールに対する平成 26 年度までの実績／進捗状況および今後の方針

ゴール達成に向けた各研究室の平成 26 年度末までの実績／進捗状況および今後の方針は以下のとおりである。

(1) 柳沢・船戸研究室

a) *Sleepy* 遺伝子変異の睡眠時間に対する効果

ランダムに突然変異を誘発したマウスをスクリーニングし、睡眠異常を示す *Sleepy* 遺伝子変異家系を得た。*Sleepy* ヘテロ変異マウスでは、24 時間中の覚醒時間が約 30%減少し、暗期の覚醒時間が約 35%減少した。*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を行ったところ、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 (*Sleepy* 遺伝子と名づけた) 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* 変異マウスのみ短いバリエントが認められ、ホモ接合性変異マウスでは短いバリエントのみが検出された (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。*Sleepy* の表現型がこの変異によるものであることを証明するため、ジンクフィンガーヌクレアーゼ (ZFN) 技術により *Sleepy* 遺伝子のスプライスドナーサイ

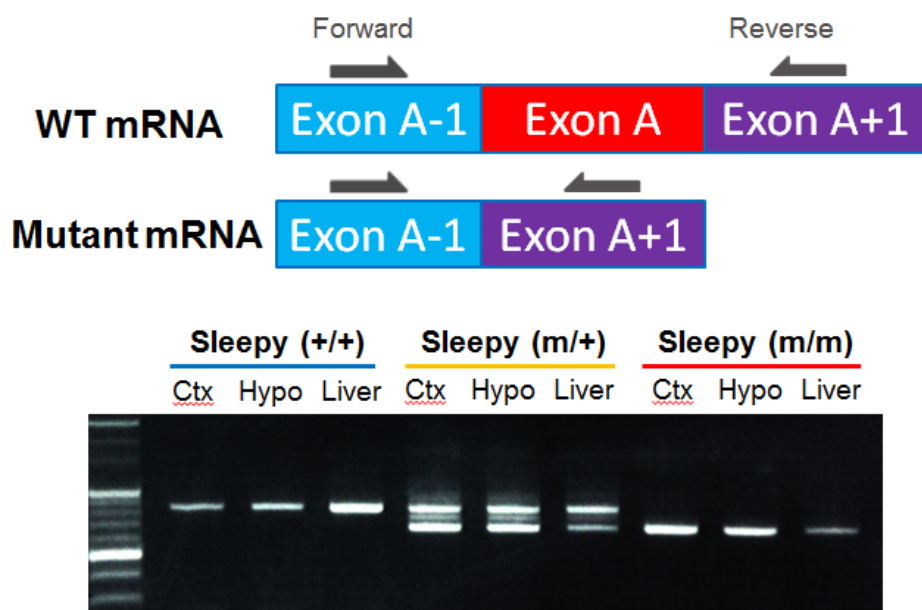


図 1. *Sleepy* mRNA の RT-PCR ; 短い PCR 産物はヘテロ型 *Sleepy* マウス特異的で、ホモ型 *Sleepy* 変異マウスは short form のみである。二つのバンドのサイズ差は ExonA のサイズと一致している。Ctx: 大脳皮質、Hypo: 視床下部。

トを変異させた。ZFN によって作成した *Sleepy* 変異マウスでも、ENU スクリーニングによって得られた *Sleepy* 変異マウスと同様に覚醒時間の短縮がみられた。*Sleepy* 変異マウスは外界刺激に対する覚醒反応に異常が見られないため、このマウスでは睡眠要求が増加している可能性が示唆される。

[今後の展望]

脳内で *Sleepy* タンパク質と相互作用するタンパク質を同定するため、CRISPR 技術を用いて末端に FLAG と HA ペプチドを挿入した *Sleepy* タンパク質を発現する遺伝子組み換えマウスを作製中である。このマウスを解析することで、*Sleepy* 変異と野生型、睡眠時と覚醒時におけるインタラクトームプロファイルの違いを明らかにすることができる。

b) Dreamless 変異がレム睡眠に与える影響

Dreamless 変異家系も ENU スクリーニングから得られたもので、レム睡眠エピソード時間の短縮および全レム睡眠時間の減少を示す。*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 ピークを認められた。遺伝子のダイレクトシーケンスおよび全エクソームシーケンスに

よって、この遺伝子（以下、*Dreamless* 遺伝子と呼ぶ）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。ヌクレオチドの変化がレム睡眠異常を引き起こす原因であることを確認するため、CRISPR 技術を用いて *Dreamless* 遺伝子変異マウスを作製した。ENU スクリーニングで得られた *Dreamless* 変異マウスと同様に CRISPR 技術で作製したマウスにおいてもレム睡眠エピソード時間の短縮が確認された（図 2）。

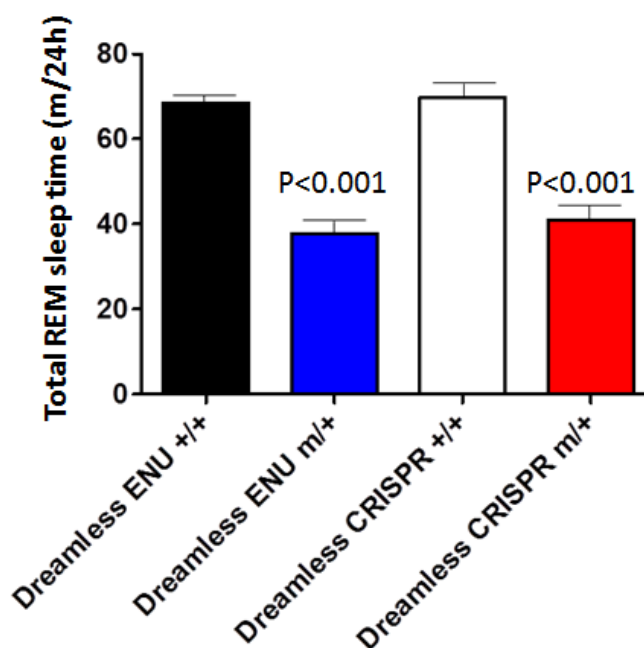


図 2. CRISPR により *Dreamless* 変異を再現する遺伝子操作を行なったマウスの表現型； CRISPR により *Dreamless* 変異を再現したマウスでは、ENU スクリーニングで得られた *Dreamless* 変異マウスと同様に、レム睡眠エピソード時間の短縮が見られた（One way ANOVA、post-hoc Tukey test）。

[今後の展望]

Dreamless ホモ変異のマウスを精査することで、レム睡眠がさらに短縮するかどうかを確認する。*in vivo* と *in vitro* の実験により野生型と変異型 *Dreamless* タンパク質の機能を明らかにし、*Dreamless* タンパク質がどのようにレム睡眠を制御しているかを解明していく。

c) 睡眠・覚醒を制御する新規遺伝子の同定

Sleepy および *Dreamless* 遺伝子変異が同定できたことにより、我々のフォワードジ

エネティクスアプローチが睡眠研究において強力なツールであることが実証できたため、引き続き ENU スクリーニングを継続し、睡眠・覚醒異常を示すマウスの探索を続けている。ENU 突然変異は現在、本学生命科学動物資源センターにて体外受精により体系的に生産可能な体制が整った。

[今後の展望]

これまでに得られている突然変異家系の解析を進めることにより、睡眠覚醒制御ネットワークにおいて重要な役割を果たす新たな遺伝子の発見が期待される。

d) 二光子顕微鏡を用いた睡眠時大脳皮質の *in vivo* カルシウムイメージング

睡眠覚醒状態に関連した大脳皮質の神経細胞の活動を明らかにするため、無麻酔で自発的に睡眠/覚醒するマウスを観察できる二光子顕微鏡システムを構築した。マウスの動きによる視野のずれをふせぎ、同時にマウスのストレスを軽減するためにトラックボールシステムを用い、頭部を対物レンズ下に固定しながらもマウスが自由に動くことができるようにデザインした(図3)。これにより拘束ストレスが大きく緩和され、マウスは頭部を固定されても顕微鏡観察下で容易に睡眠に入った。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の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)。様々な Cre ドライバマウスの大脳皮質に AAV ベクターをマイクロインジェクションする技術により、現在、覚醒時・ノンレム睡眠・レム睡眠中の興奮性・抑制性ニューロンのカルシウムイメージングが進行中である。

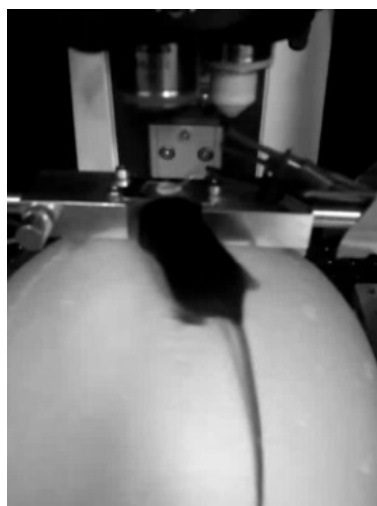


図 3. 睡眠覚醒行動における、大脳皮質ニューロンのカルシウムダイナミクスの可視化：我々の二光子イメージングシステムは視野ブレを防ぎ、無麻酔でもマウスのストレスを大幅に軽減できる 筑波大学 - 32

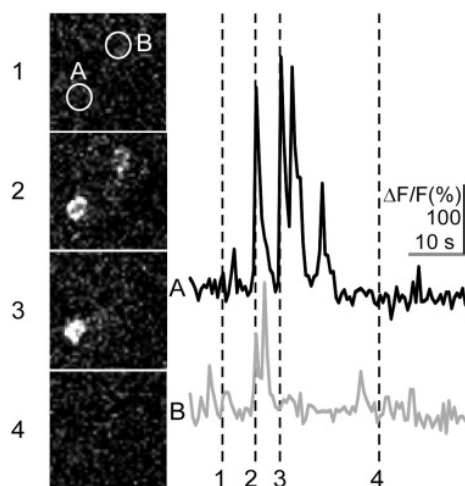


図 4. 無麻酔 *Thy1-GCaMP7* トランスジェニックマウス錐体ニューロンの Ca^{2+} イメージング

e) オレキシン受容体シグナリングを調節する化合物の開発

オレキシン系は睡眠・覚醒制御において必須の役割を果たす。オレキシンニューロンの欠乏はナルコレプシーと呼ばれる睡眠障害を引き起こす。したがって、オレキシン受容体のアゴニストはナルコレプシーの根本治療に大きく貢献することが期待される。我々は IIIS の長瀬研究室と共同で、テキサス大学サウスウェスタン医学センターが所有する化合物ライブラリのハイスループットスクリーニングから得られたヒット化合物の構造をもとに、1,500 種以上の化合物をデザイン・合成し、新規のオレキシン受容体アゴニストリード化合物を発見した。特に、YNT-185 と命名された化合物は OX2R 選択性アゴニスト活性 ($EC_{50} = 28 \text{ nM}$, $OX1R/OX2R = 96.2$) および高い水溶性 ($> 1.3 \text{ M}$ 、生理食塩水) を示した。さらに、オレキシン欠損マウスに YNT-185 を脳室内投与したところ、覚醒時間の顕著な増加が見られたが、OX1/OX2 ダブルノックアウトマウスでは覚醒時間に変化はなかった。このことより、YNT-185 はオレキシン受容体を活性化することで覚醒時間を増加させることが明らかとなった。

[今後の展望]

効力が高く、血液脳関門を透過可能なオレキシン受容体アゴニストリード化合物の合成と最適化を今後も進めていく。

(2) Liu 研究室

a) オレキシンの下流シグナリング経路の精査 (Wang *et al.*, *JBC* 2014)

1988 年に柳沢と櫻井はオレキシンを同定し、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。我々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 N41 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。この mTOR の活性化は、mTOR 複合体 1 (mTORC1) の選択的阻害薬であるラパマイシンに対する感受性は高いが、mTORC1 のよく知られたアクティベータである Erk および Akt とは独立である。さらに、オレキシンは細胞外からのカルシウム流入および v-ATPase と Rag GTPase を含むリソソーム経路を介して mTORC1 を活性化すること、また、オレキシン非存在下でも一過性の細胞内カルシウム流入により v-ATPase と Rag GTPase の濃度依存的に mTORC1 を活性化することから、細胞内カルシウム流入がオレキシンの下流シグナリングを模倣するのに十分であることも我々の研究から明らかになっている。

これらの結果より、mTORC1 経路がオレキシン下流シグナリングの主要な機能の一部であり、多数の生理的および代謝のプロセスに重要な役割を果たすことを示唆している。

先行研究により、CAG/オレキシン導入遺伝子がオレキシン A およびオレキシン B の発現レベルをマウスの脳内で上昇させることが知られ、その遺伝子導入により内因性のオレキシン産生細胞が欠如したマウスにおいてナルコレプシー症状が抑えられることが示されている。オレキシンが mTOR 経路を *in vivo* で活性化するかどうかを検証するため、高脂肪食を与えた CAG/オレキシン遺伝子導入マウスおよび野生型のマウス全脳を用いて、オレキシン過剰発現の mTOR 活性への影響を調べ、オレキシン過剰発現が mTOR 経路の過剰活性化を引き起こすことを我々は明らかにした。また、オレキシン欠乏型ナルコレプシー患者は肥満を起しやすいたことが知られている一方、オレキシン過剰産生マウスは逆に、レプチンシグナル増幅により、高脂肪食による肥満やインシュリン耐性を抑制する。どのようにして、オレキシンシグナルがレプチンシグナルに作用するかは明らかにされていないが、現在の結果はオレキシンおよびレプチンシグナルが mTORC1 経路で合流し、代謝を抑制的に制御していることを示唆している。

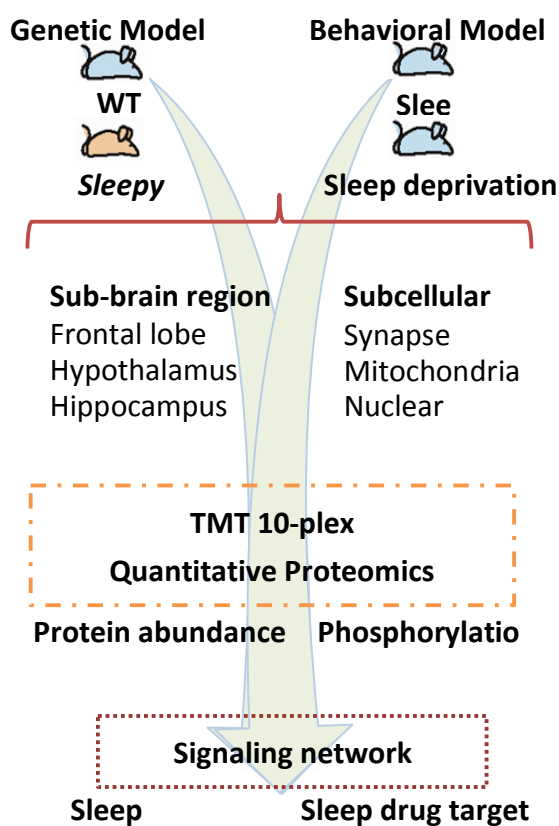


図 5. 研究の概要

[今後の展望]

オレキシン脳室内投与後の覚醒の促進が、ラパマイシン存在下/非存在下どのように影響があるかを調べることにより、オレキシン-mTOR シグナル経路の重要な役割をさらに検証する。

b) 野生型・*Sleepy* 変異型マウス脳の定量的プロテオミクス解析

睡眠研究の最大の目標のひとつは、総睡眠時間をコントロールし、また断眠後の反跳性睡眠をもたらす、「睡眠圧の実体分子」を同定することである。*Sleepy* 遺伝子変異マウスの「睡眠圧」は、野生型マウスのそれよりも構成的に高いことが予想される。我々は、「睡眠圧」を決定づける分子を同定し、睡眠制御の背景にあるシグナリングネットワークを解明するため、フォワードジェネティクスと定量的プロテオミクスを組

み合わせた、まったく新規で強力な戦略を提案している。本研究は定量的プロテオミクスおよびリン酸化プロテオミクスを睡眠研究に用いる世界初の試みである（図5）。

相対的・絶対的定量解析（iTRAQ）のタンデムマスタグ（TMT）およびアイソバリックタグは、質量分析で生物学的なマクロ分子を同定・定量する際に用いる化学的標識である。TMT や iTRAQ によるマルチプレックス定量は、定量的プロテオミクスに革新をもたらした（Erickson BK *et al. Anal Chem.* 2015）。現在市販されている TMT 10-plex は、質量分析による 10 サンプルの同時解析を可能とする（図6）。

我々は、生化学分野において実績のある Zhigiang Wang をポストドクとして雇用したほか、マスペクトロメトリ分野で輝かしい成果を挙げている、テキサス大学サウスウェスタン医学センターの Yonghao Yu との密な連携を開始した。2013 年より Wang は Yu の研究室で指導を受け、定量的質量分析解析の最新技術を習得した。柳沢/船戸研究室より提供された野生型及び *Sleepy* 変異型マウス脳から抽出物を調製し、TMT 処理によるプロテオーム解析で比較した。本法により、脳内に比較的多量に存在する約 4,500 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 99.9%には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。これらのタンパク質は *Sleepy* 変異で見られる過眠症や肥満の表現型を引き起こすエフェクターの候補であると考えられる。

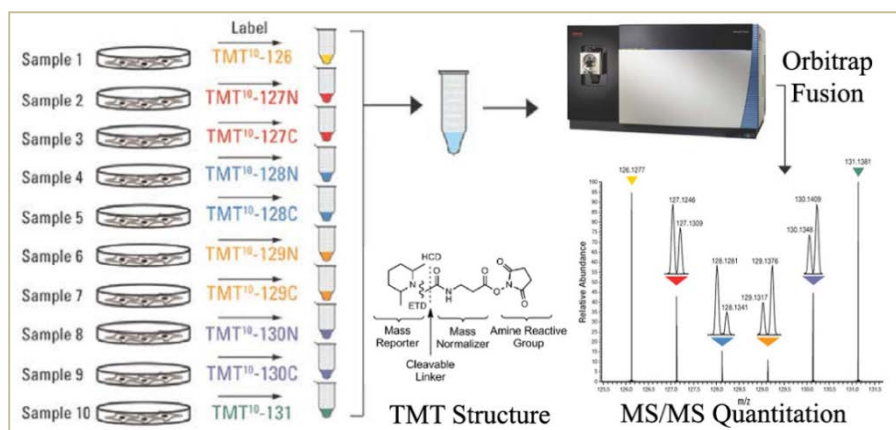


図6. MT 10-plexの概要

IIISでは、最も高感度でかつ分離能の高いThermo社の最新型マスペクトロメトリ装置(Orbitrap Fusion)を導入した。Wangは本学の招聘フェローシップを獲得し、IIISに2014年10月から3ヶ月滞在できることとなった。この間、Thermo社の技術者による研修を受けて、Orbitrap Fusionにて多数のTMTサンプルの解析に成功し、混合6サンプル(野生型3、変異型3)の一回の分析で約9,000のタンパク質(プロテオームの約半分)を定量できた。Wangは2015年5月よりIIISに移籍し、機構における質量分析設備の定常的な稼働に従事する予定である。質量分析技術の習得から質量分析設備の確立までを二年に満たない期間で達成したことは、本研究室の大きな成果と考えて

いる。

[今後の展望]

今後 TMT 6-plex から、10 サンプルを同時解析できる TMT 10-plex に拡張する。

また、マウスの脳全体ではなく視床下部等の特定部位や、シナプス、ミトコンドリアなどの細胞内器官・画分について解析を行なうことのできる定量的プロテオミクスの手法を開発する。

さらに、*Sleepy* 変異マウス脳内のシグナリング経路の特異的な変化を解析できる定量的リン酸化プロテオミクスの手法についても検討をすすめる。*Sleepy* はキナーゼであることから、本手法は重要な示唆を与えるものと期待される。

定量的プロテオミクスは豊富に存在するタンパク質の解析に限られているが、リン酸化プロテオミクスはそれほど豊富でない調節タンパク質の解析にも利用可能である。シグナリング経路で特徴的なパターンを示す複数の要素の変化を、リン酸化プロテオミクスから探索する。このことにより、*Sleepy* 変異によって影響を受けるシグナリング回路を同定していく。この回路は、睡眠・覚醒制御においても重要な役割を果たしていると考えられる。

c) 恐怖の分子基盤の解明および恐怖・不安など感情による睡眠の制御

睡眠は体内時計、ホメオスタシス、感情によって制御されている。感情が睡眠に影響を与える現象はよく知られているものの、その制御機構は明らかになっておらず、またヒトにおける感情の分子基盤はほとんど知られていない。恐怖は、危険な状況下において「戦う、逃げる、フリーズする」反応により、動物の生存確率を高める基本的な感情である。多くの精神病の背景には、不安やパニック障害、恐怖症、鬱、心的外傷後ストレス障害 (PTSD) のような、制御のきかない恐怖がある。これまでに数々の大規模な研究が行なわれてきたものの、恐怖の分子的側面はまったく未知である。様々な感情の中で、恐怖は、マウスをモデルとして簡便かつ確実に再現可能であるため、分子的・遺伝学的に追跡可能であるといえる。たとえば、捕食者を見ることなく累代飼育されてきた実験用マウスでも、ネコを恐れることが知られている。つまり、恐怖の基本的な神経経路は遺伝的にコードされているものであると考えられる。この恐怖の謎を解き明かすため、我々は捕食者の匂いを用いた「本能的恐怖アッセイ」を開発し、フォワードジェネティクス・スクリーニングと組み合わせることにより恐怖を感じない変異マウスを見出した。このスクリーニング法を用いれば、恐怖行動の核となる遺伝子を同定でき、恐怖を制御する分子基盤が解明されることが期待できる。さらに、感情がどのように睡眠・覚醒を制御しているのかを追求していく。一連の研究から、ヒトの感情の分子基盤が明らかになることが期待される。

フォワードジェネティクス・スクリーニングは、ヒトにおける病気の分子基盤を理

解するために有益な、強力なツールのひとつである (Moresco *et al*, *American Journal of Pathology*, 2013)。この手法は、いわゆる「ブラックボックス」と呼ばれる、原因がよくわかっていない現象を扱う際に特に有力である。さらに、次世代シーケンシング (NGS) 技術がフォワードジェネティクス・スクリーニングに革新をもたらした。かつては原因遺伝子変異をマッピングするには 8-10 年の歳月を要したが、昨今では 3-6 ヶ月に劇的に短縮されている。したがって、フォワードジェネティクス・スクリーニングにおけるボトルネックはもはや遺伝子変異のマッピングにかかる労力ではなく、マウスのハイスループットスクリーニングに適した頑強なアッセイ系の開発である。

マウスの行動スクリーニングの典型的な例としては、かつて Joseph Takahashi が行った、概日リズムにおいて中心的な役割を果たす Clock のスクリーニングが挙げられる。この研究を成功に導いた鍵は、「Clock アッセイ (相対標準偏差 RSD=0.72%)」であった。かつて、「学習された恐怖」や「恐怖条件付け (電気ショックと組み合わせることにより、害のない音でも恐怖を感じるように条件付ける手法)」をアッセイ系として用いたフォワードジェネティクス・スクリーニングが試みられたことがあった。し

かし、これらの研究はいずれもアッセイのばらつきが大きく (RSD=50-100%)、変異型と野生型を区別することができず、責任遺伝子を特定するに至らなかった (Takahashi, *Science* 2008、私信)。

マウスは視力が低いため、捕食者を匂いで検知する。このことから我々は、ハイスル

ープットスクリーニングに適した、捕食者の匂いに基づいた「本能的恐怖アッセイ」を開発した。本アッセイでは、C57/B6J マウスにおいて確実なすくみ行動を誘発するキツネの尿由来の単一化合物を用いた。Freezeframe ソフトウェアを用いてすくみ行動を定量化したところ、野生型マウスではこの化合物がないときは 5-20%、あるときは 60-95%のすくみ行動を示した。本アッセイの RSD は約 10%であり、すくみ行動が 47%未満の恐怖を感じない (fearless) マウス (平均 77%に対して標準偏差の 3 倍以上の偏差) を見出す系として利用可能であることが分かった。「恐怖スクリーニング」は IIIS の柳沢正史と共同で行なったが、約 1,600 匹の ENU 突然変異 F1 (6J/6N) マウスをスクリーニングした結果、10 個体の「恐怖を感じない」変異マウスを得ることができた (図 7)。うち 2 変異体について、F1 のオスを C57/B6N メスにバッククロスすることで N2 世代を作製し、表現型のスコアリングを行なっている。

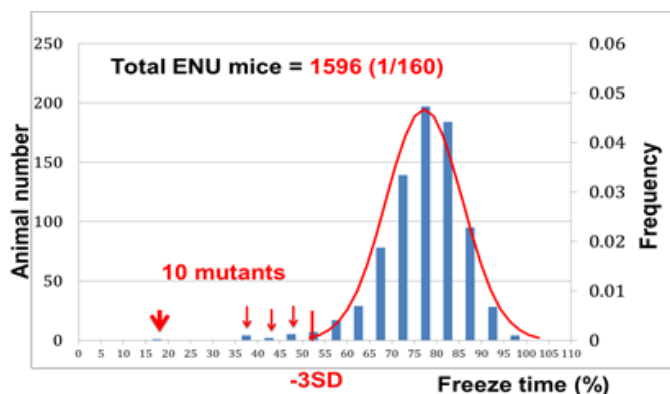


図 7. 恐怖スクリーニングの結果

[今後の展望]

- 1) 染色体マッピングとエクソームシーケンシングにより、遺伝子変異を同定する
- 2) CRISPR/Cas9 ゲノムエディティング技術により、ENU によって誘発された「恐怖を感じない」表現型を確認する
- 3) 神経学的研究および行動学的アッセイにより、本当に恐怖を感じない変異であるかを確認する
- 4) 生化学的、細胞学的、生物物理学的アプローチを組み合わせ、恐怖行動に関して遺伝子産物の生理学的機能を明らかにする

(3) 裏出研究室

a) オレキシン受容体アンタゴニストによる野生型マウスにおけるカタプレキシーの誘発、およびオレキシン受容体アゴニストによるオレキシンK0マウスにおけるカタプレキシーの抑制

スボレキサントは不眠症治療の薬として、日本では2014年にヒトでの使用が承認された。本品は、オレキシン系覚醒システムをターゲットとして睡眠を誘発する最初の薬である。ナルコレプシーはオレキシンシグナリングの減少によって引き起こされるため、長期間のオレキシン受容体の阻害はオレキシンK0マウスの状況を模倣し、カタプレキシーを誘発しうる。当研究室のカウシクは、スボレキサントの2週間連続投与後、1週間休薬して再度高濃度のスボレキサント(100 mg/kg)を投与すると、SOREMとカタプレキシーを誘発することを2013年に発見した。高濃度のスボレキサントを1週間連続投与し、1週間の休薬後に再投与したマウスでは、カタプレキシー症状が確認された。カウシクは別のデュアルオレキシン受容体アンタゴニスト(DORA-22)についても、類似のプロトコルにより実験を繰り返した。DORA-22もスボレキサントと同様にSOREMおよびカタプレキシーを起こした。現在、スボレキサント・DORA-22の慢性的な投与と休薬時におけるオレキシンおよびオレキシン受容体のマウス脳内変化についてさらに検討を進めている。

当研究室の永田は東京大学の熊谷博士と共同し、我々の睡眠バイオアッセイ系を用いて、自由行動できるマウスの脳室内に連続的に薬剤を注入し、低分子オレキシンアゴニストであるケモタイプ3が、オレキシンK0マウスにおいて効果的にカタプレキシーを抑制することを確認した。

b) 睡眠効果をもつ天然化合物の探索

睡眠を促す天然化合物は、不眠症治療の代替手段となりつつある。マウスを用いた我々の睡眠バイオアッセイ系により、いくつかの天然化合物が睡眠促進活性をもつことが明らかとなった。カウシクは産業技術総合研究所の研究者らと共同で、インドで伝統的に不眠治療に使われてきた植物アシュワガンダ(*Withania somnifera*)の抽出

物に睡眠促進効果が認められることを明らかにした。さらに、抽出物に含まれるトリエチレングリコール (TEG) および精製 TEG は、経口投与で濃度依存的に翌日のノンレム睡眠を誘発し、また総レム睡眠量を増加させることも示した。今後、TEG のターゲットとなる神経回路や、神経細胞群を探る予定である。シェラスは農研機構、富士フィルム株式会社との共同研究により、亜鉛を含む酵母抽出液が濃度依存的に総ノンレム睡眠量を増加させる一方で、その他の二価カチオン (マンガン、鉄、銅) を含む抽出液は影響を及ぼさないことを発見した。これは、亜鉛が睡眠を促進することを明らかにした初めての証拠であり、今後睡眠改善を目的とした新しいサプリメントの開発への道が開けた。有竹は、サフランの色素性部であるクロシンとクロセチンが、腹腔内投与後に総ノンレム睡眠時間を増加させることを明らかにした。さらに、グリコシル化クロシンは経口投与で 5-10 倍吸収されやすく光安定性が改善され、不眠症治療に有効である可能性を示した。ライオン株式会社から出向中の中村は、S-アデノシルメチオニンとメチルチオアデノシンを含む清酒酵母抽出物が、マウスにおいてアデノシン A_{2A} 受容体依存的にノンレム睡眠を誘発することを明らかにした。

c) カンナビノイドリガンドがマウス脳波パターンに与える効果

近年、多種の合成カンナビノイドが社会的問題として注目されている。国立医薬品食品衛生研究所からの要請により、有竹とマリシエフサカヤは、 Δ^9 -THC (植物由来カンナビノイド)、JWH-018 および CP-55,940 (合成カンナビノイド) などの向精神薬がマウスの運動活性、行動、脳波および筋電図に与える変化について検討した。腹腔内投与ののち、これらの薬剤は 4-12 時間と長期に渡る自発運動抑制をもたらし、3-4Hz の周波数領域における脳波強度の増大が見られた。さらに、JWH-018 投与では行動と脳波において発作が確認された。以上の結果は、社会や医師、使用者がカンナビノイドの重篤な副作用について再考する必要があることを示している。

(4) Lazarus 研究室

我々の研究室では、睡眠覚醒サイクルを制御する新規の脳内回路を同定し、代謝的に有利な状況下で起こる意欲・認知・感情行動の神経科学的プロセッシングを請け負っている、睡眠のホメオダイナミクスを解明することを主なゴールとしている。

a) 睡眠覚醒制御における側坐核の役割

睡眠 (もしくは睡眠様の) 状態は、中枢神経系を有する高等生物が普遍的に有する現象である。ヒトでは、仕事や余暇、生活スタイルによってしばしば睡眠行動に抗い、たとえば疲労を感じていても起きていようとする傾向があるという点でユニークである。このような行動には、抗精神作用のある化合物、たとえばカフェインや、処方薬であるモダフィニルなどが用いられる (Lazarus M, Urade Y; In: The Adenosinergic System -

A Non-Dopaminergic Target in Parkinson's Disease, Simola N, Morelli M, Wardas J, eds; 2015, in press).

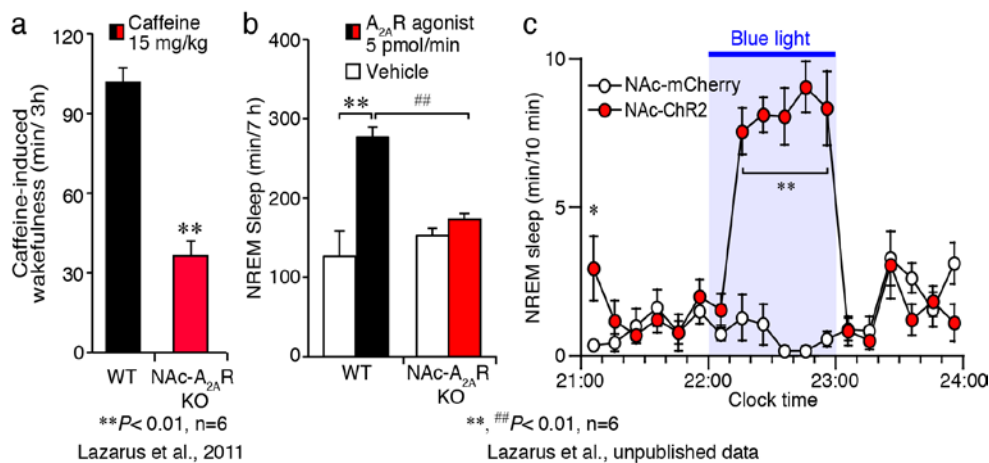


図 8. アデノシンと NAc の A_{2A}R ニューロンは睡眠制御において主要な役割を担っている

我々は、カフェインが側坐核 (NAc) のアデノシン A_{2A} 受容体 (A_{2A}Rs) を阻害することで覚醒を誘発することを明らかにした (Lazarus M, *et al.*, *J. Neurosci.* 2011, p. 10067, 図 8a)。アデノシンは睡眠を促進し、A_{2A}Rs は (ドーパミン D2 受容体やエンケファリンも発現する) NAc ニューロンで特に多く発現するが、A_{2A}R-positive な NAc ニューロンがどのように睡眠制御に関わっているかは明らかでなかった。A_{2A}Rs をアゴニストである CGS21680 によって薬理的に活性化すると、野生型マウスではノンレム睡眠が増加したが、NAc 特異的に A_{2A}R をノックアウトしたマウスでは変化がなかった (図 8b)。NAc A_{2A}R ニューロンを光遺伝学的 (チャンネルロドプシン、ChR2) に活性化すると、ロバスタなノンレム睡眠が誘発された (図 8c; Lazarus *et al.*, in preparation)。

これらの結果から、アデノシンと A_{2A}R ニューロンは行動学的な不活性 (運動の阻害) を促進するだけでなく、睡眠を制御する主要な役割を果たした証拠が得られた。さらに、NAc が行動学的プロセスによる睡眠覚醒制御において重要な領域であり、ひいては意欲の状態が睡眠覚醒の基礎的な制御因子であるかもしれないという興味深い可能性が示唆された。(Lazarus M, *et al.*, *Trends Neurosci.* 2012, p. 723; Lazarus M, *et al.*, *Curr. Opin. Neurobiol.* 2013, p. 780)。

b) 病理学的な睡眠制御におけるプロスタグランジン (PG) D2 の役割

睡眠ニーズ (または「睡眠欲」) の神経科学的・細胞学的側面はまだ明らかになっていないが、覚醒時に蓄積し睡眠をとることによって消滅するホメオスタティックな圧力という概念で捉えられている。これに関するひとつの仮説は、覚醒時に蓄積する内

因性の睡眠因子がホメオスタティックな圧力の基礎となっている、というものである。アデノシンのほかにも、プロスタグランジン (PG) D2 やサイトカインなど、睡眠の恒常性プロセスに作用し催眠作用を示す物質の候補が知られている。睡眠制御に関する体液性メカニズムの手懸かりは、主に微生物やウイルスに感染した際に観察される「具合が悪い状態（たとえば、発熱、不快感、痛み感受性の増加、食欲、睡眠覚醒リズムの攪乱など）」の個体を対象とした研究から得られている。「具合が悪い状態」は、急性期反応とよばれる生理学的応答を引き起こすサイトカインや PGs を含む、炎症誘発メディエーターのカスケードとリンクしている。睡眠の制御と、炎症を誘発するサイトカインの免疫システムによる産生が互いに強く関係していることが、昨今広く認められるようになった。たとえば、炎症性サイトカインで処理しただけ菌類では、ノンレム睡眠の増大とレム睡眠の減少が見られる。サイトカイン産生は PGs の分泌を必ず伴うことが知られていたが、我々はノンレム睡眠の感染時における増加が PGs と独立であることを示した (Oishi Y, *et al.*, *Brain, Behav. Immun.* 2015, in press)。この事実は、1) 発熱に対する応答は PGE2 タイプの EP3 受容体シグナリングに完全依存する (Lazarus M, *et al.*, *Nat. Neurosci.* 2007, p. 1131)、2) PGs は睡眠の制御に関係があるとされる (Urade Y, Lazarus M; In: *The Genetic Basis of Sleep & Sleep Disorders*, Shaw PJ, Tafti M, Thorpy MJ, eds; 2013, p. 73-83)、ことを考慮すると驚くべき発見であった。

炎症反応と類似して、動物モデルで電気ショックやペンチレンテトラゾール投与によりけいれんを起こさせると、脳内でさまざまな PGs の量が増加する。IIIS の裏出研究室と共同で、プロスタグランジンタイプ DP1 受容体に作用する PGD2 がけいれんの抑制に必須であり、発作に続く睡眠を制御していることを明らかにした (Kaushik MK, *et al.*, *Exp. Neurol.* 2014, p. 82)。

[今後の展望]

a) 側坐核におけるアデノシン作動性系の睡眠ホメオダイナミクスの解明

我々は、側坐核 (NAc) に存在するアデノシンと A_{2A} 受容体発現ニューロンが、睡眠覚醒サイクルの制御において予想外の役割を果たすことを明らかにしたが、(1) 睡眠覚醒サイクルにおける $A_{2A}R$ ニューロンのホメオダイナミクスは明らかになっておらず、(2) NAc に存在するアデノシンがどこから来るのかは謎である。

(1) については、自由行動下で睡眠覚醒するマウスにつき、アデノシン、環状アデノシンーリン酸 (cAMP)、および NAc に存在する $A_{2A}R$ ニューロンの発火パターンの変化を光ファイバー内視鏡システムを用いて可視化するためのシステムを構築中である。長瀬研究室と共同で、ケージド $A_{2A}R$ アゴニストを光ファイバー内視鏡で光活性化する方法を用いて側坐核の $A_{2A}R$ を時空間的にコントロールする系を立ち上げている。

これまで、*in vivo*における光ケーシングの応用技術は透明でないモデル生物種では

報告がなく、自由行動下のマウスを用いた「光薬理学」は、神経科学領域において幅広く応用でき、脳内に複雑に分布している受容体の効果を調査するのに有効な、最先端の技術である。脳深部イメージングと光薬理学は、IIS 内での分野を越えたプロジェクト「神経活動可視化法の開発」および「神経回路の同定・解析を目的とした手法開発」の一環となる研究である。

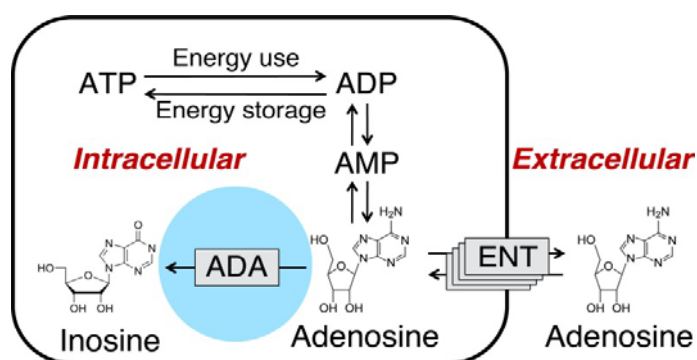


図 9. 細胞外アデノシンを枯渇させる機構。

(2)については、細胞外アデノシンを遺伝的に枯渇させて睡眠覚醒サイクルを変調させることで、アデノシンがどこに由来するかを探ることができると考えている。我々は、NAc 星状細胞またはニューロンでアデノシンデアミナーゼ (ADA) を発現させることにより細胞内アデノシンを除去することで、平衡化によって細胞外アデノシンを選択的に枯渇させようとしている (図 9)。ADA を利用したアデノシン量の操作はこれまでに試みられたことがなく、「脳内のアデノシンはどこから来るのか？」という睡眠研究の長期に渡る謎のひとつに新しいアプローチをもたらすと考えられる。

b) $A_{2A}R$ をターゲットとした新しい睡眠薬の開発 (長瀬研究室との共同研究)

NAc の $A_{2A}R$ は、睡眠障害治療の新しいターゲットになりうると期待している。既存の $A_{2A}R$ アゴニストは脳への透過性を欠き、また低血圧症のような副作用を有する。覚醒時に脳内のアデノシンレベルは著しく上昇するため、自由透過するアロステリックエンハンサは特に NAc においてアデノシンの睡眠誘導効果を効果的に増加させる可能性がある。我々は、ルシフェラーゼレポーターシステムと自由行動下のマウス睡眠バイオアッセイを組み合わせた、ヒトアデノシン $A_{2A}R$ のハイスループットバイオアッセイにより、化合物ライブラリをスクリーニングしており、新しいクラスの睡眠薬のリード化合物を得ることができると考えている。

c) 睡眠不足に対する代謝適応の神経学的メカニズムの解明

NAc は前頭前野 (PFC) および扁桃体からのグルタミン酸作動性の神経支配により認知と感情を統合している (Brog JS, et al., *J Comp Neurol* 1993, p. 338)。このことから我々は、NAc が PFC と扁桃体を機能的に関連づけることで、延長された覚醒時に味のよい食べ物に対する食欲を増進させるかもしれないという仮説を立てた。実際のところ、断眠は扁桃体と PFC の接続を弱めることが知られており (Yoo S, et al., *Curr*

Biol 2007, p. 17)、扁桃体と PFC が NAc と協調して睡眠と食欲を制御しているという我々の仮説を支持している。2014 年 11 月より日本学術振興会ポスドクとして当研究室に所属しているクリストファー・マキューンは博士課程にて恐怖行動を研究していた (McEown K and Treit D, *Neuroscience*. 2013, p. 169; McEown K and Treit D, *Horm Behav* 2011, p. 581) が、現在は、薬理学的手法で睡眠を制御して睡眠と食欲との関連を探る新規動物モデルを開発し、その有効性を検証している。特に、NAc を遺伝的に阻害して不活性化し、睡眠を制限する手法を用いる。さらに、カフェインの摂取もしくは機械的に睡眠を制限する「不眠症マウスモデル」を比較し、これらが食欲と体重増進に与える影響について検証する。PFC・扁桃体の不活性化と NAc の不活性化を組み合わせ、これらの操作が睡眠や食欲にどう影響するかを調べていく。

(5) 櫻井・坂口研究室

我々は 1) 睡眠の生理学的機能の解明、2) 神経活動を可視化する手法の開発、3) 神経回路を解析・同定する手法の開発、を目指して研究を進めている。

光活性化したイオンチャネル/ポンプ (たとえばオプシン) の光遺伝学的操作は、神経活動を精密なタイミングで可逆的に活性化あるいは抑制することが可能である。したがって光遺伝学的手法は、睡眠中における特定の神経回路と機能の因果関係を明らかにする強力なポテンシャルを秘めているといえる。睡眠中の記憶の固定においては海馬 CA1 領域が重要な役割を果たすことから、抑制性オプシンである ArchT を用いて CA1 錐体ニューロンをターゲティングできるかを検討した。我々は、テトラサイクリン・トランスアクティベータにより ArchT 発現を誘導する新たな遺伝子改変マウス系統を作製した。この系統を CaMKIIa-tTA 系統と掛けあわせたところ、埋め込まれたオプトロードを介した光が興奮性 CA1 ニューロンの活動を阻害できることを single-unit recording で確認できた。我々は海馬の光刺激により、文脈的恐怖記憶の再生が阻害されることを発見した。一連の研究から、今回得られた光遺伝学用マウス系統は、睡眠に依存した記憶の固定に関わる神経回路を精査するのに有用であることがわかった (Sakaguchi *et al.*, submitted)。これらの研究から派生して、記憶固定のプロセスにおいて、恐怖記憶が関係のない状況と汎化する時間帯が存在することを発見した (Fujinaka *et al.*, will be submitted)。

[今後の展望]

得られたマウスをその他さまざまなドライバマウス系統 (たとえば c-fos-tTA 系統) と掛けあわせることで、学習時に活性化されるニューロンを特異的にターゲットとし、睡眠の特定のステージにおける集団神経活動に介入する。我々はすでに、睡眠が記憶の固定においてきわめて重要な役割を果たしているという予備的な結果を得ている。睡眠中に記憶痕跡が形成されるメカニズムの解明が期待される。

(6) Greene/Vogt 研究室

我々は、睡眠中に観察される特徴的な律動的活動（特に徐波睡眠）の背景にある大脳皮質神経ネットワーク活動の解明を目指している。これらのネットワークの生理学的な制御および、徐波睡眠が認知機能にもたらず回復効果の理由について明らかにしたいと考えている。

a) DREADD を用いた徐波睡眠ホメオスタシス機構の理解

我々は、過活動/低活動状態の大脳皮質の局所の神経活動を操作できる DREADD 技術を用いて、これら的大脳皮質の領域が睡眠のフェーズによってどのような反応を示すかを調べている。DREADD で処理した領域と処理していないコントロール領域における表面脳波と局所フィールド電位をそれぞれ測定する。ここでは、(A) 徐波睡眠の発現はどれほど広範囲に及ぶのか、徐波の振動はどのように同調しているのか、(B) 大脳皮質においてどれくらい局所レベル（たとえばバレルや皮質柱など）で睡眠ホメオスタシスが存在するのか、(C) 徐波睡眠に重要な大脳皮質神経回路の特徴的な因子を決定することができるのか、という問いに答えることを目的としている。

大脳皮質における徐波睡眠は、大脳皮質ネットワークの興奮と強く結びついている。我々は、DREADDs を発現するマウスの大脳皮質の小領域を局所的に操作する手法を主に用いた。

異なる DREADDs と複数のマウス系統の組み合わせにより、a) ネットワーク興奮性の増加（興奮性のグルタミン酸作動性ニューロン（vGluT-CRE 系統）で発現される興奮性 DREADDs (hMdQ3) あるいは抑制性 GABA 作動性ニューロン（vGAT-CRE 系統）で発現される抑制性 DREADDs (hMdQ4)）、または b) ネットワーク興奮性の減少（GABA 作動性ニューロンで発現される興奮性 DREADDs またはグルタミン酸作動性細胞で発現される抑制性 DREADDs）をもたらすことができる。

活性化システムにおける神経活動の増加は、覚醒および大脳皮質での徐波の消失と関わっているため、ネットワークの興奮性の増加は徐波の発生または振幅を減少させ、一方で興奮性の減少は徐波を増強すると考えられる。

我々は、大脳皮質における局所的な神経活動、特に徐波の発生を妨げるための、小領域における DREADD 発現のパイロット実験をすでに完了している。我々は、脱分極を起こすウイルス hMdQ3 DREADD を 2 vGAT-CRE マウスに、過分極を起こすウイルス hMdQ4 DREADD を 2 vGluT-CRE マウスに注入した（0.8 ul の AAV2-DIO-hMdQ3-mCherry または AAV2-DIO-hMdQ4-mCherry 溶液、バレル皮質、Bregma -1, 0; Lateral 3, 0）。これらの組み合わせでは徐波が起こりやすいはずである。ウイルスの発現は固定した脳スライスによって確認した。睡眠をスコアリングするため、注入したエリアとその反対側で脳波と筋電図を記録した。コントロール条件では、これらの脳波はまったく同一ではな

いものの酷似しており、テキサス大サウスウェスタン医学センターの Greene 研で開発されたソフトによって定量された睡眠スコアリングのデータも（脳波とは独立に）よく似た結果であった。我々是对側の脳波を比較することにより、CNO 投与による DREADD 活性化の影響を定量化した。予備的な解析では、データを記録した全期間について徐波睡眠 10 秒間における脳波デルタパワーの比を決定した。これまでの脳波ネジを用いたフィールド電位の測定においては、この比に対する CNO 投与の影響を検討したことはない。投与後に、標準化したデルタパワー比に統計的に有意な差は生じなかった。また、投与しない日の同じ時間におけるデルタパワー比とも違いがなかった。しかしながら、ある個体において、暗期の初期 1 時間でこの比率が自発的に変動するのを観察した。この変動は異なる 6 日間にわたって発生した。このような変動が起こる明確な理由は不明だが、この結果は、この技術を用いて自発的な変動が観測できたことから、CNO 処理とコントロールを比較することにより同様の期間にわたって変動が観測可能であることを示す。

予備実験で得られた、CNO が効果を示さなかったという結果は驚くにあたらないかもしれない。おそらく、表面のネジが脳皮質の広い領域からフィールド電位をサンプリングしたのに対し、CNO の注入は局所的（狭い範囲かつ少量）であったことが原因であり、イメージングからも薬理効果の範囲が小さかったことが確認されている。DREADD の活性化が空間的に制限されているので、サンプリングした大きい領域の中ではマスクされているのかもしれない。DREADD の活性化が局所的な影響を示したとしても、影響を受けていない周辺領域の活動が影響を受けた領域にある電極によって検出されたか、単に DREADD 活性化の影響が凌駕されてしまった可能性がある。これらの問題点を解決するため、より局所的な電位記録とより広い範囲での DREADD 発現を組み合わせようと考えている。さらに、現在までは DREADD とマウス系統の興奮性の減少の組み合わせしか試していないため、興奮性の増加する組み合わせを試し、徐波の発生の抑制も検討したいと考えている。

現在、我々は睡眠チャンバーの測定チャンネルを 16 から 32 に増やしたため、より多点で、より局所的な神経活動を記録できるようになる。

更に局所的なフィールド電位を記録するため、2 つの電極を同一軸上に並べ、先端を 500 μm 離れた状態でテトロード型に配置して接着し、双極電極を作製した。電極は 12 μm のニクロム線でできており、抵抗は 100-200 キロオームまで低減した。電極は、短いほうが脳皮質の層 1 に、長いほうが層 5 に届く。これにより、より局所的なフィールド電位および DREADD による活性化の程度をサンプリングすることができる一方、同一領域の表面と深部の測定も可能となる。睡眠スコアリングには脳波ネジでより広範囲での脳波・筋電図測定を行なう。

さらにテトロードによる測定は、個々のニューロンの発火に関する情報を抽出しフィールド電位と関連付けて調べることができる点で有益であり、また一方の接続が悪

くなくてもカバーできる冗長性がある。

今後、電流源密度測定法により記録されたポテンシャルの層構造を分離するため、4つの電極を固定間隔で接着した電極を作製することも検討している。あるいは、DREADDによる活性化効果の空間的範囲や、コヒーレンスの局所的な渉外がもたらす効果、徐波の同調について調べるための、さまざまな構造を持った電極アレイも考えられる。これらにより、大脳皮質における徐波睡眠の神経科学的メカニズムについてより詳しい情報を得ることができよう。

b) *In vivo* イメージング

睡眠中、特に徐波睡眠中の大脳皮質におけるニューロンの活動パターンを *in vivo* イメージングによって解明する。究極的には、大脳皮質における徐波睡眠の同調を制御するネットワークの青写真を把握したいと考えている。徐波睡眠中の大脳皮質のネットワークが明らかになれば、その恒常性・回復機能をより詳しく理解することができる。

我々は、既存の共焦点顕微鏡とスキャナを *in vivo* 機能イメージングシステムに変換することに成功した。このシステムでは、動物の頭を固定し、空気を送って浮かせた発泡スチロールの球上に配置する。動きによるアーティファクトを軽減するため、これまでのところ鎮静剤を投与した動物のみで実験を行なってい



図 10. 固定プレートで頭部を固定し、トレーニング中のマウスの様子

るが、将来的には鎮静剤なしで測定を行なっていく。現在、頭を固定したマウスの馴化の方法を評価しており、このシステムで睡眠を測定できるか検討中である（図 10）。

アデノ随伴ウイルスを大脳皮質野に注入したマウスは 3 週間後に手術を行ない、*in vivo* イメージングに用いる。この手術では注入領域を開頭し、ガラス窓で覆い、表面脳波測定用電極（反対側と後頭部に対照電極）と頭部固定プレートを取り付ける。

我々はすでに、GGamP5、ArcLightQ329、ArcLightA242 といった、カルシウムや電位センサーを Cre リコンビナーゼ依存的に発現するアデノ随伴ウイルスを入手あるいは作製している。近年開発された、電位センサーを分子遺伝学的に導入する方法は、睡眠覚醒時に起こる、閾値に満たないネットワークの振動を研究するのに好適であると考えられる。

我々は、VGluT-IRES-Cre および VGAT-IRES-Cre マウスにカルシウム・電位センサー

遺伝子を導入することに成功し、これまでに主に電位センサー（ArcLight）のデータが得られている。ArcLightを導入したマウスからはフレームレート約10Hz（徐波振動のナイキスト周波数限界のすぐ上）の二光子顕微鏡像が得られた（図11A、B）。両側の脳波測定はイメージングデータと時間的に同期し（図11C）、イメージングデータの解析と脳波シグナルの相関解析のためのMatlab（解析ソフト）Routinesを開発した。

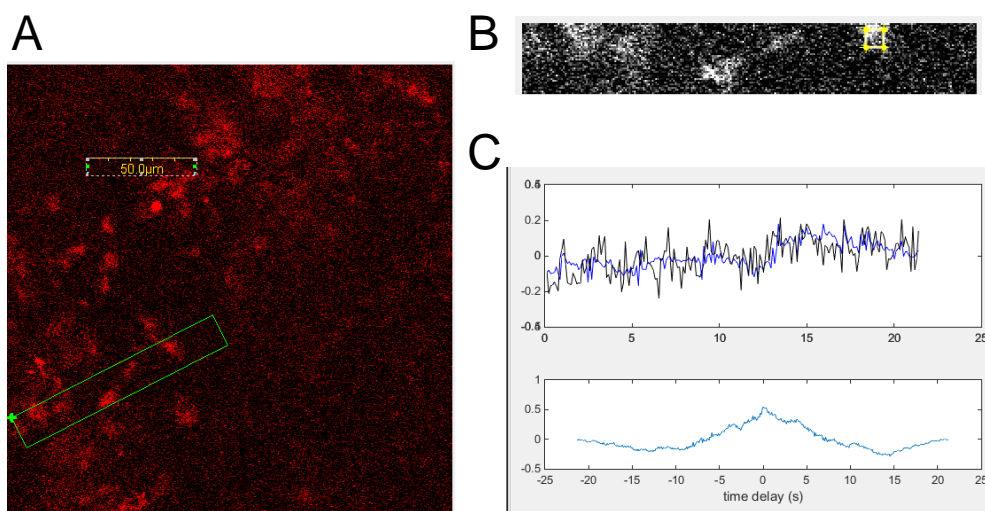


図11. A) VGAT-Cre マウス大脳皮質で ArcLight を発現するニューロンの概要 B) 10Hz でスキャンした 40×256 ピクセルのフレーム（黄色が対象とした領域） C 上) イメージングデータ（黒）と脳波（青） C 下) 二つのシグナルの相関曲線

[今後の展望]

2015 年はより多くのデータを取得できるようにプロトコルを改善していく計画である。加えて、新たに用いるセンサーのデータを正確に解釈できるように in vitro コントロール実験で検証する必要がある。動物は二光子顕微鏡で使うシステムとまったく同様に頭部を固定する環境に順化している。ここで示した、液体を届けるシステムは頭部固定時に、食欲刺激を与えるためであり、そのためのプロトコルを作成中である。

(7) 林研究室

a) レム/ノンレム睡眠を切り替えるスイッチ機構の解明

哺乳類の睡眠はレム睡眠とノンレム睡眠という 2 つのまったく異なった状態で構成されている。これらの睡眠状態のバランスにおける異常は、様々な発達障害や精神障害において広範に見られる現象である。レム/ノンレム睡眠のスイッチを明らかにするため、これまでに障害研究や薬理学的研究が行なわれ、中脳橋被蓋（MPT）のニューロンが重要な役割を担っていることが明らかになった（Jouvet, *Arch. Ital. Biol.*, 1962,

Hobson, *Nat. Rev. Neurosci.*, 2009)。この領域において、ネコでは青斑核アルファ傍核が、齧歯類では背外側下神経核 (SLD) が、レム睡眠の誘発において極めて重要な役割を果たしている (Vanni-Mercier *et al*, *Arch. Ital. Biol.*, 1989, Lu *et al*, *Nature*, 2006)。その一方で、レム睡眠の負の調節や、レム睡眠からの移行を促進するニューロンの実体の理解は遥かに遅れている。

橋に分布しているニューロン群を機能的に区別し、レム/ノンレム睡眠のスイッチに関与しているニューロンを分離するため、我々はこれまでに、特定の胎児細胞系統のニューロンを操作する技術を確立した。その結果、レム睡眠を阻害し、ノンレム睡眠を促進するグルタミン酸作動性細胞群を発見した。しかし、これらのニューロンが SLD にあるレム睡眠を促進するニューロンと相互作用し、どのようにレム/ノンレム睡眠スイッチを構成しているのかは、まだ明らかになっていない。このことから、我々はこれらのニューロンで GFP を発現させ、軸索を追跡した。軸索投射は中脳内の背側中脳路核深部 (dDpMe) で確認された。さらに、この領域の GABA 作動性ニューロンから SLD に軸索が送られていることがわかった。そこで、Vgat-ires-Cre マウスと Cre 依存性 DREADD を発現するウイルスベクターの組み合わせにより、dDpMe の GABA 作動性ニューロンの役割を精査した。その結果、これらのニューロンを薬理遺伝学的に活性化するとレム睡眠が抑制され、また阻害するとレム睡眠が増強された (図 12A、B)。このことから、レム/ノンレム睡眠のスイッチは、レム睡眠とノンレム睡眠それぞれを促進する 2 種類のグルタミン酸作動性ニューロンからなり、dDpMe にある GABA 作動性ニューロンが介在することが明らかとなった (図 12C)。我々の研究は、これまで長く議論されてきたレム/ノンレム睡眠スイッチの細胞学的実体を解き明かすものである。

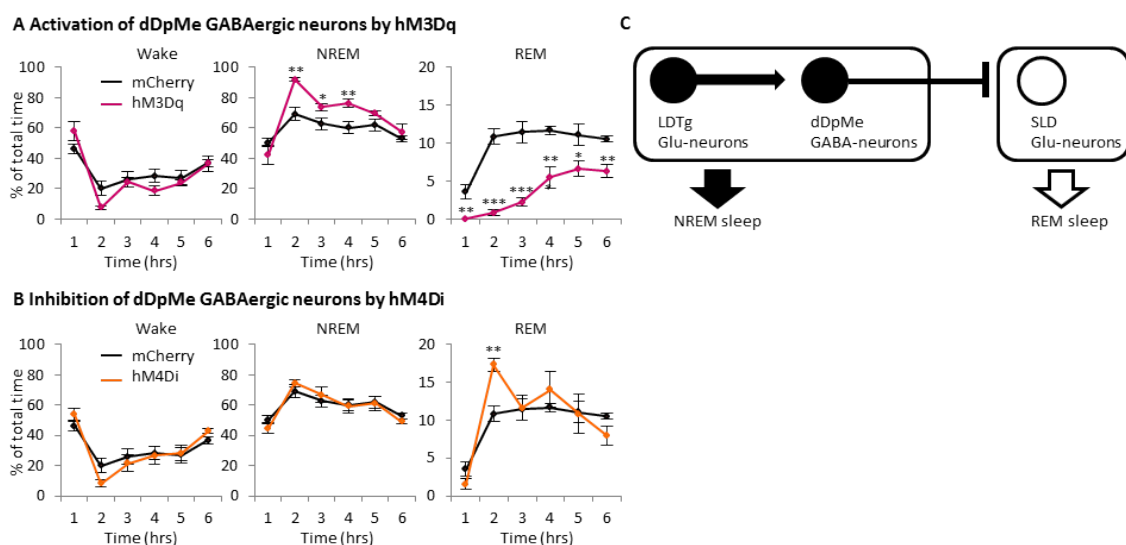


図 12. レム睡眠を阻害する GABA 作動性ニューロンの研究から明らかになったレム・ノンレム睡眠スイッチのモデル

[今後の展望]

レム/ノンレム睡眠のスイッチをなすニューロンは特定できたものの、通常の睡眠時にこれらのニューロンがどのような活動パターンを示すのかは明らかになっていない。最終的には、光遺伝学と *in vivo* における電気生理学的手法を組み合わせ、いつ、どのようにこれらのニューロンが活性化されるかを精査していく必要がある。

b) レム睡眠が睡眠の質に与える効果

断眠されたラットでは、体重の過剰減少や皮膚の損傷などのドラスティックな変化が起こり、2週間以内に死に至ると言われている (Rechtschaffen *et al.*, *Sleep*, 1989, Rechtschaffen and Bergmann, *Sleep*, 2002)。さらに断眠は、その後のノンレム睡眠中の徐波活動 (SWA) および総レム睡眠時間にリバウンドを引き起こすことから、これら二つの要素は重要であると考えられる。実際に、SWA は睡眠中の成長ホルモンの放出とも相関があり、さらに SWA はシナプスの可塑性や記憶の固定にも貢献している (Chauvette *et al.*, *Neuron*, 2012; Marshall *et al.*, *Nature*, 2006)。対照的に、レム睡眠の機能は理解が遅れている。ノンレム睡眠中に分散して現れる特徴的なパターンから、レム睡眠は何らかの機構によりノンレム睡眠の質を制御していると考えられてきた (Feinberg, *J Psychiat Res*, 1974)。ここで我々は、レム睡眠が後に続くノンレム睡眠の SWA を増強している可能性を検証した。まず、レム睡眠中のエピソード持続時間と、次のノンレム睡眠のデルタパワー値との間に有意な正の相関を見出した (Figure 13A)。

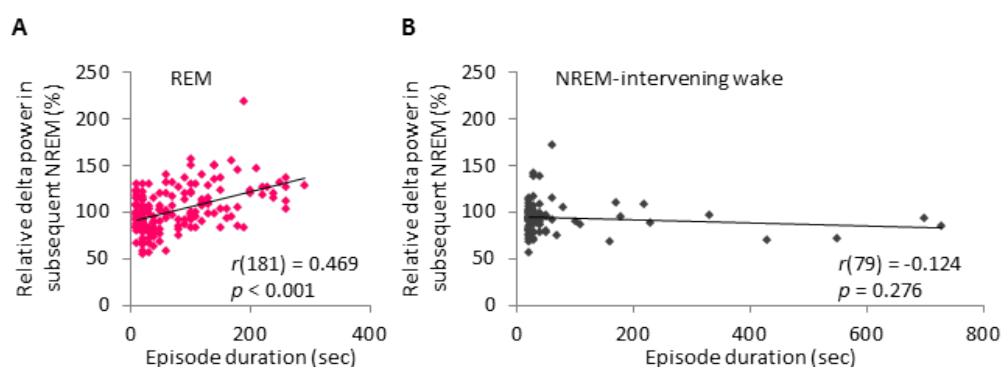


図 13. レム睡眠持続時間と後に続くノンレム睡眠中の徐波活動の相関

全ての SWA データを得た明期後半では、ノンレム睡眠エピソードは、比較的短い (約 13 分を超えない) 覚醒エピソードによってしばしば中断された。これらのノンレム介入覚醒エピソードにおいて、エピソード持続時間とその後のデルタパワーには明確な相関が見られなかった (図 13B)。数時間続く長期の覚醒が SWA を増強させる効果をも

つというよく知られた知見 (Suzuki *et al*, *PNAS*, 2013) と対照的に、ここで観察された比較的短いノンレム睡眠介在エピソードは、SWA を増加させることができないことがわかった。

レム睡眠の発生とノンレム睡眠中の SWA の増強の因果関係をさらに検証するため、我々が発見した神経回路を薬理遺伝学的に活性化あるいは阻害することで、非侵襲的にレム睡眠を操作し、その効果を調べた。その結果、レム睡眠を延長すると続くノンレム睡眠における SWA が強化される一方、レム睡眠を短縮するとノンレム睡眠の SWA が減少した。我々が得た結果は、ヒトにおいて選択的にレム断眠を行なうとノンレム睡眠中の SWA が減少することを示した過去の研究 (Beersma *et al*, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1990) と一部整合性がある。レム睡眠中において、ユニークな大脳皮質活動や神経調節物質の放出などの機構がはたらくことで、続くノンレム睡眠の SWA が増強されている可能性がある。

[今後の展望]

レム睡眠が SWA を増強するという発見に基づき、その背景にあるメカニズムを引き続き精査していく。まずは、SWA に影響を与えることがよく知られているアデノシンに注目する。現在のところ、アデノシン量を *in vivo* で高い時間分解能で測定するツールがない。この目的のため、アデノシンの蛍光インジケータを発現する細胞培養株を確立し、*in vivo* でアデノシンの放出をモニタリングするため、これらの細胞をマウスの脳に移植する。これにより、レム睡眠の機能のみならず、これまで長期にわたって謎であった新皮質に存在するアデノシンの由来も明らかにできるものと考えている。

(8) 清水研究室

a) 症候性ナルコレプシー研究

我々は 2001 年より症候性ナルコレプシーの研究を続けている。オレキシン量の低下を伴う病状によるナルコレプシーの 50 例を、文献および我々のデータベースから得た 345 例から選抜した。病状の比率を図 14 に示した。腫瘍 (n = 7, 14%)、脱髄障害 (NMO) (n = 6, 12%)、遺伝・先天性疾患 (n = 8, 16%) および神経変性 (n = 8, 16%) が最も頻繁に見られる病因であった。複数のカテゴリでは腫瘍や脱髄性疾患を含む明瞭な視床下部の損傷が見られた (A, n = 22, 44%) が、遺伝・先天性疾患 (PWS、NPC、MYD)、神経変性、腫瘍随伴性自己免疫症 (抗 Ma 抗体陽性例) および頭部外傷では明確な損傷が見られなかった (B, n = 28, 56%) (Kanbayashi, 2015 in press)。

遺伝病の中では、ニーマン・ピック病 C 型 (NPC)、筋強直性ジストロフィー 1 型 (MYD) およびプラダー・ウィリー症候群 (PWS) が主に報告されている。PWS は、15 番染色体 q11-q13 に関連した後天的な神経発生疾患である。PWS 患者は日中の強烈な眠気

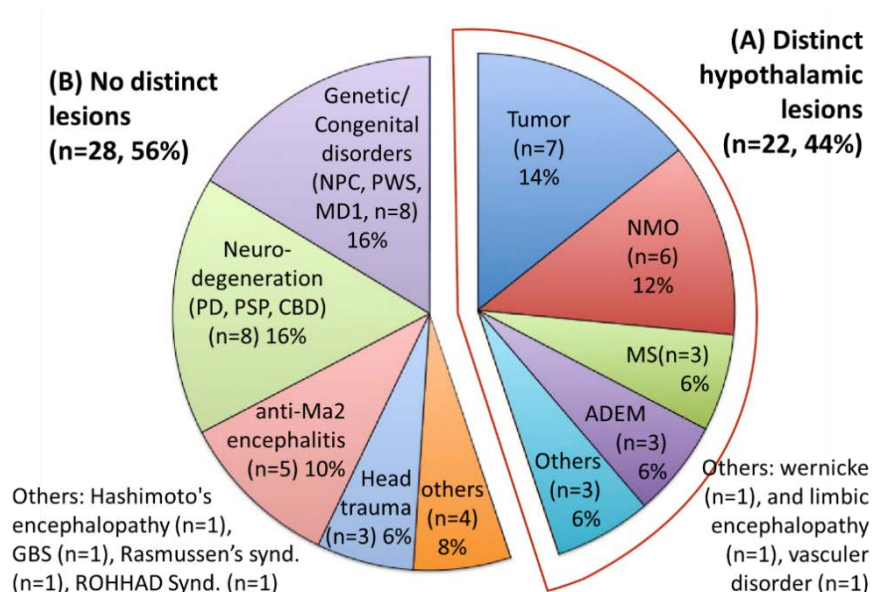


図 14. オレキシシ量の低下を呈する病状別の症候性ナルコレプシー (n = 50)

(excessive daytime sleepiness、EDS)、過剰な食欲および肥満を呈する。ナルコレプシーと同様、これらの症状においてもオレキシシは重要な役割を果たしているかもしれないが、PWS 患者における脳脊髄液 (CSF) オレキシシ量に関する報告は限られている。本研究の目的は、PWS の特徴的な症状と CSF オレキシシ量の関係性を検討することである。我々は 14 例の PWS 患者について、CSF オレキシシ量を調査した。37 例のナルコレプシー患者と 14 例の突発性過眠症患者を比較対照として用いた。PWS 患者の CSF オレキシシ量は中間 (192 pg/ml) で、ナルコレプシー患者のそれより高く (40 pg/ml)、突発性過眠症患者より低かった (280 pg/ml)。PWS 患者の BMI は 31.5 であり、ナルコレプシー患者 (22.5) および突発性過眠症患者 (22.3) よりも高かった。また、PWS 患者ではエプワース睡眠尺度値とオレキシシ量には負の相関がみられたのに対し、ナルコレプシーおよび突発性過眠症患者ではみられなかった。これらの結果から、PWS 患者における肥満と EDS の重篤さは、すべてではないが一部はオレキシシ量の攪乱に依存するものと考えられた (Omokawa 2015 SLEEP abstract)。

NPC は常染色体劣性かつ先天性の神経疾患で、コレステロールとスフィンゴ糖脂質が末端組織に、またスフィンゴ糖脂質が脳に蓄積するのが特徴であり、多くの場合カタプレキシーを含めたナルコレプシー様症状を呈する。現在 NPC の治療に有効とされているのはミグルスタットの投与であり、2012 年から開始されている。

被験者とした 8 名の NPC 患者 (男女各 4 名) のうち、オレキシシ量が 2 例で低く

($<110\text{pg/ml}$)、3例が中程度 $110\text{--}200\text{pg/ml}$)、その他3例は異常なしであった。カタプレキシーを示した4例は、低/中程度のオレキシン量だった。3名の患者についてはミグlustatを投与した。投薬前、カタプレキシー症状を示す1例は中間のオレキシン量で、ほか2例はカタプレキシーはなくオレキシン量は異常なしだった。1年間の治療後、3例ではいずれも症状の改善が見られた。もともとオレキシン量に異常のなかった2例では引き続き変化がなかったが、中程度だった1例では異常なしのレベルまで回復し、カタプレキシーも消失した。カタプレキシーとオレキシン量の測定は、NPCの初期診断と治療に有効であるかもしれない。またミグlustatは、NPC（特に若く初期ステージの）患者の治療に有効であると考えられた (Imanishi 2014, 2015 SLEEP abstract)。

[今後の展望]

これまでに、基礎的な研究による知見を臨床サンプルにより検証するために、さまざまな睡眠障害の患者からのサンプルを集めてきた。そのなかでも、ショートスリーパーのサンプルを集めることができたのは特筆すべき点である。“Bench-to-bed”の臨床研究を達成するために、これらのサンプルを迅速にかつ的確に提供したいと考えている。さらに、オレキシン受容体アンタゴニスト（ベルソムラ）が不眠症患者にどのような効果をもたらすのかの臨床研究も進めていく。

b) 基礎研究

圧電トランスデューサ (PZT) を用い、非侵襲的に睡眠・行動をモニタリングするシステムを構築し、睡眠の発生的側面と行動障害についてマウスモデルを使った研究を行なっている (Sato 2014, *Exp Neurol*)。

(9) 長瀬研究室

オレキシン系の不全は、深刻な睡眠障害であるナルコレプシーを引き起こす。オレキシン受容体 (OX1R, OX2R) に対しアゴニスト活性を示す小分子は、ナルコレプシーの治療薬となりうる。我々はオレキシン受容体アゴニストの発見を目指し、柳沢研究室で発見されたヒット化合物の構造を元にデザインされた 2,000 以上のサンプルを合成した。最近、水溶性の OX2R 選択的アゴニスト YNT-185 ($EC_{50} = 28\text{ nM}$; OX1R に対する選択比 >100 倍; 図 15) を発見した。YNT-185 を脳室内に投与した野生型マウスでは、投与量に依存して覚醒が誘発された。さらに YNT-185 は、ナルコレプシーモデルマウスでも効果を発揮した。オレキシンノックアウト (OXKO) マウスに YNT-185 を脳室内投与 ($260\text{ nmol in }6\text{ }\mu\text{L}$) した結果、チョコレートによって誘発された入眠時レム睡眠期 (SOREMPs) に改善が見られた (図 16) が、オレキシン受容体ダブルノックアウト (DKO) マウスでは効果が見られなかった。さらに、OXKO マウスへの腹腔内投与 (40 mg/Kg) は暗期におけるナルコレプシー症状を軽減し

たが、DKO マウスでは効果がなかった。これらのデータより、YNT-185 はオレキシン受容体アゴニストのリード化合物となりうることがわかった。

次のステージでは、投与量低下 (40 mg/kg) のため、本化合物のアゴニスト活性改善を目指した。オレキシン受容体へのアンタゴニスト活性評価を含めながら構造-活性相関を再

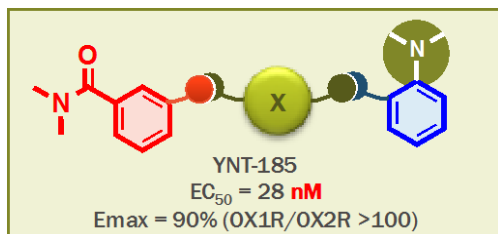


図 15. YNT-185 の構造

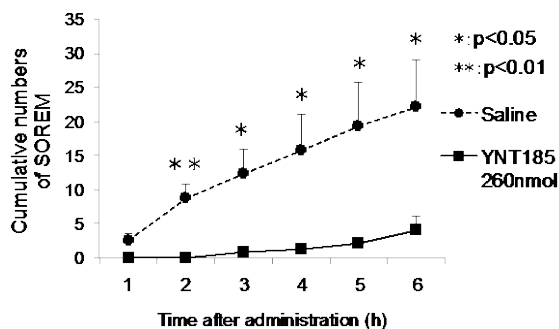


図 16. SOREM 累積数に対する YNT-185 脳室内投与の効果

検討した結果、YNT-185 および構造的に類似した化合物は強いアゴニスト活性と同時に弱いアンタゴニスト活性を示し、オレキシン受容体へのアゴニスト活性を打ち消していることがわかった (パーシャルアゴニスト活性)。これらの結果から、YNT-185 の可変的な部分の構造はアンタゴニスト活性に寄与し、結果として受容体タンパク質の構造変化を妨げる可能性が示唆された。この可変的な構造を固定されたスキャフォールドに置き換えることで、さらに活性の高いアゴニスト YNT-529 ($EC_{50} = 7.5 \text{ nM}$) および YNT-530 ($EC_{50} = 8.9 \text{ nM}$) を得ることができた。

[今後の展望]

オレキシン受容体アゴニストの開発をすすめるため、得られたリード化合物の薬効だけでなく、薬物動態学的な側面、たとえば血液脳関門の透過や ADME を改善していく。物理化学的特性予測ソフトを利用し、さらに効率的なドラッグデザインを目指す。