

## ERATO 上田生体時間プロジェクト中間評価報告書

【研究総括】上田 泰己(東京大学 大学院医学系研究科 教授)

【分科会委員】(敬称略、五十音順)

木村 温英(武田薬品工業株式会社 ニューロサイエンス創薬ユニット リサーチマネージャー)

糸 和彦(名古屋市立大学 大学院薬学研究科 教授)

深田 吉孝(東京大学 名誉教授)

深見 希代子(委員長;東京薬科大学 名誉教授)

八木田 和弘(京都府立医科大学 大学院医学研究科 教授)

John B. Hogenesch (Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Department of Pediatrics, Professor)

【研究プロジェクトの概要、研究プロジェクト(領域)の設定および運営に対して】

睡眠・覚醒リズムはヒトの行動パターンを支配する重要な生理機能であり、その乱れは脳機能や代謝などの全身の機能に多くの問題を生じさせる。生命現象を構成する多数の要素から成るシステムとして捉え、その振る舞いや動作原理をヒト個体レベルで理解する「ヒト理解に資するシステム生物学」の方法論を具現化するため、ヒトの睡眠・覚醒リズムにおける「生体時間」情報の理解を目指して本プロジェクトは発足した。ヒトを研究対象とした場合、遺伝子型と表現型の「因果関係」を知ること、ヒト表現型の「複雑さ」を紐解くこと、遺伝情報だけでなく「環境要因」の影響を正確に調べることが求められる。これらを克服するため、本プロジェクトでは、実社会のヒト集団の示す睡眠表現型分布を正確に測定して関連遺伝子を抽出する「ヒト睡眠測定グループ」、見出された候補遺伝子の睡眠表現型への因果関係を導出する「動物解析グループ」、遺伝子産物の活性制御機構の理解から個体全体の表現型を操作する摂動法を創出する「分子制御グループ」を設置し、ヒトの環境要因から遺伝子レベルまでの研究を推進している。

本プロジェクトは、3つの研究グループが「睡眠のリン酸化仮説」(後述)を基軸に、それぞれ独自の技術開発を進めながら、最終的に睡眠を統合的に理解しようとする壮大な研究構想である。研究体制においては、上田研究総括のマネジメント力が十分発揮されている。また、グループ間連携がうまく機能し、独自に開発した革新的な研究技法を応用しながら、分子・細胞・個体(動物・ヒト)まで広い範囲で多数の研究者が関わる中で協動的に研究を推進しており、中間評価段階として非常に高いレベルの研究進捗および業績を挙げていると評価できる。さらに、本プロジェクトの特徴でもある、新技術を戦略的に組み合わせる研究の進め方や、社会変革を促す様々な取組みを立上げた波及効果は、従来の研究成果の枠組みを超越した価値をもたらすことが期待できる。

【研究の達成状況および得られた研究成果】

上田研究総括らは、カルシウムイオン・カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II(CaMKII)の知見を基に、神経活動によって引き起こされるリン酸化酵素の活性変化や、それに続くリン酸化修飾によって睡眠や、睡眠に関連する生理機能を誘導する可能性を「睡眠のリン酸化仮説」として提唱し、その制御機構を分子レベルで実証することを目指している。本仮説の検証は、ヒトの日常の活動がどのようにして疲れや眠気の情報として記憶されているかを解き明かす鍵となるだけでなく、分子・細胞システムの動作原理等の理解によって、精神疾患や自己免疫疾患といった複雑な病態を示す疾患の理解と治療法開発への道を拓くことが期待される。

本プロジェクトでは、神経活性を包括的に解析可能な組織透明化技術(CUBIC)、呼吸を基としたマウス睡眠・覚醒測定技術(非侵襲睡眠解析システム)、遺伝子ノックダウン技術(Triple-CRISPR)、加速度計を駆使したヒト睡眠・覚醒評価アルゴリズム(ACCEL)、多電極アレイによる in vitro 睡眠評価技術など、これまでに開発してきた独自保有技術の改良や新規技術開発を行いながら仮説の検証を進めている。

分子制御グループでは、CaMKII のリン酸化による制御機構として、興奮性シナプスと抑制性シナプスにおける CaMKII の睡眠制御を明らかにし、シナプスにおける CaMKII の活性化が睡眠サイクルに重要であることを実証した。また、多電極アレイを用いたマウス大脳皮質神経培養細胞の同期発火を指標とした *in vitro* 睡眠モデルの研究では、CaMKII の活性阻害が神経発火サイクルを誘導することを明らかにした。さらに、自発的に睡眠様状態と覚醒様状態が切り替わる機構を発見し、分子・細胞・個体の間をつなぐ中間的な実験系として確立しつつある。今後、自然発火プロファイルを基にした睡眠モデルについて、何をどこまで証明すれば真の睡眠の *in vitro* モデルと言えるか、研究方向性を慎重に定める必要がある。

動物解析グループでは、CaMKII のリン酸化部位の違いが睡眠誘導や維持に関わっていることをマウスで実証することに成功した。CaMKII の興奮性後シナプス、抑制性後シナプスでの活性化状態の解明や、cAMP 依存性キナーゼ (PKA) などの CaMKII 以外のリン酸化酵素や脱リン酸化酵素による睡眠促進作用の発見など、睡眠制御のメカニズムがかなり明らかになってきている。特に、2 種類のリン酸化酵素 CaMKII と PKA が、それぞれ睡眠と覚醒を反対方向に制御するという睡眠制御のメカニズムの輪郭が見えてきたことも高く評価できる。これらの酵素がリン酸化制御する生理基質分子の解明や、制御メカニズムの相違など、次の研究展開に期待したい。

ヒト睡眠測定グループでは、ACCEL を英国のバイオバンクデータを用いて解析し、ヒトの睡眠パターンの把握に成功した。このことは、「ヒト理解に資するシステム生物学」の実現に向けた大きな成果であると高く評価でき、今後、ヒトの睡眠パターンとヒトの睡眠制御における CaMKII の役割の関係性、例えば、リン酸化による睡眠制御機構と子供の睡眠の関係性の解明などを精力的に進めていくことが望まれる。また、ACCEL を用いて子どもの睡眠健診や、医療施設と連携して疾患患者を対象としたヒトの臨床研究に取り組んでいることも評価できる。例えば、統合失調症患者におけるムスカリン受容体に焦点を当てた症状と睡眠構造の関連性が明らかになれば、日本だけでなく世界においても大きな課題となっているメンタルヘルスに対して、将来的に治療戦略に影響を与える可能性があり、社会的貢献への期待は大きいと言える。

論文発表の実績については、現在までの研究が探索および実験系の技術樹立など基盤的な研究が中心であったため、まだ限られていると言わざるを得ないが、十分に論文発表可能なレベルの研究成果を見出ししており、投稿中の成果も含めて今後の研究成果の発信に期待する。また、「睡眠のリン酸化仮説」に基づく網羅的かつ体系的な研究プロジェクトの遂行により、一つの大きな「潮流」が形成されつつあることから、本プロジェクト終了時に期待される突出した成果領域も意識した研究推進を期待したい。

#### 【その他特記すべき事項】

2024 年 3 月に英国オックスフォード大学と連携して企画・開催した日英共同シンポジウムでは、グループリーダーらがレベルの高い口頭発表を行い、睡眠と生体リズム研究における国際研究協力や研究者同士の国際交流に繋がった。また、一般市民向けのアウトリーチだけでなく、政治・経済分野に対しても、本研究の成果の重要性と、それを還元する方向を積極的に発信しようと努めていることも評価できる。

本プロジェクトは、睡眠とゲノミクス研究において世界で最も研究力の高いグループの 1 つとして認識されており、引き続き、当該研究における我が国のプレゼンス向上に大きく貢献していくことは間違いない。今後、大学院生を含めプロジェクトの参画メンバーの人材育成、チーム統括に一層尽力してほしい。

以上を総合すると、本プロジェクトは全体的に順調に進捗し、戦略目標「細胞内構成因子の動態と機能」の達成に資する成果が得られており、プロジェクト後半の取組によって十分な成果が期待できると評価できる。

以上