

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06024

研究課題名(和文) 新規過眠・肥満モデルマウスsleepyの睡眠覚醒と代謝制御の統合分子機構の解明

研究課題名(英文) Integrated Molecular Mechanisms of Sleep/Wakefulness and Metabolic Regulation in a Novel Hypersomnia and Obese Mouse Model

研究代表者

三好 千香 (Miyoshi, Chika)

筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・助教

研究者番号：60613437

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：Sleepy変異SIK3マウスにおいて、過眠とともに若齢期から肥満が観察される。本研究では、過眠と肥満の出現と制御機構を明らかにするため、細胞種特異的なsleepyの発現によって、相互の制御に関わる分子ネットワークの時空間的な解析を試みた。脳の神経細胞特異的および末梢組織特異的なcreマウスを用いた検討の結果、全身性のsleepyにみられる過眠の表現型は、ある種の脳神経特異的なsleepyの発現でのみ観察され、末梢における発現では、睡眠時間や脳波の周波数成分に変化は見られなかった。肥満も同様であったことから、Sleepyの過眠、肥満の表現型は、脳の神経細胞による制御であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

睡眠は心身の健康を保ち、質の高い社会生活を送ることに不可欠である。不眠等の睡眠障害は、わが国でも広く認められており、うつ病などの気分障害、メタボリック症候群との関連も深い。睡眠覚醒行動の異常と摂食行動の障害とは密接に関係すると考えられるが、その分子機構は明らかではない。よいモデル動物が得られれば、睡眠覚醒行動や摂食行動など、異なる行動モダリティーを制御する統合的な研究が可能になると考えられた。

研究成果の概要(英文)：In sleepy mutant SIK3 mice, obesity is observed from young age with hypersomnia. In this study, to elucidate the mechanisms underlying the appearance and regulation of hypersomnia and obesity, we investigated the molecular network involved in their regulation by cell type-specific sleepy expression in a spatiotemporal manner. In brain neuron-specific and peripheral tissue-specific cre mice, the hypersomnia phenotype of systemic type of sleepy mice was reproduced only by the expression of a type of cranial neuron-specific sleepy, while peripheral expression did not alter sleep duration or EEG spectrum components. The obesity phenotype was also not a peripheral function, suggesting that the hypersomnolence and obesity phenotypes in Sleepy mice are neuronal control of the brain.

研究分野：睡眠

キーワード：過眠 肥満

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

睡眠は心身の健康を保ち、質の高い社会生活を送ることに不可欠である。不眠等の睡眠障害は、わが国でも広く認められており、うつ病などの気分障害、メタボリック症候群との関連も深い。睡眠覚醒行動の異常と摂食行動の障害とは密接に関係すると考えられるが、その分子機構は明らかではない。よいモデル動物が得られれば、睡眠覚醒行動や摂食行動など、異なる行動モダリティを制御する統合的な研究が可能になると考えられた。

2. 研究の目的

睡眠は哺乳類から節足動物までほとんどの動物に認められる普遍的な行動である。我々は、フォワード・ジェネティクス的手法を用いて覚醒時間の顕著な短縮を示す *Sleepy* 家系を樹立した (Funato, Miyoshi *et al.*, Nature 2016)。

Sleepy マウスは、AMP-activated kinase-related kinase (AMPK-RK) に属する *Sik3* 遺伝子に変異をもち、典型的な表現型として過眠に加えて顕著な体重増加を示す。これまで、細胞種特異的に *SIK3* 遺伝子の発現を制御できる遺伝子改変マウスを作製して、各種神経細胞特異的に *Sleepy* 変異 *SIK3* を発現させ、過眠と肥満、それぞれの表現型を司る脳部位、神経細胞種の特異性を試みている。

本研究では、*Sleepy* マウスの摂食行動やエネルギー代謝の末梢制御に着目し、*Sleepy* 変異 *Sik3* の個体における生理機能の解明を試みる。過眠および肥満という、社会的にも重要な意味を持つ表現型を併せ持ち、かつ個々の表現型を時空間的に制御できるモデル動物の確立を目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、*Sleepy* 変異マウスの覚醒時間の短縮 (過眠) 顕著な体重増加 (肥満) の背景にある分子基盤を明らかにすることを目的として、代謝もしくは体重制御における *Sleepy* 変異 *SIK3* の機能に着目し、時空間的な遺伝子の発現パターンを明らかにすることを試みた。

4. 研究成果

我々の確立した *Sleepy* マウスは、前述の通り *Sik3* 遺伝子に変異をもち、典型的な表現型として過眠に加えて顕著な体重増加を示す (図 1, 2)。過眠および肥満の表現型とリンクする染色体部位を連鎖解析したところ、同一染色体の同部位に強い単一のピークを得た。さらに全エクソン領域の網羅的なシーケンスによって、連鎖解析でピークが認められた領域に点突然変異が同定され、過眠、肥満ともに *Sleepy* 変異 *Sik3* が原因遺伝子であることを明らかにした。

SIK3 の発現は、特定の部位ではなくユビキタな発現パターンを示すことが示唆されている。また、これまでに肝臓、すい臓、骨格筋、脂肪など、代謝にかかわる主な臓器で発現していることを確認している。

当研究室と筑波大学生命科学動物資源センターとの共同研究で CRISPR-CAS9 システムを用いて *SIK3* の機能獲得型変異 (*SIK3*^{Ex13flox}) マウス、および機能欠損型 (*SIK3*^{Ex3flox}) マウスを作製し、それらを用いて各種脳神経細胞特異的な *cre* マウスを導入し、表現型をつかさどる脳部位、神経細胞種の特異性を試みた。さらに、末梢組織にも *SIK3* の空間的な制御の下で目的の遺伝子を発現させることにより、肥満と過眠という 2 つの表現型の個々もしくは相互の表現型を司る分子ネットワークの解明に向けた検討を行った。

各種 *Cre* レポーターマウスを用いた解析の結果、脳のある種の神経細胞特異的に *Sleepy* を発現させたマウスにおいて、全身性の *Sleepy* マウスと同時期から有意な体重増加が観察された (未発表データ)。末梢組織で発現している *SIK3* の機能解析を行ったところ、肝細胞特異的な *Albumin-cre*、膵細胞特異的な *Insulin1-cre* マウスにおいては、少なくとも脳波の測定を行う 12 から 16 週齢では、同腹野生型と比べて体重の増加は見られなかった。さらに、睡眠においても、過眠の表現型は見られなかった。

網羅的な解析の結果、肥満と過眠の表現型は、脳神経細胞、もしくは部位特異的な *sleepy* 変

異 *SIK3* によって発現が制御されていることが示唆された。今後、各種脳神経細胞特異的な cre マウスを用いて、さらに詳細な時空間的な解析を行うことによって肥満と過眠という 2 つの表現型の個々もしくは相互の表現型を司る分子ネットワークの解明を目指す。

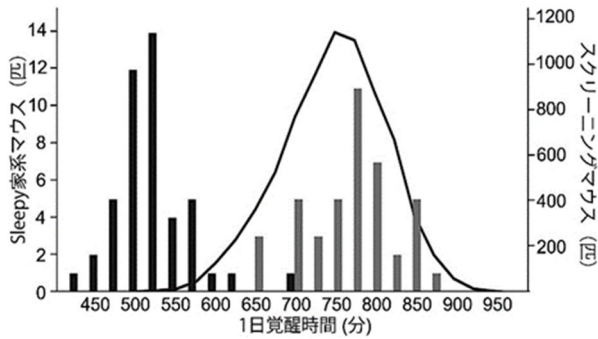


図1 *Sik3*遺伝子に変異を持つマウス（黒）と変異のないマウス（灰）の覚醒時間。*Sik3*遺伝子変異による覚醒時間短縮が明らかである。黒線は検討した全突然変異マウスの覚醒時間を示した。

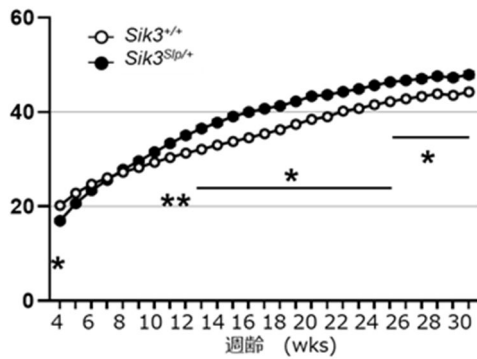


図2 **Body Weight (g)**
Sik3^{Slp/+} マウスは、11週齢の時点で*Sik3*^{+/+} に比べて有意な体重増加がみられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Omori Satotak, Miyoshi Chika, Nakanishi Makoto, et. al.	4. 巻 32
2. 論文標題 Generation of a p16 Reporter Mouse and Its Use to Characterize and Target p16high Cells In Vivo	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Metabolism	6. 最初と最後の頁 814 ~ 828.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cmet.2020.09.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Park Minjeong, Miyoshi Chika, Fujiyama Tomoyuki, Kakizaki Miyo, Ikkyu Aya, Honda Takato, Choi Jinhwan, Asano Fuyuki, Mizuno Seiya, Takahashi Satoru, Yanagisawa Masashi, Funato Hiromasa	4. 巻 10
2. 論文標題 Loss of the conserved PKA sites of SIK1 and SIK2 increases sleep need	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8676
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-65647-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ogawa Yukino, Miyoshi Chika, Obana Nozomu, Yajima Kaho, Hotta-Hirashima Noriko, Ikkyu Aya, Kanno Satomi, Soga Tomoyoshi, Fukuda Shinji, Yanagisawa Masashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Gut microbiota depletion by chronic antibiotic treatment alters the sleep/wake architecture and sleep EEG power spectra in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-76562-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Iwasaki Kanako, Fujiyama Tomoyuki, Nakata Shinya, Park Minjeong, Miyoshi Chika, Hotta-Hirashima Noriko, Ikkyu Aya, Kakizaki Miyo, Sugiyama Fumihiro, Mizuno Seiya, Abe Manabu, Sakimura Kenji, Takahashi Satoru, Funato Hiromasa, Yanagisawa Masashi	4. 巻 41
2. 論文標題 Induction of Mutant Sik3Sleepy Allele in Neurons in Late Infancy Increases Sleep Need	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2733 ~ 2746
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1004-20.2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saito Ryo, Miyoshi Chika, Koebis Michinori, Kushima Itaru, Nakao Kazuki, Mori Daisuke, Ozaki Norio, Funato Hiromasa, Yanagisawa Masashi, Aiba Atsu	4. 巻 14
2. 論文標題 Two novel mouse models mimicking minor deletions in 22q11.2 deletion syndrome revealed the contribution of each deleted region to psychiatric disorders	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Brain	6. 最初と最後の頁 68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-021-00778-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyoshi C, Kim SJ, Ezaki T, Ikkyu A, Hotta-Hirashima N, Kanno S, Kakizaki M, Yamada M, Wakana S, Yanagisawa M, Funato H	4. 巻 116
2. 論文標題 Methodology and theoretical basis of forward genetic screening for sleep/wakefulness in mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 16062-16067
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1906774116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Honda Takato, Fujiyama Tomoyuki, Miyoshi Chika, Ikkyu Aya, Hotta-Hirashima Noriko, Kanno Satomi, Mizuno Seiya, Sugiyama Fumihiro, Takahashi Satoru, Funato Hiromasa, Yanagisawa Masashi	4. 巻 115
2. 論文標題 A single phosphorylation site of SIK3 regulates daily sleep amounts and sleep need in mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 10458 ~ 10463
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1810823115	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwasaki Kanako, Komiya Haruna, Kakizaki Miyo, Miyoshi Chika, Abe Manabu, Sakimura Kenji, Funato Hiromasa, Yanagisawa Masashi	4. 巻 12
2. 論文標題 Ablation of Central Serotonergic Neurons Decreased REM Sleep and Attenuated Arousal Response	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2018.00535	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang Zhiqiang, Ma Jing, Miyoshi Chika, Yanagisawa Masashi, Liu Qinghua, et al	4. 巻 558
2. 論文標題 Quantitative phosphoproteomic analysis of the molecular substrates of sleep need	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 435 ~ 439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-018-0218-8	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang Yibing, Cao Liqin, Lee Chia-Ying, Matsuo Tomohiko, Wu Kejia, Asher Greg, Tang Lijun, Saitoh Tsuyoshi, Russell Jamie, Klewe-Nebenius Daniela, Wang Li, Soya Shingo, Hasegawa Emi, Ch?rasse Yoan, Zhou Jiamin, Li Yuwenbin, Wang Tao, Zhan Xiaowei, Miyoshi Chika, Liu Qinghua, et al	4. 巻 9
2. 論文標題 Large-scale forward genetics screening identifies Trpa1 as a chemosensor for predator odor-evoked innate fear behaviors	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2041
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-04324-3	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Miyoshi C, Hotta-Hirashima N, Ikkyu A, Kanno S, Kakizaki M, Yamada M, Kim SJ, Ezaki T, Wakana S, Funato H, Yanagisawa M
2. 発表標題 Establishment of a Model Mouse Pedigree with Hypersomnia, Sleepy, by Large-Scale Forward Genetic Screening
3. 学会等名 8th Japan-Sino-Korea Mouse Resource Workshop (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miyoshi C, Hotta-Hirashima N, Kanno S, Ikkyu A, Kakizaki M, Yamada M, Kim SJ, Wakana S, Yanagisawa M, Funato H
2. 発表標題 Establishment of Screening Method for Sleep/Wakefulness in Mice Through Forward Genetics.
3. 学会等名 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Kanako Iwasaki, Haruna Komiya, Miyo Kakizaki, Chika Miyoshi, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2 . 発表標題 Effect of central serotonergic ablation on sleep/wake behavior in mice
3 . 学会等名 The 41st Annual Meeting of Japan Neuroscience Society
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Staci J. Kim, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Noriko Hotta-Hirashima, Satomi Kanno, Aya Ikkyu, Miyo Kakizaki, Seiya Mizuno, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2 . 発表標題 Identification of a novel gene family in sleep and wake regulation
3 . 学会等名 The 41st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Staci J. Kim, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Noriko Hotta-Hirashima, Satomi Kanno, Aya Ikkyu, Miyo Kakizaki, Seiya Mizuno, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2 . 発表標題 Forward genes study identifies novel gene in sleep/wake regulation
3 . 学会等名 2018 Korean Society for Molecular and Cellular Biology (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Fuyuki Asano, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Miyo Kakizaki, Noriko Hotta-Hirashima, Aya Ikkyu, Satomi Kanno, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2 . 発表標題 Establishment of the neuron-type specific SIK3-deficient mice
3 . 学会等名 Tsukuba Global Science Week(TGSW) 2018
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Minjeong Park, Chika Miyoshi, Tomoyuki Fujiyama, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Takato Honda, Jinhwan Choi, Seiya Mizuno, Kanako Kato, Yoko Taimoto, Hiromasa Funato, and Masashi Yanagisawa
2 . 発表標題 Sik1, Sik2, point mutation mice -Paralog analysis of Sik3 gene in Sleepy Mutant pedigree
3 . 学会等名 Tsukuba Global Science Week(TGSW) 2018
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Fuyuki Asano, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Miyo Kakizaki, Noriko Hotta-Hirashima, Aya Ikkyu, Satomi Kanno, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2 . 発表標題 Production of brain-specific SIK3-deficient mice
3 . 学会等名 The 41st Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Staci J. Kim, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Noriko Hotta-Hirashima, Satomi Kanno, Aya Ikkyu, Miyo Kakizaki, Hiromasa Funato, and Masashi Yanagisawa
2 . 発表標題 Sleep arousal behavior of SIK1 and SIK2 PKA phosphorylation site mutated mice
3 . 学会等名 The 41st Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Tomoyuki Fujiyama, Seiya Mizuno, Manabu Abe, Satomi Kanno, Miyo Kakizaki, Kanako Iwasaki, Aya Ikkyu, Noriko Hotta-Hirashima, Mana Yamada, Chika Miyoshi, Makito Sato, Takeshi Kanda, Kenji Sakimura, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2 . 発表標題 Title: Where does the Dreamless mutation take effect?
3 . 学会等名 The 7th IIIS Symposium (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 Takato Honda, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Aya Ikkyu, Noriko Hotta, Satomi Kanno, Hiromasa Funato and Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Investigation of Sleep/Wake Regulatory Mechanisms by Analysis of the Sik3 Gene Identified Through Forward Genetics
3. 学会等名 The 41st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takato Honda, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Aya Ikkyu, Noriko Hotta, Satomi Kanno, Hiromasa Funato and Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Investigation of Sleep/Wake Regulatory Mechanisms by Analysis of the Sik3 Gene Identified Through Forward Genetics
3. 学会等名 The 43rd Japanese Society of Sleep Research jointly held with The 9th Asian Sleep Research Society Asian Forum on Chronobiology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kanako Iwasaki, Haruna Komiya, Miyo Kakizaki, Chika Miyoshi, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Hiromasa Funato, and Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Ablation of central serotonergic neurons decreased REM sleep and attenuated arousal response
3. 学会等名 Tsukuba Global Science Week(TGSW) 2018
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	船戸 弘正 (Funato Hiromasa) (90363118)	筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・客員教授 (12102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------