

厚生科学研究費補助金

脳科学研究事業

睡眠調節の分子機構と臨床応用に関する研究

平成13年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 (財)大阪バイオサイエンス研究所

名誉所長 早石 修

平成14(2002)年 4月

目 次

I. 総括研究報告		
睡眠覚醒の分子機構と臨床応用に関する研究	-----	1
早石 修		
II. 分担研究報告書		
1. 睡眠覚醒の分子機構と臨床応用に関する研究	-----	4
裏出 良博		
2. 睡眠覚醒の分子機構と臨床応用に関する研究	-----	7
江口 直美		
3. 睡眠覚醒の分子機構と臨床応用に関する研究	-----	9
曲 衛敏		
4. 睡眠覚醒の分子機構と臨床応用に関する研究	-----	10
黄 志力		
5. 睡眠覚醒の分子機構と臨床応用に関する研究	-----	11
Michael Lazarus		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	12
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	

睡眠調節の分子機構と臨床応用に関する研究

主任研究者 早石 修（財）大阪バイオサイエンス研究所 名誉所長

研究要旨

（１）内因性睡眠物質であるプロスタグランジン（PG）D₂は、前脳基底部のクモ膜に分布するPGD₂受容体を介して、第二の内因性睡眠物質であるアデノシンの細胞外濃度の上昇を起して徐波睡眠を誘発することを、野生型およびPGD₂受容体遺伝子欠損マウスを用いて証明した。（２）さらに、PGD合成酵素遺伝子欠損マウスおよびPGD₂受容体遺伝子欠損マウスでは、断眠による睡眠要求の蓄積が起り難いことを発見し、PGD₂が長期間の覚醒により不足した睡眠を補う場合に特に重要であることを証明した。（３）内因性覚醒物質であるPGE₂やオレキシンは、結節乳頭核のヒスタミン神経系を活性化し、脳内の遊離ヒスタミン濃度を上昇させることを証明した。そして、ヒスタミンH1受容体遺伝子欠損マウスでは、オレキシンの脳室内投与による覚醒誘発が全く起こらないことを発見した。（４）小動物用の無線方式自動薬液注入ポンプを開発し、さらに、睡眠自動判定ソフトに睡眠判定アルゴリズムの自己学習機構を組み込んで睡眠覚醒調節医薬品候補化合物のスクリーニング系を整備した。（５）PGD合成酵素とPGE合成酵素の構造解析を進め、睡眠覚醒調節薬としての酵素阻害剤の開発を進めた。

分担研究者 裏出 良博

（財）大阪バイオサイエンス研究所

第2研究部 研究部長

江口 直美

（財）大阪バイオサイエンス研究所

第2研究部 副部長

曲 衛敏

（財）大阪バイオサイエンス研究所

第2研究部 特別研究員

黄 志力

（財）大阪バイオサイエンス研究所

第2研究部 受託研究員

Michael Lazarus

（財）大阪バイオサイエンス研究所

第2研究部 受託研究員

理的な睡眠異常や睡眠覚醒障害の治療法の開発を目指す。

B. 研究方法

- 1) 無麻酔下のマウス脳室への薬物投与と睡眠覚醒の同時測定法を開発し、各種の遺伝子欠損マウスに応用する。
- 2) ウレタン麻酔下のマウス前脳基底部への微量脳内透析プローブの埋め込みを行い、クモ膜下腔における睡眠情報の変換機構を解析する。
- 3) 小動物（ラットおよびマウス）用の無線方式自動薬液注入ポンプを開発する。
- 4) 動物睡眠自動判定ソフトを改良し、睡眠判定データの編集速度を向上させる。
- 5) PGD合成酵素の結晶化条件を改良し、阻害剤との複合体の結晶化を試みる。
- 6) 小胞体膜結合型PGE合成酵素のcDNAクローニングを行い、遺伝子組換え型酵素を精製する。
- 7) ラットの覚醒中枢（結節乳頭核）への微量脳

A. 研究目的

生化学的および分子生物学的手法を用いて、睡眠および覚醒の内因性調節物質であるPGD₂とアデノシン、および、PGE₂、オレキシン、ヒスタミンの作用機構に関する基礎知識を深め、合

内透析プローブの埋め込みを行い、覚醒情報の変換機構を解析する。

C. 研究結果

- 1) マウス脳室へのPGD₂投与により、徐波睡眠の選択的な増加が起きるが、PGD₂受容体遺伝子欠損マウスでは、PGD₂の脳室内投与による睡眠誘発が起きないことを見出した。
- 2) マウス前脳基底部のクモ膜下腔において、PGD₂投与による細胞外アデノシン濃度の上昇が起きるが、PGD₂受容体遺伝子欠損マウスでは、その上昇が起きないことを見出した。
- 3) PGD合成酵素遺伝子欠損マウスおよびPGD₂受容体遺伝子欠損マウスは断眠による睡眠要求の蓄積が起こり難いことを発見した。
- 4) 小動物（ラットおよびマウス）用の無線方式自動薬液注入ポンプを開発した。
- 5) 動物睡眠自動判定ソフトに睡眠判定アルゴリズムの自己学習機構を組み込んだ。
- 6) PGD合成酵素と阻害剤との複合体の結晶化に成功し、放射光施設（SPring-8）を利用して、高分解能のX線回折データを収集した。
- 7) 小胞体膜結合型PGE合成酵素cDNAを単離し、大腸菌を用いた遺伝子組換え型酵素の発現と精製に成功した。さらに、精製蛋白質を抗原として特異性の高い抗体の作製に成功した。
- 8) 覚醒中枢（結節乳頭核）近傍へのPGE₂あるいはオレキシンの投与により、ヒスタミン系覚醒中枢の活性化を反映した脳内の遊離ヒスタミン濃度の上昇が観察された。
- 9) マウス脳室内へのオレキシン投与により、覚醒誘発が起きるが、ヒスタミンH1受容体遺伝子欠損マウスでは、オレキシンの脳室内投与による覚醒誘発が起きないことを発見した。

D. 考察

研究結果（1-3）は、PGD₂が前脳基底部

のクモ膜に分布するPGD₂受容体を介して、アデノシンの細胞外濃度の上昇を起して徐波睡眠を誘発すること、さらに、PGD₂が長期間の覚醒により不足した睡眠を補う場合に特に重要であることを示している。

研究結果（4、5）により、遺伝子変異マウスの睡眠覚醒リズムの非拘束条件下における測定法、および、睡眠異常の解析法の完成度が高められ、睡眠覚醒調節医薬品候補化合物のスクリーニング系がより一層整備された。

研究結果（6、7）により、PGD₂およびPGE₂の生産を調整することにより睡眠覚醒を調整するPGD合成酵素およびPGE合成酵素の阻害剤開発に必要な酵素活性中心の立体構造情報が蓄積した。

研究結果（8、9）により、内因性覚醒物質であるPGE₂やオレキシンは、結節乳頭核のヒスタミン神経系を活性化し、オレキシンの覚醒誘発にヒスタミンH1受容体が絶対的に必要であることが証明された。

E. 結論

PGD₂は、前脳基底部のクモ膜に分布するPGD₂受容体を介して、細胞外アデノシン濃度の上昇を起して徐波睡眠を誘発する。PGD₂は、長期間の覚醒により不足した睡眠を補う場合に特に重要である。PGE₂やオレキシンなどの覚醒作用は、結節乳頭核のヒスタミン神経系の活性化を伴う。小動物用の無線方式自動薬液注入ポンプの開発と睡眠自動判定ソフトの改良により、睡眠覚醒調節医薬品候補化合物のスクリーニング系が整備された。新しい作用点を持つ睡眠覚醒調節薬として期待されるPGD合成酵素とPGE合成酵素の阻害剤開発に必要な酵素の構造解析を進めた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表（原著・総説）

- 1) Huang, Z-L, Qu, W-M, Li, W-D, Mochizuki, T., Eguchi, N., Watanabe, T., Urade, Y., and Hayaishi, O. Arousal effect of orexin A depends on activation of the histaminergic system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 (17), 9965-9970, 2001
 - 2) Mizoguchi, A., Eguchi, N., Kimura, K., Kiyohara, Y., Qu, W-M, Huang, Z-L, Mochizuki, T., Lazarus, M., Kobayashi, T., Kaneko, T., Narumiya, S., Urade, Y., Hayaishi, O. Dominant localization of prostaglandin D receptors on arachnoid trabecular cells in mouse basal forebrain and their involvement in the regulation of non-rapid eye movement sleep. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 (20), 11674-11679, 2001
 - 3) Scammell, T. E., Gerashchenko, D. Y., Mochizuki, T., McCarthy, M. T., Estabrooke, I. V., Sears, C. A., Saper, C. B., Urade, Y., and Hayaishi, O. An adenosine A2a agonist increases sleep and induces Fos in ventrolateral preoptic neurons. *Neuroscience*, 107 (4), 653-663, 2001
 - 4) Hayaishi, O. Molecular Genetic Studies on Sleep-wake Regulation -With special emphasis on the prostaglandin D₂ system-. *J. Appl. Physiol.* 92 (2), 863-868, 2002
 - 5) Hayaishi, O. and Urade, Y. Prostaglandin D₂ in sleep-wake regulation -Recent progress and perspectives-. *The Neuroscientist* 8 (1), 12-15, 2002
 - 6) Michael Lazarus, Bruno Kilunga Kubata, Naomi Eguchi, Yasushi Fujitani, Yoshihiro Urade, and Osamu Hayaishi. Biochemical Characterization of Mouse Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 and Its Colocalization with Cyclooxygenase-2 in Peritoneal Macrophages. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 397 (2), 336-341, 2002
 - 7) Hayaishi, O. Unraveling the enigma of sleep -molecular mechanisms of sleep-wake regulation-Oxygen and Life-Oxygenases, Oxidases and Lipid Mediators- (Ishimura,ss Y. ed.) Elsevier, Amsterdam, in press.
2. 学会発表・講演
- 1) 早石 修、睡眠の謎-眠りを調節する分子機構-、東京大学分子細胞生物学研究所セミナー、東京大学分子細胞生物学研究所（東京）2001年6月18日
 - 2) 早石 修、睡眠研究といのちの不思議なメカニズム、産経新聞社主催 生命ビッグバンフォーラム-いのちの未来、MID シアター（大阪）2001年11月6日
 - 3) 早石 修、睡眠学事始め、シンポジウム2001大阪「明日をめざす科学技術」科学技術振興調整費の成果を中心として、千里ライフサイエンスセンター（大阪）2002年2月14日

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

睡眠調節の分子機構と臨床応用に関する研究

分担研究者 裏出 良博（財）大阪バイオサイエンス研究所 第2研究部 研究部長

研究要旨

小動物用の無線方式自動薬液注入ポンプを開発して、睡眠覚醒調節医薬品候補化合物のスクリーニング系を整備した。PGD合成酵素と阻害剤との複合体の結晶化に成功して、酵素反応部位の立体構造の解析に必要なX線回折データを収集し、睡眠覚醒調節薬として期待されるPGD合成酵素阻害剤の開発に道を開いた。

A. 研究目的

生化学的および分子生物学的手法を用いて、内在性睡眠物質であるPGD₂の合成酵素の立体構造解析を進め、PGD₂の生産を調整して睡眠覚醒を調整する医薬品の開発方法を確立する。

B. 研究方法

- 1) 小動物（ラットおよびマウス）用の無線方式自動薬液注入ポンプを開発する。
- 2) PGD合成酵素の結晶化条件を改良し、阻害剤との複合体の結晶化を試みる。
- 3) 得られた結晶について、大型放射光施設（SPring-8）を利用したX線結晶回折データの収集を行い、三次元構造を決定する。

C. 研究結果

- 1) 小動物（ラットおよびマウス）用の無線方式自動薬液注入ポンプを開発した。
- 2) PGD合成酵素と阻害剤との複合体の結晶化に成功し、大型放射光施設を利用して2.5オングストローム分解能のX線結晶回折データを収集した。

D. 考察

無線方式自動薬液注入ポンプの開発により、非拘束条件下における遺伝子変異マウスへの薬物投与と睡眠覚醒の同時測定が可能となった。この成果によ

り、睡眠覚醒調節医薬品候補化合物のスクリーニング系がより一層整備された。

PGD合成酵素と阻害剤との複合体のX線結晶構造解析は、睡眠覚醒調節薬として期待されるPGD合成酵素阻害剤の理論的開発に道を開く。

E. 結論

無線方式自動薬液注入ポンプの開発による非拘束マウスへの薬物投与と睡眠覚醒の同時測定系の確立により、睡眠覚醒調節医薬品候補化合物のスクリーニング系がより一層整備された。さらに、PGD合成酵素と阻害剤との複合体のX線結晶構造解析により、本酵素阻害剤の理論的設計が可能となった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Ueno, N., Murakami, M., Tanioka, T., Fujimori, K., Tanabe, T., Urade, Y., and Kudo, I. Coupling between cyclooxygenase, terminal prostanoid synthase, and phospholipase A2. *J. Biol. Chem.* 276, 34918-34927, 2001
 - 2) Fujitani, Y., Kanaoka, Y., Aritake, K., Uodome, N., Okazaki-Hatake, K., and Urade, Y. Pronounced eosinophilic lung inflammation

and Th2 cytokine release in human lipocalin-type prostaglandin D synthase transgenic mice. *J. Immunol.* 0022-1767, 443-44, 2002

3) Hayaishi, O. and Urade, Y. Prostaglandin D2 in Sleep-wake regulation: recent progress and perspectives. *The Neuroscientist* 8, 12-15, 2002

4) 裏出良博 「睡眠物質の新しい考え方」 治療学, 35, 15-21

5) 裏出良博 「眠りの分子生物学(1)」 ライフサイエンス出版「薬の知識」2001年9月号, 23

6) 裏出良博 「眠りの分子生物学(2)」 ライフサイエンス出版「薬の知識」2001年10月号, 17

7) 裏出良博 「睡眠・覚醒と視床下部」 中外医学社「Clinical Neuroscience 別冊」2001年19, 29-32

8) 裏出良博 「睡眠障害とその治療-睡眠覚醒機構に関する最近の研究」 「脳21」金芳堂 2002年 vol.5 49-55

2. 学会発表

1) 裏出良博 「睡眠情報の伝達経路」 第41回日本呼吸器学会総会, イブニングシンポジウム, 2001年4月5日, 東京

2) 裏出良博 「睡眠の脳科学-眠る人,眠らない脳」 世界脳週間 2001(脳科学の今そして明日:21世紀を切り拓く挑戦者たちへ) 千里ライフサイエンスセンター, 2001年4月8日, 大阪

3) 裏出良博 「プロスタグランジン D 合成酵素の構造と機能」 大鵬薬品工業(株) 2001年4月13日, 埼玉

4) Urade, Y. and Hayaishi, O., The role of adenosine A2A receptor in sleep regulation by prostaglandin D2., A Joint Meeting of the American Academy of Sleep Medicine and the Sleep Research Society, Chicago, Jun. 5-10, 2001

5) 裏出良博 「プロスタグランジン D2と睡眠」 福島県立医科大学, 福島, 2001年9月6日

6) Urade, Y. and Hayaishi, O. Structure and

function of two distinct types of prostaglandin D synthase., Seventh International Congress Platelet-Activating Factor and Lipid Mediators (PLM 2001) Tokyo, Sep. 24-27, 2001

7) 裏出良博 「眠りの分子生物学」 オリエンタル酵母工業株式会社, 静岡 2001年10月20日

8) 裏出良博 「酵素蛋白質の結晶構造座標を利用した酵素阻害剤の分子設計ならびに遺伝子操作マウスを用いた酵素阻害薬開発」 第2回バイオビジネスコンペ JAPA, 大阪, 2001年12月12日

9) 裏出良博, 「睡眠の液性調節機構」 北海道大学脳科学シンポジウム, 札幌, 2001年2月22日

10) Urade, Y., Eguchi, N., Mizoguchi, A., Qu, W.-M., Huang, Z.-L., Mochizuki, T., Lazarus, M., Kaneko, T., Narumiya, S., and Hayaishi, O. "Dominant localization of DP receptors on arachnoid trabecular cells in mouse basal forebrain and their involvement in the regulation of non-rapid eye movement sleep." 7th International Conference of Eicosanoids and Other Bioactive lipids in Cancer, Inflammation and Related Diseases. Nashville, Oct. 14-17, 2001

11) Urade, Y. and Hayaishi, O. "Sleep behaviors of gene-knockout mice for prostaglandin D2 synthase and receptor." World Federation of Sleep Research Societies (WFSRS) 3rd International Congress 「2001 Sleep Odyssey」 Uruguay, Oct. 21-26, 2001

12) Fujimori, K., Fujitani, Y., Kumanogoh, H., and Urade, Y. "Rat lipocalin-type prostaglandin D synthase gene expression is regulated by notch-HES signaling in leptomeningeal cells." 31st Annual Meeting Society for Neuroscience, San Diego, Nov. 10-15, 2001

13) Mochizuki, T., Kuwahata, Y., Huang, Z.-L., Watanabe, T., and Urade, Y. "Impaired shift of vigilance state from NREM sleep to awake in

- histamine H1 receptor knockout mice." 31st Annual Meeting Society for Neuroscience, San Diego, Nov. 10-15, 2001
- 14) Okada, T., Mochizuki, T., Huang, Z.-L., Sugita, Y., Urade, Y., and Hayaishi, O. "Role of leptomeningeal adenosine deaminase in sleep-wake regulation." 31st Annual Meeting Society for Neuroscience, San Diego, Nov. 10-15, 2001
- 15) 桑幡裕子, 望月貴年, 黄 志力, 渡邊 武, 裏出良博, 早石 修「ヒスタミン H1 受容体遺伝子ノックアウトマウスの睡眠覚醒異常」日本睡眠学会第 26 回学術集会, 東京, 2001 年 6 月 28 日
- 16) 岡田哲也, 望月貴年, 黄 志力, 杉田義郎, 裏出良博, 早石 修「ラット脳膜におけるアデノシンアミナーゼの特異的発現と睡眠調節における役割」日本睡眠学会第 26 回学術集会, 東京, 2001 年 6 月 28 日
- 17) 裏出良博「プロスタグランジンによる睡眠覚醒調節の遺伝学的解析」第 24 回日本神経科学・第 44 回日本神経化学合同大会(Neuro2001), 京都, 9 月 26-27 日
- 18) 桑幡裕子, 望月貴年, 黄 志力, 渡邊 武, 裏出良博, 早石 修「ヒスタミン H1 受容体ノックアウトマウスの睡眠覚醒異常」第 24 回日本神経科学・第 44 回日本神経化学合同大会(Neuro2001), 京都, 2001 年 9 月 26-27 日
- 19) 魚留信子, 井上 豪, 入倉大祐, 裏出良博「造血器型プロスタグランジン D 合成酵素の活性における Mg²⁺ 及び Ca²⁺ の効果(Effect of Mg²⁺ and Ca²⁺ on hematopoietic prostaglandin D synthase)」第 74 回日本生化学大会, 京都, 2001 年 10 月 25-28 日
- 20) 有竹浩介, 魚留信子, 江口直美, 裏出良博「造血器型プロスタグランジン D 合成酵素阻害薬(HQL-79)の解析」第 74 回日本生化学大会, 京都, 2001 年 10 月 25-28 日
- 21) 岡田哲也, 望月貴年, 黄 志力, 杉田義郎, 裏出良博, 早石 修「ラットくも膜におけるアデノシンデアミナーゼの特異的発現と睡眠調節への関与(Restricted localization of adenosine deaminase in rat leptomeninges and its role in sleep-wake regulation)」第 74 回日本生化学大会, 京都, 2001 年 10 月 25-28 日
- 22) 藤森 功, 乾 隆, 熊ノ郷晴子, 裏出良博「リポカリン型プロスタグランジン D 合成酵素の構造と機能の進化」第 24 回日本分子生物学年会, 横浜, 2001 年 12 月 9-12 日
- 23) 裏出良博「眠りの科学 - 遺伝子から動物行動の解析まで -」第 85 回高校生のためのサイエンス講演会, 兵庫県立西高等学校, 姫路 2002 年 3 月 13 日

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

睡眠調節の分子機構と臨床応用に関する研究

分担研究者 江口 直美（財）大阪バイオサイエンス研究所 第2研究部 副部長

研究要旨

PGD₂の脳室内投与により、野生型マウスでは徐波睡眠の選択的な増加が起きるが、PGD₂受容体遺伝子欠損マウスでは睡眠誘発が起きないことを見出した。PGD合成酵素遺伝子欠損マウス、PGD₂受容体遺伝子欠損マウスおよびアデノシンA_{2A}受容体遺伝子欠損マウスは断眠による睡眠要求の蓄積が起り難いことを見出した。従って、PGD₂は前脳基底部のクモ膜に分布するPGD₂受容体を介して徐波睡眠を誘発し、PGD₂とアデノシンは長期間の覚醒により不足した睡眠を補う場合に特に重要であると考えられる。

A. 研究目的

PGD合成酵素遺伝子欠損マウス、PGD₂受容体遺伝子欠損マウスおよびアデノシンA_{2A}受容体遺伝子欠損マウスを用いて、内在性睡眠調節物質であるPGD₂およびアデノシンの睡眠誘発機構に関する基礎知識を深め、合理的な睡眠異常や睡眠覚醒障害の治療法の開発を目指す。

B. 研究方法

1) 無麻酔下のマウス脳室への薬物投与と睡眠覚醒の同時測定法を開発し、PGD合成酵素遺伝子欠損マウス、PGD₂受容体遺伝子欠損マウスおよびアデノシンA_{2A}受容体遺伝子欠損マウスに応用する。

2) 動物睡眠自動判定ソフトを改良し、睡眠判定データの編集速度を向上させる。

C. 研究結果

1) マウス脳室へのPGD₂投与により、徐波睡眠の選択的な増加が起きるが、PGD₂受容体遺伝子欠損マウスでは、PGD₂の脳室内投与による睡眠誘発が起きないことを見出した。

2) PGD合成酵素遺伝子欠損マウス、PGD₂受容体遺伝子欠損マウスおよびアデノシンA_{2A}受容体遺伝子欠損マウスは断眠による睡眠要求の蓄積が起

り難いことを発見した。

3) 動物睡眠自動判定ソフトに睡眠判定アルゴリズムの自己学習機構を組み込んだ。

D. 考察

研究結果(1)により、PGD₂による睡眠誘発情報は、前脳基底部クモ膜細胞のPGD₂受容体を介して、脳内に伝達されることが考えられる。研究結果(2)により、PGD₂およびアデノシンは、長期間の覚醒により不足した睡眠を補う場合に特に重要であると考えられる。研究結果(3)により、マウスの睡眠判定データの編集速度を大幅に向上させることができる。

E. 結論

PGD₂は、前脳基底部のクモ膜に分布するPGD₂受容体を介して徐波睡眠を誘発する。PGD₂およびアデノシンは、長期間の覚醒により不足した睡眠を補う場合に特に重要である。マウスの睡眠解析ソフトの改良により、睡眠覚醒調節医薬品の有効性測定が迅速に行える。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mizoguchi, A., Eguchi, N., Kimura, K., Kiyohara, Y., Qu, W.-M., Huang, Z.-L., Mochizuki, T., Lazarus, M., Kobayashi, T., Kaneko, T., Narumiya, S., Urade, Y., and Hayaishi, O. Dominant localization of prostaglandin D receptors on arachnoid trabecular cells in mouse basal forebrain and their involvement in the regulation of non-rapid eye movement sleep. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 98, 11674-11679, 2001
- 2) Hiraoaka, A., Seiki, K., Oda, H., Eguchi, N., Urade, Y., Tominaga, I., Baba, K. Charge microheterogeneity of the β -trace proteins (lipocalin-type prostaglandin D synthase) in the cerebrospinal fluid of patients with neurological disorders analyzed by capillary isoelectrofocusing. *Electrophoresis* 22, 3433-3437, 2001

2. 学会発表

- 1) 江口直美(2002), プロスタグランジンと睡眠障害, シンポジウム「脳機能をとらえなおす」早稲田大学, 東京, 2002年3月2日
- 2) Eguchi, N., Kuwahata, Y., Mochizuki, T., Urade, Y., and Hayaishi, O. "Prostaglandin D synthase gene is involved in the regulation of non-REM sleep." 31st Annual Meeting Society for Neuroscience, San Diego, Nov. 10-15, 2001
- 3) Mohri, I., Taniike, M., Eguchi, N., Okada, S., Urade, Y., Suzuki, K. "Upregulation of lipocalin-type prostaglandin D synthase in perineuronal oligodendroglia prevents neuronal apoptosis in the demyelinating mutant." 31st Annual Meeting Society for Neuroscience, San Diego, Nov. 10-15, 2001
- 4) 馬淵圭生, 江口直美, 裏出良博, 武藤 誠, 伊藤

誠二「神経因性疼痛におけるプロスタグランジン(PG)の関与」第74回日本生化学大会, 京都, 2001年10月25-28日

- 5) 江口直美, 溝口 明, 曲 衛敏, 桑幡裕子, 有竹浩介, 成宮 周, 裏出良博, 早石 修「プロスタグランジンD受容体の脳内細胞局在および受容体欠損マウスの睡眠解析」第24回日本神経科学・第44回日本神経化学合同大会(Neuro2001), 京都, 2001年9月26-27日
- 6) 江口直美, 桑幡裕子, 成宮 周, 裏出良博, 早石 修「プロスタグランジン D2 合成酵素および受容体遺伝子ノックアウトマウスにおける断眠後の徐波睡眠リバウンドの低下」日本睡眠学会第26回学術集会, 東京, 2001年6月28日
- 7) 江口直美, 桑幡裕子, 曲 衛敏, 黄 志力, 裏出良博, 成宮 周, 早石 修「DP 受容体遺伝子ノックアウトマウスの睡眠解析」日本睡眠学会第26回学術集会, 東京, 2001年6月28日

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

睡眠調節の分子機構と臨床応用に関する研究

分担研究者 曲 衛敏（財）大阪バイオサイエンス研究所 第2研究部 特別研究員

研究要旨

マウス側脳室へのアデノシンA_{2A}受容体作動薬の投与は容量依存的な睡眠の増加をもたらすが、アデノシンA₁受容体作動薬の投与は睡眠時間に影響を与えなかった。従って、アデノシンA_{2A}受容体を介して睡眠を誘発すると考えられる。

A. 研究目的

内在性睡眠調節物質であるPGD₂とアデノシンの作用機構に関する知識を深め、合理的な睡眠異常や睡眠覚醒障害の治療法の開発を目指す。

B. 研究方法

マウス側脳室に薬液注入用微量脳内チューブの埋め込み手術を行い、アデノシンA_{2A}受容体作動薬(CGS21680)あるいはアデノシンA₁受容体作動薬(CPA)を投与して、睡眠覚醒を測定する。

C. 研究結果

マウス側脳室へのアデノシンA_{2A}受容体作動薬の投与は容量依存的な睡眠の増加をもたらすが、アデノシンA₁受容体作動薬の投与は睡眠時間に影響を与えなかった。

D. 考察

PGD₂は、前脳基底部のクモ膜に分布するPGD₂受容体を介して局所のアデノシンの細胞外濃度の上昇させ、アデノシンA_{2A}受容体を介して徐波睡眠を誘発すると考えられる。

E. 結論

アデノシンはA_{2A}受容体を介して睡眠を誘発する。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 学会発表

1) Qu, W.-M., Huang, Z.-L., Mochizuki, T., Kuwahata, Y., Eguchi, N., Narumiya, S., Urade, Y., and Hayaishi, O. Sleep regulation by PGD₂ in wild-type and DP receptor knockout mice. 日本睡眠学会第26回学術集会, 東京, 2001年6月28日

2) Qu, W.-M., Huang, Z.-L., Mochizuki, T., Kuwahata, Y., Eguchi, N., Narumiya, S., Chen, J.-F., Urade, Y., Hayaishi, O. "The somnogenic effect of PGD₂ in gene-manipulated mice." 第24回日本神経科学・第44回日本神経化学合同大会(Neuro2001), 京都, 2001年9月26-27日

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

睡眠調節の分子機構と臨床応用に関する研究

分担研究者 黄 志力（財）大阪バイオサイエンス研究所 第2研究部 受託研究員

研究要旨

覚醒調節物質であるオレキシンは、結節乳頭核のヒスタミン神経系を活性化することにより、覚醒作用を示す可能性が示された。そして、オレキシンの覚醒作用にはヒスタミンH1受容体が必要であることが示された。これらの結果は、合理的な睡眠異常や睡眠覚醒障害の治療法の開発に有効である。

A. 研究目的

覚醒の内在性調節物質であるPGE₂、オレキシン、および、ヒスタミンの作用機構に関する知識を深め、合理的な睡眠異常や睡眠覚醒障害の治療法の開発を目指す。

B. 研究方法

野性型およびヒスタミン受容体遺伝子欠損マウスの側脳室に薬液注入用のチューブを埋め込み、オレキシンを投与して、動物の睡眠覚醒を測定する。

C. 研究結果

ナルコレプシーの原因物質であるオレキシンの投与は、野性型マウスには強力な覚醒誘発を引き起こしたが、ヒスタミンH1受容体遺伝子欠損マウスの睡眠覚醒に変化を与えなかった。

D. 考察

ヒスタミン神経系を活性オレキシンは、内因性覚醒物質であり、その覚醒誘発にはヒスタミンH1受容体が必要である。

E. 結論

オレキシンは、ヒスタミンH1受容体を活性化して覚醒を誘発する。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Huang, Z.-L., Qu, W.-M., Li, W.-D., Mochizuki, T., Eguchi, N., Watanabe, T., Urade, Y., and Hayaishi, O. Arousal effect of orexin A depends

on activation of the histaminergic system. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98, 9965-9970, 2001

2. 学会発表

- 1) Huang, Z.-L., Qu, W.-M., Li, W.-D., Mochizuki, T., Eguchi, N., Watanabe, T., Urade, Y., Hayaishi, O. "Arousal effect of orexin A depends on the activation of histaminergic neurotransmission via H1 receptors." World Federation of Sleep Research Societies (WFSRS) 3rd International Congress 「2001 Sleep Odyssey」 Uruguay, Oct. 21-26, 2001
- 2) Huang, Z.-L., Qu, W.-M., Li, W.-D., Mochizuki, T., Eguchi, N., Watanabe, T., Urade, Y., and Hayaishi, O. "Arousal effect of orexin a depends on activation of the histaminergic system." 31st Annual Meeting Society for Neuroscience, San Diego, Nov. 10-15, 2001
- 3) Huang, Z.-L., Qu, W.-M., Li, W.-D., Mochizuki, T., Watanabe, T., Urade Y. and Hayaishi, O. "Arousal effect of orexin a depends of orexin a depends on the activation of histaminergic system in rodents." 日本睡眠学会第26回学術集会, 東京, 2001年6月28日
- 4) Huang, Z.-L., Qu, W.-M., Li, W.-D., Mochizuki, T., Eguchi, N., Watanabe, T., Urade, Y., and Hayaishi, O. "Orexin A acivates histaminergic systems to induce wakefulness via histamine H1receptors." 第24回日本神経科学・第44回日本神経化学合同大会 (Neuro2001), 京都, 2001年9月26-27日

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

睡眠調節の分子機構と臨床応用に関する研究

分担研究者 Michael Lazarus（財）大阪バイオサイエンス研究所 第2研究部 受託研究員

研究要旨

内因性覚醒物質であるPGE₂の生合成に関する理解を進めるため、大腸菌を用いて発現させた小胞体膜結合型PGE合成酵素の遺伝子組換え型酵素を抗原として特異性の高い抗体を作製した。そして、腹腔マクロファージの細菌内毒素(LPS)処理により、本酵素が2型シクロオキシゲナーゼと共に、小胞体膜に誘導されることを示した。

- A. 研究目的
生化学的および分子生物学的手法を用いて、内在性覚醒物質であるPGE₂の生合成に関する基礎知識を深め、合理的な睡眠異常や睡眠覚醒障害の治療法の開発を目指す。
- B. 研究方法
小胞体膜結合型PGE合成酵素の遺伝子組換え型酵素を用いて特異的な抗体を作製して、本酵素の分布と細胞内局在性を調べる。
- C. 研究結果
大腸菌を用いた小胞体膜結合型PGE合成酵素の遺伝子組換え型酵素の発現と精製に成功した。さらに、精製蛋白質を抗原として特異性の高い抗体を作製した。そして、腹腔マクロファージの細菌内毒素(LPS)処理により、本酵素が2型シクロオキシゲナーゼと共に、小胞体膜に誘導されることを示した。
- D. 考察
小胞体膜結合型PGE合成酵素は、LPS刺激などの炎症時に大量に放出されるPGE₂の生合成に関与すると考えられる。
- E. 結論
PGE₂の生産を調整することにより睡眠覚醒を調整するPGE合成酵素の脳内分布の同定に必要な特異性の高い抗体が得られた。
- F. 健康危険情報
特になし
- G. 研究発表
- 論文発表
- Lazarus, M., Kubata, B.K., Eguchi, N., Fujitani, Y., Urade, Y., and Hayaishi, O. Biochemical characterization of mouse microsomal prostaglandin E synthase-1 and its colocalization with cyclooxygenase-2 in peritoneal macrophages. Arch. Biochem. Biophys. 397, 336-341, 2002
 - 学会発表
- Lazarus, M., Kubata, B.K., Eguchi, N., Killian, G.J., Hayaishi, O., and Urade, Y. Biochemical characterization of microsomal prostaglandin E synthase-1 and its colocalization with cyclooxygenase-1 and -2 in male reproductive organs. FIEP Program, 東レ, 神奈川, 2001年11月5日
 - Lazarus, M., Kubata, B.K., Eguchi, N., Fujitani, Y., Killian, G.J., Hayaishi, O., and Urade, Y. "Biochemical analysis and localization of microsomal prostaglandin E synthase-1 in mouse and monkey reproductive organs and in mouse peritoneal macrophages." 第74回日本生化学大会, 京都, 2001年10月25-28日
 - Lazarus, M., Kubata, B.K., Eguchi, N., Killian, G.J., Hayaishi, O. and Urade, Y. "Biochemical characterization of microsomal prostaglandin E synthase-1 and its colocalization with cyclooxygenase-1 and -2 in mouse male reproductive organs." 7th International Conference of Eicosanoids and Other Bioactive lipids in Cancer, Inflammation and Related Diseases. Nashville, Oct. 14-17, 2001
 - Lazarus, M., Kubata, B.K., Eguchi, N., Fujitani, Y., Killian, G.J., Hayaishi, O., and Urade, Y. (2001) "Biochemical analysis and localization of microsomal prostaglandin E synthase-1 in mouse and monkey reproductive organs and in mouse peritoneal macrophages." Seventh International Congress on Platelet-Activating Factor and Lipid Mediators. Sep. 24-27, 2001

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Huang,Z-L, Qu,W-M, Li,W-D, Mochizuki,T., Eguchi,N., Watanabe, T., Urade,Y., Hayaishi, O.	Arousal effect of orexin A depends on activation of the histaminergic system.,	Proc.Natl.Aca d. Sci. USA,	98 (17)	9965-99 70	2001
Mizoguchi,A., Eguchi,N., Kimura,K., Kiyohara,Y., Qu,W-M, Huang,Z-L, Mochizuki,T., Lazarus,M., Kobayashi,T., Kaneko,T., Narumiya,S., Urade,Y., Hayaishi, O.	Dominant localization of prostaglandin D receptors on arachnoid trabecular cells in mouse basal forebrain and their involvement in the regulation of non-rapid eye movement sleep.	Proc.Natl.Aca d. Sci. USA	98 (20)	11674-11 679	2001
Scammell,T.E., Gerashchenko, D.Y., Mochizuki,T., McCarthy,M.T., Estabrooke,I.V. Sears,C.A., Saper,C.B., Urade,Y., Hayaishi, O.	An adenosine A2a agonist increases sleep and induces Fos in ventrolateral preoptic neurons.	Neuroscience	107	653-663	2001
Hayaishi, O.	Molecular Genetic Studies on Sleep-wake Regulation -With special emphasis on the prostaglandin D ₂ system-	J.Appl.Physiol	92 (2)	863-868	2002
Hayaishi, O. Urade, Y.	Prostaglandin D ₂ in sleep-wake regulation -Recent progress and perspectives-	The Neuroscientist	8 (1)	12-15	2002
Lazarus,M. B.K.Kubata, Eguchi,N. Fujitani,Y. Urade,Y. Hayaishi. O.	Biochemical Characterization of Mouse Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 and Its Colocalization with Cyclooxygenase-2 in Peritoneal Macrophages.	Archives of Biochemistry and Biophysics	397 (2)	336-341	2002

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ueno,N., Murakami,M., Tanioka,T., Fujimori,K., Tanabe,T., Urade,Y., Kudo, I.	Coupling between cyclooxygenase, terminal prostanoid synthase, and phospholipase A2.	J. Biol. Chem.	276	34918-34927	2001
Fujitani,Y., Kanaoka,Y., Aritake,K., Uodome,N., Okazaki-Hatake, K., Urade, Y.	Pronounced eosinophilic lung inflammation and Th2 cytokine release in human liocalin-type prostaglandin D synthase transgenic mice.	J. Immunol.	168	443-449	2002
裏出良博	「睡眠物質の新しい考え方」	治療学,	35	15-21	2001
裏出良博	「眠りの分子生物学(1)」	「薬の知識」 ライフサイエンス 出版	9月号	23	2001
裏出良博	「眠りの分子生物学(2)」	「薬の知識」 ライフサイエンス 出版	10月号	17	2001
裏出良博	「睡眠・覚醒と視床下部」,	「Clinical Neuroscienc 別冊」 中外医学社	19	29-32	2001
裏出良博	「睡眠障害とその治療-睡眠覚醒機構に関する最近の研究」	「脳 21」金芳堂	vol.5	49-55	2002

20010639

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。