

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K18987

研究課題名(和文) グリシン受容体欠損によるレム睡眠行動異常症にかかわる神経回路の解明

研究課題名(英文) Mechanism of REM sleep behavior disorder in glycine receptor-deficient mice

研究代表者

本堂 茉莉 (Hondo, Mari)

筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・研究員

研究者番号：70639195

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：レム睡眠時に、夢の内容に一致した行動が出現するRBDと呼ばれる睡眠障害がある。RBDは神経変性疾患の初期症状であることが近年明らかとなっている。しかし、RBDの正確な発症部位は疎か、レム睡眠時における筋弛緩の神経メカニズムも未だに明らかになっていない。我々はまず何処のグリシン伝達の破綻がRBDに関わるかを網羅的に調べるため、条件付きグリシン受容体欠損マウスを作製した。その結果、コリン作動性ニューロン特異的グリシン受容体欠損マウスがRBD様症状を示した。このマウスを詳細に調べることによってRBDの表現型にはグリシン単独の作用で十分に発現できることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

RBDは、神経変性疾患の初期症状であると考えられており、この初期症状を制御することで病気の進展を予防できるのではないかといった考えから、その全容解明が非常に期待されている。本研究では新規にターゲットを絞った遺伝子改変マウスを作成し、RBDの発症にはグリシン単独の作用で十分であることを初めて示した。RBDの発現メカニズムが明らかになれば、RBDから進展する神経変性疾患のより効果的な治療・予防法を提案することが可能となり、現代社会が問題とする健康寿命延伸に対する社会的貢献度は極めて大きいといえることから、今後さらにその詳細を明らかにしていきたい。

研究成果の概要(英文)：REM sleep behavior disorder (RBD) is a REM sleep parasomnia characterized by a loss of REM atonia and accompanied by high probability for developing α -synuclein disorders. To study the neuronal mechanism of RBD and find new drug targets, a good genetic model of RBD would be useful. In this study, we evaluated a novel RBD model, which is developed by a specific deletion of glycinergic transmission on cholinergic neurons. Mice with selective deletion of glycine receptors in cholinergic neurons displayed excessive body and limb movements during REM sleep, including jerking, kicking, punching, and chewing, behaviors that resemble human RBD.

研究分野：睡眠科学

キーワード：レム睡眠行動障害 グリシン 前運動ニューロン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

哺乳動物の睡眠は、ノンレム睡眠とレム睡眠に分けられる。レム睡眠時の大脳皮質は覚醒に近い状態で活動しており、夢を見ていることが知られている。このレム睡眠時に、夢の内容に一致した行動が出現するレム睡眠行動異常症 (REM sleep behavior disorder, RBD) と呼ばれる睡眠障害がある。通常、レム睡眠時は骨格筋の筋緊張がほぼ消失し身体が動かないようになっているが、RBD 患者においてはレム睡眠中に大声で叫んだり、何かを殴るような素振りをしたりと、夢に影響された行動を示す。さらに興味深いことに、RBD と診断後の 10 年で 7 割の患者がパーキンソン病様症状をきたし、レビー小体型認知症患者の 9 割以上は過去に RBD と診断されている。このように、RBD は神経変性疾患の初期症状であることが近年明らかとなってきた。しかし、RBD の正確な発症部位は疎か、レム睡眠時における筋弛緩 (レム脱力) の神経メカニズムも未だに明らかになっていない。

2. 研究の目的

グリシンは脳・脊髄の主要な抑制性神経伝達物質であり、覚醒中枢を抑制し睡眠の誘導にも関わることを明らかにした (Hondo et al., 2011)。また、グリシン受容体の特異的アンタゴニストであるストリキニーネを脊髄の運動ニューロン近傍に投与すると RBD 様症状が観察される。しかし、何処のグリシンニューロンの何処へのシナプス伝達がレム睡眠時の筋弛緩に関わるか、そもそもグリシンニューロンはどのようなパターンで覚醒・睡眠時に活動するのかといった点は明らかでない。また近年、RBD の発症にはグリシンおよび GABA の作用が必須であるとの知見もあり、RBD あるいはレム脱力におけるこれら抑制性ニューロンの役割も不明である。RBD の発症メカニズムの解明は、神経変性疾患の早期発見法の開発とその進展の予防につながると期待されており、レム睡眠時の筋弛緩とグリシン作動性回路の機能的関係を解き明かし、その機能不全による RBD の病態の理解を目的とした。

3. 研究の方法

我々はまず何処のグリシン伝達の破綻が RBD に関わるかを網羅的に調べるため、*Glycine receptor alpha 1 subunit (Glr1)-flox* マウスを各種 Cre ドライバーマウスと交配し、条件付きグリシン受容体欠損マウスを作製した。セロトニン、ノルアドレナリン、ドーパミン、ヒスタミン、オレキシンニューロン特異的グリシン受容体欠損マウスでは RBD は見られなかった。唯一コリン作動性ニューロン特異的グリシン受容体欠損マウスが RBD 様症状を示した (図 1)。なお、本研究のように RBD の遺伝子改変モデル動物を報告した例はこれまでに無い。本研究は我々が作成した新規の RBD モデルマウスをもとに、RBD 発症にかかわる神経ネットワークに焦点を当てた。

4. 研究成果

上記の実験により、コリン作動性ニューロン特異的にグリシン受容体サブユニットを欠損させたマウス (*Glr1-flox;ChAT-Cre*) では RBD を示すことが分かった。抗重力筋活動量は睡眠時に低下し、レム睡眠時はノンレム睡眠時よりさらに低下することが知られている。そこで、*ChAT-Cre;Glr1-flox* (RBD) マウスおよび野生型 (正常) マウスのノンレム睡眠時の筋活動量をもとにレム睡眠時における筋活動量の変化率を示した。正常マウスではレム睡眠時における筋活動量はノンレム睡眠時よりも低い値を示したが、RBD マウスでは非常に高い筋活動が見られた。さらにレム睡眠時における四肢 (上肢・下肢) およびオトガイ筋活動の過度の亢進、あるいは過度の相動的な筋活動や、飛び跳ねるなどといった行動も観察された。これらも RBD の特徴と一致する。

次に、電気生理学的手法を用いて遺伝子改変マウスのコリン作動性ニューロンがグリシンに応答しないことを確認した。

CNQX、APV、SR99531、および TTX の存在下でグリシンを投与したところ遺伝子改変マウスでは、グリシン電流のピーク振幅は対照マウスの半分未満であった。またこれまでの知見から、RBD のような表現型の発現にはグリシンと GABA の両方の作用が必要であるとされていることから、GABA を介した応答が遺伝子改変マウスで変化しているかどうかを調べた。CNQX、APV、ストリキニーネ、および TTX の存在下で、GABA を投与したところ、ChGlyR-KO マウスとコントロールマウスとの GABA_A 受容体媒介電流に有意差は見られ

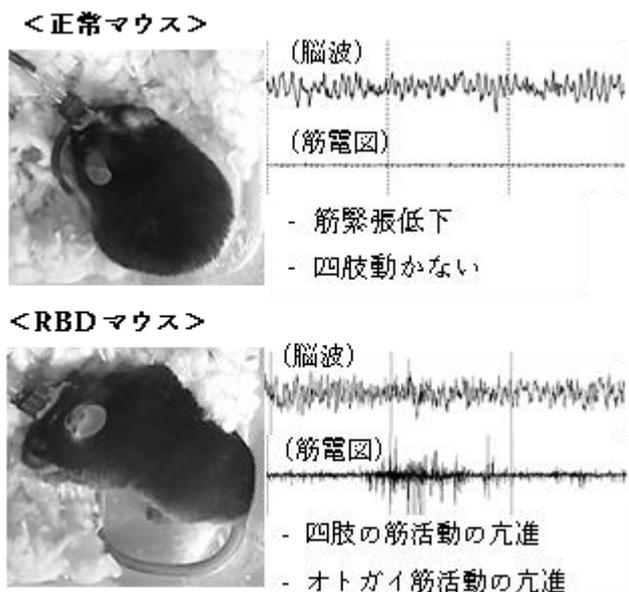


図 1 新規 RBD モデルマウスのレム睡眠時における典型的な脳波・筋電図の波形パターン

なかった。これらの結果から、本研究によって RBD の表現型にはグリシン単独の作用で十分に発現できることが明らかとなった。

現在、ヒトの RBD の治療薬として GABA アゴニストであるクロナゼパムが第一指示薬として用いられているが、記憶の形成に重要な役割を担っているとされるレム睡眠が減少するなどの副作用が問題視されており、より副作用が少なく、また異なるターゲットの治療薬の発見が求められている。そこで、モデルマウスにクロナゼパムを投与したところ、ヒトの RBD 患者と同様に RBD の症状が有意に改善されたことから、このモデルマウスを用いて新規の RBD 治療薬の探索を行った。薬剤 A を RBD マウスに投与したところ、レム睡眠中の過剰な筋活動が有意に抑制された (図 2)。さらに、ヒトの RBD 患者で同様に検討を行ったところ、プラセボ群と比較して薬剤 A 投与群では有意にレム睡眠時の過剰な筋活動が抑制された。薬剤 A は睡眠関連因子を抑制する作用があることから、グリシンニューロンとは異なる神経回路を介してレム睡眠時における筋弛緩作用を誘導していることが示唆された (Hondo et al. 投稿中; 図 2)。

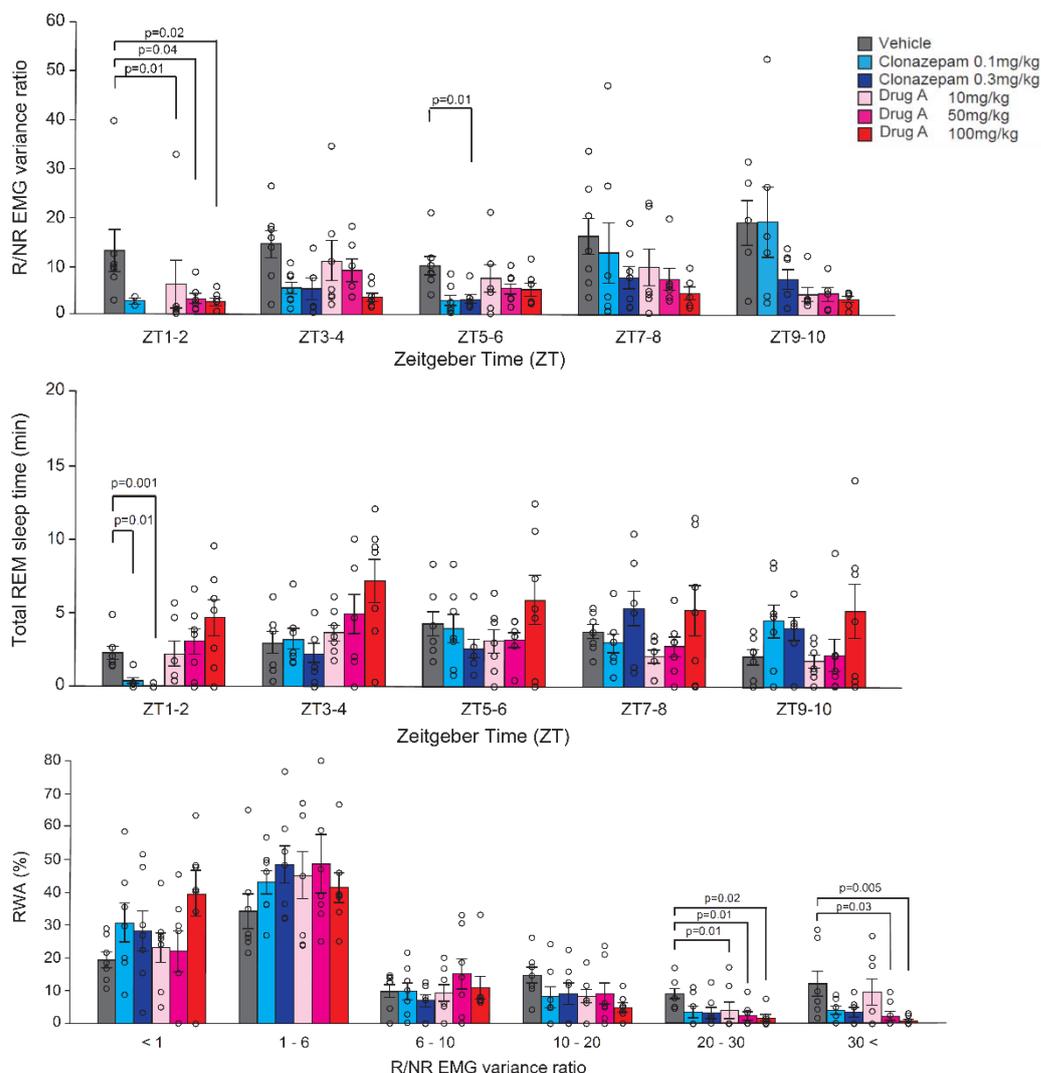


図 2 RBD モデルマウスにおいて、クロナゼパムおよび薬剤 A は RBD 症状を改善させる

先行研究では、ネコやラットを用いた局所的な破壊実験や薬理実験によりレム睡眠時筋弛緩作用のメカニズムが提唱されている。しかし、驚くべきことに、遺伝子改変マウスを用いてターゲットを絞った研究は行われていないため、RBD におけるグリシンおよび GABA ニューロンの役割はよく理解されていなかった。本研究では新規にターゲットを絞った遺伝子改変マウスを作成し、RBD の発症にはグリシン単独の作用で十分であることを初めて示した。今後は、本研究結果を通じて、レム睡眠時筋弛緩作用を制御するグリシン前運動ニューロンの所在を明らかにし、RBD の全容解明を目指す。RBD の発現メカニズムが明らかになれば、RBD から進展する神経変性疾患のより効果的な治療・予防法を提案することが可能となり、現代社会が問題とする健康寿命延伸に対する社会的貢献度は極めて大きいといえる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 本堂茉莉、上田壮志	4. 巻 18(4)
2. 論文標題 特集・睡眠医科学 レム睡眠行動障害(RBD)のしくみ	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 分子精神医学	6. 最初と最後の頁 34 - 41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 本堂茉莉、上田壮志	4. 巻 263(9)
2. 論文標題 「睡眠・覚醒制御機構研究の新展開：レム睡眠行動障害（RBD）のメカニズム」	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 811-818
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 T Taguchi, M Ikunoi, M Hondo, KL Parajuli, K Taguchii, J Ueda, M Sawamura, S Okuda, E Nakanishi, J Hara, N Uemura, Y Hatanaka, T Ayakii, S Matsuzawa, M Tanaka, O M A El-Agnaf, M Koike, M Yanagisawa, M T Uemura, H Yamakado, R Takahashi	4. 巻 143
2. 論文標題 -Synuclein BAC transgenic mice exhibit RBD-like behaviour and hyposmia: a prodromal Parkinson ' s disease model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain	6. 最初と最後の頁 249 ~ 265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/brain/awz380	査読の有無 有
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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----