

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18H02534

研究課題名（和文）報酬系による睡眠制御メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of sleep-regulatory mechanisms by the reward system

研究代表者

大石 陽 (Oishi, Yo)

筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・助教

研究者番号：70554004

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,200,000円

研究成果の概要（和文）：我々は本研究において、睡眠時間が通常の約半分であるマウスの作出に成功した。作出方法は脳の中脳と橋にまたがる部分に位置する特定の神経群、すなわち神経伝達物質GABAを放出する神経群を欠損させることである。本研究では、この神経群の欠損が、近くにあるドーパミン神経やドーパミンD2受容体を介して睡眠が減少することを明らかにした。その一方で、この欠損マウスは躁病様の行動を示すことも見出し、さらにその行動は睡眠調節とは別のメカニズムで制御されることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、標準の睡眠量を維持するために必須の神経群を発見した。この神経群は神経伝達物質GABAを放出し、相手先の神経活性を抑制する機能を持つ。この神経群を持たないマウスは、睡眠量が激減し、長期にわたって短時間睡眠で過ごすことになる。この知見は、不明な点が多い睡眠覚醒制御機構の理解に多大な貢献をもたらすという学術的意義を持つ。また、睡眠改善薬や眠気覚ましの開発の糸口になる可能性があり、社会的意義も持ち合わせる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we successfully generated mice that sleep about half the normal amount of time. The method used to generate this condition was to delete a specific group of neurons located in the midbrain and pons regions of the brain, that release the neurotransmitter GABA. In this study, we found that the deficiency of these neurons leads to decreased sleep via nearby dopaminergic neurons and dopamine D2 receptors. On the other hand, we also found that the deficient mice exhibit manic-like behaviors, and furthermore, that these behaviors are regulated by a mechanism other than sleep regulation.

研究分野：神経科学

キーワード：睡眠 GABA 腹側被蓋野 覚醒 マウス ドーパミン 化学遺伝学

## 1. 研究開始当初の背景

現在広く受け入れられている睡眠制御モデル「2プロセスモデル」(Borbely, 1982)によると、睡眠のタイミングや強さは主に睡眠負債(睡眠の恒常性)および日内リズムによって制御される。しかし経験的に明らかなように、情動・認知的な因子も睡眠覚醒の大きな制御要因である(例:意図的な覚醒維持、単調な自動車運転や退屈な講義などから生じる眠気)。しかしこのような情動的要因による睡眠制御の脳内メカニズムは明らかでない。

研究代表者らは最近、モチベーション・報酬に関与する脳部位・腹側被蓋野(ventral tegmental area; VTA)および側坐核(nucleus accumbens; NAc)が、睡眠制御に重要であることを見出した(Oishi et al., 2017, Nat. Commun; Oishi et al., 2017, Brain Struct Funct)。概略のみ述べると、VTAのドーパミン神経が活性化すると、ドーパミン D2/D3 受容体依存的に非常に強力に覚醒が誘導される。また、側坐核の D2 受容体発現神経を抑制すると覚醒が誘導され(D2 受容体は抑制性 GPCR)、逆に活性化すると睡眠が誘発される。またモチベーションを上昇させる刺激は VTA ドーパミン神経を興奮させ、側坐核 D2 受容体神経を抑制し、そして覚醒量を増加する。すなわち、これらの神経群の活動は睡眠覚醒制御に非常に重要であり、かつモチベーションに応じて調節される。しかしながら睡眠調節に関して、腹側被蓋野がどのように制御されているか、または不明であった。

## 2. 研究の目的

本研究では腹側被蓋野-側坐核経路の上流に焦点を当て、報酬系による睡眠制御メカニズムの包括的な解明を目的とした。我々は世界に先駆けて腹側被蓋野や側坐核による睡眠制御メカニズムを発表したため、他の研究グループよりも知識・技術のノウハウが蓄積されている。従って腹側被蓋野や側坐核が関与する神経メカニズムに関して、独自の新しい知見を効率的に得る可能性が高い。

## 3. 研究の方法

睡眠アッセイシステム、化学遺伝学、細胞種特異的神経トレーシングなど様々な手法を用いて、腹側被蓋野や側坐核の関連領域の睡眠調節における機能を解析し、報酬系による睡眠制御メカニズム全容の解明を目指す。

## 4. 研究成果

まず、腹側被蓋野を調節しうる脳領域として腹側内側中脳橋(ventral medial midbrain/pons area; VMP)に注目し、その睡眠覚醒における役割を解析した。アデノ随伴ウイルスベクターおよびジフテリア毒素フラグメント A を用いて、マウス VMP の細胞を非選択的に欠損させたところ、睡眠量の顕著な減少が見出された。そこで、VMP の主な神経集団の一つであるドーパミン神経を選択的に欠損させたが、睡眠覚醒に影響は見られなかった。次に、GABA 作動性神経を選択的に欠損させたところ、非選択的の場合と同等以上に睡眠が減少した。この不眠状態は過去の報告において最も重篤なレベルであり、この GABA 神経が睡眠量の維持に極めて重要であることを示している。また、ドーパミン受容体拮抗薬をこのマウスに投与したところ、大きく睡眠量が増加したため、ドーパミン系の関与が示唆された。以上の結果により、VMP の GABA 作動性神経が非常に強力に睡眠を制御する神経であることを明らかにできた。

また、この GABA 作動性神経欠損マウスには断眠後のリバウンド睡眠が見られず、睡眠の恒常性が正常でないことが示唆された。さらに、open field test、tail suspension test、forced swim test などの行動実験により、この欠損マウスが多動性かつ抗うつ様行動を示すことが明らかになった。これらの行動は、睡眠欲求の減少が症状の一つである躁病患者に類似しており、VMP GABA 神経の欠損が躁病様行動を示すことを示唆している。

次に、この GABA 作動性神経が腹側被蓋野ドーパミン神経を抑制的に支配することから、ドーパミン D2 受容体欠損マウスを使用して睡眠解析を行った。その結果、GABA 作動性神経欠損による睡眠量の減少がドーパミン D2 受容体欠損マウスでは大きく減弱することが判明した。これらの結果は、ドーパミン D2 受容体が VMP GABA 神経による睡眠制御において重要な役割を果たすことを示している。

さらに、睡眠以外の行動変化、すなわち多動性や抗うつ様行動に関して D2 受容体の重要性を解析した。その結果、D2 受容体欠損マウスにおいても tail suspension test や forced swim test で評

価される抗うつ行動が野生型マウスと同様に確認されたため、VMP GABA 作動性神経の選択的欠損に伴う抗うつ様行動の亢進には D2 受容体が関与しないことが示唆された。さらに、睡眠減少には D2 受容体が関与することから、この欠損条件では、睡眠減少と抗うつ様行動の亢進が別のメカニズムとして説明できることが示された。

これまでに VMP GABA 作動性神経の選択的欠損に伴う睡眠減少がドーパミン D2 受容体に大きく依存することが判明していたが、どのドーパミン神経が重要であるかは明らかでなかった。そこで、同 GABA 作動性神経が腹側被蓋野ドーパミン神経を神経支配していることに着目し、同ドーパミン神経の欠損が GABA 作動性神経欠損に伴う睡眠減少に与える影響を調べた。その結果、ドーパミン神経欠損によって睡眠減少は大きく減弱し、腹側被蓋野ドーパミン神経が睡眠減少において部分的に必須の役割を果たすことが明らかになった。以上により、VMP GABA 作動性神経-腹側被蓋野ドーパミン神経-ドーパミン D2 受容体の一連の経路が睡眠制御に大きな役割を果たすことが判明した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Yang Lin, Koustav Roy, Shuji Ioka, Rintaro Otani, Mao Amezawa, Yukiko Ishikawa, Yoan Cherasse, Mahesh K Kaushik, Daniela Klewe-Nebenius, Li Zhou, Masashi Yanagisawa, Yo Oishi, Tsuyoshi Saitoh, Michael Lazarus	4. 巻 14
2. 論文標題 Positive allosteric adenosine A2A receptor modulation suppresses insomnia associated with mania- and schizophrenia-like behaviors in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Front Pharmacol	6. 最初と最後の頁 1138666
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2023.1138666	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 Emi Hasegawa, Yo Oishi, Daniel Kroeger, Tomomi Tsunematsu, Yves Dauvilliers	4. 巻 17
2. 論文標題 Editorial: Neurobiology of sleeping behaviors	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Front Behav Neurosci	6. 最初と最後の頁 1131920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnbeh.2023.1131920	査読の有無 無
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 該当する

1. 著者名 Takato Honda, Yohko Takata, Yoan Cherasse, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa, Michael Lazarus, Yo Oishi	4. 巻 23(6)
2. 論文標題 Ablation of Ventral Midbrain/Pons GABA Neurons Induces Mania-like Behaviors with Altered Sleep Homeostasis and Dopamine D2 R-mediated Sleep Reduction	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101240	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 Fujimori Ko, Aritake Kosuke, Oishi Yo, Nagata Nanae, Maehara Toko, Lazarus Michael, Urade Yoshihiro	4. 巻 9
2. 論文標題 L-PGDS-produced PGD2 in premature, but not in mature, adipocytes increases obesity and insulin resistance	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1931
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-38453-y	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 該当する

1. 著者名 Lazarus Michael, Oishi Yo, Bjorness Theresa E., Greene Robert W.	4. 巻 13
2. 論文標題 Gating and the Need for Sleep: Dissociable Effects of Adenosine A1 and A2A Receptors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 740
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2019.00740	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 該当する

1. 著者名 Fujimori K, Aritake K, Oishi Y, Nagata N, Maehara T, Lazarus M, Urade Y	4. 巻 9(1)
2. 論文標題 L-PGDS-produced PGD2 in premature, but not in mature, adipocytes increases obesity and insulin resistance	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 1931
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-38453-y	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 Zhou X, Oishi Y, Cherasse Y, Korkutata M, Fujii S, Lee CY, Lazarus M	4. 巻 124
2. 論文標題 Extracellular adenosine and slow-wave sleep are increased after ablation of nucleus accumbens core astrocytes and neurons in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurochem Int	6. 最初と最後の頁 256-263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuint.2019.01.020	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 -

1. 著者名 Cherasse Y, Aritake K, Oishi Y, Kaushik MK, Korkutata M, Urade Y	4. 巻 12
2. 論文標題 The Leptomeninges Produce Prostaglandin D2 Involved in Sleep Regulation in Mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front Cell Neurosci	6. 最初と最後の頁 357
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fncel.2018.00357	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 Takata Y, Oishi Y, Zhou XZ, Hasegawa E, Takahashi K, Cherasse Y, Sakurai T, Lazarus M	4. 巻 38(47)
2. 論文標題 Sleep and Wakefulness Are Controlled by Ventral Medial Midbrain/Pons GABAergic Neurons in Mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Neurosci	6. 最初と最後の頁 10080-10092
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.0598-18.2018	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 -

1. 著者名 Shoji Fukusumi, Yo Oishi, Shingo Soya, Liqin Cao	4. 巻 76(6)
2. 論文標題 Efforts of International Institute for Integrative Sleep Medicine to solve sleep problems	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Bioscience & Industry	6. 最初と最後の頁 516-521
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 大石陽、林悠、柳沢正史	4. 巻 36(12)
2. 論文標題 睡眠の制御メカニズムとその破綻に伴う行動異常	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 実験医学増刊	6. 最初と最後の頁 81-87
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 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Susumu Umezawa, Michael Lazarus, Yo Oishi
2. 発表標題 Ventral tegmental area dopaminergic neurons mediate sleep reduction induced by ablation of the surrounding GABAergic neurons
3. 学会等名 The 11th Annual WPI-IIIIS Symposium (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 屋敷ひかり、ミハエル・ラザルス、大石陽
2. 発表標題 変異GPCR によるヒスタミン発現細胞のシグナル制御がマウスにおいて徐波を発生させる
3. 学会等名 第17回GPCR研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大石 陽
2. 発表標題 中脳・橋神経による睡眠及び躁病様行動の制御
3. 学会等名 日本睡眠学会第47回定期学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yo Oishi
2. 発表標題 DREADD-mediated slow-wave generation in mice
3. 学会等名 WPI-IIIIS/Fudan University Joint Symposium（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yo Oishi
2. 発表標題 Sleep-wake regulation by reward systems
3. 学会等名 The 43rd Annual Meeting of Japanese Society of Sleep Research
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yo Oishi
2. 発表標題 Slow-wave sleep is controlled by a subset of nucleus accumbens core neurons in mice
3. 学会等名 The 43rd Annual Meeting of Japanese Society of Sleep Research (招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Lazarus M, Oishi Y, Landolt HP	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 -
3. 書名 Adenosinergic control of sleep. In: Principles and Practice of Sleep Medicine (Seventh Edition)	

〔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	長谷川 恵美 (Hasegawa Emi) (40765955)	京都大学・薬学研究科・准教授  (14301)	
研究分担者	シェラス ヨアン (Cherasse Yoan) (60544319)	筑波大学・医学医療系・研究員  (12102)	
研究分担者	高田 陽子 (Takata Yohko) (60435740)	筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・研究員  (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
---------	---------