

平成 21 年 6 月 8 日現在

研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2007 ～ 2008
課題番号：	19591381
研究課題名（和文）	ドーパミンと睡眠—覚醒調節：ドーパミン受容体作動薬により生じる睡眠の脳内機構
研究課題名（英文）	Dopamine system and sleep-wake regulation: molecular mechanisms of dopamine agonist induced sleep.
研究代表者	
	吉田 祥 (Yoshida Yasushi)
	大阪医科大学・医学部・講師
	研究者番号： 40388260

研究成果の概要：

本来ドーパミンは覚醒誘発に関与するが、逆説的にドーパミン受容体作動薬により突発的な眠気が生じることが問題となっている。ドーパミン受容体作動薬により睡眠と覚醒の相反する現象が生じることについて、その脳内機構の解明のための研究をラットを用いて行った。その結果、動物の活動期（暗期）において、高用量では覚醒を誘発するが、低用量では逆説的に睡眠が増加することが判明した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	2,500,000	750,000	3,250,000
20年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：睡眠科学、精神医学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：睡眠覚醒調節、ドーパミン受容体作動薬、眠気、マイクロダイアリス、

1. 研究開始当初の背景

一時的であっても睡眠量が不足すると、日中の身体的・精神的活動に悪影響を及ぼす。さらに睡眠不足が慢性化すると、その悪影響はますます重大となる。しかし現代社会では、深夜までゲームやインターネットに没頭したり、もしくは交代勤務などの職業上の理由

などから、十分な（夜間）睡眠が確保できないことが日常的に生じている。実際日本人の睡眠時間は年々減少していると報告されている。さらに、世界規模で睡眠不足が大規模な産業事故に関与していると考えられ、その経済損失は莫大な額に上ると試算されている。このように睡眠の問題は、現代人の安全を脅かす重大な要因となっている。しかし本

邦ではこれまで、睡眠の問題は必ずしも重要視されてこなかった。

睡眠・覚醒という現象は、脳内における様々な神経伝達物質の相互作用によって調節されている。これまで薬理的、電気生理学的手法をはじめ、様々な手技を用いて、この機構の解明を目指した研究が行われてきた。本研究の研究代表者は、主に行動薬理学的手法やマイクロダイアリス法を用いて、睡眠・覚醒調節の脳内分子機構の解明に取り組んできた。そして様々な神経伝達物質の中でも、特に睡眠・覚醒調節におけるドーパミンの役割を解明することに重点を置いてきた。

脳内ドーパミン神経活動は、睡眠段階の変化に応じた発火頻度の変化を示さないという過去の報告以来、生理的な睡眠・覚醒調節へのドーパミン系の関与については否定的な意見もあった。しかし以下のような様々な知見から、ドーパミンは覚醒機構に関与する重要な因子と考えられる。つまり、ナルコレプシーなどの過眠症の治療に用いられる中枢神経刺激薬（メチルフェニデート、アンフェタミン類）の覚醒増強作用の作用機序はドーパミン神経終末におけるドーパミン神経伝達増強であり、ドーパミン受容体(D1, D2)アゴニスト投与はラットで覚醒を起こし、ドーパミン神経の破壊実験では覚醒が劇的に減少する。しかし他の神経伝達物質の場合と比較すると、ドーパミン神経系による睡眠・覚醒調節のメカニズムや生理的意義は、十分に解明されているとは言えない。研究代表者が行ってきたこれまでの実験結果から、ラットの前頭皮質におけるドーパミンの分泌は活動期（暗期）に多く、休息期（明期）に低値となる日内変動を示すことが確認された。さらに断眠により前頭皮質などにおけるドーパミン分泌が劇的に増加することも判明した。これらの結果より、前頭皮質でのドーパミン分泌増加は、覚醒という現象の発現に大きく関与すると考えられる。

このようにドーパミン分泌は覚醒調節機構に重要な役割を果たすが、しかし近年臨床の現場で、これらの結果では説明できない現象が大きな問題となり、注目を集めている。つまりパーキンソン病患者において、ドーパミン受容体作動薬での治療中に、突然の眠気や居眠りが生じ、交通事故など原因となっているというものである。本来ドーパミンは、覚醒を起こす神経伝達物質であるにもかかわらず、場合によっては逆説的に急激な眠気を起こす原因になり得るのである。この眠気の発現にはドーパミン受容体作動薬による

何らかの薬理的機序の関与が予想されているものの、その詳細は今のところ全く不明である。よって、これまで行ってきたドーパミンによる睡眠・覚醒調節に関する研究をさらに発展させ、ドーパミン受容体作動薬により誘発される眠気の分子機構解明を目的とした。

2. 研究の目的

本来ドーパミンは覚醒誘発に関与するにもかかわらず、ドーパミン受容体作動薬が逆説的に過剰な昼間の眠気や居眠りを誘発するという興味深い現象について、その脳内分子機構を解明することを目標として研究を行った。

3. 研究の方法

1) ドーパミン受容体作動薬の投与によって覚醒を起こす条件と睡眠を起こす条件との違いを詳細に検討することを最初の目的とした。ドーパミン受容体アゴニストを用いた過去の実験から、高用量の投与では覚醒を起こし、低用量では睡眠を誘発することが報告されていた。しかし過去の実験は全て動物の休息期（明期）に行われていた。つまり休息期に薬物を投与して、休息期内での行動・脳波変化を見たものであった。一方今回の実験は、あくまでドーパミン受容体作動薬により生じる日中（活動期）の眠気の脳内機構を調べることを目的としている。よって活動期（暗期）の開始5分前（19時55分）に薬物を投与し、その後の活動期中において睡眠ポリグラフ測定や行動量モニターを用いて睡眠・覚醒量の変化を記録し、各条件による睡眠覚醒パラメータ量の変化の検定を行った。

2) 1)の実験結果から、活動期のラットにおいても、ドーパミン受容体アゴニストの投与量を変えることで睡眠、覚醒の相反する結果を誘発できることが明らかとなった。そこで、続いて睡眠・覚醒を誘発する各条件において、脳内のドーパミン分泌の変化をモニターする実験を行った。ドーパミンの脳内分泌量測定にはマイクロダイアリス法を用いて細胞間隙のドーパミンを回収し、濃度測定には高速液体クロマトグラフィーシステムを使用して行った。

なおすべての実験はオス SD ラット（購入時7週齢）を用いた。睡眠ポリグラフの記録は、防音、エアコン完備の専用のチャンパー内で行った。明暗環境については8時点灯、20時消灯とした。

薬物の投与は腹腔内投与で行った。実験中は48時間連続でポリグラフ記録を行った。実験第1日(基準日)の消灯5分前に溶媒(生理食塩水)を投与し、実験第2日(実験日)の同時刻に薬物投与を行った。そして暗期が始まって8時間の間の睡眠-覚醒パラメータの変動を、基準日と実験日とで比較した。

検定した薬剤としては、代表的なドーパミンD2/D3受容体作動薬であるquinpiroleを用いた。また予備実験として、臨床で使用されているドーパミンD2/D3受容体作動薬を用いた実験も行った。両薬剤から得られた結果は基本的には同じ傾向を示した。本研究報告では、実験が完結したquinpiroleを用いた結果について報告する。

4. 研究成果

1) 過去の実験結果を参考にドーパミン受容体アゴニスト(quinpirole)の投与量を5種類設定して予備実験を行った(0, 30, 100, 500, 1000 μ g/kg)。その結果から用量設定を行い、30 μ g/kg(低用量)では睡眠を誘発し、1000 μ g/kg(高用量)では覚醒を誘発することが明らかとなった(図1、2)。

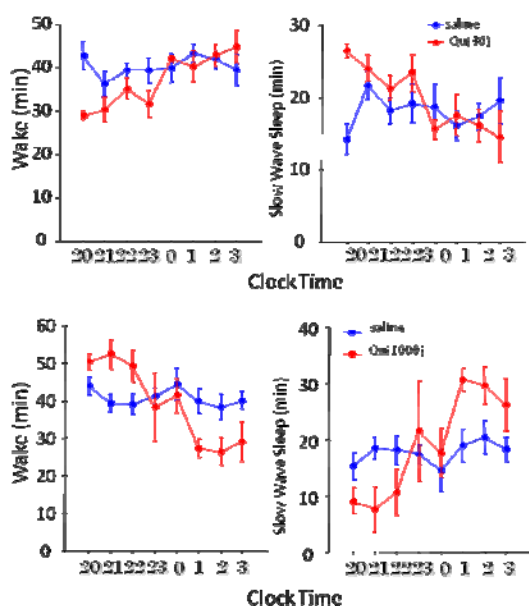


図1 quinpirole投与後の睡眠覚醒パラメータの変化
(上段: 30 μ g/kg, 下段: 1000 μ g/kg)

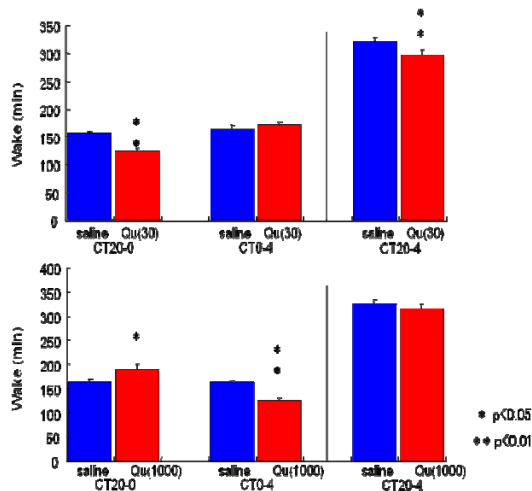


図2 4時間ごとの覚醒量の変化

これらの用量については、今回用いた2剤とも同様の結果であった。今回の結果は、活動期(暗期)におけるドーパミン受容体アゴニストの睡眠・覚醒への影響を調べた最初の報告である。

2) ヒトにおいてドーパミン受容体作動薬による眠気の誘発はsleep attacks(突発性睡眠)とsleepiness(眠気)とがあるとされている。前者は突然急激な眠気が生じることを意味する。今回のラットを用いた実験では低用量にて睡眠量は増加した。その詳細は、睡眠潜時が短くなることと、投与後比較的早期において睡眠量(徐波睡眠、逆説睡眠ともに)が増加し、個々の睡眠エピソードの持続時間が延長するという傾向を示した。

3) 睡眠・覚醒のそれぞれを誘発する条件で、同時にドーパミン分泌の変動を前頭前皮質(mPFC)にて測定した。高用量のドーパミン作動薬により覚醒を誘発した場合、mPFCにおけるドーパミン分泌は強力に抑制された。これは大量のドーパミン受容体アゴニストにより後シナプスのD2受容体が刺激され、結果として内因性のドーパミン分泌が抑制されたと考えられた。低用量のドーパミン作動薬により睡眠を誘発した場合、興味深いことにドーパミン分泌は、vehicle投与対照群におけるドーパミン分泌よりも有意に低下した。この低下の程度は、高用量投与時の低下よりも軽度であった。低用量のドーパミン作動薬投与時には、後シナプスよりも感受性が高いとされる前シナプスのD2(D3)自己受容体に有意に作用して内因性のドーパミン分泌が減少した結果、覚醒度が低下して睡眠が誘発されるものと考えられた。

これまで述べてきたように、ドーパミン受容体アゴニストの低用量投与では睡眠誘発、高用量投与では覚醒誘発、という結果が得られた。しかし実際はそれほど単純にはいかず、ヒトのパーキンソン病では、日中の眠気が強い群ほど、治療のために服用しているドーパミン受容体作動薬の量が多いということが報告されている。今のところ詳細を述べるまでには至っていないが、高用量投与時についてもヒトの場合のように眠気が生じるメカニズムについても解明しつつある。また、実験は現在も進行中であり、今後は覚醒誘発、・睡眠誘発の各条件下で、脳内のどのような部位が活性化されるか、活性化される部位の違いがあるか調べるため、FOS 蛋白発現パターンの違いについても検討していく。これらによりドーパミン受容体アゴニストにより生じる、睡眠と覚醒という逆方向の作用に関与する脳内機構の解明を行っていく。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

① Mishima K, Yoshida Y, Nishino S et al. Hypocretin receptor expression in canine and murine narcolepsy models and in hypocretin-ligand deficient human narcolepsy. SLEEP, 査読あり, 31, 2008, 1119-1126.

[学会発表] (計 3 件)

① 吉田 祥
睡眠-覚醒調節機構におけるオレキシンとヒスタミンとの関連について
日本睡眠学会第 33 回学術集会
2008年6月26日 福島県郡山市

② Yoshida Y, Yoneda H, Nishino S et al. Dopamine D2/D3 agonists and daytime sleepiness: sleep promotion by low dose of quinpirole in rats in active period. 22nd Annual Meeting of the Associated Professional Sleep Societies. 2008. 6. 10, Baltimore USA.

③ Yoshida Y, Fujiki N, Nishino S et al. Continuous microdialysis measures of

histamine with sleep recordings in freely moving mice.

22nd Annual Meeting of the Associated Professional Sleep Societies.

2008. 6. 9, Baltimore USA.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 祥 (Yoshida Yasushi)

大阪医科大学・医学部・講師

研究者番号：40388260