

機関番号：21601
研究種目：基盤研究 (C)
研究期間：2008 ~ 2010
課題番号：20500288
研究課題名 (和文) 睡眠・覚醒時のヒスタミンニューロンが示す活動変化の制御メカニズムの解明
研究課題名 (英文) Control mechanisms of activity in tuberomammillary histaminergic neurons during sleep-waking cycles
研究代表者 高橋 和巳 (TAKAHASHI KAZUMI) 福島県立医科大学・医学部・講師 研究者番号：90325952

研究成果の概要 (和文)：

睡眠・覚醒中のマウスの脳内から、睡眠・覚醒の各状態の発現に重要な役割を果たすとされている種々のニューロン群の活動を記録した。状態の移行期においてそれらの活動がどのような順序で変化するかを調べた結果、覚醒時に活動するニューロンの活動変化が睡眠時に活動するニューロンの活動変化よりも早く起きていることが明らかになった。睡眠の開始においては、睡眠中枢から覚醒系ニューロン群への抑制ではなく、覚醒系ニューロン群の脱促進の連鎖が最初の重要なステップであると考えられた。

研究成果の概要 (英文)：

Unit discharge profiles of several neuronal groups playing important roles in sleep-waking mechanisms were recorded in unanesthetized mice. The finding that, at state transitions, waking-promoting neurons showed activity changes before sleep-promoting neurons did suggests that, not inhibition by sleep-promoting neuron, but disfacilitation of waking-promoting neurons is the primary step of sleep initiation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：睡眠、覚醒、単一ユニット活動、視床下部

1. 研究開始当初の背景

近年、睡眠・覚醒の発現メカニズムに関し

て生理学的な研究が進み、睡眠の発現に関していくつかのストーリーが形作られてきた。その中の一つは、視索前野 (preoptic area,

POA) の GABA ニューロンが睡眠物質などの影響により活動を高め、それが視床下部後部のヒスタミンニューロンを抑制することで睡眠が起こるというものである。

我々はこれまでの研究で、睡眠・覚醒中のマウスの結節乳頭核において免疫組織化学的に同定されたヒスタミンニューロンの発火活動を記録することに成功した。解析の結果、ヒスタミンニューロンの活動は例外なく覚醒時のみ発火すること、そして徐波睡眠から覚醒への移行期においては脳波上の覚醒状態(脱同期化)の開始から1秒程度遅れて開始し、逆に覚醒から徐波睡眠への移行期では脳波変化の前に必ず停止することを見出した。これに対し、後部視床下部脳弓周囲領域のオレキシンニューロンは、覚醒開始時の脳波変化に先行して活動を開始していた。

2. 研究の目的

睡眠・覚醒の切替機構をさらに明らかにするため、POAの睡眠/覚醒ニューロン、及びそれらを調節しているとされる青斑核(LC)のノルアドレナリン(NA)ニューロンを含む種々のニューロン群の睡眠・覚醒時、及び各状態間の移行期における単一ユニット活動を記録・解析し、それらの機能的な関係を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 慢性実験用の手術

- ① マウスにネブタール麻酔を施し、脳波、筋電図、心電図記録用の電極を埋め込み、導出用のコネクタを頭部固定用のプレートとともにデンタルセメントで頭蓋骨に固定する。
- ② 回復後、固定用のプレートにより、ラットを無痛的に脳定位固定装置に固定する。この状態でラットは睡眠・覚醒サイクルを発現することが出来る(図1参照)。

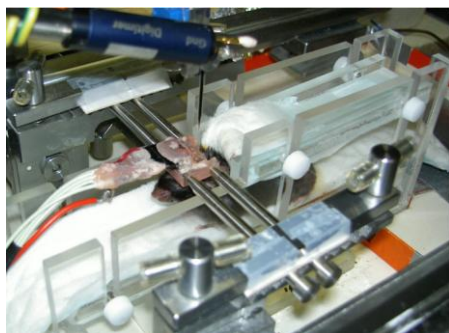


図1. 無麻酔下でのニューロン活動記録実験の様子

(2) 記録実験

無麻酔のマウスにおいて、睡眠・覚醒中に種々のニューロン群の単一ユニット活動を記録し解析する。

4. 研究成果

POA及び前脳基底部(BFB)の睡眠/覚醒特異的ニューロン及びLC-NAニューロンの自発発火活動を記録した。LC-NAニューロンは覚醒時に不規則な持続的活動を示し、徐波睡眠開始の指標である脳波の同期化に先行して活動を完全に停止した。この移行期において、LC-NAニューロンの活動は徐波睡眠およびPOA/BFB睡眠ニューロンの活動開始に1秒程度先行して有意に低下していた。音による覚醒刺激に対しては、単発又は2-3発のスパイクによる応答を示し、その潜時は 11.2 ± 1.9 ms (平均 \pm 標準偏差, $n = 48$) と短かった。

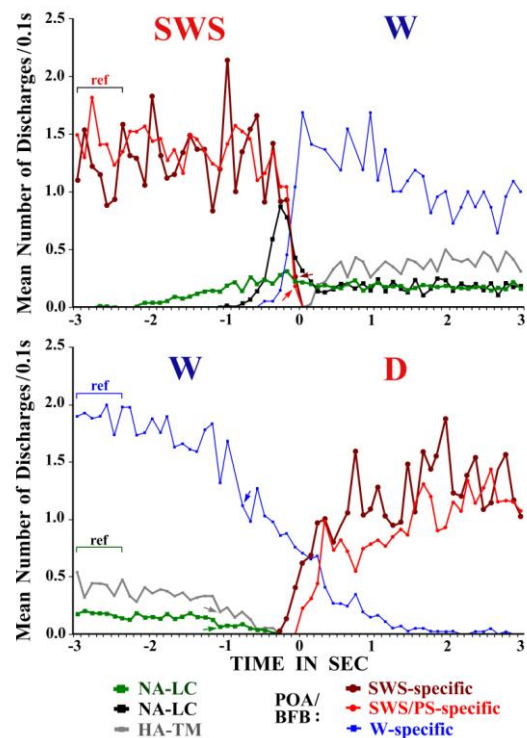


図2. 睡眠・覚醒状態の移行期における各ニューロン群の発火頻度の経時変化

上段: 徐波睡眠から覚醒への移行時
 下段: 覚醒から浅い徐波睡眠 (drowsy state, D) への移行時
 横軸は、脳波が変化した時点 (0 sec) との時間差を示す。
 睡眠ニューロンが活動する前に覚醒ニューロンの活動が落ちている。

LC-NA ニューロンは、自発的な徐波睡眠から覚醒への移行期では、覚醒の指標となる脳波の脱同期化の前にスパイク発火を開始した。その先行時間は、移行期に頸筋電図の大きな変動を伴う場合には 361.1 ± 129.2 ms (平均 \pm 標準偏差, $n = 105$)、変動を伴わない場合には 986.4 ± 549.1 ms ($n = 208$)であり、POA/BFB や後部視床下部の覚醒ニューロン群のそれよりも有意に長かった。

以上の結果は、LC-NA ニューロンの活動が持続的かつ相同的な覚醒の維持に関与し、その活動の変化が覚醒と睡眠の切替機構においてきわめて重要な役割を果たしていることを示唆している。

覚醒の開始時には、ヒスタミンニューロンは必ず脳波が変化した後活動を開始するが、LC-NA ニューロンは覚醒系ニューロンの中でも最も早く、脳波変化の前に活動を開始しており、このことがヒスタミンニューロンの活性化に寄与すると考えられる。

睡眠開始時において、LC-NA ニューロン、ヒスタミンニューロンなどの覚醒ニューロン群の活動の低下が、睡眠時に活動するPOA/BFB 睡眠ニューロンの活動開始よりも早く起きており、このことは、睡眠中枢の睡眠ニューロンが覚醒系ニューロンを抑制することで睡眠が起こるとする従来の仮説では説明できない。本研究により、睡眠の開始には、覚醒系ニューロン群の脱促進の連鎖が起こることが最初の重要なステップであることが示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Kazumi TAKAHASHI, Yukihiko KAYAMA, Jian-sheng LIN, Kazuya SAKAI, Locus coeruleus neuronal activity during the sleep-waking cycle in mice, *Neuroscience*, 査読有, 169, 2010, 1115-1126
- ② Kazumi TAKAHASHI, Yukihiko KAYAMA, Jian-sheng LIN, Kazuya SAKAI, Characterization and mapping of sleep-waking specific neurons in the basal forebrain and preoptic hypothalamus in mice, *Neuroscience*, 査読有, 161, 2009, 269-292

[学会発表] (計 8 件)

- ① 高橋和巳、香山雪彦、Jian-Sheng LIN、酒井一弥、青斑核ノルアドレナリンニ

ューロンの睡眠覚醒移行期の活動変化は視索前野/前脳基底部の睡眠ニューロンの活動変化に先行する、第43回東北生理談話会、平成22年10月16日、秋田県秋田市

- ② Kazumi TAKAHASHI、Yukihiko KAYAMA、Jian-Sheng LIN、Kazuya SAKAI、Change in activity of noradrenergic locus coeruleus neurons precedes that of sleep-promoting neurons in the basal forebrain and preoptic hypothalamus during sleep-wake state transitions, 20th congress of the european sleep research society, 平成22年9月17日、リスボン
- ③ 高橋和巳、香山雪彦、Jian-Sheng Lin、酒井一弥、マウスの青斑核ノルアドレナリンニューロンは睡眠/覚醒の移行期において視索前野/前脳基底部の睡眠ニューロンに先行して活動を変化させる、日本睡眠学会第35回定期学術集会、平成22年7月2日、愛知県名古屋
- ④ 高橋和巳、香山雪彦、Jian-Sheng Lin、酒井一弥、単一ユニット記録からわかる覚醒ニューロンの睡眠・覚醒機構における役割、日本睡眠学会第35回定期学術集会、平成22年7月1日、愛知県名古屋
- ⑤ 高橋和巳、香山雪彦、Jian-Sheng Lin、酒井一弥、睡眠・覚醒時の視索前野及び前脳基底部のニューロン活動は睡眠の視索前野能動仮説と矛盾する、第87回日本生理学会、平成22年5月21日、岩手県盛岡市
- ⑥ Kazumi TAKAHASHI、Yukihiko KAYAMA、Jian-Sheng LIN、Kazuya SAKAI The sleep process does not start with the activation of sleep-promoting neurons in the basal forebrain and preoptic hypothalamus、日本睡眠学会第34回定期学術集会、平成21年10月26日、大阪市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋和巳 (TAKAHASHI KAZUMI)
福島県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：90325952

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

小山純正 (KOYAMA YOSHIMASA)
福島大学・共生システム理工学類・教授
研究者番号：80183812

辛島彰洋 (KARASHIMA AKIHIRO)
東北大学・情報科学研究科・助教
研究者番号：40374988