

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21558

研究課題名（和文）「眠気」を誘導する神経回路の探索

研究課題名（英文）Searching for neural circuits that induce "sleepiness"

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） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、眠気が生じるメカニズムの解明を目指し、その結果、あたかも眠気が生じたような脳波を誘導できるマウスの開発に成功した。そのマウスでは、睡眠中に深い眠りが誘導されており、機械的な刺激による覚醒誘発が起きにくい傾向が見られたことから、覚醒閾値が上昇していたと考えられる。同マウスの使用により、深い睡眠が引き起こされる神経メカニズムが明らかになると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、眠気が生じた時やその後眠った時に脳で見られる変化を模倣できるマウスの開発に成功した。同マウスを活用すれば、深い睡眠時に生じる脳での変化がどのように起きるのかを明らかにできると考えられる。また、社会的には、眠気を覚ます薬や、眠気の副作用が起こらない薬の開発に役立つ可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to elucidate the mechanism of sleepiness, and as a result, we succeeded in developing mice that can induce brain waves as if they were sleepy. In those mice, deep sleep was induced during sleep, and the arousal threshold was thought to be elevated, as the mice tended to be less prone to arousal induction by mechanical stimulation. It is expected that the use of the mice will clarify the neural mechanism by which deep sleep is induced.

研究分野：神経科学

キーワード：睡眠

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

活性アミンの一つであるヒスタミンは、アレルギー反応を仲介するため、その作用を抑制する抗ヒスタミン薬は花粉症などの治療薬としてよく用いられる。しかし抗ヒスタミン薬には強い眠気という副作用があり、それを逆手にとって睡眠改善薬として後に製品化(製品名:ドリエル)された例もある。すなわち、中枢のヒスタミン系は我々人間にとって最も信頼性の高い、強力な睡眠覚醒制御システムの一つである。

中枢神経系ではヒスタミンは視床下部の結節乳頭核(TMN)や肥満細胞で合成され、脳の全域で作用する。4種類あるヒスタミン受容体のうち、H1受容体(H1R)欠損マウスは覚醒を維持しにくい(Huang et al., PNAS, 103(12):4687-92, 2006)。また、研究代表者は以前、TMNの抑制による睡眠増加がH1R欠損マウスでは起きないことを発見した(Oishi et al., PNAS, 105(50):19992-7, 2008)。さらに、前述の抗ヒスタミン薬は全てH1Rのインバースアゴニスト(常に活性化状態にある受容体の活性を減弱する薬物)である。すなわち、H1Rは睡眠覚醒を制御するヒスタミン受容体である。H1Rは大脳皮質、視床下部、視床、脳幹など脳の様々な場所に発現するが、その中でも特に大脳皮質の電気的活動は睡眠覚醒状態と良く関連するため、大脳皮質のH1Rが睡眠に関与する可能性がある。しかし、どの脳部位または神経集団のH1Rが睡眠覚醒を仲介するかは現在全く不明である。すなわち、数十年前から抗ヒスタミン薬による眠気が知られているにもかかわらず、実はそのメカニズムは誰にも知られていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、神経種特異的な活性制御技術による睡眠調節に重要なH1R発現神経回路の探索とし、それによりヒスタミン系による睡眠覚醒制御メカニズムの神経解剖学的解析を試みる。

3. 研究の方法

研究計画は次の通りである。様々な脳部位のH1R発現神経を特異的に抑制可能なツールを開発し、それら神経活性の抑制に伴う睡眠変化を評価し、睡眠導入部位・神経群を同定する。神経活性抑制の方法としては化学遺伝学ツール(hM4Di; 特定のリガンドによりGiシグナルを活性化する抑制性GPCR)を用いる。hM4Diが睡眠調節部位に発現した場合、リガンド投与は抗ヒスタミン薬に類似の効果、すなわち睡眠増加を示すはずである。このツール開発方法は下記のように複数計画している。

計画A H1Rプロモーターを用いたhM4Di発現マウス(全身/局所)の作製:H1Rプロモーター下でhM4Diを発現するマウスを作製中する。全身、またはウイルスベクターにより局所的にhM4Diを導入できるように工夫する。広範囲のhM4Di導入により睡眠が増加した場合、段階的に範囲を狭め、睡眠を導入できる最小領域の同定を目指す。

計画B 他の遺伝子プロモーターを用いたhM4Di発現マウスの作製:H1Rの発現は広範囲のため、ウイルスベクターの局所注入では睡眠誘発に十分な脳領域をカバーしきれない可能性がある。そこで、H1R発現神経に発現する他の遺伝子を用いて、様々な細胞種にhM4Diを発現させ、各脳領域の睡眠誘発への重要性を調べる。

4. 研究成果

まず、ヒスタミン受容体発現細胞に化学遺伝学ツールを発現するマウスの作製に成功した。さらに、発現細胞の分布をヒスタミン受容体の分布と比較した結果、両者の分布は非常に似通っており、同マウスの有用性が示唆された。そこで、興奮性の化学遺伝学ツールを発現するマウスにツールを活性化させる化合物を投与したところ、マウスはその後まもなく死亡した。これは急激にアレルギー反応が起こったためと推察され、ツールがヒスタミン受容体発現細胞に正しく発現していたことが示唆された。

次に、抑制性の化学遺伝学ツールを発現させたマウスを使い、同ツールの活性化がマウスに与える影響を解析した。その結果、ヒトで眠気が生じたような脳波が発生し、あたかも眠気が溜まった脳を模倣したような状態が観察された。睡眠後も深い眠りが誘導されており、深い眠りの指標とされるノンレム睡眠中のデルタパワーが増加していた。さらに、機械的な刺激による覚醒誘発が起きにくい傾向が見られ、覚醒閾値の上昇が確認された。以上により、ヒスタミン受容体を発現する細胞の化学遺伝学的抑制が、眠気を模倣するような睡眠脳波を生じることを見出した。

本成果は、単純に睡眠量が増えなかったという意味で驚きであり、また過去に同様の脳波を特定の細胞群の活性変化により誘導した例がないことから、深い眠りの際の脳波が生じるメカニズムの解明に非常に有用なツールを開発できたと言える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

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 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

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

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
---------	---------