

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05997

研究課題名(和文) 性成熟前マウスの継続測定を用いた睡眠覚醒の成熟過程に必要な環境要素の解明

研究課題名(英文) Identifying environmental factors essential for the maturation of sleep-wake cycles through continuous measurement in pre-maturation mice

研究代表者

堀田 範子 (Hotta, Noriko)

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：00815649

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)：睡眠覚醒の成熟過程に必要な環境要因を解明することを目的として、通常の飼育環境に対して、睡眠に良好な環境を想定した“運動環境下”、および、光刺激を要因とする睡眠覚醒リズム障害を想定した“明暗周期のない環境下”でマウスを飼育した。被験マウスの脳波・筋電図測定による睡眠の評価は、若年期(10週齢)、成熟期(30週齢)と高齢期(60週齢以上)に行った。さらに、過眠症モデルであるSik3 Sleepyマウスにおいても運動環境下での飼育を試み、若年期と成熟期で睡眠を評価した。これらの結果、運動環境が後天的要因に起因する睡眠リズム障害、先天的な要因の過眠症に対しても症状を緩和する効果があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回、後天的要因である光刺激のリズム消失による睡眠リズム障害だけでなく、先天的過眠症モデルマウスにおいても、運動環境が睡眠障害の症状改善への寄与が示唆される結果が得られた。これらは、睡眠障害治療への応用が期待される。加えて、性成熟前における過眠症の発症過程が明らかになった。この睡眠測定手法は、他の睡眠障害モデルマウスでも応用が可能であり、各睡眠障害の発症過程の研究に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the environmental factors necessary for the maturation process of sleep-wake cycle, mice were maintained in an “exercise environment,” which was assumed to be a good sleep environment, and in a “light/dark cycle-free environment,” which was assumed to be a sleep-wake rhythm disorder caused by light stimulation. EEG-EMG based sleep recording were performed sequentially in young adult (10 wks), mature (30 wks), and old (60 wks) ages. In addition, Sik3 Sleepy mice, a model of hypersomnia, were also maintained in an exercise environment, and sleep was evaluated in the young and mature stages. Taken together these results suggest that the exercise environment has a symptom-relieving effects not only on sleep rhythm disorders caused by acquired factors, but also on congenital hypersomnia.

研究分野：マウスを用いた睡眠研究

キーワード：睡眠測定 マウス 脳波・筋電図 若齢期 睡眠障害

## 1. 研究開始当初の背景

社会的な生活様式の変化、特にスマートフォンの使用などによる夜間の光刺激の増加による、未成年の睡眠障害が社会問題になりつつある。若年期の睡眠障害は、成長後の肥満や糖尿病など慢性疾患の増加に関与することから、要因の解析と対策が急務である。実験動物を用いた睡眠研究は、マウスにおいて盛んに行われている。しかしながら、ヒトの未成年に相当する性成熟前マウスの詳細な睡眠研究は、短時間の急性実験に限定されていた。同一個体における継続的な睡眠測定は、技術的な制約によりこれまで行われておらず、睡眠の総時間や持続時間、睡眠覚醒サイクルや脳波成分等の成熟過程についても、過去に検討された例は少ない。加えて、長期的に睡眠に影響を与える環境にさらされる研究は単一条件がほとんどで、複数の要因の相関が評価されることは少なかった。

## 2. 研究の目的

本研究では睡眠障害、なかでも睡眠覚醒リズム障害と過眠症に着目して、出生前からマウス飼育環境を設定し、睡眠の成熟過程を明らかにするとともに、性成熟後の睡眠覚醒等に影響を及ぼし続ける環境要素を解明することを目指した。

## 3. 研究の方法

- (1) 研究代表者らはこれまで、離乳前の幼若マウスに電極を埋め込み、若齢期から成熟期までの継続した睡眠測定を成功させ、成長過程における脳波・筋電図測定の手法を確立している。この測定手法は、測定による負荷が少ないため、青年期マウスだけでなく、体力の落ちた老齢期マウスにおいても測定が可能であった。
- (2) マウスの自発活動量を増加させるランニングホイールをケージ内に設置することで、健康的な睡眠を促すと想定される環境（運動環境）とした。
- (3) 睡眠覚醒リズム障害を促すために、妊娠マウスを恒明条件下にて飼育し、出生後も恒明条件を継続した。
- (4) 過眠症モデルマウスである *Sik3 Sleepy* 変異マウスを用いた。

## 4. 研究成果

- (1) 先行研究では、恒明条件下における飼育によって、マウスの概日周期の延長や体重増加等が報告されている。そのため、C57BL/6N マウスを 通常飼育、 運動環境あり飼育、 恒明条件飼育、 恒明条件下で運動環境あり飼育の 4 群に分けて飼育した。
  - (1) - a これら 4 群を、4 から 60 週齢まで体重を継続して測定した。恒明条件飼育 では、先行研究の通り体重増加が促進された。一方で、運動環境ありの恒明条件 では体重増加が抑制され、通常飼育 よりも一貫して低体重であった。
  - (1) - b 若年期（10 週齢前後）で脳波・筋電図測定を行ったところ、24 時間中の覚醒時間は、通常飼育 に対して恒明条件下 で短くなっていたのに対し、運動環境のある恒明条件下 では、通常飼育 と有意な差は見られなかった。以降、成熟期（30 週齢以上）と生殖困難になり始める高齢期（60 週齢以上）において睡眠測定を行ったが、加齢により通常飼育 の睡眠が、恒明条件下 の睡眠と差が少なくなり、運動環境 の睡眠への影響は評価できなかった。対して、明暗条件下では成熟期以降、通常飼育群 に比

べ運動環境あり飼育群 では覚醒時間が長く、運動環境が睡眠における加齢を遅延させる効果があることが示唆された。

(2) *Sik3 Sleepy* 変異マウスは覚醒時間が短いことが報告されている。そのため、野生型同腹仔を通常飼育、野生型同腹仔を運動環境あり飼育、*Sleepy* ヘテロマウスを通常飼育、*Sleepy* ヘテロマウスを運動環境あり飼育の4群に分けて飼育した。

(2)-a これら4群を、4から30週齢まで、体重を継続して測定した。*Sleepy* マウスでは、体重増加が促進された。一方で、運動環境ありの*Sleepy* マウスでは体重増加が抑制され、通常飼育よりも一貫して低体重であった。

(2)-b 若年期と成熟期で脳波・筋電図測定を行った。24時間中の覚醒時間は、*Sleepy* マウスで短くなっていたのに対し、運動環境のある*Sleepy* マウスは、若年期では通常飼育と有意な差は見られなかった。成熟期においても運動環境のある*Sleepy* マウスは通常飼育の*Sleepy* マウスよりも覚醒時間は長かった。

(3) *Sik3 Sleepy* 変異マウスを用いて、離乳直後から若年期まで同一個体で睡眠測定を行った。この測定結果から、生後直後から過眠症を発症しているのではなく、成獣になる過程で過眠になることが示唆された。

(4) (1)と(2)の結果から、後天的要因によって発症する睡眠覚醒リズム障害だけでなく、先天的要因の過眠症においても、運動環境が睡眠障害の症状を緩和させる結果が得られた。今回用いたランニングホイールは、概日リズム測定に使用されてきた。ランニングホイールの有無によって、加齢後のマウスの体重や睡眠覚醒が変化することは、今後の睡眠研究の手法選択に参考になる結果となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 堀田(平島)範子、三好千香、一久綾、菅野里美、柳沢正史、船戸弘正
2. 発表標題 ランニングホイールによる自発活動増加負荷下で飼育した過眠モデルマウスSleepyの成長過程における睡眠覚醒および体重の変化
3. 学会等名 NEUR02022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Noriko Hotta-Hirashima, Chika Miyoshi, Aya Ikkyu, Satomi Kanno, Kumi Ebihara, Masashi Yanagisawa, Hiromasa Funato
2. 発表標題 Sex differences in sleep/wakefulness from infancy to adulthood in a hypersomnia model, Sleepy mutant mouse
3. 学会等名 The 11th Annual WPI-IIIS Symposium (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Noriko Hotta-Hirashima, Chika Miyoshi, Aya Ikkyu, Satomi Kanno, Kumi Ebihara, Masashi Yanagisawa, Hiromasa Funato
2. 発表標題 Sleep/wakefulness and body weight growth from infancy to adulthood in a hypersomnia model, Sleepy mutant mouse
3. 学会等名 JST-CREST “Opt Bio” / WPI-IIIS Joint Symposium (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
研究分担者	三好 千香  (Miyoshi Chika)  (60613437)	筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・研究員    (12102)	

6. 研究組織（つづき）

	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	船戸 弘正  (Funato Hiromasa)  (90363118)	筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・客員教授    (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