

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24621012

研究課題名(和文) 睡眠・覚醒とサーカディアンリズムを統合する機能的神経回路の解明

研究課題名(英文) Serotonergic integration of circadian clock and ultradian sleep-wake cycles

研究代表者

宮本 浩行 (Miyamoto, Hiroyuki)

独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員

研究者番号：90312280

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：脳セロトニン(5-HT)の働きによって、24時間生物時計と睡眠・覚醒リズムが統合されることを見出した。5-HT急速・選択的除去法をラットに適用すると、睡眠・覚醒の24時間リズムが崩壊した。このときSCNの24時間リズムは強固に保たれ、睡眠・覚醒機能そのものも維持された。しかし、睡眠・覚醒を実行する前脳基底部・視索前野(BF/POA)の神経活動リズムは消失していた。この部位の5-HT受容体を阻害すると、徐波睡眠のリズムが消失した。以上から、SCNからの信号は、5-HTの作用を受けたBF/POA領域に伝えられ、そこで睡眠・覚醒機能を統合し、24時間周期の睡眠・覚醒リズムを生み出すと結論した。

研究成果の概要(英文)：In mammals, the suprachiasmatic nucleus (SCN) of the hypothalamus generates a 24 h rhythm of sleep and arousal. While neuronal spiking activity in the SCN provides a functional circadian oscillator that propagates throughout the brain, the ultradian sleep-wake state is regulated by the basal forebrain/preoptic area (BF/POA). How this SCN circadian oscillation is integrated into the shorter sleep-wake cycles remains unclear. We examined the temporal patterns of neuronal activity in these key brain regions in behaving rats. We identified a diurnal rhythm in the BF/POA that was selectively degraded when diurnal arousal patterns were disrupted by acute brain serotonin depletion despite robust circadian spiking activity in the SCN. Local blockade of serotonergic transmission in the BF/POA was sufficient to disrupt the diurnal sleep-wake rhythm of mice. These results suggest that the serotonergic system enables the BF/POA to couple the SCN circadian signal to ultradian sleep-wake cycles.

研究分野：神経科学

キーワード：サーカディアンリズム 睡眠・覚醒 セロトニン 視交叉上核 前脳基底部・視索前野 神経活動

1. 研究開始当初の背景

外界からの時間の手がかりが全くない状態でも、睡眠・覚醒、神経活動そして遺伝子発現にいたるまで 24 時間周期のサーカディアンリズムを脳は作り出している。この 24 時間リズムが種々の脳機能を協調させ快適な心身の状態をもたらすと考えられている。サーカディアンリズムの主時計は脳深部にある視交叉上核 (SCN) と呼ばれる小さな神経核に存在し、その 24 時間の神経活動リズムが主時計の生理的実体である。しかしどのようにして SCN からのサーカディアン信号が脳各所に伝達され各種機能を制御しているのかというシステムの理解は、技術的困難さと適切な実験モデルを欠き停滞していたと言わざるを得ない。

脳内時間システムの構造を知るには、人為的变化をシステムに加えその応答を観察することが有効である。そのターゲットとしてセロトニン系 (5-HT 系) を選んだ。5-HT 系は中脳縫線核に細胞体が局在する一方、その軸索を脳全体のほとんどに投射している。このことは 5-HT 系が脳全体の活動調節や機能の協調を担っていることを示唆し、事実、睡眠・覚醒という脳活動全般に関わることが指摘されてきた。この 5-HT 系を迅速かつ特異的に操作するため、5-HT 前駆体トリプトファンを特異的に分解する酵素を生体に投与する新しい方法 (TSO 法) を適用し睡眠・覚醒 24 時間リズムの変化と各脳領域における活動の変化を分析した。

2. 研究の目的

睡眠・覚醒リズムやサーカディアンリズムを司る脳内の時間システムの仕組みを神経活動の記録により明らかにする。さらに睡眠・覚醒のサーカディアンリズム形成機構の神経回路モデルを提案しその実験的検証を行う。

3. 研究の方法

自由行動ラットやマウス脳各領域から双極金属電極による神経細胞群の神経活動 (マルチユニット) を数週間以上長期的に記録し、皮質脳波・筋電図により睡眠・覚醒リズムを分析した。同時にラット行動量、脳温等を計測した。

(項目 1) 脳各領域 (SCN、前脳基底部、視床下部、大脳皮質、視床、線条体、脳幹など) において神経細胞、脳領域、個体という階層に分けそれぞれの神経活動の時間的特性と相互作用を定量化する。

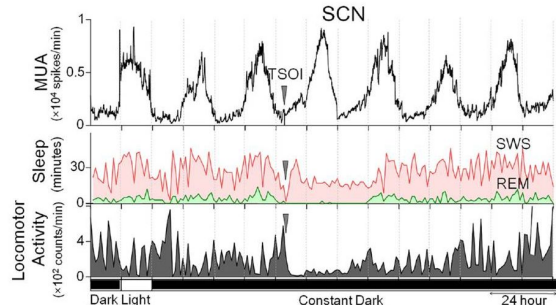
(項目 2) 脳 5-HT 系の急速除去 (TSO 法) を適用し、表出する睡眠・覚醒パターン変化と対応する脳各領域神経活動に時間パターンを解析する。

(項目 3) 焦点となる脳領域の神経活動を局所薬理実験によって操作 (抑制) することでサーカディアン時間信号の伝達経路や脳領域間の因果関係を調べた。

4. 研究成果

従来の知見通り、SCN や前脳基底部・視索前野 (BF/POA) をはじめ、脳の多くの領域で神経活動レベルが 24 時間周期で上昇・下降するサーカディアンリズムを観察し、睡眠・覚醒機能についても、睡眠時は神経細胞の活動が低下し、覚醒時は活性化することを確認した。

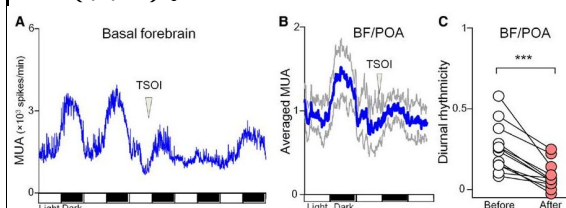
次に、研究グループが開発した物質をラットに投与して、脳内のセロトニンを除去した (TSO 法)。この物質は、セロトニン合成のもととなるアミノ酸の一種トリプトファンを選択的に分解する酵素 (tryptophan side chain oxidase 1: TSO1) で、脳内のセロトニンを数時間以内で 5 分の 1 程度に急速、選択的かつ可逆的に減少させることができる。ヒトより短い時間の睡眠・覚醒サイクルを持つラットにこの物質を投与すると、昼夜を通してさらに短い周期で睡眠と覚醒を繰り返すようになり、睡眠量や行動量のサーカディアンリズムが崩壊した (文献 1)。しかし、このときの SCN の活動は、通常通り強固なサーカディアンリズムを維持するとともに、正常な睡眠・覚醒機能 (睡眠時の神経活動低下と覚醒時の活性化) を確認できた (図 1)。この傾向は、大脳皮質など他の脳領域でも同様だった。



【図 1】

SCN が生み出すサーカディアンリズムは、セロトニン除去物質投与後 (TSO1) でも、通常通り強固な 24 時間神経活動のリズムを維持した (上段)。一方、睡眠・行動量をみると、物質投与により 24 時間周期は崩れた (中、下段)。

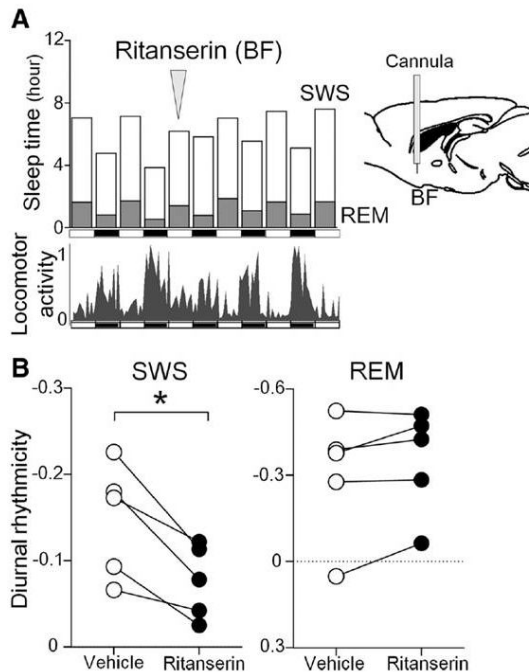
しかし、睡眠・覚醒を直接的に実行する前脳基底部・視索前野 (BF/POA) と呼ばれる領域の神経活動に着目すると、サーカディアンリズムが顕著に減少していることが分かった (図 2)。



【図2】

A: 前脳基底部・視索前野 (BF/POA) と呼ばれる睡眠・覚醒を直接的に実行する領域での24時間神経活動リズムが、セロトニン除去物質投与後 (TS01) 顕著に減少した。B: セロトニン除去前後の BF/POA 神経活動パターン。C: セロトニン除去後、BF/POA サークadianリズムの指標が統計的に有意に低下した。

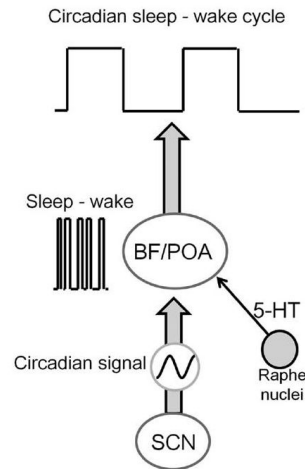
そこで、セロトニン受容体機能を阻害する薬物リタンセリンを、正常なマウスの BF/POA 領域に局所的に投与したところ、睡眠の大部分を占める徐波睡眠のサーカディアンリズムが選択的に阻害された (図3)。



【図3】

A: セロトニン受容体機能を阻害する薬物リタンセリンを BF/POA 領域に局所投与すると、睡眠の24時間リズムが阻害された。B: このとき徐波睡眠のサーカディアンリズムの指標が統計的に有意に低下する一方、レム睡眠のリズムは影響されなかった。

これらにより、セロトニンの働きを受けた BF/POA 領域は、SCN が生み出すサーカディアンリズムを受け取って睡眠・覚醒機能と時間的に統合し「睡眠・覚醒のサーカディアンリズム」を作り出すと結論した (文献2) (図4)。



【図4】

セロトニン系の働きによって活性化した BF/POA の領域が、SCN からのサーカディアンリズムを受け取って睡眠・覚醒機能と時間的に統合する。その結果、「睡眠のサーカディアンリズム」を作り出す。

文献1: Nakamaru-Ogiso E, Miyamoto H, Hamada K, Tsukada K, Takai K. Novel biochemical manipulation of brain serotonin reveals a role of serotonin in the circadian rhythm of sleep/wake cycles. *European Journal of Neuroscience* 35, 1762-1770 (2012) (査読有)

文献2: Miyamoto H, Nakamaru-Ogiso E*, Hamada K, Hensch TK. Serotonergic integration of circadian clock and ultradian sleep-wake cycles. *The Journal of Neuroscience* 32, 14794-14803 (2012) (査読有)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

1. Tomioka NH, Yasuda H, Miyamoto H, Hatayama M, Morimura N, Matsumoto Y, Suzuki T, Odagawa M, Odaka YS, Iwayama Y, Won Um J, Ko J, Inoue Y, Kaneko S, Hirose S, Yamada K, Yoshikawa T, Yamakawa K, Aruga J. Elfn1 recruits presynaptic mGluR7 in trans and its loss results in seizures. *Nature Communications* (2014) doi:10.1038/ncomms5501 (査読有)

2. *Hisatsune C, *Miyamoto H, Hirono M, Yamaguchi N, Sugawara T, Ogawa N, Ebisui E, Ohshima O, Yamada M, Hensch TK, Hattori M, and Mikoshiba K. IP3R1 deficiency in the cerebellum/brainstem causes basal ganglia-independent dystonia by triggering tonic Purkinje cell firings in mice. *Frontiers in Neural Circuits* (2013)

7: 156, 1-13 *Equal contribution (査読有)

3. Toyoizumi T, Miyamoto H, Yazaki-Sugiyama Y, Atapour N, Hensch TK, Miller KD. A theory of the transition to critical period plasticity: inhibition selectively suppresses spontaneous activity. *Neuron* (2013) 80: 51-63 (査読有)

4. Ogiwara I, Iwasato T, Miyamoto H, Iwata R, Yamagata T, Mazaki E, Yanagawa Y, Tamamaki N, Hensch TK, Itohara S, Yamakawa K. Nav1.1 haploinsufficiency in excitatory neurons ameliorates seizure-associated sudden death in a mouse model of Dravet syndrome. *Human Molecular Genetics* (2013) 22: 4784-4804 (査読有)

5. *Miyamoto H, *Nakamaru-Ogiso E, Hamada K, Hensch TK. Serotonergic integration of circadian clock and ultradian sleep-wake cycles. *The Journal of Neuroscience* (2012) 32: 14794-14803 *Corresponding authors (査読有)

6. Nakamaru-Ogiso E, Miyamoto H, Hamada K, Tsukada K, Takai K. Novel biochemical manipulation of brain serotonin reveals a role of serotonin in the circadian rhythm of sleep/wake cycles. *European Journal of Neuroscience* (2012) 35, 1762-1770 (査読有)

7. Takahashi H, Katayama K, Sohya K, Miyamoto H, Prasad T, Matsumoto Y, Ota M, Yasuda H, Tsumoto T, Aruga J, Craig AM. Selective control of inhibitory synapse development by Slitrk3-PTP trans-synaptic interaction. *Nature Neuroscience* (2012) 15, 389-398 (査読有)

8. Ito S, Ogiwara I, Yamada K, Miyamoto H, Hensch TK, Osawa M, Yamakawa K. Mouse with Na(v)1.1 haploinsufficiency, a model for Dravet syndrome, exhibits lowered sociability and learning impairment. *Neurobiology of Disease* (2012) 49: 29-40 (査読有)

〔学会発表〕(計 件)

1. 宮本浩行、槌本佳子、ヘンシュ貴雄 「睡眠による視覚野機能的神経結合の促進と抑制性制御」第18回視覚科学フォーラム 特別企画シンポジウム(群馬県前橋市、2014年8月19日)

2. Miyamoto H, Hensch TK 「Sleep strengthens local cortical connectivity

through inhibition」35th Annual International Conference of the IEEE engineering in Medicine and Biological Society (大阪府大阪市、2013年7月7日)

4. 宮本浩行 「セロトニン系によって統合されるサーカディアン生物時計と睡眠・覚醒」日本睡眠学会大38回定期学術集会(秋田県秋田市、2013年6月27日)

5. Ogiwara I, Miyamoto H, Morita N, Atapour N, Mazaki E, Inoue I, Itohara S, Yanagawa Y, Obata K, Furuichi T, Hensch T, Yamakawa K. Nav1.1 haploinsufficient excitatory and inhibitory neurons play distinct roles in the epileptic pathology in Dravet syndrome model mice. Annual Meeting of Society for Neuroscience, (San Diego, USA. 2013年11月12日)

6. 宮本浩行 「セロトニン系によって統合されるサーカディアン振動体と睡眠・覚醒交替」日本睡眠学会第37回定期学術集会, 横浜(神奈川県横浜市、2012年6月29日)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)
取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ

<http://miyamotosleep.web.fc2.com/>

プレスリリース

睡眠・覚醒機能と24時間リズムをセロトニンが束ねる - 睡眠・覚醒のサーカディアンリズム形成機構を神経活動レベルで解明 - (理化学研究所)

<http://www.riken.jp/pr/press/2012/20121017/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮本浩行 (Miyamoto Hiroyuki)

独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター 研究員 研究者番号:

90312280