

令和 4 年 5 月 28 日現在

機関番号：12102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22674

研究課題名(和文) 遺伝学的手法を用いた、レム睡眠の制御メカニズムと機能の解析

研究課題名(英文) Analysis of the mechanism and function of REM sleep with genetic tools

研究代表者

柏木 光昭 (Kashiwagi, Mitsuaki)

筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・助教

研究者番号：40879285

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々の睡眠はノンレム睡眠とレム睡眠という2つの異なるステージから成る。近年の研究からノンレム睡眠のメカニズムと機能の一端が徐々に明らかになってきているものの、レム睡眠のメカニズムと機能は現在でもあまり理解が進んでいない。

私は近年、レム睡眠制御への積極的な関与が示唆されている延髄に着目した。その結果、延髄でレム睡眠を強く誘導する神経細胞の遺伝学的同定に成功した。本研究で私が確立した高効率でレム睡眠を任意のタイミングでコントロールできるマウスの活用により、今後レム睡眠の機能に関する研究も進展する可能性が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、これまで理解が進んでいなかった延髄領域でレム睡眠を生み出す神経回路メカニズムを明らかにした。本研究を端として、レム睡眠のメカニズムの全貌の解明に貢献する可能性が期待される。また、レム睡眠はストーリー性に富む夢を生じる脳状態であると知られる。レム睡眠のメカニズム解析は夢を生じるメカニズムやその機能に関する考察にも発展する可能性が期待される。

研究成果の概要(英文)： Mammalian sleep comprises two distinct stages: REM (rapid eye movement) sleep and non-REM sleep. The mechanisms and functions of REM sleep are still poorly understood.

I have focused on the medulla, where active involvement in the regulation of REM sleep has been recently suggested. As a result, I have succeeded in genetically identifying neurons that strongly induce REM sleep. By utilizing mice in which the amount of REM sleep can be artificially controlled established in this study, these results are expected to contribute to understanding the functions of REM sleep in the future.

研究分野：神経科学

キーワード：マウス 化学遺伝学 レム睡眠 ノンレム睡眠 脳幹

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

我々ヒトを含む哺乳類の睡眠はレム睡眠(急速眼球運動睡眠: Rapid Eye Movement (REM) sleep)とノンレム睡眠(non-REM sleep)という2つの異なる睡眠ステージから構成される。ノンレム睡眠中は脳皮質の神経細胞はゆったりと同期した活動を示し、徐波(0.5-4.0Hz)と呼ばれる特徴的な脳波が観察される。レム睡眠中は睡眠中にも関わらず、脳皮質や自律神経は活発な活動を示す。2つの睡眠ステージは全く異なる特徴を示す。レム睡眠・ノンレム睡眠ともにそれぞれ強い恒常性の制御下にある。したがって、レム睡眠・ノンレム睡眠ともに固有の役割を持つと考えられる。近年の観察技術の進展やアイデアに富むユニークな手法から、ノンレム睡眠が記憶に重要な役割を果たすことが支持されてきている。その一方、レム睡眠の機能を報告している論文はあるものの、これらの研究ではレム睡眠という脳状態そのものというよりはレム睡眠中に介入を行った神経細胞集団の機能を明らかにしたという側面が強く、レム睡眠の機能に関する知見は未だに統一的理解に乏しい。また、古典的な実験からレム睡眠の制御には脳幹が重要であると考えられてきているが、レム睡眠を制御する神経基盤の遺伝学的解析はあまり進んでいなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では特異性の高い遺伝学的手法を用い、理解が進んでいない脳幹内の延髄によるレム睡眠の制御メカニズムの解明を試みた。

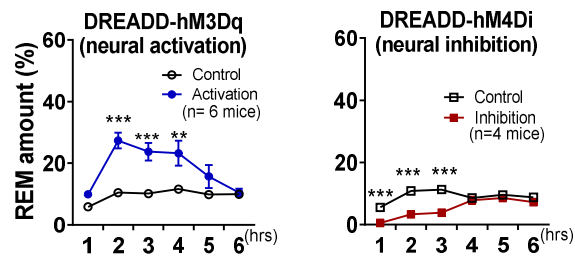
## 3. 研究の方法

脳幹は様々な機能を持つ神経細胞群が混在しているため、薬理や破壊などの従来用いられてきた特異性の低い手法ではレム睡眠制御細胞の同定は困難であると考えた。そのため、時間分解能や特異性の高い遺伝学的手法を用いた。具体的には、神経活動を操作する方法として化学遺伝学と光遺伝学を用いた。アデノ随伴ウイルスベクターを用い、目的とした脳部位の神経細胞のみの遺伝学的標識を行った。また、睡眠覚醒状態の判別のため、脳波筋電図記録を行った。

## 4. 研究成果

化学遺伝学とファイバーフォトメトリーを用いて延髄の神経細胞の解析を行ったところ、人為的活性化によりレム睡眠が誘導され、人為的抑制によりレム睡眠量が減少し、さらにはレム睡眠中に活動が上昇する神経細胞集団の遺伝学的同定に成功した(図1: 柏木ら、投稿準備中)。

図1: 延髄におけるレム睡眠の促進を担うニューロンの同定 (柏木ら, 投稿準備中)



化学遺伝学的手法を用い、レム睡眠の誘導を担うニューロンの遺伝学的同定に成功した。(延髄の神経細胞を活性化した後、レム睡眠量が上昇するのに対し(左図)、活動抑制によりレム睡眠が抑制される(右図))

続けて、レム睡眠の誘導を担う下流脳部位の同定を試みた。延髄に抑制型の光遺伝学受容体を発現させ、橋へと投射する軸索を抑制したところレム睡眠量が減少したことから、延髄に存在する神経細胞のうち、橋へと投射する神経細胞がレム睡眠の誘導に関わる事を明らかにした(柏木ら, 投稿準備中)。今後、今回の発見を活用し、レム睡眠量の人為的操作を通じたレム睡眠の機能解析の前進の可能性も期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakai Ayaka, Fujiyama Tomoyuki, Nagata Nanae, Kashiwagi Mitsuaki, Ikkyu Aya, Takagi Marina, Tatsuzawa Chika, Tanaka Kaeko, Kakizaki Miyo, Kanuka Mika, Kawano Taizo, Mizuno Seiya, Sugiyama Fumihiro, Takahashi Satoru, Funato Hiromasa, Sakurai Takeshi, Yanagisawa Masashi, Hayashi Yu	4. 巻 216
2. 論文標題 Sleep Architecture in Mice Is Shaped by the Transcription Factor AP-2	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genetics	6. 最初と最後の頁 753 ~ 764
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1534/genetics.120.303435	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kashiwagi Mitsuaki, Hayashi Yu	4. 巻 15
2. 論文標題 The existence of two states of sleep as a common trait in various animals and its molecular and neuronal mechanisms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Opinion in Physiology	6. 最初と最後の頁 197 ~ 202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cophys.2020.03.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Maezono Sakura Eri B., Kanuka Mika, Tatsuzawa Chika, Morita Miho, Kawano Taizo, Kashiwagi Mitsuaki, Nondhalee Pimpimon, Sakaguchi Masanori, Saito Takashi, Saido Takaomi C., Hayashi Yu	4. 巻 7
2. 論文標題 Progressive Changes in Sleep and Its Relations to Amyloid- Distribution and Learning in Single App Knock-In Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eneuro	6. 最初と最後の頁 1 ~ 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0093-20.2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------