

令和 6 年 6 月 18 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：21K06435

研究課題名（和文）視床が睡眠の深さを規定するメカニズムの解明

研究課題名（英文）Thalamic regulation of sleep depth

研究代表者

本城 咲季子（Honjoh, Sakiko）

筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・助教

研究者番号：30551379

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：ノンレム睡眠時に特異的な徐波脳波は睡眠の深さを表す唯一の指標である。本研究では視床内側腹側核のマトリックス細胞が徐波生成において果たす役割を解析した。まず、自由行動下のマウスにおいて、脳波、大脳皮質活動電位、視床マトリックス細胞活動電位の同時計測を行った。その結果、視床マトリックス細胞は大脳皮質における徐波と同期して発火している事を見いだした。また光遺伝学により視床マトリックス細胞を低頻度で刺激すると徐波様の神経活動が大脳皮質において誘導された。さらに、視床マトリックス細胞の除去により、大脳皮質徐波が低下した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに睡眠・覚醒時間を制御する脳領域は報告されているが、睡眠の深さを制御する神経メカニズムは不明のままである。本研究によって、睡眠の深さの唯一の指標とされる「徐波」の生成に視床腹側内側核のマトリックス細胞が関与している事を世界で初めて見いだした。本研究がさらに発展し睡眠の深さを制御するメカニズムが十分に解明されれば、効率よく深い睡眠を取る手法の開発に貢献する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Slow-wave EEG, which is specific to non-REM sleep, is the only indicator of sleep depth. In this study, we investigated potential roles played by matrix cells in the ventromedial nucleus of the thalamus in slow wave generation. First, we simultaneously measured electroencephalograms, cerebral cortical action potentials, and thalamic matrix cell action potentials in freely moving mice. As a result, we found that thalamic matrix cells fire in synchronization with slow waves in the cerebral cortex. Furthermore, when thalamic matrix cells were stimulated at a low frequency using optogenetics, slow wave-like neural activity was induced in the cerebral cortex. Furthermore, ablation of thalamic matrix cells reduced cortical slow waves.

研究分野：神経科学

キーワード：大脳皮質 視床 ノンレム睡眠 徐波 神経活動 光遺伝学

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

睡眠は神経系をもつ生物種に普遍的に観察される。また睡眠は恒常的な制御を受けており、生物は眠らずに覚醒し続ける事が出来ない。覚醒が続けば続くほど睡眠圧(眠気)が蓄積し、生物はいつかの時点で必ず眠りに落ちる。また長期覚醒の後の断眠は深く、長くなる。しかし、この睡眠量の恒常的制御のメカニズム、および睡眠圧の分子の実体ははまだ明らかではない。

睡眠・覚醒は神経回路によって制御された生命現象であり、受動的な疲労ではない。これまでに覚醒・ノンレム睡眠・レム睡眠を制御する複数の脳領域が同定されている。これらの脳領域を賦活化、あるいはその活動を阻害すると覚醒や睡眠への遷移が誘導される。しかし、これまでの研究は睡眠・覚醒時間の制御に集中しており、睡眠の深さがどのように規定されるのかは未解明のままであった。

睡眠の深さはノンレム睡眠に特異的な脳波、「徐波」によって推定される。徐波は0.5-4Hzの低周波数成分であり、大脳皮質神経細胞群の膜電位の振動を反映していると考えられている。睡眠圧が高まるとなぜこの徐波が大きくなるのか、その神経メカニズムは明らかではなかった。

2. 研究の目的

本研究は睡眠の深さがどのように規定されているのか理解するために、眠りの深さの指標とされる徐波脳波の神経基盤を明らかにする事を目的とする。

3. 研究の方法

徐波生成に重要な脳領域のスクリーニング

ノンレム睡眠特異的な「徐波」脳波の生成に寄与する脳領域を特定するために、中枢神経系の発生を完了した野生型マウス(p90~)において、脳領域特異的な細胞除去を行う。細胞除去を行うために、アデノ随伴ウイルス(AAV)をベクターとして用い、tobacco etch virusたんぱく質切断酵素(TEVp)およびTEVpによって切断を受ける事で活性化する改変型Caspase(taCasp3)を様々な脳部位に導入した。AAVの脳領域特異的な感染手術と同時に、脳波・筋電シグナルを計測するための電極を頭蓋および頸部筋肉に挿入した。これらの手術後、3-4日の回復期間の後に神経活動記録装置に接続し、AAV導入から4週間後まで神経活動記録を行った。記録したデータはオフラインで睡眠覚醒判定を行い、覚醒・ノンレム・レム睡眠の時間、さらに脳波の周波数成分解析を行った。

徐波生成に重要な脳領域の神経活動記録

スクリーニング()で同定された脳領域に微小電極(Neuronexus社シリコンプローブ)を慢性的に留置する手術を行った。同時に脳波・筋電用電極もインプラントし、回復期間の後、非麻酔自由行動下における神経活動記録を行った。単一神経細胞の活動電位を解析するため、30kHzのサンプリングレート記録を行い、300-5kのバンドパスフィルターを用いて高周波数成分を抽出した。その後、閾値を超えるイベントを抽出し、wave_clusを用いてスパイクの分離を行った。

徐波生成に重要な脳領域の神経活動操作

成体野生型マウスのスクリーニング()で同定された脳領域に、光遺伝学受容体のチャンネルロドプシン(ChR2)あるいはアニオンチャンネルロドプシン(StGtACR2)をAAVを用いて局所的に発現させた。当該脳領域の直上に光刺激用オプトファイバーを挿入し、脳波・筋電電極をインプラントした。回復期間の後に神経活動記録装置に接続し、青色光(462nm)を照射する事で当該脳領域の神経活動を誘導、あるいは阻害した。またその徐波脳波に与える影響をオフラインで解析を行った。

4. 研究成果

睡眠覚醒制御領域、直接的に徐波を生み出している大脳皮質、大脳皮質に密に投射している視床など様々な脳領域において神経細胞除去を行った結果、視床神経核の除去によって、視床由来とされる脳波「紡錘派」に加えて、「徐波」もノンレム睡眠中に減衰する事を明らかにした。視床の徐波生成に対する貢献を明らかにした。

睡眠覚醒サイクルを通じた視床の神経活動記録を行った。その結果、ノンレム睡眠中の視床神経細胞の発火頻度は覚醒時に比べ大きく低下し(~80%)かつバースト発火という特殊な発火パターンを示す事を示した。視床におけるバースト発火と大脳皮質における徐波発生のタイミングについて解析したところ、この視床における低頻なバースト発火が、大脳皮質における徐波と同期している事を明らかにした。この結果はノンレム睡眠中の視床神経活動が徐波の生成に寄与することをサポートする。

ノンレム睡眠時の視床神経の発火パターンを模倣し、低頻度で視床神経核を刺激したところ大脳皮質において徐波様の神経活動パターンが観察された。また、ノンレム睡眠時に特異的にし

視床神経核の活動を阻害したところ、徐波の減衰が観察された。

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 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 本城咲季子
2. 発表標題 睡眠・覚醒状態を制御する神経回路
3. 学会等名 日本解剖学会総会（招待講演）
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 Sakiko Honjoh
2. 発表標題 Thalamic regulation of wake and sleep
3. 学会等名 The 1st CJK International Symposium（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sakiko Honjoh
2. 発表標題 Thalamic matrix cells orchestrate cortical activity in both wakefulness and NREM sleep
3. 学会等名 World Sleep 2022（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
---------	---------