

令和 6 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：2022～2023

課題番号：22K19354

研究課題名（和文）食事による新規な睡眠制御機構の解明とその応用

研究課題名（英文）Elucidation and application of a novel mechanism of sleep regulation by diet

研究代表者

林 悠（Yu, Hayashi）

筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・客員教授

研究者番号：40525812

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）：睡眠の質を決める重要な要素である睡眠構築（レム睡眠とノンレム睡眠のサイクル）は、加齢や疾患発症の影響を受ける。睡眠の量に加えて、睡眠の質の変化が認知症を始めとする様々な疾患のリスク因子であることから、有効な改善方法の開発が求められる。我々はマウスにおいて、特定の飼料がレム睡眠や徐波睡眠（深いノンレム睡眠）を有効に増加させる可能性を見出した。食事が睡眠構築に影響を及ぼすメカニズムの解明に取り組んだ結果、関係する神経回路や、食事のどのような要素（特定の栄養成分、硬さ等）が睡眠構築に作用するかについて、理解を進めることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食事が脳の生理状態に与える影響について、睡眠を介した新たな機能性に光を当てる本研究は、「食事」「睡眠」「健康」の関係をつなぐメカニズムの解明に貢献した。睡眠改善をうたった商品の科学的根拠などが問題視される中、良質な睡眠を導くことができる食事療法が開発できれば、睡眠障害の改善に大きく貢献できると期待される。精神・神経系疾患に睡眠障害はつきものだが、根本的治療の見通しが未だに立たない疾患が数多く存在する。本研究を起点として、食事の力で認知症等の疾患の予防・治療が導けることが明らかとなれば、医学的にも大きな進歩となると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Sleep architecture (REM and non-REM sleep cycles), an important factor in determining sleep quality, is affected by aging and disease onset. Since changes in sleep quality, in addition to sleep quantity, are risk factors for various diseases, including dementia, the development of effective improvement methods is required. We found that certain diets may effectively increase REM sleep and slow wave sleep (deep non-REM sleep) in mice. Our efforts to elucidate the mechanisms by which diet influences sleep architecture have led to a better understanding of the neural circuits involved and what elements of the diet act on sleep architecture.

研究分野：神経科学

キーワード：睡眠

1. 研究開始当初の背景

夢を生じることで知られるレム睡眠は、一部の複雑な脳を持つ動物に固有な睡眠であり、複雑な脳の形成・維持に関わっている可能性がある。しかしながら、その生理的意義はほとんど分かっていなかった。近年の我々の研究から、レム睡眠中に大脳皮質の毛細血管血流が大幅に上昇することが判明するなど (Tsai et al., *Cell Reports*, 2021)、レム睡眠が脳への栄養供給や老廃物回収に関わる可能性が浮上した。一方、ヒトではレム睡眠の量は加齢に伴い減少するという特徴があり、特にレム睡眠の量が少ないヒトでは認知症のリスクが高まる (Pase et al., *Neurology*, 2017)。従って、ヒトに適用可能なレム睡眠の増加方法の開発が望まれている。我々はマウスにおいて、特定の食事にレム睡眠を増やす作用があることを見出した (Okamura, Taniguchi, Kashiwagi et al., 未発表)。この発見を元に、メカニズムの解明を進めることで、ヒトに適用可能な画期的なレム睡眠増加方法の開発ができるものと期待される。

2. 研究の目的

そこで本研究では、食事がマウスの睡眠に作用するメカニズムの解明を目指した。具体的には、どのような神経回路や神経細胞群に関わるのかや、食事のどのような要素が睡眠パターンに影響するのかについて、解明することを目指した。

3. 研究の方法

実験用マウスに与える飼料は、様々な形状・組成のものが市販されている。我々はこれまでに、様々な飼料について、それぞれを与えられたマウスの睡眠パターンの比較を行ってきた。その結果、特定の飼料をマウスに与えると、レム睡眠が増加することを発見した。そこでまず、将来的にヒトへの応用を目指すべく、本研究により、この飼料がどのようなメカニズムによってレム睡眠の増加をもたらしたのかについて解析した。我々はこれまでに、レム睡眠やノンレム睡眠の制御に関わる神経細胞群を脳幹において同定している (Hayashi et al., *Science*, 2015; Kashiwagi et al., *Current Biology*, 2020)。また、国内外の他の研究グループによっても、睡眠制御に関わる神経回路が複数同定されている。そこで、我々が見出した特定の飼料によるレム睡眠の増加の作用に、こうした神経回路や神経細胞群のいずれかが関与しているかを検討した。そのために、神経細胞種特異的なプロモーターを組み合わせた遺伝学的技術を駆使することで、それぞれの神経細胞群に、細胞死を誘導する作用があるジフテリア毒素 A の遺伝子を発現させることで、それぞれの神経細胞群を遺伝学的に破壊した。そのような遺伝子組換えマウスと対照マウスとの間で、当該飼料を与えた際と与えなかった際、それぞれの睡眠パターンを比較した。

4. 研究成果

レム睡眠増加作用のある特定飼料に関して、その作用に、これまでに我々や他の研究グループが同定した睡眠制御細胞群が関与しているかを明らかにするために、これらの神経細胞群のいずれかを含む細胞群に細胞死を誘導するジフテリア毒素 A の遺伝子を発

現させて生得的に破壊したマウスを作製した。具体的には、糸原重美博士らによって開発された DNA 組換え酵素 Cre 依存的に神経細胞においてジフテリア毒素 A 遺伝子を発現するノックインマウス (NSE-loxP-stop-loxP-DTA マウス) を分譲していただき、様々な Cre マウスと交配し、食事に依存した睡眠制御への影響を調べた。そのうちの1つの Cre マウスで、食事による睡眠への影響に対照マウスとの違いが見られた。まず、このマウスでは、通常の飼料を与えた条件下では、レム睡眠の合計時間が対照群と比べて減少していた。続いて、このジフテリア毒素 A 導入マウスに対して、レム睡眠増加作用のある特定飼料を与えたところ、当該飼料を与えた対照群のマウスと比べて大幅にレム睡眠が増加していることが判明した。レム睡眠のみならず、ノンレム睡眠も増加し、あたかも若齢期のような良質な睡眠が誘導された。従って、この飼料によるレム睡眠増加の作用は、これらの神経細胞群に機能が影響することが判明した。また、今回の解析で作出したジフテリア毒素 A 導入マウスでは、注目している神経回路以外の神経細胞群にも影響が生じていることが考えられる。そこで、さらに細かく分けて解析できるよう、細胞種特異的かつ DNA 組換え酵素 Cre 依存的にジフテリア毒素 A 遺伝子を発現するノックインマウスも Crispr-Cas9 ゲノム編集技術により構築した。このマウスを、特定の脳部位にのみ Cre を発現するマウスや、特定の神経伝達物質を産生する神経細胞群でのみ Cre を発現するマウスと掛け合わせることで、より破壊する神経細胞群を絞り込み、その際の、特定飼料による睡眠への影響を検討した。その結果、特定の脳部位や神経細胞サブタイプに絞り込むことに成功した。このように、本研究により、詳細な回路の解明を進めることができた。また、当該飼料によるレム睡眠増加の効果が、当該飼料の摂取終了後にどの程度持続するののかについても検討した。当該飼料から通常の飼料に切り替えて、2週間後の睡眠を計測したところ、レム睡眠の量は対照群と同程度に戻っていた。従って、当該飼料を継続して摂取しないと、レム睡眠の量は速やかに元のレベルに戻ることが判明した。さらに、当該飼料の何が特別なのか、例えば特定の栄養成分なのか、それとも歯ごたえなどが重要なのか、などについても検証を進めた。その結果、同一メーカーが提供する複数の飼料で効果を比較した実験から、どの要素が重要かについても一端を解明することに成功した。最後に、食事によるレム睡眠の増加が実際、健康に有益な作用があるのかを検証した。そのために、特定の疾患のモデルマウスに対して、この手法によってレム睡眠を増加させて際の、病態の評価を行った。その結果、有意な効果が認められた。

以上の通り、本研究により、我々が見出した特定の食事によるレム睡眠の増加の作用について、関与する神経回路や、食事のどの要素が関与するのか、さらには、疾患の予防治療に有効である可能性などを見出すことができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

| | |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名 Kawano Taizo, Kashiwagi Mitsuaki, Kanuka Mika, Chen Chung-Kuan, Yasugaki Shinnosuke, Hatori Sena, Miyazaki Shinichi, Tanaka Kaeko, Fujita Hidetoshi, Nakajima Toshiro, Yanagisawa Masashi, Nakagawa Yoshimi, Hayashi Yu | 4. 巻 42 |
| 2. 論文標題 ER proteostasis regulators cell-non-autonomously control sleep | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Cell Reports | 6. 最初と最後の頁 112267 ~ 112267 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2023.112267 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 Yasugaki Shinnosuke, Okamura Hibiki, Kaneko Ami, Hayashi Yu | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Bidirectional relationship between sleep and depression | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Neuroscience Research | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2023.04.006 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Okamura Hibiki, Yasugaki Shinnosuke, Suzuki-Abe Haruka, Arai Yoshifumi, Sakurai Katsuyasu, Yanagisawa Masashi, Takizawa Hotaka, Hayashi Yu | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Long-Term Effects of Repeated Social Defeat Stress on Brain Activity during Social Interaction in BALB/c Mice | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 eNeuro | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0068-22.2022 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Nakai Ayaka, Kashiwagi Mitsuaki, Fujiyama Tomoyuki, Iwasaki Kanako, Hirano Arisa, Funato Hiromasa, Yanagisawa Masashi, Sakurai Takeshi, Hayashi Yu | 4. 巻 17 |
| 2. 論文標題 Crucial role of TFAP2B in the nervous system for regulating NREM sleep | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Molecular Brain | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13041-024-01084-8 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 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 |
|---------|---------|
|---------|---------|