

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：82611

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860681

研究課題名(和文) 睡眠-覚醒リズムの異常が神経変性疾患の病態を修飾する機構の探索的研究

研究課題名(英文) Toward understanding the mechanism that mediates the bidirectional relationship between sleep disturbance and neurodegeneration

研究代表者

皆川 栄子 (Minakawa, Eiko)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 疾病研究第四部・流動研究員

研究者番号：20726252

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-覚醒リズムの異常は多くの神経変性疾患に共通してしばしば出現する症状であり、従来、睡眠-覚醒の制御部位に神経変性が波及して出現すると考えられてきた。一方、近年の疫学研究からは睡眠障害が神経変性を増悪させる可能性が示唆されているが、患者特有の睡眠障害が神経変性疾患の脳病理に与える影響は未知である。本研究では神経変性疾患モデルマウスに患者特有の睡眠障害を誘発することに成功し、中途覚醒の回数とマウスの脳病理の重症度との間に有意な正の相関が見られることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Sleep disturbance (SD), especially sleep fragmentation, is a common symptom among patients of neurodegenerative diseases. Although recent epidemiological studies have suggested a bidirectional relationship between SD and neurodegeneration, whether SD similar to the patients aggravates neurodegeneration remains to be elucidated mainly due to technical limitations in producing relevant animal models. Here we successfully induced chronic sleep fragmentation in a mouse model of neurodegenerative disease and demonstrate that the severity of brain pathology in this mouse line exhibits a significant positive correlation with the extent of sleep fragmentation.

研究分野：神経内科学

キーワード：睡眠障害 中途覚醒 神経変性疾患 認知症 アルツハイマー病

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病(AD)、パーキンソン病(PD)などのさまざまな神経変性疾患の患者には、入眠困難・中途覚醒の増加・熟眠感の欠如・日中の眠気などの睡眠にまつわる諸症状がしばしば出現する。これらの疾患における睡眠の異常には疾患特異的な要素もあるが、中途覚醒の増加および深く良質な睡眠の指標である徐波睡眠の減少、ならびにそれらに伴う総睡眠時間の減少と日中の眠気は多くの神経変性疾患に共通して出現する。これらの症状は「睡眠-覚醒リズムの異常」とも総称され、睡眠特性の加齢性変化との類似点が多いが、神経変性疾患患者では同年齢の健常高齢者と比較してその頻度が高く、また疾患の進行とともに睡眠の異常も増悪することが多い。

従来、これらの睡眠の異常は、各々の神経変性疾患特有の脳病理が睡眠-覚醒や概日リズムの制御にかかわる脳幹・中脳・視床・前脳基底部などにおよんだ結果として出現するものと考えられてきた。一方、最近の疫学研究の結果からは、従来の理解とは逆に「睡眠の異常が神経変性疾患の病態を修飾する」ことが示唆されている。例えば中途覚醒の増加をはじめとする睡眠の異常がADの前駆症状または危険因子であることが複数の疫学研究から示唆されている。

しかしながら、患者特有の睡眠の異常と神経変性疾患の脳病理との因果関係はいまだ明らかではない。例えばADモデルマウスに睡眠の異常を誘発するとAD脳病理が悪化するとの報告はあるが、これらの研究で用いられた睡眠の異常は断眠やレム睡眠遮断などであり、AD患者の睡眠の異常とは大きく異なっている。

2. 研究の目的

神経変性疾患患者特有の睡眠障害が神経変性を悪化させるかどうかを明らかにする。

3. 研究の方法

非認知症高齢者や神経変性疾患患者特有の睡眠の異常に類似した中途覚醒の増加・徐波睡眠の減少・日中の眠気と活動量低下をマウスに誘発する手法として、最近開発された睡眠障害モデルマウス作製装置(メルクエスト社、SW-15-SD;以下SDケージ)を用いた。この装置は前記のような睡眠障害を従来の装置と比べて低い侵襲で長期間マウスに誘

発することが可能である。

本研究では、神経変性疾患モデルマウスとして、代表的なADモデルマウスの一つであるAPP^{swe}/PS1^{dE9}(以下ADマウス)を用いた。9週齢のADマウスをSD(sleep disturbance)群、WC(wheel cage)群、NC(normal cage)群の3群に分け、以下のように飼育を行った。SD群は、順化のために回転輪ケージで個別に10日間飼育した後、SDケージで個別に4週間飼育した。同じ実験期間(10日+4週間)の間、NC群のマウスは通常のプラスチックケージで個別に飼育し、WC群のマウスは回転輪ケージ(メルクエスト社、SW-15S)で個別に飼育した。すべてのマウスは明期12時間・暗期12時間の光条件下で飼育し、餌と水は自由摂取とした。SD群とWC群においては実験期間中、回転輪の輪回し数を1分ごとに記録してアクトグラムに表記するとともに、明期・暗期および睡眠障害誘導の前後に分けて活動量の評価を行った。これら3群のマウスと、ベースラインでのコントロールとして9週齢のADマウス脳において海馬を含む冠状断での免疫組織化学染色を行い、アミロイドβ(Aβ)陽性プラークの数と面積を定量的に評価した。

4. 研究成果

WC群のマウスは明期には活動が低く、暗期には活発に活動し、実験期間中にわたって光条件に同期したリズムを示した(図1)。従って、この週齢のADマウスは定常状態では睡眠障害を呈さないことが示唆された。

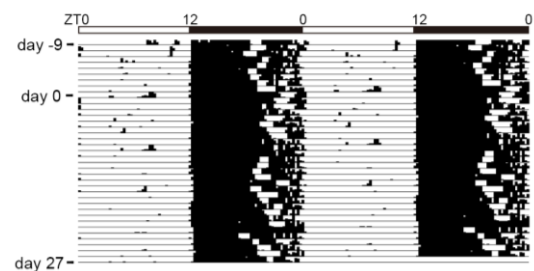


図1: WC群の代表的なアクトグラム。

一方、SD群においては、回転輪ケージによる順化に引き続いてSDケージに移動させると明期に断続的な活動がみられ、また暗期の活動量が減少した(図2・3)。従って、SDケージにより中途覚醒の増加と日中の活動量低下という患者特有の睡眠障害が誘発されていることが示唆された。

ただし、睡眠障害の程度には個体差が見られた。そこで、一晩あたりの中途覚醒の回数

の増加の程度を統計学的に解析し、その結果に基づいて SD 群を SD-s 群 (severe, 睡眠障害重症群; 図 2) と SD-m 群 (mild, 睡眠障害軽症群; 図 3) とに分類し、以後の解析に用いた。

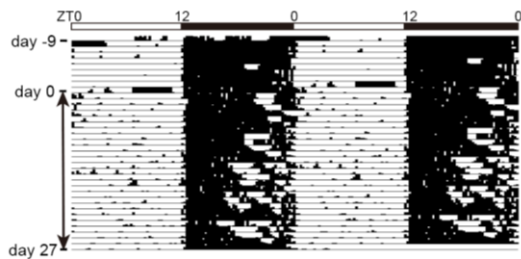


図 2 : SD-s 群の代表的なアクトグラム。
 図中矢印は SD ケージで飼育した期間を示す。

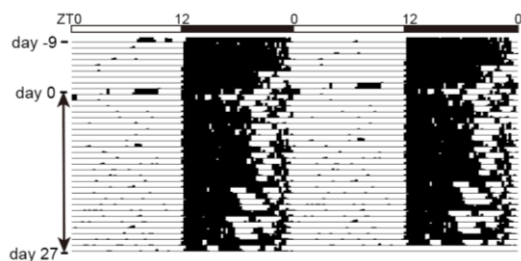


図 3 : SD-m 群の代表的なアクトグラム。
 図中矢印は SD ケージで飼育した期間を示す。

次に、これらの活動量の変化について定量的な評価を行った。その結果、SD-m 群および SD-s 群では、SD ケージ飼育に伴って明期中途覚醒の回数の有意な増加が見られた (図 4)。

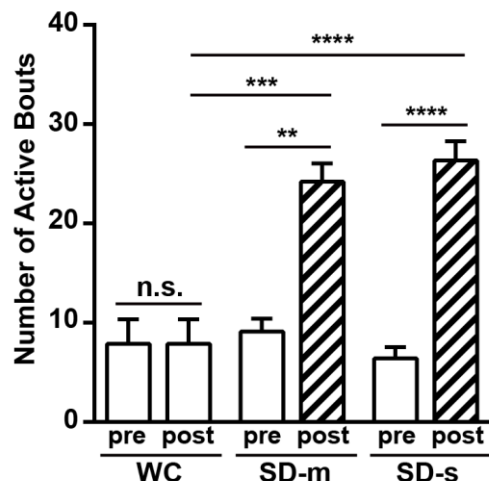


図 4 : WC 群、SD-m 群および SD-s 群における明期中途覚醒の回数。

** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$, **** : $p < 0.0001$,
 n.s.: 有意差なし。

一方、実験期間中の明期・暗期を通じた活動量については、WC 群・SD-m 群・SD-s 群の間に有意差は見られなかった (図 5)。

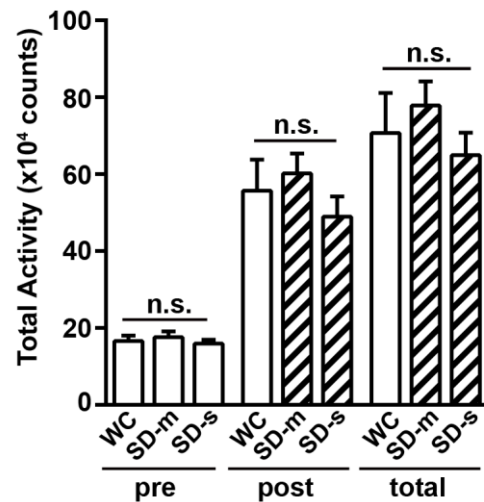


図 5 : WC 群、SD-m 群および SD-s 群の実験期間中の明期および暗期を通じた積算活動量。

n.s.: 有意差なし。

次に、これらのマウスの脳病理学的評価を行った。A β プラーク (老人斑) の蓄積は AD 患者脳における代表的な病理所見であり、本研究で用いた AD マウスにおいてもこの病理所見が再現されている。

病理解析の結果、NC 群 (図 6A) と比較して WC 群 (図 6B) では A β プラークの減少傾向が見られた。一方、SD-m 群 (図 6C) および SD-s 群 (図 6D) では WC 群と比較して A β プラークが増加していた。

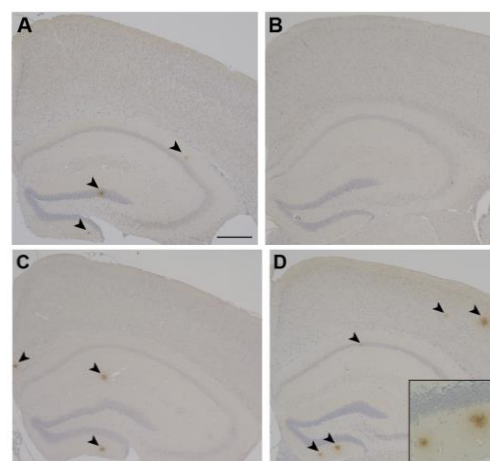


図 6 : 海馬を含む脳冠状断の A β プラーク。

A : NC 群、B : WC 群、C : SD-m 群、D : SD-s 群。矢頭は A β プラークを示す。D の右下枠内は代表的な A β プラークの拡大図。

さらに、これらの A β プラークの総面積が同一切片の脳断面積に占める割合を定量したところ、SD-s 群では WC 群に比べて有意な増加が見られた (図 7)。実験群ではベースライン (day -9) と比較して A β プラークの増加が見られたことから、実験群間の A β プラークの差異は実験期間中に生じたものであることが示唆された。

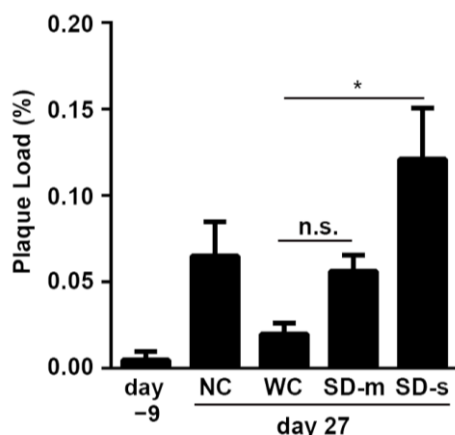


図 7 : A β プラーク総面積の定量的評価。

*: $p < 0.05$, n.s.: 有意差なし。

最後に、夜間の中途覚醒回数と A β プラーク総面積との相関解析を行ったところ、両者は有意な正の相関を示すことが明らかになった (図 8)。

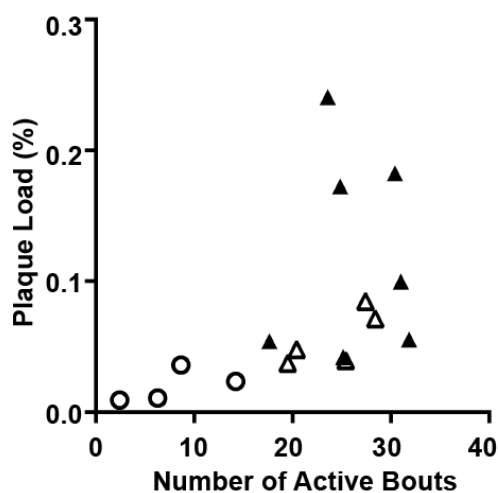


図 8 : A β 病理と中途覚醒回数との相関。

○ : WC 群、△ : SD-m 群、▲ : SD-s 群。

(相関係数 $r = 0.52$, $p = 0.03$ 。)

以上より、本研究では、患者特有の睡眠障害を神経変性疾患モデルマウス的一种である AD マウスに誘発することに成功し、この睡眠障害が AD マウスの脳病理を悪化させることを明らかにした。今回の結果は、中途覚

醒の増加による睡眠の断片化が認知機能低下と孤発性 AD 発症の危険因子であるという疫学研究の結果と一致していることから、患者特有の睡眠の異常と神経変性疾患の脳病理との因果関係を明らかにする上で重要な知見が得られたものと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件) (査読有)

Minakawa EN*, Miyazaki K, Maruo K, Yagihara H, Fujita H, Wada K, Nagai Y*. Chronic sleep fragmentation exacerbates amyloid β deposition in Alzheimer's disease model mice, *Neuroscience Letters* (in press), <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2017.05.054> (*: co-corresponding authors.)

[学会発表] (計 3 件)

① 皆川栄子, 宮崎歴, 丸尾和司, 八木原紘子, 藤田寛美, 和田圭司, 永井義隆. 中途覚醒の増加はアルツハイマー病モデルマウスのアミロイド β 病理を悪化させる. 日本睡眠学会第 42 回定期学術集会, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市), 2017 年 6 月 (採択済).

② Minakawa EN, Miyazaki K, Maruo K, Yagihara H, Fujita H, Wada K, Nagai Y. Chronic sleep fragmentation exacerbates amyloid β deposition in Alzheimer's disease model mice, 第 40 回日本神経科学大会, 幕張メッセ (千葉県幕張市), 2017 年 7 月 (採択済).

③ 皆川栄子. 良質な睡眠による神経変性疾患の発症進展抑制の可能性. 第 39 回日本生物学的精神医学会・第 47 回日本神経精神薬理学会合同年会, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市), 2017 年 9 月 (招待講演).

[図書] (計 1 件)

Nagai Y and Minakawa EN. Drug Development for Neurodegenerative Diseases. In Wada K (Ed.) *Neurodegenerative Disorders as Systemic Diseases*. Springer Publishers, Inc., pp.183-216, 2015.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

皆川 栄子 (MINAKAWA, Eiko)

国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・疾病研究第四部・流動研究員

研究者番号 : 20726252