

平成25年4月30日

加齢に伴う睡眠・覚醒サイクル変化のメカニズム解明 ～何故眠りが浅くなるのか？何故早起きになるのか？～

研究代表者： 名古屋大学環境医学研究所 研究機関研究員 犬束 歩

[まとめ]

本研究では睡眠・覚醒を制御するオレキシン神経を時期特異的に脱落させるモデルマウスの確立に成功した。オレキシン神経の脱落マウスでは睡眠・覚醒の断片化とカタプレキシーとよばれる脱力発作とが頻繁に観察された。一方、こうしたオレキシン神経の脱落による睡眠行動の変化は90%以上の細胞が脱落した段階で初めて生じており、加齢による睡眠サイクルの変化にはその他の要因の関与が示唆される結果となった。

1. 研究の目的

睡眠は生命の維持に必要な不可欠な生理現象である。睡眠の質的低下は思考能力や判断力を損ない、それに伴う作業効率の低下や事故の発生は潜在的に大きな社会的損失をもたらしていると考えられる。睡眠は加齢とともに短く、浅くなることが広く知られているがその原因はいまだ明らかとはなっていない。

睡眠に関わる神経回路としては神経ペプチドの一つであるオレキシンを産生するオレキシン神経が重要な役割を果たしている。オレキシン神経は視床下部の外側野に散在する神経群であり、その投射先は青斑核、背側縫線核、結節乳頭体核といった睡眠・覚醒に大きな役割を果たす神経核を含んで

いる。また、オレキシンおよびオレキシン受容体のノックアウトマウスでは睡眠・覚醒の断片化が生じることが知られており、ナルコレプシーとよばれるヒトの睡眠障害との関連性が疑われている。実際、ヒトのナルコレプシー患者では脳脊髄液におけるオレキシン濃度が大幅に低下しており、死後脳の解析においてはオレキシン神経の脱落が確認されている。また、近年の研究では加齢に伴いオレキシン神経が減少していることがラットではあるが報告されている。

よって、本研究では、加齢によって生じるオレキシン神経の脱落が睡眠・覚醒に及ぼす影響を明らかとすることを目的とした。

2. 研究の方法・経過

オレキシン神経を特異的に脱落させるモデルマウスとしては、これまでに *orexin/ataxin-3* マウスが報告されている。しかし、このマウスでは出生直後から大多数のオレキシン神経が脱落しており、神経回路が完成した状態から加齢に伴い中規模の脱落が起こるといった生理的現象を再現することは難しかった。

そこで、我々は Tet off システムを利用した遺伝子改変マウスを作成することによってこの問題の解決を図った。具体的には、オレキシン神経でのみ tTA(テトラサイクリントランスアクチベーター)を発現する

orexin-tTA マウスと、*tTA* 存在下でのみその下流で DTA (ジフテリア毒素 A 断片) を発現する *TetO-DTA* マウスとを交配させることで、オレキシン神経特異的な神経細胞の脱落が起こる *orexin-tTA; TetO-DTA* マウスを作成した。さらに、*tTA* による DTA 発現誘導は DOX (ドキシサイクリン) の存在下では抑制されることから、このマウスに与える餌を DOX 入りの餌から DOX なしの餌へと切り替えることで、好きなタイミングでオレキシン神経の脱落を誘導することが可能である。

本研究ではこの *orexin-tTA; TetO-DTA* マウスを用いて時期特異的なオレキシン神経の脱落を誘導し、その際に生じる睡眠・覚醒の変化を、脳波および筋電図を経時的に記録することで解析した。

3. 研究の成果

orexin-tTA; TetO-DTA マウスに与える餌を DOX なしの餌へと切り替えてから 0.5 週、1 週、2 週、4 週経過した時点で、灌流固定を行い免疫染色によってオレキシン神経の細胞数を確認したところ、それぞれ 70%, 90%, 95%, 97% の減少が確認された。また、同時にオレキシン神経の投射先での軸索の様子を観察したところ、主要な投射先である青斑核や背側縫線核でオレキシンによる免疫染色陽性の神経線維が同様に減少していく様子が確認された。

このオレキシン神経の脱落過程における睡眠・覚醒の変化を解析したところ、睡眠・覚醒の断片化はオレキシン神経が 9 割近く脱落した段階で初めて生じてくることが判明した。また、ナルコレプシーの特徴であるカタプレキシーとよばれる脱力発作はオ

レキシン神経が約 95% 脱落した時点ではじめて現れており、神経変性が大きく進んだ段階で起きる病態であることが判明した。

4. 今後の課題

今回の解析では餌の切り替えによるオレキシン神経の脱落は 1 週間のうちに約 90% が既に進んでおり、加齢に伴う脱落に似た比較的穏やかな条件を安定して再現することは難しかった。今後はより短い間隔でオレキシン神経の脱落を確認することで、問題の解決を図りたい。

また、加齢による神経変性では、神経脱落が観察されなくとも神経伝達の効率が下がることで、睡眠・覚醒のリズムに変化が生じている可能性も考えられる。この可能性を追求するため、神経脱落を誘導する DTA の代わりに神経伝達物質の放出を抑制する TeNT (テタヌストキシン) を用いたモデルマウスの開発も進行中である。

5. 研究結果の公表方法

以上の研究結果は 2012 年の北米神経科学学会で発表した。また、関連する内容について二報の総説を発表した。

・ [Inutsuka A](#), Tabuchi S, Tsunematsu T, Black SW, Kilduff S, Tominaga M, Yamanaka A “New model mice for narcolepsy using timing controlled gene expression system in transgenic mice which induces specific ablation of orexin/hypocretin neurons” *Neuroscience* 2012, New Orleans, LA, U.S.A. Oct. 2012.

・ [Inutsuka A](#), Yamanaka A “The regulation of sleep and wakefulness by

the hypothalamic neuropeptide orexin/hypocretin.” Nagoya J Med Sci. 2013 Feb;75(1-2):29-36.

• Inutsuka A, Yamanaka A “The physiological role of orexin/hypocretin neurons in the regulation of sleep/wakefulness and neuroendocrine functions.” Front Endocrinol (Lausanne). 2013;4:18. doi: 10.3389/fendo.2013.00018. Epub 2013 Mar 6.