

国際交流助成（海外渡航）

（テーマ）

GABA 作動性ニューロンによる睡眠覚醒リズム制御機構の解明

（氏名）

三輪秀樹

（所属）

群馬大学大学院医学系研究科 遺伝発達行動学

（派遣先）

VA Boston Healthcare System, MA, USA

（報告内容）

<背景>

統合失調症死後脳解析の結果から、GABA 作動性ニューロンのサブクラスの 1 つであるパルブアルブミン (PV) 陽性 GABA ニューロンにおいて、抑制性神経伝達物質 GABA の合成酵素 GAD67 の発現が低下していることが報告されている (Lewis DA & Gonzalez-Burgos G, 2006)。この病態変化が「統合失調症発症の病因なのか。それとも発症に伴う単なる結果にすぎないのか」という疑問を検証するために、申請者は PV 陽性ニューロン特異的に GAD67 遺伝子を欠損させたコンディショナルノックアウト (cKO) マウスを作製し、PV 陽性ニューロン特異的 GAD67cKO マウスは統合失調症様行動異常を呈することを見出し、上記の分子発現変化は統合失調症発症の病因の一部であることを示唆した (Fujihara, **Miwa** et al., *Neuropsychopharmacology*, 2015)。さらに、この遺伝子改変マウスはケタミン麻酔下で脳波リズム（特に $\gamma$ 波および $\beta$ 波帯域）の形成・維持に異常があることを観察している (Kuki, **Miwa** et al., *Front Neural Circuits*, 2015)。ケタミン麻酔下の脳波リズムは徐波睡眠時の脳波リズムとの類似性が多く指摘されている (Steriade M et al., 1993) こと、さらには統合失調症患者が不眠症や概日リズム障害などの睡眠障害と強い関連性をもつ (Wulff K et al., 2010) こ

とから、申請者は、PV 陽性ニューロン特異的 GAD67 cKO マウスの睡眠覚醒リズムの形成・維持機構に興味を抱いた。そこで、世界最先端の睡眠研究を行っている米国 Robert W. McCarley 研究室 (Kim et al., 2015) に留学し、PV 陽性 GABA ニューロンによる睡眠覚醒のリズム形成・維持機構およびその機能破綻による精神疾患発症の可能性について詳細な研究を行うことにした。

#### <方法>

GABA作動性ニューロンのサブクラスの1つであるパルブアルブミン(PV)陽性細胞特異的を用いて、(1) ホームケージ活動性解析(ケージ上部にとりつけられた赤外線センサーでマウスの動きをとらえ数値化する)による日内行動、(2) 脳定位固定装置を用いてマウスを固定後、ステンレス製電極を脳表面に埋め込み、脳波 EEGの測定することによる睡眠(レム睡眠、ノンレム睡眠)・覚醒ステージの推移および脳波リズムの解析、(3) 細胞種特異的細胞活動の制御を行うため、PV-Cre マウスにチャンネルロドプシン2を組み込んだアデノ随伴ウイルス(AAV-ChR2)をインジェクションし、光刺激による睡眠覚醒リズムの変化を観察する。

#### <成果>

渡航して半年が経過したが、派遣先の研究所での動物実験や研究規則に関するオンライントレーニングを行い、実験許可がおりるまで3ヶ月を要した。その間、他の研究員の手術の見学を行ったり、脳波解析による、覚醒・睡眠ステージの判定を行い、研究室に所属する専門技術員によるトレーニングを受け、判定技術を習得したりした。実験許可がおりてからは、脳波・筋電図解析に加え、最先端の光遺伝学を用いた GABA 作動性ニューロン特異的活性化による睡眠覚醒リズム形成の解明に取り組み始めている。その一つとして、PV 陽性 GABA 作動性ニューロンである視床網様核に投射するある神経核を光刺激により活性化することで、異常脳波および行動異常を観察しており、現在新たな知見が得られ始めており、詳細な解析を行っている。

#### <謝辞>

海外渡航に際し、国際交流助成をご支援いただいた中山人間科学振興財団様に深く

感謝申し上げます。

<参考文献>

1. Lewis DA, Gonzalez-Burgos G: Pathophysiologically based treatment interventions in schizophrenia. *Nat Med.* 2006;12(9):1016-22.
2. Fujihara K#, **Miwa H**#, Kakizaki T, Kaneko R, Mikuni M, Tanahira C, Tamamaki N, Yanagawa Y: Glutamate Decarboxylase 67 Deficiency in a Subset of GABAergic Neurons Induces Schizophrenia-Related Phenotypes. *Neuropsychopharmacology.* 2015. doi: 10.1038/npp.2015.117. (#, Equal contribution; \***Corresponding author**)
3. Kuki T, Fujihara K, **Miwa H**, Tamamaki N, Yanagawa Y, Mushiaki H: Contribution of parvalbumin and somatostatin-expressing GABAergic neurons to slow oscillations and the balance in beta-gamma oscillations across cortical layers. *Front Neural Circuits.* 2015. doi: 10.3389/fncir.2015.00006.
4. Steriade M, McCormick DA, Sejnowski TJ: Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science.* 1993; 262(5134):679-85.
5. Wulff K, Gatti S, Wettstein JG, Foster RG. Sleep and circadian rhythm disruption in psychiatric and neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurosci.* 2010;11(8):589-99.
6. Kim T, Thankachan S, McKenna JT, McNally JM, Yang C, Choi JH, Chen L, Kocsis B, Deisseroth K, Strecker RE, Basheer R, Brown RE, McCarley RW: Cortically projecting basal forebrain parvalbumin neurons regulate cortical gamma band oscillations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(11):3535-40.