

平成29年度「海外研究者受け入れ助成」活動報告書

特異的脳細胞から睡眠脳波へのインターフェース

公益財団法人東京都医学総合研究所・睡眠障害プロジェクト・児玉亨

招聘研究者：Mayumi Kimura Ph.D.,

所属機関：Dept. Stress Neurobiology and Neurogenetics, Max Planck Institute of
Psychiatry

1. 交流の目的

睡眠・覚醒の意識レベルは脳波計測によって客観的に視覚化・判断されるが、実際の脳波は大脳皮質に投射されるあらゆる神経細胞の活動が同期・非同期化したものが投影されたものである。周期的な脳波の形成には脳幹からの上行性活動が視床網様核におけるGABAニューロンで一旦反芻されることが重要と理論的には考えられているが、その局在的意味や定量的解釈にはいたっていない。木村博士は最近、レム睡眠の選択的抑制により、この部位の神経活動が増加することを発見した。

東京都医学総合研究所では遺伝子改変マウスを用いて、睡眠制限に伴う局所的炎症機構が脳機能（認知・記憶機構）へどのような影響を与えるかをファイバーホトメトリー、質量分析、免疫応答不全動物（Toll-like receptor; TLR KO mouse）を用いて進めている。しかし、睡眠制限（特にレム睡眠の選択的抑制）におけるストレス、免疫応答の制御には慎重な手技が必要となり専門家の助言・技術導入が喫緊の課題となっており、木村博士の来日が持ち望まれていた。

本交流計画では選択的睡眠抑制の実験技術の比較検討により今後の共同研究に最適な技術導入を行う。さらに脳波形成のインターフェースとなり得る脳部位に着目し、GABA特異的タンパク質であるニューロファスチンやゲフィリン等を遺伝子操作により欠損させ、意識レベルへの影響について脳波を指標に検討するため両研究所の特長を生かした共同研究立ち上げを目的とする。

2. 交流報告

今回、約4週間の交流期間中に共同研究について打ち合わせを行い、計画に基づいて予備実験を実施、今後の共同研究につなげる準備をおこなった。また、医学研における若手実験指導・研究討議のタイトなスケジュールを縫って各地の大学、研究所を訪問され講演・意見交換会などをこなされ有意義な滞在となった。

選択的睡眠抑制の実験技術の医学研への導入

睡眠の意義を知るために動物を断眠する試みが古くからなされてきた。飼育ケージに振動を与えたり、実験者の観察下に筆などを使って動物の鼻先を刺激したり、回転輪を回したりして、あるいは選択的にレム睡眠を奪うために水の上に狭いプラットホームを造りその上で生活をさせたり（フラワーポット法）い

ろいろと工夫をしてきた。近年、睡眠負荷に研究の焦点が当てられるようになると、長期にわたり多数の動物を安定して選択的睡眠制限を加える事が求められるようになり、脳波記録を合わせたストレスの少ない方法を各施設で考案、使われるようになった。しかし、各装置にはそれぞれ特徴があり、利点・欠点を十分に検証し目的に応じた方法を選択する必要がある。今回マックスプランク研究所で使用実績のある装置(A-B)、回転輪で長期飼育し日内リズムの乱れを長期間誘導し緩やかなストレス下で睡眠負荷を加える装置(D)、そして断眠装置として一般的な回転するバーによる断眠負荷を課す装置(C) の各装置を用いて脳波・日内リズムの記録下に長期の睡眠負荷を加えてその影響の異同を詳細に検討した。

図1) 睡眠負荷装置

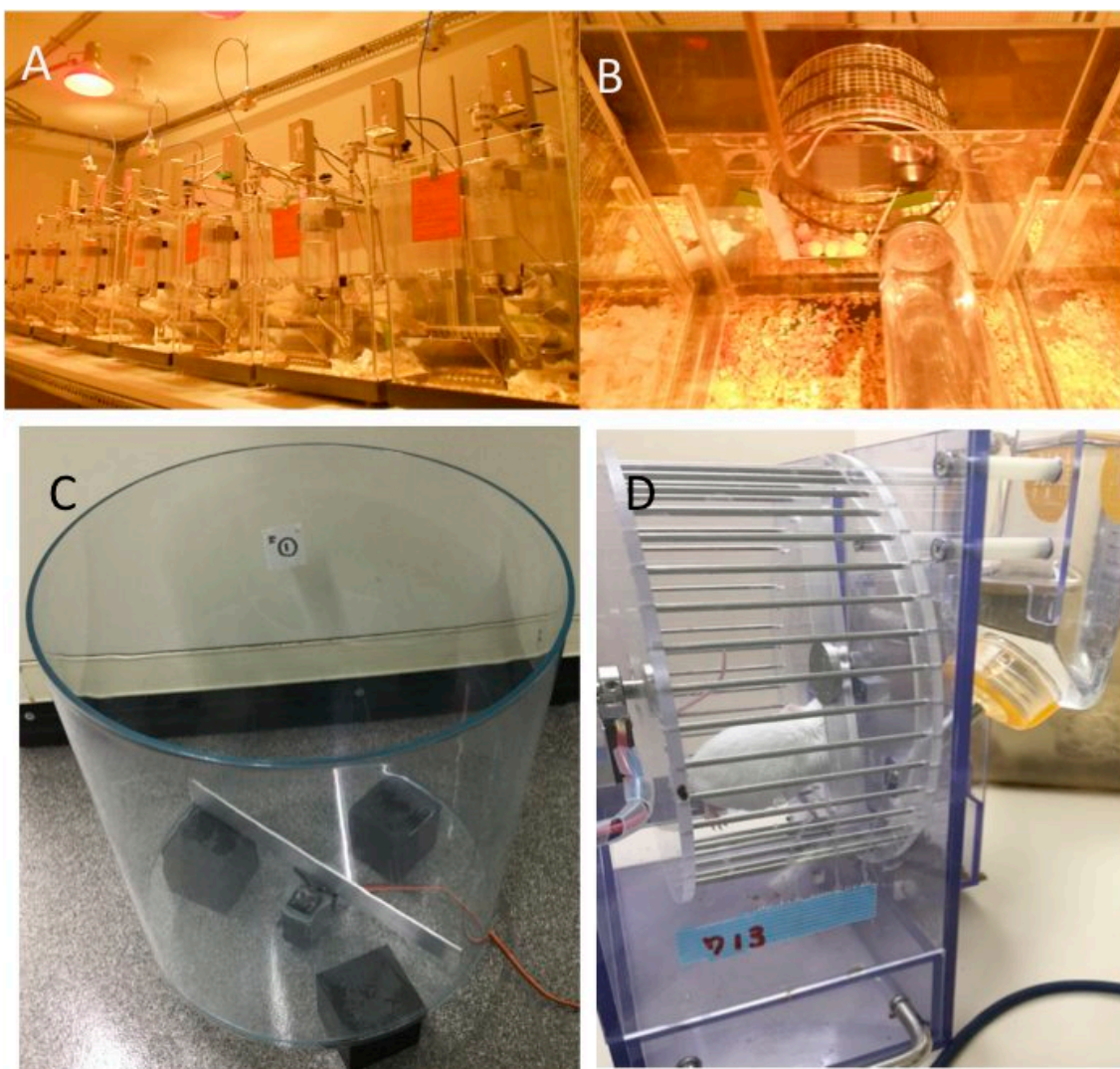
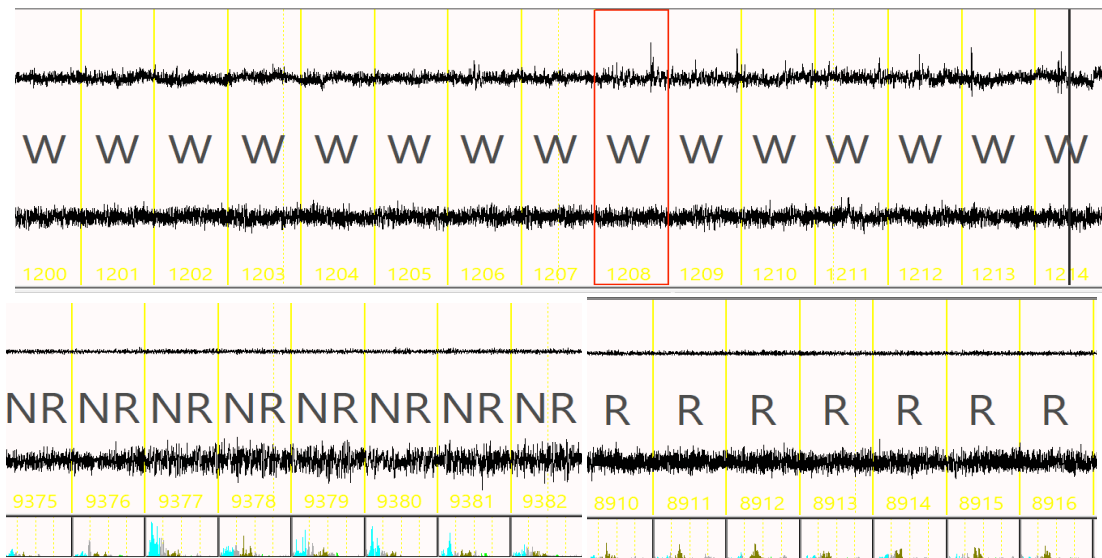


図 2) 脳波記録の一例



脳波記録による睡眠段階判定の一例：ノンレム睡眠・レム睡眠の選択的制限のために記録。自動的に回転輪を動かす事で長期間覚醒状態を維持し睡眠負荷をかける

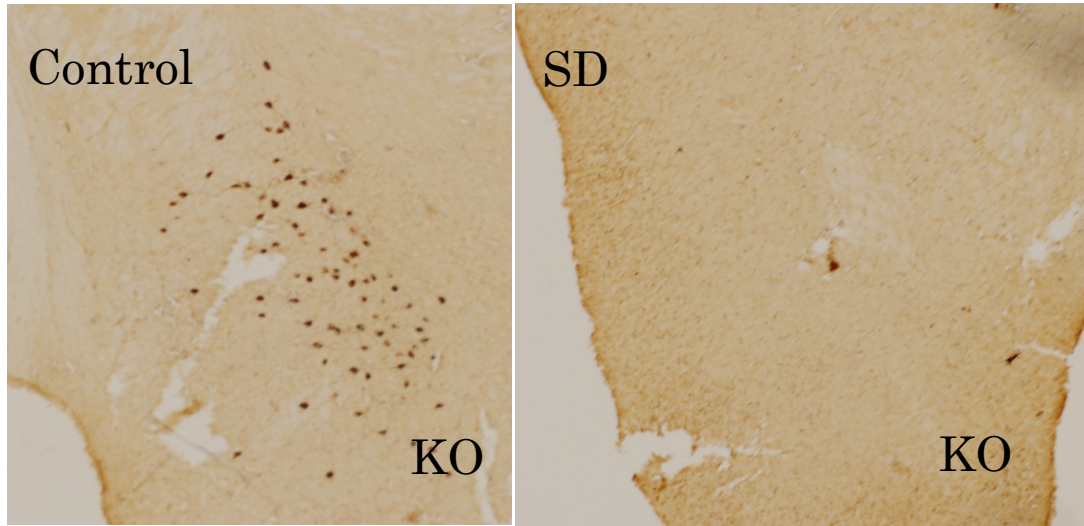
オレキシン神経の脱落経路の検討

共同研究の最終目標は「脳波形成のインターフェースとなり得る脳部位に着目し、GABA特異的タンパク質であるニューロファスチンやゲフィリン等を遺伝子操作により欠損させ、意識レベルへの影響について脳波を指標に検討する事」にある。それに先立ちパイロットケースとして免疫応答の不全マウス(CCR3欠損マウス)を用いて、長期睡眠負荷時に「睡眠覚醒のハブ的役割を担っているオレキシン神経ネットワーク活性がどのように変化するか」について検討することとした。長期睡眠制限による負荷状態、疑似感染による免疫チャレンジ、をそれぞれコントロールケースと比較、さらにその回復過程を追って睡眠覚醒ネットワークの乱れとその回復過程を各断眠装置で比べた。断眠の評価は脳波記録による睡眠段階の減少、ストレスマーカー増加が大きくないことを基本条件とし、視床下部オレキシン神経の活性の変化で行った。(最終的には視床下部ネットワークにおけるRNA-Seqによる遺伝子変化も調べる予定である。)

マックスプランクの装置(A,B)、類似の簡易回転装置による穏やかな睡眠付加装置(D)、そして回転バーによる睡眠制限装置(C)、で十分な睡眠減少を観察した。しかし装置Cではストレスマーカーの上昇がほかに比べ高かった。長期睡眠制限後には各装置ともオレキシン神経活性の低下が見られたが装置Cでは個体差が大きく

ストレス感受性の違いが表出しているものと考えられる。結論としてマックスプランクの装置の評価が高いが簡易型装置でも要件は満たされ、対費用効果が高いことから今後の実験に向け導入を検討することとなった。

図3) 免疫組織による視床下部オレキシン神経活性の違いの一例



睡眠制限 (SD) により睡眠覚醒の司令塔として働くオレキシン細胞の活性低下が見られる

滞在中の写真より

公財) 東京都医学総合研究所 講演会後の懇親会の様子



滞在スケジュールと主な交流内容

2017. 12. 5 日本到着

12. 11 京都大学・神経生物学（尾上浩隆博士）と研究打ち合わせ

12. 6-27 睡眠プロジェクトにおいて共同研究実施

12. 8 学習院大学・神経生物学（高島明彦先生）にて「神経科学」講義担当

12. 15 学習院大学・再生生物学（阿形清和先生）にて研究セミナー担当

12. 15 国立研究開発法人精神神経医療センター・神経研究所・病態生化学研究部
（星野幹夫先生）研究打ち合わせ

12. 18 東京都医学総合研究所・睡眠プロジェクト部門講演会

12. 22 国立研究開発法人精神神経医療センター 樋口前総長・中込精保研所長
を交えて懇親会

12. 25 厚労省・健康局長（福田祐典氏）と意見交換

12. 27 日本医療研究開発機構（AMED）戦略推進部（針田 哲氏）と意見交換

2018. 1. 4 国立研究開発法人精神神経医療センター・高坂神経研前所長を交えて
意見交換

1. 5 東京大学・WPI 事務局長（鹿川哲史氏）との意見交換会

1. 7 公財）神経研究所・精神神経科学センター・睡眠健康推進機構長・
大川匡子先生と睡眠教育推進事業について意見交換

1. 8 ドイツ・ミュンヘンへ帰国