

レム睡眠の意義の解明

筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構 林研究室
林 悠

1. はじめに 目的

睡眠は私たちが日常経験する現象だが、その意義については不明な点が多い。断眠を受けたラットは、次第に毛が抜けおち、摂食量が増加するにも関わらず体重が低下し、2、3週間のうちに死に至る。しかしながら、断眠を受けたラットの死の具体的な要因は分かっていない。ジリスは冬眠中に、睡眠をとるためにわざわざ一時的に冬眠から覚醒する。従って、睡眠には、単なる運動出力の休止以上の意味があると考えられる。

睡眠そのものはあらゆる動物に広く見られる現象だが、私たち哺乳類の睡眠は、特に複雑な生理状態へと進化した。私たちの睡眠は一様な状態ではなく、夢を生じるレム（急速眼球運動）睡眠や、浅いノンレム睡眠、深いノンレム睡眠などの複数の段階に分類することができる。それぞれの段階が固有の脳活動を伴うことから、独自の役割を担うと予想される。中でも、大脳が活性化するレム睡眠や、徐波と呼ばれるゆっくりとした同調活動を伴う深いノンレム睡眠は、哺乳類や鳥類に固有の状態であり、脳の高次機能に関わると期待される。実際、断眠を受けた人や動物では、その後の睡眠においてレム睡眠や徐波が顕著に増える。徐波については、既にいくつかその役割を示唆する研究がある。例えば、徐波を人為的に強めると、記憶の固定化が上昇し、また、神経細胞に徐波を模した入力を与えるとシナプス増強が誘導されるなど、神経可塑性への関与が示唆されている。一方、レム睡眠の生理的役割はほぼ全く不明であり、脳科学上の大きな謎である。

私はこれまでに、マウスの脳において、レム睡眠を強く抑制するニューロン群を2種類同定することに成功した（深中脳路核近傍Vgat陽性細胞群および外背側被蓋核近傍Math1陽性細胞群）。本研究では、これらの細胞群の活動を人為的に操作することでレム睡眠そのものを操作し、レム睡眠の意義を解明することを目指した。

2. 方法

レム睡眠を抑制する作用のある細胞群に、神経興奮を誘発できる遺伝学的ツールを発現させた。具体的には、ウイルスベクターを用いて、DREADD-hM3Dqと呼ばれる、リガンド投与により神経興奮を引き起こす人工のGタンパク質共役型受容体を導入した。同手術の際に、脳波および筋電図を測定するための電極も埋め込んだ。

このマウスにおいて、リガンドを腹腔内投与することで、レム睡眠抑制細胞の神経興奮を誘導し、数時間に亘ってレム睡眠を大幅に減少させた。その効果を、脳波および筋電図を測定することで解析した。なお、DREADD-hM3Dq発現およびリガンド投与によって神経興奮が誘導されることは、神経興奮のマーカーであるc-Fosの発現により確認した。

また、レム睡眠を一過的に増加させた効果も検討した。その際には、DREADD-hM4Diと呼ばれる、リガンド投与により神経抑制を引き起こす人工のGタンパク質共役型受容体を導入した。このマウスにリガンドを投与することで、一時間程度、レム睡眠が大きく増加した。

本研究で最も注目したレム睡眠操作による徐波への影響の検討に当たっては、徐波の強さの指標として、デルタ周波数域（1-4 Hz）のパワーを、高速フーリエ変換により算出した。サンプル間で徐波の強さを比較するに当たっては、within-within-subjects ANOVAを用い、有意水準5%とした。

3. 結果 研究成果

レム睡眠抑制作用のある深中脳路核近傍Vgat陽性細胞群の神経活動をDREADD技術で促進または抑制することで、レム睡眠を一時的に阻害または増加することに成功した。そこで、レム睡眠の役割について、本マウスの示す表現型に注目し検討した。

レム睡眠を阻害し続けたマウスでは、ノンレム睡眠中の脳活動に次第に異変が現れた。すなわち、

深いノンレム睡眠の特徴である、徐波と呼ばれるゆっくりとした同調的な脳活動が次第に低下した。レム睡眠阻害効果が切れ、レム睡眠が復活すると、その直後にノンレム睡眠中の徐波も回復した。以上の結果から、レム睡眠の一つの役割は、ノンレム睡眠中に現れる徐波を強化することだと示唆された。

本結果について、さらに詳細に解析するために、レム睡眠を次の4種類に分類した：一、自然に生じる通常レム睡眠（平均1分程度）、二、レム睡眠阻害中に時々あらわれる（30秒以下の）短レム睡眠、三、レム睡眠阻害効果が切れてあらわれる（30秒以上の）回復レム睡眠、四、レム睡眠促中にあらわれる（4分以上の）長レム睡眠。そして、それぞれの直前・直後のノンレム睡眠について、徐波の強さの指標となるデルタパワーを比較した。その結果、回復レム睡眠および長レム睡眠を経た直後のノンレム睡眠中の徐波が有意に強まっていること、逆に、短レム睡眠を経た直後のノンレム睡眠中の徐波が有意に弱まっていることが判明した。

レム睡眠制御ニューロンを操作した結果生じた徐波への影響が、レム睡眠を操作した影響ではなく、実はレム睡眠制御ニューロンの別の機能による可能性も残る。そこで、この可能性を少しでも減らすため、レム睡眠の阻害に当たり、深中脳路核近傍Vgat陽性細胞群に加え、同じくレム睡眠抑制作用のある外背側被蓋核近傍Math1陽性細胞群の活動操作により同様の実験を行ったが、その際にも同様の結果が得られた。また、そもそもレム睡眠を人為的に操作することなく、通常レム睡眠のみにおいて、レム睡眠の持続時間と、その直後の徐波の強さの関係を調べた。その結果、通常レム睡眠において、レム睡眠の持続時間が長いほど、その後のノンレム睡眠で徐波が増加するという、有意な正の相関が認められた。

なお、レム睡眠と覚醒は、脳波上はよく似たパターンを示す。しかしながら、覚醒に関しては、その持続時間と、その後のノンレム睡眠中の徐波の増加量に有意な正の相関が認められなかった。また、覚醒後の徐波の強さは、覚醒前と比べ、有意な低下がみられた。覚醒には、レム睡眠のようや強い徐波の増強効果がないことが考えられる。

4. 考察 まとめ

これまでに二種類のレム睡眠制御細胞群を同定したことを活かし、これらの細胞群のいずれかの神経活動を、DREADDの技術で人為的に操作することで、任意のタイミングでレム睡眠を一時的阻害または増加することに成功した。これらのマウスは、これまで謎であったレム睡眠の意義を研究する非常に有用なモデルとなると期待される。

そして本研究では、レム睡眠を人為的に操作できるマウスを確立できたことを活かし、レム睡眠がノンレム睡眠中の徐波の生成に関わることを見出した。徐波は、哺乳類や鳥類にのみ見られる独特の神経活動であり、睡眠中の神経可塑性に関わる。さらに、睡眠中の成長ホルモンの分泌量は、徐波と強い相関が知られる。このように、徐波は睡眠が持つ回復効果などにも深く関わっている可能性がある。レム睡眠は、徐波を増強することで、睡眠そのものの質を高める作用があると考えられる。レム睡眠の脳活動は覚醒とよく似ているが、覚醒には、このような強い徐波の増強作用が見られなかった。従って、レム睡眠中に固有の脳内物質の放出などが起こる可能性も考えられる。なお、現時点では、レム睡眠制御細胞群を操作したことの徐波への影響が、レム睡眠の役割を反映しているのではなく、これらの細胞の別の機能によるものである可能性を完全には否定できない。今後、レム睡眠中に放出される徐波を促進する脳内物質などを同定することで、レム睡眠の機能を証明できると期待される。

睡眠障害は、様々な精神疾患に共通する症状である。睡眠障害では、強い徐波の現れる深いノンレム睡眠が低下し、これが、睡眠の断片化や、日中の眠気を引き起こしているとされる。本研究からは、さらに、深いノンレム睡眠の生成に、レム睡眠が重要であることが判明した。今後、有効な睡眠障害の治療法を開発する上で、レム睡眠を制御する神経細胞群が重要なターゲットとなり得ることが本研究から示唆された。

一方で、レム睡眠中は、記憶形成に重要な海馬と呼ばれる脳部位でシータ波という脳波が高まるなど、徐波の増強とは別に何らかの機能を有することも期待される。本研究で樹立したレム睡眠操作マウスの表現型を今後さらに詳しく解析することで、今後さらにレム睡眠の機能を明らかに出来ると期待される。

また、多くの精神疾患や発達障害は、レム睡眠の異常を伴う。ただ、これまでレム睡眠を特異的に阻害する有効な方法がなかったため、レム睡眠の異常が単なる一症状なのか、それとも精神疾患の発症に寄与しているのか、区別が不可能であった。本研究で樹立したレム睡眠操作マウスを、精神疾患や発達障害のモデルマウスと組み合わせることで、今後、レム睡眠の異常と疾患との関連も明らかに出来ると期待される。

5. 発表論文、参考文献

Arakawa H, Suzuki A, Zhao S, Tsytsarev V, Lo FS, Hayashi Y, Itohara S, Iwasato T, Erzurumlu RS (2014). Thalamic NMDA receptor function is necessary for patterning of the thalamocortical somatosensory map and for sensorimotor behaviors. *J Neurosci* 34, 12001-12014.

Suzuki A, Lee LJ, Hayashi Y, Muglia L, Itohara S, Erzurumlu RS, Iwasato T (2015). Thalamic adenylyl cyclase 1 is required for barrel formation in the somatosensory cortex. *Neuroscience* 290, 518-29.

Hayashi Y, Kashiwagi M, Yasuda K, Ando R, Kanuka M, Sakai K, Itohara S (2015). Cells of a common developmental origin regulate REM/non-REM sleep and wakefulness in mice. *Science* 350, 957-961.