

## 総 説

### 睡眠と生体リズムの最新の知見

勢井 宏 義

徳島大学大学院ヘルスパイオサイエンス研究部情報統合医学講座統合生理学分野

(平成17年3月18日受付)

(平成17年3月25日受理)

日本人の4人に1人がなんらかの睡眠障害を有しているといわれている。ストレスに伴う不眠や睡眠時の無呼吸に起因する昼間の眠気などは、現代社会において大きな問題となっている。睡眠薬の投薬の多さが医療費を圧迫する原因の一つになっている。また、「コンビニ」に代表される現代の24時間社会は、生体リズムの乱れを引き起こし、さまざまな身体的・精神的障害を作り出している。睡眠や生体リズムの調節メカニズムを明らかにすることは、上記の問題解決や高齢者における quality of life (QOL) の向上にとどまらず、生活習慣病の予防という観点からも、重要な課題といえる。

睡眠は、ホメオスタシス機構とサーカディアン機構の二つの機構によって調節を受けている。睡眠のホメオスタシス機構とは、残業などによって長く起きる(=睡眠を削る)と、生体に何らかのひずみが生じ、そのひずみを是正するために、引き続く睡眠が(「長く」ではなく!)「深く」という仕組みである。これは、血圧や血液中の電解質などを一定に保つように作られたわれわれの生理学的なホメオスタシス機構の一つとも言える。この睡眠の「深さ」は脳波のなかのデルタ波(<4Hz=徐波)が表現している。

デルタ波はノンレム睡眠の特徴であるが、ノンレム睡眠は、プロスタグランジン(PG)D<sub>2</sub>とアデノシン A<sub>2A</sub> レセプタ、さらに、ヒスタミン系神経群の相互関係で調節されることが明らかになっている(図1)<sup>1)</sup>。覚醒が続くと PGD<sub>2</sub>が蓄積される。蓄積された PGD<sub>2</sub>は前脳基底部のクモ膜に存在するレセプタに結合する。この結合はアデノシンの増加を引き起こし、A<sub>2A</sub> レセプタが活性化される。PGD<sub>2</sub>からアデノシンへの情報変換過程については不明な点が多く、今後の課題である。A<sub>2A</sub> レセプタの活性化は、腹側外側視索前野に存在する GABA や galanin 作動性神経群の活動を増加させる。この GABA や galanin 神経群は下降性に視床下部後部のヒスタミン

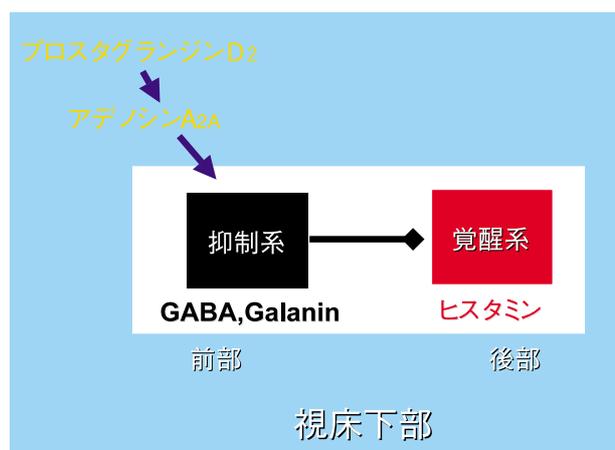


図1. プロスタグランジン D<sub>2</sub>による睡眠誘発機構の模式図

系神経群へ投射している。ヒスタミン系神経群は広く大脳皮質などに投射しており、覚醒を維持する役割を持っている。このヒスタミン系神経群が、GABA や galanin といった抑制性神経伝達物質によって活動を低下させられることがノンレム睡眠の発生であると考えられている。実際、われわれは、ラットに6時間の断眠ストレスを負荷すると、視床下部において、観察したペプチドの中で galanin のみその mRNA を増加させることを明らかにしている(図2, 3)<sup>2)</sup>。

睡眠のサーカディアン機構とは、いつも同じ時間帯に眠くなって、それをすぎるとかえって眠れなくなるとか、徹夜明けでも、朝はなかなか寝付けられないといった現象が示しているものである。サーカディアン機構は、時計遺伝子と呼ばれる遺伝子群によって調節されていることが近年明らかになっている<sup>3,4)</sup>。さらに、上述したような睡眠の発生機構が、生物時計である視交叉上核からの直接的な神経連絡を受けていることが明らかになりつつある。

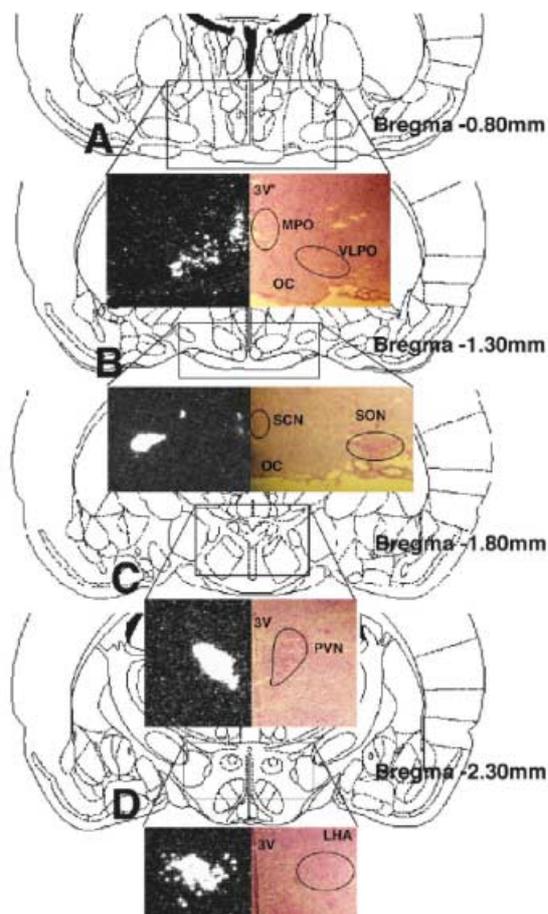


図2．視床下部での各種ペプチド mRNA の発現 (in situ hybridization) の例<sup>2)</sup>

- A : 内側視索前野 (MPO) と腹外側視索前野 (VLPO) における galanin mRNA の発現。
  - B : 視索上核 (SON) における arginine vasopressin (AVP) mRNA の発現。
  - C : 室傍核 (PVN) における corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA の発現。
  - D : 視床下部外側野 (LHA) における orexin mRNA の発現。
- 3V : 第3脳室, OC : 視索, SCN : 視交叉上核。

### 局所睡眠

睡眠と学習については、これまで、睡眠中にヘッドホンで繰り返し聞いたら覚えらるるといった「睡眠学習」のように科学的証拠の乏しいものも含め、いろいろな議論がなされてきた。しかし、最近になって、徐波睡眠(ノンレム睡眠)と記憶・学習について、Science や Nature などへの掲載が続いている。特に最近の Huber らの報告<sup>5)</sup>は「局所睡眠」としてインパクトがある。以下にその内容を紹介します。

彼らは脳波の測定に256個の電極を用いる。この電極の多さに、さすがに被験者は終夜眠ることは不可能で、256点脳波の観察は入眠後数時間に限られている。被験

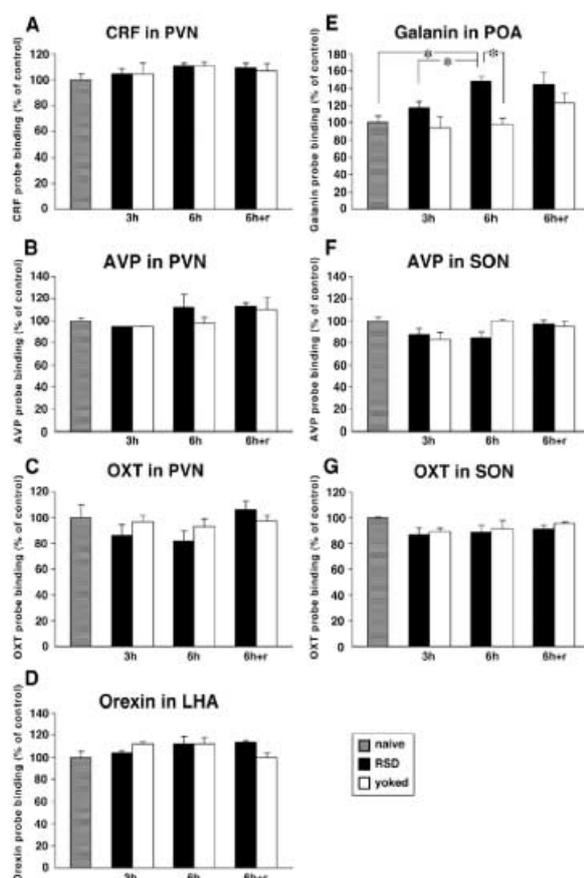


図3．断眠による各種ペプチド mRNA 発現量の変化<sup>2)</sup>

OXT: oxytocin, POA: 視索前野 (図2におけるMPOとVLPOを合わせたもの), 他の略語は図2と同じ。

3h: 3時間断眠群, 6h: 6時間断眠群, 6h+r: 6時間断眠の後3時間回復させた群。

黒棒: 断眠群, 白棒: 対照群, グレー: なんの操作も受けていない対照群。

galanin mRNA にのみ有意な変化が観察された。

者は睡眠前に学習作業を行った。パソコンの画面上をある角度間隔で動く点に向けて、マウスを用いてポインタを合わせるという作業を学習するものである。この作業を遂行する際に、被験者は大脳皮質の運動野のある限られた部分を使用することが、fMRIを用いて画像的に明らかにされている。被験者はこの学習作業の後、256個の電極をつけて就寝した。

通常、入眠するとまずノンレム睡眠に入り、stage ~ と、深くなっていく。「深い」とは、上述したように、脳波上のデルタ波成分の比率が多いということである。Huber らは、256点それぞれから記録できるデルタ波を比較した。その結果、学習作業をする際に特異的に活動する部位において、他の部位より強いデルタ波が出現し

ていることを見出したのである。さらに Huber らは、被験者の学習成績、あるいは、起床後に再試験した際の成績と、睡眠やデルタ波の強さとの相関について検討した。その結果、学習後に睡眠をとった被験者は起床後の再試験の成績が向上するのに、睡眠を取らなかった被験者には成績の向上がないこと、デルタ波の強さと、学習中のエラー回数や再試験での成績との間に有意な正の相関があることを明らかにしたのである。この研究から、デルタ波、つまりは徐波睡眠は、脳の可塑的過程の表現であり、デルタ波が出現している間、記憶・学習にかかわる神経回路に神経生理学的・生化学的・形態的な変化が起こっている可能性が示唆されたのである。しかも、その変化は局所的であり、つまり、学習に使用した部位に限局して行われることをはじめて明らかにしたのである。これが「局所睡眠」である。

このデルタ波の重要性は、われわれの実験からもわかる。その実験とは、fmr1ノックアウトマウスにおける断眠実験である。fmrとはfragile-X syndrome mental retardationの頭文字をとった遺伝子であり、精神遅滞の原因遺伝子のひとつである。われわれは、そのfmr1遺伝子をノックアウトしたマウス(精神遅滞モデルマウス)における睡眠を記録するとともに、断眠ストレスを与え、それに対するデルタ波の反応性を観察したのである。断眠前の同じ時間帯に対する比率で表現した断眠後のデルタ波の変化を図4に示す。断眠後、デルタ波は断

眠前に比べて強くなる。しかし、fmr1ノックアウトマウスは、コントロールマウスに比較して、デルタ波の増強が小さい。Huber らの実験で明らかにされたように、睡眠期のデルタ波の増加は学習成績と相関している。Huber らの仮説にそって考えると、fmr1ノックアウトマウスの大脳皮質では、可塑的变化が弱い、あるいは障害されている、すなわち、学習能力が低いことを示す可能性があるものと考え、研究を続けている。

#### 時計遺伝子と飲酒

サーカディアン機構は、時計遺伝子群によって調節されている。時計遺伝子群とは、clock, bmal1, per1~3, cry1~2などが主要メンバーである。これらの遺伝子は、どれもその機能を失うとサーカディアンリズムに障害がでる。最近、これら時計遺伝子がサーカディアンリズムだけにとどまらず、脳や心臓、肝臓、腎臓など、さまざまな器官の生理機能に直接・間接にかかわっていることが明らかになりつつあり、注目されている。

Spanagelら<sup>6)</sup>は、時計遺伝子群のなかで、時計の針のような中心的役割を演じているとされるper2の異常が、飲酒行動と関連していることを見出した。per2遺伝子変異マウスは、水とアルコール(エタノール8~16%)、それぞれの入った給水びんが用意されると、野生型マウスに比べて、アルコールの方を好んで摂取することが示されている。このアルコールへの嗜好性は、脳内のグルタミン酸濃度と関連している。近年米国において、アルコール依存症の治療薬として用いられているCampralをper2遺伝子変異マウスに投与すると、脳内のグルタミン酸濃度が低下するとともに、飲酒量も低下することを示し、グルタミン酸濃度と飲酒の関連性についての実験的証拠を提示している。この論文では、per2遺伝子の変異がグルタミン酸トランスポーターの発現低下を引き起こし、それが脳内のグルタミン酸濃度上昇につながるとしている。

われわれは、これまで、8時間の明暗サイクルの位相前進(パリから東京へ瞬時に移動したのと同じ)がラットの睡眠・覚醒リズムや深部体温リズムを大きく崩すことを報告してきた(図5)<sup>7,8)</sup>。いわゆる「時差ぼけ」状態である。この時差ぼけ状態は、時計遺伝子群間において、それぞれの発現がアンバランスになった状態であると考えられている。時差ぼけによって、飲酒行動が誘発されるのか? 実際、交代制勤務者<sup>9)</sup>や頻繁に海外出

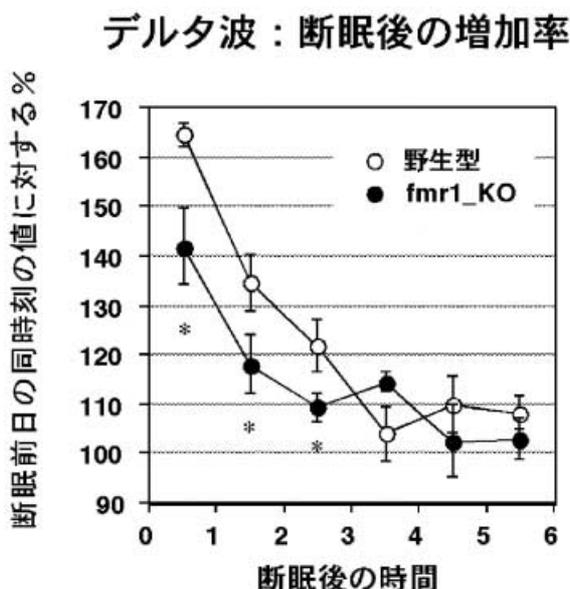


図4. fmr1ノックアウト(KO)マウスと野生型マウスにおける、6時間断眠後のデルタ波の変化

張を繰り返すビジネスマン<sup>10)</sup>は飲酒量が多いという報告がすでになされている。われわれは、時差 - 時計遺伝子発現 - 飲酒行動との関連性について、実験動物を用いた慎重な検討を続けている。

## ラット体温の時差による変化

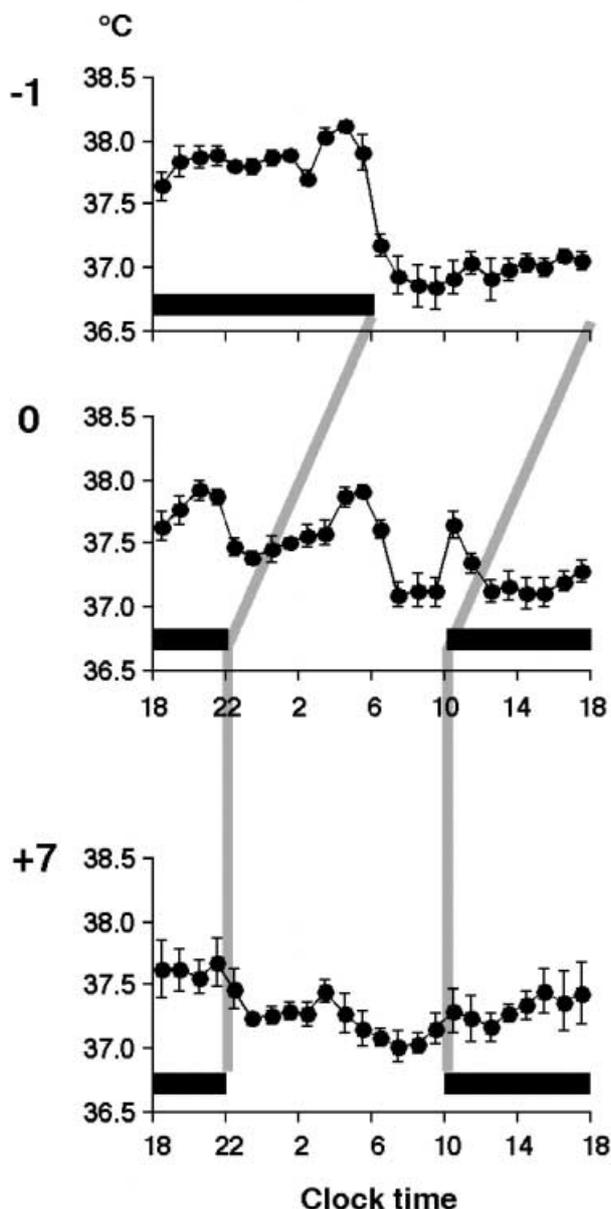


図5. 明暗サイクルの8時間前進によっておこるラット深部体温リズムの変化<sup>8)</sup>

1: 位相変化前日, 0: 位相変化当日, +7: 位相変化後7日目。位相変化後7日目でも、まだ、位相変化前のようなはっきりしたリズムが見えていない。

## 今後の展望

「眠れない」、つまり不眠症は、生活習慣病やうつなどとの関連性から、その病態メカニズムの解明を急がなくてはならない睡眠障害のひとつである。睡眠の役割やサーカディアンリズムによる調節など、今回紹介した研究は、「眠れない」病態解明にはつながりにくい。人間に特有なこの「不眠症」を、今後、研究のターゲットにしていく必要がある。実験動物において、「不眠症」モデルはいまだ登場しておらず、その開発が待たれるが、不眠症モデルマウスは眠れないことに悩むのだろうか？

## 謝 辞

ここに紹介したわれわれの研究は、日本学術振興会・科学研究費補助金、および、21世紀COEプログラム・「ストレス制御をめざす栄養科学」のサポートを受けている。

## 文 献

- 1) 乾 隆, 裏出良博: 睡眠調節の分子機構. 呼吸と循環, 48( 6 ): 587-593, 2000
- 2) Fujihara, H., Serino, R., Ueta, Y., Sei, H., *et al.*: Six-hour selective REM sleep deprivation increases the expression of the galanin gene in the hypothalamus of rats. *Mol. Brain Res.*, 119: 152-159, 2003
- 3) 岡村 均, 山口 瞬: 時計遺伝子と哺乳類の時間発振機構. 医学のあゆみ, 190: 259-267, 1999
- 4) Reppert, S.M., Weaver, D.R.: Molecular analysis of mammalian circadian rhythms. *Ann. Rev. Physiol.*, 63: 647-676, 2001
- 5) Huber, R., Ghilardi, M.F., Massimini, M., Tononi, G.: Local sleep and learning. *Nature*, 430( 6995 ): 78-81, 2004
- 6) Spanagel, R., Pendyala, G., Abarca, C., Zghoul, T., *et al.*: The clock gene *per 2* influences the glutamatergic system and modulates alcohol consumption. *Nature Med.*, 11( 1 ): 35-42, 2004
- 7) Sei, H., Fujihara, H., Ueta, Y., Morita, K., *et al.*: Single eight-hour shift of light-dark cycle increases brain-derived neurotrophic factor protein levels in the rat hippocampus. *Life Sci.*, 73( 1 ): 53-9, 2003

- 8 ) Sei, H., Kiuchi, T., Chang, H.Y., Seno, H., *et al.* : Response of the sleep-wake rhythm to an 8-hour advance of the light-dark cycle in the rat. *Chronobiol. Int.* ,11( 5 ): 293-300 ,1994
- 9 ) Trinkoff, A.M., Storr, C.L. : Work schedule characteristics and substance use in nurses. *Am. J. Ind. Med.* ,34( 3 ): 266-271 ,1998
- 10 ) Rogers H.L., Reilly, S.M. : A survey of the health experiences of international business travelers. Part one-Physiological aspects. *AAOHN J.* ,50( 10 ): 449-459 ,2002

## *Update on research for sleep and circadian rhythm*

*Hiroyoshi Sei*

*Department of Integrative Physiology, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School, Tokushima, Japan*

### SUMMARY

Slow wave activity (SWA : <4Hz) in electroencephalograms (EEG) appears during non-REM sleep, which is regulated homeostatically, increasing after wakefulness and returning to baseline during sleep. Recently, it has been suggested that SWA homeostasis may reflect synaptic changes underlying a cellular need for sleep. Huber *et al.* ( *Nature* 430( 6995 ): 78-81 ,2004 ) have shown that SWA homeostasis has a local component, which can be triggered by a learning task involving specific brain regions. We also found an impaired SWA rebound after sleep deprivation in *fmr1* ( fragile-X syndrome mental retardation 1 ) knockout mice, indicating an involvement of *fmr1* gene in neural plasticity.

Clock genes regulating circadian rhythm are recently thought to modulate several brain functions. Spanagel *et al.* ( *Nature Medicine* ,11( 1 ): 35-42 ,2004 ) have shown that *per2* mutant mice show alterations in the glutamatergic system in the brain, accompanied by increasing alcohol intake. They also found that, in humans, genetic variations of human *per2* are related to the alcohol consumption. Furthermore, clock genes have been indicated to have important roles in not only brain but also peripheral organs.

In future, we need an animal model for "insomnia" which is one of the most common sleep disorders in humans.

Key words : sleep, slow wave activity, learning, circadian, clock genes