

研究報告書

「なぜ夢を見るのか ～トランスジェニックマウスによるレム睡眠の操作と解析～」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成25年10月～平成29年3月

研究者: 林 悠

1. 研究のねらい

私たちは一晩の間に 2 種類の睡眠、ノンレム睡眠とレム睡眠を行き来する。レム睡眠は睡眠全体の15%程度にしか満たないが、この間、寝ているにも関わらず脳は活発に活動し、鮮明な夢が生み出される。なぜ夢を見るのかという問題は古くから多くの人の興味を集めてきた。レム睡眠は哺乳類や鳥類に固有の生理状態であることから、脳の高次機能に関わることが期待された。また、レム睡眠は、成人では一晩に1時間半程度しかないのに対し、新生児では実に8時間にもものぼる。従って、レム睡眠が複雑な脳の発達過程に重要であることも期待された。しかしながら、レム睡眠の発見から60年経ってなお、その生理的意義は全く不明であった。レム睡眠だけを、特異的かつ有効に操作できる方法がなかったことが、その最大の理由である。例えば、レム睡眠に入ったら起こす、という法では、刺激そのもののストレスの影響を排除できなかった。

そこで本研究では、世界でも前例のないアプローチでレム睡眠や夢の意義の解明に挑んだ。すなわち、『レム睡眠とノンレム睡眠の切り替えを司る脳部位を特定し、その操作により強制覚醒に依らずにレム睡眠を阻害できる技術や、人為的にレム睡眠時固有の脳の状態を誘発できる技術を開発し、レム睡眠の意義を解明する』という構想のもと、まず、マウスにおいて、レム睡眠とノンレム睡眠の切り替えを司る神経細胞群の特定を試みた。次に、特定されたそれぞれの細胞群の遺伝学的手法による活動操作をめざし、各細胞群に選択的な遺伝子プロモーターの同定を試みた。特定された細胞のうち、レム睡眠からノンレム睡眠の切り替えを担う細胞群の活動を遺伝学的に操作することで、任意のタイミングでレム睡眠を遮断できるトランスジェニックマウスの作製を試みた。さらには、ノンレム睡眠からレム睡眠の切り替えを担う細胞群の活動を遺伝学的に操作することで、任意のタイミングでレム睡眠固有の脳活動を誘導できるトランスジェニックマウスの作製も試みた。これらのマウスにおいて、レム睡眠操作の効果を調べることで、これまで謎であったレム睡眠の意義の解明に挑んだ。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究ではレム睡眠の意義やメカニズムを理解する上で、レム睡眠とノンレム睡眠の切り替えを司る中枢の役割を担う神経細胞群を同定し、その人為的操作を実現することが有用であると考えた。古典的な研究から、レム睡眠の制御に関しては脳幹の関与が知られたが、脳幹は多様なニューロンが混在するため解析が困難であった。私たちは胎児期の遺伝子発現に着目した細胞系譜特異的な神経活動操作という独自のアプローチを確立し、複雑な脳幹に適用した。その結果、胎児期に *Atoh1* という遺伝子を発現した神経細胞が、レム睡眠からノンレム睡眠への切り替えを担うことを特定した。具体的には、*Atoh1* 陽性の神経細胞の活動を

遺伝学的手法により促進することで、マウスにおいてレム睡眠を人為的に遮断することが可能となった。その結果、レム睡眠の阻害は、その後のノンレム睡眠中に生じる徐波(記憶学習やシナプス可塑性に重要な脳活動)に影響を与えたことから、レム睡眠が徐波の制御を介して記憶学習に貢献する可能性が示唆された。

さらに、脳幹の橋背側領域の遺伝子プロファイリングと網羅的なニューロンの機能解析の結果、上記のレム睡眠からノンレム睡眠への切り替えを担うニューロンのすぐそばに、逆のレム睡眠への切り替えを担うニューロン群の特定にも成功した。これらのニューロンの遺伝学的な活性化により、人為的にレム睡眠を誘導することにも成功した。

今後、私たちが実現したレム睡眠の人為的操作が、行動レベルでどのような効果をもたらすかや、神経疾患モデルマウスの症状にどのように影響するかなどを明らかにすることで、レム睡眠の意義のさらなる解明が期待される。

(2) 詳細

研究テーマA「レム睡眠の阻害が及ぼす影響の解明」

これまでに、レム睡眠とノンレム睡眠との切り替えのメカニズムを解明しようとする研究が多くなされてきた。1960年代に Jouvett らにより、ネコの脳幹以外の脳部位を大きく破壊しても、覚醒・レム睡眠・ノンレム睡眠のような状態が見られるという実験がなされた。従って、レムとノンレム睡眠の切り替えを司る神経細胞群は脳幹にあることが推察された。しかしながら、脳幹はさまざまな機能をもつ神経細胞がはっきりとした領野を形成せずに混在する複雑な脳部位であったため、具体的にどの神経細胞が重要なのかは不明であった。

近年、マウスの胎児期における神経細胞の細胞系譜が明らかになり、脳幹の一部の神経細胞が胎児期のみ出現する小脳菱脳唇(cerebellar rhombic lip)と呼ばれる神経上皮構造に由来することがわかってきた。そこで私たちは、この小脳菱脳唇に由来する細胞系譜や、そのほかの脳幹に寄与する細胞系譜について、発生過程における細胞の挙動を追い、胎児期の各細胞系譜に由来する細胞が成体の脳幹のどの場所に分布しているかを調べた。様々な細胞系譜の中からレム睡眠に関わる系譜を探索したのである。その結果、胎児期に小脳菱脳唇に由来する脳細胞のうち、*Atoh1* 遺伝子を発現していた細胞の系譜がレム睡眠に関わっていることが明らかになった。具体的には、胎児期に *Atoh1* 遺伝子を発現していた神経細胞のみに、神経活動を人為的に活性化できる DREADD-hM3Dq と呼ばれる遺伝子を発現させた

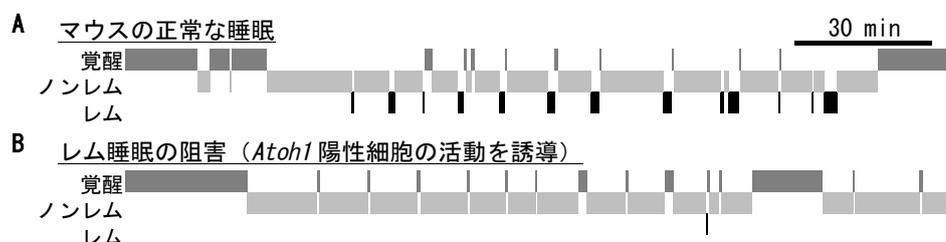


図1. マウスのレム睡眠の人為的な阻害 (Hayashi ら, Science, 2015)

A. マウスは睡眠中、ノンレム睡眠・レム睡眠・短い覚醒を行き来する。

B. *Atoh1* 陽性のレム睡眠抑制ニューロンの活動誘導により、数時間レム睡眠をほぼ完全に遮断できた。

トランスジェニックマウスを構築し、実際に活性化させたところ、レム睡眠がほとんどなくなり、この細胞群がレム睡眠を抑制し、レムからノンレム睡眠への切り替えを促す役割をもつことがわかった。これにより、レム睡眠のみを有効に阻害できるトランスジェニックマウスをつくることに成功した(図1)。

上記のとおり、当初の目標であった、外部からの刺激に依らないレム睡眠の阻害方法を確立できた。レム睡眠を一時的に阻害されたマウスは、一見何もないように見えたが、時間が経つにつれ、次第にノンレム睡眠の質に変化が現れた。ノンレム睡眠の特徴である学習や記憶形成を促す脳波(徐波)の強さが次第に弱まったのである(図2)。レム睡眠を元に戻すと、その直後にノンレム睡眠の徐

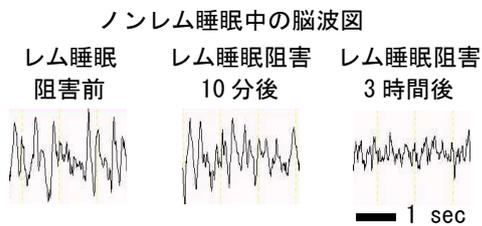


図2. レム睡眠の遮断はノンレム睡眠中の徐波の低下を引き起こす。
(Hayashi ら, Science, 2015)

波の強さも元に戻ったので、レム睡眠には徐波を促す作用があると判明した。徐波は、周波数4 Hz以下のゆっくりとした脳波であり、神経細胞同士をつなぐシナプスの柔軟性を高め、記憶の定着などを促す効果がある。本結果から、長年謎であったレム睡眠の生理的意義の一端が初めて明らかとなった(Hayashi ら, Science, 2015)。レム睡眠が徐波の発生に関与するという今回の結果をふまえると、レム睡眠が徐波を介して記憶学習や脳の発達に関与している可能性が期待される。

研究テーマB「レム睡眠の制御を担う遺伝子プロモーターの同定」

レム睡眠が徐波と呼ばれる学習や記憶形成を促す脳波を誘導するという上記の結果を踏まえると、レム睡眠固有の脳活動を人為的に誘導することができれば、脳機能の向上へつながり、アルツハイマー型認知症など、認知機能・記憶学習能力の低下を伴う疾患の新たな治療法の開発へもつながることが期待される。そこで次に、レム睡眠の誘導に関わる神経細胞を特定するために、マイクロアレイ法による脳幹のトランスクリプトーム解析を行った。同定された遺伝子について、そのプロモーターの下流にCreを導入したトランスジェニックマウスを多数作成した。その結果、研究テーマAで述べたレム睡眠を遮断する神経細胞群に加え、下記に述べるとおり、レム睡眠の誘導に関わる神経細胞群を遺伝学的に同定することに成功した。

研究テーマC「レム睡眠固有の脳活動の人工的再構成の試み」

遺伝学的手法により、レム睡眠固有の脳活動を人為的に誘導することを目指し、研究テーマBで同定された多種多様な脳幹な神経細胞群について、化学遺伝学的手法または光遺伝学的手法により、活動を誘導することで、睡眠に与える影響を調べた。その結果、多様な多種の神経細胞群のうち、橋から延髄へと投射する神経細胞群が重要であることが判明した。これらの神経細胞群に、チャネルロドプシンと呼ばれる光依存的に神経活動を誘発できる遺伝子を発現させて、光ファイバにより光を照射すると、わずか数秒以内に自然なレム睡眠と全く区別のつかない脳の活動状態を誘導することに成功した。

3. 今後の展開

夢を生み出すレム睡眠は、その役割が脳科学の最大の謎の一つであった。私はレム睡眠が「徐波」と呼ばれる記憶形成や脳機能の回復に重要な神経活動を、ノンレム睡眠中に誘発する役割があることを発見した。この発見は、レム睡眠の脳発達や回復への貢献を支持するのみならず、レム睡眠の人為的な操作により、様々な神経疾患の症状を改善できる可能性も示唆する。実際、多くの神経疾患がレム睡眠の異常を伴う。今後、幼若期や高齢期のレム睡眠の操作が脳機能に与える影響を解明すると同時に、様々な神経疾患の症状の改善を試みる。本研究により、脳の発達・恒常性維持機構の理解や、全く新しい神経疾患の治療標的の発見に貢献できると期待される。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

全ての研究テーマが概ね順調に進み、研究目的の大部分を達成できたと考えられる。特に、レム睡眠の生理的意義がこれまでは全くの謎であったため、その一端を解明できたことは非常に有意義であるといえる。さらに、レム睡眠とノンレム睡眠の切り替えのメカニズムの解明に当たっては、主要な神経回路ネットワークとその作用機序についての理解が大きく進んだ点において、当初予想していた以上の成果が得られた。一方、レム睡眠固有の脳の活動状態の誘導に関しては、*in vivo* での高い時間分解能での誘導は実現したものの、当初計画していた脳スライス標本を用いた *in vitro* での誘導には至らず、今後の課題となった。ただ、*in vivo* での結果を踏まえると、有望であると期待される。

本研究の主題である「レム睡眠の意義」は、社会からの関心も非常に高く、従って、本研究の成果はマスコミ等でも非常に大きく取り上げられた。また、多くの神経疾患がレム睡眠の異常を伴うことを踏まえると、今後、全く新しい神経疾患の治療標的の発見に貢献できると期待される。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

レム睡眠を遮断できるトランスジェニックマウスを2系統、独自開発し、いずれの系統においても、共通して、レム睡眠の一時的な遮断が、記憶学習や神経可塑性に重要な徐波と呼ばれる脳活動の低下へつながることを解明した。このことにより長年謎であったレム睡眠の生理的意義の一端が初めて明らかとなり、国内外で、その発表は大きく取り上げられた。さらにレム睡眠操作による鬱病・記憶学習・脳の老化への影響を調べるための系に取り組み、その成果が待たれる。このさきがけ期間中に、レム睡眠の研究分野で大きく飛躍した研究者の一人である。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. †Yu Hayashi, Mitsuaki Kashiwagi, Kosuke Yasuda, Reiko Ando, Mika Kanuka, Kazuya Sakai, †Shigeyoshi Itoharu. Cells of a common developmental origin regulate REM/non-REM sleep and wakefulness in mice. Science. 2015, 350, 957–961. † 責任著者.

(2)特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

受賞

- 1.第 1 回 アステラス病態代謝研究会優秀発表賞 受賞(2014.10)
- 2.平成 26 年度・筑波大学若手教員奨励賞受賞(2014.12)
- 3.第 21 回 日本睡眠学会研究奨励賞 受賞(2016.5)
- 4.第 26 回 つくば奨励賞(若手研究者部門) 受賞(2016.11)

プレスリリース・紹介記事等

- 1.「夢のスイッチが明らかにする夢を見る理由 ～レム睡眠の意義を初めて科学的に証明～」.
筑波大学プレスリリース.

<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p201510230400.html>

- 2.「睡眠の進化を語る細胞の発見。」JT 生命誌ジャーナル.

<http://www.brh.co.jp/seimeishi/journal/090/research/2.html>

- 3.「レム睡眠とノンレム睡眠との切り替えを担うニューロンの同定により明らかにされたレム睡眠の役割」. ライフサイエンス新着論文レビュー.

<http://first.lifesciencedb.jp/archives/11921#more=11921>

4. Vladyslav V. Vyazovskiy. “Mapping the birth of the sleep connectome.” Science. 2015, 350, 909–910.