

特集：睡眠と健康 国内外の最新の動向—エビデンスからアクションへ—

< 総説 >

日本における睡眠科学の最新の知見と動向

角谷寛

京都大学大学院医学研究科ゲノム医学センター

Recent evidence and trend of basic research in sleep in Japan

Hiroshi KADOTANI

Center for Genomic Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine

抄録

睡眠科学の最近の知見と動向を、日本人の研究を中心に概説する。睡眠/覚醒の調節には神経活動にもとづく神経機構と睡眠物質にもとづく液性機構の双方が関与すると考えられており、神経機構の解析のために、脳波や筋電図に加えて、1個の神経細胞の活動を記録する Unit recording が行われている。一方、液性機構の解明のために、薬理学的実験に加えて、遺伝子操作動物を用いた研究も行われている。遺伝子操作に加えて、光刺激による神経活動の観察や制御を行うオプトジェネティクスは、発展が著しい分野である。ヒトを対象とした全ゲノム関連研究や遺伝子発現の網羅的解析は候補遺伝子を同定する強力な手段である。これらは、睡眠科学においても利用され始めている。睡眠の基礎研究が臨床応用にまで至った例として、ナルコレプシーとオレキシンの研究がある。これら睡眠科学の分野において、日本人研究者の果たしてきた役割は大きく、今後さらに発展することが期待されている。

キーワード：睡眠, 電気生理学, オプトジェネティクス, ゲノム疫学研究

Abstract

Sleep/wake is controlled by both hormonal and neural mechanisms. To understand neural sleep-controlling mechanisms, not only electroencephalogram and Electromyography, but also single-unit recording was performed. To understand hormonal sleep-controlling mechanisms, combination of pharmacological and genetic engineering studies was done. Optogenetic and genome-wide screening are both new methods and fields in the sleep research. Orexin in narcolepsy is a good example for finding in the basic sleep research applied and used clinically. In this article, recent advances and findings by Japanese sleep researchers are overviewed.

**Keywords:** sleep, electro-physiology, optogenetic, GWAS

(accepted for publication, 29th February 2012)

---

連絡先：角谷寛

〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町

Yoshida-Konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto, 606-8501, Japan.

Tel: 075-751-4192

E-mail: kadotani@mbox.kyoto-inet.or.jp

[平成24年2月29日受理]

## I. はじめに

睡眠学は睡眠医学、睡眠科学、睡眠社会学の3分野が融合した総合科学である。睡眠科学を中心に最新の知見や取り組みを、日本における現状について概説する。睡眠と関連する分野として、生体リズム、概日リズムの分野があり、日本人はその発展に大きく寄与してきているが、今回は割愛する。

## II. 睡眠段階と睡眠/覚醒調節のモデル

睡眠はレム睡眠とノンレム睡眠に大別される。REM (レム) とは (Rapid Eye Movement) の頭文字をとったもので、その名の通り“急速眼球運動”のことである。鳥類や哺乳類の睡眠はREM睡眠とそれ以外の non-REM (ノンレム) 睡眠の二つに大別される。睡眠の状態を知るために、脳波、眼電図、筋電図などを同時記録する PSG (睡眠時ポリグラフ検査) が臨床現場で用いられている [1]。

睡眠・覚醒の神経回路による調節にはそれぞれ別個の中枢 (睡眠中枢と覚醒中枢) が関与しており、互いに投射し、抑制し合っている。そこで、睡眠・覚醒を調節する神経機構として、モノアミンおよび GABA (γ-アミノ酪酸) にオレキシンを加えたシーソーモデル (flip-flop model) が提唱されている [2] (図 1)。このモデルによると、睡眠中には、睡眠中枢 (腹外側視索前野: VLPO など) の活性が高まるために覚醒中枢 (オレキシン産生神経とモノアミン作動性神経) が抑制され、睡眠が維持される。一方、覚醒時には、覚醒中枢の活性が高まり、睡眠中枢を上回ることによって覚醒が維持される。そして、睡眠中枢と覚醒中枢は相互抑制に関係にあり、同時に両方が活性を高めることはない。

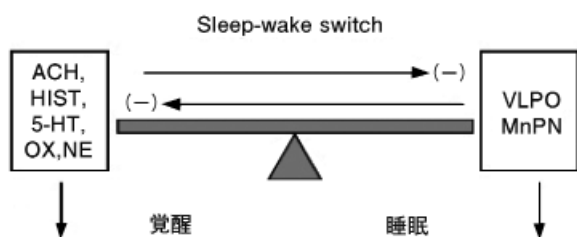


図 1 睡眠覚醒のシーソーモデル

睡眠中枢と覚醒中枢が互いに抑制し合って睡眠・覚醒を引き起こしているというシーソーモデル (flip-flop model) が提唱されている。VLPO: 腹外側被蓋野; MnPN: 正中視索前核; ACH: アセチルコリン含有神経; HIST: ヒスタミン含有神経; 5-HT: セロトニン含有神経; OR: オレキシン含有神経; NE: ノルアドレナリン含有神経。  
(文献 2 より改変)

## III. In vivo 電気生理学的研究

睡眠・覚醒の状態に応じて、神経細胞が実際にどのように活動するのか、それがどのような神経伝達物質によって調節されているのかを明らかにするために、実験動物の個体 (主にラット、マウスなど) を用いて脳波、筋電図記録とともに、特定の神経核に狙いを定めて、その中の神経細胞 1 個の活動記録が行われている。さらに、その際に、ガラスで作った多連電極にいろんな薬剤を詰めて、電気泳動的にそれぞれの薬物を投与するという方法により、そのニューロンの薬理学的特性も解析されている。

また、睡眠段階の変化と神経活動のタイミングを調べることができる。例えば、覚醒の直前にアセチルコリン、オレキシン、ノルアドレナリンなどの神経細胞が発火するのに対して (図 2)、ヒスタミンニューロンは覚醒に先行して発火せず、覚醒中に持続的に発火することが分かって来た [3]。このことから、アセチルコリン、オレキシン、ノルアドレナリンは覚醒の発現に、ヒスタミンは覚醒の維持に働いているものと考えられる。

このように、睡眠・覚醒に関わる各神経核の役割が詳細に解析されつつある。

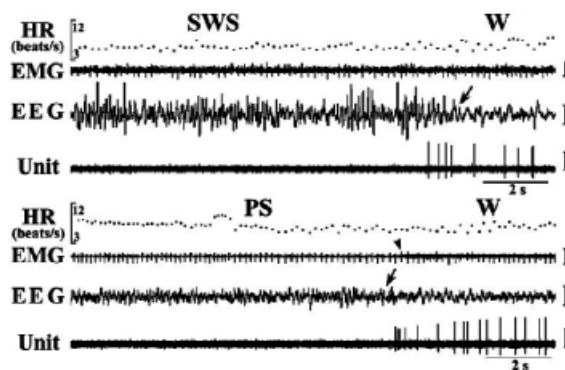


図 2 脳波 (EEG)、筋電図 (EG) と同時に記録された LC 核 (ノルアドレナリン作動性) の神経細胞活動 (Unit) この神経細胞は、ノンレム睡眠から覚醒への移行に先立って活動を開始し、覚醒中は活動を継続している。  
SWS: 徐波睡眠 (ノンレム睡眠); PS: レム睡眠; W: 覚醒; HR: 心拍数。矢印: 脳波上の睡眠段階の移行時点。矢頭: 筋電図活動の移行時点。  
(文献 3 より改変)

## IV. 睡眠物質

睡眠・覚醒状態は、神経活動にもとづく神経機構に加えて、睡眠物質にもとづく液性機構もあり、その双方により動的に調節されていると考えられている。近年、睡眠物質としてプロスタグランジン (PG) の睡眠に対する役割が注目されている。

1982年に脳の主要なプロスタグランジンである PGD<sub>2</sub> に睡眠促進作用があることが脳内微量注入法により発見された。その後の薬理学的実験に加えて、遺伝子改変動物

を用いた解析などにより、リポカリン型 PGD 合成酵素 / PGD2/DP1 受容体系が睡眠誘発作用に働いていることが明らかとなってきた [4].

それと並行して行われた遺伝子改変動物を用いた研究により、カフェインによる覚醒作用が、アデノシン A2A 受容体を介したものであることが判明した [5].

## V. 遺伝子改変動物

睡眠調節は様々な神経核や神経ネットワークが関係する複雑なものであり、一つの遺伝子の役割を解析するためには、遺伝子改変動物の使用が極めて有効であり、様々な遺伝子改変動物（主にマウス）が用いられる。動物の遺伝子操作技術も進み、恒常的な遺伝子欠損（KO マウス）やトランスジェニックマウスに加えて、臓器あるいは組織特異的に遺伝子を欠損するコンディショナル KO マウスも作成され使用されている。

さらに、特殊な光感受性センサー・タンパク質を遺伝子導入することで、光を使って神経の活動をコントロールする「光スイッチ（光操作）」技術も、用いられるようになってきた。ハロロドプシンという光感受性センサーを用いて、光のオン・オフにしたがってマウスの睡眠・覚醒を操作できることが報告されており、このマウスは光を当てたときだけ徐波睡眠（ノンレム睡眠）になった [6] (図 3)。この

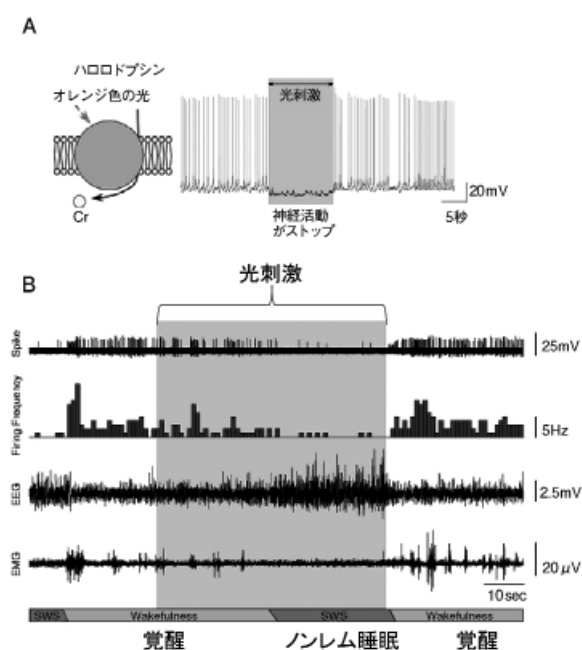


図 3 光スイッチによるノンレム睡眠誘導

光感受性センサー・タンパク質であるハロロドプシンは、オレンジ色の光を当てると神経細胞の活動を抑えることができる。オレキシン神経細胞にだけハロロドプシン遺伝子導入したマウスで、オレンジ色の光を当てた時だけオレキシン神経の電気活動が抑制した。光ファイバーを用いたオレンジ光照射によりオレキシン神経を抑制すると、覚醒していたマウスがノンレム睡眠に移行した。(文献 6 より改変)

オプトジェネティクスは発展著しい分野であり、睡眠調節機構を解析する上でますます重要となると思われる。

## VI. ナルコレプシーとオレキシン

代表的な睡眠障害であるナルコレプシーはオレキシン・システムの障害によって発症することが明らかとなってきた。オレキシン（別名ヒポクレチン）は 1998 年に同定された神経ペプチドである [7].

1999 年にナルコレプシーのモデル動物である遺伝性犬ナルコレプシーがオレキシン受容体 2 の異常によって発症していること、また、リガンドであるオレキシンのノックアウトマウスもナルコレプシーの症状を呈することが明らかとなり、さらに 2000 年には典型的のヒトナルコレプシー患者の脳脊髄液中ではオレキシン濃度が異常低値となっていることが報告された。まだ保険収載はされていないが、睡眠障害の国際分類において、髄液オレキシン濃度の低下が記載されており、既に臨床の場面においても、オレキシンの有用性が国際的に認識されている [8].

この一連の成果は、モデル動物（犬、マウス）を用いた基礎研究と、ヒトを対象とした基礎および臨床研究の双方が結びついて得られたものであり、統合的／総合的研究のモデルとなると思われるが、このオレキシン、ナルコレプシーに関する研究において、日本人研究者はオレキシンの同定から臨床的応用に至るまで一貫して中心的役割を果たしてきた [9].

## VII. 網羅的遺伝子解析

現在知られている睡眠、覚醒を調節する因子だけでは、睡眠調節機構やその破綻状態である不眠などについて十分説明できないと考えられるため、さらに睡眠・覚醒調節の分子基盤を同定する目的で、実験動物を使った網羅的検索や、ヒトの大規模ゲノム疫学研究が行われている。

睡眠活性物質を投与し、遺伝子発現の変化を網羅的に解析する実験が行われている。その一例を挙げると、代表的な睡眠活性物質である PGD2 あるいはアデノシン A2A 受容体作動薬をラット前脳基底部に持続投与し、それぞれ注入後の睡眠のピーク時に大脳皮質、視床下部、前脳基底部の組織を取り出し、各部位における遺伝子発現プロファイルを用いて網羅的に解析したところ、両薬剤によって発現が変動する遺伝子はどの部位においても約 3 割が共通しているとの報告がある [10].

## VIII. 全ゲノム関連研究 (GWAS)

近年 DNA チップを用いて数十万個から百万個の SNPs を同時に解析することで、疾患関連遺伝子を同定できる全ゲノム関連解析 (GWAS: genome-wide association study) が行われるようになってきた。GWAS においては、まず、疾患群および対照群それぞれ数百例および千例以上

を対象に数十万個の SNP s を解析して候補 SNP s を検索し、次に、別の数百例の疾患群および数千例の対照群に対して、その候補 SNP s が存在する領域について追試することが多い。

GWAS の成功例として、ナルコレプシーの研究がある。ナルコレプシーはヒト白血球抗原 (HLA) DQB1\*0602 と強く相関することが 1980 年代に日本で始めて明らかになり、その後、他の人種においてもその関係が確認されていた。そこで、HLA-DQB1\*0602 以外でナルコレプシーと相関する遺伝子を同定するために、まず、HLA-DQB1 が 0602 の人のみを対象に GWAS が行われ (疾患群: 807 人, 対照群: 1,074 人)。候補となった SNP について追試され、T-cell receptor beta がナルコレプシーと相関することが明らかとなった [11]。この研究の成功の秘訣は、HLA-DQB1\*0602 のタイプを揃えて行われたことにあると思われるが、この研究の追試の部分において日本人サンプルが 4 割近くも占めていた。

## IX. ヒトを対象としたゲノム疫学研究

日本人は遺伝的背景が比較的均一であるために、ゲノム解析には適した対象と考えられるが、GWAS を行うためには DNA (血液) がサンプリングされ、しかも、表現型 (あるいは疾患の有無) が明らかな大規模な対象者集団が必要である。その際に、疾患群は睡眠医療機関との連携により集めることが可能となるが、多数の対照群を得ることは困難な場合が多い。

そこで、2004 年から睡眠と健康についての数百名規模の疫学調査を行った [12]。その際のサンプルを用いてゲノム解析も行なっている。さらに多数例について解析するために、2007 年から京都大学医学研究科が滋賀県長浜市で実施している 1 万人規模のゲノムコホート研究 (長浜 0 次コホート) 参加者に、睡眠とメンタルヘルスの調査を追加実施する「長浜 0 次睡眠研究 (略称: なごーする研究)」を実施している。また、GWAS の結果は別集団の多数例において追試することが必要であるため、国内及び国際睡眠ゲノム疫学コンソーシアムにも参画している。

## X. まとめ、将来に向けて

最近日本人が中心となって推進してきた睡眠の基礎研究を中心に概説した。

今後は、基礎研究によって見出される睡眠調節機構がヒトの睡眠障害と関連するかをゲノム疫学研究によって確認したり、あるいは逆に、ヒト GWAS で候補遺伝子を同定してその機能を解析するための基礎研究が行われたりなど、基礎研究と臨床研究とが統合された形での共同研究がさらに加速していくと考えられる。

日本睡眠学会は宇宙航空研究開発機構 (JAXA) と合同で「宇宙睡眠研究会」を組織し、自宅で睡眠が計測できる小型脳波計を開発し、宇宙飛行士から一般住民までを対象

とした睡眠研究プロジェクトをはじめている。

睡眠の基礎研究を発展させるために、日本睡眠学会では睡眠科学研究講座を学術集会に合わせて開催してきており、さらに、2012 年 3 月にはワークショップ「睡眠・冬の学校 (仮称)」のための準備会が開催される。また、2011 年には Worldslepp2011 (世界睡眠学会 京都大会) 会期中に、World Sleep Federation 遺伝専門部会 第 1 回シンポジウムを開催した。

このように、複数分野にまたがった総合的な研究がさらに進む機運がますます高まりつつある。

## 引用文献

- [1] 米国睡眠医学会, 著. 日本睡眠学会, 監訳. AASM による睡眠および随伴イベントの判定マニュアル: ルール, 用語, 技術使用の詳細. 東京: ライフ・サイエンス社; 2010.
- [2] Kryger MH, Roth T, Dement WC, Eds. Principles and Practice of Sleep Medicine, 4th Edition. Burlington: Elsevier; 2005.
- [3] K Takahashi, Y Kayama, JS Lin, K Sakai. Locus coeruleus neuronal activity during the sleep-waking cycle in mice. *Neuroscience*. 2010;169(3):1115-26.
- [4] Urade Y, Hayaishi O. Prostaglandin D2 and sleep/wake regulation. *Sleep Med Rev*. 2011;15(6):411-8.
- [5] Huang ZL, Qu WM, Eguchi N, Chen JF, Schwarzschild MA, Fredholm BB, Urade Y, Hayaishi O. Adenosine A2A, but not A1, receptors mediate the arousal effect of caffeine. *Nat Neurosci*. 2005;8(7):858-9.
- [6] Tsunematsu T, Kilduff TS, Boyden ES, Takahashi S, Tominaga M, Yamanaka A. Acute optogenetic silencing of orexin/hypocretin neurons induces slow-wave sleep in mice. *J Neurosci*. 2011;31(29):10529-39.
- [7] Sakurai T, Mieda M. Connectomics of orexin-producing neurons: interface of systems of emotion, energy homeostasis and arousal. *Trends Pharmacol Sci*. 2011;32(8):451-62.
- [8] 米国睡眠医学会, 著. 日本睡眠学会診断分類委員会, 訳. 日本睡眠学会, 発行. 睡眠障害国際分類第 2 版—診断とコードの手引. 東京: 医学書院; 2010.
- [9] 本多裕. ナルコレプシーの研究—知られざる睡眠障害の謎. 東京: 悠飛社; 2002.
- [10] Terao A, Huang ZL, Wisor JP, Mochizuki T, Gerashchenko D, Urade Y, Kilduff TS. Gene expression in the rat brain during prostaglandin D2 and adenosinergically-induced sleep. *J Neurochem*. 2008;105(4):1480-98.
- [11] Hallmayer J, Faraco J, Lin L, Hesselson S, Winkelmann J, Kawashima M, et. al. Narcolepsy is strongly associated with the T-cell receptor alpha

locus. Nat Genet. 2009;41(6):708-11.

- [12] Nakayama-Ashida Y, Takegami M, Chin K, Sumi K, Nakamura T, Takahashi K, et al. Sleep-Disordered

Breathing in the Usual Lifestyle Setting as Detected with Home Monitoring in a Population of Working Men in Japan. Sleep. 2008;31(3):419-25.