

63. 冬眠様状態を誘導する Q ニューロンの睡眠覚醒制御への関与

筑波大学医学医療系 研究員 高橋 徹

概要

本研究の目的は、Q ニューロンの睡眠における生理的機能に着目し、睡眠覚醒制御の神経科学的メカニズムに迫ることである。生体マウスを用いた Q ニューロンの *in vivo* 神経活動記録を主軸に、体温・心拍数計測および睡眠測定を同時に実行した。その結果 Q ニューロンは睡眠中に極めてユニークな神経活動を呈することが判明した。Q ニューロンの神経活動は、ノンレム睡眠中では脳の状態（脳波）を追跡するように、脳波強度に合わせて大きく振幅した。睡眠深度が浅いとき神経活動が高く、深いときは低かった。また一般に睡眠状態と心拍数変動は同調して動くが、本研究においてそれが再現され、Q ニューロンは心拍数とも同期して活動することがわかった。一方レム睡眠では、その開始とともに神経活動が次第に減弱し、最終的には無活動状態になった。これらの特徴は“覚醒”ニューロンのそれに類似していることから、Q ニューロンは睡眠誘導ではなく、むしろ覚醒誘導に関与している可能性が示唆された。今後は睡眠段階に応じた介入実験を行うことで、Q ニューロンが有するより詳細な睡眠覚醒制御機能を暴いていきたい。

本研究助成は、主にマウスの体温・心拍数計測に必要な装置の導入・拡充にあてられた。当ご支援により、従来の神経科学的観点からの睡眠研究では取り上げられることが稀であった体温や心拍数の（時間分解能の高い）データも加わり、時空間的により階層性高い生理的指標を評価でき、また睡眠判定においてもより詳細に、そして精度と信頼性高くこれを達成することができた。マウス脳に生得的に存在する休眠誘導ニューロンの生理的機能、またその存在意義の解明に大きく近づくことができたと考えている。最後にこの場をお借りして、審査・研究費助成・手続きなどを含めた一連のご支援に対し、心より深く感謝の意を表明したい。

背景および目的

心臓の拍動は覚醒時のみならず睡眠中も無意識かつ恒常的に維持される。睡眠はノンレム睡眠とレム睡眠に分かれ、これらは質的に大きく異なる脳状態であり、自律神経系に異なる影響を与える。ノンレム睡眠では副交感神経が優位になり、心拍数や呼吸数が低下するが、レム睡眠中は交感神経が活発になり、心拍数が大きく変動する。この変動は「自律神経の嵐」と呼ばれ、しばしば身体に負担をかけるが、そのメカニズムおよび生理的意義は未解明である。これに関連して、近年我々のグループにより新たに発見された Q ニューロン (Qrfp 遺伝子を発現し視索前野に局在する神経細胞集団) に着目した (引用文献 1)。Q ニューロンはマウスに強烈的な低体温を引き起こし、交感神経の出力を抑制する役割があるが (引用文献 2, 3)、その神経活動が生理的に睡眠や睡眠中の心拍数調節に寄与するかは不明であった。本研究では、まず Q ニューロンが睡眠中にどのような挙動をとるのか詳細に観察し、そして睡眠中の心拍数や体温の調節にどのように関与するのかを解明することで、睡眠と休眠の進化的連続性を探ることを目指した。

方法

本研究では Q ニューロンへの選択的アプローチのために、全ての実験において Qrfp-iCre マウス系統（引用文献 1）および目的に応じた Cre 酵素依存性アデノ随伴ウイルス(AAV)を使用した。Q ニューロンの神経活動計測にはファイバーフォトメトリー法(Fiber photometry)を用いた。Q ニューロンに特異的に GCaMP6s を発現させ、GCaMP が発した励起光を検知・記録し神経活動として評価した。同時に脳波・筋電図測定を行いノンレム睡眠・レム睡眠・覚醒状態の判定を行った。心電図および体温計測にはテレメトリー(遠隔測定)システムを用いた。以上を本研究における基本的な手法として用い、睡眠中の Q ニューロンの神経活動と心拍変動の同時計測を行った。

結果および考察

本研究助成の支援によって、実験装置（心拍数計測プローブや神経活動記録に必要な実験機材）を拡充することができ、実験速度と量が大幅に増大し、多くのデータを採取することができた。

結果として、Q ニューロンの神経活動(以下、Q 神経活動)は非常にユニークな挙動をとることが判明した。まずノンレム睡眠中ではゆったりとした大きな振幅を示した。同時に採取している脳波と照合すると、ノンレム睡眠が開始し深くなるにつれて、Q 神経活動はそれを追うように大きな振幅を示した。これは Q ニューロンが脳の状態を忠実に追跡している可能性を示唆した。またノンレム睡眠中は、脳の状態に応じて心拍数の大きな変動が一般に観られるが、本実験においてもそれが確認（再現）された。結果、心拍数との強い正の相関もあり、心拍数の上昇と Q 神経活動の上昇が一致することが判明した。

睡眠深度の指標である徐波（デルタ波）をもとにノンレム睡眠の深さを評価し、睡眠深度と Q 神経活動の相関を調べた。結果、Q 神経活動強度は睡眠が浅い時に大きく、深い時に小さくなることがわかった。またマウスの睡眠において頻繁に生じる短い中途覚醒では Q 神経活動が非常に大きくなることがわかった。この神経活動の挙動はこれまでに報告されている青斑核ノルアドレナリンニューロンや縫線核セロトニンニューロン、すなわち“覚醒系ニューロン”のそれに非常によく似ていた。これらのことは、休眠誘導 Q ニューロンは睡眠ニューロンではなく、意外にも、むしろ覚醒ニューロンのような特徴をもつことを示唆した。

一方レム睡眠では、Q 神経活動が大きく減弱し、経過時間が長くなると停止することがわかった。一般にレム睡眠では、心拍数が不安定になり時に大きく上昇するが、本実験においてもそれが確認（再現）された。それぞれの挙動を時間分解能高く解析した結果、Q 神経活動の減弱と心拍数の増大のタイミングが一致することが判明した。これは Q ニューロンの活動低下がレム睡眠における心拍数上昇に寄与している可能性を示唆した。本研究によって、Q ニューロンが睡眠中に大きく活動を変化させ、特にレム睡眠においてその活動を停止させることで、心拍数変動をもたらしている可能性が提唱された。

このように Q ニューロンが睡眠において特徴的な神経活動をとることを見出したが、あくまでも脳波（すなわち睡眠の質）の変化の方が常に先立ち、Q ニューロンの変化は後追いの挙動であった。これらを踏まえると、Q ニューロンが睡眠を直接かつドミナントに制御しているとは考えにくい。今後、睡眠フェイズに応じた Q ニューロンの特異的な介入（オプトジェネティクスによる操作など）により、Q ニューロンが睡眠制御において有するより詳細な生理的機能を解明していきたい。

(完)

引用文献

- 1) Takahashi TM. et al. A discrete neuronal circuit that induces a hibernation-like state in rodents. *Nature*, 583, 109–114 (2020)
- 2) Takahashi TM, Hirano A. et al. Optogenetic induction of hibernation-like state with modified human Opsin4 in mice. *Cell Reports Methods*, 2(11) 100336 (2022)
- 3) Takahashi TM. et al. Measuring body temperature of freely moving mice under an optogenetics-induced long-term hypothermic state. *STAR Protocols*, 4(2):102321 (2023)