©2024 筑波大学生物学類

Sleepy / Dreamless ダブルヘテロ変異マウスの睡眠覚醒と脳波

矢内　果穂（筑波大学 生物学類）　　指導教員：柳沢　正史（筑波大学　国際統合睡眠医科学研究機構）

【背景と目的】

睡眠は、生存に不可欠な行動として、高等動物に広く保存されている現象である。しかし、睡眠のメカニズムに関しては、未だ不明な部分も多い。

マウスの睡眠は、脳波（electroencephalogram; EEG）の状態によってレム（Rapid Eye Movement: REM）睡眠とノンレム（non-REM）睡眠という 2 つの睡眠段階がある。レム睡眠は覚醒時に似た高周波な脳波状態を特徴として持つ。ノンレム睡眠は 0.5~4 Hz の高振幅、低周波の脳波によって特徴づけられる。いずれの睡眠段階においても、筋電は消失する。また、ノンレム睡眠時に見られるデルタ波のパワースペクトル（デルタパワー）の大きさは、睡眠要求を示す指標として有効とされている。

これまで、我々の研究室では、マウスを用いた大規模な睡眠遺伝子のスクリーニングを実施しており、これまでに睡眠制御に関わる遺伝子として *Sleepy*（*Slp*）変異 *Sik3* と *Dreamless*（*Drl*）変異 *Nalcn* を新たに同定した。

キナーゼタンパク質である SIK3 をコードしている *Ski3* 遺伝子に *Slp* 変異が生じているマウス個体では、覚醒時間の減少と、ノンレム睡眠時間の増加が見られるとともに、ノンレム睡眠時のデルタ波成分の増加も認められた。

電位依存的非選択的陽イオンチャネル NALCN をコードしている *Nalcn* 遺伝子に *Drl* 変異が生じているマウス個体では、レム睡眠時間の減少と、レム睡眠のエピソード継続時間の減少が見られた。

ノンレム睡眠とレム睡眠の、相互影響については、検討が無く、それらの関係性は解明されていない。そこで本研究では、ノンレム睡眠に量的変化を起こす *Slp* 変異とレム睡眠に質的変化を生じさせる *Drl* 変異を同時に持ったマウスの睡眠を調べることで、レム睡眠とノンレム睡眠の相互の関係の理解の一助となる知見が得られると考えられた。

【方法】

(1) *Sleepy / Dreamless* ダブルヘテロ変異マウスの作成

Slp ホモ変異個体の卵と *Drl* ヘテロ変異個体の精子を用いて、IVF（体外受精）を行った。得られた仔から *Slp* ヘテロ変異個体の雌と雄、*Sleepy / Dreamless* ダブルヘテロ変異個体の雄と雌から 10 匹の計 40 匹を実験材料に選んだ。

生後 8～11 週目に、マウスの頭部に脳波測定及び筋電測定用の電極を外科手術により取り付けた。2 週間以上の回復期間の後に睡眠測定を行った。睡眠測定では、生理的な睡眠状態と、6 時間の断眠後に、脳波・筋電をベースとして、睡眠の記録を行った。

(2) *Sleepy / Dreamless* ダブルヘテロ変異マウスの睡眠の解析

マウスは自由飲水・採餌下で 12h ごとの明暗サイクルのもと飼育された。睡眠測定は 48h 実施した。記録された脳波と筋電は 20 秒ごとのエポックで区切り、脳波成分と筋電位の情報から覚醒、ノンレム睡眠、レム睡眠の 3 つの状態のいずれか判定を行った。なお、*Sleepy / Dreamless* ダブルヘテロ変異マウスに対しては、抽出した 2 について、4 秒ごとのエポックで区切る方法での解析も行った。

(3) ビデオ撮影

解析後、*Sleepy / Dreamless* ダブルヘテロ変異マウスの 1 個体において、脳波・筋電の再測定を行った。その際、測定に並行して無人のビデオ撮影を行い、マウスの行動を観察した。

【結果】

Slp ヘテロ変異マウスに比べて、*Sleepy / Dreamless* ダブルヘテロ変異マウスでは、レム睡眠のエピソード継続時間が優位に減少していることが確認された。

Sleepy / Dreamless ダブルヘテロ変異マウスにおいて、覚醒中に 2 秒前後、5~6 Hz ほどの脳波が発現する脳波が頻発していることが、解析中に偶然発見された。その脳波の際、筋電は消失していた。（図 1）

撮影されたビデオと、同時期の脳波・筋電を照合したところ、図 1 様の脳波・筋電で筋電が消失しているエポックでは、マウスの動きは止まっていることが明らかになった。この活動停止中、確認できたエポックにおいて目は開かれたままであることが確認できた。

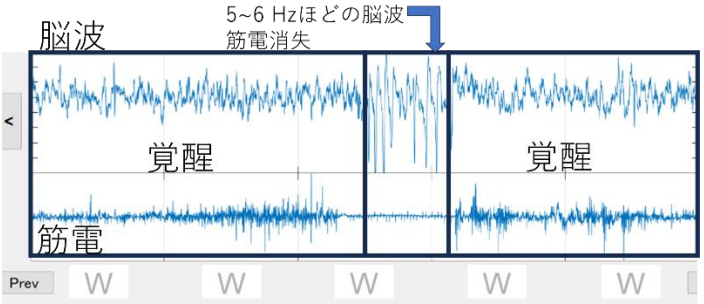

図 1　Sleepy / Dreamless ダブルヘテロ変異マウスで特に頻発して見られる脳波と筋電

【考察・展望】

Sleepy / Dreamless ダブルヘテロ変異マウスの睡眠は、*Slp* 変異個体と *Drl* 変異個体の双方の睡眠の特徴を示すことが明らかになった。。

図 1 様の脳波・筋電にはてんかん患者に見られる欠神発作との共通点がいくつか見られる。よって図 1 に示される現象はてんかんに類似した状態である可能性が考えられる．今後、てんかんの治療に用いられる薬剤の 1 つであるバルプロ酸ナトリウムを *Sleepy / Dreamless* ダブルヘテロ変異マウスに投与し、図 1 様の脳波・筋電の発生回数の変化を調べることを計画している。