

うつ病発症に対する人為的レム睡眠操作の影響の解析

安垣進之助 (筑波大学 生物学類)

指導教員：柳沢正史 (筑波大学 医学医療系)

背景と目的

うつ病は、意欲・興味の低下、不安や絶望感などの症状を特徴とする精神障害の一種であり、その原因には遺伝的要因とストレスなどの環境的要因がある。また、うつ病の初期症状のひとつとして睡眠障害がみられることが知られており、実際に、うつ病患者は睡眠に何らかの変化が生じることが報告されている。ヒトの睡眠はレム（急速眼球運動）睡眠とノンレム睡眠に大別され、私たちは一晩のうちにレム睡眠とノンレム睡眠、短い覚醒を繰り返している。うつ病患者における睡眠障害ではこのうちレム睡眠に変化が生じることが多く、具体的にはレム潜時（入眠後、レム睡眠に入るまでの時間）の低下や、最初に現れるレム睡眠の持続時間の増加などが挙げられる。しかし、有意な差はみられないとする研究結果や、全く逆の研究結果が報告された例もあり、これからさらなる議論が必要とされている。うつ病の治療には主に抗うつ薬が用いられるが、現在一般的に使用されている抗うつ薬にはレム睡眠の割合を減少させてしまう側面がある。そのため、うつ病の予防やその救済には新規のアプローチが求められている。一方で、この抗うつ薬にみられる特徴を逆手にとって、うつ病においてレム睡眠はむしろマイナス因子としてはたらいっており、レム睡眠の割合を減少させることがうつ病の改善につながるとする主張もある。このように、うつ病発症とレム睡眠との関連については、相反する2つの仮説が真っ向から対立している。

レム睡眠は、脳機能の発達にも深く関与していると考えられている。睡眠全体に占めるレム睡眠の割合は新生児期に多く加齢とともに減少すること、自閉症や注意欠陥・多動性障害 (ADHD) などの発達障害ではしばしばレム睡眠の減少を伴うことがその好例である。先に挙げたうつ病も、レム睡眠の異常による脳機能の低下から引き起こされている可能性がある。このことから、レム睡眠と疾患との関連を検証することで発症メカニズムの理解と治療法の開発につながることを期待される。

これらの議論に終止符を打つべく、うつ病モデルマウスに対してレム睡眠を持続的に増加させ、うつ病発症に対する人為的レム睡眠操作の影響を解析しようと試みた。これに先立ち、行動実験によってうつ様状態と評価できる妥当性を有するモデルマウスを作製すること、そして、人為的レム睡眠操作によりレム睡眠を持続的に増加させることが必要であった。当研究室では、レム睡眠を担う神経細胞を同定しており、人為的に睡眠操作ができるよう開発されたトランスジェニックマウスに DREADD (標的となる神経細胞に人工的にデザインした G タンパク質共役受容体を発現させ、そのリガンドを腹腔内投与することで一時的に活性化する) を用いることで、レム睡眠を一過的に増加させる手法を確立している (柏木ら、未発表)。しかし、従来の DREADD ではリガンドである clozapine-N-oxide (CNO) の投与が腹腔内注射という手法に限られているため、標的となる神経細胞の長期的な活性化ができないという欠点がある。レム睡眠を持続的に増加させるためには、この欠点を克服しなければならない。そこで、本研究では、ストレス負荷によりマウスのうつ病モデルを作製する

とともに、DREADD を用いながら長期的に神経細胞を活性化しレム睡眠を持続的に増加させる手法の確立を目指した。

方法

(1) うつ病モデルマウスの作製

マウスは野生型 C57BL/6J 系統を用い、ストレス負荷として拘束水浸ストレスを課した。マウスをプラスチック製 50 ml 遠心チューブに拘束して胸部まで水に浸し、2 時間静置した。このストレス負荷を 21 日間にわたって行ったのち、自発活動性と不安様行動、うつ様行動、無快感症状について評価した。評価には、オープンフィールドテスト、高架式十字迷路、強制水泳テスト、尾懸垂テスト、ショ糖嗜好性テストの 5 つを用いた。また、毎日のストレス負荷時に体重計量も行った。

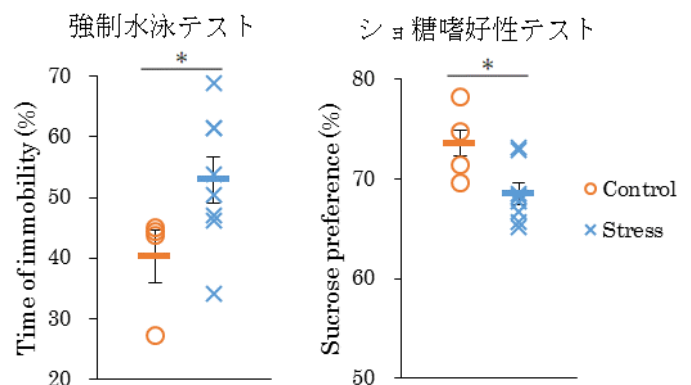
(2) 神経細胞の長期的活性化によるレム睡眠の持続的増加

リガンドである CNO の長期的投与のため、小型の埋め込み型ポンプを用いた。このポンプは、一定の流量で長期的に薬剤を注入することができる。人工的にデザインした G タンパク質共役受容体である hM3Dq を発現させた Dpg-Cre マウスの頭部に脳波および筋電位測定用の電極を取り付け、腹腔内に CNO を含むポンプを埋め込んだのちに脳波と筋電位を記録した。記録された脳波と筋電図は 10 秒ずつのエポックで区切り、レム睡眠、ノンレム睡眠、覚醒の 3 つの状態に振り分けた。

結果と考察

(1) うつ病モデルマウスの作製

ストレス負荷を与えたマウス群において、強制水泳テストではうつ様行動の評価指標である不動時間の増加が、ショ糖嗜好性テストでは無快感症状の評価指標であるショ糖嗜好性の低下がみられた (下図)。これにより、うつ病モデルマウスの作製に成功したと考えられる。



*P<0.05 (Mann-Whitney U-test)

(2) レム睡眠の持続的増加

詳細な結果については発表会にて提示する。